

BED-CEIA 估计 HIV-1 新近感染率的有效性及其影响因素的评价

马文娟 汪宁

【关键词】 IgG 捕获 BED 酶免疫方法; 艾滋病病毒; 新近感染率; 评价

Validity of using BED-CEIA to estimate HIV-1 incidence and factors influencing its validity-systematic review MA Wen-juan^{1, 2}, WANG Ning². 1 Peking Union Medical College, Beijing 100730, China; 2 National Center for AIDS/STD Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention

Corresponding author: WANG Ning, Email: wangnbj@163.com
This work was supported by a grant from the Infectious Diseases Key Projects of the National Science and Technology Support Projects of China (No. 2008ZX10001-003).

【Key words】 IgG-capture BED-CEIA; Human immunodeficiency virus; Incidence; Estimation

在艾滋病流行病学研究中,衡量艾滋病流行趋势最常用的指标是 HIV 累积感染率和新近感染率。与累积感染率相比,新近感染率对艾滋病流行趋势预测、干预效果评价以及防治策略的制定等能提供更直接的信息。在获取新近感染率的方法中,除了经典的流行病学队列随访方法,目前普遍使用的血清学方法之一是 IgG 捕获 BED 酶联免疫法(BED-CEIA)。2001年,美国疾病预防控制中心(CDC)艾滋病免疫和诊断室评估了16种基于不同抗体和原理的 HIV-1 新近感染检测方法,发现新近感染者与既往感染者相比,各种抗体滴度均较低;其中 gp41 抗体滴度在新近感染者和既往感染者中的差别最大,两者的滴度区间几乎没有重叠,新近感染者的 gp41 抗体亲和力低于既往感染者,从而认为 gp41 抗体能够区分新近感染者和既往感染者,并且酶联免疫实验操作相对简单、效果也较理想,因此该室着手开发基于 gp41 抗体的 HIV-1 新近感染检测的酶联免疫方法^[1]。2002年, Parekh 等^[2]首次系统地介绍 BED-CEIA,他们依据人体感染 HIV-1 后,体内 HIV-1 特异 IgG 占人体总 IgG 的比例随感染时间增长而逐渐上升的原理,采用酶联免疫吸附方法设计出 BED-CEIA,以区分新近感染者和既往感染者,这种方法采用 HIV-1 特异的 B、E 和 D 亚型 gp41 抗原决定序列所合成的分支肽,因此命名为 BED-CEIA。至今世界上已有多个国

家对这种方法进行检验或应用^[2-23],但是结论或效果不尽相同。本文从实验室性能、诊断实验主要评价参数和 BED 与队列所得率的比较三个方面系统评价 BED-CEIA 估计 HIV-1 新近感染率的有效性,并从计算公式和受检群体两个方面分析影响其有效性的因素。

一、BED-CEIA 的有效性

1. 评价指标:共有5项(表1)。^①操作者间相关系数 R^2 用于评价不同操作者对同一样本进行 BED-CEIA 实验的可重复性。美国 CDC 和中国 CDC 的不同实验员间 BED-CEIA 实验的相关系数均在 0.9 以上,结果比较理想,由于酶联免疫法是艾滋病实验室应用最普遍的方法之一,因此有经验的实验员经过操作培训后可以掌握 BED-CEIA 的标准操作。^②初筛与确认实验间的相关系数 R^2 用于评价初筛和确认实验结果的一致性,其中美国 CDC、印度 CDC 和中国 CDC 参比室、中国省级实验室 A 和实验室 B 的初筛和确认实验结果的相关系数均在 0.9 以上。美国 CDC 提出增加确认实验步骤的目的是为了增加 BED-CEIA 的灵敏度(Se)和特异度(Sp)^[3],但是初筛和确认实验结果高度一致,因此确认实验不能从根本上改善 BED-CEIA 的灵敏度和特异度。另外, BED-CEIA 的开发者曾提出使用亲和力实验等作为 BED-CEIA 的串联实验,以期得到较高的预测值,但是这些方法尚不成熟,仍在开发中^[24]。因此,目前 BED-CEIA 的确认实验可能是暂时的替代策略。^③变异系数(CV)用于评价对不同抗体滴度血清 BED-CEIA 测量值的离散程度(信度)。表1中,美国 CDC、印度 CDC、中国 CDC 参比室、中国省级实验室 A 和实验室 B 的结果都显示强阳性质控品(HPC)、校准品(CAL)和弱阳性质控品(LPC)血清标化吸光度(A_n)值的 CV(5%~15%)均小于粗吸光度(A)值的 CV(6.1%~20%),这说明粗 A 进行标化后测量值的集中度有所提高,标化是必要的。中国省级实验室 B 的 A 和 A_n 值的 CV 均大于其他实验室的数据,这说明条件较差的实验室使用 HPC、CAL 和 LPC 进行 BED-CEIA 实验时测量值信度较差。^④几个实验室中阴性对照(NC)的 CV(14.4%~31.0%)普遍较大,这说明使用低抗体滴度的标本进行实验的信度不高。^⑤无效实验次数/总实验次数反映无效实验出现的频率。美国 CDC 的 144 块板中有 1 块无效板,中国 CDC 参比室的 59 块板中没有无效板,中国省级实验室 A 的 35 块板中有 1 块无效板,中国省级实验室 B 的 18 块板中有 2 块无效板。以上数据说明 BED-CEIA 的实验性能较好,但在实际操作中,可能由于实验室条件的差异会造成实际应用效果有所差异。

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2010.09.023

基金项目:科技部传染病重大专项(2008ZX10001-003)

作者单位:100730 北京协和医学院(马文娟);中国疾病预防控制中心性病艾滋病预防控制中心(马文娟、汪宁)

