

## 第 11 章 实验室工作程序

---

11.1	生物危害控制	11-2
11.2	标记样本	11-2
11.3	实验室数据管理系统(LDMS)的使用	11-3
11.3.1	LDMS 样本追踪单	11-4
11.3.2	LDMS 样本的处理及储存	11-6
11.3.3	LDMS 质量控制监督	11-6
11.4	要求的实验室检测	11-7
11.4.1	远程样本检测	11-9
11.4.2	HIV 检测	11-9
11.4.3	HCV 检测	11-14
11.4.4	乙肝检测	11-15
11.4.5	血常规和生化检测	11-16
11.4.6	血浆存放	11-17
11.4.7	尿液检测	11-18
11.5	质量控制和质量保证程序	11-19
11.6	向 HPTN 中心实验室运送样本	11-19
11.7	实验室监督	11-20
	表 11-1 研究访问中样本采集和保存	11-8
	Figure 11-1 样本追踪单	11-5
	Figure 11-2 HIV 抗体检测流程——筛查	11-12
	Figure 11-3 HIV 抗体检测流程——随访	11-13
	Figure 11-4 HCV 抗体检测流程——序列分析	11-15
	Figure 11-5 HCV 抗体检测流程——平行分析	11-16

## 第 11 章 实验室工作程序

---

本章叙述了 HPTN 058 要求的实验室工作程序。每个研究现场必须严格遵守实验室操作规范 (GLP)、关于正确采集、处理、标识和运送样本的 HPTN 研究的实验室标准操作程序及各现场制定的 SOP。所有样本运输遵守国际航空运输协会(IATA)规定。利用 HPTN 研究的实验室数据管理系统 ( LDMS ) 保存和运输样本。

### 11.1 生物危害控制政策

HIV 和其他血源性传染病能通过污染的针头、血液和血液制品传播，所有参与本研究的人员在采集、运输和处理血液和分泌物过程中，采取美国疾病预防控制中心最新推荐的防护措施。美国 CDC 发布的《防止 HIV 及其它血源性传染病传播的通用预防措施》指南可以从 <http://www.cdc.gov/ncidod/hip/Blood/universa.html> 下载。

你也可以到下面的网址下载 HPTN-MTN 实验室指南：

<http://www.hptn.org/web%20documents/CentralLab/HPTN-MTNLABMANUALVersion1.0.pdf>

### 11.2 标记样本

最初盛装样本的容器（例如尿杯，血样采集管）都要贴参加者编码（PTID）标签，如果需要，SCHARP 将提供标签及备用标签，参加者编码打印在这些标签上；但是研究人员必须在每个标签上手写样本采集日期。也要在标签上手写访问代码。若在当地实验室检测样本，则按照现场制定的血样管理及追踪 SOP 的要求粘贴其他标签。

- **样本标签：**第一批供应的样本标签印有 PTID（参加者编号）并留有空白处让门诊的工作人员手写访问代码和样本采集日期。另外现场自制的标签也印有 PTID 并留有空白处手写访问代码和样本采集日期。填写访问代码和样本采集日期后，在门诊将标签贴在采样管或

容器上。为确保标签粘贴的牢固性，粘贴标签之前，采集样本的容器表面应保持清洁、干燥并在室温条件下。

一旦确定了参加者 PTID，所有该编号的样本标签单都应存放在该参加者的文件夹中。在参加者随访时，将样本标签从文件夹中取出并送往样本采集点。

### 11.3 实验室数据管理系统(LDMS)的使用

所有现场必须使用实验室数据管理系统用来跟踪血浆样本的采集，保存和运送。可以从下面的网站获得最新版本的《实验室数据管理系统手册》：

<http://www.fstrf.org/ldms/manual/5.0/manual5.0.html>

到目前为止，最新版本的 LDMS是5.6版，所有现场要尽量升级到此版本。所有现场的条码标签必须使用HPTN条码标签格式，保证每个样本的样本ID和全球ID都显示在LDMS的标签上。所有现场必须用MVP-300打印机打印条码标签，并选用适当的标签尺寸。有进一步问题联系LDMS用户服务部。

有关HPTN 058中 LDMS使用的问题与中心实验室代表Paul Richardson 联系 ( email [pricha18@jhmi.edu](mailto:pricha18@jhmi.edu)+电话 410-502-0435, )。如果只是实验室数据管理系统的相关技术问题，和实验室数据管理系统LDMS用户服务部联系，LDMS用户服务部常规工作时间是东部时间上午 12 am至 下午6:00周一至周五。在常规工作时间, 请按以下方式联系:

Email: [ldmshelp@fstrf.org](mailto:ldmshelp@fstrf.org)

电话: +716-834-0900, ext 7311

传真: +716-898-7711

如果你被LDMS锁定在外或发现错误而不能完成LDMS实验室工作，你可以在常规工作时间外（周一至周五下午6至上午12和周末）呼叫LDMS用户服务部。呼叫LDMS用户服务部时, email LDMS呼叫1 (地址在下面表中) 并在你的email内容中包括以下信息:

- LDMS实验室编号 (这是一个3位数的编号，与你的研究网络的现场编号不同)
- 你的完整的电话号码
- 问题的简短描述

如果email LDMS 1后15分钟内没有回复, 试LDMS 2, 最后试LDMS 3.

