全国艾滋病检测技术规范

National Guideline for Detection of HIV/AIDS

（2009 年修订版）

中国疾病预防控制中心

二〇〇九年九月

全国艾滋病检测技术规范

National Guideline for Detection of HIV/AIDS

（2009 年修订版）

中国疾病预防控制中心

二〇〇九年九月

前　言

艾滋病在我国的流行已有二十余年，随着感染者不断增加、感染人群的变化和临床病人的日益增多，艾滋病检测工作量逐渐加大，新的监测和检测需求也不断增加，艾滋病检测实验室已遍及全国各级医疗、疾病预防控制、采供血、妇幼保健机构，出入境检验检疫、军队等各个系统。近几年，为了适应基层艾滋病检测的需要，一些没有条件建立规范的艾滋病检测实验室的乡镇卫生院，也陆续建起了艾滋病检测点。遍布全国的实验室网络为艾滋病防治工作提供了重要而坚实的基础。在新的形势下，为了更加有效地支持艾滋病监测、咨询检测（包括 VCT 和 PITC）、新生儿感染早期诊断和抗病毒治疗工作，根据《关于艾滋病抗病毒治疗管理工作的意见》、《中国预防与控制艾滋病中长期规划（1998—2010 年）》和“四免一关怀”等重要方针政策，在向各省、市征求意见基础上，在“全国艾滋病检测实验室审评和技术指导专家组”的参与下，中国疾病预防控制中心性艾滋病预防控制中心对《全国艾滋病检测技术规范（2004 年版）》进行修改、增补和完善后，制定出《全国艾滋病检测技术规范（2009 年版）》，使其既能满足目前艾滋病检测工作的实际需要，又能体现检测技术的发展。

本次主要对以下几个方面内容进行了修改、增补和完善：（1）在样品的采集和处理中，增加了滤纸干血斑样品、快速检测样品的采集和处理，用于 CD4+/CD8+T 淋巴细胞测定样品、尿液和唾液样品的采集和处理；（2）在 HIV 抗体检测中，增加了免疫荧光法和化学发光法，进一步明确了不同情况下的检测策略；（3）在 HIV 核酸检测中，增加了 HIV 感染产妇所生婴儿 HIV 感染早期诊断检测流程和适用于窗口期的集合核酸检测方法；（4）根据临床治疗需求，增加了 HIV-1 的耐药检测；（5）进一步完善了艾滋病检测实验室安全防护和艾滋病检测实验室的质量管理，使其更加符合目前艾滋病防治工作的需求，更加具有可操作性；（6）考虑到技术发展和新的需求，增加了 HIV-1 新近感染检测和 HIV-1 的分离培养技术。

修订后的《规范》共九章，包括：样品的采集和处理、HIV 抗体检测、HIV-1 抗原检测、HIV 核酸检测、HIV-1 耐药检测、CD4+ 和 CD8+ T 淋巴细胞检测、HIV-1 的分离培养、实验室生物安全、艾滋病检测实验室的质量管理。

本《规范》上报卫生部，经获准由中国疾病预防控制中心发至全国艾滋病检测实

验室及有关单位。本《规范》将为国家、卫生部与财政部等部委下发的关于艾滋病防治工作的各项政策法规的有效实施提供强有力的技术支持，并具体指导艾滋病检测实验室技术人员开展日常工作。

本《规范》起草单位：中国疾病预防控制中心性病艾滋病预防控制中心。

本《规范》参加编写单位：中国人民解放军军事医学科学院、上海市疾病预防控制中心、中国医科大学、北京出入境检验检疫局、北京市疾病预防控制中心、四川省疾病预防控制中心、浙江省疾病预防控制中心、中国生物制品检定所、卫生部临床检验中心、中国医学科学院、天津市疾病预防控制中心、河南省疾病预防控制中心、福建省疾病预防控制中心。

本《规范》编写组人员：蒋岩、汪宁、李敬云、钟平、康来仪、尚红、邵一鸣、肖瑶、朱红、邢文革、姚均、潘品良、邱茂峰、邢玉兰、秦光明、郭志宏、王佑春、申子瑜、季阳、强来英、朱效科、王哲、严延生、朱关福。

本《规范》主要国际咨询专家：世界卫生组织 Osborne Connie，张岚。美国疾病预防控制中心 GAP 项目 Bultery Marc, Chin-Yih Ou。克林顿基金中国艾滋病项目 Trevor Peter。

本《规范》编写工作联系人：肖瑶

本《规范》自发布之日起实施，同时终止《全国艾滋病检测技术规范(2004 年版)》。

本《规范》适用于全国所有的艾滋病检测实验室。

本《规范》解释权属于中国疾病预防控制中心。

目　录

第一章　样品的采集和处理……1
1　范围……1
2　规范性引用文件……1
3　样品种类及相应的用途……1
4　操作步骤……1
4.1　采样前准备……1
4.2　采集和处理样品……2
4.3　样品的保存……3
4.4　样品的运送……3
4.5　样品的接收……3

第二章　HIV 抗体检测……5
1　范围……5
2　规范性引用文件……5
3　HIV 抗体检测实验室要求……5
4　HIV 抗体检测的目的和要点……5
4.1　HIV 抗体检测的目的……5
4.2　HIV 抗体检测的要点……5
5　以诊断为目的的检测策略……6
5.1　常规 HIV 抗体检测的方法和程序……6
5.2　其它 HIV 抗体检测的方法和程序……9
6　以监测为目的的检测策略……13
6.1　适用范围……13
6.2　检测程序及结果报告……13
7　以血液筛查为目的的检测策略……14
8　艾滋病检测实验室检测信息上报……14
9　质量控制……15

9.1 抗体检测的统计学室内质量控制……15
9.2 快速检测质控……18

第三章 HIV-1 抗原检测……19
1 范围……19
2 规范性引用文件……19
3 HIV－1P24 抗原检测的意义……19
4 实验室要求……19
5 检测方法及程序……19
5.1 试剂……19
5.2 样品……19
5.3 定性检测……19
5.4 定量检测……19
5.5 结果报告和解释……20
6 质量保证和质量控制……20

第四章 HIV 核酸检测……21
1 范围……21
2 规范性引用文件……21
3 核酸检测的意义……21
3.1 早期诊断……21
3.2 疑难样本的辅助诊断……21
3.3 遗传变异监测……21
3.4 耐药性监测……22
3.5 病程监控及预测……22
3.6 指导抗病毒治疗及疗效判定……22
4 HIV 核酸检测实验室要求……22
4.1 实验室分区和功能……22
4.2 实验室人员和要求……23
4.3 实验室设施和设备……23

4.4 实验室生物安全……23
4.5 防止实验室核酸残余（Carry-over）污染措施……23
4.6 废弃物处理制度……24
5 HIV 核酸检测方法及程序……24
5.1 HIV 核酸定性检测……24
5.2 HIV 核酸定量检测……25
5.3 集合核酸定性检测 （Pooling PCR）……27
5.4 婴幼儿 HIV 感染核酸检测……28
6 质量保证和质量控制……29
6.1 实验室分区和环境……29
6.2 仪器设备质量控制……30
6.3 检测过程质量控制……30
6.4 外部质量控制 ……30

第五章 HIV-1 耐药检测……31
1 范围……31
2 规范性引用文件……31
3 HIV-1 耐药检测的意义……31
3.1 耐药监测……31
3.2 耐药检测……31
4 HIV-1 耐药检测实验室要求……31
4.1 实验室功能分区……31
4.2 人员……31
4.3 设施和设备……31
5 HIV-1 耐药检测方法及程序……32
5.1 方法……32
5.2 试剂……32
5.3 扩增目的基因片段及测序……32
5.4 耐药分析和结果报告……33
6 质量保证与质量控制……33

6.1 室内质控……33
6.2 实验室能力验证……34

第六章 CD4+和 CD8+T 淋巴细胞检测……35
1 范围……35
2 规范性引用文件……35
3 CD4+ 和 CD8+T 淋巴细胞检测的意义……35
4 CD4+ 和 CD8+T 淋巴细胞检测实验室要求……36
4.1 人员……36
4.2 设施和设备……36
4.3 功能分区……36
5 常规 CD4+ 和 CD8+T 淋巴细胞检测的方法和程序……36
5.1 样品采集、运输和接收……36
5.2 方法……37
5.3 实验资料的记录……37
5.4 结果报告……37
6 质量控制……38

第七章 HIV-1 的分离培养……39
1 范围……39
2 规范性引用文件……39
3 HIV-1 分离的意义……39
4 实验室要求……39
4.1 实验室……39
4.2 设备……39
4.3 材料……39
5 HIV-1 分离的方法及程序……39
6 质量保证和质量控制……40

第八章 实验室生物安全……41

1 范围……41
2 规范性引用文件……41
3 HIV 的生物危害……41
4 HIV 相关检测的生物安全级别……41
5 生物安全保证措施……41
5.1 建立安全制度……41
5.2 培训和管理……42
5.3 个人保健和防护……42
5.4 安全操作……43
5.5 使用利器注意事项……44
6 污染物处理……44
7 意外事故处理……44
8 职业暴露后预防……45
8.1 局部急救处理……46
8.2 对暴露感染的危险进行评估……46
8.3 确定是否需要药物预防及其方案……46
8.4 暴露后预防方案……48
8.5 暴露后预防的时间……48
8.6 暴露后预防的监测……48
8.7 药品储备点的建立及管理……49

第九章 艾滋病检测实验室质量管理……50
1 范围……50
2 规范性引用文件……50
3 质量保证……50
3.1 行政支持……50
3.2 人员培训……50
3.3 环境条件……50
3.4 样品采集、运送和处理……51
3.5 检测方法和试剂的选择……51

3.6　设备维护与校准……51
3.7　实验耗材……52
3.8　文件和文件管理……52
4　质量控制……53
5　质量评价……53
5.1　内部质量评价……54
5.2　外部质量评价……54
6　诊断试剂临床质量评估……57
6.1　评估目的……57
6.2　参考试剂的选择……57
6.3　考评盘的制备……57
6.4　考评程序……57

附表 1　HIV 抗体筛查报告……59
附表 2　HIV 抗体复检检测单……60
附表 3　HIV 抗体确证检测报告单……61
附表 4　HIV 抗体替代策略检测报告单……62
附表 5　流行病学监测 HIV 抗体检测报告单……63
附表 6　艾滋病病毒抗体检测数及阳性人数统计报表……64
附表 7　CD4+T 淋巴细胞检测结果报告……65
附表 8　HIV-1 耐药基因型检测报告……66
附表 9　艾滋病职业暴露个案登记表……68
附表 10　艾滋病防治工作人员职业暴露事故汇总表……71

第一章　样品的采集和处理

1　范围

本章规定了用于人免疫缺陷病毒（HIV）检测的全血、血清、血浆、细胞、唾液、尿液以及滤纸干血斑（DBS）样品的采集和处理方法，适用于 HIV 抗体检测、抗原检测、核酸检测、耐药检测,CD4+和 CD8+T 淋巴细胞测定和 HIV 分离培养。

2　规范性引用文件

《艾滋病和艾滋病病毒感染诊断标准》中华人民共和国卫生行业标准 WS 293-2008

《艾滋病病毒感染者及艾滋病患者 CD4+T 淋巴细胞检测质量保证指南（试行）》（中国疾病预防控制中心，2006 年 2 月）

《HIV-1 病毒载量测定及质量保证指南（试行）》（中国疾病预防控制中心，2008 年 2 月）

Guidelines for Using HIV Testing Technologies in Surveillance WHO/CDS/CSR/EDC/2008

《可感染人类的高致病性病原微生物菌（毒）种或样本运输管理规定》，卫生部第45号令 2006年2月1日

3　样品种类及相应的用途

3.1　全血、血清、血浆、唾液、尿液以及 DBS 样品可用于 HIV 抗体检测。

3.2　抗凝全血可用于 CD4+和 CD8+T 淋巴细胞测定。

3.3　血浆可用于 HIV-1 病毒载量、基因型及耐药检测。DBS 样品可用于 HIV-1 基因型及耐药检测。

3.4　全血、血浆、淋巴细胞富集液、外周血淋巴细胞（PBMC）及 DBS 样品可用于 HIV 核酸的定性检测。

3.5　PBMC、全血、淋巴细胞富集液等可用于 HIV-1 分离培养。

4　操作步骤

4.1　采样前准备

根据检测项目的具体要求，确定采集样品的种类、处理、保存及运输的时限和方法，按照临床采血技术规范的要求操作，遵守生物安全要求（参见本规范第八章实验室生物安全）。

要检查所需物品是否已备齐，是否在有效期内，有无破损，是否足量，特别应检查受检者信息与样品容器表面的标记是否一致，并注明样品采集时间。选择合适的室内（外）采血空间，受检者坐（卧）于合适的位置，准备采血用具、皮肤消毒用品、采血管及试管架、硬质废弃物容器等。

4.1.1　样品的编码和记录

4.1.2　应制定样品编码的标准操作程序（SOP），规定样品编码的原则和方法，为样品制定唯一

性编码（编号），保证其唯一性。

4.1.3　采血前，先对装有样品的离心管或滤纸进行标记，核对后编码。要将标签贴在试管的侧面，最好使用预先印制好的、专门用于冷冻储存的耐低温标签。

4.1.4　应使用专门的样品记录本或登记表记录样品，同时录入电脑保存。

4.2　采集和处理样品

4.2.1　血液

4.2.1.1　抗凝全血：消毒局部皮肤，用加有抗凝剂（EDTA 钠盐或钾盐、枸橼酸钠、肝素钠）的真空采血管抽取适量静脉血，或用一次性注射器抽取静脉血，转移至加有抗凝剂的试管中，轻轻颠倒混匀 6～8 次，备用。

4.2.1.2　末梢全血：消毒局部皮肤（成人和 1 岁以上儿童可选择耳垂、中指、无名指或食指。1 岁以下儿童采用足跟部）。用采血针刺破皮肤，用无菌纱布擦掉第一滴血。收集滴出的血液，备用。

4.2.1.3　血浆：将采集的抗凝全血 1500～3000r/min 离心 15min，上层即为血浆，吸出置于合适的容器中，备用。

4.2.1.4　血清：根据需要，用一次性注射器（或真空采血管）抽取 5～10ml 静脉血，室温下自然放置 1～2h，待血液凝固、血块收缩后再用 1500～3000r/min 离心 15min，吸出血清，置于合适的容器中，备用。

4.2.1.5　淋巴细胞富集液：将采集的抗凝全血 1500～3000r/min 离心 15min ，吸取血浆层下的淋巴细胞富集液，置于合适的容器中，备用。

4.2.1.6　PBMC：使用淋巴细胞分离液，进行密度梯度离心，吸出 PBMC 层，备用。

4.2.1.7　根据检测要求选用适当的抗凝剂，如 CD4+和 CD8+T 淋巴细胞测定可选用 EDTA 钠盐或钾盐、枸橼酸钠、肝素钠，HIV 病毒分离、核酸定性/定量检测可选用 EDTA 钠盐或钾盐或枸橼酸钠。

4.2.1.8　样品采集后处理、保存、运输的时限和条件，因不同的检测项目而异，应参见不同检测项目要求。

4.2.1.9　采血完成后的穿刺针头必须丢弃于尖锐危险品容器里，妥善处理，防止发生职业暴露。

4.2.2　滤纸干血斑

4.2.2.1　根据需要，可将采集的各种血液样品制备成滤纸干血斑，保存、运输及检测。最常用的是用抗凝全血、末梢全血和血浆制备滤纸干血斑。

4.2.2.2　用移液器从样品管中吸取 100μL 抗凝全血（或血浆）样品，对准滤纸印圈的中心处，将样品滴在滤纸上，或将穿刺后自皮肤伤口流出的末梢全血直接滴加在滤纸印圈的中心处。

4.2.2.3　根据需要，连续在数个印圈上滴加样品。

4.2.2.4　于室温下自然干燥至少 4 小时（潮湿气候下至少干燥 24 小时），不要加热或堆叠血斑，勿与其它界面接触。

4.2.2.5　血斑充分干燥后，将其放入密封袋中，避免血斑之间的相互污染，同时放入干燥剂及湿度指示卡，密封包装，保存备用。

4.2.3　尿液和唾液

4.2.3.1　尿液：使用清洁的容器收集尿液。女性应避开月经期。尿液样品可以在 2～8℃下存放。存放时间、是否冻存以及是否添加防腐剂以试剂盒说明书为准。

4.2.3.2　唾液：使用试剂盒提供的容器收集唾液样品。存放时间和是否冻存以试剂盒说明书为准。

4.3　样品的保存

4.3.1　用于抗体和抗原检测的血清或血浆样品，短期（1 周）内进行检测的可存放于 2～8℃，一周以上应存放于-20℃以下。

4.3.2　用于核酸检测的血浆和血细胞样品 4 天内进行检测的可存放于 4℃，3 个月以内应存放于-20℃以下。3 个月以上应置于-70℃以下。

4.3.3　艾滋病检测筛查实验室检测的筛查阳性样品应及时送确证实验室，筛查阴性样品，可根据具体需要决定保存时间，建议至少保存 1～2 个月。特殊用途或专项项目的样品根据具体要求确定保存时间。

4.3.4　艾滋病检测确证实验室收到的筛查阳性样品，无论确证结果如何，均应将剩余的样品保存至少 10 年，特殊用途或专项项目的样品根据具体要求确定保存时间。

4.4　样品的运送

4.4.1　应符合生物安全要求；要获得相应部门批准并由具有资质的人员专程护送。

4.4.2　应采用三层容器对样品进行包装，随样品应附有与样品唯一性编码相对应的送检单。送检单应标明受检者姓名、样品种类等信息，并应放置在第二层和第三层容器之间。

4.4.2.1　第一层容器：直接装样品，应防渗漏。样品应置于带盖的试管内，试管上应有明显的标记，标明样品的唯一性编码或受检者姓名、种类和采集时间。在试管的周围应垫有缓冲吸水材料，以免碰碎。

4.4.2.2　第二层容器：容纳并保护第一层容器，可以装若干个第一层容器。要求不易破碎、带盖、防渗漏、容器的材料要易于消毒处理。

4.4.2.3　第三层容器：容纳并保护第二层容器的运输用外层包装箱。外面要贴上醒目的标签，注明数量、收样和发件人及联系方式，同时要注明“小心轻放、防止日晒、小心水浸、防止重压”等字样，还应易于消毒。

4.4.2.4　用于抗体检测的血清和血浆样品应在冻存条件下运送。用于 CD4+和 CD8+T 淋巴细胞测定的样品应在室温下（18～25℃）或 4℃（特殊要求时）运送。用于病毒载量检测的样品应在-20℃以下运输。DBS 样品应在室温下（18～25℃）运送。每一件包装的体积以不超过 50mL 为宜。

4.4.2.5　运送样品必须有记录。

4.4.2.6　特殊情况下经有关部门批准可以用特快专递邮寄样品，但必须按三层包装，将样品管包扎好，严禁使用玻璃容器。

4.5　样品的接收

4.5.1　样品包裹必须在具有处理感染性材料能力的实验室内、由经过培训的、穿戴防护衣、戴口罩、防护眼镜的工作人员在生物安全柜中打开，用后的包裹应及时进行消毒。

4.5.2　核对样品与送检单，检查样品管有无破损和溢漏。如发现溢漏应立即将尚存留的样品移

出，对样品管和盛器消毒，同时报告实验室负责人和上一级实验室技术人员。

4.5.3　检查样品的状况，记录有无严重溶血、微生物污染、血脂过多以及黄疸等情况。如果污染过重或者认为样品不能被接受，应将样品安全废弃。并将样品情况立即通知送样人。

4.5.4　接收样品时应填写样品接收单。

第二章　HIV 抗体检测

1　范围

本章规定了 HIV 抗体的检测方法、程序、结果报告、检测策略及质量控制。适用于各级各类医疗机构、疾病预防控制机构、检验检疫机构、采供血机构及卫生保健机构。可作为对 HIV 感染者诊断和监测的实验室依据。

2　规范性引用文件

《艾滋病和艾滋病病毒感染诊断标准》（中华人民共和国卫生行业标准，WS293-2008）

Guidance for HIV testing in the Western Pacific Region. WHO Draft 19 July 2008.

Statement from the Surveillance and Survey Working Group and the Laboratory Working Group to the Office of the Global AIDS Coordinator.26 Nov.2006.

Guidelines for the use of the BED assay for incidence estimation and surveillance in resource-limited countries. Atlanta, 5 June 2006.

Revised Guidelines for HIV Counseling, Testing, and Referral. U.S. CDC 2001.

Current HIV-2 diagnostic strategy overestimates HIV-2 prevalence in China. Journal of Medical Virology, 2009, 81: 790-797.

