

# 湖南省首次诊断2例非输入性HIV-2感染病例与流行病学个案调查

彭瑾瑜 郑军 贺健梅 江洋 姚栋 陈曦

410005 长沙,湖南省疾病预防控制中心(彭瑾瑜、郑军、贺健梅、江洋、陈曦); 410004 长沙市疾病预防控制中心(姚栋)

彭瑾瑜、郑军同为第一作者

通信作者:陈曦, Email:chenxi161@sohu.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2018.08.012

**【摘要】 目的** 对湖南省首次发现的2例本地HIV-2感染病例进行诊断与流行病学个案调查。**方法** 2017年3—11月在湖南省长沙市对2例免疫印迹法检测为“HIV抗体不确定”并有HIV-2特异性条带的疑似感染病例,采集血样开展HIV血清学检测、核酸检测和基因测序,并进行流行病学个案调查。**结果** 2例病例的HIV-1和HIV-2(HIV 1+2)抗体确证试剂盒结果均为“HIV-2抗体阳性”。对HIV-2 *gag* 区扩增测序并用基本局部匹配查询工具(basic local alignment search tool, BLAST)比对,发现与已报道的HIV-2毒株相似度达到98%,表明其体内存在HIV-2特异性片段。2例均为HIV-2感染。流行病学调查结果显示2例病例彼此有密切性接触,无国外性接触史,感染源头不明。**结论** 国内未见HIV-2非输入性感染病例报告,该疫情的首次出现将会对我国艾滋病的预防、诊断和治疗提出严峻的挑战。

**【关键词】** 艾滋病病毒,2型; 诊断; 流行病学个案调查

**基金项目:** 湖南省卫生和计划生育委员会科研课题(B2015-136); 国家科技重大专项(2017ZX10201101002009)

**Diagnostic and epidemiological features of the first two HIV-2 indigenous infections in Hunan province** Peng Jinyu, Zheng Jun, He Jianmei, Jiang Yang, Yao Dong, Chen Xi  
Hunan Provincial Center for Disease Control and Prevention, Changsha 410005, China (Peng JY, Zheng J, He JM, Jiang Y, Chen X); Changsha Center for Disease Control and Prevention, Changsha 410004, China (Yao D)

Peng Jinyu and Zheng Jun are the first authors who contributed equally to the article.

Corresponding author: Chen Xi, Email: chenxi161@sohu.com

**【Abstract】 Objective** To study the diagnostic and epidemiological features of the first two HIV-2 indigenous cases in Hunan province. **Methods** Blood samples from two individuals with “HIV antibody indeterminate” and HIV-2 specific band showed by HIV-1/2 western blotting method, were repeatedly collected and detected under HIV 1+2 strip immunoassay and PCR, in Changsha city, Hunan province, through March to November, 2017. An epidemiological survey was carried out at the same time. **Results** Our findings showed that the two cases were sex partners, without histories of sexual contact with foreigners and the source of infection was unknown. Results from the HIV 1+2 antibody confirmation test showed that they were “HIV-2 antibody positive”. Through amplifying and sequencing the *gag* area of HIV-2 and BLAST, the similarity of HIV-2 strains presented as 98%. The results also showed that there were HIV-2 specific fragments in the two cases. **Conclusion** HIV-2 indigenous cases had never been reported in China. These cases had brought new challenge on prevention, diagnosis and treatment of HIV/AIDS in China.

**【Key words】** HIV-2; Diagnosis; Epidemiological cases investigation

**Fund programs:** Hunan Provincial Health and Family Planning Commission Scientific Research Project (B2015-136); National Science and Technology Major Project of China (2017ZX10201101002009)

HIV主要有两种型别,HIV-1和HIV-2,氨基酸水平上的同源性为40%~60%。HIV-1是引起全球

艾滋病流行的病毒,相对于HIV-2,致病性更强,传播效率更高,病程进展更快<sup>[1-2]</sup>。HIV-2主要在西非

和中非流行,其他国家有散发报道。我国的福建省、上海市和广州市等地有过输入性病例的报道,但尚未发现本地的非输入性病例<sup>[3-5]</sup>。我们从长沙市一名服刑人员检出 HIV-2 感染,并发现了与其有关联的另一例感染病例,现将结果报告如下。