也可以通过电话呼叫。电话呼叫时，接通后你将听到一个问候接着3声快速的嘟嘟响，说明已连接上呼叫中心，请告诉你的完整的电话号码，先呼叫LDMS 1(电话号码在下面表格中)。如果呼叫LDMS 1后15分钟内没有回复，试LDMS 2, 最后试LDMS 3。

LDMS用户服务部呼叫		
呼叫	Email地址	电话号码
LDMS 1	ldmspager1@fstrf.org	+716-556-0583
LDMS 2	ldmspager2@fstrf.org	+716-556-0584
LDMS 3	ldmspager3@fstrf.org	+716-556-0585

每个现场必须每周向 Frontier Science (FSTRF) 输出它的 LDMS 数据。输出的数据将用于 HPTN SDMC 每月的样本陈列报告，并且使 LDMS 数据与研究病历报告表中的数据相核对。任何不符之处将在每个现场的每月差异报告中显示，现场有责任在收到报告的 2 周内解决所有不符的地方。HPTN 网络实验室有责任提醒现场这 2 周的期限，并且对未在 2 周内解决的问题进行跟踪。HPTN SDMC 审查差异报告中关键的看上去有失误的样本 (如, 血浆需要作 HIV 确认检测), 现场工作人员和网络实验室一起进行适当的纠正。所有的纠正行为必须以书面形式记录在临床或实验室的记录中, 并在 LDMS 中描述。网络实验室 (NL) 和 SDMC 会讨论和记录任何虽然已解决但在 LDMS 中显示‘未解决’的问题。

### 11.3.1 实验室数据管理系统 ( LDMS ) 样本追踪单

**实验室数据管理系统 ( LDMS ) 样本追踪单：**样本追踪单用来确认要录入 LDMS ( 实验室数据管理系统 ) 的样本并把追踪单送给实验室。参加者编号，访问代码和样本采集日期都要填写在实验室数据管理系统样本追踪单上。图 11 - 1 是实验室数据管理系统样本追踪单模版。

同一参加者的样本应放在一个包装里，每个包装有单独的 LDMS 样本追踪单。

**在研究开始之前，每个研究现场会收到实验室数据管理系统 ( LDMS ) 样本追踪单**

根据研究方案规定，已完成检测的样本要用实验室数据管理系统 ( LDMS ) 保存和管理，因为这些样本还要用于网络实验室组织的质量控制考核 ( 例如 HIV 检测 )，及确认检测或备份。所有本地实验室检测结果都应记录在实验室检测结果表上。详细的填表说明见第 7 章。如果研究方案没有要求，因临床关怀或诊断目的而进行的检测，需要将检测结果记录在参加者的源文件中，或者，只填写在不利事件表 ( AE ) 中 ( 即，不要写在当地实验室结果报告中 )。

图 11-1 样本追踪单模板

**DO NOT FAX THIS FORM TO DATAFAX**

**HPTN 058**  
**LDMS Specimen Tracking Sheet**

**Group:** HPTN

**Participant ID**  
   -      -   
Site Number      Participant Number      Chk

**Protocol #:** 058

**Visit Code (Vst)**

**Specimen Collection Date**  
  /     /    
dd      MMM      yy

# of TUBES (or Specimens)	PRIMARY SPECIMEN TYPE	ADDITIVE
<input type="checkbox"/>	Blood (BLD)	<input type="checkbox"/> EDTA <input type="checkbox"/> No Additive <input type="checkbox"/> Other, specify: _____ Aliquot instructions: _____ Lab to make three (3) 0.5 mL plasma aliquots
<input type="checkbox"/>	Other, specify: _____	<input type="checkbox"/> No Additive <input type="checkbox"/> Other, specify: _____

Comments: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

**Clinic Staff Initials:** \_\_\_\_\_ **LDMS Data Entry Date:**   /     / \_\_\_\_\_  
Sending Staff dd MMM yy Receiving Staff

Version 2.0, 01-OCT-08  
 N:\hivnet\forms\PTN\_058\forms\ldms\p058\_spec\_track\_ldms.fm

### 11.3.2 实验室数据管理系统样本处理和储存

当现场实验室收到送来的样本时，应检查送来的每个包装盒，确保每个包装盒里样本上的 PTID（参加者编号）与追踪单上的 PTID 相同，采集样本的类型与数量与追踪单的记录一致。如果不一致，则联系门诊点的工作人员，并进入质量控制程序及纠正。

实验室技术员打开 LDMS 样本管理窗口，并点击工作组窗口。实验室技术员录入样本追踪单上填写的工作组（HPTN），PTID（参加者编号）及研究方案代码。此时点击访问类型窗口。录入访问代码及类型（VST）。

参加者的信息录完后开始录样本信息。录入采样和收样日期。日期可以输入也可以用日历下拉菜单。参照《HPTN LDMS 使用手册》（第 3 章，样本管理）的规定录入其它信息。血浆样本录入后，系统会自动为该样本生成三个用于长期冷藏样本和干冰运输的标签。网络实验室指定特殊标签纸，LDMS 所产生的标签将用于低温冷冻分装管，并放入冷冻箱中。

如果每次访问时不能获得 0.5mL 的分装样本，在 LDMS 中必须作相应的调整，输入实际存放的样本体积。

用 LDMS 样本管理界面录入每个分装样本。在指定的容器和位置中存放这些样本，把这些容器的信息再补充到已有的存样结构图中。根据实验室数据管理系统操作说明，把容器放在指定的冷冻区。

