

金华市抗病毒治疗失败 HIV/AIDS 病例 HIV-1 亚型及耐药分析

吴斌¹, 方琼楼¹, 朱珂²

1. 金华市疾病预防控制中心检测检验科, 浙江 金华 321002; 2. 金华市疾病预防控制中心, 浙江 金华 321002

摘要: **目的** 了解浙江省金华市抗病毒治疗失败的艾滋病病毒感染者和艾滋病患者 (HIV/AIDS) HIV-1 亚型及耐药情况, 为完善艾滋病抗病毒治疗策略提供依据。 **方法** 收集 2023 年 1 月 1 日—11 月 30 日抗病毒治疗失败 (治疗时间 > 6 个月且病毒载量 $\geq 1\ 000$ copies/mL) 的 HIV/AIDS 病例血浆样本 128 份, 经核酸提取扩增后, 采用一代测序法测定 HIV-1 *pol* 基因, 将序列导入美国斯坦福大学 HIV 耐药数据库, 分析 HIV-1 基因亚型、耐药突变及耐药情况。 **结果** 成功获取 118 例 HIV/AIDS 病例的序列, 男性 94 例, 女性 24 例, 男女比为 3.9 : 1; 年龄 40~ < 60 岁 53 例, 占 44.92%; 主要经异性性接触感染, 92 例占 77.97%。 HIV-1 亚型以 CRF07_BC 和 CRF01_AE 亚型为主, 分别 45 例和 39 例, 占 38.14% 和 33.05%。 75 例发现耐药位点突变, 突变率为 63.56%; 突变位点以 M184 和 K103 为主, 突变率分别为 29.66% 和 28.81%。 对 ≥ 1 种药物耐药 58 例, 耐药率为 49.15%; 对非核苷酸类反转录酶抑制剂 (NNRTI)、核苷酸类反转录酶抑制剂 (NRTI) 和蛋白酶类抑制剂 (PI) 的耐药率分别为 50.00%、33.90% 和 4.24%。 **结论** 金华市抗病毒治疗失败 HIV/AIDS 病例 HIV-1 基因亚型主要为 CRF07_BC 和 CRF01_AE, 主要对 NNRTI 和 NRTI 耐药。

关键词: 抗病毒治疗; 艾滋病; 基因亚型; 耐药

中图分类号: R512.91

文献标识码: A

文章编号: 2096-5087 (2024) 06-0506-04

HIV-1 subtype and drug resistance in HIV/AIDS patients who failed in antiretroviral therapy in Jinhua City

WU Bin¹, FANG Qioglou¹, ZHU Ke²

1. Department of Laboratory Testing, Jinhua Center for Disease Control and Prevention, Jinhua, Zhejiang 321002, China;

2. Jinhua Center for Disease Control and Prevention, Jinhua, Zhejiang 321002, China

Abstract: Objective To investigate HIV-1 subtypes and drug resistance in HIV/AIDS patients who failed in antiretroviral therapy in Jinhua City, Zhejiang Province, so as to provide the basis for improving antiretroviral therapy strategy. **Methods** Totally 128 plasma samples of HIV/AIDS patients who failed in antiretroviral therapy (treatment for more than 6 months and viral load $\geq 1\ 000$ copies/mL) from January 1 to November 30, 2023 were collected. After nucleic acid extraction and amplification, the sequences of HIV-1 *pol* genes were determined using first generation sequencing method, then submitted to HIV resistance database of Stanford University in the United States, and the subtypes, drug resistance mutations and drug resistance status of HIV-1 were analyzed. **Results** A total of 118 sequences of HIV/AIDS patients were obtained, including 94 males and 24 females (male to female ratio, 3.9 : 1). There were 53 cases aged between 40 to 59 years, accounting for 44.92%. The main infection routes was heterosexual contact, with 92 cases accounting for 77.97%. The main HIV-1 gene subtypes were CRF07_BC and CRF01_AE, with 45 and 39 cases accounting for 38.14% and 33.05%, respectively. There were 75 cases found to have drug-resistant site mutations, with a mutation rate of 63.56%. The most common mutation sites were M184 and K103, with mutation rates of 29.66% and 28.81%, respectively. There were 58 cases with resistance to more than one drug, with a rate of 49.15%. The rates of

DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2024.06.011

基金项目: 金华市科学技术局项目 (2022-4-222)

作者简介: 吴斌, 硕士, 副主任技师, 主要从事艾滋病检测研究工作,

E-mail: wzmwubin@126.com

resistance to non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTI), nucleotide reverse transcriptase inhibitors (NRTI) and protease inhibitors (PI) were 50.00%, 33.90% and 4.24%, respectively. **Conclusion** The HIV-1 gene subtypes of HIV/AIDS patients who failed in antiretroviral therapy in Jinhua City are mainly CRF07_BC and CRF01_AE, which are mainly resistant to NNRTI and NRTI.

Keywords: antiretroviral therapy; AIDS; gene subtype; drug resistance

抗病毒治疗是治疗和控制艾滋病的有效方法，能最大限度减少病毒复制，构建免疫屏障，降低艾滋病病毒感染者和艾滋病患者（HIV/AIDS）病死率和提高生存质量^[1]。但部分 HIV/AIDS 病例由于治疗依从性较差、用药不规范及 HIV 变异，产生了耐药性，导致治疗效果降低、病毒载量升高，从而增加了 HIV 传播风险^[2-3]。常用的抗病毒治疗药物有三大类，即非核苷类反转录酶抑制剂（non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors, NNRTI）、核苷类反转录酶抑制剂（nucleoside reverse transcriptase inhibitors, NRTI）和蛋白酶抑制剂（protease inhibitors, PI）。相关研究显示，抗病毒治疗失败 HIV/AIDS 病例对 NNRTI 的耐药率较高，而不同地区的耐药基因亚型存在差异^[4-6]。本研究对浙江省金华市的抗病毒治疗失败病例进行 HIV-1 亚型及耐药分析，为及时调整和完善艾滋病抗病毒治疗策略提供依据。

1 材料与方法

1.1 样本来源

2023年1月1日—11月30日的抗病毒治疗失败 HIV/AIDS 病例血浆样本来源于金华市疾病预防控制中心 HIV 确证实验室。HIV/AIDS 病例的性别、年龄、感染途径、治疗时间和治疗方案等基本资料来源于中国疾病预防控制中心艾滋病防治基本信息系统。根据《国家免费艾滋病抗病毒药物治疗手册》，接受抗病毒治疗时间 >6 个月且 HIV 病毒载量 $\geq 1\ 000$ copies/mL 定义为抗病毒治疗失败。替诺福韦或齐多夫定+拉米夫定+依非韦伦或奈韦拉平为一线治疗方案，使用其他类型药物的治疗方案均为二线治疗方案^[7-8]。

1.2 方法

1.2.1 HIV RNA 提取及目的片段扩增

采集抗凝（K3EDTA）静脉血 6 mL，在 6 h 内以离心半径 15 cm，3 000 r/min 离心 15 min，分离血浆，-80 °C 保存。采用 RNA 提取试剂盒（西安天隆科技有限公司）提取 300 μ L 血浆中的 HIV RNA，反转录和扩增 HIV-1 *pol*，扩增试剂为 PrimeScript™ One Step RT-PCR Kit 2 (TaKaRa) 和 Ex Taq (TaKaRa)，获取目的基因片段大小为 1 316 bp^[9]。扩增产

物经 1% 琼脂糖凝胶电泳确认后，送杭州擎科生物公司进行纯化和测序。

1.2.2 HIV-1 亚型判定及耐药分析

采用 Sequencher 5.4 软件对返回序列进行编辑和拼接，从 HIV Database 下载各亚型标准序列作为参考株，采用 Bioedit 7.0.9.0 软件进行序列比对分析，MEGA 6.0 软件构建 Neighbor-Joining 系统进化树，确定亚型。将序列导入美国斯坦福大学 HIV 耐药数据库 HIV db Program 9.4 (<http://hivdb.stanford.edu>) 进行耐药突变位点分析。抗病毒治疗药物的耐药程度分为敏感、潜在耐药、低度耐药、中度耐药和高度耐药，低度耐药及以上判为耐药株。