通信作者:汪宁, Email: wangnbj@163.com

表 1 BED-CEIA 实验稳定性和可重复性研究的文献参数

文 献	操作者间 相关系数 R ²	初筛实验与确认实验间 相关系数 R ²	CV%(HPC、CAL、LPC)		CV%(NC) An	无效实验次数/ 总实验次数
			粗 A(%)	An(%)		
Dobbs 2004 ^[1]	>0.9	0.9200	10 ~ 15	5.0 ~ 10.0	27.2	1/144
王慧杰 2007 ^[12]	0.9777	0.9550*	10 ~ 15	<6	14.4	0/59
		0.9404*	<20	<15	31.0	2/18
Lakshmi 2009 ^[14]	-	0.9096	6.0 ~ 12.9	7.2 ~ 7.3	-	-

注: * 为中国 CDC 参比室实验结果; † 为中国省级 A 实验室结果; ‡ 为中国省级 B 实验室结果

2. 诊断实验主要评价参数:

(1) Se 和 Sp: BED-CEIA 使用的 cutoff 值主要为 1.0 和 0.8, 还有一项研究得出的 cutoff 值为 0.5, 相同 cutoff 值研究得出的 Se 和 Sp 差别较大。在 cutoff 值为 1.0 的研究中, Se 最高为 85.7%, 最低为 81.7%, Sp 最高为 98.3%, 最低为 48.2%; cutoff 值为 0.8 的研究中, Se 最高为 100%, 最低为 65.1%, Sp 最高为 100%, 最低为 62.6%; cutoff 值为 0.5 的研究中, Se 为 87.2%, Sp 为 80.8%。Se 和 Sp 是评价诊断实验真实性的主要指标, 以上数据说明这两个参数值不够理想, 并且使用严格的 cutoff 值并不能明显改善这两个参数(表 2)。

(2) 预测值: Parekh 等^[2]的研究中阳性预测值 (PPV) 随新近感染标本数占 HIV-1 阳性标本数比例 (P_{inc}) 的增加而增加, P_{inc} 升至 1% 以上时 PPV 上升至 0.8 ~ 1.0; 阴性预测值 (NPV) 随 P_{inc} 的增加而下降, P_{inc} 升至 60% 以上时 NPV 降至 0 ~ 0.8; P_{inc} 在 1% ~ 60% 时, PPV 和 NPV 在 0.8 以上, P_{inc} < 1% 和 P_{inc} > 60% 时 PPV 和 NPV 都低于 0.8。Loschen 等^[22]的研究中 Se 为 81.0%, Sp 为 85.0%, 得出的 PPV 为 81%, NPV 为 85%。预测值反映诊断实验结果的可应用程度, 与 Se、Sp 和阳性标本占受检标本的比例有关。若 Se 和 Sp 不高, 预测值很可能也不高。由前文对 Se 和 Sp 的评估可知这两个参数值差异较大,

Parekh 等^[2]和 Loschen 等^[22]研究获得的预测值尚可, 但对于 Se 和 Sp 相对较低的其他研究, BED-CEIA 的预测值则偏低。在考察了多个国家应用 BED-CEIA 的效果之后, 联合国艾滋病规划署 (UNAIDS)^[25]在 BED-CEIA 的推广指南中指出 BED-CEIA 预测值不高, 因此不推荐将 BED-CEIA 用于个体诊断实验。

3. BED-CEIA 与队列随访所得 HIV-1 新近感染率的比较: 队列随访是获取 HIV-1 新近感染率的经典方法。尽管队列随访方法获得新近感染率存在一定的缺陷 (如受随访率影响等)^[18, 26], 但队列随访仍为 BED-CEIA 有效性评价的不可替代的方法。美国亚特兰大的研究结果显示 BED-CEIA 所得的 HIV-1 新近感染率低于同期队列随访结果^[4]。美国 CDC 使用艾滋病疫苗实验的安慰剂对照组人群队列中的 HIV-1 阳性血清进行 BED-CEIA, 检出 120 例新近感染者, 而实际新近感染人数为 127 例, 新近感染率估计区间有一定的交叉^[5]。Parekh 等^[2]在开发 BED-CEIA 时使用来自美国和泰国的血清标本, 并且应用研究所得最优 cutoff 值对泰国血清标本进行检测, 发现 BED-CEIA 得出的 HIV-1 新近感染率是实际新近感染率的 89.1%。随后他们又对泰国注射吸毒者 (IDU) 人群进行横断面调查, 对 HIV-1 抗体阳性血清进行

表 2 BED-CEIA 研究的相关参数

文 献	研究对象来源	HIV-1 亚型	研究对象数	检测血样数	cutoff 值	w (d)	Se (%)	Sp (%)
Parekh 2002 ^[2]	美国	B	49	104	1.0	186	81.7	89.1
	泰国	B	18	104				
	泰国	CRF01_AE	72	414	1.0	152	-	95.6
	美国艾滋病期患者	B	334	334				
	泰国艾滋病期患者	B	7	7				
	泰国艾滋病期患者	E	115	115				
美国 HIV 感染时间 > 1 年者	B	178	178	1.0	160	-	98.3	
McDougal 2006 ^[4]	北美、荷兰	B	-	1711	0.8	153	76.8	72.3 ^a 、94.4 ^c
	北美、荷兰艾滋病疫苗实验者	B	64	353	0.8	133	94.5	-
Sakarovitch 2007 ^[18]	科特迪瓦	CRF02_AG	79	135	1.0	160	85.7	48.2 ^a 、88.6 ^c
Schupbach 2007 ^[21]	瑞士	非 B	748	748	0.8	153	65.1	80.1
Karita 2007 ^[15]	赞比亚	C	26	117	0.5	80	87.2	80.8
	卢旺达	A1	15	72				
	赞比亚	C	26	117	0.8	153	81.5	71.0
	卢旺达	A1	15	72				
	肯尼亚、乌干达	AD	-	617				
Xiao 2007 ^[11]	中国 IDUs	B/B' C	225	225	0.8	153	100.0 ^a	-
	中国 IDUs HIV 感染时间 > 2 年者	B/B' C	300	300	0.8	153	-	93.4
Loschen 2008 ^[22]	德国	B	81	148	0.8	140	81.0	85.0
Lakshmi 2009 ^[14]	印度艾滋病晚期患者	C	25	25	0.8	155	-	100.0 ^a
Hargrove 2008 ^[19]	津巴布韦	C	234	234	0.8	187	-	-