3　HIV 抗体检测实验室要求

应符合《全国艾滋病检测工作管理办法（2006）》中对实验室人员、建筑设施和设备等条件的要求。

实验室的质量保证和实验室安全防护按本规范相关章节规定执行。

4　HIV 抗体检测的目的和要点

4.1　HIV 抗体检测的目的

4.1.1　HIV 抗体检测可用于诊断、血液筛查、监测等。

4.1.2　以诊断为目的的检测是为了确定个体 HIV 感染状况，包括临床检测、自愿咨询检测、根据特殊需要进行的体检等。

4.1.3　以血液筛查为目的的检测是为了防止输血传播 HIV，包括献血员筛查和原料血浆筛查。

4.1.4　以监测为目的的检测是为了解不同人群 HIV 感染率及其变化趋势，包括各类高危人群、重点人群和一般人群。

4.2　HIV 抗体检测的要点

4.2.1　根据目的选择检测方法及检测策略。

4.2.2　严格遵守实验室 SOP。

4.2.3　筛查试验阳性，须作确证试验。

4.2.4　筛查试验阴性，　不应做确证试验。

4.2.5　筛查及确证试验阳性均应做好咨询工作。

5　以诊断为目的的检测策略

5.1　常规 HIV 抗体检测的方法和程序

HIV 抗体检测分为筛查试验（包括初筛和复检）和确证试验。

5.1.1　筛查试验

5.1.1.1　筛查试剂

必须是经国家食品药品监督管理局注册批准、在有效期内的试剂，其中酶联免疫试剂应批批检合格。推荐使用临床质量评估敏感性和特异性高的试剂。

5.1.1.2　筛查样品

HIV 抗体筛查可采用血清、血浆、滤纸干血斑、唾液和尿液样品。

5.1.1.3　筛查方法

（1）酶联免疫吸附试验（ELISA）

可使用血液、唾液、尿液样品，ELISA 多为单纯 HIV 抗体检测试剂。HIV 抗原抗体联合检测试剂可同时检测血液中 HIV-1P24 抗原和 HIV-1/2 抗体。HIV 抗原或抗体包被于固相载体，加入待检样品和酶标记的 HIV 抗原或抗体，加底物显色，用酶标仪测定结果。有效试验的阴性和阳性对照必须符合试剂盒规定。

（2）化学发光或免疫荧光试验

这类试剂采用发光或荧光底物，既可检测抗体，也可联合检测抗原抗体。HIV 抗原或抗体包被于固相载体，加入待检样品和酶或荧光标记的 HIV 抗原或抗体，加发光或荧光底物，用发光或荧光仪测定结果。有效试验的阴性和阳性对照必须符合试剂盒规定。

（3）快速检测（RT）及其它检测试验

这类试验简便快速，适用于应急检测、门诊急诊检测。一般可在 10～30 分钟内得出结果。

明胶颗粒凝集试验（PA）：是 HIV 血清抗体检测的一种简便方法。将 HIV 抗原致敏明胶颗粒作为载体，与待检样品作用。当待检样品含有 HIV 抗体时，明胶颗粒与抗体发生凝集反应，根据凝集情况判读结果。PA 试剂有两种:同时检测 HIV-1 和 HIV-2 抗体以及分别检测 HIV-1 和 HIV-2 抗体。有效试验必须有阴性和阳性质控。

免疫渗滤试验：斑点 ELISA 和斑点免疫胶体金（或胶体硒）快速试验：均以硝酸纤维膜为载体，HIV 抗原点状固定在膜上，加待检样品。阳性结果在膜上抗原部位显示出有色斑点。反应时间在 10 分钟以内。有效试验的质控点必须显色。

免疫层析试验：以硝酸纤维膜为载体，HIV 抗原线状固定在膜上，待检样品（血液或唾液）沿着固相载体迁移，阳性结果在膜上抗原部位显示出有色条带。有效试验的质控带必须显色。

5.1.1.4　筛查程序

（1）初筛试验

根据检测目的选用符合要求的筛查试剂对样品进行初筛检测，对呈阴性反应的样品，可出具HIV 抗体阴性（-）报告；对呈阳性反应的样品，需要进一步做复检试验和确证试验。

（2）复检试验

对初筛呈阳性反应的样品，应使用原有试剂和另外一种不同原理（或厂家）的试剂，或另外两种不同原理或不同厂家的试剂进行复检试验。如果初筛检测使用抗原抗体联合试剂，则复检必须包括一种抗原抗体联合试剂。如两种试剂复检均呈阴性反应，则报告 HIV 抗体阴性（-）；如均呈阳性反应，或一阴一阳，需送艾滋病确证实验室进行确证试验（图 1）。如果抗原抗体联合试剂检测呈阳性反应，而抗体试剂检测为阴性反应，则应考虑进行 HIV-1 p24 抗原或核酸检测，必要时进行随访。

艾滋病检测筛查实验室复检判定为阳性反应的样品，确证实验室可以直接进行确证试验。

（3）初筛和复检流程 （图 1）

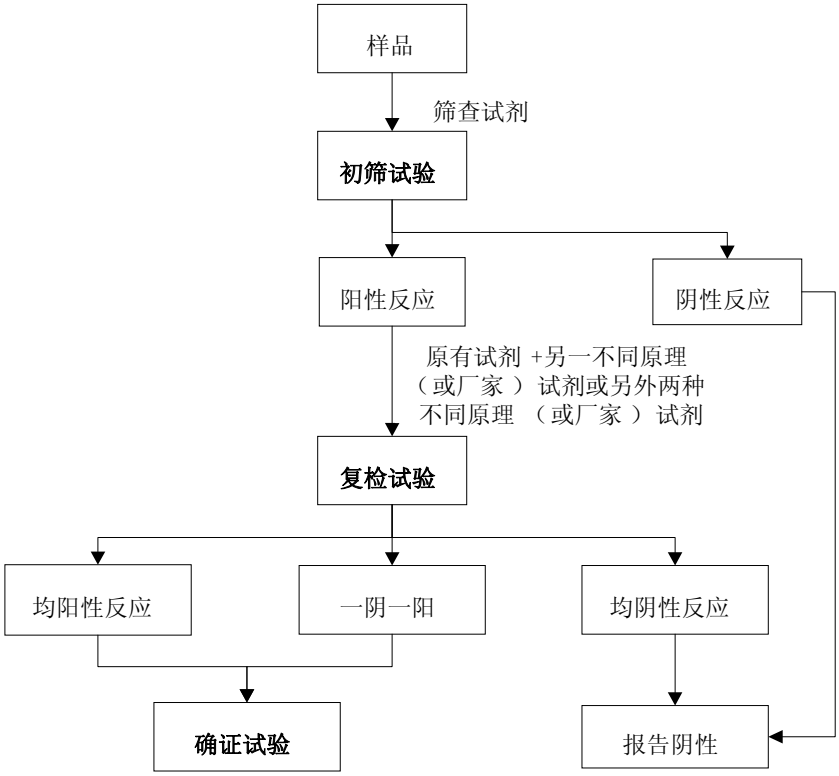

图 1　HIV 抗体筛查检测流程

（4）筛查试验结果的报告

HIV 抗体筛查试验用附表 1 进行报告，阴性反应报告为“HIV 抗体阴性（-）”；阳性反应报告为“HIV 抗体待复检”。

（5）筛查试验呈阳性反应样品的转送

如需送上级实验室进行复检，需要核对身份，补充个人信息（如姓名和身份证号码），必要时采集第二份血样，持 HIV 抗体筛查报告，送当地艾滋病筛查中心实验室，或直接送确证实验室

复检。HIV 抗体复检试验用附表 2 进行报告，两次检测均阳性或一阴一阳报告为 “HIV 抗体待确证”；两次检测均阴性报告为“HIV 抗体阴性（-）”。HIV 抗体复检报告需由 1 名检验人员和 1 名审核人员签字。

5.1.2　确证试验

5.1.2.1　确证试剂

必须是经国家食品药品监督管理局注册批准、在有效期内的试剂。

5.1.2.2　确证样品

可采用血清、血浆、滤纸干血斑样品。

5.1.2.3　确证方法

包括免疫印迹试验（WB）、条带免疫试验、放射免疫沉淀试验（RIPA）及免疫荧光试验（IFA）等。

5.1.2.4　确证流程 （图 2）

使用 HIV-1/2 混合型试剂进行检测，如果呈阴性反应，则报告 HIV 抗体阴性（－）；如果呈阳性反应，则报告 HIV-1 抗体阳性（＋）；如果不是阴性反应，但又不满足阳性判断标准，则报告 HIV 抗体不确定（±）。结合流行病学资料，可以在 4 周后随访检测，如带型没有进展或呈阴性反应，则报告阴性；如随访期间出现阳性反应，则报告阳性；如随访期间带型有进展，但不满足阳性标准，应继续随访到 8 周。如带型没有进展或呈阴性反应则报告阴性；满足 HIV 抗体阳性诊断标准则报告阳性，不满足阳性判断标准可视情况决定是否继续随访。随访期间可根据需要，检测病毒核酸或 P24 抗原作为辅助诊断。如果出现 HIV-2 型的特异性指示条带，根据实际情况需用 HIV-2 型免疫印迹试剂再做 HIV-2 的抗体确证试验或 HIV-2 核酸检测，以进一步明确 HIV-2 感染状态，疑难样品送国家艾滋病参比实验室进一步分析。

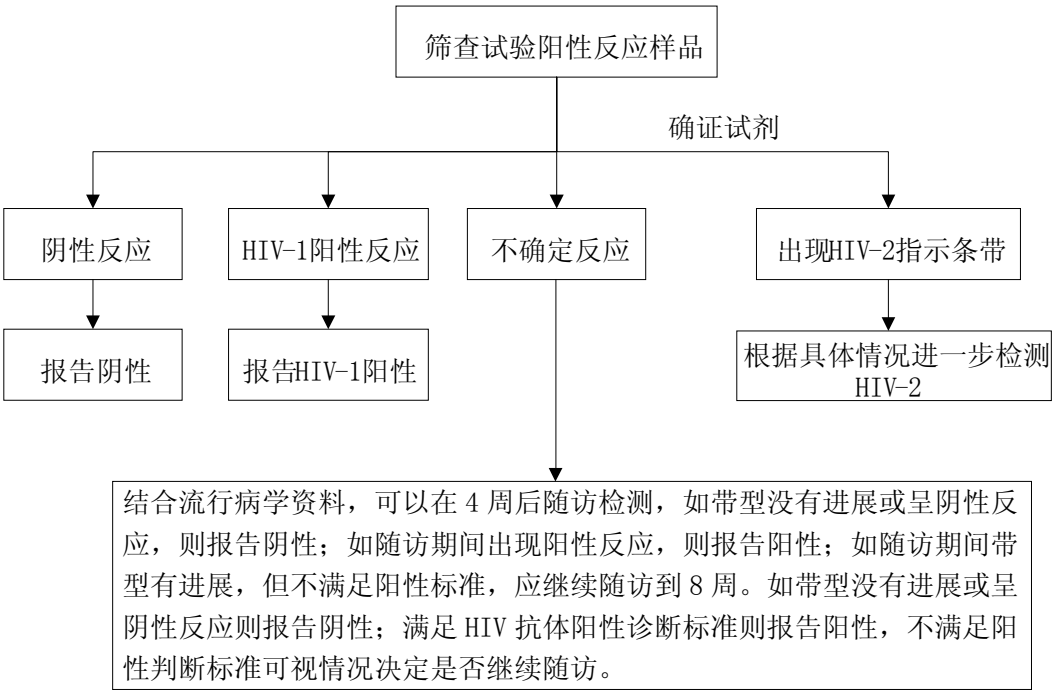

图 2 HIV 抗体确证检测流程

5.1.2.5　HIV 抗体确证试验结果的判定

（1）HIV-1 抗体阳性

同时符合以下 2 条标准可判为 HIV-1 抗体阳性：①至少有 2 条 env 带（gp41 和 gp160/gp120）出现，或至少 1 条 env 带和 p24 带同时出现；②符合试剂盒提供的阳性判定标准。

（2）HIV-2 抗体阳性

出现 HIV-2 型特异性指示带的样品：如果同时呈 HIV-1 抗体阳性反应，报告 HIV-1 抗体阳性，不推荐进一步做 HIV-2 抗体确证试验；如果同时呈 HIV-1 抗体不确定或阴性反应，需用 HIV-2 型确证试剂再做 HIV-2 的抗体确证试验。

同时符合以下二条标准，即出现至少 2 条 env 带（gp36 和 gp140/ gp105），和试剂盒提供的阳性判定标准，可判为 HIV-2 抗体阳性。

（3）HIV 抗体不确定

出现 HIV 抗体特异带，但不足以判定阳性。

注：①HIV-1 抗体特异带包括：env 带：gp160/gp120、gp41；gag 带：p55、p24、p17（或 p18）；pol 带：p66（或 p65）、p51、p31。②HIV-2 抗体特异条带包括：env 带：gp140/gp105、gp36；gag 带：p56、p26、p16；pol 带：p68、p53、p34。（由于使用的毒株不同，HIV-2 env 带也可为 gp125/gp80、gp36）。

（4）HIV 抗体阴性

无 HIV 抗体特异带出现。

5.1.2.6　HIV 抗体确证试验结果报告

HIV 抗体确证试验结果用附表 3 报告。

（1）符合 HIV-1 抗体阳性判断标准，报告“HIV-1 抗体阳性（＋）”，并按规定做好检测后咨询、保密和疫情报告工作。符合 HIV-2 抗体阳性判断标准，报告“HIV-2 抗体阳性（＋）”，并按规定做好检测后咨询、保密和疫情报告工作。

（2）符合 HIV 抗体阴性判断标准，报告“HIV 抗体阴性（－）”。如疑似“窗口期”感染，建议进一步做 HIV 核酸检测，尽早明确诊断。

（3）符合 HIV 抗体不确定判断标准，报告“HIV 抗体不确定（±）”，在备注中应注明“4 周后复检”。

5.1.2.7　发出确证报告的同时要做好检测后咨询。

5.1.2.8　HIV 抗体确证报告由检测者，复核人员和签发人员签字后，按原送检程序反馈一式三份（确证实验室一份、送检单位一份、患者一份）。如确证对象户口不属于本辖区，确证报告应同时抄送感染者户口所在地的省艾滋病确证中心实验室。其它系统确证的地方人员，也应及时向当地卫生行政部门和省艾滋病确证中心实验室报告。

5.1.2.9　省艾滋病确证中心实验室难以确证的样品，送国家艾滋病参比实验室确证。同一受检对象的样品在不同实验室得到不一致的确证结果时，由国家艾滋病参比实验室予以仲裁。

5.2　其它 HIV 抗体检测的方法和程序

5.2.1　VCT 替代检测策略

除上述常规检测程序以外，对 HIV 高流行地区高危人群的 VCT 检测，可采用替代策略。

5.2.1.1　使用要求

使用替代策略，应在确证中心实验室和确证实验室或以上实验室指定的筛查实验室进行，用临床试剂质量评估敏感性和特异性高的筛查试剂检测。使用该策略判断结果，阳性报告须由确证中心实验室和确证实验室或以上实验室认可的筛查实验室出具。

5.2.1.2　检测程序及结果报告　（图 3）

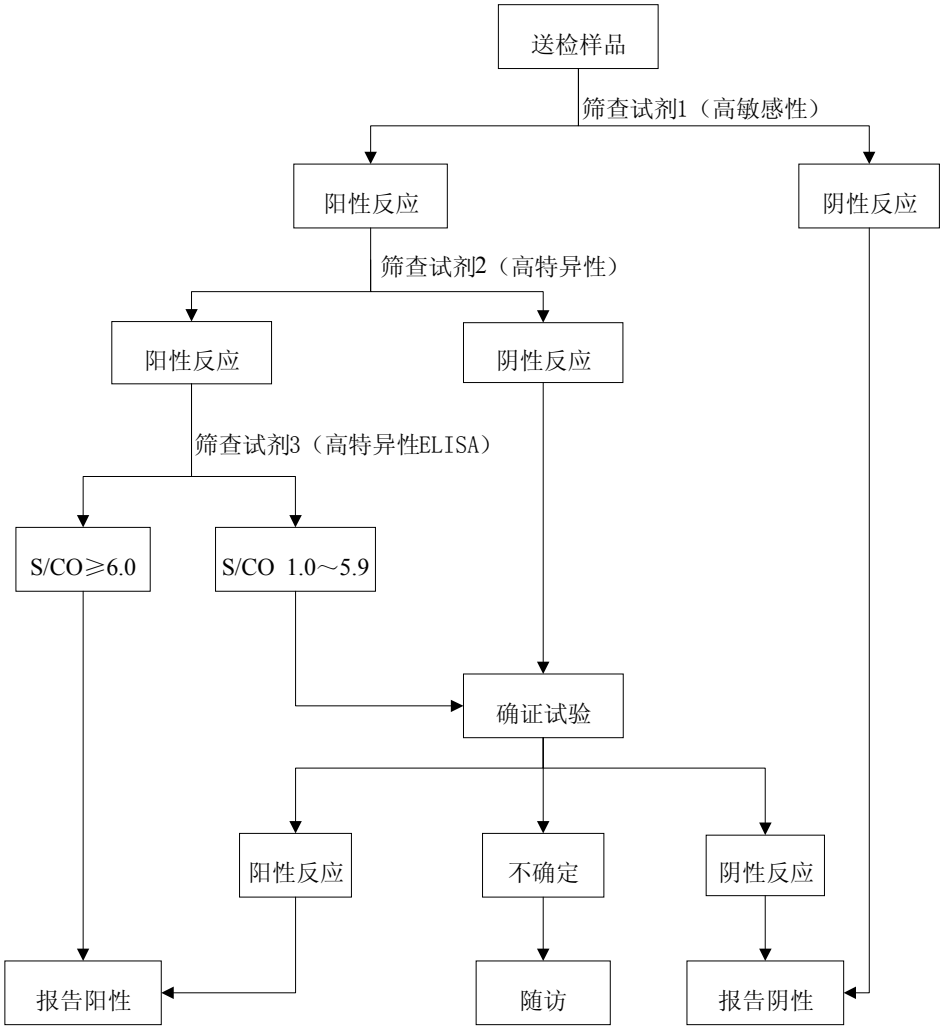

图 3　高危人群VCT 检测流程

（1）先用第一种筛查试剂（高敏感性）检测，出现阴性反应报告 HIV 抗体阴性；出现阳性反应则报告“HIV 抗体待复检”，用第二种筛查试剂复检。

（2）第二种筛查试剂（高特异性）复检，出现阴性反应进行确证试验；出现阳性反应用第三种筛查试剂进行确证。

（3）第三种筛查试剂（高特异性 ELISA）检测结果阴性则报告 HIV 抗体阴性；检测结果阳性，且 S/CO 比值大于或等于 6.0 者，可以出具“HIV-1 抗体阳性（+）”报告，使用“HIV 抗体替代策

略检测报告单”（附表 4）。ELISA 试剂检测结果阴性或 S/CO 在 1.0～5.9 之间，须进行确证试验。按照确证试验结果报告。

5.2.1.3　在发放检测报告的同时上报疫情。

5.2.1.4　做好检测后咨询。

5.2.2　HIV 感染产妇所生儿童 HIV 抗体检测策略及流程　（图 4）

5.2.2.1　适用范围

HIV 感染产妇所生婴幼儿；已满 18 个月的婴幼儿，其母亲 HIV 感染状态不详，儿童出现 HIV 相关临床表现，临床怀疑 HIV 感染的儿童。

5.2.2.2　检测程序及结果报告

（1）婴儿满 12 个月进行第一次 HIV 抗体检测。使用两种不同原理或不同厂家筛查试剂进行抗体检测，两种筛查试剂检测结果均为阴性反应，报告“HIV 抗体阴性（－）”，可排除感染。检测结果出现阳性反应（一种为阴性反应一种为阳性反应或两种均呈阳性反应），不能排除感染，应继续追踪随访，至儿童满 18 个月时再次进行 HIV 抗体检测。

（2）婴儿满 18 个月时应再次进行 HIV 抗体检测。使用两种不同原理或不同厂家筛查试剂进行抗体检测。两种筛查试剂的检测结果均为阴性反应，报告“HIV 抗体阴性（－）”，可排除感染。检测出现阳性反应（一种为阴性反应一种为阳性反应或两种均呈阳性反应），进一步进行确证试验，根据确证试验的结果判断是否感染 HIV（图 4）。

（3）在发放检测报告的同时上报疫情。

（4）做好检测后咨询。

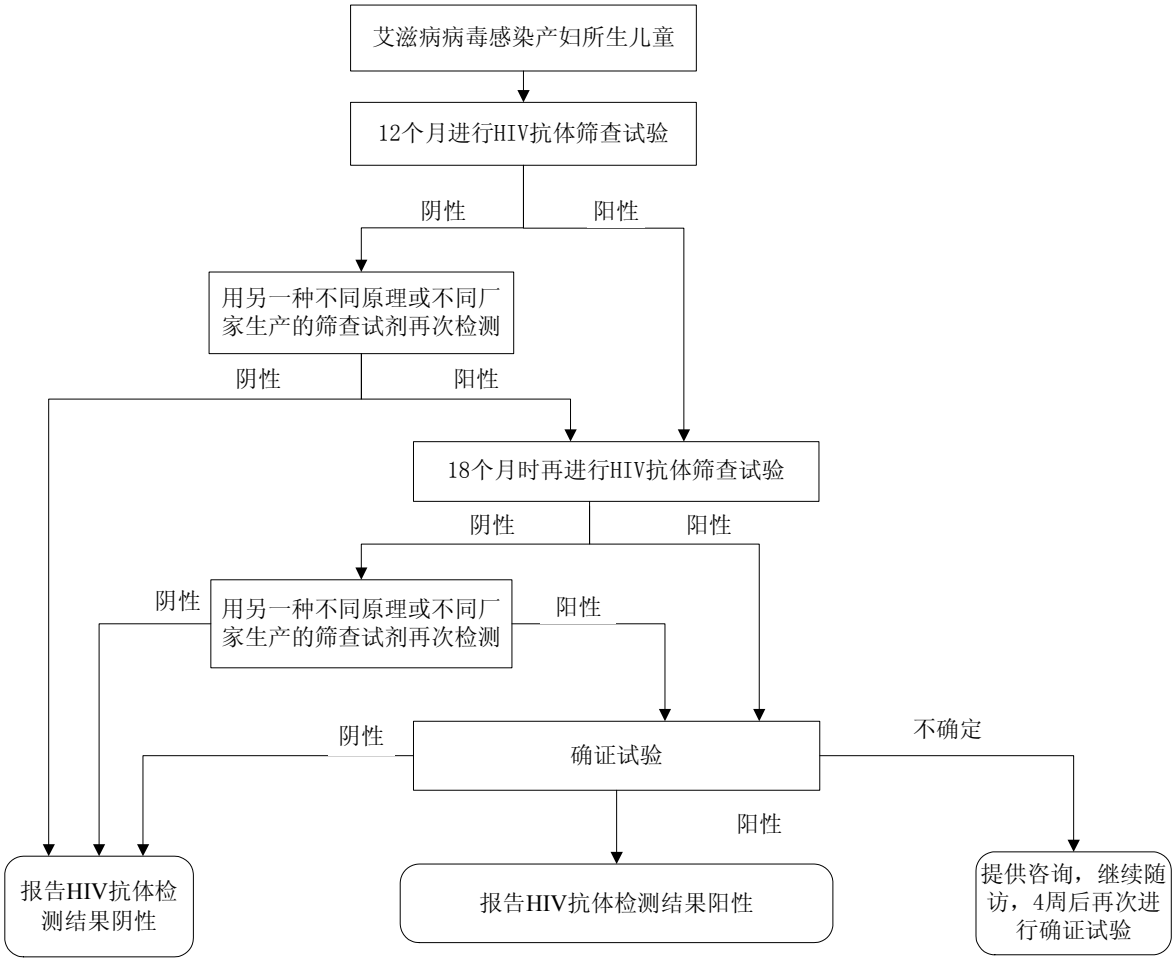

图4　艾滋病感染产妇所生儿童HIV抗体检测流程

5.2.3　HIV-1 新近感染检测

HIV 常规抗体检测方法可以判定感染和未感染状态，新近感染检测方法则用于识别近期感染与既往感染。目前，检测 HIV 新近感染的血清学方法中，研究和应用最多的是 BED-EIA HIV-1 捕获 EIA 方法（BED-CEIA），其原理是根据 HIV 特异性 IgG 占总 IgG 抗体的比例随着感染时间的延长而逐渐增高。应用 BED-CEIA 进行新近感染检测只适用于 HIV 阳性样品。由于个体间抗体生成的变异性，对个体而言，BED 结果的预测值偏低，而且在个体水平上，BED 检测可能产生一定的假阳性和假阴性，但在人群水平上，假阳性的数目与假阴性的数目相近，因此可以相互抵消彼此的作用。美国 FDA 将 BED-CEIA 归为“只应用于监测目的，不能用于个体诊断和临床”的实验方法。该方法用于监测及发病率计算的条件参见“HIV 新近感染监测方案”。

