

河南省沈丘县抗病毒治疗者 HIV 耐药株流行状况调查

崔为国 薛秀娟 刘佳 孙国清 刘春华 田随安 王哲 李韩平 李敬云

【摘要】 目的 了解河南省沈丘县艾滋病长期治疗患者耐药情况。方法 对沈丘县 120 例于 2003 年开始接受抗病毒治疗的艾滋病患者进行横断面研究,同时测定其病毒载量(VL)和 CD₄⁺T 淋巴细胞计数,对 VL>1000 copies/ml 的患者进行 In-house 方法基因型耐药检测。结果 120 例患者中有 114 例获得 VL 数据,其中 33 例小于检测限(50 copies/ml),其余 81 例 VL 均值为 lg(4.09±1.10)copies/ml。所有患者 CD₄⁺T 淋巴细胞计数的均值为(377±218)cells/ml,其中 64 例(53.3%)均值>350 cells/ml。67 例患者检测基因型耐药性,成功测序的 58 例中有 40 例产生反转录酶抑制剂耐药(RTIs),核苷类反转录酶抑制剂(NRTIs)、非核苷类反转录酶抑制剂(NNRTIs)的耐药发生率分别为 53.4%(31/58)、67.2%(39/58)。三种治疗方案耐药发生比例无差异,NRTIs、NNRTIs 两类药物中齐多夫定、拉米夫定、奈韦拉平的耐药发生率较高,未发现蛋白酶抑制剂耐药。结论 河南省沈丘县艾滋病患者耐药毒株流行较严重,应长期随访监测,及时优化治疗方案。

【关键词】 艾滋病病毒; 抗病毒治疗; 耐药

A cross-sectional study on the prevalence of HIV drug resistance in patients receiving antiretroviral treatment in Shenqiu county, Henan province CUI Wei-guo¹, XUE Xiu-juan¹, LIU Jia¹, SUN Guo-qing¹, LIU Chun-hua¹, TIAN Sui-an¹, WANG Zhe¹, LI Han-ping², LI Jing-yun². 1 Center for AIDS/STD Control and Prevention, Henan Provincial Center for Disease Control and Prevention, Zhengzhou 450016, China; 2 Institute of Microbiology and Epidemiology, Academy of Military Medical Science

Corresponding authors: WANG Zhe, Email: wangzhe@hncdc.com.cn; LI Jing-yun, Email: lijy@nic.bmi.ac.cn

This work was supported by grants from the Medical Science and Technology Plan of Ministry Project in Henan Province (No. 2011010016) and the Innovation Scientists and Technicians Troop Construction Projects of Henan Province.

【Abstract】 Objective To understand the prevalence of drug resistance in AIDS patients who had been receiving HAART in a long run, in Shenqiu county, Henan province. **Methods** This cross-sectional study included 120 HIV infected patients who began receiving ART (antiretroviral therapy) in 2003. Viral loads and CD₄⁺T cells counts were measured, and In-house drug resistance test was performed in VL>1000 copies/ml patients. **Results** 114 cases out of 120 patients had complete viral load data. Among them, 33 cases having viral loads less than 50 copies/ml, and the remaining viral loads showed an average of lg(4.09±1.10) copies/ml. The average of CD₄⁺T cell counts was (377±218) cells/ml, with 64 (53.3%) cases showing their CD₄⁺T cell counts higher than 350 cells/ml. In 67 patients, 58 of them showed genotypic resistance, and 40 cases showed reverse transcriptase inhibitors (RTIs) resistance. The ratios of nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs) and non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs) resistance were 53.4% (31/58) and 67.2% (39/58), respectively. There were no differences of drug resistance ratio in the three treatment programs. The highest drug resistance rates in NRTIs and NNRTIs were zidovudine, lamivudin, nevirapine. However, protease inhibitors (PIs) resistance variants were not found. **Conclusion** The prevalence of drug-resistant strains seemed to be high in Shenqiu country, Henan province. Long-term follow-up monitoring strategy should be developed to optimize the timely treatment programs.