2 结果

2.1 基本情况

收集血浆样本 128 份，成功扩增并得到符合要求的序列 118 条，扩增阳性率为 92.19%。118 例 HIV/AIDS 病例中，男性 94 例，女性 24 例，男女比为 3.9:1。年龄 10~82 岁，<20 岁 2 例，占 1.69%；20~<40 岁 37 例，占 31.36%；40~<60 岁 53 例，占 44.92%； ≥ 60 岁 26 例，占 22.03%。主要经异性性接触感染，92 例占 77.97%。抗病毒治疗最早为 2010 年，治疗时间以 1~<5 年为主，60 例占 50.85%。初始治疗方案为一线治疗方案 100 例，占 84.75%；采用 PI 类的克力芝 6 例，占 5.08%。

2.2 HIV-1 亚型分布

HIV-1 亚型以 CRF07_BC 亚型和 CRF01_AE 亚型为主，分别占 38.14% 和 33.05%。不同类型的 URF 6 例，包括 URF (CRF01_AE/07_BC) 2 例、URF (CRF01_AE/B) 1 例、URF (B/C) 1 例和 URF 2 例。B 亚型和 CRF55_01B 亚型发生耐药基因突变的比例较高。见表 1。

2.3 突变耐药位点分析

75 例发生耐药位点突变，突变率为 63.56%；NNRTI 区、NRTI 区和 PI 区的突变率分别为 53.39%、38.14% 和 8.47%。26 例 NNRTI 单一位点突变中，14 例为 K103N，最多有 5 个位点突变；K103 位点突变率最高，为 28.81%，其次为 V106 和 V179；常见的突变位点组合为 K103+P225，占

表 1 抗病毒治疗失败 HIV/AIDS 病例 HIV-1 亚型分布 [n (%)]

Table 1 Distribution of HIV-1 gene subtypes in patients who failed in antiretroviral therapy [n (%)]

亚型	治疗失败	耐药基因突变
CRF07_BC	45 (38.14)	27 (60.00)
CRF01_AE	39 (33.05)	26 (66.67)
CRF08_BC	13 (11.02)	9 (69.26)
B	5 (4.24)	5 (100.00)
C	5 (4.24)	4 (80.00)
CRF55_01B	3 (2.54)	3 (100.00)
F1	2 (1.69)	1 (50.00)
URF	6 (5.08)	1 (16.67)

8.47% (10 例)。24 例 NRTI 单一位点突变中, 8 例为 M184V, 最多有 6 个位点突变; M184 位点和 K65 位点突变率为 29.66% 和 11.86%, M184 和 K65 位点同时出现占 8.47% (10 例)。10 例 PI 突变均为次要突变, 主要出现在 K43 和 Q58 位点。见表 2。

2.4 耐药程度分析

对≥1 种药物耐药 58 例, 占 49.15%。对 NNRTI 类耐药 59 例, 占 50.00%; 对 NRTI 类耐药 40 例, 占 33.90%; 对 PI 类耐药 5 例, 占 4.24%; 对 NNRTI 和 NRTI 类同时耐药 33 例, 占 27.97%; 对 NNRTI 和 PI 类同时耐药 1 例; 对 3 类药物均耐药 2 例。对一线药物依非韦伦和奈韦拉平高度耐药的比例较高, 分别占 43.22% 和 46.61%。见表 3。

3 讨论

本研究成功获取金华市 118 例抗病毒治疗失败的 HIV/AIDS 病例的 HIV-1 序列, HIV-1 亚型以 CRF07_BC 和 CRF01_AE 亚型为主, 与第四次全国 HIV 分子流行病学调查结果^[10]一致, 而吉林省报道以 CRF01_AE 和 B 亚型为主^[5], 河北省则以 B 亚型为主^[6], 这可能与感染途径差异有关: 河北省纳入的病例主要经血液传播感染, 而本次金华市纳入的病例多经性接触感染。B 亚型和 CRF55_01B 亚型发生耐药基因突变的比例较高, 与相关研究报道^[11]一致, 应引起重视。