根据研究方案要求，需要把样本送到 HPTN 中心实验室或其他实验室时，取出冷冻样本，用 LDMS 系统指示的容器运送。网络实验室对不同样本的包装容器、包装及贴标签程序有具体要求。向网络实验室送样说明见第 11.7 节。

由 LDMS 生成每批样的电子版运送单。在打包前，将电子版运送单磁盘、屏幕戒图和样本盒报告单一起放入运送箱中。打包后，将电子版运送单作为附件以 email 收样人（见特殊情况下的送样说明）。电子邮件包括送样者的姓名及送样追踪号，当没有按期收到送样时，实验室可以和送样人联系。

### 11.3 需要开展的实验室检测

#### 11.4

表 11-1 列出了在参加者访问过程中研究方案要求必须开展的实验室检测项目。表中标出采集样本的试管类型，处理和保存样本的数量和类型，每次访问所需的实验室检测项目及实验室操作过程。表中样本采集量仅作参考，现场要和当地实验室商议决定采集量，每个现场的总采集血量必须不能超过知情同意书中的采集量。

所有采集的样本必须贴上 SCHARP 提供的 PTID 标签，标签要当着参加者的面贴上。依据当地的法规和现场的 SOP 进行采样和标识，允许现场额外贴标签。采样后：

在进行快速 HIV 检测时，从 EDTA 管中吸出所需的样本量，记住要把剩余血浆送当地实验室存样。

整个研究中在不同的阶段要采集血样用于检测和存样，所有的样本在采样后必须标注 PTID 编号和采集日期，样本的采集要按照当地的操作程序，并且送到当地实验室输入 LDMS 或进行检测。

血样将采集在 EDTA 或血清管中。紫管（通常抗凝剂是 EDTA）在检测前不要求额外处理，但是需要采样后小心地倒转至少 8 次（或根据厂家说明）防止凝结。

如果血量不够，先要满足 HIV 检测，然后临床检测（ALT, 胆红素, 肌酐, CBC, 血小板计数），最后如果可能，用于血浆存放。

重要一点是所有现场工作人员要按照正确的采血顺序防止样本受污染：

生化和 LFT 必须在 EDTA 管之前采集。

## 10.1 表 11-1 研究访问中样本的采集和保存

缩写：wk =周; wks =周数; ml = 毫升; RT = 实时的; spec =样本; CBC = 全血细胞计数				
研究访问	血样采集管类型 或容器	检测	样本类型	样本采集量 <sup>12</sup>
		实时检测		
筛查	尿检杯	毒品检测	尿样	30 ml
		妊娠检测 <sup>2</sup>	尿样	<sup>2</sup>
	EDTA  血清管 <sup>1</sup>	全血细胞计数+血小板计数	全血	3.0 ml
		HIV 快速检测 <sup>3</sup>	全血	3.0 ml
		保存血浆 <sup>13</sup>		
		乙肝表面抗原 <sup>11</sup>	现场决定	3.0 ml
		HCV抗体检测 <sup>4,11</sup>	现场决定	3.0 ml
		生化检测 <sup>5</sup> + 肝功能 <sup>6</sup>	血清	3.0 ml
招募/ 随机化分组	尿检杯	妊娠检测 <sup>2+7</sup>	尿样	<sup>2</sup>
安全性阶段 第一周	尿检杯 EDTA 血清管 <sup>1</sup>	毒品检测	尿样	30 ml
		全血细胞计数+ 血小板计数	全血	3.0 ml
		生化检测 <sup>5</sup> + 肝功能 <sup>6</sup>	血清	4.0 ml
安全性阶段 第二周	尿检杯 EDTA 血清管 <sup>1</sup>	毒品检测	尿样	30 ml
		全血细胞计数+ 血小板计数	全血	3.0 ml
		生化检测 <sup>5</sup> + 肝功能 <sup>6</sup>	血清	4.0 ml
安全性阶段 第三周	尿检杯 EDTA 血清管 <sup>1</sup>	毒品检测	尿样	30 ml
		全血细胞计数+ 血小板计数	全血	3.0 ml
		生化检测 <sup>5</sup> + 肝功能 <sup>6</sup>	血清	4.0 ml
安全性阶段 第四周	尿检杯 EDTA 血清管 <sup>1</sup>	毒品检测	尿样	30 ml
		妊娠检测 <sup>2</sup>	尿样	<sup>2</sup>
		全血细胞计数+ 血小板计数	全血	3.0 ml
		生化检测 <sup>5</sup> + 肝功能 <sup>6</sup>	全血	4.0 ml
干预阶段 第 4 , 8 周	尿检杯	毒品检测	尿样	30 ml
		妊娠检测 <sup>2</sup>	尿样	<sup>2</sup>
第 12 周	尿检杯	毒品检测	尿样	30 ml
		妊娠检测 <sup>2+8</sup>	尿样	<sup>2</sup>
	血清管 <sup>1</sup>	肝功能 <sup>6</sup>		4.0 ml
第 16 周	尿检杯	毒品检测	尿样	30 ml
		妊娠检测 <sup>2+8</sup>	尿样	<sup>2</sup>
第 20 , 24 周	尿检杯	毒品检测	尿样	30 ml
		妊娠检测 <sup>2+8</sup>	尿样	<sup>2</sup>
第 26 周	尿检杯	毒品检测	尿样	30 ml
		妊娠检测 <sup>2+8</sup>	尿样	<sup>2</sup>
	EDTA  血清管 <sup>1</sup>	全血细胞计数+ 血小板计数	全血	3.0 ml
		HIV 快速检测 <sup>3</sup>	全血	3.0 ml
		保存血浆 <sup>13</sup>		
		乙肝表面抗原	现场决定	2.0 ml
		HCV抗体检测 <sup>4,11</sup>	现场决定	2.0 ml
生化检测 <sup>5</sup> + 肝功能 <sup>6</sup>	血清	4.0 ml		
第 28 周	尿检杯	毒品检测	尿样	30 ml
		妊娠检测 <sup>2+8</sup>	尿样	<sup>2</sup>
第 32 , 36 周	尿检杯	毒品检测	尿样	30 ml
		妊娠检测 <sup>2+8</sup>	尿样	<sup>2</sup>