5.2.3.1　新近感染检测样品的入选标准

（1）新近感染检测必须应用诊断为 HIV-1 阳性的血样，禁止将 HIV 阴性样品纳入新近感染检测。

（2）使用替代策略进行常规监测的地区，若将其 HIV 阳性样品纳入新近感染检测，对于 BED－CEIA 抗体梯度试验检测 OD-n 值<0.3 的样品，需要对该样品进行确证检测，以排除潜在的 HIV 阴性样品。

（3）用于新近感染检测的样品，可以使用常规监测确证为 HIV 阳性的剩余/库存样品，不必重新采样。样品必须按照要求保存在-20℃以下，反复冻融次数小于 3 次。

（4）每份样品量不少于 0.5ml。要求清亮、无严重溶血。

（5）没有交叉污染，个案信息全面准确。

（6）用于新近感染检测的阳性样品数量必须占总阳性样品的 80%以上，否则不推荐纳入新近感染检测。

（7）如果同一人在 3 个月内出现 2 份或 2 份以上的确证阳性样品，将第一份样品纳入新近感染检测，其余样品从总样品中删除。

5.2.3.2　新近感染检测样品排除标准

（1）已经向监测系统报告过的感染者的样品（非初次诊断阳性者），该样品采集时间距 HIV 阳性检测记录已经超过 3 个月。

（2）所有艾滋病病人样品。

（3）所有接受抗病毒治疗病人样品。

5.2.3.3　参加新近感染检测的实验室每年至少接受二次国家参比实验室组织的能力验证（PT），通过考核后方可开始检测。

6　以监测为目的的检测策略

6.1　适用范围

全国艾滋病疫情监测。

6.2　检测程序及结果报告　（图 5）

6.2.1　先用第一种筛查试剂（高敏感性 ELISA）检测，出现阴性反应报告“HIV 抗体阴性（-）”。出现阳性反应则用另一种不同原理或不同厂家的筛查试剂（高特异性 ELISA）复检。

6.2.2　初筛和复检均为阳性，且样品 OD 值与临界值（Cutoff）的比值（S/CO）均≥6.0 者可作阳性考虑，上报疫情（附表 5）；初筛与复检任何一种试剂检测结果 S/CO 比值在 1.0～5.9 之间，或复检结果出现阴性反应，应进一步作确证试验，按照确证试验的标准判断结果（图 5）。

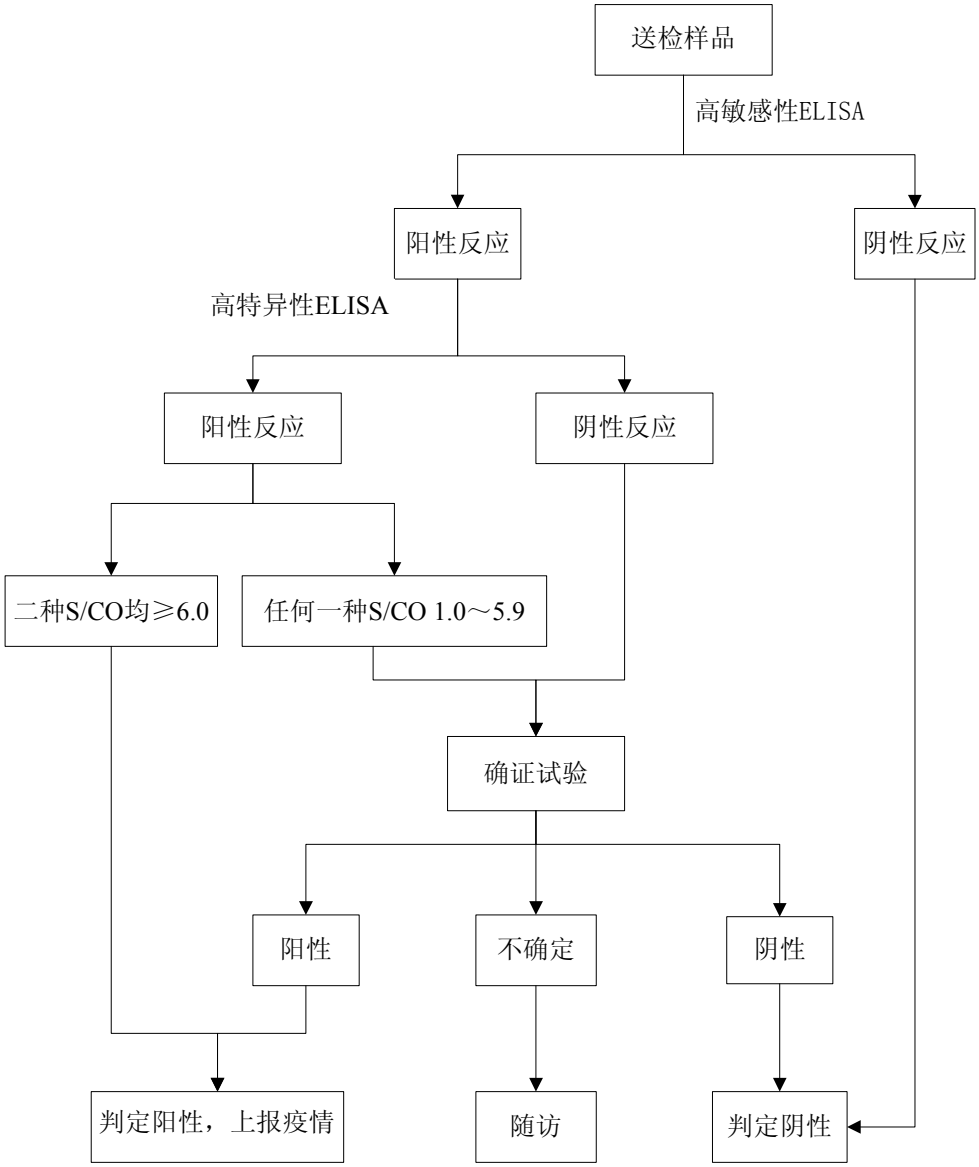

图5　　HIV感染疫情报告检测流程

6.2.3　发放检测报告的同时上报疫情。

6.2.4　对报告阳性者做好检测后咨询。

6.2.5　本程序仅用于流行病学监测和无关联检测，结果不得报告给个人。

7　以血液筛查为目的的检测策略

参照血液系统相关规定执行

8　艾滋病检测实验室检测信息上报

各级艾滋病检测实验室所在机构每月应填写《HIV抗体检测数及阳性人数统计报表》(附表6)，并于每月10日前完成网络直报。未开展网络直报的单位，由县级疾病预防控制机构收集信息后统一上报。

9 质量控制

9.1 抗体检测的统计学室内质量控制

9.1.1 试剂盒内部对照

试剂盒内部对照质控品即为试剂盒内提供的阳性和阴性对照血清。试剂盒内部对照用于判断每次实验的有效性，但不能作为室内质控品使用。每一次检测临床样品时，必须有试剂盒内部对照，而且只能在同批号的试剂盒中使用。内部对照结果无效，必须重新试验。

9.1.2 室内质控品

为非试剂盒组份的外部质控品，是为了监控检测的重复性而设置的，包括强阳性、弱阳性和阴性质控血清。也可以只设置一个弱阳性质控，以该试剂盒临界值（Cut-off）的 2～3 倍为宜。外部质控品的作用是，判断该批临床样品检测的有效性，因此，每次实验必须包含室内质控品，其结果无效，必须重新试验。室内质控品可以是商品或实验室自行制备。

9.1.2.1 室内质控品的使用和质量要求

每一次实验必须使用室内质控品，以便监控实验的重复性。同时可以了解各批试剂盒的批间或孔间差异。室内质控品的管间或瓶间变异必须小于监测系统预期的变异（cv＜20%，并且质控品应稳定、无菌，且不含有影响试剂反应的防腐剂。

9.1.2.2 统计室内质控的主要表示方法—建立质控图

最常用的质控图是 Levey-Jennings 质控图，该图使用累计和技术或趋势分析技术的图形提供系统偏移和漂移的状况。下面以 ELISA 方法检测 HIV 抗体为例，描述建立质控图步骤：

9.1.3.1 建立质控图参数

外部质控品的均值和标准差应建立在实验室常规使用方法对外部质控品重复测定的基础上。一般采用在不同批次检测取得至少 20 个数据；如果仅做少量批次的检测，也至少做 5 个批次的检测，每个批次中不少于 4 个质控血清测定结果，以建立一个临时性的均值和标准差，当达到 20 批次数据后，替代临时性的均值和标准差。

（1）算术平均值（$\bar{x}$）：代表一组质控血清测定的 S/CO 值的均值。为了统计学上有显著性意义，应该采用至少 20 次（天）所测得的外部对照质控血清 S/CO 值结果计算出平均值。

（2）标准差（s）：是描述样品与均数之间离散程度的一个指标，是与质控血清 S/CO 值均值有关的预期范围。一组 S/CO 值的标准差以 s 表示。

（3）变异系数（cv）：是反映各次 S/CO 值相对于均值离散程度的一个指标，可以用来衡量检测的重复性或精密度。

（4）控制限：由实验室根据对外部质控品检测结果的均值和标准差来确定。例如 1_{2S} 质控规则的控制限为外部质控品 S/CO 均值加减 2 个标准差；1_{3S} 质控规则的控制限为外部质控品 S/CO 均值加减 3 个标准差。

$\bar{x}$ 计算公式为：

$$\bar{x} = \frac{\Sigma x}{n}$$

s 计算公式为：

$$s = \sqrt{\frac{\Sigma (x_n - \bar{x})^2}{n-1}}$$

cv 计算公式为：

$$cv = \frac{s}{\bar{x}} \times 100\ \%$$

9.1.3.2　绘制质控图

质控图是把检测数据与已确定的（计算出的）“控制限”进行比较的图，包含一条中心横线和其上、下两条平行的控制线，并按时间顺序点入本实验室每批次试验质控血清的测定值。质控图绘制步骤包括：

（1）在常规条件下，对同一批血清连续测定 20 次（天）或以上，获得一组 S/CO 值，求均数（$\bar{x}$）和标准差（s），超出 $2s$ 或 $3s$ 的数据不应删除。

（2）将均值（$\bar{x}$）和标准差（s）分别在质控框架图中标示出来。以 S/CO 值作纵座标（Y 轴），每一批次试验作横座标（x 轴），绘制质控图。

（3）从第 21 次起，将每次质控血清的检测结果依次点入该质控框架图中，检验进入质控状态。

9.1.3.3　质控规则及其使用

实验室在报告实验结果之前必须评价质控数据，可通过图形记录的检查或由计算机审核结果来决定。目前有许多质控规则，常用的是 1_{2S} 和 1_{3S} 规则。

（1）告警（1_{2S}）：当外部质控品的 S/CO 值超出 $\bar{x}$+2s 范围时，系统处于告警状态，应予注意，是否可以继续检测需要进一步观察。若将 1_{2S} 做失控标准，有较高的假失控概率，所以一般不采用。

（2）失控（1_{3S}）：当外部质控品的 S/CO 值超出 $\bar{x}$+3s 范围时，系统处于失控状态，本次实验结果不能被接受，可能是系统误差、随机误差或外部质控品 稳定性下降所致。

（3）漂移：连续几次（3～5 次）外部质控品的 S/CO 值都落在均值的一侧则称为漂移，提示实验条件发生了较大的变化。

（4）趋势：连续几次（5～7 次）外部质控品的 S/CO 值几乎按一个方向分布时称为趋势，通常由参数的缓慢改变引起。

质控规则的使用应检出随机误差和系统误差，即具有高的检出分析误差的能力，同时应具有较低的假失控概率。考察试验系统的可靠性应采用多规则质控方案，多规则质控方法能提高误差检出，并具有低的假失控概率。其要点为：

出现一次 2s 范围的变化时，系统处于告警状态，应予注意，是否可以继续检测需要进一步观察。

出现下列情况时，应暂停检测查找原因：（1）出现一次超出 3s 范围的变化；（2）连续两次出现同一方向超出 2s 范围的变化；（3）连续四次出现同一方向的超出 1s 范围的变化；（4）连续 10 次结果都在 1s 范围内，但落在均值线的同一侧。

9.1.3.4　质控图的分析及失控处理

实验室应建立质控图分析及失控情况处理程序。当质控已有计划并恰当地执行时，要求可靠的均值和标准差用于计算质控限，将假失控概率降到最低。当出现失控时，对原有外部质控品重复测定或更换新的外部质控品进行测定不是最有效的方法，必须找出问题发生的原因，找出解除问题的方法，并消除原因，防止将来出现同样的问题。

绘制和分析质控图的要点:

（1）分析数据时，超出 2s 或 3s 的数据不应删除。

（2）由专人负责建立质控图，每月定期召开质控分析会，讨论本月的质量控制情况。

（3）建议长期和稳定地使用一种质量好的试剂，更换不同厂家的试剂后，须重新绘制质控图。改用新批号试剂如外部质控品测定出现较大变化也应重新制作质控图。使用新批号或不同厂家的试剂,必须在质控图上注明使用日期。

（4）发现质控结果失控，应填写报告单，上交质量负责人，分析原因并决定是否发出检测报告。

（5）使用新批次的外部质控品时，如测定值出现较大变化，须重新绘制质控图。变异系数（cv）小于 20%，表示外部质控品处于稳定状态。

9.1.4　室内质控其他方式—“即刻法”质控

“即刻法”质控方法是在对同一批外部质控血清连续测定 3 次后，即可对第 3 次检验结果进行质控。具体计算方法如下：

9.1.4.1　将质控血清的测定值从小到大排列：x_1，x_2，x_3……x_n（x_1 为最小值，x_n 为最大值）。

9.1.4.2　计算 $\bar{x}$ 和 s。

9.1.4.3　计算 $SI_{上限值}$ 和 $SI_{下限值}$。

$$SI_{上限}=\frac{X\text{最大值}-\bar{x}}{s}$$

$$SI_{下限}=\frac{\bar{x}-X\text{最小值}}{s}$$

9.1.4.4　将 $SI_{上限}$、$SI_{下限}$与 SI 值表（表 1）中的数字比较。

表 1　SI 值表

N	N_{3s}	N_{2s}	n	n_{3s}	N_{2s}
3	1.16	1.15	12	2.55	2.29
4	1.49	1.46	13	2.61	2.33
5	1.75	1.67	14	2.66	2.37
6	1.94	1.82	15	2.71	2.41
7	2.10	1.94	16	2.75	2.44
8	2.22	2.03	17	2.79	2.47
9	2.32	2.11	18	2.82	2.50
10	2.41	2.18	19	2.85	2.53
11	2.48	2.23	20	2.88	2.56

（1）当 $SI_{上限}$和 $SI_{下限}$<n_{2s}时表示处于控制范围内，可以继续测定。继续重复以上各项计算。

（2）当 $SI_{上限}$和 $SI_{下限}$有一值处于 n_{2s}～n_{3s}值之间时说明该值在 2s～3s 范围，处于“告警”状态。

（3）当 $SI_{上限}$和 $SI_{下限}$有一值> n_{3s}值时说明该值已在 3s 范围之外，属“失控”。

“即刻法”只能在前 20 次内使用，超出即可采用 L-J 质控图方法。

9.2　快速检测质控

9.2.1　试剂内对照

在质控窗口内出现质控带，该质控带是试剂自带的内部过程质控，说明实验操作全部完成并且实验所用材料处于工作状态。清洁的检测区背景是内部阴性过程质控。如实验完成后未呈现红色质控带，说明试剂盒内质控无效，该试验结果无效，样品须重检。

9.2.2　外部质控品对照

9.2.2.1　外部对照质控品，可采用商用质控品或自制质控品。质控品应包含抗体阳性样品和阴性样品。自制质控品可使用本室保留的阳性样品。不能使用酶联试验的外部质控品。

9.2.2.2　下列情况需做质量控制：更换试剂批号；更换检测人员；更换包装；每个检测日；更换试剂厂家。

9.2.2.3　出现以下问题，提示存在质量隐患，应引起重视：运输包装、内盒或试剂盒的物理损伤；在单包装内存在混杂物质；标签出现错误、缺失或字迹模糊 （特别是产品名称或出产厂家名称，批号和货号，失效期或/和生产日期）；缺失目录；泄漏或污染；不适宜的存放条件；保护包装纸破损或污染；未达到质量控制标准（阳性/阴性控制结果以及质控条带出现与否等标志）。

9.2.2.4　除上述情况以外，建议：每个检测日检测一次阳性和阴性质控品；如果日检测量大于 50 份样品，至少应作 2 次质控。

9.2.2.5　开展快速检测的确证实验室须参加中国 CDC 组织的检测能力验证，开展快速检测的筛查实验室及检测点须参加省级或地市级 CDC 组织的实验室能力验证。

第三章　HIV-1 抗原检测

1　范围

本章规定了 HIV-1P24 抗原检测的方法和用途。 适用于对人血液标本和病毒培养上清液中 HIV-1P24 抗原的检测。

2　规范性引用文件

NIAID，Virology Manual for HIV Laboratory, NIH Publication,No.97-3828, Jan 1997

3　HIV－1P24 抗原检测的意义

3.1　HIV-1 感染窗口期、HIV 抗体不确定或 HIV-1 阳性母亲所生婴儿的鉴别诊断。

3.2　第四代 HIV 检测试剂的阳性结果的辅助诊断。

3.3　监测病程进展或抗病毒治疗效果。

3.4　HIV 分离培养，病毒复制状况的监测。

4　实验室要求

同 HIV 抗体检测。

5　检测方法及程序

5.1　试剂：抗体夹心 ELISA 方法，应使用经国家药品监督管理局批准注册的试剂。

5.2　样品：血清、血浆或病毒培养上清液。

5.3　定性检测

5.3.1　筛选试验

按照试剂盒说明书提供的标准判断有反应或无反应。

5.3.2　确证试验

是 P24 抗原的中和试验，用于排除筛选试验的假阳性。待检样品先与中和剂（P24 抗原的抗体）共同孵育，如果样品中存在 P24 抗原，中和抗体将与之结合形成复合物，而不能与固相载体上的捕获抗体结合。然后，用这样处理过的样品重复筛选实验的步骤，同时做一孔未中和的原始样品对照，将中和与未中和孔的 OD 值进行比较，如果中和孔的 OD 值下降 50 % 以上，认为样品中的 P24 抗原是真正的阳性；如果中和孔没有出现 OD 值的下降，认为 P24 抗原的反应性可能是假阳性，需要做 RNA 检测或随访做进一步确证。

5.4　定量检测

将 P24 抗原的标准物质稀释成包含 0.0 和 125pg/ml 二个浓度在内的六个不同浓度的系列标准，进行检测。以横坐标为 P24 抗原的浓度（pg/ml ），纵坐标为 OD 值，绘制出标准曲线。测出

未知标本的 OD 值以后，在标准曲线上查出抗原的浓度。如果未知标本的 OD 值超出标准曲线上最高抗原浓度的 OD 值，则需用正常人血清将标本稀释以后再行检测。

5.5　结果报告和解释

5.5.1　HIV-1 P24 抗原筛选试验有反应的标本必须经过中和试验确证以后才能判断阳性或阴性。

5.5.2　HIV-1 P24 抗原阳性仅作为 HIV 感染的辅助诊断依据，不能据此确诊。

5.5.3　HIV-1 P24 抗原阴性结果不能排除 HIV 感染。

5.5.4　监测病程进展或抗病毒治疗效果应进行 HIV-1 P24 抗原的定量检测。

6　质量保证和质量控制

6.1　检验人员应接受过 HIV-1P24 抗原检测的技术培训。

6.2　定性检测时，内部对照应满足试剂盒规定的条件，还可以使用含有中等浓度 HIV-1P24 抗原的质控品（血浆或病毒培养上清液）作为外部对照，按照常规的质控方法，绘制质控图，进行外部质控。中和试验应使用试剂盒提供的中和抗体，适用已知 P24 抗原阳性的样品作为阳性对照，阳性对照的中和孔，OD 值应下降 50%以上。

6.3　定量检测时，0.0 和 125pg/ml 二个浓度的 OD 值应在试剂盒说明书规定的范围内。

第四章　HIV 核酸检测

1　范围

本章规定了 HIV 核酸定性和定量检测（病毒载量）的意义、实验室要求、检测方法、质量控制及结果判定标准，适用于 HIV-1 核酸的定性检测和病毒载量的测定。

2　规范性引用文件

卫生部关于印发《临床基因扩增检验实验室管理暂行办法》的通知（卫医发[2002]第10号）

Butcher A, Spadoro J: Using PCR for detection of HIV-1 Infection. Clin Imm Newsletter, 1992，12:73－76.

http://www.niaid.nih.gov/daids/vir_manual/full_vir_manual.pdf

Guidelines for the Use of Antiretroviral HIV-Infected Adults and Adolescents MMWR Recommendations and Reports April 24, 1998/47（RR-5）; 42-82.

Bayer HIV-1 RNA3.0 Assay （bDNA） Operation manual Rev.2006-07

Roche AMPLICOR HIV MONITOR™ TEST Procedure Manual,version 1.5

Nuclisens ® EasyQHIV-1 Operation Manual, V1.0-2, 2002-05

Fractions of HIV-1 Seropositive Persons by Two Nucleic Acid Amplification Assays, AIDS Research and Human Retrovirus 1993，9:259-265.