## 对象与方法

1. 研究对象:①病例1,男,服刑人员,入监时体检诊断“HIV 抗体不确定”并出现了 HIV-2 型特异性条带,2次复查结果一致,分别于2017年4月10日、5月9日和9月4日抽取静脉 EDTA 抗凝血 10 ml,检测 CD<sub>4</sub><sup>+</sup>T 淋巴细胞(CD<sub>4</sub>)计数后分成全血、淋巴细胞富集液和血浆,-70℃保存待检。②病例2,女,长沙市人,自2016年起,两次 HIV 检测结果为“HIV 抗体不确定”并出现了 HIV-2 型特异性条带,9月11日抽取静脉 EDTA 抗凝血 10 ml,处理方式和保存条件同前。

对2例疑似 HIV-2 患者进行流行病学个案调查,包括人口学特征、性接触史、输(供)血史、毒品使用史、出入境史、既往接受医疗服务情况等。

### 2. 实验室检测:

(1) HIV 血清学检测:严格按照《全国艾滋病检测技术规范(2015年修订版)》<sup>[6]</sup>的 HIV 抗体检测策略与程序分别对病例的血清或血浆进行了多次 HIV 抗体筛查与确证试验。HIV 抗体初筛试剂为第4代 HIV-1/2 抗原抗体 ELISA 试剂盒(北京万泰生物药业股份有限公司;珠海丽珠试剂股份有限公司)。确证试剂分别采用了3种试剂,用于诊断 HIV-1 的 HIV 1+2 型抗体检测试剂盒(HIV BLOT 2.2)(新加坡 MP 生物医学亚太有限公司,MP 试剂)和 IMT HIV-1/2 Blot 试剂(上海英旻泰生物技术有限公司,IMT 试剂),可用于同时诊断 HIV-1 和 HIV-2 的(HIV 1+2)抗体确证试剂盒(条带免疫法)(德国 Mikrogen GmbH 公司,Mikrogen 试剂)。所用试剂均在有效期内,结果判读按照试剂盒说明书。

(2) HIV 核酸检测:HIV-1 核酸定量试剂为 Cobas TaqMan HIV-1 Test v2.0(美国罗氏分子诊断公司),检测样本为血浆 1 ml,检测灵敏度为 20 IU/ml,仪器为 COBAS TaqMan 96 分析仪。HIV(1+2 型)核酸定性试剂为 Cobas TaqScreen MPX Test, version 2.0(美国罗氏分子诊断公司),检测样本为血浆 1 ml,仪器为 COBAS S201 系统。定性试剂可检测 HIV-1 M 组、O 组 RNA 和 HIV-2 RNA,但不能区分鉴别。

(3) HIV-2 的基因检测:采用天根生化科技(北

京)有限公司生产的 RNA 提取试剂盒(离心柱型)提取血浆中 HIV 的 RNA,设计两对引物通过巢式 PCR 扩增 HIV-2 的保守区 gag 区,扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳 30 min,根据 Marker 位置判断出目的条带正确后送测序公司测序,与已公布的 HIV-2 基因组比对序列结果。引物序列:外侧引物 H1:5' - AGA GGC TGG CAG ATT GAG C-3' 和 H2:5' - CAA GAC GGA GTT TCT CGC G-3';内侧引物 H3:5' - GAG GTT CTC TCC AGC ACT AGC A-3' 和 H4:5' - TAG GAG CAC TCG TCG TGG T-3'。PCR 反应条件:第一轮扩增:50℃ 30 min,94℃ 5 min;94℃ 10 s,55℃ 30 s,72℃ 30 s,30 个循环;72℃ 7 min。第二轮扩增:94℃ 5 min;94℃ 10 s,55℃ 30 s,72℃ 30 s,30 个循环;72℃ 7 min。测序引物为 H3。

(4) CD<sub>4</sub> 检测:采用美国 BD 公司生产的 FACSCalibur 流式细胞仪和相关试剂。

## 结果

1. 流行病学调查:病例1,男,汉族,1959年2月出生,四川省攀枝花市人,初中文化,退休工人,从2013年一直居住在长沙市芙蓉区。2016年底因家庭纠纷,警务人员调解过程中发生袭警而入狱。在入监体检时 HIV 检测结果连续2次为“HIV 抗体不确定”并出现 HIV-2 型的特异性条带。自诉身体健康,无吸毒史,无手术史和输/献血史,有短暂出国史(自述1992年在德国劳务输出,管理严格,无性接触史)。有3次婚史,已经证实最后一任妻子的 HIV 结果为阴性。承认与病例2从2013年一直保持情人关系,直至入狱,另外还承认和其他2名女性也存在婚外性关系,但已经失去联系。最近一次 CD<sub>4</sub> 计数结果为 131 个/μl,诊断为艾滋病,无其他临床疾病。

