

## · 现场调查 ·

# 应用 BED-CEIA 方法估算重庆市静脉吸毒人群艾滋病病毒感染的发病率

韩梅 王豫林 王懋杰 周全华 蒋岩

**【摘要】** 目的 检测重庆市静脉吸毒人群中艾滋病病毒(HIV)新近感染状况并计算 HIV 发病率。方法 收集重庆市两个监测哨点自 1999-2006 年以来的监测样本共计 4711 份,通过酶联免疫和蛋白印迹实验检测出 HIV-1 感染的样本,再应用 Ig-G-捕获 HIV-1 BED-发病率酶联方法(BED-CEIA),检测其中的新近感染样本,进而估算该人群的 HIV-1 发病率。结果 共检出 HIV-1 阳性样品 130 份。哨点 A 2001-2005 年 HIV 感染率分别为 0.73%、2.02%、1.54%、2.96%、2.80%,发病率分别为 0.57%、0.93%、0.124%、1.68%;哨点 B 2004-2006 年 HIV 感染率分别为 4.21%、9.96%、8.13%,发病率分别为 0.95%、1.04%、0.90%。虽然两个哨点在发病率方面都有起伏,但差异无统计学意义,感染率与发病率变化趋势一致。结论 目前在重庆市监测哨点发现的 HIV 感染者大部分为既往感染者,发病率维持在较稳定的范围。

**【关键词】** 艾滋病病毒; BED-酶联方法; 发病率; 静脉吸毒人群

**Application of BED-CEIA to estimate the human immunodeficiency virus prevalence among injecting drug users in Chongqing municipality** HAN Mei\*, WANG Yu-lin, WANG Min-jie, ZHOU Quan-hua, JIANG Yan. \*Chongqing Center for Disease Control and Prevention, Chongqing 400042, China  
Corresponding author: JIANG Yan, Email: jiangyan03@263.net

**【Abstract】** **Objective** To estimate the human immunodeficiency virus (HIV-1) prevalence of injecting drug users (IDUs) in Chongqing city. **Methods** To apply BED-capture enzyme immunoassay (CEIA) which was based on the principle of HIV-antibody varies as the disease progress, in order to estimate both the HIV incidence and prevalence of IDUs from two IDUs surveillance sites in Chongqing. **Results** During the research period, 4711 serum samples were tested by ELISA and 130 were HIV-1 positive, confirmed by Western blot. The prevalence of IDUs surveillance site A from 1999 to 2006 were 0.73%, 2.02%, 1.54%, 2.96% and 2.80%, and the incidence rates were 0.57%, 0.93%, 0.124% and 1.68% respectively. The prevalence of IDUs surveillance site B appeared to be 4.21%, 9.96%, 8.13%, and the incidence rates were 0.95%, 1.04% and 0.90% respectively, from 2004 to 2006. **Conclusion** Many of the IDUs HIV carriers in Chongqing had been infected for long time, and the incidence rates among them were steady, keeping at the same level for 1-2 years. Promotion on intervention for IDUs had produced certain effects but more attention still needs to be paid.

**【Key words】** Human immunodeficiency virus; BED-capture enzyme immunoassay; Incidence; Injection drug users

自 1998 年 Janssen 等<sup>[1]</sup>采用实验室方法检测 HIV 新近感染,进而估算发病率以来,应用实验室方法检测新近感染估算发病率就受到了越来越多的关注。Parekh 等<sup>[2]</sup>于 2002 年通过间接检测血清阳

转后 HIV-IgG 占总 IgG 的比例来识别 HIV 新近感染,估算 HIV 发病率,即 BED-CEIA (BED-capture enzyme immunoassay)的方法;实验结果表明特异性 Ig-G 抗体在血清阳转后 2 年多的时间内连续增长。国家艾滋病参比实验室于 2005 年将 BED-CEIA 方法引入我国,初步实验研究表明,该方法适用于 HIV 流行株检测,且稳定性和重复性均较好<sup>[3]</sup>。为了更准确有效的评估重庆市高危人群中 HIV 流行状况,本文应用 BED-CEIA 方法对重庆市两个静脉吸毒人群(IDU)监测哨点 HIV 新近感染进行检测

基金项目:中美艾滋病防治合作资金资助项目(5U62PS022883-5)