【Key words】 HIV; Antiretroviral therapy; Drug resistance

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2013.03.004

基金项目:河南省医学科技攻关计划省部共建项目(2011010016);河南省创新型科技人才队伍建设工程

作者单位:450016 郑州,河南省疾病预防控制中心性病艾滋病预防控制所(崔为国、薛秀娟、刘佳、孙国清、刘春华、田随安、王哲);军事医学科学院微生物流行病学研究所(李韩平、李敬云)

通信作者:王哲, Email: wangzhe@hncdc.com.cn; 李敬云, Email: lijy@nic.bmi.ac.cn

河南省作为我国 HIV-1 感染的高发区之一,自 2003 年开始实施艾滋病免费高效抗反转录病毒治疗(HAART),并参照 WHO 监测指南制定的方案,将沈丘县确定为国家耐药监测哨点。本研究旨在对该哨点抗病毒治疗者 HIV-1 耐药毒株流行状况开展横断面调查,以了解河南省长期开展抗病毒治疗以来当前治疗方案的耐药情况,为抗病毒治疗方案的改进提供依据。

对象与方法

1. 调查对象:对沈丘县 2003 年接受 HAART 的 120 例艾滋病患者进行流行病学信息和治疗情况问卷调查,并采集血样(10 ml EDTA 抗凝静脉血)。所有调查对象年龄 > 18 岁,均签署知情同意书。本研究方案经相关伦理委员会批准执行。

2. 研究方法:每例患者均进行病毒载量(VL)和 CD₄⁺T 淋巴细胞计数测定。对 VL > 1000 copies/ml 的患者采用 In-house 方法进行基因型耐药检测。

(1) VL 测定和 CD₄⁺T 淋巴细胞计数:采用美国 BD 公司的 FACScount 流式细胞仪及配套试剂进行 CD₄⁺T 淋巴细胞计数,法国生物梅里埃公司的 NucliSens® EasyQ 病毒载量试剂盒进行病毒载量检测。所有实验操作按照标准操作程序完成,试剂在有效期内使用。

(2) 基因型耐药分析:采用 In-house 方法对 VL > 1000 copies/ml 的患者进行基因型耐药性分析。检出可导致耐药的标准突变即认为产生了耐药,VL < 1000 copies/ml 或 VL > 1000 copies/ml 但未检出耐药者则认为不耐药。耐药报告中共包括 3 类药物,即核苷类反转录酶抑制剂(NRTIs)、非核苷类反转录酶抑制剂(NNRTIs)和蛋白酶抑制剂(PIs),前两者统称为反转录酶抑制剂(RTIs)。耐药性评价分为 5 个等级,即敏感、潜在耐药、低度耐药、中度耐药和高度耐药。在分析各种药物的耐药水平时进行适当合并,将“中度耐药”和“高度耐药”合并为中高度耐药;将“潜在耐药”和“低度耐药”合并为低度耐药;将“潜在耐药”、“低度耐药”、“中度耐药”和“高度耐药”合并为耐药。

3. 统计学分析:利用 SAS(SAS 9.1.3 Service Pack 3)软件进行统计学分析。 χ^2 检验比较 VL 和 CD₄⁺T 淋巴细胞计数结果的性别差异,Fisher 精确检验分析不同治疗方案的病毒抑制情况、CD₄⁺T 淋巴细胞绝对数和耐药性差异。

结 果

1. 治疗分组:共招募 120 例艾滋病治疗患者,其

中男性 48 例(40%),女性 72 例(60%)。分为三种组合治疗方案:①齐多夫定(AZT)+去羟肌苷(DDI)+奈韦拉平(NVP),即 AZT/DDI/NVP,共 102 例;②AZT+拉米夫定(3TC)+NVP,即 AZT/3TC/NVP,共 12 例;③司他夫定(D4T)+3TC+NVP,即 D4T/3TC/NVP,共 6 例。

2. VL:120 例有 114 例(95.0%)获得 VL 数据,其中男性 45 例,女性 69 例。VL 小于检测限(50 copies/ml)有 33 例,其余 81 例 VL 均值为 $\lg(4.09 \pm 1.10)$ copies/ml; VL ≤ 1000 copies/ml 的 47 例(41.2%)中男性 18 例,女性 29 例,两者间的差异无统计学意义($\chi^2 = 0.0463, P = 0.8297$); VL > 1000 copies/ml 的有 67 例(58.8%)。三种治疗方案的抗病毒治疗效果差异无统计学意义($P = 0.53$, Fisher 法),见表 1。

表 1 三种治疗方案抗病毒治疗效果比较

治疗方案	例数	VL(copies/ml)	
		≤ 1000	> 1000
AZT/DDI/NVP	96	42(43.8)	54(56.3)
AZT/3TC/NVP	12	3(25.0)	9(75.0)
D4T/3TC/NVP	6	2(33.3)	4(66.7)
合计	114	47(41.2)	67(58.8)