《HIV-1 病毒载量测定及质量保证指南（试行）》（（中国疾病预防控制中心，2008 年 2 月）

3　核酸检测的意义

3.1　早期诊断

婴儿的早期诊断：HIV 感染母亲所生小于 18 个月龄的婴儿，不同时间的两次 HIV 核酸检测均为阳性即可作出诊断。18 个月龄以上儿童诊断与成人相同：有急性 HIV 感染综合症或流行病学史，且不同时间的两次 HIV 核酸检测结果均为阳性，即可诊断。

也可使用多样品集合的方法，对采供血机构的原料血浆以及 HIV 抗体阴性的高危人群样品进行集合核酸检测，及时发现窗口期感染，降低“残余危险度”，减少二代传播。

3.2　疑难样本的辅助诊断

在一般情况下，HIV 抗体检测足以对 HIV 感染与否做出正确诊断，但在特殊情况下，单纯 HIV 抗体检测结果不能进行明确的诊断，如在感染早期或疾病终末期出现抗体不确定反应时，RNA 的测定结果可帮助提供 HIV 感染早期或终末期的证据。由于试剂的灵敏度、接受有效的抗病毒治疗后以及存在长期低水平病毒的少数感染者等原因，应对其它检测数据和样品背景情况进行综合判断。

3.3　遗传变异监测

可用于 HIV 分子流行病学监测，包括 HIV-1 和 HIV-2 感染的鉴别诊断、HIV 感染传播链的分析、HIV 基因亚型和重组病毒的鉴定和分析以及人群 HIV 遗传变异趋势的监测。

3.4　耐药性监测

可用于 HIV 耐药检测和监测，指导公共卫生医生了解耐药性病毒株流行的态势和指导临床医生判断抗病毒治疗效果和修改抗病毒治疗方案。

3.5　病程监控及预测

HIV 感染发生后病毒载量变化具有一定规律，这种变化与疾病的进程有着密切的相关性。因此定期进行病毒载量检测有助于确定疾病发展的阶段，以确定相应的治疗方案。

HIV 病毒载量与 6 年发病率的关系为：病毒载量<500c/ml 时发病率为 5.4%；501～3，000c/ml 时为 16.6%，3，001～10，000c/ml 时为 31.7%；10，001～30，000c/ml 时为 55.2%；>30，000c/ml 时则为 80%。当 HIV 感染者 CD4+T 细胞计数＜200/μl 时，病毒载量与 3～6 个月发展至 AIDS 的危险为：病毒载量＜10，000c/ml 时发病率为 4.9%；10，000～29，999c/ml 时为 12.7%；30，000～99，990c/ml 时为 17.7%；＞100，000c/ml 时为 22.4%。

3.6　指导抗病毒治疗及疗效判定

通常在病毒载量达到一定水平后（如>35，000～50，000c/ml）抗病毒治疗才显示良好的治疗效果。治疗后，通过病毒水平的检测能够确定治疗是否有效。通常在治疗 6 个月后病毒水平降低 0.5 log 以上才被认为临床有效。

4　HIV 核酸检测实验室要求

HIV 核酸检测应在合适的实验室中进行，应建立与实验和实验室管理相关的标准操作指导书和制定严格的管理制度，工作人员必须充分了解各项规定并严格遵照执行。

4.1　实验室分区和功能

实验室应设置两个独立的工作区域：核酸扩增前区和核酸扩增后区。核酸扩增前区包括试剂准备区和样品处理区，设在不同房间或区域；核酸扩增后区包括扩增区和扩增产物分析区，设在不同的房间或区域。各区的功能是：

4.1.1　试剂准备区：扩增试剂的储备、配制和分装。

4.1.2　样品处理区：样品登记、处理和分装；核酸提取、保存和使用，PCR 扩增的第一轮加样。

4.1.3　扩增区：核酸扩增。如果在此区进行套式 PCR 的第二轮加样，应在 PCR 防护罩内进行。

4.1.4　扩增产物分析区：扩增产物的电泳、杂交、成像、序列测定、结果分析、登记及报告。

在满足下列要求的前提下，核酸扩增前区或核酸扩增后区可设在一个房间内：

4.1.4.1　核酸扩增前区实验室内设置两个不同位置的实验区，试剂配置在超净工作台中操作，样品处理在生物安全柜内操作。

4.1.4.2　在核酸扩增后区使用全封闭的扩增和检测系统时，如实时荧光 PCR 仪等。

4.1.4.3　每个实验人员使用各自的试剂、耗材、移液器和盛放污染物的盛器。

4.1.4.4　在实验前后对操作区域和共享器具进行清洁及消毒。

4.1.4.5　各区域的试剂、器具、仪器和设备为该区专用，不得交叉使用。

4.2　实验室人员和要求

进行 HIV 核酸检测的人员须具有艾滋病检测实验室的上岗资格，接受过省级以上的实验操作技术及艾滋病实验室生物安全培训及厂家的培训。

4.3　实验室设施和设备

4.3.1　根据检测项目配备相应的设施和设备。

4.3.2　各区域的设施和设备为专用，应根据实验要求在相应区域配置。

4.3.3　试剂准备区：配置冰箱、超净工作台、普通离心机、加样器、振荡器、废弃物容器、可移动紫外灯。

4.3.4　样品处理区：配置-80℃冰箱、生物安全柜、高速制冷离心机、加样器、振荡器、制冰器或制冷模块、恒温水浴或干浴、上下水设备、废弃物容器、紫外灯。

4.3.5　扩增区：配置核酸扩增仪、普通冰箱、无层流 PCR 操作柜或超净工作台、微型离心机、加样器、废弃物容器、紫外灯。

4.3.6　扩增产物分析区：配置电泳仪、电泳槽、加样器、紫外透射仪、摄影/像设备、普通冰箱、普通离心机、恒温水浴、微波炉、上下水设备、废弃物容器、紫外灯等。测序仪可安置在其他专门实验区。

4.3.7　各区域应使用专用或一次性工作服、帽子、口罩鞋套及袖套，配备防紫外线眼镜。

4.4　实验室生物安全

必须符合艾滋病实验室的通用生物安全要求。

4.5　防止实验室核酸残余（Carry-over）污染措施

4.5.1　严格执行实验室分区制度。

4.5.2　各区域只用于特定的操作，不得从事其它工作。

4.5.3　仪器和材料的专用制度

仪器、设备、材料、设施均应按工作区域进行标识，不得交叉混用。

4.5.4　单向工作流向制度

4.5.4.1　实验室的气流应从扩增前区流向扩增后区，不得逆向流动。建议扩增前区保持弱正压状态，扩增后区保持弱负压状态。

4.5.4.2　实验人员单向工作流向应该为：试剂准备区→样品处理区→扩增区→扩增产物分析区，不得逆向流动。原则上实验人员在扩增后区工作后当天不能再返回扩增前区工作。

4.5.4.3　实验用品单向工作流向应该为：试剂准备区→样品处理区→扩增区→扩增产物分析区，不得逆向流动。实验用品包括实验材料（试剂、样品和扩增产物）、实验器材（容器、板架、实验服、帽子、口罩、手套、鞋套）、办公用品（记录纸、笔等）、以及清洁材料等。

4.5.5　实验室防止核酸残余污染的处理程序

4.5.5.1　实验前将 70%乙醇或 0.1～1%次氯酸钠溶液或涂布于操作台或器具表面，两分钟后用纸巾擦净。

4.5.5.2　实验前移入所需的试剂、耗材、样品以及盛放污染物的盛器。

4.5.5.3　用于定性与定量核酸检测的所有试剂、耗材、移液器等必须分开使用。实验结束后取

出个人专用物品至存放区；封闭污染物盛器并置入污物袋；取出共用器具至存放区；将 70%乙醇或 0.1～1%次氯酸钠溶液涂布于操作台或器具表面，两分钟后用纸巾擦净；打开紫外灯照射至少 1 小时。

4.5.5.4　定期（每周）对实验室进行全面清洁，房间内所有工作台面、地面以及仪器设备表面用 70%乙醇或 0.1～1%次氯酸钠清洁，用紫外灯进行台面和空气消毒。定期（每月）对移液器进行清洁。

4.5.5.5　定期（每月）监测和报告实验室核酸残余污染情况，监测部位包括核酸检测前后区域各实验室以及共用走廊等。

4.5.5.6　每次试验后，将同批试验样品的 DNA 序列以及与上一批试验样品的 DNA 序列一起进行遗传进化树污染分析。

4.6　废弃物处理制度

4.6.1　所有废弃物应按照 HIV 污染物品处理。

4.6.2　化学物品如溴乙啶处理的琼脂糖凝胶应该按有关方案处理。

5　HIV 核酸检测方法及程序

5.1　HIV 核酸定性检测

5.1.1　方法和试剂

5.1.1.1　方法

（1）检测方法为商品化试剂盒和实验室自建方法，商品化试剂应严格按说明书操作。下面介绍的方法是实验室自建方法，供参考。

（2）检测血浆或血清样品使用逆转录 PCR（RT-PCR）方法，建议第一轮 PCR 扩增使用 RT-PCR 一步法；检测血细胞或组织样品使用 PCR 方法。一般使用扩增两轮的套式 PCR 方法。

（3）设立阳性、阴性及空白对照。阳性对照为与待测样品同质、含有目的基因的样品；阴性对照为与待测样品同质、不含有目的基因的样品。阳性和阴性对照样品应与待检样品处理程序一致。阴性对照的设置数量应根据实验样品的数量设置在不同的位置。

5.1.1.2　试剂

（1）PCR 引物：一般使用扩增 HIV *gag* 和/或 *pol* 和/或 *env* 和/或 LTR 等引物。进行 RNA 逆转录时可使用下游特异性引物或随机引物。引物设计可参考文献或自行设计，应尽量涵盖常见的 HIV 流行毒株，也可使用兼并性引物。

（2）主要试剂：包括核酸提取纯化、逆转录、PCR 所需的试剂。使用商品化核酸提取纯化试剂、逆转录酶反应试剂和 PCR 扩增试剂。

（3）抗污染试剂：实验室自建检测方法可使用抗污染试剂，参考尿嘧啶 DNA 糖基化酶抗污染方法。

5.1.2　扩增目的基因片段

5.1.2.1　样品的采集和处理

见第一章“样品的采集和处理”。

5.1.2.2　核酸提取

可使用硅胶柱离心、磁性硅胶颗粒分离方法以及自动化仪器等商品化试剂或设备并按说明书操作。提取 RNA 时应注意防止 RNA 降解。DNA 应置于-20℃保存，RNA 和需长期保存的 DNA 应置于-80℃保存。

5.1.2.3　逆转录合成 cDNA

使用商品化试剂并按说明书操作。逆转录 cDNA 合成反应需使用逆转录引物、dNTPs、逆转录酶、RNA 酶抑制剂、DTT、缓冲液和适量无 RNA/DNA 酶的超纯水以及 RNA 模板。在扩增仪或水浴箱中，在规定的温度和时间下进行逆转录反应。建议使用商品化 RT-PCR 一步法试剂进行第一轮扩增反应。

5.1.2.4　PCR 扩增反应

使用商品化试剂按说明书操作。PCR 反应需使用引物、dNTPs、DNA 聚合酶（如 *Taq* 酶等）、缓冲液、和适量无 RNA/DNA 酶超纯水、以及模板（DNA 或 cDNA）。在扩增仪中，按照设定的程序进行扩增。一般使用二次扩增的套式 PCR 扩增方法。

5.1.3　扩增产物分析及结果报告

5.1.3.1　扩增产物分析

扩增产物常用分析方法是琼脂糖凝胶电泳法，与分子量标准比较，判断扩增片段是否在预期的分子量范围内。其它扩增产物分析方法还有限制性内切酶酶切分析、特异性探针杂交分析以及 DNA 序列分析等。自动化核酸扩增仪使用酶联比色分析或荧光探针杂交等原理测定。

5.1.3.2　结果判定和报告

（1）实验成立的条件：每一次检测需同时做两个阳性对照、两个阴性对照，只有阳性对照扩增出预期的片段、阴性对照没有扩增出任何片段、双份平行样品结果一致的情况下实验才成立，可以作出核酸阳性或阴性反应结果的判定。

（2）HIV 核酸检测阳性：使用商品化检测试剂，发现核酸阳性反应，应该重复采集样品进行复测，复测结果呈核酸阳性反应则判定为核酸阳性，复测结果为核酸阴性反应则判为不确定结果，需进一步随访检测。

（3）HIV 核酸检测阴性：只可报告本次实验结果阴性。

（4）应在完成检测后 7 个工作日内发出检测报告。

5.2　HIV 核酸定量检测

5.2.1　方法

HIV 核酸定量检测主要基于靶核酸扩增 RT-PCR 和信号放大扩增两种方法。国内常用的方法中，NucliSens Esay Q HIV-1 v1.1 采用国际单位（IU/ml），与 NASBA 的拷贝数关系基本为 1:1；Amplicor Cobas 的拷贝数约为 1.2～1.5 国际单位；bDNA 方法的拷贝数约为 0.8～1.0 国际单位。不同方法的关系与 HIV 的亚型有关。

5.2.2　试剂

必须使用经中国药品生物制品监督管理局注册批准的商品化试剂并严格按说明书操作。

5.2.2.1　靶核酸扩增试剂和性能

（1）RT-PCR 扩增试剂

1）Amplicor HIV-1 Monitor v1.5（RT-PCR 微孔板捕获比色分析法），核酸手工提取（异丙醇沉淀），比色分析测定。扩增靶核酸位置是 *gag* 基因区，可扩增 HIV-1M 组的 A-H 基因亚型。标准法的检测线性范围是 400～750，000；超敏法的线性范围是 50～100，000 RNA 拷贝/毫升。

2） COBAS Amplicor HIV-1 Monitor v1.5, 核酸手工提取（异丙醇沉淀），仪器测定。扩增靶核酸位置是 *gag* 基因区，可扩增 HIV-1M 组的 A-H 基因亚型。标准法的检测线性范围是 400～750，000；超敏法的线性范围是 50～100，000 RNA 拷贝/毫升。

3）COBAS AmpliPrep/COBAS Amplicor HIV-1 Monitor v1.5 （COBAS Amplicor 分析仪），仪器提取核酸，仪器测定。扩增靶核酸位置是 *gag* 基因区，可扩增 HIV-1M 组的 A-H 基因亚型。标准方法的检测线性范围是 400～1，000，000；超敏方法的线性范围是 50～100，000 RNA 拷贝/毫升。

以上三种试剂均采用基于 PCR 扩增靶核酸检测法，仅在设备的使用、自动化程度和样品制备的方法有所不同。

4）COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HIV-1 Test（实时荧光探针 RT-PCR 分析法），仪器提取核酸,实时荧光探针 PCR 扩增仪器测定。扩增靶核酸位置是 *gag* 基因区，可扩增 HIV-1M 组的 A-H 基因亚型。检测线性范围是 40～10，000，000 RNA 拷贝/毫升，比上述三种方法的检测线性范围要宽，样品可不经稀释一次完成检测。

以上四种试剂均使用一个内部定量标准品，1 个阴性、1 个弱阳性和 1 个强阳性外部外部质控品。均使用 dUTP/UNG 防污染试剂。

5）LCx HIV RNA Quantitative Assay（竞争性 RT-PCR 微颗粒酶免疫分析法），手工或仪器提取核酸（活化硅胶柱纯化），仪器测定。扩增靶核酸位置是 *pol*（整合酶）基因区，可扩增 HIV-1 基因 M 组的 A-G 亚型和 O 组病毒，尤其可检测 M 组 C 基因亚型和一些重组病毒。检测线性范围是 50～1，000，000 RNA 拷贝/毫升；使用一个内部定量标准品和六个外部定量标准品。

6） RealTime HIV-1 Assay（实时荧光探针 RT-PCR 分析法），使用独特的双链荧光探针。手工或仪器提取核酸（磁性颗粒纯化），仪器测定。扩增靶核酸位置是 *pol*（整合酶）基因区，扩增 HIV-1 基因亚型是 M 组的 A-G 亚型和 O 组以及 N 组病毒。检测线性范围是 40～1，000，000 RNA 拷贝/毫升。使用一个内部定量标准品。检测结果与 LCx HIV RNA Quantitative Assay 结果高度相关。

（2）基于核酸序列扩增试剂（NASBA 扩增技术）：以等温方式直接扩增 HIV-1 RNA。

NucliSens Esay Q HIV-1 v1.1（实时荧光探针分析法），使用荧光标记的分子信标探针技术检测扩增子。手工或仪器提取核酸（硅胶纯化，异丙醇沉淀），仪器测定。扩增靶核酸位置是 *gag* 基因区，扩增 HIV-1 基因亚型是 M 组的 A-G 亚型。检测线性范围是 50～3，000，000 RNA 国际单位/毫升；使用一个内部定量标准品，没有阴阳性外部外部质控品。每次检测 8 的整数倍样品，直至 48 个。检测结果与 Versant HIV-1 RNA、和 Amplicor HIV-1 Monitor v1.5 方法的结果有着高度的相关性。国际上已经推荐使用 V2.0 试剂盒。

5.2.2.2 信号放大扩增试剂和性能

Versant HIV-1 RNA 3.0.bDNA（分枝状 DNA 探针杂交微孔板捕获比色分析法），利用分枝状 DNA 多级信号放大原理。无需 RNA 纯化和 PCR 扩增步骤。离心浓缩病毒子并用去垢剂和蛋白酶 K 消化病毒释放病毒 RNA，仪器测定。扩增靶核酸位置是 *pol* 基因区，扩增 HIV-1 基因亚型是 M 组的 A-H 亚型，检测线性范围是 50～500，000 RNA 拷贝/毫升；使用六个外部定量标准品，1 个阴性、1 个弱阳性和 1 个强阳性外部外部质控品。每次可检测 12 的整数倍样品。

以上试剂均可使用 EDTA 和 ACD 作为样品的抗凝剂，NucliSens HIV-1 QT 和 NucliSens Esay Q HIV-1 v1.1 以及 Versant HIV-1 RNA 3.0.bDNA 试剂还可以使用肝素作为抗凝剂。如果必须使用经肝素处理的血浆样品进行 RT-PCR 扩增，则必须在样品中直接加肝素酶消化肝素。

5.2.2.3　实时荧光定量 PCR 技术

实时荧光定量 PCR 技术，是指在 PCR 反应体系中加入荧光基团，利用荧光信号积累实时监测整个 PCR 进程，最后通过标准曲线对未知模板进行定量分析的方法。每个反应管内的荧光信号到达设定的域值时所经历的循环数 Ct 值与该模板的起始拷贝数的对数存在线性关系。利用已知起始拷贝数的标准品可作出标准曲线，其中横坐标代表起始拷贝数的对数，纵坐标代表 Ct 值）。因此，只要获得未知样品的 Ct 值，即可从标准曲线上计算出该样品的起始拷贝数。

实时荧光定量 PCR 扩增的实验检测过程可分为：（1）样品制备,抽提和浓缩目标 RNA 分子，并除去可能存在的抑制因子。（2）Real-time PCR，检测 PCR 的产物使用荧光标记的寡核苷酸探针。检测的原理基于荧光信号增长曲线与循环数相关。（3）RT-PCR 反应，病毒 RNA 利用逆转录酶将 RNA 逆转录为 cDNA，然后通过 DNA 聚合酶对特定片段进行扩增。（4）扩增产物的检测，基于检测阈值的设定，当病毒载量高时，低循环数即能检测到荧光信号，当病毒载量低时，高循环数时才能检测到荧光。循环数与样品载量成线性关系。利用标准品制作循环数与载量的标准曲线就能对样品载量进行定量检测。

5.3　集合核酸定性检测　（Pooling PCR）

使用集合核酸扩增检测技术和方法，利用核酸检测方法的高度敏感性，对高度怀疑感染人群且抗体阴性的样品进行集合核酸检测，可及时发现窗口期感染者。该方法较单份样品的核酸检测具有更高的成本效益。

5.3.1　样品集合程序

5.3.1.1　根据预处理样品量，计算预形成一级和二级集合数量，在登记表格上记录一级和二级集合及对应的原始样品编号。

5.3.1.2　吸取 130μL 样品，移入标记二级集合的离心管中；10 份样品形成一个 1300μL 的二级集合样品，充分涡旋震荡混匀。

5.3.1.3　从 5 个二级集合管中分别吸取 210μL 样品，移入标记有一级集合的离心管中，形成由 50 份样品 1050μL 体积组成的一级集合样品，充分涡旋震荡混匀。

5.3.1.4　从每个一、二级集合管中吸取 500μL 集合样品，分装至另一相应标记的离心管，用超敏感核酸检测试剂进行检测。

5.3.1.5　制备阴性集合外部质控品：使用 50 份 HIV 抗体和核酸阴性样品，按上述步骤，分别集合成 5 个阴性二级集合外部质控品和 1 个一级集合外部质控品。

5.3.1.6　制备阳性集合外部质控品：从 9 份 HIV 抗体和核酸阴性样品和一份至少含有 HIV RNA10^3c/ml 阳性样品中，分别移取 130μL 加入离心管中，形成一个 1300μL 的阳性二级集合外部质控品。再分别从 4 个已制备好的阴性二级集合外部质控品和上述阳性二级集合外部质控品中，移取 210μL 至标记为一级阳性集合外部质控品的离心管中，形成一级阳性集合外部质控品。

5.3.1.7　一级和二级阴、阳性集合外部质控品分别用于 RT-PCR 中每一轮一级和二级集合样品的检测。

5.3.2　集合样品的检测和分解路线

使用商品化核酸检测试剂，应严格按照试剂说明书操作。按照各商品化核酸试剂集合 PCR 的方案进行检测，集合样品的数量根据各试剂方案操作。方法简述如下：

5.3.2.1　用 HIV RNA RT-PCR 超敏检测方法对一级集合样品进行检测，阳性反应的一级集合样品进入下一检测步骤。

5.3.2.2　用 HIV RNA RT-PCR 超敏检测方法对所有组成阳性一级集合的二级集合样品进行检测，阳性反应的二级集合样品进入下一检测步骤。

5.3.2.3　用 HIV RNA RT-PCR 标准检测方法检测所有组成阳性二级集合样品的的 10 份单个样品，确定核酸阳性的单个样品。

5.4　婴幼儿 HIV 感染核酸检测

HIV 感染产妇所生婴幼儿在出生后 18 个月内可应用 HIV 核酸（DNA 或 RNA）检测进行早期 HIV 感染诊断。尽管 HIV RNA 检测敏感性在感染早期较高（出生后 1 个月内），但是 HIV DNA 检测不受母亲围产期抗逆转录病毒治疗和人乳汁中抗逆转录病毒药物以及婴幼儿预防性抗逆转录病毒治疗的干扰而影响早期诊断。另外，考虑母亲血液污染因素，不推荐使用脐带血进行 HIV 核酸检测。婴幼儿的抗体检测流程和结果判断见第二章（HIV 抗体检测）。

5.4.1　适用范围

未满 18 个月的 HIV 感染产妇所生婴幼儿；未满 18 个月的婴幼儿，其母亲 HIV 感染状态不详，儿童出现 HIV 相关临床表现，临床怀疑 HIV 感染者。

5.4.2　检测程序及结果报告　（图 6）

5.4.2.1　于婴儿出生后 6 周（42 天）采集第一份血样本（血样本可制备成 DBS 或 EDTA 抗凝全血），送检。

5.4.2.2　若第一份血样本检测呈阳性反应，尽快再次采集第二份血样本进行检测。若两份血样本检测均呈阳性反应，报告“婴儿 HIV 感染早期诊断检测结果阳性”，诊断儿童 HIV 感染。及时对 HIV 感染儿童进行追踪和病情监测，将其转介到儿童抗病毒治疗医疗服务机构，并为其提供机会性感染预防等服务措施；若第二份血样本检测呈阴性反应，待婴儿满 3 个月再次采集血样本进行检测。若第一份血样本检测呈阴性反应，继续提供儿童保健和随访服务，待婴儿满 3 个月再次采集血样本进行检测。

5.4.2.3　若婴儿满 3 个月再次检测呈阴性反应，报告“婴儿 HIV 感染早期诊断检测结果阴性”，按照未感染儿童处理，继续提供儿童保健随访服务；于儿童满 12 个月时，按照“HIV 感染产妇所生儿童 HIV 抗体检测流程”（图 4），开始 HIV 抗体检测，最终确定儿童感染状态。若婴儿满 3

