



艾滋病筛查实验室质量控制 与管理

- 赣州市临床检验中心 何燕琴 -



目录

CONTENTS

01

艾滋病检测现状及相关法规要求

02

艾滋病筛查实验室的管理要求

03

艾滋病筛查试验质量控制





艾滋病检测现状及相关法规要求





我国HIV流行情况

「时间分布特征」

1

1985-1988年为“散发期”

全国的19例HIV感染者分布在7个省沿海城市，多为外籍公民或海外华人。

2

1989-1994年为“局部流行期”

云南边境发现146名HIV感染者，从此以后其周围几个市县的吸毒人群中局部流行。其他省份的吸毒人群中偶有HIV感染者。

3

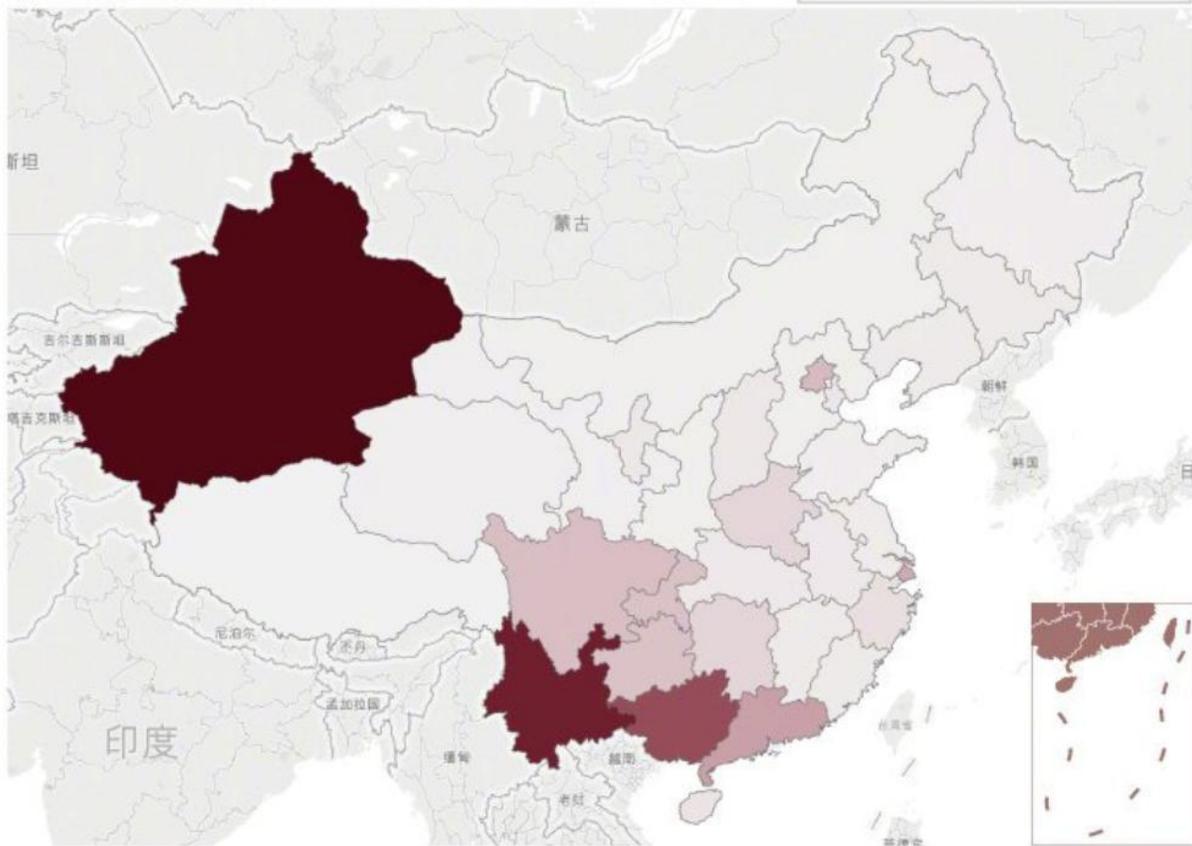
1995年至今为“广泛流行期”