作者单位:400042 重庆市疾病预防控制中心(韩梅、王豫林、周全华);中国疾病预防控制中心性病艾滋病预防控制中心(王懋杰、蒋岩)

通讯作者:蒋岩, Email: jiangyan03@263.net

并估算 IDU 人群发病率。

### 材料与方 法

1. 实验方法: BED-CEIA; HIV-1 BED 发病率检测的 EIA 实验是一种 Ig-G 捕获的 EIA 实验, 在该实验中, 微孔包被羊抗人 Ig-G 来捕获血浆或血清的抗 HIV-1 抗体和非抗 HIV-1 抗体。捕获的抗 HIV-1 抗体和非抗 HIV-1 抗体的相对数量代表血清中 IgG 抗体水平, 可间接检测样品中抗 HIV-1 特异性 Ig-G 抗体占总 Ig-G 抗体的比例。

2. 试剂: Calypte HIV-1 BED 发病率检测 EIA 试剂盒 (Calypte Biomedical Corporation, USA), 批号 I1105A。

3. 研究样本: 来自两个 IDU 监测哨点样本共计 4711 份, 哨点 A 3916 份, 哨点 B 795 份。哨点 A 监测时间从 1999 - 2005 年, 哨点 B 自 2003 年开始运行, 数据收集从 2003 - 2006 年。4711 份监测样本经 ELISA (Vironostika-HIV Uniform II Plus O; Organon Teknika, the Netherlands) 检测, 共确认 130 份为 HIV-1 阳性 (HIV BLOT2.2, Genelabs, Singapore); 所有阳性样本冻存于 -80℃。通过查找感染者数据库, 排除已知感染时间超过 1 个窗口期, 即 155 d 的样本 (定义为既往感染者)<sup>[4]</sup>。

4. 试验步骤: 按照 Calypte HIV-1 BED 说明书进行操作。将待测样品按顺序排列; 按照样品数量配制相应的洗液和稀释液。根据酶联板的布局, 首先在样品稀释管中将对照和样品稀释 100 倍; 用多通道移液器取 100 μl 稀释后的样品加入酶联反应板, 封板, 37℃ 孵育 1 h 后, 洗板 4 次; 在每孔中加入 100 μl HIV 生物素-抗原肽, 密封, 37℃ 孵育 1 h 后, 洗板 4 次; 在每孔中加入 100 μl 稀释的含链亲和素-过氧化物酶结合物, 密封, 37℃ 孵育 90 min 后, 洗板 4 次; 确保 TMB 底物已达室温, 用多通道移液器在每孔中加入 100 μl TMB 底物, 25℃ 下严格孵育 15 min 进行显色。每孔加 100 μl 终止液终止反应后, 酶标仪比色。实验分为初筛和确认, 初筛样品为单份检测, 吸光度 (A-n) 值 > 1.2 被认为是既往感染者, A-n 值 ≤ 1.2 认为可能是新近感染, 标本将进行确认, 确认方法是进行三孔复测。在确认试验中, A-n 值 ≤ 0.8, 则认为该份样品是新近感染。

5. 质量控制: ①实验前: 选择熟悉 EIA 操作, 具备基本 Excel 知识的操作人员参加新发感染检测的相关培训, 并参加了由美国疾病预防控制中心组

织的 BED-capture EIA 检测能力验证。使用的标本和试剂均按要求保存在适宜的温度条件下。实验中使用的仪器酶标仪、洗板机、移液器、孵育箱均定期维护和校正。②实验中: 对于每次实验, 试剂内对照、标化 A-n 值、最佳拟合曲线、实验内变异系数 (CV)、初筛和确认的吻合度均要求在控制范围内。③实验后: 对数据的管理采用 Excel 软件, 实验结束后要求重新清点样本, 确定排除非 HIV-1 阳性样本。

6. 统计学分析: 实验结果处理均采用 Excel 软件; 应用 BED-CEIA 方法关于发病率的公式计算获得 HIV 发病率<sup>[4-5]</sup>; 应用感染率公式计算获得 HIV 感染率<sup>[6]</sup>: HIV-1 年发病率 = [(365/155) × HIV-1 近期感染人数] / [HIV-1 阴性人数 + (365/155) × HIV-1 近期感染人数] × 100%; HIV 感染率计算公式: HIV 感染率 = 某时点高危人群中 HIV 携带者总数 × K / 该时点暴露人口总数, K 为比例基数, 此处为 100%。

