

# HIV-1 血浆病毒载量试验检测失败的原因分析

丁莉莎, 陈曦, 贺健梅, 郑军

湖南省疾病预防控制中心, 湖南 长沙 410005

**摘要:** **目的** 分析 Roche Cobas TaqMan 96 系统检测 HIV-1 血浆病毒载量试验失败的原因, 为基层实验室开展病毒载量检测提供参考。 **方法** 收集 2012—2019 年间在本实验室进行检测的全部载量结果, 根据系统所显示的错误代码进行统计学分析。 **结果** 过去 8 年间, 本实验室年检测失败率分别为 2.72%、3.53%、0.86%、0.73%、1.33%、2.00%、3.02% 和 2.61%, 每一年导致检测失败的原因差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。分析系统所显示的错误代码表明, 样本质量与仪器硬件/软件故障是主要影响因素, 在全部的失败案例里占比分别达到 56.26% 和 29.74%。从地区来看, 益阳、郴州和湘西三地所送样本质量较差。 **结论** 除了仪器定期保养和维护, 市州级艾滋病实验室一定要严格遵守采样和分离规定, 保证样本质量。

**关键词:** Roche Cobas TaqMan 96 系统; 病毒载量试验; 检测失败

**中图分类号:** R512.91 **文献标识码:** B **文章编号:** 1006-3110(2021)01-0100-03 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2021.01.027

在当前艾滋病新发感染人数逐年增加, 防治形势依然严峻的情况下, 采取快速有效的检测手段来辅助治疗、监测病情十分重要。尤其是三个 90% 目标的提出, 更依赖于能够及时发现新病人和有效监测在治病人疗效的技术手段。HIV 病毒水平定量检测中的血浆 RNA 病毒载量测定是目前常用方法之一, 能用于抗体不确定时的辅助诊断和初始感染的窗口期诊断, 感染后的病程监控, 治疗方案的优化调整和疗效测定, 以及预测疾病进程<sup>[1-4]</sup>。在该领域, 目前以 Roche Cobas TaqMan HIV-1 Test 系统为金标准, 其具有域值广、稳定性好、自动化程度高等优点, 已在国内部分实验室装配。但在多年的操作和应用过程中, 发现该系统依然不能保证 100% 检出, 其影响因素值得分析。

## 1 材料与方法

**1.1 样本来源** 2012—2019 年间, 14 个市州艾滋病实验室送至本中心进行病毒载量检测的 HIV-1 感染者/AIDS 患者血浆样本。

**1.2 仪器与试剂** Cobas TaqMan 检测系统及试剂 Cobas Ampliprep/TaqMan HIV-1 test v2.0 均购自 Roche 公司。

**1.3 检测原理** 实时荧光定量聚合酶链式反应 (fluorescence quantitative polymerase chain reaction, FQ-PCR)。

**基金项目:** 湖南省卫健委科研项目 (20200016)

**作者简介:** 丁莉莎 (1982-), 女, 湖南醴陵人, 博士研究生, 副主任技师, 主要从事病原微生物 HIV 研究工作。

**通信作者:** 陈曦, E-mail: chenxi161@sohu.com。

**1.4 检测失败判定标准** 如果某个样本检测结果显示为 Failed 或 Invalid, 判定为检测失败。根据系统显示代码细分, Failed 主要包括 SAMPLECLOT, NO\_SAMPLE, A/D\_ABORT, PREP\_ABORT 和 REAG\_ERROR 五种情况; Invalid 则包括 QS\_INVALID, DATA\_ERROR, SYS\_ERROR, PRECHECK, A\_NO\_DATA 和 DISP\_ERROR 六种情况。追溯原因, SAMPLECLOT 和 NO\_SAMPLE 为 RNA 提取过程报错, 前者属于样本质量问题, 后者为人员操作失误, QS\_INVALID 为扩增过程报错, 表示扩增受到了抑制, 可能与样本有关, 也可能与实验试剂或耗材有关, 其余属于仪器软件或硬件故障。

**1.5 统计学方法** 采用 SPSS 21.0 软件对数据进行分析, 采用 Fisher's 精确检验对各组间差异性进行分析 (存在理论数频数  $< 5$ ),  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 检测失败率比较** 2012—2019 年, 本实验室采用 Roche Taqman 系统进行病毒载量检测, 检测量总计 37 991 份, 其中检测失败 743 份, 检测失败率 1.96%, 其构成比见图 1。按年度区分, 8 年间每年检测量分别是 2 683 例、4 023 例、5 942 例、5 353 例、6 015 例、4 508 例、5 096 例和 4 371 例, 检测失败率分别为 2.72% (73 例)、3.53% (142 例)、0.86% (51 例)、0.73% (39 例)、1.33% (80 例)、2.00% (90 例)、3.02% (154 例) 和 2.61% (114 例), 2013 年最高, 2015 年最低, 总体呈现一定波动, 每年均未达到 100% 成功

检出的目标。

2.2 失败信号分布 对不同年份失败原因进行 Fisher’s 精确检验发现,导致检测失败的原因各年间差异有统计学意义 ( $P<0.001$ ),2013 年以仪器故障为主,其余年份以样本质量为主,见表 1。

