

• 个案与短篇 •

1 例男男 HIV 抗体不确定者的跟踪随访

熊火梅

(九江市疾病预防控制中心微生物检验科,江西九江 332000)

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.05.069

文献标识码:C

文章编号:1673-4130(2015)05-0716-02

HIV 抗体检测是目前诊断艾滋病最常用的方法,我国 HIV 抗体常规检测包括筛查试验和确证试验,确证试验常用方法为免疫印迹(WB)。WB 的实验结果常常出现“HIV 抗体不确定”,而不确定的结果不但给受检者带来沉重的心理负担,还会延误患者早期干预和治疗,这需要引起重视。2013 年笔者发现 1 例 HIV 抗体不确定进展阳性后快速发病,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 患者,男、27 岁、未婚、大学本科文化程度,2013 年 1 月,于本市某区疾病预防控制中心进行艾滋病自愿咨询检测,HIV 抗体筛查试验结果为阳性,后经本中心确证结果为 HIV 抗体不确定。流行病学调查,该男子有男男性行为史,系男男同性恋人群,无注射吸毒行为、无性病史。至今为止,对患者进行了 6 次随访,随访记录显示患者均未出现咳嗽、咳痰持续 2 周以上、反复咳出痰中带血、反复发热持续 2 周以上、夜间经常出汗、无法解释的体质量明显下降、经常容易疲劳或呼吸短促、淋巴结肿大等艾滋病相关临床症状。

1.2 方法 初筛试验:酶联免疫吸附试验(ELISA)双抗原夹心法检测、快速检测(RT);胶体金、确证试验方法:免疫印迹法(WB)病毒载量试验方法:实时荧光定量 PCR(Real-time FQ-PCR)。

1.3 试剂 ELISA 采用北京万泰生物药业股份有限公司,珠海丽珠试剂股份有限公司,均为第三代双抗原夹心试剂;快速检测试剂:韩国 SD、上海科华;WB 确证试剂均采用新加坡 MP 亚太私人有限公司试剂;荧光定量 PCR 为中山大学达安基因股份有限公司。所有试剂均在有效期内使用并严格按照说明书操作。

2 结 果

2.1 两次确证检测结果 珠海丽珠 ELISA 试剂进行初筛,结果为阳性;复检北京万泰 ELISA 结果也为阳性,患者 2013 年 1 月 10 日确证结果判定为 HIV 抗体不确定,3 月 6 日第 2 次确证判定结果为 HIV-1 抗体阳性,详细情况见表 1(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

2.2 病毒载量检测结果 采用实时荧光定量 PCR(FQ-PCR)对两次确证血样补充 HIV 病毒载量检测,结果分别为 9 970 000 IU/mL、1 880 000 IU/mL,结合流行病学资料推断患者第一次不确定为 HIV 早期感染。

2.3 CD4⁺T 淋巴细胞计数结果 目前艾滋病发病时间通常被定为首次 CD4⁺T<200/mm³ 或首次出现艾滋病指征性疾病的时间,患者在随访中均未出现原因不明腹泻持续 1 个月以上,最近 3 个月体质量下降 10% 以上等任何的艾滋病相关临床症状,在 6 次随访中,检测了 4 次 CD4⁺T 淋巴细胞计数,在第 3 次随访 4 月 10 日检测 CD4⁺T 淋巴细胞计数 165/mm³,4 月 15 日诊断为艾滋病患者。

3 讨 论

由于复杂的生物学因素影响,HIV 抗体检测常常出现非

特异性反应,表现为筛查实验的假阳性及确证实验的不确定。HIV 抗体不确定的原因主要有:(1) HIV 病毒感染处于早期^[1];(2) AIDS 到达终末期^[2];(3) 临床生化免疫异常人群^[3];(4) 患有某些特定疾病(自身免疫性疾病患者、恶性肿瘤患者、泌尿系统疾病患者)的个体^[4]。由于患者自身为同性恋人群,学历较高,有相当的相关知识,来自国家级哨点调查问卷显示患者对艾滋病知晓率调查的八个问题全部知晓,因此能及时进行检测咨询(第一次自愿咨询检测为患者的首次检测),检测之前 6 个月有过未带套与同性发生肛交性行为,该性伴 2013 年 1 月 4 日发病入院,1 月 21 日诊断为艾滋病患者。病毒载量检测可以作为 HIV 感染早期不确定样本的诊断依据^[5],可帮助提供 HIV 感染早期或终末期的证据。患者第 1 次不确定补充病毒载量结果为 9 970 000 IU/mL,未出现任何的艾滋病诊断相关症状,结合流调资料、可初步判断该患者第一次不确定的原因为 HIV 病毒早期感染。