注: w 为窗口期; ^a 代表 29 名新近感染者都被正确判为新近感染者; ^b 特异度 1 (感染时间 1 ~ 2 w); ^c 特异度 2 (感染时间 > 2 w); ^d 代表 25 名既往感染者都被正确判为既往感染者

BED-CEIA 检测,新近感染率(100 人年)为 17.3,而该队列随访获得的 HIV-1 新近感染率为 9.0^[8]。以上两项研究都使用了来自泰国的标本,结果出现了高估和低估。非洲的研究显示应用 BED-CEIA 估计 HIV-1 新近感染率时普遍存在高估^[15,17,18]。非洲乌干达马萨卡和卡基拉的血液标本经 BED-CEIA 检测得到新近感染率(100 人年)分别为 6.1 和 6.0,而同期队列随访所得的新近感染率(100 人年)分别 1.7 和 1.4, BED-CEIA 所得新近感染率大约为队列随访结果的 6 倍^[15]。中国北京(男男性接触者)MSM 人群 BED-CEIA 新近感染率与美国 MSM 人群同期队列结果近似^[13]。由中国新疆 IDU 人群横断面抽样调查所得的 BED-CEIA 新近感染率(100 人年)为 8.2,同期队列所得新近感染率为 8.8, BED-CEIA 结果略低于队列结果^[11]。印度的研究结果显示 BED-CEIA 所得的 HIV-1 新近感染率高于同期队列随访结果^[14]。由以上数据可得,美国报道的数据多存在低估,而非洲多存在高估,亚洲既存在低估又存在高估,低估和高估程度不一。任何诊断实验都不可能与真实值完全一致,一定程度的低估或高估是可以接受的,不过 BED-CEIA 出现 6 倍高估是不正常的。

二、BED-CEIA 有效性的影响因素

影响 BED-CEIA 效果的因素较多,现从计算公式和受检群体两方面进行分析。

1. 计算公式: BED-CEIA 估计 HIV-1 新近感染率的基本校正公式为^[2]:

$$I_c = \frac{F \cdot 365/w \cdot N_{nc}}{N_{ng} + F \cdot 365/w \cdot N_{nc}/2} \times 100$$

$$F = \frac{P_i}{P_o} = \frac{P_i + Sp - 1}{P_o \cdot (Se + Sp - 1)}$$

其中 I_c 为 BED 估计 HIV-1 新近感染率, N_{nc} 为 BED 判为新近感染数, F 为校正因子, N_{ng} 为 HIV 阴性数, P_i 为 HIV-1 新近感染者占总 HIV-1 感染者的真实比例, P_o 为 BED 判为新近感染者数占总 HIV-1 感染者的比例。

从公式可以看出,影响 I_c 最基本的参数是 w 、 Se 和 Sp , 其影响因素如下:

(1) 窗口期和新近感染的定义: 不同实验室对窗口期及新近感染的定义不同会影响这几个参数的值。多数研究将 BED-CEIA 的窗口期定义为血清 HIV 抗体阳转至 HIV 特异 IgG 抗体占总 IgG 的比例上升至 BED-CEIA 能够检测到 cutoff 值的这段时间^[24], 通常新近感染是指感染时间在 6 个月之内^[2]。瑞士对新近感染的定义是^[21]: 就医诊断时有 HIV 早期感染症状, 或者在就医诊断时自报或档案记录显示就医 12 个月之内为抗体阳性, 或者就医诊断之前 12 个月内检测结果为阴性而就诊时实验室结果为抗体阳性; 以上 3 种情况只要满足其一就归入新近感染。窗口期的长短与 BED-CEIA 判为新近感染的 cutoff 值密切相关, 30 d 的差别即可以使检测结果跨过 cutoff 值^[2], 并且窗口期长短直接影响 HIV-1 新近感染率的计算结果。如果以多数研究的定义为新, 那么 6~12 个月内的感染者就应该是既往感染者, 而不是瑞士定义的新近感染者。在窗口期定义不一致的前提下, 该研究仍然以 0.8 为 cutoff 值, 以 153 d 为窗口期, 得出的 Se

只有 65.1%, 低于其他研究结果。其原因可能是该研究将感染时间为 6~12 个月者当作新近感染者, 而 BED-CEIA 并没有将之检测出来, 导致 Se 降低。李洪等^[10]使用微量凝胶颗粒凝集实验(PA-LS)和 BED-CEIA 测量同批样品, 两者检测结果的一致性较差($Kappa$ 值为 0.35), 尤其是对新近感染血样的检测结论差别较大。PA-LS 是以凝胶颗粒为抗原吸附载体的低敏实验, 经过对 309 份 B 亚型血清的测验, 其窗口期为 190 d, Se 为 97.1%, Sp 为 96.6%^[27], 因此 BED-CEIA 与 PA-LS 一致性较差的原因之一可能是窗口期定义不一致^[10]。因此, 在应用 BED-CEIA 时应注意使用统一的新近感染和窗口期定义。