### 结 果

1. 哨点监测结果 (表 1): 对哨点 A 和 B 近年的监测情况回顾性调查发现, 就感染率而言, 哨点 A 2002 年较 2001 年增幅达 3 倍以上, 此后保持缓慢增长速度; 应用 χ<sup>2</sup> 检验, 除 2001 年发病率与感染率差异不显著外 (P > 0.05), 其余几年监测数据均显示二者差异有统计学意义 (P < 0.01)。

表 1 重庆市 IDU 监测点 A、B 哨点历年监测情况

监测点	年份	监测人数	阳性例数	新近感染例数	发病率 (%)	感染率 (%)
A	2001	1240	9	3	0.57	0.73
	2002	1289	26	5	0.93	2.02
	2003	325	5	0	0	1.54
	2004	2065	49	9	1.24	2.96
	2005	2351	57	11	1.68	2.80
B	2004	261	11	1	0.95	4.21
	2005	251	25	1	1.04	9.96
	2006	283	23	1	0.90	8.13

2. 发病率与感染率: 哨点 B 2005 年较前一年感染率也有 1 倍以上的增长, 此后的 2006 年略有回落, 3 年的监测数据显示感染率与发病率差异均有统计学意义 (P < 0.0001)。对各年的发病率进行差异性检验, 虽然差异没有统计学意义, 但从图 1 和 2 中可以看到各年的发病率和感染率变化的趋势是一致的。

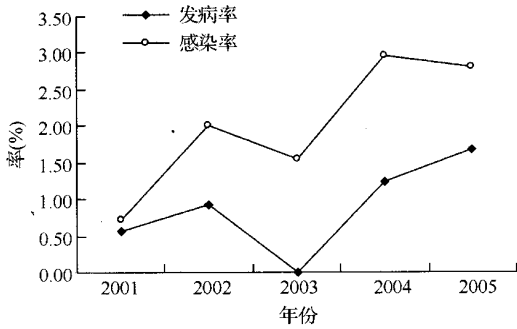


图1 重庆市 IDU 监测点哨点 A 历年发病率和感染率变化趋势

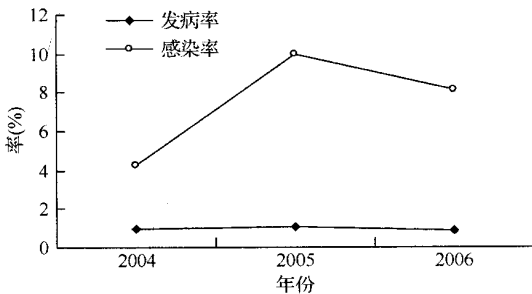


图2 重庆市 IDU 监测点哨点 B 历年发病率和感染率变化趋势

### 讨论

通常认为,发病率低于0.4%,为低发病率,弱流行;发病率在0.5%~0.9%之间为低水平,可能是稳定的流行水平。从上述结果来看,哨点 A 和 B 从 2004 年以来得到的发病率不约而同的都维持在年 1.0% 左右,可以推断重庆市 IDU 中 HIV 发病率处于低且稳定的水平。而同期,乌干达的自愿咨询检测人群中,HIV 发病率达到 0.9%~2.3%<sup>[7]</sup>;此外,虽然没有相应的队列研究来印证该结果,但从两个监测点得到的结果可以较好的相互印证。A 点 2002 年较 2001 年有较大增长,这可能是真实的流行水平,也可能是实验室方法局限性的后果,2003 年出现发病率为 0 的异常结果,可能与当年监测量小有关系,结果未必反映真实情况。因为新近感染是小概率事件,所以在选择作 BED 检测的样本时,应考虑样本量大、预期发病数较大的哨点或横断面调查。

哨点 A 和 B 各年的感染率差异较大,总的来说 B 点都比 A 点高。可能的原因是各自监测对象的差异。哨点 A 属于公安系统,B 属于司法系统,在监测对象上 A 点更局限在一些首次吸毒被关押的人,B

点多是多次反复吸毒被关押的;在样本量上,A 点更大,结果更客观,而 B 点结果可能存在偏倚。

从哨点监测数据来看,2004 年重庆市吸毒人员共用注射器吸毒比例仍然较高(45.0%),有 56.7% 的吸毒者在与他(她)人发生性行为时从未使用安全套<sup>[8]</sup>,居高不下的高危性行为可能也是导致吸毒人员 HIV-1 发病率保持稳定的原因。

