

HIV-1 抗原检测技术标准

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育上清液中 HIV-1P24 抗原的检测。

2 标准性引用文件

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关心诊断。

3.3 监测病程进展或抗病毒治疗效果。

3.4 HIV 分别培育，病毒复制状况的监测。

4 试验室要求

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、血浆或病毒培育上清液。

5.3 定性检测

5.3.1 筛选试验

依据试剂盒说明书供给的标准推断有反响或无反响。

5.3.2 确证试验

是 P24 抗原的中和试验，用于排解筛选试验的假阳性。待检样品先与中和剂〔P24 抗原的抗体〕共同孵育，假设样品中存在 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试验的步骤，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 值进展比较，假设中和孔的 OD 值下降 50 % 以上，认为样品中的 P24 抗原是真正的阳性；假设中和孔没有消灭 OD 值的下降，认为 P24 抗原的反响性可能是假阳性，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，进展检测。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。假设未知标本的 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 抗原筛选试验有反响的标本必需经过中和试验确证以后才能推断阳性或阴性。

5.5.2 HIV-1 P24 抗原阳性仅作为 HIV 感染的关心诊断依据，不能据此确诊。

5.5.3 HIV-1 P24 抗原阴性结果不能排解 HIV 感染。

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

6 质量保证和质量掌握

6.1 检验人员应承受过 HIV-1P24 抗原检测的技术培训。

6.2 定性检测时，内部比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〔血浆或病毒培育上清液〕作为外部比照，依据常规的质控方法，绘制质控图，进展外部质控。中和试验应使用试剂盒供给的中和抗体，适用P24 抗原阳性的样品作为阳性比照，阳性比照的中和孔，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、试验室要求、检测方法、质量掌握及结果判定标准，适用于 HIV-1 核酸的定性检测和病毒载量的测定。

2 标准性引用文件

卫生部关于印发《临床基因扩增检验实验室治理暂行办法》的通知〔卫医发[2023]第10号〕

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

r_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. 2023-07

Roche AMPLICOR HIV MONITOR™ TEST Procedure
Manual, version 1.5

Nuclisens® EasyQHIV-1 Operation Manual, V1.0-2,
2023-05

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，2023 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一样：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展集合核酸检测，准时觉
察窗口期感染，降低“剩余危急度”，削减二代传播。

3.2 疑难样本的关心诊断

在一般状况下，HIV 抗体检测足以对 HIV 感染与否做出
正确诊断，但在特别状况下，单纯 HIV 抗体检测结果不能进
展明确的诊断，如在感染早期或疾病终末期消灭抗体不确定

反响时，RNA 的测定结果可帮助供给 HIV 感染早期或终末期的证据。由于试剂的灵敏度、承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缘由，应对其它检测数据和样品背景状况进展综合推断。

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推断抗病毒治疗效果和修改抗病毒治疗方案。

3.5 病程监控及推测

HIV 感染发生后病毒载量变化具有肯定规律，这种变化与疾病的进程有着亲热的相关性。因此定期进展病毒载量检测有助于确定疾病进展的阶段，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 $<500\text{c/ml}$ 时发病率为 5.4%； $501\sim3,000\text{c/ml}$ 时为 16.6%， $3,001\sim10,000\text{c/ml}$ 时为 31.7%； $10,001\sim30,000\text{c/ml}$ 时为 55.2%； $>30,000\text{c/ml}$ 时则为 80%。当 HIV 感染者 $\text{CD4}^+\text{T}$ 细胞计数 $<200/\mu\text{l}$ 时，病毒载量与 3~6 个月进展至 AIDS 的危急为：病毒载量 $<10,000\text{c/ml}$ 时发病率为 4.9%； $10,000\sim$

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

通常在病毒载量到达肯定水平后〔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 核酸检测试验室要求

HIV 核酸检测应在适宜的试验室中进展, 应建立与试验和试验室治理相关的标准操作指导书和制定严格的治理制度, 工作人员必需充分了解各项规定并严格遵照执行。

4.1 试验室分区和功能

试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预备区和样品处理区, 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 试剂预备区: 扩增试剂的储藏、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。假设在此区进展套式 PCR 的第

二轮加样，应在 PCR 防护罩内进展。

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。

在满足以下要求的前提下，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 核酸扩增前区试验室内设置两个不同位置的试验区，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，照实时荧光 PCR 仪等。

4.1.4.3 每个试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 在试验前后对操作区域和共享器具进展清洁及消毒。

4.1.4.5 各区域的试剂、器具、仪器和设备为该区专用，不得穿插使用。

4.2 试验室人员和要求

进展 HIV 核酸检测的人员须具有艾滋病检测试验室的上岗资格，承受过省级以上的试验操作技术及艾滋病试验室生物安全培训及厂家的培训。

4.3 试验室设施和设备

4.3.1 依据检测工程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，应依据试验要求在相应区域配置。

4.3.3 试剂预备区：配置冰箱、超净工作台、一般离心机、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、一般冰箱、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、一般冰箱、一般离心机、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特地试验区。

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 试验室生物安全

必需符合艾滋病试验室的通用生物安全要求。

4.5 防止试验室核酸剩余〔Carry-over〕污染措施

4.5.1 严格执行试验室分区制度。

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展标识，不得穿插混用。

4.5.4 单向工作流向制度

4.5.4.1 试验室的气流应从扩增前区流向扩增后区，不得逆向流淌。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 试验人员单向工作流向应当为：试剂预备区→样品处理区→扩增区→扩增产物分析区，不得逆向流淌。原则上试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 试验用品单向工作流向应当为：试剂预备区→样品处理区→扩增区→扩增产物分析区，不得逆向流淌。试验用品包括试验材料〔试剂、样品和扩增产物〕、试验器材〔容器、板架、试验服、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 试验室防止核酸剩余污染的处理程序

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

4.5.5.2 试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全部试剂、耗材、移液器等必需分开使用。试验完毕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外表，两分钟后用纸巾擦净；翻开紫外灯照耀至少1小时。

4.5.5.4 定期〔每周〕对试验室进展全面清洁，房间内全部工作台面、地面以及仪器设备外表用70%乙醇或0.1~1%次氯酸钠清洁，用紫外灯进展台面和空气消毒。定期〔每月〕对移液器进展清洁。

4.5.5.5 定期〔每月〕监测和报告试验室核酸剩余污染状况，监测部位包括核酸检测前后区域各试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序列一起进展遗传进化树污染分析。

4.6 废弃物处理制度

4.6.1 全部废弃物应依据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当按有关方案处理。

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试验室自建方法，商

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：
<https://d.book118.com/297122162102006131>