(2) 实验参数的获取: 表 2 中, cutoff 值有 1.0、0.8 和 0.5 三个界值, 对应相同的 cutoff 值, w 、 Se 和 Sp 不尽相同。由于 w 、 Se 和 Sp 是通过受试者工作特征曲线(ROC 曲线)获得, 不同人群获得的参数值不同^[28], 并且 cutoff 值涉及到实验的可操作性, 那么对于 w 、 Se 和 Sp 不同的人群, 在差异可耐受的前提下可以选择相同的 cutoff 值。因此, 以下讨论以 w 、 Se 和 Sp 获取的影响因素为主: ①血清阳转时间的不确定性: 在获取实验参数时, 如果所使用血清的阳转时间与实际值相差过大, 就会得出不恰当的参数值, 从而影响实验的准确度。Parekh 等^[2]研究显示, 最后一次抗体检测结果呈阴性的时间至首次抗体检测结果呈阳性的时间间隔落在窗口期内的概率越大, BED-CEIA 误差越小, 反之亦然。这一概率实质上是指血清阳转时间的不确定性, 即窗口期估计的可信度随血清阳转时间的不确定性而下降^[19]。在研究中, 研究对象往往不能准确提供其血清抗体阳转时间, 因此研究者只能使用估计数据, 从而导致偏差^[20]。② HIV-1 亚型: 不同亚型标本使用相同 cutoff 值进行 BED-CEIA 获得的 w 、 Se 和 Sp 不尽相同(表 2)。亚型对 BED-CEIA 有影响的原因可能是不同亚型的 HIV-1 感染者体内抗体生成速度不同以及不同亚型的 gp41 抗体对 BED 合成肽的反应不同, 确切原因尚待研究。

在评估检测 HIV-1 新近感染的 16 种方法时, Parekh 等^[11]使用来自 20 名 HIV 新近感染者(血清阳转时间为 2~6 个月)和 21 名既往感染者(感染时间 > 1 年)提供的 41 份血清样本作为实验材料, 得出抗体滴度在新近感染者低于既往感染者的结论。但是该研究缺少血清阳转时间在 6 个月至 1 年的血清抗体滴度的测量数据, 更没有考察不同亚型以及其他不同生物学特征感染者体内抗体生成速度是否相同。Hu 等^[29]的研究显示感染时间在 3 个月内的 E 亚型 HIV-1 的感染者体内病毒 RNA 水平显著高于 B 亚型感染者。B 亚型感染者体内较低的病毒载量可能导致其体内抗体生成速度较慢, 从而导致 B 亚型感染者血清抗体阳转时间长于 E 亚型感染者^[2]。泰国的研究显示 B 亚型对同型肽的亲性和性低于 E 亚型^[30]。Parekh 等^[2]以 6 名 B 亚型感染者和 6 名 E 亚型感染者的血清为实验标本, 测量这两种亚型血清对同型/异型 gp41 肽和 BED gp41 合成肽的亲合力, 发现同型血清对同型 gp41 肽的亲合力高于异型肽, 1 份 E 亚型血清对 BEDgp41 合成肽的亲合力高于 B 亚型血清。由泰国和 Parekh 等的研究结果可以推测 B 亚型血清对反应肽的亲性和性可能低于 E 亚型, 但该

两项研究只对 B、E 两种亚型进行了评估,且样本量较小,因此得出明确的结论需要多亚型、大样本量的进一步验证。

就 B 亚型而言,低敏酶联免疫检测法(3A11-LS)的检测效果较好^[31],BED-CEIA 检测结果与 3A11-LS 检测结果比较一致^[2],说明 BED-CEIA 用于检测 B 亚型效果较理想,但是不能证明其对其他亚型的效果,并且实践证明 BED-CEIA 在非 B 亚型为主的非洲国家^[15,17,18]、泰国^[6]和印度^[14]均存在高估。Karita 等^[15]的研究显示 C 亚型和 A1 亚型的假阳性率不同,分别为 30.4%(7/23)和 57.1%(8/14)。Parekh 等^[2]研究显示, B 亚型和 E 亚型 HIV-1 阳性血清的 BED-CEIA 测量值(A_n 值)低于 1.0(cutoff 值)的概率随血清阳转时间延长而下降,血清阳转第一天所对应的 A_n 值低于 1.0 的概率为 100%,至 B 亚型血清 BED 窗口期(186 d)和 E 亚型血清 BED 窗口期(152 d)时,概率降低至 60%~70%和 40%~50%,即 BED-CEIA 的假阴性率随感染时间的延长而增加,且 B 亚型和 E 亚型血清假阴性率的变化程度有一定差异。

(3)校正公式:除 BED-CEIA 基本的校正计算公式^[2]外,还有 McDougal 公式^[5]、Hargrove 公式^[19]、McDougal 简化公式^[32]和 McWalter/Welte 公式^[33]。Brookmeyer^[34,35]和 Welte 等^[36]均认为 McDougal 校正公式及 Hargrove 校正公式存在错误,其最根本的错误在于公式本身和参数值的错误。计算公式需要校正^[36-38],但是使用基本校正公式以外的其他校正公式是否必要尚需考察。因为无论使用哪种校正公式均以 w 、 Se 和 Sp 为基础,使用基本校正公式和恰当的参数值应该能够得到相对真实的结果。衡量公式正确性最直接的指标是 BED-CEIA 新近感染率与队列随访新近感染率之间的差别,前文已述 BED-CEIA 新近感染率存在低估和高估的情况,并且在非洲、泰国等国出现了较大程度的高估,而实践证明 McDougal 校正公式和 Hargrove 校正公式并非普遍有效^[14,15,39]。考虑到 BED-CEIA 由美国 CDC 开发并最早应用,虽然开发时同时使用了泰国标本,并对肯尼亚的标本进行了检验,但受检样本量不够大,可能导致检验效率不足,因此使用基于本地人群的公式参数可能比改进计算校正公式本身更为重要。