耐药突变位点分析结果显示, NNRTI 类药物突变位点集中在 K103、V106 和 V179。K103N 为非多态性突变, 易造成奈韦拉平和依非韦伦高度耐药^[8], 当检测到此类突变, 建议更换为 NRTI 类药物或使用二线药物, 以确保能有效抑制病毒。NRTI 类药物突变位点以 M184 和 K65 为主, 产生拉米夫定高度耐药。PI 类药物不存在 PI 主要突变, 仅部分病例出现

表 2 抗病毒治疗失败 HIV/AIDS 病例耐药突变位点突变率

Table 2 Mutation rates of drug-resistant mutation sites in HIV/AIDS patients who failed in antiretroviral therapy

突变位点	突变数	突变率/%
NNRTI	63	53.39
K103	34	28.81
V106	16	13.56
V179	16	13.56
P225	10	8.47
Y181	9	7.63
G190	6	5.08
K101	6	5.08
V108	4	3.39
F227	3	2.54
E138	3	2.54
Y188	3	2.54
A98	2	1.69
H221	2	1.69
L100	2	1.69
K238	2	1.69
M230	1	0.85
NRTI	45	38.14
M184	35	29.66
K65	14	11.86
S68	13	11.02
K70	8	6.78
M41	5	4.24
L74	4	3.39
K219	3	2.54
D67	2	1.69
T215	2	1.69
Y115	2	1.69
V75	1	0.85
PI	10	8.47
K43	4	3.39
Q58	4	3.39
K20	1	0.85
L33	1	0.85

PI 次要突变, 突变位点以 K43 和 Q58 为主, 产生奈非那韦和替拉那韦的低度耐药和潜在耐药。但 PI 次要突变往往不足以产生耐药, 存在 PI 主要耐药位点且多位点突变协同可产生明显耐药性^[12], 而初始治疗方案中不使用奈非那韦和替拉那韦, 存在交叉耐药的可能性。本次发现 2 例治疗失败病例存在 NNRTI、NRTI 和 PI 类药物同时耐药的情况, 病例依从性较差, 导致病毒不能完全被抑制, 发生耐药。

金华市抗病毒治疗失败 HIV/AIDS 病例对≥1 种药物的耐药率为 49.15%, 与浙江省台州市研究结果^[13]相近, 低于辽宁^[14]、内蒙古^[15]等地。这提示

表3 抗病毒治疗失败 HIV/AIDS 病例耐药情况

Table 3 Drug resistance among HIV/AIDS patients who failed in antiretroviral therapy

药物	耐药程度				
	高度	中度	低度	潜在	敏感
NNRTI					
多拉韦林	9	23	3	6	77
依非韦伦	51	4	0	7	56
依曲伟林	4	12	4	14	84
奈韦拉平	55	0	1	7	55
利匹韦林	11	6	9	8	84
NRTI					
阿巴卡韦	12	9	18	0	79
齐多夫定	1	0	2	0	115
恩曲他滨	35	4	0	0	79
拉米夫定	35	4	0	0	79
替诺福韦	0	9	9	0	100
司他夫定	12	4	4	0	98
地丹诺辛	19	1	3	14	81
PI					
阿扎那韦+利托那韦	0	0	0	0	118
达芦那韦+利托那韦	0	0	0	0	118
福沙那韦+利托那韦	0	0	0	1	117
茚地那韦+利托那韦	0	0	0	0	118
洛匹那韦+利托那韦	0	0	0	0	118
奈非那韦+利托那韦	0	0	1	9	108
沙奎那韦+利托那韦	0	0	0	0	118
替拉那韦+利托那韦	0	0	4	5	109

了抗病毒治疗失败的 HIV/AIDS 病例中，有半数左右与基因型耐药无关，需进一步加强抗病毒治疗失败病例的服药依从性教育和行为干预。

金华市抗病毒治疗失败 HIV/AIDS 病例大部分使用一线治疗方案，采用 1 种 NNRTI 类药物+2 种 NRTI 类药物，导致最主要的耐药药物为 NNRTI 类，其次为 NRTI 类药物，与全国耐药监测数据^[16]一致。NNRTI 类应用最广泛的一线药物是奈韦拉平和依非韦伦，二者耐药率较高，且多为高度耐药^[17]。NRTI 类应用最多为拉米夫定和替诺福韦，因此病例对拉米夫定的高度耐药也居高不下，与前述耐药基因检测分析结果一致。应做好耐药监测工作，出现耐药情况及时调整用药方案。

参考文献

[1] 严海波, 于伟, 吴燕芬, 等. 柯桥区未接受抗病毒治疗 HIV/

AIDS 病例调查 [J]. 预防医学, 2021, 33 (9): 910-912.