病例2,女,汉族,1962年12月出生,湖南省长沙市人,高中文化,退休工人,离异后再婚,自诉身体健康,无吸毒史,无手术史和输/献血史,无出国史,现任丈夫 HIV 检测结果为阴性。2013年起与病例1发生婚外性关系,无其他性伴。2014年7月14日献血时血液合格,证实当时还未感染 HIV。2016年7月,因脚痛住院检查发现 HIV 抗体阳性,在长沙市 CDC 检测为“HIV 抗体不确定”,后2017年1月在湖南省 CDC 检测仍为“HIV 抗体不确定”。两次结果都有 HIV-2 型的特异性条带。CD<sub>4</sub> 计数结果为 2 527 个/μl,无其他临床疾病。

病例2献血证显示在2014年献血时未感染 HIV,自述2013年至今,仅与两位男性发生过性关

系,即本人配偶与病例1。依据病例1为艾滋病患者且与病例2之间存在性接触史,可以推断病例2的HIV-2感染来源于病例1。病例1感染来源不明确,需要进一步调查。

2. HIV血清学检测:采用3种方法。

(1)免疫印迹法一:采用IMT试剂,病例1和病例2的条带都为p24、p31、p51、p66、gp160和HIV-2条带,判定为“HIV抗体不确定”,见图1。

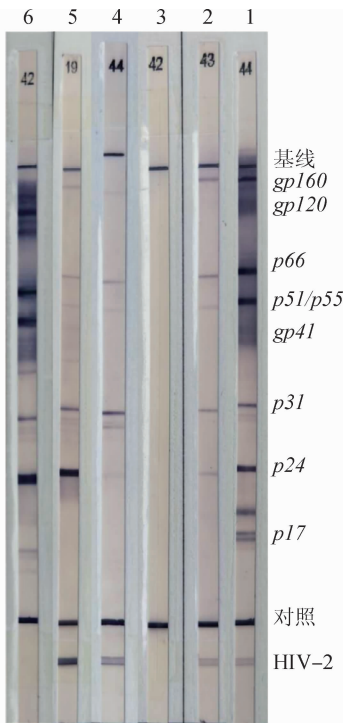
(2)免疫印迹法二:采用MP试剂,病例1和病例2的条带都为p24、p31、gp160和HIV-2条带,也判定为“HIV抗体不确定”,见图2。

(3)条带免疫法:采用Mikrogen试剂,病例1条带为gp41(+/-)、p51(+/-)、p31、p24(+/-)、gp105

和gp36,病例2条带为gp120(+/-)、gp41(+/-)、p51、p31、p24、p17(+/-)、gp105和gp36,满足判定标准,都可以诊断为“HIV-2抗体阳性”,见图3和表1。图3的5泳道是典型的HIV-1阳性感染者,6泳道是MP试剂诊断的“HIV-1抗体不确定并有HIV-2特异性条带”,在Mikrogen试剂中gp36显示强度比gp41弱很多,同时出现了gp120、p51、p31(+/-)、p24(+/-),按说明书可以诊断为“HIV-1抗体阳性”。

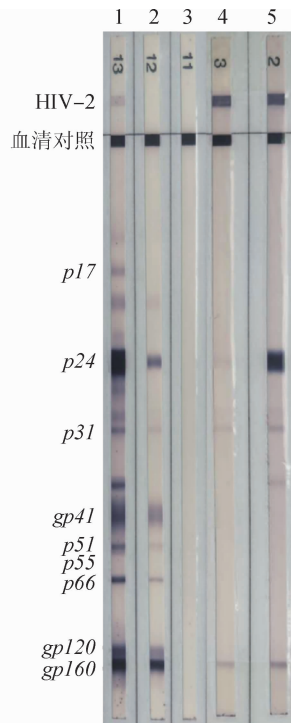
3. HIV核酸检测:病例1的HIV-1病毒载量结果为“低于检测限”,而HIV(1+2型)核酸定性结果为“核酸反应阳性”。这说明病例1可能感染的是HIV-2,而不是HIV-1。