HIV 发病率一直是人们关注的热点话题,计算的方法很多<sup>[2]</sup>,HIV-1 BED-CEIA 是目前比较前沿的一个可用于 HIV 发病率监测的实验室技术。HIV-1 发病率是指一定时间内新发生 HIV-1 感染数占同期所有新发感染危险数的比例。感染率是指在某个时间点 HIV 感染者的比例<sup>[6]</sup>。人们在讨论艾滋病的疫情时,总是将感染率混淆于发病率。感染率适合于测量疾病负担、预测将来的卫生保健需求,而发病率更适合于预测 HIV 流行趋势以及评估预防项目的效果。通过对重庆市两个 IDU 监测点的数据分析可以很清楚的看到,HIV 的发病率和感染率之间差异非常显著,所以应用感染率来回顾或预测疫情的发展稍显片面。从分析数据还可以看出,随着国家对艾滋病监测力度的加大,特别是 2002 年以后,感染人数增长很快,但实际上大部分都是既往感染的,而发病率保持稳定,新近感染的人数增长并不明显,说明对该人群采取的一系列防控措施对遏止 HIV 流行起到了一定作用。

通过两个 IDU 监测哨点的两个重要疾病指标的比较及曲线趋势可以预测,在未来 1-2 年内,重庆市 IDU 的发病率可能会保持在 1.0% 左右,近期内无明显的下降趋势;这提示我们要进一步加大对该人群的宣传教育和行为干预力度,进一步推进针具交换和美沙酮维持治疗。此外,我们还应意识到,随着对吸毒人群行为干预的深入开展,特别是美沙酮维持治疗的良性运转,这部分人员对注射吸毒的需求将逐渐减少,这也可能促使其生活方式的改变,比如对性的需求增加,提示我们应该将更多的 HIV 高危人群纳入干预,在推广美沙酮维持治疗的同时也应加大对百分百避孕套计划的推广,并加大对感染者的管理力度。BED-CEIA 实验是以 HIV-IgG 占总 IgG 的比例为基础,个体间存在差异,并且个体中抗体生成的速度也不同,所以该实验只应用于人群发病率的估计,目前还不适用于个体临床诊断;并且窗口期在不同的地区和人种会有细微差异,目前中国采用的是一个综合了 ABCD 以及 CRF\_AE

等许多亚型的均值,它的差异对发病率的结果会有影响,但对发病率变化趋势没有影响。此外,在应用中应更多关注发病率变化趋势。大约 2%~3% 长期感染的人群,包括艾滋病患者可被错分为新发感染。工作人员在应用 BED 方法进行新发感染检测、估算 HIV 发病率时应谨慎解释<sup>[9]</sup>。新近感染是小概率事件,除了该方法易将晚期艾滋病患者、高  $\gamma$  球蛋白患者等误判为新近感染的自身局限性外,轻微的混杂和偏倚也可能导致结果的巨大差异,所以我们在应用此方法时一定要尽量排除可能的人为混杂因素,确保结果更客观。

参 考 文 献

[1] Janssen RS, Satten GA, Stramer SL, et al. New testing strategy to detect early HIV-1 infection for use in incidence estimates and for clinical and prevention purposes. JAMA, 1998, 280:42-48.  
 [2] Parekh BS, Kennedy MS, Dobbs T, et al. Quantitative detection of increasing HIV type1 antibodies after seroconversion: a simple

assay for detecting recent HIV infection and estimating incidence. AIDS Res Hum Retroviruses, 2002, 18: 295-307.  
 [3] 王慧杰, 蒋岩, 韩梅. HIV-1 新感染检测实验——BED-CEIA 方法检测性能评价研究. 中国艾滋病性病, 2007, 13(4): 305-308.  
 [4] 吕繁, 赵金扣, 蒋岩, 等. BED HIV-1 发病监测方法及其应用. 中国艾滋病性病, 2006, 12(2): 179-181.  
 [5] Bharat S Parekh, Steven McDougal J. Application of laboratory methods for estimation of HIV-1 incidence. Indian J Med Res, 2005, 121: 510-518.  
 [6] 李立明. 流行病学. 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2003.  
 [7] Baryarama F, Bunnell R, McFarland W. Estimating HIV incidence in voluntary counseling and testing clients in Uganda (1992 - 2003). J Acquir Immune Defic Syndr, 2007, 44(1): 99-105.  
 [8] 徐世明, 彭传伦. 重庆市 2004 年艾滋病病毒及梅毒的监测. 现代预防医学, 2006, 33(5): 833-835.  
 [9] 冯基刚, 蒋岩, 肖瑶. 检测 HIV 早期感染的血清学方法. 中华实验和临床病毒学杂志, 2006, 20(1): 83-85.