除基本校正公式外的 4 个校正公式都是建立在一定的假设上,比如 McDougal 公式有 3 个假设(目标人群中新近感染者随机分布于窗口期内,窗口期为 $1 \sim 2w$ 内感染者数与 $\leq 1w$ 内感染者数相等,其余的感染者血浆阳转时间均 $> 2w$)^[5],McDougal 公式简化公式假定 $Se - Sp_1 + Sp_2 = 1$ 等^[32],而目前假阳性率随感染时间的变化特点尚不明确,以上假设并不一定符合实际。

另外,Perakh 等^[2]认为在能够得到正确 P_{inc} 的人群中, BED-CEIA 的假阳性数与假阴性数相近,两者可以相互抵消,因此能够得出正确的新近感染率。但是假阳性数与假阴性数受 Se 、 Sp 和 P_{inc} 的影响,若要求假阳性数与假阴性数相等,则 Se 和 Sp 必须随 P_{inc} 的不同而改变,而在实际应用中 P_{inc} 一般是未知的,不同受检人群中 P_{inc} 往往不同,因此很难做到 Se 和 Sp 随 P_{inc} 的不同而改变,实践中 BED-CEIA 出现低估或高估的情况也证明了该假设的不确定性。尽管如此, BED-CEIA 的结果仍然可用,因为根据 BED-CEIA 结果分析

所得新近感染者高危因素及变化趋势的结论与同期队列研究的结果或其他研究的结果相似^[6,8,16]。因此在使用 BED-CEIA 估计新近感染率时,应当更加关注结果所反映的新近感染者的高危因素及变化趋势等规律,而不是新近感染率数字本身。

2. 受检群体:根据诊断实验统计学理论,实验的准确性可随检测人群中阳性标本占受检总 P_{inc} 的不同而变化^[28],实践中 BED-CEIA 结果对队列结果的低估或高估也提示需要使用本地参数。另外,研究表明 gp41 抗体的亲和力随感染时间的增加而增加,且 gp41 抗体亲和力不受抗病毒治疗、合并感染等因素的影响,而抗体含量则会因机体免疫功能、病毒载量等的改变而变化^[1,40,41],并且不同人群 gp41 抗体生成动力学过程是否相同尚待研究。因此受检群体因素影响 BED-CEIA 有效性的原因可能主要是不同受检人群中 P_{inc} 及 gp41 抗体生成动力学过程不同。

(1) HIV-1 累计感染率:McDougal 等^[5]的研究显示,随 HIV-1 感染率的增高, BED-CEIA 对新近感染率的高估程度逐渐增加。Sakarovitch 等^[18]研究显示,相同 HIV-1 累计感染率的前提下,新近感染率越低, BED-CEIA 对新近感染率的高估程度越重;相同新近感染率的前提下, HIV-1 累计感染率越高, BED-CEIA 对新近感染率的高估程度越重,即 HIV-1 累计感染率与新近感染率相差越大, BED-CEIA 对新近感染率的高估程度越重。

(2) 艾滋病流行时间:Hallett 等^[42]对 6 个非洲国家 1995—2005 年的数据进行研究,发现 6 个国家的既往感染者数日均在增加,既往感染者占总感染者的比例在艾滋病流行时间较长、疫情比较稳定的国家(如乌干达)高于新近流行的国家(如莱索托),而随着既往感染者比例的增加, BED-CEIA 评价新近感染率的假阳性率也随之增加。乌干达利用 BED-CEIA 估计 HIV-1 新近感染率的结果是同期队列所得结果的 6 倍^[15],可能就是由于乌干达属于艾滋病流行时间比较长的国家,因此既往感染者比例较大,导致假阳性率较高。

(3) 人种:McDougal 公式的参数主要由白人样本(83%)得出^[5],而非洲实践证明了它的无效性^[15,39]。McGowan 等^[43]研究显示 HIV 感染者中,黑人体内的总 IgG 水平要高于白人,而不同人种 gp41 抗体生成动力学过程是否相同尚待研究,黑人和白人体内的 gp41 抗体占总 IgG 抗体的比例可能不同,因此人种差别对 BED-CEIA 的影响不能排除。

(4) 性别:Karita 等^[15]的研究结果显示,男性、女性的窗口期分别为 123.2 和 210.8 d, Se 分别为 82.5%和 80.5%, Sp 分别为 77.5%和 60.9%。男女窗口期相差 87.6 d, Se 相差 2.0%, Sp 相差 16.6%,文献中没有对男女的差异进行统计学检验,但可以直观地看出, w 和 Sp 的差别比较大。McDougal 公式的参数主要由男性样本(94%)得出,该文并没有给出能够证明该参数适用于女性样本的证据^[5]。

(5) 年龄:Hallett 等^[42]对 6 个非洲国家 1995—2005 年的数据进行研究,发现在流行早期,各年龄段人群感染时间的分布相似,但是随着流行时间延长,年轻人中的新近感染更多;对 2005 年 6 个非洲国家的数据进行研究,发现 6 个国家

15~24 岁年龄组中的假阳性率比较稳定(约为 5%),而 25~39 岁组人群中的假阳性率明显升高,其中乌干达 25~39 岁组人群中的假阳性率高达 30%,年龄对 BED-CEIA 的影响可能是由于不同年龄组中既往感染者的比例不同所致。