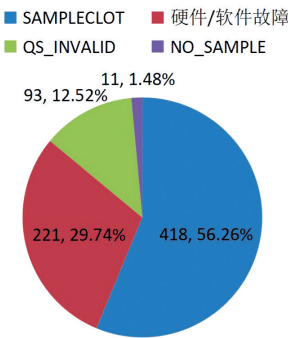


图 1 失败例数总体构成

表 1 不同年份检测失败原因差异性分析(n, %)

年份	SAMPLECLOT	QS_INVALID	NO_SAMPLE	硬件/软件故障
2012	52( 71. 23)	7(9. 59)	5(6. 85)	9(12. 33)
2013	28( 19. 72)	18(12. 68)	0(0. 00)	96(67. 61)
2014	24(47. 06)	12(23. 53)	0(0. 00)	15(29. 41)
2015	27(69. 23)	9(23. 08)	2(5. 13)	1(2. 56)
2016	48(60. 00)	22(27. 50)	1(1. 25)	9(11. 25)
2017	57(63. 33)	11(12. 22)	1(1. 11)	21(23. 33)
2018	113(73. 38)	8(5. 19)	2(1. 30)	31(20. 13)
2019	69(60. 53)	6(5. 26)	0(0. 00)	39(34. 21)
合计	418(56. 26)	93(12. 52)	11(1. 48)	221(29. 74)

2.4 样本质量地区分布 本实验室样本均由 14 个市州艾滋病实验室进行抽血、分离、保存和运送。根据历年来市州检测失败数与该市州送样总数之比来进行分析发现,益阳、郴州和湘西出现 SAMPLECLOT 报错率排在前三,见表 2。

表 2 全省样本质量导致的检测失败占比

地区	SAMPLECLOT		QS_INVALID	
	失败数	失败率( %)	失败数	失败率( %)
长沙	24	0. 71	13	0. 38
株洲	46	1. 36	10	0. 30
湘潭	35	1. 31	3	0. 11
岳阳	33	1. 04	5	0. 16
益阳	55	2. 35	6	0. 26
常德	36	1. 50	4	0. 17
衡阳	8	0. 98	1	0. 12
邵阳	25	1. 17	4	0. 19
娄底	25	0. 91	11	0. 40
永州	13	0. 44	9	0. 30
怀化	43	0. 96	12	0. 27
郴州	19	1. 57	3	0. 25
张家界	23	0. 74	7	0. 22
湘西	33	1. 52	5	0. 23
合计	418	1. 10	93	0. 24

3 讨论

2015 版的《全国艾滋病检测技术规范》明确指出核酸检测作为补充实验可用于 HIV-1 感染诊断,包括抗体复检试验有反应和抗体补充试验不确定样本的判

定,急性期和晚期感染者的诊断<sup>[4-5]</sup>。由于核酸定性试验对实验室条件和操作人员技术水平要求相对较高,且存在假阳性的可能性,目前广泛使用的是核酸定量试验,即血浆 HIV 病毒载量检测。Roche(罗氏)公司的“Roche AmpliPrep/Cobas TaqMan HIV-1 Test”诊断系统,具有自动化程度高、操作简便、检测下限低(20 copies/ml)等优点,被视为病毒载量检测领域内的金标准,在部分医院、血站、疾控中心等均有装配。TaqMan 系统虽然具有其他系统不可比拟的优势,但是样本需求量大(1 ml),对样本质量要求较高,若无法一次性检出,需要重新采样、分离、运送,有部分患者无法及时重新采样,从而失去国家规定的每年至少免费检测一次的机会,不能准确得知自身病程状况;而且全自动化操作的试剂成本和耗材价格十分昂贵,多一次重复则投入成本亦翻倍。

2012—2019 年,本实验室每年均有几十到百余样本无法一次性检出,年检测失败率分别为 2. 72%、3. 53%、0. 86%、0. 73%、1. 33%、2. 00%、3. 02% 和 2. 61%。从仪器报错信号来看,以 SAMPLECLOT、NO\_SAMPLE、QS\_INVALID 和仪器故障最为常见,Fisher’s 精确检验表明每年的检测失败影响因素都不尽相同。分析全部的 743 份检测失败样本,样本质量导致的 SAMPLECLOT 报错占比达到 56. 26%,追溯其原因,主要是血浆样本中存在凝块导致机械臂取样时吸头堵塞无法正常取样。样本的质量与采样、分离、运送和保存有关,即人为因素影响较大,这也是检测失败率总体呈现波动的主要原因。分离血浆时离心的转速和时间不够,反复冻融,上机之前未进行样本处理等都可能致样本中出现凝块。具体比较 14 个市州样本的检测结 果,均出现 SAMPLECLOT 报错,其中以益阳、郴州和湘西三市州最严重,说明应进一步加强市州级实验室操作人员的培训和样本采集全过程的质控管理,要求严格按照 SOP 进行操作,尤其是新进人员一定要做好岗前培训。

由于仪器的全自动性,一旦出现仪器软件或者硬件故障,检测过程将自动终止,人工无法干预,也导致出错点同架后续样本检测失败。这就要求仪器一定要定期维护,并且按照程序做好日常保养,使之始终处于最佳状态。本实验室检测工作均严格按照标准程序进行操作,包括仪器开机后按照要求进行每日维护,定期联系厂家派遣工程师进行保养,但随着仪器老化,这类偶发性的故障仍然不可避免。NO\_SAMPLE 则是红外线扫描时在样本管液面应有高度处没有扫到,主要是加样量不够导致的,操作人员应注意移液器的校准以