感染人数大幅增长、流行地区继续扩大。云南吸毒人群HIV感染扩大到全省，并迅速传入周边省份。同时在我国中部及东部的有偿献血员中发现HIV感染者。

我国HIV流行情况

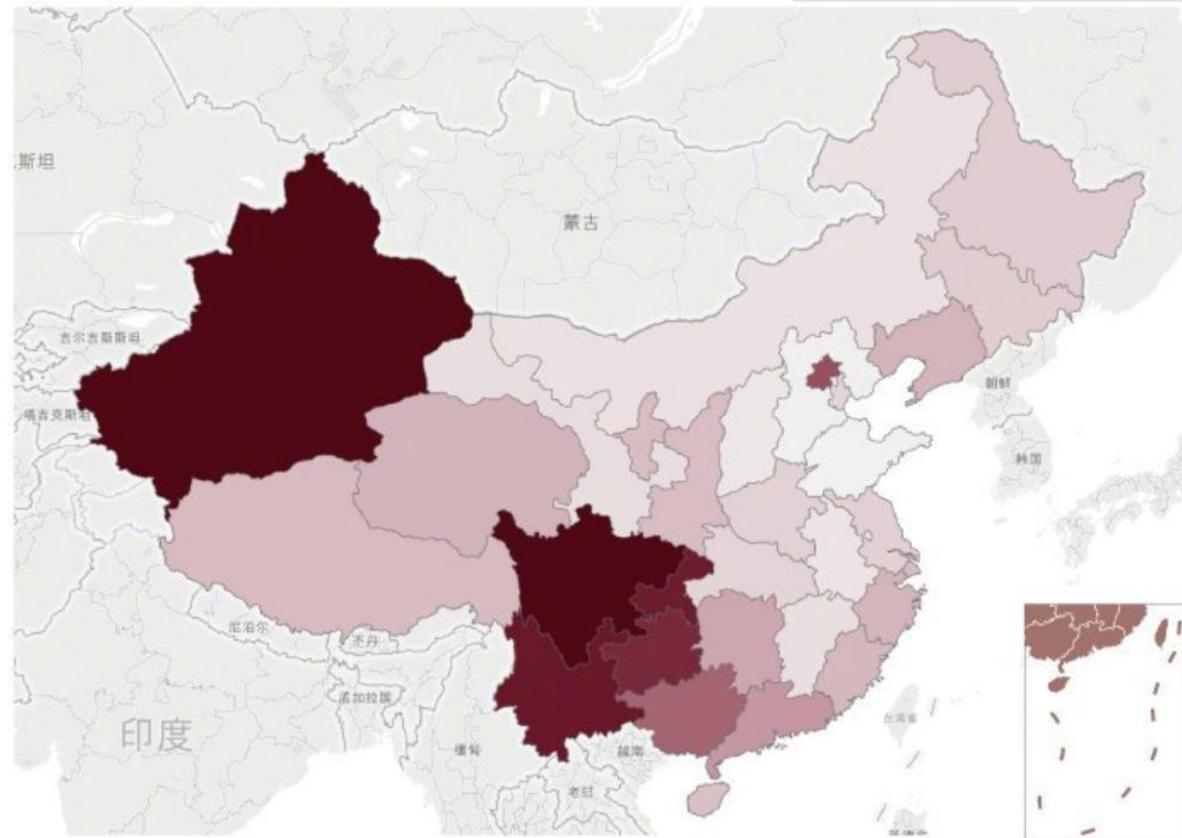
全国，2006年

HIV发病率/10万
0.04  20.50



全国，2016年

HIV发病率/10万
2.04  19.88





全国HIV感染情况



据中国疾控中心、联合国艾滋病规划署、世界卫生组织联合评估，截至2018年底，我国估计存活艾滋病感染者约**125万**。估计新发感染者每年**8万**例左右。全人群感染率约为**9.0/万**，我国艾滋病疫情处于低流行水平，但疫情分布不平衡。

目前还有约**30%**的感染者没有被发现，也就是从检测的角度来说，还没有接受检测，还不知道感染状况。江西约**67%**（9042/13558）

全国HIV感染情况

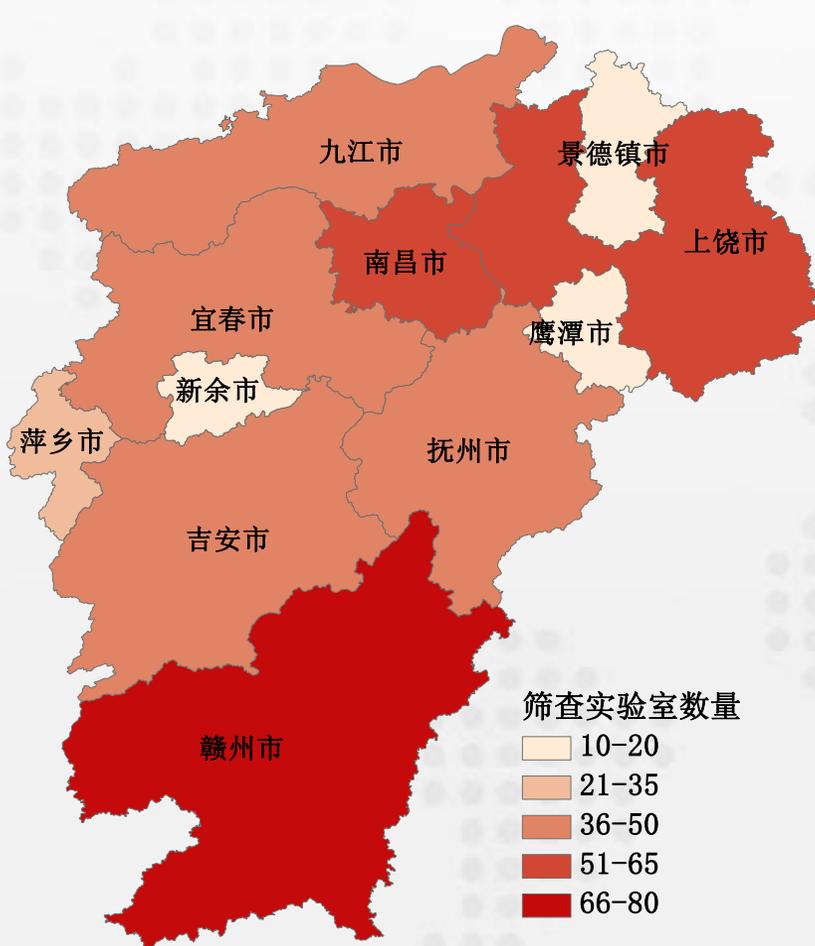
目前，我国**输血传播基本阻断**。全面实施临床用血艾滋病病毒核酸检测全覆盖，经输血及使用血液制品传播病例接近零报告。**母婴传播得到有效控制**。全面实施预防艾滋病母婴传播工作全覆盖，艾滋病母婴传播率从2012年的7.1%下降至2017年的4.9%，处于历史最低水平。实施扩大检测策略，**感染者检测发现力度不断加大**，检测人次数从2012年的1.0亿上升到2017年的2.0亿。