(6) 病毒载量与接受抗病毒药物治疗: Hayashida 等^[40]发现 1 名未接受抗病毒治疗的既往 HIV 感染者 BED-CEIA 的测量值 $An < 0.447$, 被误判为新近感染者, 并且病毒载量低于检测限 (< 50 copies/ml); 7 名接受抗病毒治疗、病毒载量低于检出限 2 年以上的 HIV-1 感染者 BED-CEIA 的测量值 An 都低于 1.0, 也低于未接受抗病毒治疗的既往感染者, 其中 5 名被误判为新近感染者; 3 名未接受抗病毒治疗的新近感染者, 随着感染时间增加其 An 值上升缓慢, 直至感染时间超过 1 年以上仍被误判为新近感染者, 其平均病毒载量 < 2800 copies/ml; 4 名接受抗病毒治疗的新近感染者, 经过首个疗程的治疗后, 病毒载量急剧下降同时 An 值始终保持较低水平 (< 0.2), 当病毒载量低于检出限后停止抗病毒治疗 26 d, An 值增高至 0.76, 开始第二疗程后, 病毒载量和 An 值同时出现下降; 经过以上观察, 该研究推测抗病毒治疗会造成 An 值的急剧下降, 抗病毒治疗可能影响 An 值。Karita 等^[15] 研究显示 BED-CEIA 假阳性者体内的病毒载量低于真阳性者 ($P = 0.02$), 病毒载量与假阳性相关; 3 名接受抗病毒治疗的感染者 BED 的 An 值低于未接受治疗前。而在未接受抗病毒治疗的 B 亚型 HIV-1 感染者中也存在低病毒载量者, 并且其血浆 HIV 特异 IgG 水平较低, 甚至低至无法检出^[41], 非 B 亚型 HIV-1 感染者中也有类似情况者^[45]。Laeyendecker 等^[46] 研究显示 10 名病毒复制受抑制的既往感染者通过 Vironostika-LS EIA 方法进行检测, 误判为新近感染, 但通过亲和力和实验检测, 正确地判为既往感染者, 从而认为病毒载量对横断面新近感染率检测实验的影响是基于抗体滴度而不是抗体亲和力。因此病毒载量可能是影响 BED-CEIA 有效性的间接因素, 而 gp4 抗体滴度才是直接因素。美国能够利用 BED-CEIA 检测 HIV-1 新近感染率, 很大程度上得益于美国完善的以病例为基础的艾滋病报告系统 (Case-based Surveillance System), 它能够提供个体感染时间、是否受抗病毒治疗或者患有合并感染等的相关信息, 能够尽可能地排除影响 BED-CEIA 有效性的因素^[47]。Loschen 等^[22] 研究显示病毒载量与假阳性率无关, 但是该研究使用了严格的研究对象纳入标准 (第一, 最后一次 HIV 抗体检测阴性与第一次 HIV 检测阳性时间间隔小于 3 个月或第一次检测出抗体阳性; 第二, 未接受抗病毒治疗; 第三, 无艾滋病相关疾病; 第四, 属于 B 亚型 HIV-1 感染)。这样严格的纳入标准尽可能地排除了既往感染者、接受抗病毒治疗者和合并感染者, 因此该研究的结论可能存在偏差。

(7) 感染者 HIV 感染时间和病程: Parekh 等^[2] 研究显示, 进入艾滋病期的 HIV-1 感染者中 BED-CEIA 假阳性率高于感染时间超过 1 年但未进入艾滋病期者 (4.38% 对应 1.69%)。McDougal 等^[5] 研究发现 HIV 感染时间为 6~12 个月的感染者与超过 12 个月的感染者相比, 利用 BED-CEIA 进行检测的 Sp 较低, 前者为 72.3%, 后者为 94.9%; Sakarovitch

等^[18] 的研究也有类似的结论; Parekh 等^[2] 和 Xiao 等^[11] 对感染时间超过 12 个月的感染者进行 BED-CEIA 实验也获得了很高的 Sp。而 Hargrove 等^[19] 研究得出相反的结论, 认为感染时间超过 12 个月的感染者被 BED-CEIA 误判为新近感染的概率较大, 并强调需要对感染时间超过 12 个月的感染者的误分率进行校正, 并提出了 Hargrove 公式。UNAIDS^[25] 提出 BED-CEIA 需要排除艾滋病期感染者, 但是 Parekh 等^[2] 和 Lakshmi 等^[14] 对于进入艾滋病期的感染者进行 BED-CEIA 实验均得到了较高的 Sp, Sakarovitch 等^[18] 利用 BED-CEIA 对 15 名艾滋病期患者进行检测, 正确判为阴性。鉴于现有研究结果不一致, 结合前文对病毒载量和抗病毒治疗影响的分析, HIV-1 感染时间和病程可能也是 BED-CEIA 的间接影响因素, 由于受到 gp41 抗体生成动力学过程这个直接因素和接受抗病毒治疗等其他因素的影响, 造成不同研究出现了不一致的结论。

(8) 高 γ 球蛋白血症和合并感染: 研究表明, 患高 γ 球蛋白血症的 HIV 感染者和合并感染者利用 BED-CEIA 进行检测, 均存在误判为新近感染者的情况^[47]。某些进入艾滋病期和合并感染的 HIV 感染者患有高 γ 球蛋白血症的同时, 外周免疫球蛋白分泌细胞数目增加, 其体内的 γ 球蛋白含量高于一般 HIV 感染者^[48], 但是其体内 gp41 抗体占总 IgG 的比例是否低于一般 HIV 感染者以及被误判的机制尚待研究。

综上所述, BED-CEIA 的实验性能尚可, 但在实际操作中, 可能由于实验室管理条件的差异而造成实际应用效果有所差异, 确认实验尚待改进; 计算公式使用基本校正公式即可, 但需要考虑适合本地人群的参数来进行校正; BED-CEIA 的有效性受多种人群因素影响, 影响机制尚待研究。另外, BED-CEIA 对群体的结果存在对新近感染率的低估或高估, 但是用于寻找新近感染的相关因素及进行新近感染率趋势分析是可行的。UNAIDS 提出此方法是只适用于群体水平上估计 HIV-1 新近感染率, 而笔者认为在有详尽的流行病学信息背景的前提下, 该方法也可以应用于个体, 可将该实验作为 HIV-1 新近感染诊断的辅助性工具。