个月再次检测呈阳性反应，尽快再次采集血样本进行检测。第三份血样本检测呈阳性反应，报告“婴儿 HIV 感染早期诊断检测结果阳性”；若第三份血样本检测呈阴性反应，报告“婴儿 HIV 感染早期诊断检测结果阴性”；分别按照前述流程提供相应服务。

5.4.2.4　不同时间“婴儿 HIV 感染早期诊断”检测均呈阴性反应的喂哺母乳的儿童，应在完全停止喂哺母乳后的 6 周和 3 个月（若 6 周时检测结果为阳性可尽快）再次采血进行核酸定性检测，进行早期诊断。儿童满 18 个月后则可直接进行抗体检测。

5.4.2.5　如果婴儿第一次采血时已满 3 个月，但未满 12 个月，则应尽快在不同时间采集两份血样本；同时将两份血样本送检，按照前述流程进行检测。如果儿童第一次采血时已满 12 个月，则应首先按照“艾滋病感染产妇所生儿童 HIV 抗体检测流程”（ 图 4）进行 HIV 抗体检测。若两种不同原理或厂家生产的 HIV 抗体检测试剂检测结果均为阴性，则排除儿童感染；若 HIV 抗体检测试剂检测结果呈阳性反应，不能通过抗体检测确定儿童感染状态，则可在不同时间采集两份血样本，按照前述流程进行“婴儿 HIV 感染早期诊断”检测。如果儿童第一次采血时已满 18 个月，则应按照 HIV 抗体检测流程（图 1）进行 HIV 抗体检测，无需进行“婴儿 HIV 感染早期诊断”检测。

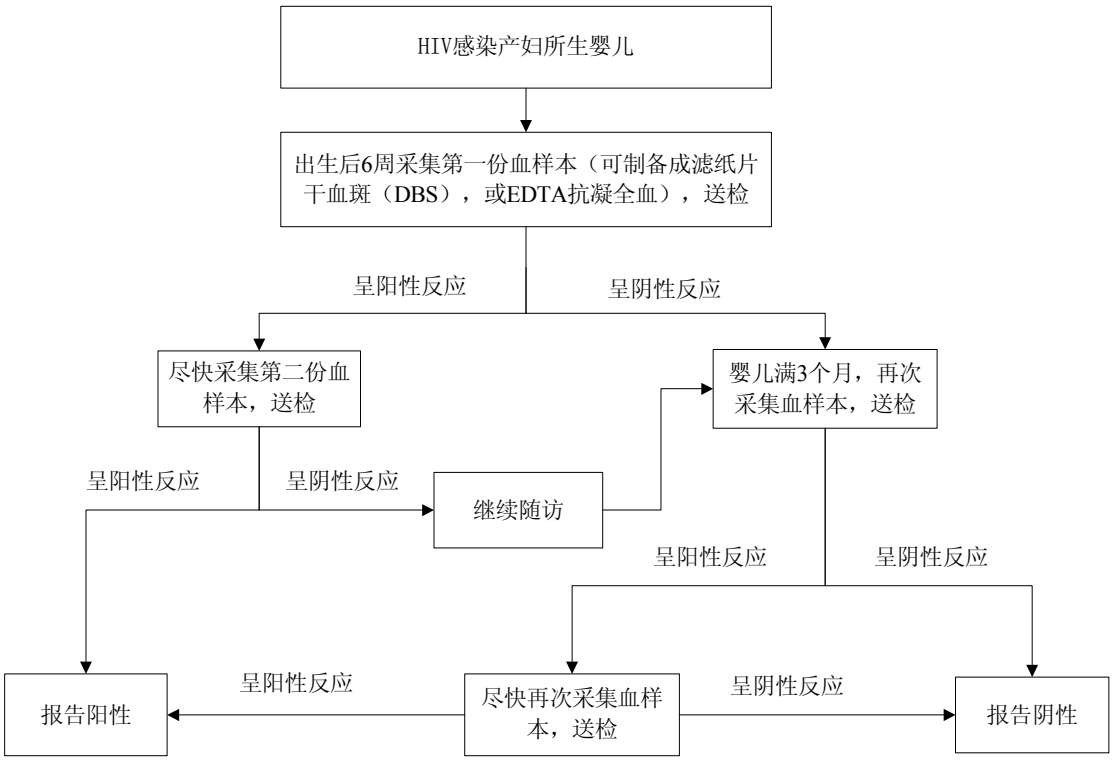

图 6　艾滋病感染产妇所生儿童 HIV 感染早期诊断检测流程

6　质量保证和质量控制

质量控制要考虑从样品接收到发出报告整个过程每个环节的管理过程，包括：（1）人员；（2）实验室分区和环境；（3）仪器；（4）检测过程（试剂、操作过程，外部质控品使用）。

所有相关检验人员需经操作培训，能独立熟练地操作，并经考核合格，持证上岗。

6.1　实验室分区和环境

HIV-1 病毒载量检测实验室原则上应分为三个独立工作区：试剂准备区、样品处理区、扩增产物分析区，并设在不同房间。严格要求三区的空气流向：从试剂准备区到样品处理区，然后到扩增产物分析区，不能逆向流动。

6.2　仪器设备质量控制

加样器、温湿度计须经计量部门校准，每年一次；HIV-1 病毒载量检测仪、实时荧光 PCR 仪、离心机可以委托公司校准，每年一次。冰箱、水浴箱用校准合格的温度计测量温度，并做好记录。

6.3　检测过程质量控制

保证所有试剂盒有效并经国家食品药品监督管理局注册，使用无 DNA 和 RNA 酶的水；严格执行仪器和试剂的标准操作程序（SOP），不得擅自修改。每次实验需同时使用试剂盒内的外部质控品以及一个 HIV-1 RNA 为 5000～15000 拷贝/毫升的外部外部质控品；每次实验按照试剂盒说明书的要求使用试剂盒提供的外部质控品，并满足外部质控品的要求。

6.4　外部质量控制

国家艾滋病参比实验室每年组织两次病毒载量的能力验证项目，每次 5 个样品，具体解释详见本规范第九章。

第五章　HIV-1 耐药检测

1　范围

本章规定了 HIV-1 耐药基因型检测的实验室条件、方法、结果判定及质量控制,适用于血浆、血清和滤纸干血斑样品的 HIV-1 耐药基因型测定。

2　规范性引用文件

Antiretroviral drug resistance testing in adult HIV-1 infection: 2008 recommendations of an International AIDS Society-USA panel. Clin Infect Dis 47（2）: 266-85.

Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in HIV-1-Infected Adults and Adolescents. DHHS 2008; Available at: http://AIDSInfo.nih.gov/guidelines.

Update of the Drug Resistance Mutations in HIV-1: Spring 2008, Top HIV Med. 2008;16（1）: 62-68.

3　HIV-1 耐药检测的意义

3.1　耐药监测

用于 HIV-1 感染人群和抗病毒治疗人群的耐药性监测和检测。用于新近感染人群的耐药性监测，了解耐药毒株流行的情况，并采取防控措施，用于治疗前人群的监测，指导制定一线抗病毒治疗方案；用于抗病毒治疗人群的耐药性监测，进行 HIV-1 耐药发生、发展趋势以及影响因素的分析，指导和完善大规模公共卫生模式抗病毒治疗的程序，以及制定二线治疗方案。

3.2　耐药检测

用于个体患者的耐药检测。在抗病毒治疗前进行耐药检测，可指导临床医生制定抗病毒治疗方案，保证抗病毒治疗的效果；在抗病毒治疗过程中进行耐药检测，可指导临床医生分析治疗失败的原因，并制定补救治疗方案。

4　HIV-1 耐药检测实验室要求

4.1　实验室功能分区

实验室原则上应分为 4 个独立工作区：试剂准备区、样品处理区、扩增区、扩增产物分析区，并设在不同房间。前两区为扩增前区，后两区为扩增后区。见第四章“HIV 核酸检测”。

4.2　人员

进行 HIV-1 耐药基因型检测的人员须具有艾滋病检测实验室的上岗资格，接受过省级以上艾滋病实验室生物安全培训，须具有国家级实验操作技术培训合格证。

4.3　设施和设备

根据检测项目配备相应的设施和设备。见第四章“HIV 核酸检测”，其中扩增产物分析区增加测序仪等设备。

HIV-1 耐药基因型检测实验室应制定严格的管理制度，工作人员必须充分了解各项规定并严格遵照执行。见第四章“HIV 核酸检测”。

5 HIV-1 耐药检测方法及程序

5.1 方法

5.1.1 HIV-1 耐药检测的方法可分为两大类，一类是基因型检测法，另一类是表型检测法。HIV-1 耐药基因型检测法基于对耐药相关基因突变的检测，利用耐药基因型解释系统判断是否耐药以及耐药的程度；HIV-1 耐药表型检测法基于体外培养技术，通过检测抑制病毒生长所需的药物浓度（IC_{50}或 IC_{90}），并与参考株进行比较，判断病毒对药物的敏感程度。常用的 HIV-1 耐药检测方法为基因型检测法，其优势在于周期短、操作简便、重复性好，且花费较少。本章主要介绍 HIV-1 耐药基因型检测方法。

5.1.2 通常使用逆转录 PCR（RT-PCR）和测序方法，商品化试剂盒一般采用一轮 PCR 扩增，实验室自建（In-house）方法一般使用套式 PCR 方法两轮扩增。

5.2 试剂

5.2.1 引物

应根据所测目的基因的序列设计，包括 RT、PCR 和测序引物。可使用商品化试剂盒配套的引物，也可根据参考文献和 HIV-1 流行毒株的序列自行设计引物。

根据《国家免费艾滋病抗病毒药物治疗手册（第二版）》，目前临床上常用的药物有三大类，分别为：蛋白酶抑制剂（PIs）、核苷类或核苷酸类逆转录酶抑制剂（NRTIs）和非核苷类逆转录酶抑制剂（NNRTIs）。针对这三类药物，耐药基因型检测需扩增 HIV-1 的 *pol* 基因区，目的基因片段应覆盖蛋白酶区 4-99 位氨基酸和逆转录酶区 38-320 位氨基酸的基因区域。

5.2.2 主要试剂

实验室自建方法需配置病毒核酸提取、逆转录、PCR 和测序反应等步骤所需的试剂。商品化试剂盒使用其配套的试剂。

5.3 扩增目的基因片段及测序

5.3.1 样品的采集和处理

要求感染者血浆病毒载量≥1000 拷贝/毫升或国际单位。采用血浆、血清或滤纸干血斑样本，见第一章“样品的采集和处理”。

5.3.2 核酸提取

按照核酸提取试剂盒说明书操作。提取 RNA 时应注意防止 RNA 降解。DNA 于-20℃保存，RNA 和需长期保存的 DNA 应在-80℃保存。

5.3.3 逆转录反应和 PCR 扩增

将 RNA 模板、逆转录引物、dNTP、逆转录酶、RNA 酶抑制剂、缓冲液和适量无 RNA 酶的超纯水加入反应管中，在适宜温度下进行逆转录反应，合成 cDNA。将模板（DNA 或 cDNA）、dNTP、引

物、缓冲液、*Taq* 酶和适量灭菌纯水加入反应管中，置于扩增仪上，按照设定的程序进行 PCR 扩增。建议使用 RT-PCR 一步法试剂进行第一轮扩增反应。

5.3.4　序列测定

通常采用 Sanger 法进行 DNA 测序。将扩增产物、dNTP、ddNTP、测序引物、缓冲液、Taq 酶和适量灭菌纯水加入反应管中，置于扩增仪上，按照设定的程序进行测序反应，在测序仪中读取序列数据。

5.4　耐药分析和结果报告

5.4.1　耐药分析

5.4.1.1　将所测序列与数据库中的参考序列或共享序列进行比较，判断是否出现耐药相关的基因突变，并根据 HIV-1 耐药基因型解释系统的规则来评判对特定药物的耐药程度。

5.4.1.2　HIV-1耐药基因型解释系统

提供HIV-1 耐药基因型检测数据分析和解释系统（HIVDRDB）的主要机构有：国际艾滋病协会（IAS，http://www.iasusa.org），美国斯坦福大学（HIVDB，http://hivdb.stanford.edu），法国国家艾滋病研究署（ANRS，http://www.hivfrenchresistance.org/index.html），和比利时Leuven大学Rega医学研究所（REGA，http://www.kuleuven.ac.be/rega/cev/）。实验室自建方法通常使用HIVDB系统，商业化试剂盒则使用与试剂盒配套的HIV-1 耐药基因型检测数据分析和解释系统。

5.4.2　检测结果的分析解释

5.4.2.1　耐药相关的基因突变

应分基因区报告耐药相关的基因突变，如将蛋白酶（PRO）和逆转录酶（RT）两个基因区的基因突变分开报告（见附表 8）。基因突变以“字母－数字－字母”的书写方式来表示，第一个字母代表野生型病毒株特定密码子处的氨基酸，第二个字母代表在特定密码子处替换了的氨基酸。

5.4.2.2　耐药程度分析

各种 HIV-1 耐药基因型解释系统对耐药程度的划分不同：HIVDB 系统分为敏感（S）、潜在耐药（P）、低度耐药（L）、中度耐药（I）和高度耐药（H）五个水平；Rega、ANRS 和商品化试剂盒所采用的系统则分为敏感（S）、可能耐药（I）和显示耐药（R）三个水平。

5.4.2.3　当耐药毒株在个体内病毒群体中的比例低于 10～20%时，通常检测不到其存在。因此，当在 HIVDB、Rega 或 ANRS 系统中报告为“S”，只可报告本次实验结果为“未发现耐药”，不可报告为“敏感”。

6　质量保证与质量控制

质量保证的目的是持续为监测及检测提供准确可靠的检测结果。 包括从样品接收到发出检测报告的全过程。详见本规范第九章。质量控制包括室内质量控制（室内质控）和外部质量控制（外部质控）。

6.1　室内质控

6.1.1　检测过程质量控制

6.1.1.1　除待测样品外，还应设立阳性、阴性和空白对照。阳性对照为与待测样品同质、含有目的基因片段的样品；阴性对照为与待测样品同质、不含有目的基因片段的样品；空白对照为不含模板的扩增试剂。

6.1.1.2　从样品核酸提取开始加入阴性和阳性对照，每次检测应至少加入一个阴性对照和一个阳性对照，建议阴性对照与待测样本的比例不小于 1：22 ，其中阴性对照应随机放置在待检样品中。从 RT 反应开始加入空白对照。

6.1.1.3　将同一批次和上一批次检测所产生的序列，以及阳性对照序列进行比对，并构建分子进化树。

6.1.1.4　只有在阳性对照扩增出预期片段，阴性对照和空白对照没有任何扩增片段,并且分子进化树分析没有交叉污染的情况下，实验才成立。

6.1.2　试剂质量控制：试剂批号变更时，可增加阳性对照数量，将本次试验阳性对照的结果与已知结果进行比较，以检验试剂的可靠性和稳定性。

6.1.3　定期进行实验室内部质量评价：随机选择经耐药基因型检测过的样品，送实验操作者进行盲样检测，比较序列以及耐药位点图谱。扩增效率低、序列或耐药位点不一致，表示测定的重复性差，应检查所有的实验步骤，进行质量控制。

6.2　实验室能力验证

开展 HIV-1 耐药检测的实验室每年至少接受二次国家级实验室能力验证（PT），通过考核后方可进行检测。鼓励参加国际 PT，如美国的 RUSH 大学 VQA 中心和澳大利亚的国家血清学参比实验室组织的 PT。

第六章　CD4+和 CD8+T 淋巴细胞检测

1　范围

本章规定了 CD4+和 CD8+T 淋巴细胞检测的意义、实验室要求、检测方法、结果报告及质量控制要求。适用于从事相关检测的各级艾滋病实验室。

2　规范性引用文件

《艾滋病和艾滋病病毒感染诊断标准》（中华人民共和国卫生行业标准，WS293-2008）

《国家免费艾滋病抗病毒药物治疗手册（第二版）》（人民卫生出版社，2007 年 12 月）

《艾滋病病毒感染者及艾滋病患者 CD4+T 淋巴细胞检测质量保证指南（试行）》（中国疾病预防控制中心，2006 年 2 月）

《病原微生物实验室生物安全管理条例》（中华人民共和国国务院令 第 424 号，2004 年 11 月 12 日）

3　CD4+ 和 CD8+T 淋巴细胞检测的意义

3.1　HIV 感染临床分期

CD4+T 淋巴细胞数量可评价 HIV 感染者免疫状况，辅助临床进行疾病分期。我国《艾滋病和艾滋病病毒感染诊断标准》（中华人民共和国卫生行业标准，WS293-2008）将 CD4+T 淋巴细胞值作为成人及 15 岁（含 15 岁）以上青少年 HIV/AIDS 临床分期标准的主要依据之一。

3.2　HIV 感染儿童免疫抑制分级和治疗辅助指标

CD4+T 淋巴细胞百分数可以作为儿童免疫抑制分级指标，可以作为儿童临床治疗分期和辅助条件。

3.3　疾病进展监测

《国家免费艾滋病抗病毒药物治疗手册（第二版）》推荐对无症状 HIV 感染者及 CD4+T 淋巴细胞计数高的感染者每六个月进行一次 CD4+ T 淋巴细胞计数检测，以评估疾病进展，判断预后状况。

3.4　机会性感染的风险评估

机会性感染是艾滋病患者死亡的主要原因，CD4+T 淋巴细胞可评估 HIV 感染者机会性感染的风险，辅助判断是否进行预防性治疗（如当 CD4+ T 淋巴细胞＜200/μl 时，应给予抗肺孢子菌肺炎的预防性治疗。

3.5　抗病毒治疗适应症选择及疗效评价

《国家免费艾滋病抗病毒药物治疗手册（第二版）》将 CD4+T 淋巴细胞数量作为是否开始抗病毒治疗的重要实验室指标之一，并规定治疗后定期检测 CD4+T 淋巴细胞数量，判断免疫系统恢复情况。

3.6　CD8+T 淋巴细胞为抑制性/细胞毒性 T 细胞，HIV 感染者 CD8+T 细胞数量增加，导致 CD4/CD8 比值下降。

4　CD4+ 和 CD8+T 淋巴细胞检测实验室要求

4.1　人员

进行 HIV/AIDS 患者 CD4+ 和 CD8+T 淋巴细胞检测的人员须具有上岗资格，并接受过省级以上艾滋病实验室安全培训、检测技术、质量控制和仪器厂家提供的培训。

4.2　设施和设备

4.2.1　样品准备区：生物安全柜、离心机、冰箱、恒温孵箱/水浴箱、旋转振荡器、精确移液器（5μl～50μl、20μl～200μl、200μl～1000μl）。

4.2.2　样品检测分析区：流式细胞仪、打印机。

4.3　功能分区

实验室原则上应分为样品准备区和样品检测区，各区的功能为：

样品准备区应达到生物安全Ⅱ级（BSL-2）实验室要求，用于样品制备。

样品检测区用于制备好的样品在流式细胞仪上检测。

5　常规 CD4+ 和 CD8+T 淋巴细胞检测的方法和程序

5.1　样品采集、运输和接收

5.1.1　样品的采集

5.1.1.1　选择合适的抗凝剂，用于血液学检测或流式细胞仪的免疫表型检测。

（1）用于血液学检测的抗凝剂：K_3EDTA 或 K_2EDTA 抗凝管，在血球分析仪生产商允许的样品采集时间范围内检测。

（2）用于流式细胞仪免疫表型检测的抗凝剂：K2EDTA、K3EDTA、酸性枸橼酸葡萄糖溶液（ACD）或肝素抗凝。一般要求 48 小时内染色，染色后 6 小时内分析。如采血后 24 小时内染色，则可在染色后 24 小时内分析。如果利用 CD45 单克隆抗体和侧向光设淋巴细胞门，可检测放置 72 小时的样品。

5.1.1.2　采血管上注明样品编号、采集日期等信息。

5.1.1.3　采集静脉血，注入已加入适当抗凝剂的采血管（有条件者最好用真空采血管）。采血后立即握住试管两端，垂直颠倒混匀数次，防止血液凝固。

5.1.2　样品运输

5.1.2.1　运输感染者样品至检测地点应符合国家《病原微生物实验室生物安全管理条例》相关要求。

5.1.2.2　在室温（18～25℃）保存和运输样品，避免极端温度（结冰或大于 37℃）。高温季节，需用隔热容器盛装样品，并将其置于有冰袋和吸热物质的容器中。

5.1.3　样品接收

5.1.3.1　专人接收样品，检查样品质量、数量并核对标识。

5.1.3.2　溶血、凝血或结冰的样品应视为不合格样品，超过检测允许时间的样品不可检测。

5.1.3.3　如果样品运输过程中温度超出室温范围（18～25℃），但没有明显的溶血或结冰，可以处理样品，但要在工作表的报告上注明温度条件。不能立即加热或冷冻样品以使其达到室温，否则会影响免疫表型检测结果。

5.2　方法

目前，CD4+和 CD8+T 淋巴细胞计数的方法分为两大类，一类是应用流式细胞仪测定法，另一类是非流式细胞仪测定法。常用的淋巴细胞计数检测方法为自动检测方法，包括流式细胞仪（主要有多平台法和单平台法）和专门的细胞计数仪。

5.2.1　流式细胞仪检测方法

5.2.1.1　双平台方法是一种细胞群体的绝对计数方法，利用血球计数仪检测淋巴细胞数量，再根据流式细胞仪得到的细胞群体百分比，计算得到每微升的淋巴细胞数量，这种方法叫做双平台方法。双平台法需要两种仪器，由于仪器有系统误差，计算结果的重复性和准确性影响因素较多，用这种方法进行 CD4+和 CD8+ T 淋巴细胞计数时，不同实验室差异很大。这种方法最大的缺点在于操作步骤复杂，操作人员多、费时，因此，很难将变异水平减小到最低。

5.2.1.2　单平台方法是相对双平台法而言的，即应用三色、四色流式试剂配以内参绝对计数微球，加上流式细胞仪淋巴细胞亚群获取和分析软件，一步即可获得 T 细胞亚群的相对数（百分比）和绝对数。通过使用已知数量的参考微球为内参，可以直接报告绝对计数，即通过获取的目标细胞与参考微球的比例、参考微球数量和样品体积，得到每微升的淋巴细胞数量。单平台法最大程度地减少了多个仪器检测带来的检测误差，细胞绝对计数结果的重复性和准确性都得到了良好的保证。

5.2.2　非流式细胞仪测定法

5.2.2.1　Cyto-Spheres 方法 CD4+计数试剂盒包含 CD4+微球试剂，即包被有单克隆抗体的惰性乳胶微球，可以通过光学显微镜鉴别和手工计数新鲜全血中 CD4+T 淋巴细胞的绝对数。其原理是人和动物的 T 淋巴细胞表面有红细胞受体，因此红细胞可以粘附到 T 淋巴细胞的周围而形成玫瑰花样的细胞团。在红细胞中，以绵羊红细胞最为常用。