传播途径 性传播是主要增长点



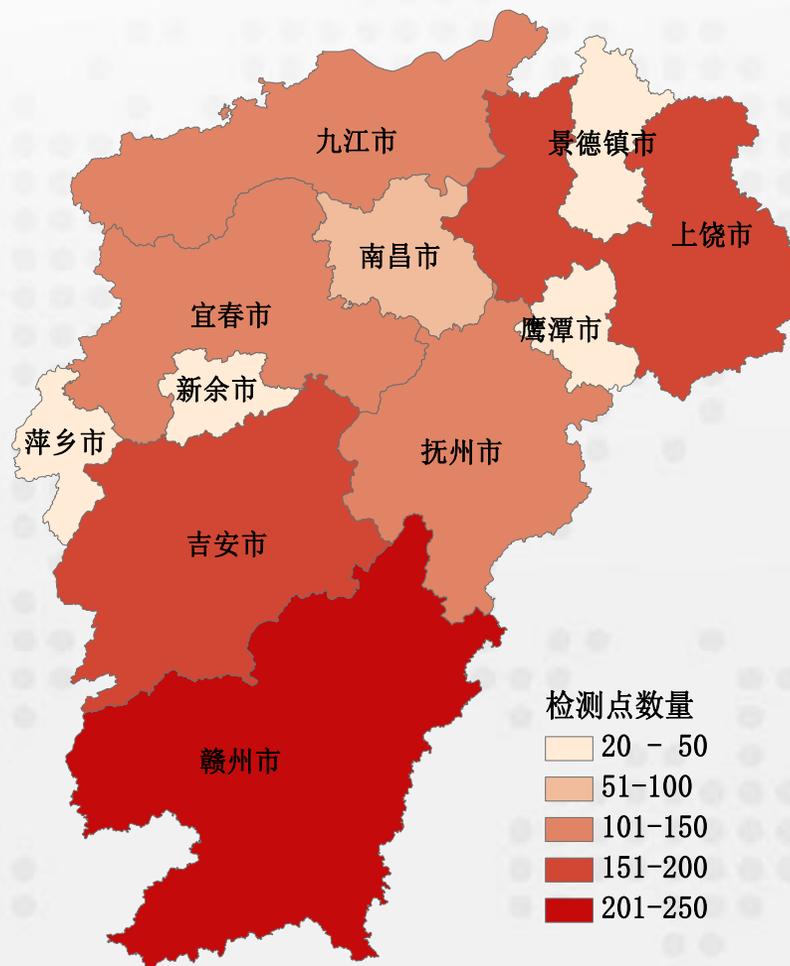


全省艾滋病实验室网络建设



全省HIV筛查实验室分布（445个）

我市的HIV筛查实验室数量为78家，二级医疗机构筛查实验室覆盖率100%。

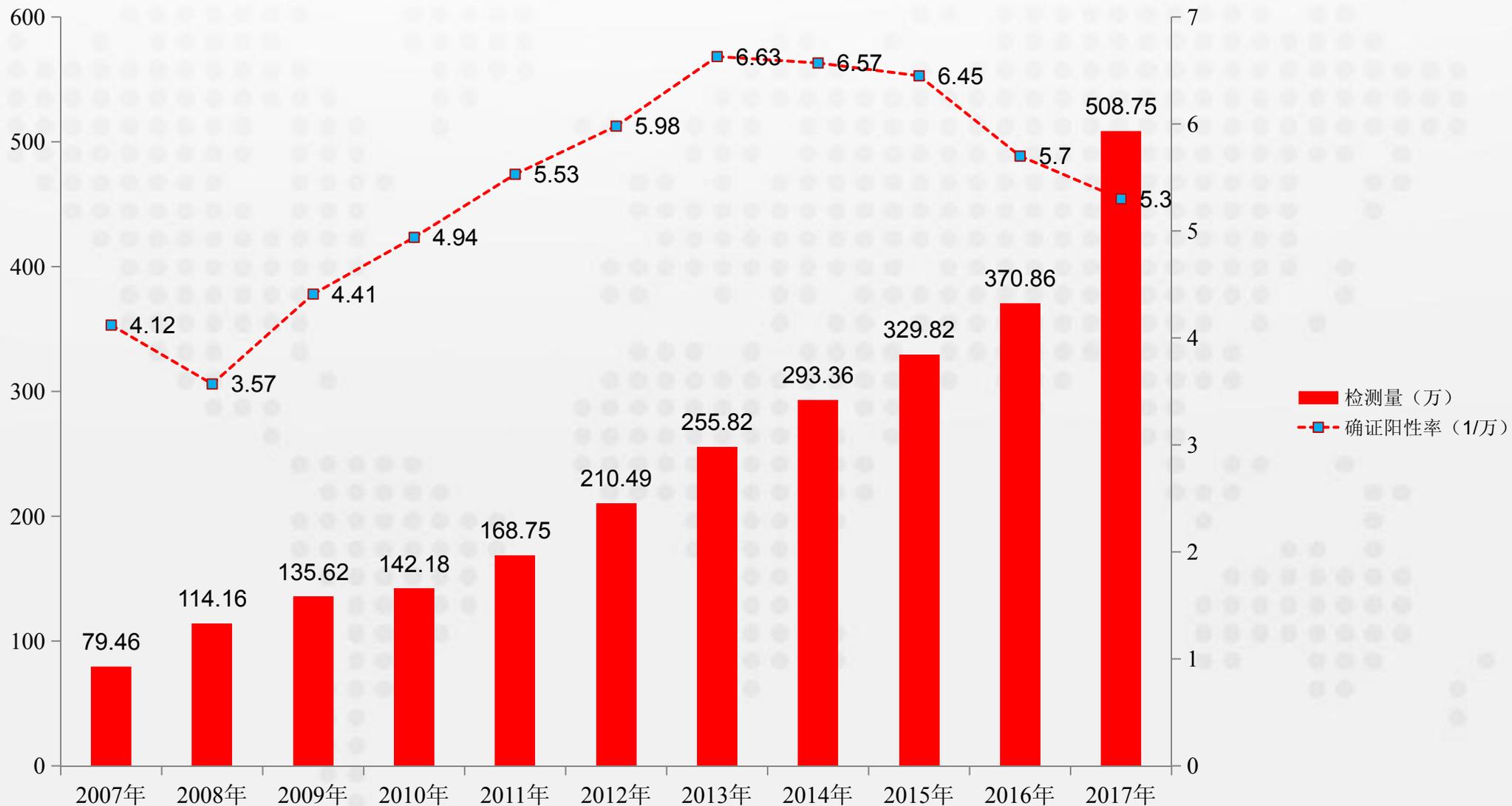


全省HIV检测点分布（1279个）

我市HIV检测点数量221家，乡镇社区卫生院HIV检测点覆盖率68.85%。



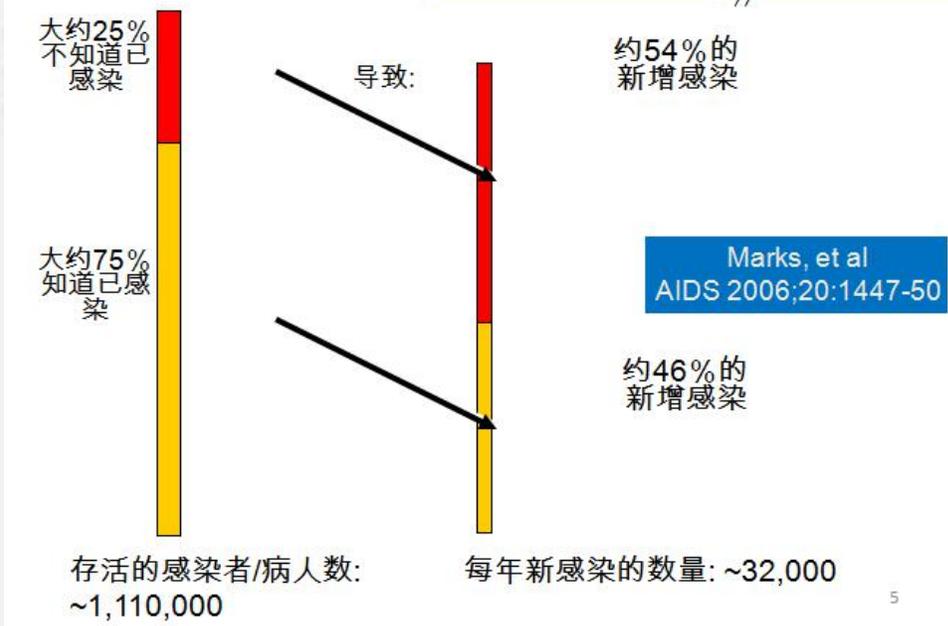
全省艾滋病实验室检测情况



HIV早期诊断的意义

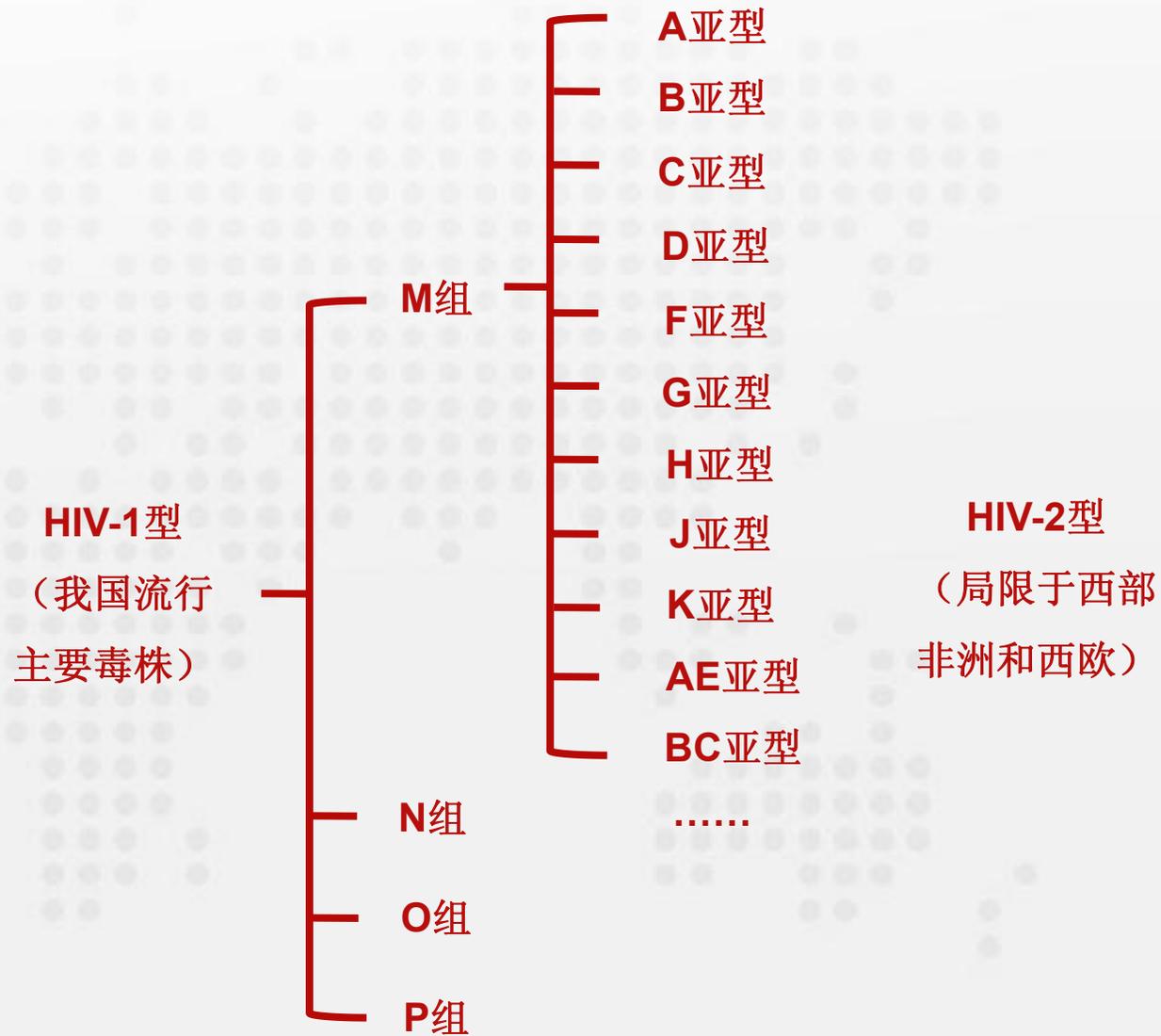
⚡ (90-90-90目标) 联合国艾滋病规划署提出的“到2020年，诊断发现并知晓自身感染状况的感染者和患者比例达**90%**以上，符合治疗条件的感染者和患者接受抗病毒治疗比例达**90%**以上，接受抗病毒治疗的感染者和患者治疗成功率达**90%**以上。”目前国内已基本实现后两个目标。

⚡ 诊断是控制的前提，更是治疗的前提。 →



HIV病毒的种类

- ✘ HIV有HIV-1和HIV-2两种类型；
- ✘ HIV-1具有全球流行性，世界上绝大部分艾滋病患者都是感染了HIV-1毒株；HIV-2毒株的感染者只集中在少数几个西非国家，其临床症状轻于HIV-1感染者，与HIV-1感染者相比平均寿命较长。