HIV 早期感染阶段感染者体内会出现高病毒血症,此时即可检测到 HIV-1RNA,HIV-1RNA 病毒载量测定不但在感染者临床进展情况的判定和疗效观察上具有极高价值,而且在感染早期及特殊免疫性的个体检测中发挥重要作用^[6]。在感染早期,病毒与机体的相互作用往往决定着感染者后期的疾病进程^[7-9]。通常情况下,感染早期病毒快速复制,在人体外周血形成病毒血症,表现为高病毒载量,低 CD4⁺T 淋巴细胞计数,随着机体免疫反应的建立,病毒复制受到抑制,表现为病毒载量下降,CD4⁺T 淋巴细胞数逐渐恢复到正常水平。从患者两次确证血清补充病毒载量结果可见随着免疫反应的建立,病毒载量虽有下降,但仍维持在较高水平,而病毒载量在急性感染后下降到的水平与感染者疾病进程有显著的负相关^[10-11]。患者 3 月 12 日检测 CD4⁺T 淋巴细胞计数 227/mm³,根据《国家免费艾滋病抗病毒治疗手册》中治疗标准,CD4⁺T 淋巴细胞计数小于 350/mm³ 即可开始抗病毒治疗^[12],因此此次检测后患者即进行了抗病毒治疗,但 4 月 10 日检测 CD4⁺T 淋巴细胞计数 165/mm³,说明患者确证阳性发现晚,在感染早期未及时发现和监测,错过了抗病毒治疗的最佳时机,导致快速发病。

目前 HIV 早期诊断水平较低,而在早期感染阶段,感染者通常无特异性的临床表现,却具有极强的传染性,且常规的抗体检测方法无法检出,从而造成病毒的进一步传播。患者第一次 WB 实验结果蛋白带形为 gp160±、p24±,判定结果为 HIV 不确定,有研究显示,所有标本 HIV 初筛复检阳性后,会有 4%~20% 的标本确认结果为“HIV 不确定”,而且很大一部分的“不确定”标本都与 WB 条带类型相关^[13],对于条带类型为 gp160+p24,且有 HIV 病毒感染的高危行为存在,应加强观察,患者第一次不确定后未按检测规范及时随访,延误确证时间,这不但与患者自身就诊意识较低外,还与随访管理松散相关。在不确定的结果中,需要真正关注的是不确定者中真正的 HIV 感染者,因此推荐在今后实际工作中对 HIV 不确定者应

结合流行病学和病毒载量对目前的确证方法进行补充,建立 HIV 早期感染的辅助诊断标准,对现有的 HIV 检测策略进行补充和完善,缩短随访方案,在实验应用中能够快速准确鉴别 HIV 抗体不确定结果,排除假阳性、缩短 HIV 窗口期诊断,降低被检测人员的心理恐慌发生率,减少无谓的血源浪费,对于 HIV 防治将有重要意义。

参考文献

[1] 鲍作义,杨晓莉,刘永健,等. HIV 抗体不确定结果的特征与鉴别方法研究[J]. 中华微生物学与免疫学杂志,2010,30(1):427-430.

[2] 余枫华,韩福郎,阮冈,等. 45 例 HIV 抗体不确定结果的人群跟踪观察和分析[J]. 公共卫生与预防医学,2009,20(3):30-32.

[3] 杨晓莉,李敬云,郝钦芳,等. HIV 抗体不确定及 HIV 抗体检测非特异反应的人群回顾性研究[J]. 中华医院感染学杂志,2010,20(13):1844-1846.

[4] Schüpbach J. SHCS and the laboratory diagnosis of HIV infection from the development of the HIV Western blot to virus quantification and clinically relevant individual virus characterization[J]. Ther Umsch,2004,61(10):603-607.

[5] 黑发欣,张启云,孙伟东,等. 病毒载量检测鉴别诊断 HIV 早期感染[J]. 中华微生物学和免疫学杂志,2008,28(6):557-559.

[6] 薛以乐,郑晓虹,方蕙,等. HIV 病毒载量定量测定方法的比较研究[J]. 上海预防医学杂志,2001,13(7):306-307.

[7] Kaufmann GR, Cunningham P, Zaunders J, et al. Impact of early HIV-1 RNA and T-lymphocyte dynamics during primary HIV-

infection on the subsequent course of HIV-1 RNA levels and CD4⁺ T-lymphocyte counts in the first year of HIV-1 infection. Sydney Primary HIV Infection Study Group[J]. J Acquir Immune Defic Syndr,1999,22(5):437-444.