[2] LUO X L, MO L D, SU G S, et al. Incidence and types of HIV-1 drug resistance mutation among patients failing first-line antiretroviral therapy [J]. J Pharmacol Sci, 2019, 139 (4): 275-279.

[3] CHIMUKANGARA B, LESSELLS R J, RHEE S Y, et al. Trends in pretreatment HIV-1 drug resistance in antiretroviral therapy-naïve adults in South Africa, 2000-2016: a pooled sequence analysis [J]. Clinical Medicine, 2019, 9: 26-34.

[4] 阮尉月清, 刘家法, 张米, 等. 云南省男男性行为人群 HIV/AIDS 病例抗病毒治疗失败基因型耐药分析 [J]. 预防医学, 2020, 32 (10): 987-991.

[5] 郭琪, 王慧, 臧希卉, 等. 吉林省抗病毒治疗失败 HIV/AIDS 患者 HIV-1 毒株基因型耐药特征 [J]. 中国国境卫生检疫杂志, 2023, 46 (6): 583-588.

[6] 赵宏儒, 路新利, 赵翠英, 等. 河北省未治疗患者体内 HIV 毒株耐药基因检测研究 [J]. 河北医药, 2010, 32 (12): 1531-1533.

[7] 雷亚克, 戴莹, 周康平, 等. 2017—2018 年湖北省 HIV-1 抗病毒治疗失败患者耐药检测结果分析 [J]. 公共卫生与预防医学, 2020, 31 (3): 73-75.

[8] 陈素庭, 洪航, 许国章. 抗病毒治疗的 HIV/AIDS 病例高血糖的影响因素分析 [J]. 预防医学, 2022, 34 (11): 1110-1115, 1120.

[9] ZHANG J F, GUO Z H, YANG J Z, et al. Genetic diversity of HIV-1 and transmitted drug resistance among newly diagnosed individuals with HIV infection in Hangzhou, China [J]. J Med Virol, 2015, 87 (10): 1668-1676.

[10] 钟平. HIV 分子流行病学研究和实践进展 [J]. 新发传染病电子杂志, 2019, 4 (3): 137-144.

[11] 汪宁, 钟平. 中国 HIV 分子流行病学 30 年 [J]. 中华流行病学杂志, 2015, 369 (6): 541-546.

[12] 缪礼锋, 沈月兰, 苏斌, 等. 安徽省 485 例抗病毒治疗失败艾滋病患者耐药基因型分析 [J]. 中国卫生检验杂志, 2019, 29 (19): 2339-2343, 2346.

[13] 林俊潇, 王红珠, 李聪聪, 等. 治疗失败的 HIV 感染者 HIV-1 亚型及耐药突变位点分析 [J]. 上海预防医学, 2023, 35 (3): 224-227.

[14] 赵砚, 吕娅妮, 康续, 等. 239 例治疗失败的 HIV 感染者 HIV-1 亚型及耐药分析 [J]. 中国艾滋病性病, 2020, 26 (10): 1045-1048.

[15] 王颖, 杨金翰, 杨虹, 等. 内蒙古抗病毒治疗失败患者 HIV-1 毒株耐药分析 [J]. 中国卫生检验杂志, 2021, 31 (19): 2352-2356.

[16] 吴亚松, 马焯. 中国艾滋病病毒耐药现状 [J]. 新发传染病电子杂志, 2019, 4 (3): 181-184.

[17] 陈剑双, 殷玥琪, 成浩, 等. 2014—2016 年无锡市 HIV/AIDS 病毒亚型及耐药变化分析 [J]. 南京医科大学学报 (自然科学版), 2021, 41 (4): 612-616, 627.

收稿日期: 2024-02-20 修回日期: 2024-03-17 本文编辑: 徐文璐