(收稿日期: 2007-04-12)

(本文编辑: 尹廉)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊对统计学方法的要求

本刊统计学符号按 GB 3358-1982《统计学名词及符号》的有关规定一律采用斜体排印, 常用: ①样本的算术平均数用英文小写  $\bar{x}$  (中位数用  $M$ ); ②标准差用英文小写  $s$ ; ③标准误用英文小写  $s_x$ ; ④  $t$  检验用英文小写  $t$ ; ⑤  $F$  检验用英文大写  $F$ ; ⑥ 卡方检验用希腊小写  $\chi^2$ ; ⑦ 相关系数用英文小写  $r$ ; ⑧ 自由度用希腊小写  $\nu$ ; ⑨ 概率用英文大写  $P$  ( $P$  值前应给出具体检验值, 如  $t$  值、 $\chi^2$  值、 $q$  值等),  $P$  值应给出实际数值, 不宜用大于或小于表示, 而用等号表示, 小数点后保留 3 位数。

**研究设计:** 应告知研究设计的名称和主要方法。如调查设计 (分为前瞻性、回顾性还是横断面调查研究), 实验设计 (应告知具体的设计类型, 如自身配对设计、成组设计、交叉设计、析因设计、正交设计等), 临床试验设计 (应告知属于第几期临床试验, 采用了何种盲法措施等); 主要做法应围绕 4 个基本原则 (重复、随机、对照、均衡) 概要说明, 尤其要告知如何控制重要非试验因素的干扰和影响。

**资料的表达与描述:** 用  $\bar{x} \pm s$  表达近似服从正态分布的定量资料, 用  $M(Q_R)$  表达呈偏态分布的定量资料, 用统计表时, 要合理安排纵横标目, 并将数据的含义表达清楚; 用统计图时, 所用统计图的类型应与资料性质相匹配, 并使数轴上刻度值的标法符合数学原则; 用相对数时, 分母不宜小于 20, 要注意区分百分率与百分比。

**统计学分析方法的选择:** 对于定量资料, 应根据所采用的设计类型、资料具备的条件和分析目的, 选用合适的统计学分析方法, 不应盲目套用  $t$  检验和单因素方差分析; 对于定性资料, 应根据所采用的设计类型、定性变量的性质和频数所具备的条件及分析目的, 选用合适的统计学分析方法, 不应盲目套用  $\chi^2$  检验。对于回归分析, 应结合专业知识和散布图, 选用合适的回归类型, 不应盲目套用直线回归分析; 对具有重复实验数据检验回归分析资料, 不应简单化处理; 对于多因素、多指标资料, 要在一元分析的基础上, 尽可能运用多元统计分析方法, 以便对因素之间的交互作用和多指标之间的内在联系做出全面、合理的解释和评价。

**统计结果的解释和表达:** 当  $P < 0.05$  (或  $P < 0.01$ ) 时, 应说对比组之间的差异具有统计学意义, 而不应说对比组之间具有显著性 (或非常显著性) 差异; 应写明所用统计分析方法的具体名称 (如: 成组设计资料的  $t$  检验、两因素析因设计资料的方差分析、多个均数之间两两比较的  $q$  检验等), 统计量的具体值 (如:  $t = 3.45, \chi^2 = 4.68, F = 6.79$  等); 在用不等式表示  $P$  值的情况下, 一般情况下选用  $P > 0.05, P < 0.05$  和  $P < 0.01$  三种表达方式即可满足需要, 无须再细分为  $P < 0.001$  或  $P < 0.0001$ 。当涉及总体参数 (如总体均数、总体率等) 时, 在给出显著性检验结果的同时, 再给出 95% 可信区间。