第 40 周	尿检杯 血清管 <sup>1</sup>	毒品检测	尿样	30 ml
		妊娠检测 <sup>2+8</sup>	尿样	2
		肝功能 <sup>6</sup>		4.0 ml
第 44, 48 周	尿检杯	麻醉药监测	尿样	30 ml
		妊娠检测 <sup>2+8</sup>	尿样	2
第 52 周	尿检杯 EDTA 血清管 <sup>1</sup>	毒品检测	尿样	30 ml
		妊娠检测 <sup>2+8</sup>	尿样	2
		全血细胞计数+血小板计数	全血	3.0 ml
		HIV 快速检测 <sup>3</sup>	全血	3.0 ml
		保存血浆 <sup>13</sup>		
		生化检测 <sup>5</sup> + 肝功能 <sup>6</sup>	血清	4.0 ml
第 78、104、130、 156 周	尿检杯 EDTA	毒品检测	尿样	30 ml
		HIV 快速检测 <sup>3</sup>	全血	3.0 ml
		保存血浆 <sup>13</sup>		

表 11-1 不同随访期样本采集与处理的说明：

1. 血清管 — 不含抗凝剂或防腐剂的血样采集管；
2. 仅限女性病人，可用检测毒品的尿样；
3. 如果任何 HIV 快速检测结果为阳性，对同一血样用 WB 或 IFA 确认；
4. HCV 抗体阳性血样用另外一种 HCV 酶标试剂、HCV RNA 检测或 HCV RIBA 重复检测。  
参加者进入研究后的第 1 年，可以根据临床症状随时开展肝炎检测；
5. 生化检测只需检测血清肌氨酸酐；
6. 肝功能检测包括谷丙转氨酶和总胆红素。
7. 确认女性参加者首次服药时没有怀孕；
8. 只用于替代治疗组，第 26 周再次戒毒治疗的戒毒组参加者除外；
9. 如果没有做 HIV 确认检测；
10. 由参加者进入研究的时间而决定随访期的长短，最少随访 24 周，最多随访 36 周；
11. EDTA 血样采集管中的血浆依然有用，现场根据当地的操作程序；
12. 本表的样本采集量仅为推荐量，采集的血样总量不能超过知情同意书中规定的量；

13. 保存被招募参加者的血清，每人 0.5 ml×3 份。如果每次访问时不能获得 0.5mL 的分装样本，在 LDMS 中必须作相应的调整，输入实际存放的样本体积；
14. 根据随访的 HIV 抗体检测流程，如果有采集第二个样本做确认检测，该血浆也要求保存。

#### 11.4.1 远程样本检测

本研究中所有常规实验室都不需要在 HPTN 中心实验室进行。然而，中心实验室会因为质量保证而在现场或 HPTN 中心实验室对部分血样复测。送往 HPTN 中心实验室或非现场实验室处理的血样都要贴标签并录入实验室数据管理系 ( LDMS )。送往 HPTN 中心实验室的血样检测结果不需要记录在数据传真表上。中心实验室做出的参加者的检测结果不会反馈给现场；但若有检测结果不一至会告知现场。如果检测结果有差异，需要复测更多的血样。

#### 11.4.2 HIV 抗体检测

血样将用于检测 HIV 感染的情况，现场已对检测项目进行论证，所有的检测和相关的质控 ( QC ) 程序必须记录在当地实验室记录表上或作为其它实验室源文档。

根据现场 SOPs 和说明书操作所有的快速诊断检测，所有参与现场操作 HIV 监测和论证 HIV 检测项目的工作人员要了解不同的检测方法的检测时间是不同的，所以必须依照各自的检测时间来进行操作，对所有的检测方法设定不同的计时器以保证在适宜的时间内判读，在检测记录表上记录检测开始和结束时间，以及验证时间。

在所有现场，进行免疫印迹 ( WB ) 检测时，必须使用 FDA 批准的 WB 试剂，按照现场 SOP 和说明书操作，基于出现的条带来解释结果，如下：

阳性：至少有其中两个主要条带：gp160/gp120, gp41, 或 p24 必需出现。条带必需至少深于弱阳性质控 gp120 的浓度才被考虑为阳性。条带在 gp41 必需是宽而扩散 ( 注意如果任何现场使用 Cambridge HIV 免疫印迹试剂请通知 HPTN 网络实验室，Cambridge 免疫印迹试剂使用不同的质控线做对照 )