- ✘ HIV-1又根据其基因序列的同源性被分为：M组、O组、N组和P组。全球范围内绝大部分感染者所感染的HIV-1毒株属于M组。M组HIV-1又包含A、B、C、D、F、G、H、J、K等亚型和40余种流行重组型。



相关法规、技术规范要求



- 🔥 《全国艾滋病检测工作管理办法》
 - 🔥 《江西省艾滋病检测工作管理办法》
 - 🔥 《艾滋病检测实验室基本标准》
 - 🔥 《全国艾滋病检测技术规范》 2015修订
 - 🔥 《艾滋病和艾滋病病毒感染诊断》 **WS293-2019**
 - 🔥 《艾滋病病毒抗体快速检测技术手册》
- 



《全国艾滋病检测工作管理办法》

艾滋病检测实验室

参比
实验室

确证
实验室

筛查
实验室

确证中心
实验室

确证
实验室

筛查中心
实验室

筛 查
实验室

检测点





艾滋病筛查中心实验室职能

- 负责职责范围内艾滋病病毒抗体筛查试验，根据需要可开展其他艾滋病检测工作。
- 负责将艾滋病病毒抗体筛查呈阳性反应的样品送艾滋病检测确证实验室。
- 定期汇总艾滋病检测资料，并上报艾滋病检测确证实验室。配合艾滋病检测确证实验室做好个案调查、登记等随访工作。
- 负责对职责范围内艾滋病检测筛查实验室的技术指导；协助艾滋病筛查实验室和艾滋病检测点开展自愿咨询检测工作，给予技术支持和指导。