3. CD₄⁺T 淋巴细胞计数:120 例患者 CD₄⁺T 淋巴细胞平均数为 (377 ± 218) cells/ml。其中 > 350 cells/ml 有 64 例(53.3%),男性 23 例、女性 41 例,差异无统计学意义($\chi^2 = 0.9431, P = 0.3315$); ≤ 350 cells/ml 的 56 例(46.7%)。Fisher 精确检验表明三种治疗方案中患者 CD₄⁺T 淋巴细胞数的差异无统计学意义($P = 0.1726$)。见表 2。

表 2 三种治疗方案患者 CD₄⁺T 淋巴细胞计数比较

治疗方案	例数	CD ₄ ⁺ T 淋巴细胞计数(cells/ml)	
		≤ 350	> 350
AZT/DDI/NVP	102	44(43.1)	58(56.9)
AZT/3TC/NVP	12	8(66.7)	4(33.3)
D4T/3TC/NVP	6	4(66.7)	2(33.3)
合计	120	56(46.7)	64(53.3)

4. 耐药发生情况:对 VL > 1000 copies/ml 的 67 份样本进行基因型耐药性检测,扩增成功 64 份,扩增成功率为 95.5%(64/67),测序成功 58 份,测序成功率为 90.6%(58/64),共 40 例产生了针对 RTIs 的耐药。其中 NRTIs 类药物的耐药发生率为 53.4%(31/58),NNRTIs 类药物的耐药发生率为 67.2%(39/58),未检测到 PIs 的耐药。

三种治疗方案无论是 RTIs,还是单独 NRTIs 和 NNRTIs 耐药发生差异均无统计学意义(P 值分别为 0.37、1.00 和 0.38)。比较不同方案中相关药物的耐药产生情况,AZT/DDI/NVP 治疗组 NRTIs 类药物

AZT发生耐药的比例为41.7%(20/48);NNRTIs类药物NVP的耐药比例高达62.5%(30/48)。在AZT/3TC/NVP和D4T/3TC/NVP治疗组中,3TC和NVP耐药发生比例均较高(表3)。

表3 三种治疗方案中相关药物耐药发生情况

治疗方案	药物	例数(构成比,%)		
		中高度耐药	低度耐药	敏感
AZT/DDI/NVP(n=48)	3TC	9(18.75)	4(8.33)	35(72.92)
	AZT	19(39.58)	1(2.08)	28(58.33)
	D4T	18(37.50)	1(2.08)	29(60.42)
	DDI	16(33.33)	1(2.08)	31(64.58)
	NVP	30(62.50)	0(0.00)	18(37.50)
AZT/3TC/NVP(n=7)	3TC	2(28.57)	1(14.29)	4(57.14)
	AZT	2(28.57)	0(0.00)	5(71.43)
	D4T	2(28.57)	0(0.00)	5(71.43)
	DDI	2(28.57)	1(14.29)	4(57.14)
	NVP	6(85.71)	0(0.00)	1(14.29)
D4T/3TC/NVP(n=3)	3TC	2(66.67)	0(0.00)	1(33.33)
	AZT	0(0.00)	1(33.33)	2(66.67)
	D4T	0(0.00)	1(33.33)	2(66.67)
	DDI	0(0.00)	1(33.33)	2(66.67)
	NVP	2(66.67)	1(33.33)	0(0.00)

讨 论

HIV-1感染者VL和CD₄⁺T淋巴细胞计数是评价抗病毒治疗效果和衡量免疫功能的关键指标^[1]。本研究发现沈丘县部分艾滋病患者经10余年抗病毒治疗后,目前应用的一线治疗方案仍有一定的效果。调查结果显示病毒抑制成功(VL≤1000 copies/ml)的比例为41.2%,53.3%的患者CD₄⁺T淋巴细胞绝对数>350 cells/ml。但同时发现,病毒抑制失败和耐药发生的比例也较高,提示部分患者体内病毒对现行药物已产生较高耐药性。参考2003年李敬云等^[2]报道的河南省某地区耐药本底数据为13.9%,分析本次调查耐药率较高的原因可能是少数患者在接受HAART之前体内就已存在耐药性毒株。