不确定：出现一条或多条条带，但不符合以上阳性结果的描述

阴性：没有条带出现

所有解读 WB 结果的检验员必须完成每 6 个月的专业考核，HPTN 网络实验室为此在 HPTN 058 网站上张贴真的 WB 图像，现场相关的实验室检验员阅读图像，并在网上向 HPTN 网络实验室递交他们的答案，每次考核后，HPTN 网络实验室将结果反馈给每个现场实验室主管，并指出所需的纠正措施。有关专业考核操作和记录请联系 HPTN 网络实验室，此外如果有新的实验室检验员被雇用，请联系 HPTN 网络实验室 关于提前进行它们的专业考核的事宜。

由 WB 检测确认为阴性的参加者被认为是血清阴性，在下次访问前不需要进一步检测。

由 WB 检测确认为不确定或阳性的参加者要重新采血，重新采集的血样将送往当地实验室重做 HIV WB 检测，请参考当地实验室采血量要求。

由 WB 检测确认第二次血样为阳性的参加者被确认为血清转阳。

如果实验室对一个复查的样本报告 WB 阴性或不确定，现场要咨询 HPTN 网络实验室，可能需要重采样本重新检测。

#### HIV 抗体检测 – 筛查

图 11 - 2 描述了筛查的 HIV 检测流程。现场工作人员采集血样做 2 个 HIV 快速检测，若首份血样的 2 种 HIV 快速检测结果均为阴性，可以认为参加者未感染 HIV；若首份血样 2 种检测结果至少一个为阳性，需要对该血样做 WB 或 IFA 确认实验，如果 WB 或 IFA 实验结果是阴性，可以认为研究对象未感染 HIV，但是此时不能被纳入研究。如果 WB 或 IFA 实验结果是阳性或不确定，则不能纳入研究并转诊到其他支持服务项目。参加者可以在首次采血 30 天后再次筛查（仅一次）。

#### HIV 抗体检测 – 随访

图 11-3 描述了随访的 HIV 检测流程。现场工作人员采集血样做 HIV 快速检测，若首份血样的 2 种 HIV 快速检测结果为阴性，可以认为参加者未感染 HIV，若首份血样 2 种检测结果至少一个为阳性，需要对该首份血样做 WB 或 IFA 确认实验，如果 WB 或 IFA 实验结果是阴性，可以认为研究对象未感染 HIV。如果 WB 或 IFA 实验结果是阳性，择日再采第 2 份血样，用 WB 或 IFA 检测。如果第 2 份血样的 WB 或 IFA 检测结果为阳性，则参加者感染 HIV，如果结果为阴性或不确定，则要在下一次约定访问时或之前再做检测，这种情况要咨询网络实验室。确认试验的血浆样本也要存样。

图 11-2 HIV 抗体检测流程——筛查

源于方案版本 2.0 附件 II-A: HIV 抗体检测流程——筛查

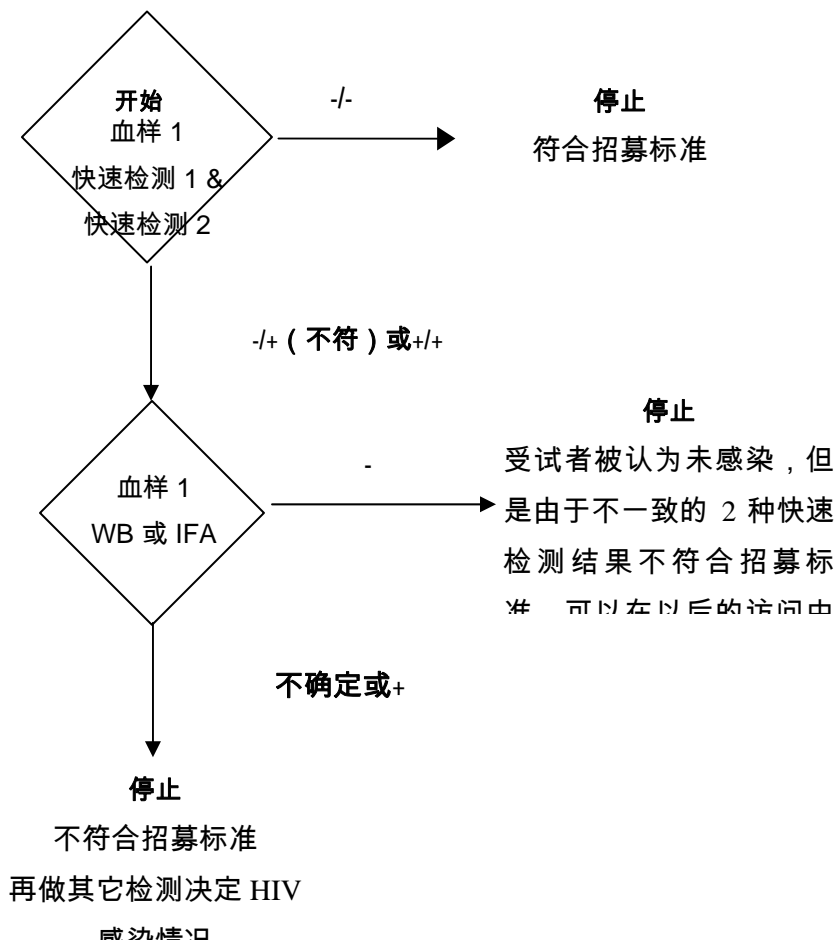
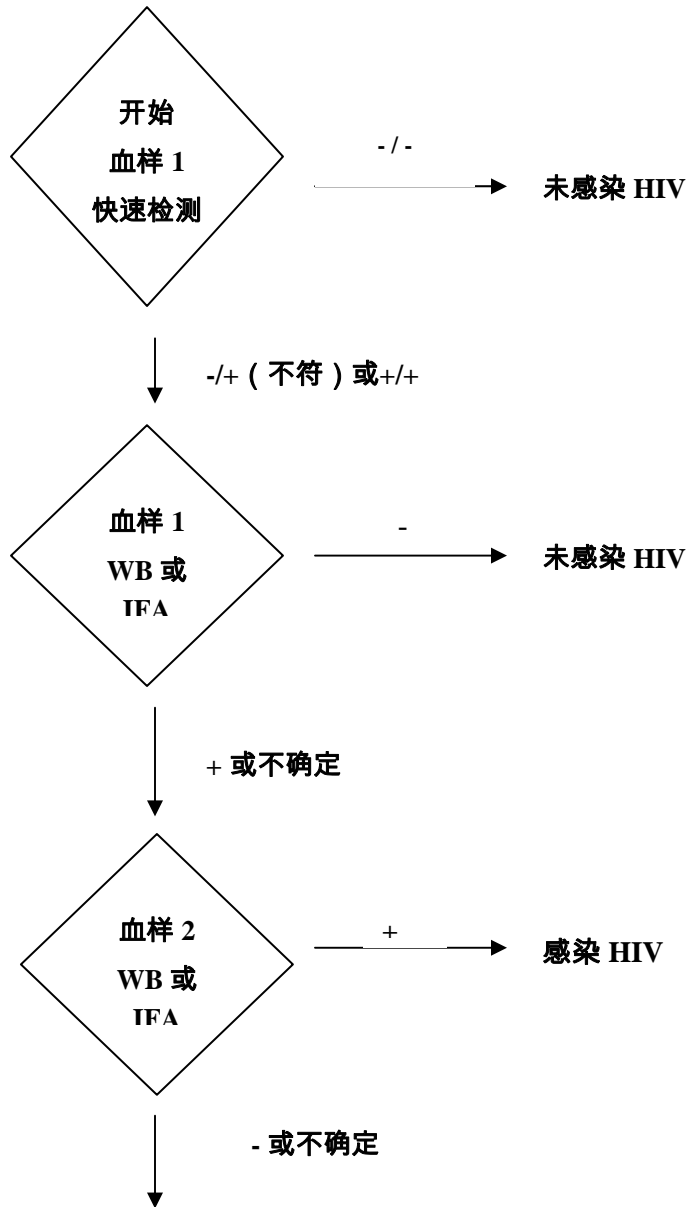