艾滋病筛查实验室的职能

- 开展艾滋病病毒抗体的筛查试验，根据需要可开展其他艾滋病检测工作。
- 负责将艾滋病病毒抗体筛查呈阳性反应的样品送当地艾滋病筛查中心实验室或艾滋病检测确证实验室。
- 定期汇总艾滋病检测资料，并上报当地艾滋病筛查中心实验室或艾滋病检测确证实验室。
- 对自愿咨询检测工作提供技术支持。



艾滋病检测点职能

- 开展艾滋病病毒抗体的筛查试验。
- 负责将艾滋病病毒抗体筛查呈阳性反应的样品送当地艾滋病筛查实验室或艾滋病筛查中心实验室。
- 定期汇总艾滋病检测资料，并上报当地艾滋病筛查实验室或艾滋病筛查中心实验室。
- 开展艾滋病自愿咨询检测工作。

02

艾滋病筛查实验室的管理要求



人员及资质要求



至少由**3名**医技人员组成，具有中级卫生技术职称人员至少**1名**。至少有**1名**专职人员。负责筛查、复测试验的技术人员需具有**2年**以上从事病毒性疾病血清学检测工作经验，接受过省级或省级以上**HIV检测**专项技术培训，并获得培训证书，并每年接受复训。

培训内容包括：**HIV检测**相关基础知识、检测技术及管理要求、实验操作、质量管理与控制、生物安全。

环境设施要求



- ❗ 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。
- ❗ 需有独立的符合Ⅱ级生物安全实验室(BSL-2)，要求的实验室或独立实验台，分为清洁区、半污染区和污染区，三区划分明确，布局流程设置合理。有安全防护用品如冲眼器、非接触式洗手装置等；实验室恒温设备。
- ❗ 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。

仪器设备要求

❗ 实验设备：配备筛查试验所需设备,包括酶标读数仪、洗板机、移液器、冰箱、低温冰箱、离心机、温箱或水浴箱。

重要的是明确哪些设备是厂家检定（洗板机、酶标仪等关键设备），哪些设备必须送强制检定（计量设备如移液器、温度计、高压灭菌器压力表）。除张贴设备卡外，科室还应该编制设备清单、年度校验计划、使用维护记录等相关设备管理表单。

❗ 消毒与污物处理设备：高压灭菌器（消毒效果的监测）、污水处理设施。



文件管理要求

✘ 文件和文件管理

- ✘ 标准操作程序（SOP）至少涵盖但不限于：
 - （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）实验室安全防护及实验室的清理和消毒；
 - （10）差错处理、纠正预防措施及工作交接；
 - （11）实验室应急处理。
- ✘ 正本文件存档，外来文件管理，现场文件的管理（受控）。



记录管理要求

- ✘ 《全国艾滋病检测工作管理办法》第十八条 艾滋病检测实验室应有专人负责妥善保存检测记录和各种档案，不得擅自修改和销毁。记录保存期不少于十年，国家法律、法规另有规定的，依照有关规定执行。
- ✘ 需要保存的记录包括：样本采集、编码及质量检查记录，环境温湿度记录，仪器设备使用维护记录，试验过程原始记录，室内质量控制记录，样本保存或运送记录，关键点质量检查记录，清洁消毒记录，医疗废物交接记录等。
- ✘ 对HIV酶免、化学发光等试验原始记录保存相对较完整，但对快速检测相关记录没有保存或保存不完整，可采取拍照留存或人工记录的方式。

样本管理

采样前准备

样品采集
与处理

样品保存

样品运送

样品接收

样品采集、处理

采集：

- 1、根据检测项目的要求，确定采集样品的种类、处理、保存及运输的时限和方法（形成SOP文件）。
- 2、核对标识与信息的一致性，确保编码的唯一性；标签预先印制、耐低温。
- 3、全血采集后的充分混匀。

处理：

血浆：抗凝全血1500~3000r/min离心15分钟；

血清：室温下自然放置1~2小时，待血液凝固、血块收缩后再用1500~3000r/min离心15分钟。





样品保存和运送

✘ 保存：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 $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ ，一周以上应存放于 -20°C 以下。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°C ，3个月以内应存放于 -20°C 以下。3个月以上应置于 -70°C 以下保存。筛查阳性样品应及时进行补充试验，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个月。

🚫 样品保存和运送

🚫 运送：根据《高致病性病原微生物菌毒种或样本运输管理规定》，**一定要办理准运证**。全血、血浆的运送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；三层容器包装，用于抗体检测的血清和血浆样品应在2~8°C或冻存条件下运送，送检信息准确完整。

第二条 本规定所称可感染人类的高致病性病原微生物菌（毒）种或样本是指在《人间传染的病原微生物名录》中规定的第一类、第二类病原微生物菌（毒）种或样本。

序号	病毒名称			危害程度分类
	英文名	中文名	分类学地位	
1	<i>Human immunodeficiency virus (HIV) type 1 and 2 virus</i>	艾滋病毒（I型和II型）	逆转录病毒科	第二类