4. HIV-2 gag区测序:病例1的3份和病例2的



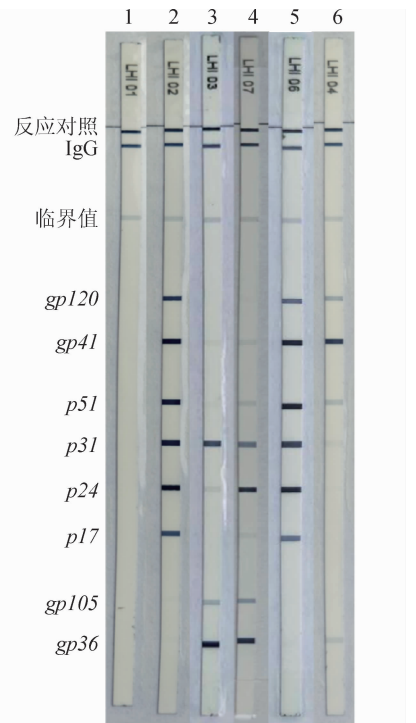
注:上海英旻泰生物技术有限公司IMT HIV-1/2Blot试剂盒; 1=强阳性对照, 2=弱阳性对照, 3=阴性对照, 4=病例1, 5=病例2, 6=HIV-1阳性

图1 免疫印迹法一检测条带



注:新加坡MP生物医学亚太有限公司的HIV1+2型抗体检测试剂盒(HIV BLOT 2.2); 1=强阳性对照, 2=弱阳性对照, 3=阴性对照, 4=病例1, 5=病例2

图2 免疫印迹法二检测条带



注:德国Mikrogen GmbH的HIV 1+2抗体确证试剂盒; 1=阴性对照, 2=阳性对照, 3=病例1, 4=病例2, 5=HIV-1阳性, 6=HIV-1抗体不确定+gp36

图3 条带免疫法检测条带

表1 3种HIV确证试剂对病例1和病例2检测结果的条带判读比较

HIV确证试剂	gag核心蛋白		pol反转录酶蛋白			env外膜糖蛋白				
	p17	p24	p31	p51	p66	HIV-1		HIV-2		
						gp41	gp120	gp160	gp36	gp105
病例1	IMT试剂	-	+	+	+	-	-	+	+	NA
	MP试剂	-	+	+	-	-	-	+	+	NA
	Mikrogen试剂	-	+/-	+	+/-	NA	+/-	-	NA	+
病例2	IMT试剂	-	+	+	+	-	-	+	+	NA
	MP试剂	-	+	+	-	-	-	+	+	NA
	Mikrogen试剂	+/-	+	+	+	NA	+/-	+/-	NA	+

注:NA:不适用

2份不同时间样本分别做了RNA提取和扩增,同时加上HIV-1阳性血清作为对照检测引物扩增的特异性。从凝胶电泳中可以看出,仅病例1和2的标本出现了片段约为300 bp的条带,而HIV-1阳性血清标本未出现该条带,说明该片段是HIV-2特异性扩增产物。扩增产物送公司测序,序列结果在美国国立生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)网址上进行核苷酸BLAST比对,相似度≥90%的都是HIV-2毒株,超过50株以上,其中与HIV-2 isolate LA36GomM毒株的相似度达到98%,见图4。由序列分析结果可以进一步证实,病例1和病例2样品中有HIV-2毒株的特异性片段。

5. CD<sub>4</sub>检测:病例1的2017年4月10日、5月9日和9月4日3次不同时间的CD<sub>4</sub>计数分别为118、129和131个/μl,已经处于艾滋病晚期。病例2的9月11日的CD<sub>4</sub>计数为2 527个/μl。

### 讨 论

HIV-2已经发现了30多年,但在我国过去报道的少数病例都是输入性病例,均有国外性接触史<sup>[3-5]</sup>,国内本地感染病例未见报道,这是国内首次诊断的本地感染HIV-2病例。对病例进行个案流行病学调查,判断病例1通过性接触感染了病例2,而病例1无国外性接触史,可以排除国外输入性感染可能,由于其所处环境和性关系复杂,感染源头还需进一步