图 11-3 HIV 抗体检测流程——随访

源于方案版本 2.0 附件 II-B: HIV 抗体检测流程——随访



咨询中心实验室 (NL)

## HCV 抗体检测

血样将用于检测 HCV 感染的情况，现场已对检测项目进行论证，所有的检测和相关的质控（QC）程序必须记录在当地实验室记录表上或作为其它实验室源文档。

根据现场 SOPs 和说明书操作所有的 HCV 检测。

现场可以按照以下任意一种检测流程，图 11-4 或 11-5.

图 11-5 描述序列 HCV 抗体检测:

样本第一个 HCV 抗体酶联检测结果不反应，可报告为非反应性。

样本第一个 HCV 抗体酶联检测结果为反应的必须用第二种检测方法进行复测，这第二中检测可以是一种不同的 HCV 酶联检测, HCV RNA, 或 HCV RIBA，如果这第二中检测结果也是反应性，报告为反应性。

如果第 2 种检测方法的结果是不反应, 请咨询 HPTN 网络实验室 [NetworkLab@HPTN.org](mailto:NetworkLab@HPTN.org)

图 11-6 描述平行 HCV 抗体检测:

如果 2 种检测方法的结果都是不反应, 样本将报告为非反应性。

如果 2 种检测方法的结果都是反应的, 样本将报告为反应性。

如果 2 种检测方法的结果不同, 咨询网络实验室。

图 11-4 HCV 抗体检测流程——序列分析

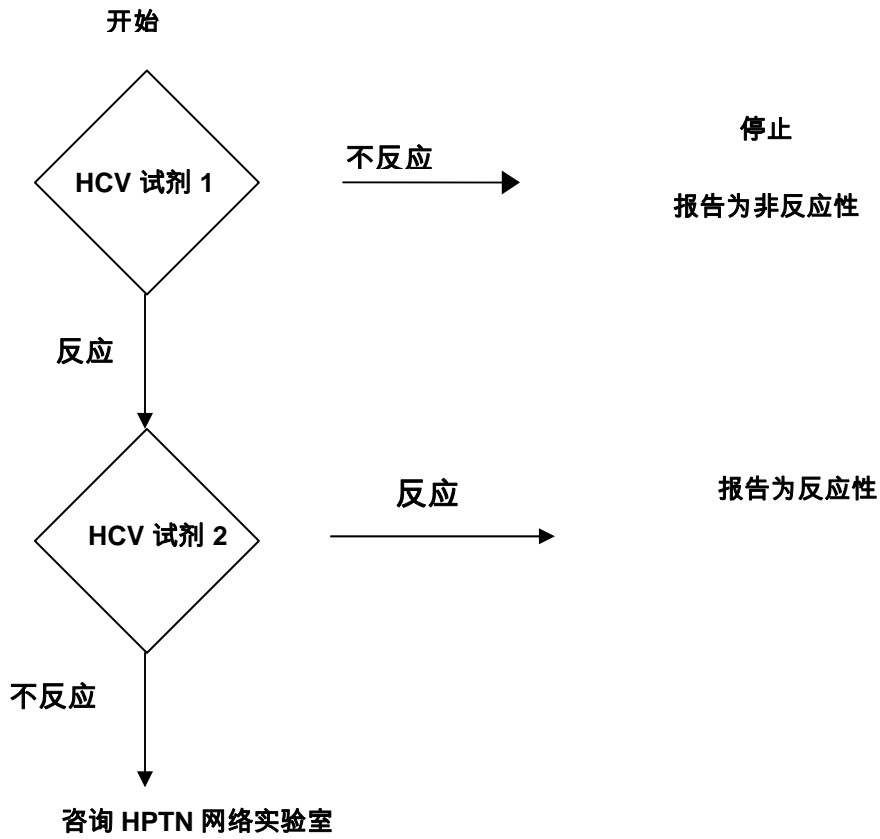
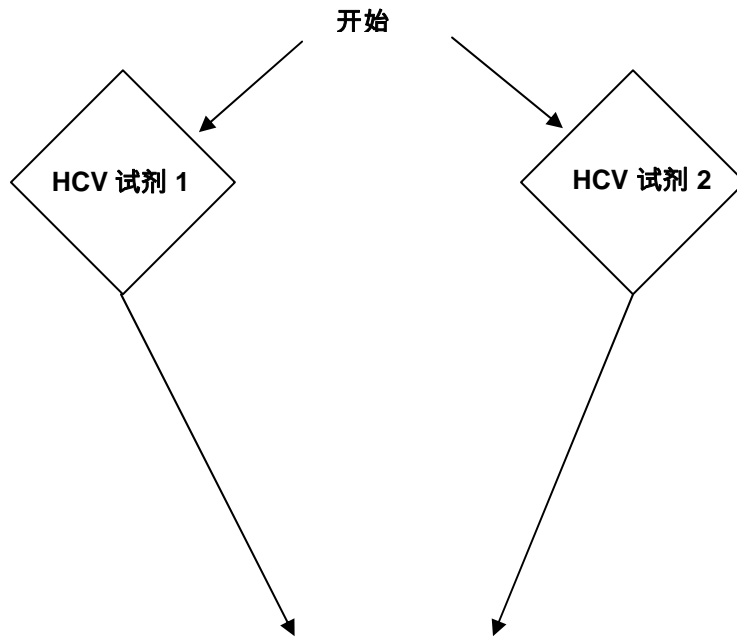


图 11-5 HCV 抗体检测流程——平行分析



如果两种的结果都是反应的，报告为反应性

如果两种的结果都是不反应，报告为非反应性

如果两种的结果不同，咨询 LDTM 网络实验室

### 11.4.3 乙肝检测

血样将用乙肝表面抗原试剂来检测乙肝感染的情况，现场已对检测项目进行论证，所有的检测和相关的质控（QC）程序必须记录在当地实验室记录表上或作为其它实验室源文档。

根据现场 SOPs 和说明书操作所有的乙肝检测。

### 11.4.4 血常规和生化检测

血样将用于检测血常规和生化，现场已对检测项目进行论证，所有的检测和相关的质控（QC）程序必须记录在当地实验室记录表上或作为其它实验室源文档。