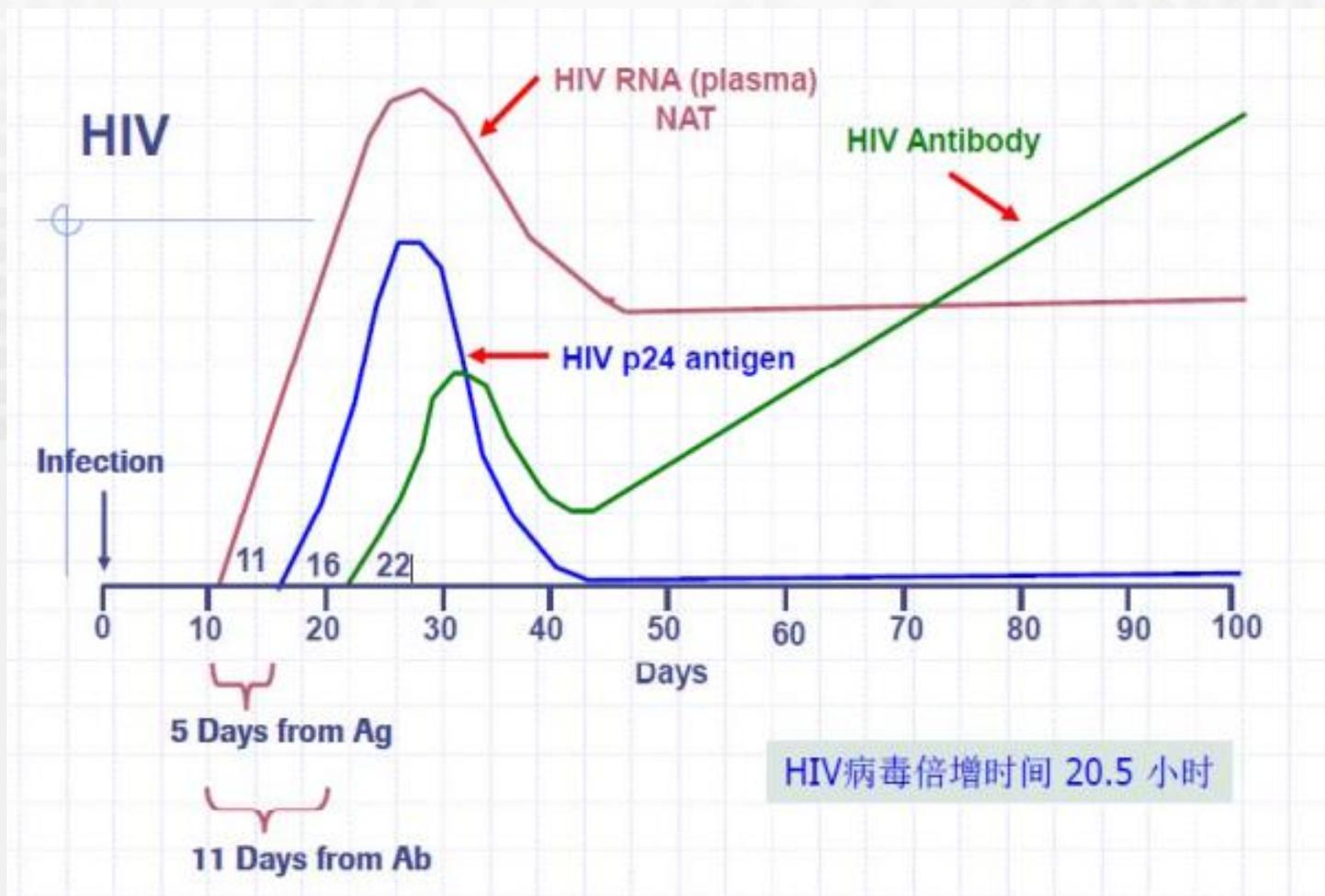


HIV抗体筛查常用方法

常用抗体筛查试验

- 酶联免疫吸附试验（ELISA）
- 化学发光或免疫荧光试验
- 快速检测试验：明胶颗粒凝集试验、免疫渗滤试验、免疫层析试验

HIV标志物的出现



HIV筛查方法和试剂的选择

- ✘ 选用**敏感性高**的符合国家要求的高质量试剂
- ✘ 检测目的、检测对象、人群流行率
- ✘ 实验环境、设施条件及人员技术
- ✘ 成本-效益
- ✘ 检测数量、初、复检情况等等



首先应选择最敏感的试剂。



第二次实验应该采用更特异的试剂



各种筛查方法的特点

检验方法	检测标志物	窗口期	特点
快速检测（RT）：包括金标法、硒标法 明胶颗粒凝集试验等	HIV1/2抗体	约35天	操作简便，检测时间短（10分钟），不需要特殊设备，对检测人员技术要求相对不高；但特异性和敏感性均较低；多用于应急检测、门诊急诊检测，但灵敏度和特异性远不如ELISA和发光法。
酶联免疫试验（第三代）	HIV1/2抗体	18-25天	目前使用较多，稳定性欠佳
酶联免疫试验（第四代）	HIV1/2抗体+P24抗原	14-21天	较三代比可缩短窗口期*，但假阳性率偏高，成本较三代高
化学发光免疫分析法	既可检测抗体，也可联合检测抗原抗体	14-21天	其灵敏度较ELISA有了进一步的提高，同时带来的是检测成本的增加和假阳性率的增高。

酶联免疫吸附试验 (ELISA) 三代与四代区别

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。

第三代试剂 双抗原夹心法，单纯检测HIV1/2抗体

第四代试剂 抗原抗体联合诊断试剂，同时检测P24

抗原和抗HIV-1/2抗体；意义在于缩短窗口期。

注意复检试剂的选择：必须是经国家食品药品监督管理总局注册批准、在有效期内的试剂。

初复检分别特

异性和灵敏度。可参考每年国家CDC《全国艾滋病

病毒抗体诊断试剂临床质量评估报告》。



HIV抗体检测室间质评和能力验证情况

- ✘ 全省2018年参加HIV抗体检测的实验室共126家，其中PT100%有106家，这126家中使用ELISA方法的99家，占78.6%；使用金标快速法的3家，占2.4%；使用化学发光法的24家，占19%。
- ✘ 2017年，1279个艾滋病检测点没有发生考核盲样漏检情况。但部分实验室部分HIV盲样检测值离靶值差异较大（表现为SDI>3）。
- ✘ 2018年我市各艾滋病筛查实验室参加省级HIV、梅毒能力验证共82家，HIV总得分100分的有42家，扣分情况均为SDI值较大。

酶免或发光法抗体检测的室内质量控制

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。用于判断每次实验的有效性，**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。如内部对照结果无效，必须重新试验。

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，质控品定值必须为弱阳性（**建议S/C02-3**）。外部质控品的作用是判断该批临床样品检测的可信性。因此，每次实验必须包含室内质控品，出现失控时，必须重新试验。



室内质控品的保存使用

- ✘ 一次购买或制备量应该足够本实验室至少一年使用，不要频繁更换质控品。
- ✘ 等量分装，可以按单次使用、单日使用、最长一周使用的量确定每个分装的量。
- ✘ 不同项目室内质控品应做好标记，最好使用不同颜色的标签，以防止混用。
- ✘ 应存放于 -70°C 以下，如无条件则存放于非自动除霜的 -20°C 冰箱。
- ✘ 一旦融解后应存放于 $2-8^{\circ}\text{C}$ ，一周后必须弃去，不能重新冻存使用。

酶免或发光法抗体检测的室内质量控制

- ✘ Levey-Jennings质控图：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。
- ✘ “即刻法”质控方法：是在对同一批外部质控品连续测定3次后，即可对第3次以后的检验结果进行质控。“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。