调查取证。我们推断在湖南省HIV-2已经发生了本地2代、3代传播,其人群规模和危害不详,这是对湖南省甚至我国艾滋病疫情防控的一次重大挑战。

我国的艾滋病疫情以HIV-1为主要感染型别,很少出现HIV-2感染,确证试剂都以诊断HIV-1为主,缺少对HIV-2的诊断试剂。邱茂锋等<sup>[7]</sup>分析了16例HIV-2可疑样品,用免疫印迹试剂、线性免疫试剂和核酸试验分别检测,全部为HIV-1感染,而非HIV-2感染。说明国内的HIV检测工作中,出现的HIV-1/HIV-2混合感染的样品,多半是HIV-2的假阳性结果。此次,为避免出现以往研究中血清学诊断的不确定,我们依据文献设计了HIV-2 *gag*保守区引物,进行基因扩增测序,结果与国际流行株比对,证实为HIV-2感染。虽然HIV-2没有HIV-1传播的那样广泛,致病力也低于HIV-1,感染HIV-2同样也能发展成为艾滋病<sup>[8]</sup>。而一些可有效抑制HIV-1的药物如非核苷类反转录酶抑制剂和蛋白酶抑制剂对于HIV-2治疗无效<sup>[9]</sup>。因此,区分HIV-1和HIV-2对于临床治疗十分重要。现在我国经济高速发展,与国际沟通交流频繁便利,人口的流动性与日俱增,在非洲部分地区流行的HIV-2被带入中国并在国内传播很难避免,所以HIV-2毒株在中国本地病例的出现应引起足够的重视。

综上所述,湖南省首次诊断2例非输入性HIV-2感染病例表明,HIV-2已在我国存在,将对我国艾滋病的预防、诊断和治疗提出了严峻的挑战。

Consensus	CCTGCTAGACTCTCACCAGCGCTTGGCCGGCGCTGGGCAGACGGCTCCACGCTTGCTTGCTTAAAGACCT	
HN HIV-2 01A	.....	70
HN HIV-2 01B	.....	70
HN HIV-2 02	.. A .....	70
HIV-2 iso LA36	..... T .....	70
Consensus	CITAATAAAGCTGCCAGITAGAAGCAAGTTAAGTGTGTGCTCCCATCTCTCTAGTCGCCGCTGGTCA	
HN HIV-2 01A	.....	140
HN HIV-2 01B	.....	140
HN HIV-2 02	.....	140
HIV-2 iso LA36	..... A .....	140
Consensus	TCGGTGTTCACCTGA-TAACAAAGCCCTGGTCTGTTAGGACCCCTTCTTGCTTGGGAAACCGAGGCAGGA	
HN HIV-2 01A	..... A .....	210
HN HIV-2 01B	.....	210
HN HIV-2 02	..... A .....	210
HIV-2 iso LA36	.....	210
Consensus	AAATCCCTAGCAGGTTGGCGCCGAACAGGGACTTGAAGAAGACTGAAAAGCCTTGGAAACACGGCTGAGT	
HN HIV-2 01A	.....	280
HN HIV-2 01B	.....	280
HN HIV-2 02	.....	280
HIV-2 iso LA36	.....	280
Consensus	GAAGGCAGTAAGGGCGGCAGGAACAACCACGACG-AGTGCTCCTAA	
HN HIV-2 01A	..... - .....	326
HN HIV-2 01B	..... - .....	326
HN HIV-2 02	..... - .....	326
HIV-2 iso LA36	.. G .....	327

注: HN HIV-2 01A和HN HIV-2 01B是病例1不同时间的样品,HN HIV-2 02是病例2样本,HIV-2 iso LA36是HIV-2 isolate LA36GomM序列

图4 病例1和病例2 HIV-2 *gag*区扩增产物的测序比较

利益冲突 无

参 考 文 献

[1] Campbell-Yesufu OT, Gandhi RT. Update on human immunodeficiency virus (HIV)-2 infection[J]. Clin Infect Dis, 2011, 52(6): 780-787. DOI: 10.1093/cid/ciq248.

[2] Popper SJ, Sarr AD, Travers KU, et al. Lower human immunodeficiency virus (HIV) type 2 viral load reflects the difference in pathogenicity of HIV-1 and HIV-2[J]. J Infect Dis, 1999, 180(4): 1116-1121. DOI: 10.1086/315010.

[3] 严延生, 郑兆双, 陈舸, 等. 我国首例 HIV-2 感染者的确认[J]. 中国性病艾滋病防治, 2000, 6(1): 16-18. DOI: 10.13419/j.cnki.aids.2000.01.008.

Yan YS, Zheng ZS, Chen G, et al. Confirmation of the first HIV-2 case in China[J]. J Chin AIDS/STD Prev Cont, 2000, 6(1): 16-18. DOI: 10.13419/j.cnki.aids.2000.01.008.

[4] 邵一鸣, 戴玉琳, 邢辉, 等. HIV-1 和 HIV-2 混合感染的发现[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 1999, 13(4): 383-385. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9279.1999.04.022.