5.2.2.2　Dynabeads 方法以免疫磁珠细胞分离方法为基础，使用包被 CD4+和 CD8+抗体的 Dynabeads 磁珠，从全血中捕获分离 CD4+和 CD8+T 淋巴细胞；另一种 CD14 微球用来阻隔单核细胞。用龙胆紫和胎盘兰染色分离出来的 CD4+T 淋巴细胞，在光学显微镜下或自动细胞计数仪上计数。

5.3　实验资料的记录

5.3.1　及时、准确地记录实验结果。

5.3.2　实验记录中应包括以下内容：日期、操作者、所有样品信息、实验内容、过程（步骤）、结果及有无事故等。

5.3.3　所有实验资料应统一由专人负责，按固定格式记录在案。

5.3.4　计算机生成的实验结果，存档备案；定期将计算机结果文档备份并备案保存。

5.4　结果报告

5.4.1　多平台法用淋巴细胞总数（来自于 WBC 及分类）乘以淋巴细胞亚群百分率（从流式细胞仪数据中得到），计算绝对数值。

5.4.2　单平台法由计算机软件直接出结果并打印出报告单，报告单的内容包括如下结果：CD45+ Abs Cnt；CD3+ Abs Cnt；CD3+CD4+ %T Lym；CD45+CD4+ Abs Cnt；CD3+CD8+ %T Lym；CD3+CD8+ Abs Cnt；Th/Ts 及其正常参考值范围。

5.4.3　结果报告单中应附有正常值参考范围（例如，CD4+T 淋巴细胞绝对数和百分数）。注意用于 CD4+T 淋巴细胞检测的不同仪器有不同的正常值范围，成人及不同年龄段儿童正常值范围亦不相同。最好由国家或省市级实验室建立当地人群的成人和儿童正常值参考范围以供参考。按照实验结果填写 CD4+ 和 CD8+T 淋巴细胞检测报告单，单平台法检测结果报告格式参见附表 7《CD4+T 淋巴细胞检测结果报告》。

5.4.4　报告单经复核人复核签字及签发，加盖检验专用章后发出。应在检测完成后 3 个工作日内发出报告。

5.4.5　报告发放时，可经挂号邮寄或直接交给送检人。

6　质量控制

6.1　CD4+ 和 CD8+T 淋巴细胞检测的质量控制包括室内质量控制（简称室内质控）和外部质量控制（简称外部质控）。

6.2　室内质控要求工作人员做好仪器质控和过程质控。

6.2.1　仪器质控为应用仪器生产厂家的质控品校准仪器，每次开机应先进行质控品检测，质控品通过测试后方可检测样品。

6.2.2　过程质控主要包括试剂质控、样品质控和数据质控。

6.2.2.1　试剂质控要求所用试剂应在有效期内等。

6.2.2.2　样品质控包括正确的样品采集、运输、接收、贮存、处理、分析方法以及室内质控的应用。稳定的全血样品可用于室内质控。通过每日绘制质控图检查实验质量，帮助分析和判断样品处理、仪器的准备和分析是否均处于最佳状态。

6.2.2.3　数据质控包括正确的数据分析、结果报告、数据储存及对数据的可靠性分析。

6.3　外部质控是有组织地系统质控测量。是由具有外部考核经历，并且检测质量获得改进的实验室之间进行相互质量参比，从而提高实验室结果的可比性，确保在所有实验室 CD4+T 淋巴细胞检测都有良好的高度一致的结果。国家艾滋病参比实验室负责制订和发展外部质控相关技术标准，并负责组织检验能力验证（PT）计划的实施，每年至少 2 次，每次 2－5 支质控品。有条件的实验室可参加国际认可机构的质控。具体参见本规范第九章。

第七章　HIV-1 的分离培养

1　范围

本章规定了 HIV－1 体外分离培养的方法和用途。适用于对人血液和其他样本中 HIV 的分离培养。

2　规范性引用文件

NIAID，Virology Manual for HIV Laboratory, NIH Publication, No.97-3828.Jan 1997

3　HIV-1 分离的意义

3.1　HIV 抗体不确定或 HIV-1 阳性母亲所生婴儿的鉴别诊断。

3.2　HIV 表型耐药检测及其他 HIV 生物学特征的研究。

3.3　HIV 感染的辅助诊断 HIV-1 感染窗口期。

4　实验室要求

4.1　实验室：经过认可的生物安全 3 级实验室。

4.2　设备：生物安全柜、二氧化碳培养箱、倒置显微镜、离心机（配水平转头）、压力蒸汽灭菌器、液氮罐、-80℃冰箱、酶标仪等。

4.3　材料：HIV 阴性者抗凝全血、淋巴细胞分离液、细胞培养液（RPMI1640）、胎牛血清、白细胞介素-2（IL-2）、植物血凝素（PHA）、HIV-1P24 抗原检测试剂或逆转录酶检测试剂。细胞培养瓶、细胞培养板、吸管等。

5　HIV-1 分离的方法及程序

一般采用靶细胞（HIV 阴性者外周血淋巴细胞，PBMC）与受检者标本（PBMC、全血、血浆、精液及其他体液）共培养的方法，最常用的方法是 PBMC 共培养。

5.1　样本：首选新鲜抗凝全血，也可以使用血浆、精液及其他体液。

5.2　靶细胞制备：取 HIV 阴性者的抗凝全血，采用密度梯度离心的方法分离 PBMC，并在含有适量天然白介素-2（IL-2）和植物血凝素（PHA-P）的培养基中培养 3 天，使淋巴细胞由静止状态充分活化。

5.3　建立共培养：将靶细胞与待检样本混合，在合适的条件下培养，培养过程中适时换液或补加新鲜靶细胞，维持培养 28 天。

5.4　监测病毒生长：定时取适量培养上清液，检测 HIV-1P24 抗原或逆转录酶活性。也可定期观察细胞的形态，看有无 HIV 特征性的合胞体或其他细胞病变。

5.5　病毒鉴定：取培养上清液提取纯化 RNA，或取共培养的 PBMC 提取纯化基因组 DNA，用 PCR

方法扩增 HIV-1 特征性基因片段，对扩增阳性的片段进行基因序列测定。

5.6　判定结果和解释

5.6.1　培养上清液 P24 抗原或逆转录酶连续 2 次呈阳性反应、并有 P24 抗原含量/逆转录酶活性升高，或同时出现 HIV 特征性细胞病变，并经鉴定为 HIV 基因序列，判为 HIV-1 分离阳性。

5.6.2　培养上清液 P24 抗原或逆转录酶始终为阴性，判为 HIV-1 分离阴性。

5.6.3　HIV-1 分离培养阳性可以确证为 HIV-1 感染，分离培养阴性不能排除 HIV-1 感染。

6　质量保证和质量控制

6.1　技术人员应接受 HIV 分离培养技术操作和生物安全 3 级实验室使用的专门培训，掌握基本的细胞培养技术。

6.2　必须在生物安全 3 级实验室的生物安全柜内操作，使用塑料的细胞培养瓶和吸管，遵守生物安全操作规程。

6.3　受检者样本必须无菌，培养过程中注意无菌操作。

6.4　制备靶细胞时使用多人 PBMC 混合、去除受检者 PBMC 中的 CD8+T 细胞有助于提高分离成功率。

6.5　可同时接种一株已经分离成功的 HIV-1 原代毒株，以证明实验方法的可靠性。

第八章　实验室生物安全

1　范围

本章规定了艾滋病实验室安全防护和职业暴露预防。适用于全国各级各类艾滋病实验室的安全防护和职业暴露预防。

2　规范性引用文件

《医务人员艾滋病病毒职业暴露防护工作指导原则（试行）》中华人民共和国卫生部，2004年5月31日颁布，2004年6月1日起实施。

《实验室生物安全通用要求》GB 19489-2008，2009年7月1日起实施。

《微生物和生物医学实验室生物安全通用准则（WS 233-2002）》中华人民共和国卫生行业标准，2002-12-03发布，2003-08-01实施。

Guidelines for the Safe Transport of Infectious Substances and Diagnostic Specimens.WHO 1997.

《消毒技术规范（2002年版）》中华人民共和国卫生部2002-11-15发布，2003-04-01起实施。

3　HIV的生物危害

第一类、第二类病原微生物统称为高致病性病原微生物。人类免疫缺陷病毒（HIV）属第二类病原微生物，是高致病性病原微生物。

4　HIV相关检测的生物安全级别

4.1　HIV抗体检测（包括筛查和确证实验）、抗原检测和相关的免疫学检测应在符合Ⅱ级生物安全实验室（BSL-2）要求的艾滋病检测实验室中进行。

4.2　HIV分离培养、浓缩、中和试验、细胞培养及研究工作及其它需要应用活病毒的研究工作，应在Ⅲ级生物安全实验室（BSL-3）中进行。

4.3　HIV核酸提取和检测均应在符合Ⅱ级生物安全实验室（BSL-2）要求的艾滋病检测实验室中进行。

4.4　HIV病毒株应保存在符合Ⅲ级生物安全实验室（BSL-3）要求的艾滋病实验室；HIV阳性样品，包括全血、血清、血浆和其他组织（液）、核酸提取物应保存在符合BSL-2要求的艾滋病实验室。

5　生物安全保证措施

5.1　建立安全制度

实验室主任是实验室安全的第一责任人，对实验室工作和环境的安全负责，负责制定全面的实验室安全管理制度并监督落实。所有工作人员都应无条件遵守实验室安全管理制度，保护自己和他人的安全。

艾滋病检测实验室应建立下列安全制度，每年都应对安全制度或安全标准操作程序及其落实情况进行检查和修订，并有记录。

5.1.1　实验室的安全工作制度或安全标准操作程序（S-SOP）。

5.1.2　意外事故处理预案，主要是生物安全意外事故。内容包括应急处理、登记和报告、调查和处理。

5.1.3　信息安全及保密制度：与 HIV/AIDS 检测相关的所有资料均应严格保密，包括送检单、检测记录、样品登记、报告单及工作人员年度检测结果等，不得对无关人员透露检测结果。

5.2　培训和管理

5.2.1　实验室应进行全员安全培训并强化“普遍性防护原则”安全意识，所有的血液、未固定的组织和组织液样品，均应视为有潜在的传染性，都应以安全的方式进行操作。所有管理和检测人员都应接受省级以上艾滋病检测实验室主持的安全培训，包括上岗前培训和复训，并接受管理人员的监督。

5.2.2　必须对新上岗人员进行安全教育和培训，使他们清楚实验室工作的潜在危险，通过考核等方式确认他们具备安全操作的能力后方可单独工作。

5.2.3　必须对新调入人员、外来合作、进修和学习的人员进行生物安全培训，经实验室主任批准后，方可进入实验室。

5.2.4　生物安全培训和监督应有客观详实的记录。

5.2.5　实验室主任应详细了解所有工作人员的教育和培训背景、特长、性格特点等。要根据人员特点、工作种类、所涉及的生物材料合理安排工作区域，要定期对实验室环境进行安全检查。

5.3　个人保健和防护

5.3.1　遇有手部皮肤有开放性伤口及其他不适于工作的情况，应暂停工作。

5.3.2　皮肤的微小伤口、擦伤、皲裂等，应用防水敷料严密覆盖。

5.3.3　应为每一名在艾滋病实验室工作的人员提供充足的防护服、一次性乳胶手套、口罩、帽子和覆盖足背的工作鞋。应将清洁的防护服和其他个人防护用品置于实验室清洁区内的专用处存放。

5.3.4　实验室应设置应急冲洗眼睛装置。

5.3.5　工作人员上岗前必须进行 HIV 抗体和乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒等肝炎病毒标志物检测，应接种乙肝疫苗。应每年对工作人员采血检测 HIV 抗体，血清应长期保留。

5.3.6　进实验室工作前要摘除首饰，修剪长的带刺的指甲，以免刺破手套。

5.3.7　严禁在实验室内进食、饮水、吸烟和化妆。

5.3.8　实验操作时应穿合适防护服（白大衣、隔离衣或一次性工作服）、戴手套和口罩、穿实验室专用的工作鞋。如接触物的传染性大、应戴双层手套；含有 HIV 的液体（样品或病毒培养液）有可能喷溅时，应戴防护眼镜、穿防水（如塑料）围裙。工作完毕，先脱去手套，再脱去防护服，

用肥皂和流动水洗手。穿过的污染的防护服应及时放入污物袋中，消毒后方可洗涤或废弃。

操作过程中，如发现防护服被污染应立即更换，如手套破损，应立即丢弃、洗手并换上新手套。不能用戴手套的手触摸暴露的皮肤、口唇、眼睛、耳朵和头发等。不要将手套清洗或消毒后再次使用，因为使用表面活性剂清洗可使手套对水的通透性增加，消毒剂可以引起手套的破损。

5.3.9　禁止使用口腔吸液管，必须使用移液器来操作实验的所有液体。

5.4　安全操作

5.4.1　试剂及样品的管理

应严格按要求妥善保存血清及其它体液样品，应按有关规定设立专门储存阳性血清、质控品的血清库和/或毒种库，应上锁并指定专人管理。对存放试剂和有毒有害物质的区域应进行监控，冷藏柜、冰箱、培养箱和存放生物试剂、化学危险品、放射性物质的容器，置于工作人员视线之外的地点时应上锁。

5.4.2　实验室的清洁和消毒

工作完毕应对工作台面消毒，推荐用 0.1～0.2%的次氯酸溶液消毒；用消毒液清洗后要干燥 20min 以上；

操作过程中如有样品、检测试剂外溅，应及时消毒。如有大量高浓度的传染性液体溅出，在清洁之前应先用 1%的次氯酸钠溶液浸泡，然后戴上手套擦净。

5.4.3　样品的采集和处理

抽取静脉血液（或以其它方式收集血液样品）时要注意安全，应使用一次性注射器，戴手套，谨慎操作，防止血液污染双手。应小心防止被针头和其它利器刺伤。如用滤纸采样，应按常规将手指或耳垂局部消毒。刺破皮肤后，迅速把滤纸沾上，切勿让血液滴落在其它物体表面造成污染。采血后待血样干燥后再包装送检。

离心样品时要使用密闭的罐和密封头，防止离心时液体溢出或在超/高速离心时形成气溶胶。

5.4.4　样品的带入、带出和操作

5.4.4.1　不得将非实验室物品带入实验室。

5.4.4.2　包装有测试样品的包裹应在实验室的安全柜内打开，不能在收发地点或仓库等地点打开，同时，打开包裹的人员应接受过处理感染源方面的训练并穿戴合适的防护服；实验室应具有处理感染源的设备并准备好可消毒的容器。

5.4.4.3　打开样品容器时要小心，防止内容物泼溅。要核对样品与送检单，检查样品管有无破损和溢漏。如发现溢漏应立即将尚存留的样品移出，对样品管和盛器进行消毒，同时要按照程序报告有关负责人。

5.4.4.4　要检查样品的状况，记录有无严重溶血、微生物污染、血脂过多以及黄疸等情况。如污染过重或者认为不能接受，则应将样品用安全方式废弃，同时将情况通知送样人。

5.4.4.5　常规处理血液、体液样品可在工作台上进行，如样品有可能溅出，则应戴手套、口罩和防护眼镜，在生物安全柜中操作。

5.4.4.6　将样品转送到其他实验室时，应防止对工作人员、患者或环境造成污染。护送样品的人应清楚接收地点和接收人，实验室负责人或其指定的人员应及时确认样品已送达指定的实验

室，被转入安全位置并得到妥善处理。

5.4.4.7　被污染或可能污染的材料在带出实验室前应进行消毒。用后的包裹应进行消毒。

5.4.4.8　用于国际空运的样品要按照国际空运协会（IATA）的规则进行包装和标记，并提交相应的资料。

5.5　使用利器注意事项

5.5.1　应尽量避免在实验室使用针头、刀片、玻璃器皿等利器，以防刺伤。如果必须使用，在处理或清洗时应采取措施防止刺伤或划伤，并应对用过的物品进行消毒。

5.5.2　应使用安全针具采血，如蝶形真空针，自毁性针具等，以降低直接接触血液和刺伤的危险性。

5.5.3　应将用过的锐器直接放入耐穿、防渗漏的利器盒，用过的针头应直接放入坚固的容器内，消毒后废弃

5.5.4　禁止将使用后的一次性针头重新套上针头套。禁止用手直接接触使用过的针头、刀片等利器。

6　污染物处理

6.1　应按照《实验室生物安全通用要求》(GB 19489-2004）和《消毒技术规范（2002 年版)》处置实验室废弃物。

6.2　艾滋病实验室产生的所有废弃物，包括不再需要的样品、培养物和其它物品，均应视为感染性废弃物，应置于专用的密封防漏容器中，安全运至消毒室，经高压消毒后再进行处理或废弃。

6.3　艾滋病检测实验室常用的消毒方法

6.3.1　物理消毒方法

6.3.1.1　高压蒸汽消毒，121℃，保持 15～20min;

6.3.1.2　干燥空气烘箱消毒（干烤消毒），140℃，保持 2～3h。

6.3.2　化学消毒方法

6.3.2.1　含氯消毒剂（次氯酸钠，含有效氯 2000～5000mg/L）

6.3.2.2　75%乙醇

6.3.2.3　2%戊二醛

6.3.3　艾滋病检测实验室物品常用的消毒方法

6.3.3.1　废弃物缸：5000mg/L 次氯酸钠。

6.3.3.2　生物安全柜工作台面和仪器表面：75%乙醇。

6.3.3.3　溢出物：5000mg/L 次氯酸钠。

6.3.3.4　污染的台面和器具：2000mg/L 次氯酸钠,也可以用过氧化氢或过氧乙酸。器械可用 2%戊二醛消毒。

7　意外事故处理

发生意外事故时，应针对事故的类型立即进行紧急处理，主要包括：

7.1　皮肤针刺伤或切割伤，应立即用肥皂和大量流水冲洗，尽可能挤出损伤处的血液，用 70%乙醇或其它消毒剂消毒伤口。

7.2　皮肤污染：用水和肥皂冲洗污染部位，并用适当的消毒剂浸泡，如 70%乙醇或其它皮肤消毒剂。

7.3　粘膜污染：用大量流水或生理盐水冲洗污染部位。

7.4　衣物污染：尽快脱掉污染的衣物，进行消毒处理。

7.5　污染物泼溅：小范围污染物泼溅，应立即进行消毒处理和清洗。发生大范围污染物泼溅事故时，应立即通知实验室主管领导和安全负责人到达事故现场，查清情况，确定消毒的程序。

7.6　发生空气污染时，可采用低温蒸汽甲醛气体对空气进行消毒，但甲醛有致癌作用，不宜用于生物安全柜和实验室的常规空气消毒。

7.7　如果发生重大泼溅事故，应采取以下措施进行：

7.7.1　从污染处疏散人员，但要防止污染扩散；

7.7.2　控制污染扩散，锁门并禁止人员进入；

7.7.3　通知实验室主管领导、安全负责人等，查清情况，确定消毒处理的程序；

7.7.4　必要时可进行生物安全柜和/或实验室的低温蒸汽甲醛气体消毒，使用这种方法生物安全柜和/或实验室必须密闭，人员必须离开。具体操作可按说明书执行。

7.7.5　溢漏处可用经消毒剂浸泡的吸水物质覆盖；消毒剂作用 10－15 分钟后，移走吸水性物质，用消毒剂冲洗，用水清洗。

7.8　意外及事故的登记、报告和检测

7.8.1　对重大意外和事故必须进行登记，对职业暴露事故应填写“艾滋病职业暴露人员个案登记表”（附表 9）。内容包括：

7.8.1.1　意外和事故发生的时间、地点及详细经过。详细记录职业暴露发生的时间、地点及经过；暴露方式；损伤的具体部位、程度；暴露物种类（培养液、血液或其它体液）和含有 HIV 的情况；

7.8.1.2　事故处理方法和经过，包括专家或领导赴现场指导和处理的情况。处理方法及经过；是否采用暴露后预防药物，详细记录用药情况、首次用药时间（暴露后几小时或几天）、药物毒副作用情况（包括肝肾功能化验结果）、用药的依从性。

7.8.1.3　随访和检测的日期、项目和结果。

7.8.2　对重大意外和事故必须进行报告和检测

7.8.2.1　发生重大事故时，在紧急处理的同时要立即向主管领导和专家报告。同时抽血检测 HIV 抗体，暴露后 4 周、8 周、12 周、6 个月要定期检测。

7.8.2.2　发生小型事故时可在紧急处理后立即将事故情况和处理方法报告主管领导和专家。

8　职业暴露后预防

职业暴露指医务人员从事诊疗、护理、检验等工作过程中意外被艾滋病病毒感染者或者艾滋病病人的血液、体液污染了皮肤或者粘膜，或者被含有艾滋病病毒的血液、体液污染了的针头及

其他锐器刺破皮肤，有可能被艾滋病病毒感染的情况。职业暴露也包括其他行业的工作人员，如警察、公安、司法等部门的工作人员，羁押或劳教机构、戒毒所和殡葬业的工作人员，在工作过程中被艾滋病病毒感染者或艾滋病病人的血液、体液污染皮肤、粘膜或者刺破皮肤等情况。

职业暴露发生后，通常应遵循四条原则：及时处理原则，报告原则，保密原则，知情同意原则。

发生职业暴露以后，可以服用抗病毒药物，进行暴露后预防。艾滋病的职业暴露后预防（Postexposure Prophylaxis，PEP）包括急救、对暴露级别的评估、对暴露源的评估、预防性用药、报告与保密。

8.1　局部急救处理：发生艾滋病病毒职业暴露后应实行急救。应立即实施以下局部处理措施：

8.1.1　刺激出血：如皮肤有伤口，应当在伤口旁端轻轻挤压，尽可能挤出损伤处的血液。

8.1.2　用洗手液和流水清洗伤口或污染的皮肤。如果是粘膜，应用大量生理盐水冲洗粘膜。

8.1.3. 受伤部位的伤口冲洗后，应当用消毒液，如：75%酒精或者 0.5%碘伏进行消毒，并包扎伤口；

8.1.4　到艾滋病专业防治机构进行进一步咨询和处理。

8.2　对暴露感染的危险进行评估

发生艾滋病病毒职业暴露后，所在医疗卫生机构应当组织专业人员对暴露的级别和暴露源的病毒载量水平进行分析、综合评估 HIV 感染的危险，必要时邀请本省或国家艾滋病专家参加分析和评估。根据暴露级别和暴露源病毒载量的水平估计 HIV 感染的危险，确定是否进行预防性用药及采取何种预防方案。