ELISA试验容易出的问题

✘ 没有仔细看说明书，或者没有充分理解说明书含义：

设备参数设置错误、对照设孔错误、样本量错误、CUTOFF值计算错误、结果的有效性判定错误等。

✘ 实验人员对室内质控掌握和关注不够：

对电脑质控参数规则设置错误，或手工绘制质控图，未能及时发现警告或失控现象，导致未采取纠正措施等。



ELISA试验问题排查

问题	可能的原因（非试剂盒本身的原因）
测定的重复性差	1. 加样本及试剂量不准
	2. 加样过快，孔间发生污染
	3. 加错样本
	4. 加样本和试剂时，加在孔壁上部非包被区
	5. 温育时间、洗板、显色时间不一致
	6. 酶标仪滤光片问题
白板（阳性对照不显色）	1. 漏加酶结合物
	2. 洗液配制问题，量筒不干净含酶抑制物
	3. 漏加显色剂A或B
	4. 终止液当显色剂使用
全部板孔都有显色	1. 洗板不干净
	2. 加底物的吸头被酶污染
	3. 洗板液受酶污染
	4. 由于仪器或加样头造成的交叉污染



快速法抗体检测的室内质量控制

⌘ 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。

⌘ 室内质控品对照

外部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。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；更换试剂厂家。此外，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。

快速检测异常结果原因和关键控制点

⚠ 关键控制点:

保障室内温度，尤其是在冬天

冷藏标本必须复温

血清/血浆 全血 稀释缓冲液

样本的量

反应的时间

⚠ 假阳性：使用溶血样本、试剂存储条件不正确、判读时间超过规定的判读时间、来自人体的非特异的交叉反应等。

⚠ 假阴性：**HIV**抗体的低滴定（只要能看到有反应线，就应该慎重，重复试验，即使很淡都应该判断为反应性），试剂存储条件不正确、环境温度太低、未到规定的判读时间、试剂暴露在高湿度环境中等。

HIV抗体筛查试验报告

- ❗ 使用《HIV抗体筛查检测报告》。
- ❗ 筛查试验无反应，检测实验室出具“HIV抗体阴性”报告；
- ❗ 筛查试验有反应，不能出具HIV阳性报告，必须进行HIV抗体复检试验，复检两次检测均无反应，报告为“HIV抗体阴性”；复检检测均有反应或一个有反应一个无反应报告为“HIV感染待确定”，需进行“补充试验”。
- ❗ HIV抗体筛查报告需由一名检验人员和一名审核者签字。