参 考 文 献

- [1] Parekh BS, Pau CP, Kennedy MS, et al. Assessment of antibody assays for identifying and distinguishing recent from long-term HIV type 1 infection. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2001, 17(2): 137-146.
- [2] Parekh BS, Kennedy MS, Dobbs T, et al. Quantitative detection of increasing HIV type 1 antibodies after seroconversion: a simple assay for detecting recent HIV infection and estimating incidence. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2002, 18(4): 295-307.
- [3] Dobbs T, Kennedy S, Pau CP, et al. Performance characteristics of the immunoglobulin G-capture BED-enzyme immunoassay, an assay to detect recent human immunodeficiency virus type 1 seroconversion. *J Clin Microbiol*, 2004, 42(6): 2623-2628.
- [4] Nesheim S, Parekh B, Sullivan K, et al. Temporal trends in HIV type 1 incidence among inner-city childbearing women in Atlanta: use of the IgG-capture BED-enzyme immunoassay. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2005, 21(6): 537-544.
- [5] McDougal JS, Parekh BS, Peterson ML, et al. Comparison of HIV type 1 incidence observed during longitudinal follow-up with incidence estimated by cross-sectional analysis using the BED capture enzyme immunoassay. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2006, 22(10): 945-952.
- [6] Hall HI, Song R, Rhodes P, et al. Estimation of HIV incidence in the United States. *JAMA*, 2008, 300(5): 520-529.