根据现场 SOPs 和说明书进行操作。

### 11.4.5 血浆保存

在 HPTN 058 的整个研究过程中，都要保存被招募的研究对象的血浆，用于研究方案规定的实验室检测或将来的研究。保存每个研究参加者的血浆，即使他们不同意长期保存。

存放的血浆将用于以下用途：

由 HPTN 网络实验室在现场或在 HPTN 网络实验室进行 HIV 检测的质量保证 (QA)

评估 HIV 发病率的相关检测

可能的将来的研究检测, 如果参加者签署了书面的知情同意

所有招募的参加者必须对他们参加研究期间的血浆采集和存放进行知情同意，直到方案要求的 HIV 检测全部完成, 这包括在选择进行现场进行 HIV 发病率评估的检测。参加者被要求分别签署无限期存放样本和研究结束以后可能用血浆进行将来研究检测的知情同意，参加者可以拒绝签署无限期存放血样和可能用血浆进行将来研究检测的知情同意 并仍然被纳入研究中，应此, 对于那些不愿意无限期存放血样用于进行将来研究检测，在完成研究方案规定的所有实验室检测后，销毁剩余样本。研究完成后 SDMC ( 统计与数据管理中心 ) 会为现场提供不同意无限期存放血样用于进行将来研究检测的参加者清单，HPTN 网络实验室将提供样本销毁的指南和文件记录。

按照当地操作程序，分装 3 支 0.5 毫升的血浆管并贴上标签 ( LDMS 生成的标签 )，在当地实验室冷库中以 -70°C 保存。

如果没有存满 3 支分装管，在 LDMS 上要注明。

以下代码用于血浆样本录入 LDMS 时:

样本种类	LDMS 代码
全血样本	BLD
添加 EDTA	EDT
血浆衍生代码(单次离心)	PL1
血浆衍生代码(双次离心)	PL2

所有现场必须建立关于每周确认血浆样本存放的 SOPs; 这些 SOPs 必须在研究过程中严格遵守，当任何时候发现要求的血浆分装量未达到要求时, 现场和实验室工作人员必须马上通知 HPTN 核心团队, SDMC 和网络实验室，HPTN 核心团队, SDMC 和网络实验室 将针对问题提供建议，此外, 现场和实验室工作人员将对问题作好记录, 进行相应的纠正和预防措施, 并记录所有采取的措施。