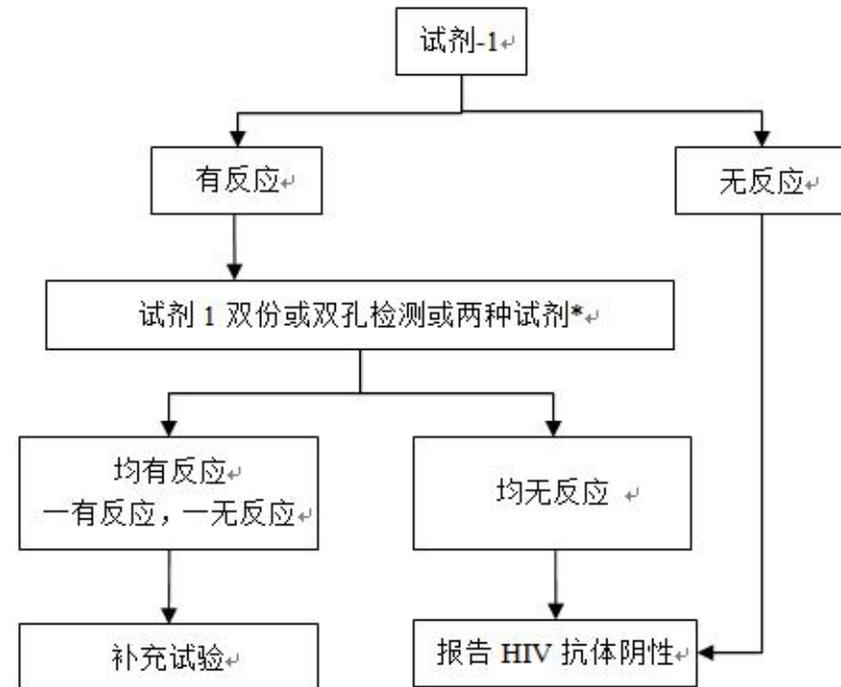


图2 使用抗体检测试剂的筛查检测流程

*两种试剂可以是原有试剂加另一种试剂，也可以是两种不同试剂。

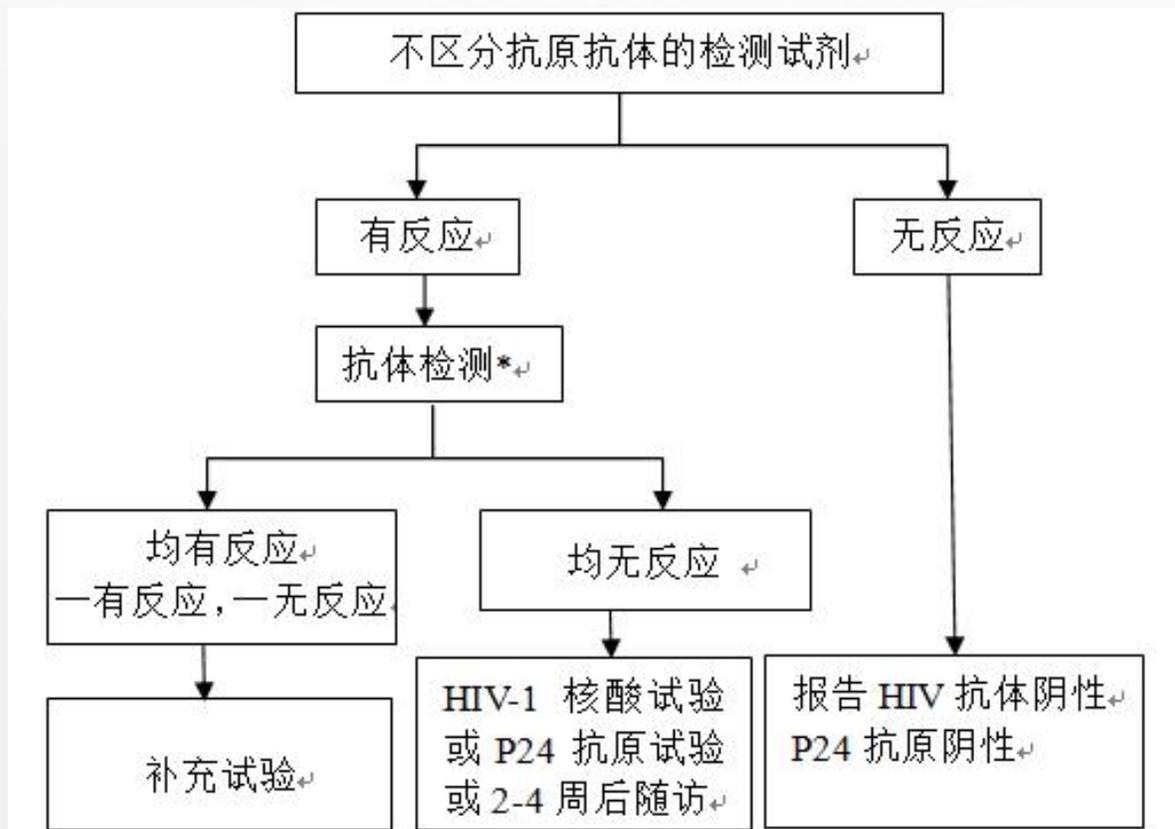


图3 使用不区分抗原抗体联合检测试剂的筛查检测流程

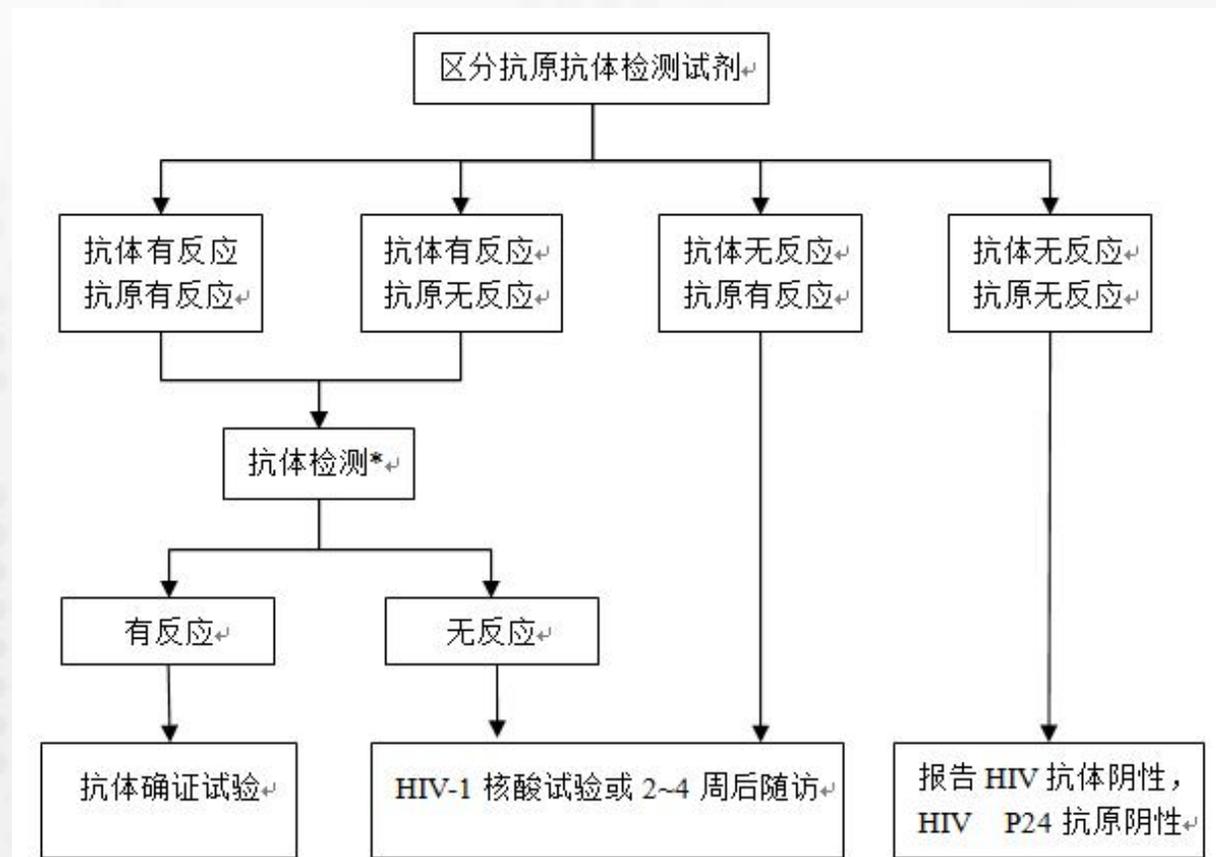


图4 区分抗原抗体检测试剂筛查检测流程

HIV抗体检测工作要点

- ✘ 根据目的选择检测方法及检测策略。
- ✘ 严格遵守实验室标准操作程序（SOP）。
- ✘ 结果判定以试剂盒说明书为标准。
- ✘ 筛查试验有反应，须作补充试验。补充试验包括抗体确证试验（免疫印迹试验，条带/线性免疫试验，特定条件*下的替代检测，免疫层析或免疫渗滤试验）和核酸试验（核酸定性和核酸定量试验）。替代检测包括三种酶联免疫试验、三种快速试验或酶联免疫加快速试验。*特定条件：高流行地区（流行率大于5%）、高危人群（如男男同性恋，吸毒人群）、三种试剂均经过使用地区中心实验室评价。
- ✘ 筛查试验无反应，不应做补充试验。
- ✘ 对筛查及补充试验对象均应做好咨询工作。



如何针对问题开展自查

- ✘ 组织人员（人员配置、资质、持证、复训）
- ✘ 实验室布局、设施（分区明确、流程合理、安全防护设施齐全有效）
- ✘ 仪器设备管理（校验、检定、使用维护记录）
- ✘ 文件管理（覆盖整个流程、符合性和可操作性、受控）
- ✘ 检测项目原始记录（完整追溯、真实清晰、签名及时、专人管理、妥善保存）
- ✘ 室内质控和室间质评（失控处理、质评及能力验证合格）
- ✘ 网络系统报告（实验室信息、设备信息、检测信息等填报完整率和正确率）
- ✘ 实验室安全（授权进入、工作人员健康监护、医疗废物出科前消毒）
- ✘ 样品保存（唯一性编码、保存与销毁记录）

感谢您的耐心观看



中国图库 cntuku.cn