[8] Lefrere JJ, Roudot-Thoraval F, Mariotti M, et al. The risk of disease progression is determined during the first year of human immunodeficiency virus type 1 infection[J]. J Infect Dis,1998,177(6):1541-1548.

[9] Vanhems P, Hirschel B, Phillips AN, et al. Incubation time of acute human immunodeficiency virus (HIV) infection and duration of acute HIV infection are independent prognostic factors of progression to AIDS[J]. J Infect Dis,2000,182(1):334-337.

[10] Mellors JW, Kingsley LA, Rinaldo CR Jr, et al. Quantitation of HIV-1 RNA in plasma predicts outcome after seroconversion[J]. Ann Intern Med,1995,122(8):573-579.

[11] Mellors JW, Rinaldo CR Jr, Gupta P, et al. Prognosis in HIV-1 infection predicted by the quantity of virus in plasma[J]. Science,1996,272(5265):1167-1170.

[12] 张福杰,王健,王福生,等. 国家免费艾滋病抗病毒药物治疗手册[M]. 北京:人民卫生出版社,2012:17-18.

[13] 朱厚宏,王晨笛,刘杨,等. 孕产妇人类免疫缺陷病毒抗体确证试验不确定结果分析[J]. 中国卫生检验杂志,2010,20(12):3138-3140.

(收稿日期:2014-11-06)

• 个案与短篇 •

LH750 常见故障分析与排除

黄晓荣,陈燕红,方雯丹

(福建省漳州解放军第一七五医院/厦门大学附属东南医院检验科,福建漳州 363000)

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.05.070

文献标识码:C

文章编号:1673-4130(2015)05-0717-02

Coulter LH750(以下简称 LH750)是贝克曼库尔特公司推出的高层次的全自动五分类血液细胞分析仪,每小时最高分析速度为 110 个样本,能提供 31 项细胞分析参数,白细胞分类散点图及各种怀疑性、限定性旗标,并可进行网织红细胞的计数及分类^[1]。本科于 2009 年引进了 LH750 血细胞分析仪,至今已有五年多的时间,该仪器的使用大大提高了实验室内的分析速度和工作效率。但是在实际使用过程中由于各种主客观因素的影响,LH750 常出现一些故障。现将 LH750 的常见故障及排除情况总结如下,以便与使用该仪器的同行共同探讨。

1 仪器检测原理

该仪器运用库尔特原理进行血细胞计数,应用了库尔特专利技术:重叠校正、三次计数和延长计数、脉冲编辑、扫流计数以及血小板拟合技术从而保证结果更准确更完整。白细胞分类运用 V、C、S(V-低频波,分析细胞体积;C-高频波,分析细胞核型;S-激光散射,分析细胞的颗粒特性)三种探针技术,在流式通道的检测点,对通过的单列白细胞进行逐个的、同时的、三重的检测,以及三维技术分析,以确定白细胞亚群性质。网织红细胞(RET)计数运用一种活性染料新亚甲蓝,对 RET 中的嗜碱性物质(RNA、核糖体)进行着色,再用漂洗液漂去成熟红细胞(RBC)的血红蛋白,在流式通道中,运用 V、C、S(V-

低频波,RET 比 RBC 大;C-高频波,剔除非红细胞;S-激光散射,将 RET 和 RBC 区分)三维技术分析染色后的 RET^[2]。

2 常见故障分析与排除

2.1 故障一 故障现象:开机进行 Start Up,背景测试出现 HGB 结果为“……”,并且 Hgb Voltage 出现 fail。分析原因:HGB 的电压值出现偏离。故障处理:在仪器主屏幕上进入 Main menu,再进入 ANALYZER FUNCTIONS,然后按 HGB LAMP ADJUST,仪器会进行自动 HGB 电压自行调整,随后再次做背景测试同时做 5 个标本后 HGB 即恢复正常。

2.2 故障二 故障现象:开机进行 Start Up,结果背景测试出现 RBC 和(或)WBC、PLT 背景值超限。分析原因:计数小孔或者相关管道冲洗不干净。故障处理:在仪器主屏幕上执行 F09(灼烧小孔 10 次),随后执行 F11(延长灌注)和 F12(延长清洗),可反复进行 3 次操作,再次进行 Start Up;若 RBC 和(或)WBC、PLT 背景值仍旧超限而且超限值较大,原因:计数小孔冲洗不干净。处理:在仪器主屏幕上执行 DRAIN,将计数池完全排干,然后在 RBC 和 WBC 计数池中各注入 10 mL 以 1:1 稀释的无结晶的次氯酸盐溶液,浸泡 15 min 后再次执行 F09、F11、F12,随后再进行 Start Up,即可恢复正常。

2.3 故障三 故障现象:开机进行 Start Up,结果出现 DIFF