#### 11.4.6 尿液检测

尿液将用于检测怀孕和毒品使用情况，现场已对检测项目进行论证，所有的检测和相关的质控 ( QC ) 程序必须记录在当地实验室记录表上或作为其它实验室源文档。

尿液不需要存放，可根据当地规定使用后销毁。

只有受过培训的工作人员可以操作尿检并解释结果。

进行常规操作的工作人员必须参加实验室管理的定期盲样考核。

## 11.5 质量控制和质量保证程序

HPTN 网络实验室已经在每个研究现场建立了盲样外部考核程序。网络实验室工作人员会定期到现场检查当地实验室的质量控制执行情况，包括实验室检测仪器设备的正常维护，正确使用试剂等。在盲样外部考核及/或现场评估过程中发现的 QC/QA ( 质量控制/质量保证 ) 问题，网络实验室工作人员会直接与当地的工作人员一起探讨解决。

在整个研究过程中，网络实验室会复测所有感染 HIV 的血浆样本及同等数量、随机抽取的未感染血浆样本。如果检测结果中有假阳性或假阴性，这会改变参加者的研究终点结果，那么所有参加者的最近 1 次的随访的血样都要复测。现场实验室检查包括准确采集足量的样本、样本的处理、保存和运输及一般的质量保证措施。

SDMC ( 统计与数据管理中心 ) 会通知现场工作人员用于质量保证测试而抽取的血样，如果需要，现场工作人员要把抽取的血样送往网络实验室。遵照 HPTN 实验室操作手册和国际航空运输协会的运输规定运送样本。

网络实验室检测血样的 HIV 抗体，并与当地实验室的检测结果进行比较。如果在这个过程中发现的质量保证问题，中心实验室工作人员会直接与现场的工作人员协商解决。

## 11.6 向 HPTN 网络实验室运送样本

在 HPTN 058 的整个研究过程中，将血浆由实验室运送到 HPTN 网络实验室用于质量保证测试或将来检测。在运送时：

SDMC 将提供每次运送的样本清单 ( 包括 PTID 和样本采集日期 ) 。

每次收到 SDMC 的清单后:

- 联系约翰霍普金斯大学的HPTN 网络实验室 (Estelle Piwowar-Manning: [epiwowa@jhmi.edu](mailto:epiwowa@jhmi.edu), +410-614-6736)商榷运输的时间和方式. 美国现场可以通过联邦快递 ( Federal Express ) 送到 HPTN网络实验室, 周一至周四, 有 24-hour传真通知.
- 依照 SDMC 样本运送清单准备, 由 LDMS 生成每批样的电子版运送单, 样本分布图, 和 LDMS 运送磁碟。
- 从冷藏柜中取出所选的样本 (每个 PTID 都有一个或多个分装管, 上面注明日期), 并确认冷冻管上标签的 PTID, 全球 ID, 和日期。
- 根据电子版运送单的顺序, 把冷冻样本放在 5x5 或 9x9 冷冻盒中。
- 操作运样的工作人员必须受过培训, 并获得运送 B 类生物样品 UN 3373 (诊断) 包装要求 650 的证书。
- 用干冰和/或液氮 (LN2) 运送时, 把冷冻盒包在有吸附作用的材料中, 并放在运送包中, 密封运送包并把它放在运送箱中, 在运送箱里填入足够的干冰可维持至少 48 小时, World Courier 运输公司会在必要时补充干冰。请与厂家核实用 LN2 运送的内部包装要求, LN2 运输可以保持温度 7-14 天, World Courier 运输公司将在这个期限内运送。
- 运送时附上电子版运送单复件, 样本分布图, LDMS 运送磁碟和 CDC 进口许可证。干冰和 LN2 运送时, 注明诊断包裹代码 650, UN 3373, 使用非易燃性气体标签, 贴上竖立标志, 和不要摔 – 小心处理标志, 按以下地址运送:

Estelle Piwowar-Manning/  
Johns Hopkins University Hospital  
Department of Pathology  
Pathology Building, Room 313  
600 North Wolfe Street  
Baltimore, MD 21287  
USA

- 包裹被运输公司从现场取走后, 以Email形式通知HPTN网络实验室 ([epiwowa@jhmi.edu](mailto:epiwowa@jhmi.edu)), email中附上电子版运送单和LDMS单,并包括以下信息: 运输公司的名称, 运单号, 运送箱的数量, 送样日期, 以及估计的到达日期。

## 11.7 实验室监督

DAIDS 临床现场监查组 (PPD) 对正在进行的 HPTN 研究现场做季度监查访视 (请查阅 HPTN 操作手册第 16 章)，除了对 AIDS 局 (DAIDS) 要求的现场门诊和管理方面进行监查访视以外，监查者也根据 DAIDS 要求对每个现场的当地实验室或门诊实验室进行监查访视，实验室监查包括确认 LDMS 的使用，LDMS 样本存放记录，现场抽查的样本不会预先告知现场。

网络实验室工作人员将对现场进行阶段性访视，审查方案有关的临床记录, LDMS 报告, 样本存放和其它实验室记录。