Shao YM, Dai YL, Xing H, et al. HIV-1 and HIV-2 mixed infection was found[J]. Chin J Exp Clin Virol, 1999, 13(4): 383-385. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9279.1999.04.022.

[5] 高凯, 李燕, 梁彩云, 等. 广州市发现首例 HIV-1/HIV-2 混合感染[J]. 华南预防医学, 2006, 32(1): 17-19. DOI: 10.3969/j.issn.1671-5039.2006.01.005.

Gao K, Li Y, Liang CY, et al. The identification of first HIV-1/HIV-2 mixed infection in Guangzhou[J]. South Chin J Prev

Med, 2006, 32(1): 17-19. DOI: 10.3969/j.issn.1671-5039.2006.01.005.

[6] 中国疾病预防控制中心. 全国艾滋病检测技术规范(2015年修订版)[M]. 北京: 中国疾病预防控制中心, 2015: 8-9, 37-38. Chinese Center for Disease Control and Prevention. National guideline for detection of HIV/AIDS (2015 revised edition)[M]. Beijing: Chinese Center for Disease Control and Prevention, 2015: 8-9, 37-38.

[7] 邱茂锋, 孙显光, 蒋岩, 等. 不同人类免疫缺陷病毒 2 型检测方法的比较研究[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(1): 61-64. DOI: 10.3760/j.issn:1009-9158.2006.01.020.

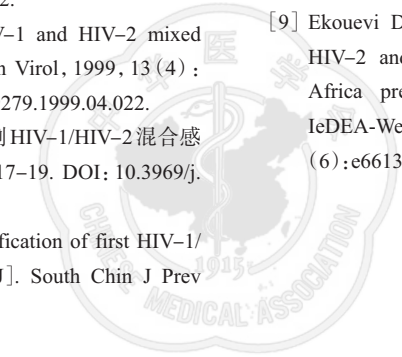
Qiu MF, Sun XG, Jiang Y, et al. A comparing study of various detection methods for human immunodeficiency virus type 2[J]. Chin J Lab Med, 2006, 29(1): 61-64. DOI: 10.3760/j.issn: 1009-9158.2006.01.020.

[8] Tchounga B, Ekouevi DK, Balestre E, et al. Mortality and survival patterns of people living with HIV-2[J]. Curr Opin HIV AIDS, 2016, 11(5): 537-544. DOI: 10.1097/COH.0000000000000299

[9] Ekouevi DK, Balestre E, Coffie PA, et al. Characteristics of HIV-2 and HIV-1/HIV-2 dually seropositive adults in West Africa presenting for care and antiretroviral therapy: the IeDEA-West Africa HIV-2 cohort study[J]. PLoS One, 2013, 8(6): e66135. DOI: 10.1371/journal.pone.0066135.

(收稿日期: 2017-12-25)

(本文编辑: 斗智)



# 中华流行病学杂志第七届编辑委员会成员名单

(按姓氏汉语拼音排序)

名誉总编辑	郑锡文									
顾问	曲成毅	王滨有	乌正赉	张孔来	赵仲堂	庄辉				
总编辑	李立明									
副总编辑	曹务春	冯子健	顾东风	何耀	贺雄	姜庆五	汪华	徐建国	詹思延	
编辑委员	毕振强	蔡琳	曹广文	曹务春	陈峰	陈坤	陈可欣	陈维清	程锦泉	杜建伟
	段广才	方向华	冯子健	龚向东	顾东风	郭志荣	何耀	何剑峰	贺雄	胡东生
	胡国良	胡永华	胡志斌	贾崇奇	姜宝法	姜庆五	阚飙	康德英	李丽	李群
	李敬云	李俊华	李立明	廖苏苏	刘静	刘民	刘殿武	刘天锡	卢金星	陆林
	栾荣生	罗会明	吕繁	吕筠	马文军	孟蕾	米杰	潘凯枫	祁禄	乔友林
	邱洪斌	仇小强	沈洪兵	施榕	施小明	时景璞	苏虹	谭红专	唐金陵	汪华
	汪宁	王蓓	王岚	王鸣	王定明	王建华	王全意	王素萍	吴凡	吴先萍
	吴尊友	夏洪波	项永兵	徐飏	徐爱强	徐建国	许汴利	闫永平	严延生	杨维中
	叶冬青	于普林	于雅琴	余宏杰	俞敏	詹思延	张瑜	张博恒	张建中	张顺祥
	张作风	赵方辉	赵根明	赵亚双	周宝森	周晓农	朱谦	庄贵华		