8.2.1　对暴露的评估

8.2.1.1　轻度暴露：指皮肤被实心针刺伤或表皮伤，或粘膜接触少量（几滴）感染性液体。

8.2.1.2　重度暴露：指皮肤被空心针刺伤、深部刺伤，被可见到有血液的器械刺伤或器械曾放置于病人的动脉和静脉。粘膜接触大量感染性液体（大量血液喷溅）。

8.2.2　对暴露源的评估

如果暴露源没有 HIV 的检测结果，最好做快速 HIV 抗体检测。如果暴露源有急性 HIV 综合征的症状，应同时检测病毒载量。

8.2.2.1　HIV 阳性 1 类：无症状 HIV 感染或已知病毒载量<1500cp/ml。

8.2.2.2　HIV 阳性 2 类：有症状 HIV 感染，艾滋病期，急性血清学阳转，或已知高病毒载量。

8.3　确定是否需要药物预防及其方案

根据暴露的类型及暴露源的状况，确定是否需要进行药物预防，及采取何种暴露后预防(PEP)方案。

8.3.1　皮肤受伤暴露

8.3.1.1　HIV 阳性 1 类/轻度暴露，可以采用基础 PEP 方案。

8.3.1.2　HIV 阳性 1 类/重度暴露，可以采用扩大 PEP 方案。

8.3.1.3　HIV 阳性 2 类/轻度暴露，可以采用扩大 PEP 方案。

8.3.1.4　HIV 阳性 2 类/重度暴露，可以采用扩大 PEP 方案。

8.3.1.5　如果不清楚暴露源的HIV感染状况，不论轻度还是重度暴露，一般不需要PEP，如果源病例有HIV感染的危险因素，推荐使用基础PEP方案。

8.3.1.6　如果不清楚暴露物的来源，一般不需要PEP，如果源病例有HIV感染的危险因素，推荐使用基础PEP方案。

8.3.1.7　如果可以肯定暴露源为HIV阴性，不论轻度还是重度暴露，都不需要PEP。

表2　皮肤受伤的暴露后预防

暴露类型	来源病例的HIV感染状况				
	HIV阳性1类	HIV阳性2类	不清楚HIV状况	不清楚来源	HIV阴性
轻度	基本的2药PEP	扩展的3药PEP	一般不需要PEP，如果源病例有HIV感染的危险因素，推荐使用2药PEP	一般不需要PEP，如果有HIV感染的危险因素，推荐使用2药PEP	不需要PEP
重度	扩展的3药PEP	扩展的3药PEP	同上	同上	同上

表3　粘膜或不完整皮肤暴露的推荐

暴露类型	源病例的HIV感染状况				
	HIV阳性1类	HIV阳性2类	不清楚HIV状况	不清楚来源	HIV阴性
少量	考虑基础的2药PEP	推荐基础2药PEP	一般不需要PEP 如果源病例有HIV感染的危险因素，考虑使用2药PEP	一般不需要PEP，如果有HIV感染的危险因素，考虑使用2药PEP	不需要PEP
大量	推荐2药PEP	推荐扩展的3药PEP	同上	同上	同上

8.3.2　粘膜或不完整皮肤暴露

8.3.2.1　HIV阳性1类/少量暴露，可以考虑基本PEP方案

8.3.2.2　HIV阳性1类/大量暴露，可以采用扩展PEP方案

8.3.2.3　HIV阳性2类/少量暴露，可以采用基本PEP方案

8.3.2.4　HIV阳性2类/大量暴露，可以采用扩展PEP方案

8.3.2.5　如果不清楚暴露源的HIV感染状况，不论少量还是大量暴露，一般不需要PEP，如果源病例有HIV感染的危险因素，可考虑使用基本PEP方案

8.3.2.6　如果不清楚暴露物的来源，一般不需要PEP，如果源病例有HIV感染的危险因素，可考虑使用基本PEP方案

8.3.2.7　如果可以肯定暴露源为 HIV 阴性，不论少量还是大量暴露，都不需要 PEP。

8.4　暴露后预防方案（见表 4）

8.4.1　基本 PEP 方案：指联合使用 2 种核苷类逆转录酶抑制剂。齐多夫定（AZT）600mg/d bid +拉米夫定（3TC）150mg bid；拉米夫定（3TC）150mg bid +司他夫定（d4T） 30～40mg bid；去羟基苷（ddI） 250mg bid +司他夫定（d4T） 40mg bid

8.4.2　扩展 PEP 方案：在基本方案的基础上，加一种蛋白酶抑制剂。茚地那韦（IDV；Crixivan）800mg q8h 空腹时服用；奈非那韦（NFV；Viracept） 750mg tid 进食时服用；依非韦伦（EFV；Sustiva）600mg qn；阿巴卡韦（ABC）300mg bid

8.4.3　确定暴露后预防方案还要考虑在我国注册批准药物的品种，根据我国的实际，可考虑的是双汰芝（AZT 与 3TC 联合制剂）、去羟肌苷（ddI）加司坦夫定（d4T）等。

表 4　HIV 暴露后预防的基本方案和扩展方案

方案	剂量
基本方案	
齐多夫定（AZT）+拉米夫定（3TC）	AZT 600mg/d bid；3TC 150mg bid
拉米夫定+司他夫定（d4T）	3TC 150mg bid；d4T 30～40mg bid
去羟肌苷（ddI）+司他夫定（d4T）	ddI 泡腾片 400mg qd，250mg bid；d4T 40mg bid
扩展方案（基本方案+下列一种药物）	
茚地那韦（IDV；Crixivan）	800mg q8h 空腹时服用
奈非那韦（NFV；Viracept）	750mg tid 进食时服用
依非韦伦（EFV；Sustiva）	600mg qn
阿巴卡韦（ABC）	300mg bid，d4T 40mg bid

8.5　暴露后预防的时间：预防性用药应在暴露后立即开始，一般在 1h 之内服药效果最好。对于感染危险性很高的暴露者，即使间隔时间很长（比如 1～2 周），也应考虑使用预防性治疗；因为即使不能防止感染，早期治疗对 HIV 急性感染也有好处。由于服用 4 周 AZT 才有一定保护作用，如果无很大的副作用，预防性治疗用药时间应持续 4 周。

8.6　暴露后预防的监测：使用 PEP 以后，应监测并注意以下情况

8.6.1　毒副作用：如果出现主观的或客观的毒副作用，应在专家的指导下，减少剂量或换用药物，并详细记录药物毒副作用情况。应在开始服药时及服药 2 周后进行全血检测和肝、肾功能检测。

8.6.2　耐药性：可以检测暴露源病毒的耐药状况，评估感染耐药毒株的危险。

8.6.3　暴露者的 HIV 血清学反应：应在暴露当时、及暴露后 4 周、8 周、12 周、6 个月，定期抽血检测 HIV 抗体，有条件时，可以采用核酸检测和病毒分离等进行早期诊断。

8.6.4　育龄妇女使用 PEP，用药期间应避免或终止妊娠。

8.6.5　保密：对职业暴露涉及的人员，应做好保密工作。不向无关人员泄露相关信息。

8.7　药品储备点的建立及管理

8.7.1　各省应将职业暴露安全药物储备点（下称储备点）的工作纳入省卫生行政部门的艾滋病防治工作规划，尽快筹建贮备点，组建由疾病预防控制专家和临床专家组成的专家组，根据本省需求储备适量的职业暴露预防药品。

8.7.2　各省药物贮备点可设在省疾控中心，或卫生行政及其它系统的主管部门指定的单位。

8.7.3　各省和各系统筹建的贮备点，需在中国疾控中心性艾中心备案。

8.7.4　职业暴露安全药品由国家免费抗病毒治疗药品库统一调配。

8.7.5　各省和各系统的安全药品贮备点负责本辖区内或本系统职业暴露事故预防性用药，包括对暴露级别、暴露源头严重程度进行评估，确定用药方案，并负责事故后的咨询、技术指导、分析总结等工作。

8.7.6　各省药物储备点应严格按照本规范的要求做好药品的使用、发放、更新和管理以及事故的登记、处理和跟踪检测等工作。

第九章　艾滋病检测实验室质量管理

1　范围

本章规定了艾滋病检测实验室质量管理相关内容，包括质量保证、质量控制和质量评价，适用于全国各级艾滋病检测实验室开展的HIV及非HIV检测项目的质量管理。

2　规范性引用文件

《全国艾滋病检测工作管理办法》　（中华人民共和国卫生部，2006年12月）

Guidance for HIV testing in the Western Pacific Region. WHO Draft 19 July 2008.

ISO 15189, Medical Laboratories-Particular requirements for quality and competence（formerly Qualily Management in the Medical Laboratory）.

NCCLS C24-A2. Statistical Quality Control for Quantitatire Measurements; Principles and Definitions; Approved Guideline-Second Edition.

《艾滋病病毒感染者及艾滋病患者 CD4+T 淋巴细胞检测质量保证指南（试行）》（中国疾病预防控制中心，2006年2月）

《HIV-1病毒载量测定及质量保证指南（试行）》　（中国疾病预防控制中心，2008年2月）

3　质量保证

3.1　行政支持

应将艾滋病检测实验室的建设、发展和质量管理纳入地方卫生行政规划，保证实验室负责人和主要技术人员队伍的稳定，保证实验室建筑和设备需要，给予充足的经费支持，并进行经常性监督检查。

3.2　人员培训

检测技术人员需经过上岗培训和在岗持续培训。上岗培训内容至少应包括：艾滋病检测相关基础知识，艾滋病相关检测技术及管理要求，实验操作，质量保证与质量控制，生物安全。要求掌握相关专业知识和技能，能独立熟练地操作，并经考核合格，持证上岗。在岗持续培训指在工作中要根据需要接受复培训，确证实验室技术人员每年至少1次，筛查实验室技术人员至少每2年1次，除接受检测基本培训内容外，要求了解相关技术、质控及安全要求的新进展。

实验室在使用新方法前，须对技术人员进行培训，获得资格后方可开展相应工作。

检测人员应分为检验人、复核人、签发人。复核人、签发人应具备对检测过程进行分析和解决问题的能力。

3.3　环境条件

3.3.1　抗体检测实验室环境

艾滋病确证实验室及筛查实验室的设置及其建筑、设施、设备必须符合《全国艾滋病检测工

作管理办法》的要求。HCV，HBV 及梅毒等血清学检测在满足实验室管理要求和保证生物安全的条件下，可以与 HIV 检测共享空间和设备，应避免交叉污染。

3.3.2　CD4＋T 淋巴细胞、病毒载量测定实验室环境

分别参见《艾滋病病毒感染者及艾滋病患者 CD4+T 淋巴细胞检测质量保证指南（试行）》（中国疾病预防控制中心，2006 年 2 月），《HIV-1 病毒载量测定及质量保证指南（试行）》（中国疾病预防控制中心，2008 年 2 月）及本规范第三章和第四章。

3.4　样品采集、运送和处理

严格按照本规范第一章要求执行。

3.5　检测方法和试剂的选择

应使用经国家食品药品监督管理局注册批准的试剂。应使用可靠的检测方法，参比实验室和确证中心实验室应对新方法进行评估。应选择敏感性高、特异性好的试剂，参比实验室定期组织国家级艾滋病诊断试剂临床质量评价。确证中心实验室定期组织对本省内使用的试剂进行评价，或在招标前对拟投标试剂进行质量评价，根据评价结果选择质量好的试剂，并对中标试剂进行质量监督。试剂质量评价方法参见本章 5.2.6。

各实验室更换试剂批号时，应进行平行试验，即新批号试剂在测定质控品（已知结果）时能够获得与原试剂相同的结果。所有试剂盒须严格按要求条件保存。试剂盒拆封时，要记录拆封时间，所有试剂严格控制在有效期内使用。对于 CD4＋T 淋巴细胞测定，同批试剂应采用 HIV 阴性全血样品作为定值指标。所有病毒载量试剂盒须严格按要求的温度、避光保存和无核酸污染的环境条件保存，用内部质控品来控制不同批号之间的试剂差异。

3.6　设备维护与校准

3.6.1　设备校准

实验室应设立常用仪器的维护及校准制度，以保证检测工作正常运转。必须经国家法定部门定期（每年至少 1 次）校准的仪器至少包括：酶标仪/洗板机，加样器，温度计，高压灭菌器 。加样器、温湿度计须经计量部门校准。必要时可根据需求每 1～2 个季度进行期间核查。其他精密仪器及出具实验结果的仪器，如生物安全柜，全自动蛋白印迹仪，CD4 细胞测定仪、病毒载量测定仪、耐药检测仪、离心机等也必须定期（每年 1 次）校准，可请生产厂家校准。

3.6.2　设备维护及使用纪录

3.6.2.1　酶标读数仪、洗板机

每个工作日核对滤光片波长，检查洗板机管道是否通畅，是否有漏液现象。定期清洁仪器表面，保护光学零件不沾灰尘。定期（每月至少 1 次）检查洗板机洗涤时各孔是否与相应的冲洗头对位良好；负压是否符合规定要求。定期（每年至少 1 次）检查、清洗滤光片，如果出现破裂或霉点须更换；根据仪器内具有的校准程序或使用校准板，对滤光片的精密度进行校准并保留记录。

实验过程中发现异常情况，应随时进行处理，可根据使用情况更换必要的部件。

3.6.2.2　移液器

定期（每年至少 1 次）校准，发现异常情况应随时进行校准。标定方法包括有色溶液光谱分析法、称量校准法、同位素计数法以及使用配套校准盒等。校准多道移液器时，必须保证每一个

加样头都能够连续、准确地加样。移液器的精密度应在厂家说明书规定的范围内。

范例　用蒸馏水称量法标定移液器：

在室温 22℃无风的工作室中，在万分之一级别天平上放置一个小三角烧瓶，用待校准的移液器吸取存放过夜的蒸馏水加入烧瓶底部，称重并计算蒸馏水重量，连续称重 10 次。加蒸馏水的量根据待校准移液器的规格而不同（表 5），10 次校准称量均在要求的重量范围内为合格，贴上合格标签，注明校准日期，不合格移液器要请生产厂家进行校准。填写和保存校准记录。

表 5　称重法校准移液器方案

移液器规格	蒸馏水量	要求重量范围
0.5～5μl	2μl	1.75 ～ 2.25 mg
1～10μl	10μl	9.8 ～ 10.2 mg
40～200μl	70μl	69.4 ～ 70.6 mg
200～1000μl	300μl	298.0 ～ 302.0 mg
1～5ml	2000μl	1990.0 ～ 2010.0 mg
2～10ml	3500μl	3485.0 ～ 3515.0 mg

3.6.2.3　冰箱和孵育箱

每天检查和记录冰箱温度，每个工作日检查记录孵育箱温度，并做好记录。使用经过计量部门校准合格的温度计测量冰箱和孵育箱的实际温度，根据不同规格冰箱和冻存样品性质对温度要求不同，用于冷冻核酸和抗原检测的血浆、淋巴细胞和病毒上清适宜在-70℃冰箱，要求冰箱温度低于-65℃；保存抗体检测样品及考核盘适宜在-20℃冰箱，要求冰箱温度低于-15℃；放置要求 4℃保存的试剂盒的冰箱温度应在 2～8℃；用于培养的孵育箱温度误差应小于 1℃。

3.6.3　其它仪器

CD＋T 淋巴细胞测定仪，病毒载量测定仪，离心机，全自动蛋白印迹仪，生物安全柜，高压灭菌器等，每次使用前检查仪器是否处于正常运转状态，并做好记录。使用过程中或使用后检查发现问题，应及时报告，并请专业公司进行维修，直至运转正常。

3.7　实验耗材

实验室需选购质量优良的耗材，以保证检测工作安全和结果的可靠性，并定期（每批次）或在更换产品时对耗材进行质量评价。

3.8　文件和文件管理

3.8.1　标准操作程序 （SOP）

3.8.1.1　各级艾滋病实验室要建立覆盖主要工作内容的 SOP 文件

筛查及确证实验室 SOP 文件至少应包括：（1）样品的接收、登记、处理、保存和运输；（2）检测方法和步骤；（3）试剂使用和保存；（4）仪器的使用维护和校准；（5）质量控制要求及程序；（6）结果解释与报告；（7）保密程序；（8）实验室数据、相关文件记录与保存；（9）不确定样

品追踪和处理；（10）实验室安全防护及实验室的清理和消毒。

确证中心实验室 SOP 文件至少应包括：满足确证和筛查实验室 SOP 文件，并包括：阳性样品库管理；省级实验室网络质量保证及质量控制实施程序；省级试剂质量评价方案；实验室现场督导、检查和考核方法；供应品采购程序。

3.8.1.2　SOP 至少应包括以下内容

（1）标题和编号；（2）编写和修订日期；（3）编写和修订人员姓名；（4）方法、目的和应用范围；（5）检测设备；（6）试剂及有效期；（7）安全防护相关步骤；（8）结果的解释和报告；（9）附录，包括相关的附加文件如标准表格、设备和试剂盒说明书等。

3.8.1.3　SOP 编写及修订

由各岗位工作人员起草，实验室主任审定，每年修订一次。修订应该在实验室主管人员（技术负责人）的领导下进行。所有工作人员要在所从事工作的 SOP 文件上签名表示已经阅读并掌握了有关内容。

3.8.1.4　实验过程中应严格执行标准操作程序（SOP），不得擅自修改。

3.8.2　实验原始记录表

应按实验要求，设计试验操作原始记录表，标明空白对照、阳性对照、阴性对照、外部对照以及待检样品的位置，便于指导实验人员加样。要注明试剂盒厂家、测定方法、批号、效期、操作人员和复核人员姓名及检测日期。

3.8.3　结果报告

分析结果及发出检测报告前，应注意须在试剂盒及外部质控品结果满足要求的前提下，对样品进行分析。试剂盒及外部质控品不合格，样品需要重新检测；复核人对检测结果进行仔细复核并对结果提出结论、签发人对试验结论进行审核、分析、总结、签字。

3.8.4　样品登记和保存

收到样品后，建立唯一编码，及时登记有关信息，包括受检者姓名或代号、试管编号、性别、年龄、职业、送检单位、人群类别、检验结果、送检日期、报告日期、备注（必要时记录通信地址）等。HIV 阳性样品的保存记录应包括 HIV 阳性样品的类型、贮存量、贮存温度、贮存起始时间以及样品保管人姓名。

3.8.5　文件存档

实验原始记录表、打印数据、免疫印迹试验的膜反应条带或其照片、检测记录表、样品登记、样品保存记录以及仪器设备维修和校准记录、人员培训记录等都应该妥善存档保存 10 年以上。最好同时使用计算机保存各种文件和记录。

4　质量控制

见各有关章节。

5　质量评价

包括内部质量评价和外部质量评价。

5.1　内部质量评价

内部质量评价指由本实验室组织的质量评价，实验室应定期组织内部质量评价，应包括样品接收、检测、保存至发出检测报告的各个环节。确证中心实验室应通过实验室认证认可，并按照认证认可的相关要求建立质量评价机制；鼓励确证实验室及筛查实验室通过实验室认证认可或按照认证认可的有关条款建立适宜的内部质量评价机制。

5.2　外部质量评价

外部质量评价由本实验室之外的机构或单位组织，包括对质量保证和质量控制工作的评价，职能工作考核主要是评价实验室质量保证工作，能力验证（PT）或室间质量评价主要是评价实验室质量控制工作，是检验实验室对未知样品获得正确结果的能力。所有艾滋病检测实验室必须参加外部质量评价，确证中心实验室应参加国家级职能工作考核和 PT，确证实验室应参加省级职能工作考核和国家级 PT，筛查实验室应参加省级职能工作考核和 PT。

5.2.1　职能工作考核

5.2.1.1　组织者：参比实验室负责组织确证中心实验室职能工作考核，确证中心实验室负责组织辖区内艾滋病确证实验室和筛查实验室的职能工作考核。

5.2.2.2　频度：每年对实验室进行一次职能工作考核。

5.2.2.3　方式：职能工作考核采取问卷调查和现场评价相结合的方式进行。所有实验室必须接受问卷调查，可对部分实验室（5～10%）进行现场抽查。

（1）问卷调查

1）省级考核至少应包括以下内容：人员培训及能力，环境条件，仪器设备使用及校准，管理性文件及试验纪录，检测报告，试剂使用情况，样品接受及保存情况，质量保证和质量控制。国家级考核除上述内容外，应包括：全省实验室网络建设、检测、培训、试剂考评、省级职能工作考核、PT、现场督导等情况。根据需要问卷内容可进行合理调整。

2）考核程序：由组织者发放问卷，各参评实验室应严格按照要求，根据当年实际情况逐项如实填写实验室问卷调查表，并在规定时间内反馈。

3）考核结果判定：组织者接到调查问卷后，根据评分标准对各实验室的问卷进行汇总、统计、分析和评估。必要时可调用有关实验的原始记录和免疫印迹条带进行分析核查。分析各实验室考核结果，并进行评分和评价： 90 分以上为优秀，80－90 分为良好，60－80 分为合格， 60 分以下为不合格。

（2）现场评价

1）评价内容

筛查及确证实验室现场评价至少应包括：

实验室人员组成及其职责分工；实验室分区、布局、恒温设施；仪器设备及其使用、校准记录；质量保证文件、实验室 SOP 文件及原始记录；实验室的安全防护措施，安全用品及安全规程；消毒与污物处理方法及设施；HIV 检测资料数据库的建设、存档、备份、安全和保密；样品保存和安全；开展的 HIV 检测项目和检测试剂。其它：包括检测对象，各人群检测情况，检测前后咨询，检测中遇到的难题，等。

确证中心实验室现场评价至少应包括：除上述内容外，包括阳性样品库的管理，全省实验室网络建设、培训、实验室管理、质量保证等情况。

2）工作程序

实验室人员全部到场，汇报人员组成及其职责分工、正常情况下实验室收样、检测、直至发出报告的全过程（专家组可随时提问）。

全面听取上级主管部门和实验室人员介绍历年检测工作情况汇报、存在问题、对专家组的工作建议和今后工作的设想。实验室应提供相应的文字资料和数据。

对实验室人员业务素质、仪器设备、场地布局、室内质控及检测对象、安全防护措施等进行现场评价。

讨论分析年度考核中存在的问题和经验，指出不正确或有出入的结果，共同分析原因（可随时提出问题）。

专家组对评价情况进行讨论，根据评价全面情况写出实验室现场抽查报告并签字。（当地实验室人员回避）。

现场反馈：专家组向被评价单位及上级主管部门汇报评价情况及发现问题，对今后工作提出建议。评价报告一式两份，一份保留在实验室；另一份由专家组上报考核组织单位存档。

5.2.2　能力验证（PT）

实验室能力验证是指利用实验室间的比对确定实验室的检测能力。实施内容和程序主要包括：

5.2.2.1　组织者：参比实验室负责组织确证中心及确证实验室的HIV、HCV和梅毒抗体检测，CD4＋T淋巴细胞测定，HIV、HCV病毒学测定及其他新开展项目的PT考核。各艾滋病确证中心实验室负责辖区内所有艾滋病筛查实验室的HIV、HCV和梅毒抗体检测PT考核，鼓励有条件的确证中心实验室组织本省CD4＋T淋巴测定的PT考核。