目前河南省艾滋病治疗采用的一线治疗方案为AZT/DDI/NVP、AZT/3TC/NVP、D4T/3TC/NVP。本研究发现三种治疗方案在病毒抑制和CD₄⁺T淋巴细胞计数比较均无差异。由于研究现场区域限制,后两种治疗方案样本量较少,可能导致无法从统计学上得到有差异的结论。本研究中共有67例的VL>1000 copies/ml,其中40例体内已产生耐药性毒株(针对RTIs),病毒抑制失败患者中耐药发生率为59.7%。Zhong等^[3]也分析了95例接受抗病毒治疗的HIV-1感染者体内耐药情况,在治疗失败者中有73.3%(11/15)产生RTIs耐药。Liu等^[4]报道14例接受HAART治疗的患者,总体耐药率为42.9%。通过比较不同治疗方案总体及相关药物的耐药产生情

况,发现病毒抑制失败患者发生RTIs耐药的比例无差异,NRTIs、NNRTIs类药物耐药发生率分别为53.4%、67.2%,其中当前治疗方案中的AZT、3TC、NVP的高耐药发生率不容忽视。这与国外的相关研究基本一致,Dvali等^[5]在27例抗病毒治疗患者中检出22例至少对NRTIs、NNRTIs和/或PIs一种药物耐药。Sungkanuparph等^[6]报道泰国免疫学治疗失败人群中NRTIs、NNRTIs、PIs的耐药率分别为57.9%、94.7%和5.3%。

依据国内专家有关报道,随着艾滋病治疗时间的延长,HIV耐药性毒株的比例也逐渐增加。李敬云等^[2]对河南省未服药患者及服药3、6个月的患者体内耐药情况进行分析,发现耐药患者的比例分别为13.9%、45.4%和62.7%;Luo等^[7]在湖北省也得到类似结论,发现治疗3~6、9~12和20~24个月的患者耐药发生比例分别为24.3%、57.1%和63.3%。此外,荷兰一项队列研究表明携带一个以上耐药突变位点的一线抗病毒治疗失败患者,因体内耐药毒株的累积直接影响二线抗病毒药的敏感性^[8]。由于临床治疗时机的选择、服药依从性等因素对耐药的影响,本研究不能发现患者耐药产生和变化的具体原因,但作为国家耐药监测哨点还需进行连续长期的监测。

参 考 文 献

- [1] Kalish LA, McIntosh K, Read JS, et al. Evaluation of human immunodeficiency virus (HIV) type 1 load, CD₄⁺T cell level, and clinical class as time-fixed and time-varying markers of disease progression in HIV-1-infected children. *J Infect Dis*, 1999, 180(5):1514-1520.
- [2] Li JY, Li H, Li HP, et al. Prevalence and evolution of drug resistance HIV-1 variants in Henan, China. *Cell Res*, 2005, 29(1): 8-12. (in Chinese)
李敬云,李宏,李韩平,等.河南省部分地区HIV耐药性毒株流行状况及进化特征研究. *军事医学科学院院刊*, 2005, 29(1):8-12.
- [3] Zhong P, Pan Q, Ning Z, et al. Genetic diversity and drug resistance of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) strains circulating in Shanghai. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2007, 23(7):847-856.
- [4] Liu J, Yue J, Wu S. Polymorphisms and drug resistance analysis of HIV-1 CRF01_AE strains circulating in Fujian province, China. *Arch Virol*, 2007, 152(10):1799-1805.
- [5] Dvali N, Parker MM, Chkhartishvili N, et al. Characterization of HIV-1 subtypes and drug resistance mutations among individuals infected with HIV in Georgia. *J Med Virol*, 2012, 84(7):1002-1008.
- [6] Sungkanuparph S, Win MM, Kiertiburanakul S, et al. HIV-1 drug resistance at virological failure versus immunological failure among patients failing first-line antiretroviral therapy in a resource-limited setting. *Int J STD AIDS*, 2012, 23(5):316-318.
- [7] Luo M, Liu H, Zhuang K, et al. Prevalence of drug-resistant HIV-1 in rural areas of Hubei province in the People's Republic of China. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2009, 50(1):1-8.
- [8] Hamers RL, Sigaloff KC, Wensing AM, et al. Patterns of HIV-1 drug resistance after first-line antiretroviral therapy (ART) failure in 6 sub-Saharan African countries: implications for second-line ART strategies. *Clin Infect Dis*, 2012, 54(11):1660-1669.

(收稿日期:2012-09-29)

(本文编辑:张林东)