- [7] Gupta SB, Murphy G, Koenig E, et al. Comparison of methods to detect recent HIV type 1 infection in cross-sectionally collected specimens from a cohort of female sex workers in the Dominican Republic. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2007, 23 (12) : 1475-1480.
- [8] Hu DJ, Vanichseni S, Mock PA, et al. HIV type 1 incidence estimates by detection of recent infection from a cross-sectional sampling of injection drug users in Bangkok: use of the IgG capture BED enzyme immunoassay. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2003, 19(9) : 727-730.
- [9] Saphorn V, Parekh BS, Dobbs T, et al. Trends of HIV-1 seroincidence among HIV-1 sentinel surveillance groups in Cambodia, 1999-2002. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2005, 39(5) : 587-592.
- [10] Li H, Lu L, Jia MH, et al. The comparing research of between the BED-CEIA and the PA-LS to detect the HIV-1 recent infection. *J Dermatol Venereol*, 2007, 29(3) : 1-3. (in Chinese)
李洪, 陆林, 贾曼红, 等. BED-CEIA 与 PA-LS 检测 HIV-1 近期感染的比较性研究. *皮肤病与性病*, 2007, 29(3) : 1-3.
- [11] Xiao Y, Jiang Y, Feng J, et al. Seroincidence of recent human immunodeficiency virus type 1 infections in China. *Clin Vaccine Immunol*, 2007, 14(10) : 1384-1386.
- [12] Wang MJ, Jiang Y, Han M, et al. An assessment of the performance of BED-CEIA, an assay to detect recent HIV-1 infection. *Chin J AIDS STD*, 2007, 13(4) : 305-307, 310. (in Chinese)
王慧杰, 蒋岩, 韩梅, 等. 检测 HIV-1 新近感染的 BED 捕获酶联免疫实验的重复性和稳定性评价. *中国艾滋病性病*, 2007, 13(4) : 305-307, 310.
- [13] Li SW, Zhang XY, Li XX, et al. Detection of recent HIV-1 infections among men who have sex with men in Beijing during 2005 - 2006. *Chin Med J (Engl)*, 2008, 121(12) : 1105-1108.
- [14] Lakshmi V, Sudha T, Dandona R, et al. Application of human immunodeficiency virus type 1 BED enzyme immunoassay on dried blood spots in India. *J Med Microbiol*, 2009, 58(Pt 3) : 312-317.
- [15] Karita E, Price M, Hunter E, et al. Investigating the utility of the HIV-1 BED capture enzyme immunoassay using cross-sectional and longitudinal seroconverter specimens from Africa. *AIDS*, 2007, 21(4) : 403-408.
- [16] Memmin J, Musinguzi J, Opio A, et al. Risk factors for recent HIV infection in Uganda. *JAMA*, 2008, 300(5) : 540-549.
- [17] Wolday D, Meles H, Hailu E, et al. Temporal trends in the incidence of HIV infection in antenatal clinic attendees in Addis Ababa, Ethiopia, 1995-2003. *J Intern Med*, 2007, 261(2) : 132-137.
- [18] Sakarovich C, Rouet F, Murphy G, et al. Do tests devised to detect recent HIV-1 infection provide reliable estimates of incidence in Africa? *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2007, 45(1) : 115-122.
- [19] Hargrove JW, Humphrey JH, Mutasa K, et al. Improved HIV-1 incidence estimates using the BED capture enzyme immunoassay. *AIDS*, 2008, 22(4) : 511-518.
- [20] Rehle T, Shisana O, Pillay V, et al. National HIV incidence measures—new insights into the South African epidemic. *S Afr Med J*, 2007, 97(3) : 194-199.
- [21] Schupbach J, Gebhardt MD, Tomasik Z, et al. Assessment of recent HIV-1 infection by a line immunoassay for HIV-1/2 confirmation. *PLoS Med*, 2007, 4(12) : e343.
- [22] Loschen S, Batzing-Feigenbaum J, Poggensee G, et al. Comparison of the human immunodeficiency virus (HIV) type 1-specific immunoglobulin G capture enzyme-linked immunosorbent assay and the avidity index method for identification of recent HIV infections. *J Clin Microbiol*, 2008, 46(1) : 341-345.
- [23] Batzing-Feigenbaum J, Loschen S, Gohlke-Micknis S, et al. Country-wide HIV incidence study complementing HIV surveillance in Germany. *Euro Surveill*, 2008, 13(36) : 1-4.
- [24] Parekh BS, McDougal JS. Application of laboratory methods for estimation of HIV-1 incidence. *Indian J Med Res*, 2005, 121(4) : 510-518.
- [25] UNAIDS Reference Group on estimates, modelling and projections—statement on the use of the BED assay for the estimation of HIV-1 incidence for surveillance or epidemic monitoring. *Wkly Epidemiol Rec*, 2006, 81(4) : 40.
- [26] Brookmeyer R, Quinn T, Shepherd M, et al. The AIDS epidemic in India: a new method for estimating current human immunodeficiency virus (HIV) incidence rates. *Am J Epidemiol*, 1995, 142(7) : 709-713.
- [27] Li H, Ketema F, Sill AM, et al. A simple and inexpensive particle agglutination test to distinguish recent from established HIV-1 infection. *Int J Infect Dis*, 2007, 11(5) : 459-465.
- [28] Jund J, Rabilloud M, Wallon M, et al. Methods to estimate the optimal threshold for normally or log-normally distributed biological tests. *Med Decis Making*, 2005, 25(4) : 406-415.
- [29] Hu DJ, Vanichseni S, Mastro TD, et al. Viral load differences in early infection with two HIV-1 subtypes. *AIDS*, 2001, 15(6) : 683-691.
- [30] Subbarao S, Vanichseni S, Hu DJ, et al. Genetic characterization of incident HIV type 1 subtype E and B strains from a prospective cohort of injecting drug users in Bangkok, Thailand. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2000, 16(8) : 699-707.
- [31] Parekh BS, Hu DJ, Vanichseni S, et al. Evaluation of a sensitive/less-sensitive testing algorithm using the 3A11-LS assay for detecting recent HIV seroconversion among individuals with HIV-1 subtype B or E infection in Thailand. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2001, 17(5) : 453-458.
- [32] Welte A, McWalter TA, Barnighausen T. A Simplified Formula for Inferring HIV incidence from cross-sectional surveys Using a Test for Recent Infection. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2009, 25(1) : 125-126.
- [33] Barnighausen T, Wallrauch C, Welte A, et al. HIV incidence in rural South Africa: comparison of estimates from longitudinal surveillance and cross-sectional cBED assay testing. *PLoS One*, 2008, 3(11) : e3640.
- [34] Brookmeyer R. Should biomarker estimates of HIV incidence be adjusted? *AIDS*, 2009, 23(4) : 485-491.
- [35] Brookmeyer R. Response to correspondence on 'Should biomarker estimates of HIV incidence be adjusted?'. *AIDS*, 2009, 23(15) : 2066-2068.
- [36] Welte A, McWalter TA, Barnighausen T. Reply to 'Should biomarker estimates of HIV incidence be adjusted?'. *AIDS*, 2009, 23(15) : 2062-2063.
- [37] Hargrove JW. BED estimates of HIV incidence must be adjusted. *AIDS*, 2009, 23(15) : 2061-2062.
- [38] McDougal JS. BED estimates of HIV incidence must be adjusted. *AIDS*, 2009, 23(15) : 2064-2065.
- [39] Westreich D, Pettifor A, Karita E, et al. Overestimation of the South African HIV incidence using the BED IgG assay? *S Afr Med J*, 2007, 97(7) : 476, 478; author reply 478, 480.
- [40] Hayashida T, Gatanaga H, Tanuma J, et al. Effects of low HIV type 1 load and antiretroviral treatment on IgG-capture BED-enzyme immunoassay. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2008, 24(3) : 495-498.
- [41] Thomas HI, Wilson S, O'Toole CM, et al. Differential maturation of avidity of IgG antibodies to gp41, p24 and p17 following infection with HIV-1. *Clin Exp Immunol* 1996, 103(2) : 185-191.
- [42] Hallett TB, Ghys P, Barnighausen T, et al. Errors in 'BED'—derived estimates of HIV incidence will vary by place, time and age. *PLoS One*, 2009, 4(5) : e5720.
- [43] McGowan JP, Shah SS, Small CB, et al. Relationship of serum immunoglobulin and IgG subclass levels to race, ethnicity and behavioral characteristics in HIV infection. *Med Sci Monit*, 2006, 12(1) : CR11-16.
- [44] Sullivan PS, Schable C, Koch W, et al. Persistently negative HIV-1 antibody enzyme immunoassay screening results for patients with HIV-1 infection and AIDS: serologic, clinical, and virologic results. Seronegative AIDS Clinical Study Group. *AIDS*, 1999, 13(1) : 89-96.
- [45] Preiser W, Brink NS, Hayman A, et al. False-negative HIV antibody test results. *J Med Virol*, 2000, 60(1) : 43-47.
- [46] Laeyendecker O, Rothman RE, Henson C, et al. The effect of viral suppression on cross-sectional incidence testing in the Johns Hopkins hospital emergency department. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2008, 48(2) : 211-215.
- [47] Using the BED HIV-1 capture ELISA Assay to Estimate Incidence Using STARHS in the Context of Surveillance in the United States. <http://www.cdc.gov/hiv>. [2009-12-05].
- [48] Yarchoan R, Redfield RR, Broder S. Mechanisms of B cell activation in patients with acquired immunodeficiency syndrome and related disorders. Contribution of antibody-producing B cells, of Epstein-Barr virus-infected B cells, and of immunoglobulin production induced by human T cell lymphotropic virus, type III/lymphadenopathy-associated virus. *J Clin Invest*, 1986, 78(2) : 439-447.

(收稿日期: 2009-12-15)
(本文编辑: 万玉立)