5.2.2.2　频度：抗体检测 PT 考核国家级每年 3 次，省级每年至少 1 次，有条件的省可根据需要每年组织 2～3 次。CD4+T 淋巴细胞检测：国家级每年 2～3 次，省级每年 1～2 次。病毒学检测：国家级每年 1～2 次。其他新项目的 PT 可根据需要定期开展。

5.2.2.3　样品来源及构成：可由国家参比实验室或确证中心实验室提供，或购置商用质控品。根据需要，抗体检测PT考核盘可由5－10份样品组成，包括强阳性、弱阳性和阴性样品。CD4＋T淋巴细胞检测PT考核盘可由2～3份样品组成，应含有不同CD4＋T淋巴细胞数量的样品。病毒学定量检测考核盘可由5～10份样品构成，包括阴性和不同量值的阳性样品；定性检测考核盘可由3～5份样品构成，由阴性样品和不同强度的阳性样品构成。

5.2.2.4　考核结果及判定标准

（1）抗体检测：实验室检验结果评价采用 PT 得分

$$\text{实验室PT得分} = \frac{\text{该项目检测结果可接受样品数}}{\text{该项目总的检测样品数}} \times 100\%$$

每份样品检测结果与预期结果一致，判定为满分，不一致为零分。

（2）CD4 细胞测定：以标准差指数（SDI）值作为判定标准：

SDI＝（某实验室试验结果－所有参加实验室试验结果的平均值）/所有参加实验室试验结果的标准差。＝残差 （Residual ）/ 标准差（SD）

当 SDI 值在±1.5 以内时系统运行正常，判为通过；

当 SDI 值超出±1.5 时系统处于告警状态，判为通过,但应引起注意；

当 SDI 值超出±2.0 时整个系统处于失控状态，提示存在较大的问题，检验结果无效，判为未通过。

（3）病毒载量测定：分为优秀，良好，不及格。判定标准为：

未出现下述 A 条款和 B 条款中的任何问题，判为优秀；出现下述 A 条款中的任何一条，判为良好；出现下述 A 条款中的两条及以上或 B 条款中的一条及以上，判为不合格。

A 条款：一个样品结果在±1.5～2.0S 内；一个假阳性；一个无效结果；一个抄写错误。

B 条款：两个样品结果超过±2.0S；两个及以上假阳性；两个及以上无效结果；两个及以上抄写错误。

5.2.2.5 程序

（1）PT样品的发放：组织者应制定年度PT工作计划，并下发所有参加PT的实验室。PT样品可按次或按年发放。组织者应在PT样品下发前通知参加实验室，并确认其收到。

（2）PT样品的接收：要求参加PT的实验室收到样品后，立即进行清点、检查，填写接收表，如发现缺失、空管、溶血、凝血、结冰等情况，应及时向PT组织者报告，后者负责补寄或更换。

（3）PT 样品保存、运输：样品保存及运输要求见本规范第一章。

（4）PT样品的检验：PT样品应按常规与日常样品一同进行检测，不应作为特殊样品处理，以反映实验室日常检测质量。不可修改检测结果。应在规定的时间内完成检测。

（5）PT结果报告：实验人员完成PT样品检测后，应填写结果报告表，经实验人员及实验室负责人审核后签字。必须在规定的时间内报告结果。参加PT的实验室经PT电子化回报系统或者传真将数据发送至PT组织者，由PT组织者进行数据分析，根据所有参加者的汇总结果进行评分。

5.2.3 外部质量评价结果汇总、上报及公布

考评组织单位根据 PT 考核结果、职能工作评价结果及对部分实验室现场评价情况，汇总本年度艾滋病检测实验室考评总体情况，确定各实验室的最终考评结果，对各类结果提出相应的处理意见和建议，上报上级单位，并报中国 CDC 性病艾滋病预防控制中心国家参比实验室备案。

考评单位应将考评得分及扣分原因发至各参评实验室，以适当的方式在适当范围内公开发布考评结果。为合格者颁发合格证书，对考评不合格实验室，经专家组实地核查质量确有问题的，暂停检测资格，限期 3 个月整改。整改期间由专家组进行现场指导，考核合格后恢复其检测资格；3 个月后仍不合格者由考评实验室上报组织单位，并转报同级卫生行政主管部门，由卫生行政主管部门发出通知，撤消其实验室资格。被撤消实验室资格的实验室须重新培训，按《全国艾滋病检测工作管理办法》要求再次提出申请，批准后方可再次获得资格。

6 诊断试剂临床质量评估

6.1 评估目的

由试剂使用单位对HIV诊断试剂进行临床质量评估是对国家药品监督管理部门审评试剂生产和批批检制度的一项重要补充，也是许多国家控制市售HIV诊断试剂质量的重要手段。

通过对国内市场销售的国产和进口HIV诊断试剂的敏感性、特异性、批间差异和适用性进行综合质量评估，及时发现和解决试剂质量问题，为中央和地方卫生行政部门提供有关的决策依据，并作为艾滋病实验室选择试剂的依据。未参加评估的试剂一般不推荐使用。

6.2 参考试剂的选择

可以选用一种或一种以上同类高质量的HIV诊断试剂作为参考试剂。

6.3 考评盘的制备

6.3.1 考核盘总样品量应在100～500份，推荐省级评估不少于100～200份，国家级评估400～500份。

6.3.2 考核盘包括HIV抗体阴性（含筛查假阳性样品）、强阳性和弱阳性样品，阳性样品比例应不低于30%。国家级考核盘应包括适量的特殊样品，如HIV-2阳性样品和阳转血清盘。

6.3.3 考核盘质量和容量：所有考核样品必须清亮、无溶血、无微生物污染，无过多脂质，避免反复冻融。考核盘样品应经过严格检测，确定标准结果，足量储备，至少保持 3～5 年不变。特殊考核盘可由参比实验室自制或购置商用质控品。

6.4 考评程序

6.4.1 试剂抽检

6.4.1.1 试剂种类应尽可能覆盖临床使用的所有品种。

6.4.1.2 避免偏性：受评估试剂应由考评组织方从市场上或从实验室进行随机抽检，保证其真实性。实行双盲检验，即操作者不知设计安排者选用样品的真实情况。

6.4.2 试剂考评

6.4.2.1 考核盘检测

应在最佳条件下进行比较实验，即在同一实验室采用统一的技术方法、仪器设备、由经过专门培训的具有该项工作经验的检测人员严格按照各试剂操作要求进行检测。

评价HIV抗原抗体诊断试剂时，对HIV抗体阴性或不确定但HIV抗原抗体诊断试剂呈阳性反应的样品，需进一步用核酸检测试剂检测。

6.4.2.2 评估结果的分析及统计处理

测试后的检测结果可按下列指标统计处理：

敏感性：真阳性/（真阳性+假阴性）×100%

特异性：真阴性/（真阴性+假阳性）×100%

假阳性率：假阳性/（真阴性+假阳性）×100%

假阴性率：假阴性/（真阳性+假阴性）×100%

功效率：功效率是指不产生假阳性和假阴性结果的效率，是一种将敏感性和特异

性相结合的综合质量指标，其公式为：

（真阳性+真阴性）/（真阳性+假阳性+真阴性+假阴性）×100%

6.4.2.3　变异系数（cv）：是反映各次 OD 值相对于均值的离散程度的指标，可以用于衡量被检测试剂的重复性或精密度。在整套质评样品中有专供测定变异系数的样品，连续测定 20 孔，求出均数（$\bar{x}$）和标准差（s）。

变异系数：$cv=\frac{s}{\bar{x}}\times 100\%$

6.4.2.4　阳性预示值（PPV）和阴性预示值（NPV）：这种指标还考虑到人群感染率的分布，PPV 表示阳性检测结果为真阳性的概率，NPV 表示阴性检测结果为真阴性的概率。它们的简单估算公式为：

PPV=真阳性/（真阳性+假阳性）×100%

NPV=真阴性/（真阴性+假阴性）×100%

6.4.3　评估结果的公布和利用

评估结果按照生产厂家的首字拼音排序，在中国 CDC 性病艾滋病预防控制中心网页上公布。为实验室网络使用试剂提供参考。

附表 1

HIV 抗体筛查报告

REPORT OF HIV ANTIBODY SCREENING TESTING

秘密　　编号：

SECRET　　NO.：

送检单位 FROM				送检日期 DATE		年　月　日	
送检样品 SPECIMEN		全血□ 血浆□ 血清□ 唾液□ 尿□ 其它：_____		送检人群 POPULATION			
姓名 NAME		年龄 AGE		性别 GENDER		职业 OCCUPATION	
国籍 NATIONALITY		民族 ETHNICS		婚姻状况 MARRIAGE		文化程度 EDUCATION	
身份证号 ID NUMBER		□□□□□□□□□□□□□□□□□□				联系电话 PHONE	
现住址 ADDRESS		_____省_____市_____县_____乡（镇、街道）_____村_____（门牌号）					
户籍地址 PERMANENT ADDRESS		_____省_____市_____县_____乡（镇、街道）_____村_____（门牌号）					

检测方法 METHODS	检测结果 RESULTS	检测日期 TESTING DATE	备注 NOTE
酶免实验（ELISA）	阳性□　阴性 □		
化学发光（chemiluminescence）	阳性□　阴性 □		
颗粒凝集实验（PA）	阳性□　阴性 □		
快速实验（RT）	阳性□　阴性 □		
其它实验：_____	阳性□　阴性 □		
初筛结论 CONCLUTION	HIV 抗体待复检□　阴性 □		

检测者 OPERATOR		复核者 REOPERATOR		签发者 HEAD		报告日期 DATE	年　月　日

筛查单位或实验室（公章） INSTITUTION OR LABORATORY （OFFICIAL SEAL）	备注 NOTE

PRINTED BY CHINESE CENTER FOR
DISEASE CONTROL AND PREVENTION　　中国疾病预防控制中心制订

附表 2

HIV 抗体复检检测单

秘密　　编号

送检单位				送检日期	年　月　日		
送检样品	血（全血□ 血浆□ 血清□） 唾液□ 尿□			送检人群			
姓名		性别		年龄		职业	
国籍		民族		既往病史			
现住址	_____省_____市_____县（区）_____乡（镇、街道） _____村_____（门牌号）						
户籍地址	_____省_____市_____县（区）_____乡（镇、街道） _____村_____（门牌号）						

	初筛	复检（第一次）	复检（第二次）
检测方法	ELISA□ PA□ 化学发光□ RT□ 其它实验：_____	ELISA□ PA□ 化学发光□ RT□ 其它实验：_____	ELISA□ PA□ 化学发光□ RT□ 其它实验：_____
检测日期	年　月　日	年　月　日	年　月　日
试剂厂家			
批　号			
有效日期			
检测结果	阳性□ 阴性□	阳性□ 阴性□	阳性□ 阴性□

复检结论	HIV 抗体待确证□ 阴性□		
检测者		审核者	

送检单位（公章）： 电话: 邮编:	备注：

中国疾病预防控制中心制订

附表 3

HIV 抗体确证检测报告单

REPORT OF HIV ANTIBODY CONFIRMATORY TESTING

秘密 SECRET　　编号 NO.

送检单位 FROM				送检日期 DATE		年　月　日 YEAR MONTH DAY	
送检样品 SPECIMEN		全血□ 血浆□ 血清□ 唾液□ 尿□ 其它：_____		送检人群 POPULATION			
姓名 NAME		年龄 AGE		性别 GENDER		职业 OCCUPATION	
国籍 NATIONALITY		民族 ETHNICS		婚姻状况 MARRIAGE		文化程度 EDUCATION	
身份证号 ID NUMBER		□□□□□□□□□□□□□□□□□□				联系电话 PHONE	
现住址 ADDRESS		_____省_____市_____县_____乡（镇、街道）_____村_____（门牌号）					
户籍地址 PERMANENT ADDRESS		_____省_____市_____县_____乡（镇、街道）_____村_____（门牌号）					

检测方法 METHOD	日　期 DATE	检测结果 RESULTS
筛查试剂 1		
筛查试剂 2		
筛查试剂 3		
WB 带型		
*结论 CONCLUSION	阳性□　　阴性□　　不确定□	

检测者 OPERATOR		复核者 REOPERATOR		签发者 HEAD		报告日期 DATE	年　月　日 YEAR MONTH DAY

确证单位或实验室（公章） INSTITUTION ORLABORATORY	备注　NOTE

PRINTED BY CHINESE CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION

中国疾病预防控制中心制订

*抗 HIV 阳性一律盖红色章

附表 4

HIV 抗体替代策略检测报告单

REPORT OF HIV ANTIBODY ALTERNATIVE STRATEGY TESTING

秘密 SECRET　　编号 NO.

送检单位 FROM				送检日期 DATE	年　月　日 YEAR　MONTH　DAY		
送检标本 SPECIMEN				送检人群 POPULATION			
姓名 NAME		性别 SEX		年龄 AGE		职业 OCCUPATION	
婚姻状况 MARRIAGE		民族 ETHNICS		国籍 NATIONALITY		文化程度 EDUCATIONAL	
地址 ADDRESS							

检测方法、试剂 METHOD，REAGENT	日　期 DATE	检测结果 RESULTS（S/CO 比值）
第一种筛查检测		
第二种筛查检测		
第三种筛查检测（高特异性试剂 ELISA）		
结论　CONCLUSION	阳性□	阴性□

检测者 OPERATOR		复核者 REOPE-RATOR		签发者 HEAD		报告日期 DATE	年　月　日 YEAR　MONTH　DAY

检测单位或实验室（公章） INSTITUTION OR LABORATORY	备注　NOTE

PRINTED BY CHINESE CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION

中国疾病预防控制中心制订

附表 5

流行病学监测 HIV 抗体检测报告单

REPORT OF HIV SEROEPIDEMIOLOGY SURVEILLANCE

秘密 SECRET　　报告单编号 NO.　　第　页 共　页

送检单位 FROM		送检日期 DATE	年　月　日 YEAR　MONTH　DAY
送检样品 SPECIMEN		送检人群 POPULATION	
样品编号 No.	起始号　终末号 FROM　END	样品数量 QUANTITY	
采样地址 ADDRESS			

检测方法、试剂 METHOD，REAGENT	

样品编号 No.	原送检号 No.	检测结果 RESULTS（S/CO 比值）	疫情报告结论 CONCLUSION

检测者 OPERATOR		复核者 REOPE- RATOR		签发者 HEAD		报告日期 DATE	年　月　日 YEAR　MONTH　DAY

检测单位或实验室（公章） INSTITUTION OR LABORATORY	备注　NOTE 1. 本报告仅对送检样品负责，作为流行病学疫情监测结果，不作为通知个人依据，对个人资料做好严格保密！ 2. 请做好检测后咨询，建议进一步做确证试验。

附表 6

艾滋病病毒抗体检测数及阳性人数统计报表

填报单位：_____ 县区行政区划代码：□□□□□□ 填报时间：_____年____月___日

检 测 样 品 来 源 分 类	检测份数	艾滋病病毒感染者人数	艾滋病病人数
术前检测			
受血（制品）前检测			
性病门诊			
其他就诊者检测			
婚前检查（含涉外婚检）			
孕产期检查			
检测咨询			
阳性者配偶或性伴检测			
女性阳性者子女检测			
职业暴露检测			
娱乐场所人员体检			
有偿供血（浆）人员检测			
无偿献血人员检测			
出入境人员体检			
新兵体检			
强制/劳教戒毒人员检测			
妇教所/女劳收教人员检测			
其他羁押人员体检			
专题调查（请注明人群）			
其他			
合计			

填表说明：

1. 此表在每月 10 日前通过“艾滋病网络直报信息系统”上报，未开展网络直报的单位，由县级疾病预防控制机构收集统一上报；
2. 检测份数一栏只填当月首次筛查人数，不包括复检或确证的检测数；
3. 艾滋病病毒感染者和艾滋病病人均指符合病例报告标准的，即确证试验阳性或替代策略阳性者；
4. 艾滋病病毒感染者数或艾滋病病人数不一定是当月筛查的，应是本月新报告的；
5. 艾滋病病毒感染者当月内被诊断为艾滋病病人时，应统计入“艾滋病病人数”栏。

附表 7

CD4+T 淋巴细胞检测结果报告

REPORT OF CD4+T LYMPHOCYTE TESTING

单位名称：						
实验室名称：						
样品接收日期：　年/　月/　日/　时/　分 /						
样品检测日期：　年/　月/　日/　时/　分 /						
检测结果报告日期：　年/　月/　日/　时/　分 /						
所用流式细胞仪：						
检测者：　　复核者：　　签发者：						
结果报告						
样品 ID 号	CD45+CD3+ 百分数	CD3+ 绝对数（个/μ1）	CD8+CD3+CD45+ 百分数	CD3+ CD8+ 绝对数（个/μ1）	CD4+CD3+CD45+ 百分数	CD3+ CD4+ 绝对数（个/μ1）
参考范围						
CD3+/CD45+百分数：				CD3+绝对数：		
CD3+CD8+/CD45 百分数：				CD3+CD8+绝对数：		
CD3+CD4+/CD45 百分数：				CD3+CD4+绝对数：		
CD4/CD8 比值百分数：						
检测单位或实验室（公章） INSTITUTION OR LABORATORY				备注　NOTE 本报告仅对送检样品负责。		

附表 8

HIV-1 耐药基因型检测报告

REPORT OF HIV DRUG RESISTANCE GENOTYPIC TESTING

秘密 SECRET　　编号 NO.

送检单位 FROM				送检日期 DATE	年　月　日 YEAR　MONTH　DAY		
送检标本 SPECIMEN				送检人群 POPULATION			
姓名 NAME		性别 SEX		年龄 AGE		职业 OCCUPATION	
婚姻状况 MARRIAGE		民族 ETHNICS		国籍 NATIONALITY		文化程度 EDUCATIONAL	
地址 ADDRESS							

检测方法 METHODS		检测日期 DATE	

耐药相关基因突变 （MUTATIONS ASSOCIATED WITH DRUG RESISTANCE）	
蛋白酶区（PR）	
逆转录酶区（RT）	

耐药程度分析　（INTERPRETATION OF RESISTANCE PROFILE）

药物名称	5 个耐药水平					3 个耐药水平		
	未发现耐药 S	潜在耐药 P	低度耐药 L	中度耐药 I	高度耐药 H	未发现耐药 S	可能耐药 I	显示耐药 R
蛋白酶抑制剂 PIs								
阿扎那韦（ATV）								
地瑞那韦（DRV）								
夫沙那韦（FPV）								
茚地那韦（IDV）								
克力芝 （LPV/r）								
奈非那韦（NFV）								
沙奎那韦（SQV）								
替拉那韦（TPV）								

核苷类逆转录酶抑制剂 NRTIs								
拉米夫定（3TC）								
阿巴卡韦（ABC）								
齐多夫定（AZT/ZDV）								
司他夫定（d4T）								
地丹诺辛（ddI）								
恩曲他滨（FTC）								
替诺福韦酯（TDF）								
非核苷类逆转录酶抑制剂 NNRTIs								
台拉韦定（DLV）								
依非韦仑（EFV）								
Etravirine（ETR）								
奈韦拉平（NVP）								

检测者 OPERATOR		复核者 REOPERATOR		签发者 HEAD		报告日期 DATE	年 月 日 YEAR MONTH DAY
检测单位（公章） INSTITUTION OR LABORATORY						备注 NOTE	本结果仅提供耐药性参考，病人对药物的耐受情况需接合临床情况具体分析。

PRINTED BY CHINESE CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION

中国疾病预防控制中心制订

附表 9

艾滋病职业暴露个案登记表

一. 基本情况							
编　　号		性别		年龄/工龄	/	职 业	
工作单位							
发生时间				发生地点			
暴露时从事何种防治活动							
是否接受过艾滋病安全操作培训							

二. 暴露方式			
（一）接触暴露			
1. 皮肤　无破损 □　有破损 □		2. 粘膜 □	
3. 接触部位		4. 接触面积	cm^2
5. 暴露量和时间	量小暴露时间短 □		量大暴露时间长 □
6. 污染物来源	（1）血液 □	（2）何种体液	（3）其它:
（二）针刺或锐器割伤			
1. 何种器械	（1）空心针 □	（2）实心针 □	（3）其它器械:
2. 损伤程度、危险度	表皮擦伤、针刺　低危 □	伤口较深、器皿上可见血液　高危 □	
3. 污染物来源	（1）血液 □	（2）含血体液:	（3）其它:
（三）其它方式			
致伤方式	抓伤 □　咬伤 □　其它	破损、出血　有□　无□	

三. 暴露源严重程度							
（一）实验室样品	1.血液 □			2.何种体液:			
	3.其它:			4.病毒含量: 滴度低　滴度高			
	5.其它情况:						
（二）来源于患者	患者编号		性 别		年 龄		确诊时间
	患者病情	无症状 HIV 感染者 □		有症状，但不同于艾滋病 □		艾滋病期. □	
	病毒载量			CD4 细胞计数			
备注:							

四. 暴露后紧急处理

（一）皮肤	1.清水冲洗 □	2.是否用肥皂 是□ 否□
	3.是否挤出损伤处血液: 是 □ 否 □	4.消毒药物:
	5.冲洗时间: min	
（二）粘膜	1.生理盐水 □	2.清水 □
	3.其它液体:	4.冲洗时间: min
备注:		

五．评估			
（一）暴露级别	（1）1 级暴露 □	（2）2 级暴露 □	（3）3 级暴露 □
（二）暴露源头严重程度	（1）轻度 □	（2）重度 □	（3）不明 □
		评 估 人:	

六．暴露后预防性治疗方案			
1.是否需要预防性用药	是□	否□	
2.用何种药物及用量	（1）		
	（2）		
	（3）		
3.开始用药时间		4.停止用药时间	
5.因毒副作用,修改治疗方案			
6.副作用			
肝功能检查 肾功能检查			

七．症状
暴露后 4 周内是否出现急性 HIV 感染症状 是□ 否□

何种症状		持续时间	
备注:			

八. HIV 血清学检查

	项目	日期	结果	项目	日期	结果
暴露后当天						
4 周						
8 周						
12 周						
6 个月						

备注:

九. 结论

1.暴露后未感染 HIV □	2.暴露后感染 HIV □

备注:

填表单位_____ 填 表 人_____

审 核 人_____ 填表时间_____

联系电话_____

附表 10

艾滋病防治工作人员职业暴露事故汇总表

编号	工作单位	发生时间	发生地点	暴露方式及级别	感染源级别	紧急局部处理	处理方案	首次用药时间（暴露后几小时或几天）	药物毒副作用	抗 HIV 1/2 检测结果 当天　4 周　8 周 12 周　6 月

填表日期：　　填表单位：　　填表人：

审核人：