·综述·

HIV-1 DNA的检测及临床应用

董莉娟[1] 陈会超[1] 马艳玲[1] 邢文革[2]

[1]云南省疾病预防控制中心性病艾滋病防制所，昆明 650022；[2]中国疾病预防控制中心性病艾滋病预防控制中心参比实验室，北京 102206

通信作者：马艳玲，Email：mayanling68@aliyun.com；邢文革，Email：xingwenge@sina.com

【摘要】 HIV-1储存库的持续存在是治愈HIV的主要障碍，在临床研究中，需要可靠的生物标志物对其进行标记。HIV-1 DNA在HIV-1储存库中可被持续检测到，在HIV-1感染诊断、预测病毒反弹和监测治疗效果等方面具有重要应用价值。PCR的检测技术是临床上常用的HIV-1 DNA检测方法，随着技术的不断创新与进步，可更准确地通过定性或定量检测感染细胞中总的、整合的和未整合的HIV-1 DNA。感染细胞中不同形式的HIV-1 DNA作为生物标志物在HIV感染监测和艾滋病治疗相关研究中报道日益增多。本文对感染细胞中HIV-1 DNA的检测方法及其作为生物标志物的临床应用进展进行综述。

【关键词】 艾滋病病毒； 脱氧核糖核酸； 检测； 临床应用

Detection and clinical application of HIV-1 DNA

Dong Lijuan[1], Chen Huichao[1], Ma Yanling[1], Xing Wenge[2]

[1]Institute for AIDS/STD Control and Prevention, Yunnan Center for Disease Control and Prevention, Kunming 650022, China; [2]National HIV/AIDS Reference Laboratory, National Center for AIDS/STD Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 102206, China

Corresponding authors: Ma Yanling, Email: mayanling68@aliyun.com; Xing Wenge, Email: xingwenge@sina.com

【Abstract】 The persistence of the HIV-1 reservoir is still the main obstacle to the cure of HIV. In clinical research, reliable biomarkers are needed to label it. HIV-1 DNA can be continuously detected in the HIV-1 reservoir. It has significant application value in diagnosing HIV-1 infection, the timing of antiretroviral therapy, the prediction of virus rebound, and monitoring treatment effects. The detection technology based on polymerase chain reaction (PCR) is the most commonly used HIV-1 DNA detection method in clinical practice. The continuous innovation and advancement of technology can accurately detect the total, integrated, and unintegrated HIV-1 DNA in infected cells using qualitative or quantitative methods. Different forms of HIV-1 DNA in infected cells have been increasingly reported as biomarkers in HIV infection monitoring and AIDS treatment-related research. This article reviews the progress of HIV-1 DNA

【Key words】 HIV; DNA; Detection; Clinical application

2019年，联合国艾滋病规划署（UNAIDS）报告指出，全球现存活HIV/AIDS约为3 800万例，艾滋病新发感染170万例，死亡69万例[1]。受新型冠状病毒肺炎疫情严重影响，全球艾滋病防治形势更加严峻[1]。抗病毒治疗能有效抑制HIV，显著减少HIV传播及AIDS相关死亡。2021年，UNAIDS提出2030年实现全球消除艾滋病“三个95%”防治目标，即在所有人口、群体和地区中实现检测、治疗和病毒抑制。终身长期抗病毒治疗是个系统工程，为实现“三个95%”防治目标，对HIV/AIDS抗病毒治疗有效性评估很关键。目前，临床上对治疗有效性的评估主要基于病毒学指

DOI：10.3760/cma.j.cn112338-20211230-01036

收稿日期 2021-12-30 **本文编辑** 斗智

引用格式：董莉娟，陈会超，马艳玲，等. HIV-1 DNA的检测及临床应用[J]. 中华流行病学杂志，2022，43(10)：1685-1690. DOI：10.3760/cma.j.cn112338-20211230-01036.

Dong LJ, Chen HC, Ma YL, et al. Detection and clinical application of HIV-1 DNA[J]. Chin J Epidemiol, 2022, 43(10): 1685-1690. DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20211230-01036.

标的血浆 HIV-1 RNA 病毒载量、免疫学指标的外周血 $CD4^+$T 淋巴细胞（CD4）计数和临床症状，其中病毒学指标最为重要[2]。

HIV-1 储存库的持续存在是治愈艾滋病的主要障碍。HIV-1 储存库是指经过数年有效的抗病毒治疗后复制型 HIV-1 仍持续存在的感染细胞群[3]。迫切需要经过验证的、可量化 HIV-1 储存库的生物标志物来监测 HIV-1 储存库的复制能力、评估抗 HIV-1 潜伏感染策略功效以及在体内持续动态监测 HIV-1 储存库的变化[4]。有效的抗病毒治疗能抑制 HIV-1 复制，使患者的血浆 HIV-1 RNA 病毒载量降至低于常规或超敏检测方法检出限的水平。但在 HIV-1 储存库中仍可持续检测到 HIV-1 DNA。HIV-1 储存库大小已通过 PCR 方法定量总的、整合的和未整合的 HIV-1 DNA 来表征。HIV-1 DNA 检测在 HIV-1 感染诊断、预测病毒反弹和监测治疗效果等方面体现出重要价值。基于 PCR 原理的检测是临床上常用的 HIV-1 DNA 检测方法，具有经济、省时和准确的优点。本文就近年基于该原理的代表性的 HIV-1 DNA 检测方法，以及临床应用进展进行综述。

一、人感染细胞中 HIV-1 DNA 存在形式

病毒反转录形成的双链线性 DNA 进入细胞核及整合入宿主 DNA 是 HIV-1 生活周期的重要过程。进入宿主细胞核的 HIV-1 DNA 以整合的线性 HIV-1 DNA 和几种未整合的形式（线性或/和环状）持续存在，如 1-长末端重复序列（LTR）环和 2-LTR 环。这几种形式的 HIV-1 DNA 组成总的 HIV-1 DNA，并参与 HIV 发病机制。总 HIV-1 DNA 也称细胞相关 HIV-1 DNA，在病毒复制过程中，所有形式的 HIV DNA 共存于受感染的细胞中，其水平可能因患者间所处 HIV 疾病进展的阶段不同而不同[5]。总 HIV-1 DNA 能反映感染者体内 HIV-1 储存库的整体水平，其载量与疾病进展、治疗效果等相关[6-7]。因检测全血或外周血单核细胞（PBMC）样本中总 HIV-1 DNA 具有简单、精确、特异性高、实用、稳定和可重复的优点[8]，在研究大型临床试验和队列研究中，总 HIV-1 DNA 是研究 HIV-1 储存库的最广泛使用的标志物。缺点是不能区分有复制能力和有缺陷的病毒基因组[9]。整合的 HIV-1 DNA，即整合到宿主基因组中的双链线性 HIV-1 DNA，也称前病毒 DNA，分为完整的和有缺陷的两类。完整的前病毒指缺少明显的致命缺陷的病毒[10-11]。约 97% 的前病毒是具有致命缺陷的，而完整的前病毒比例较低[12-13]。整合的 HIV-1 DNA，能表征具有复制能力的 HIV-1 储存库。有复制缺陷的前病毒 DNA 的单独定量是必不可少的，其增加了抗病毒治疗停止后导致反弹的病毒检测的挑战性。未整合的 HIV-1 DNA 指在细胞核中，未整合到宿主基因组中的双链 HIV-1 DNA，以线性和环状形式存在。线性 HIV-1 DNA 是整合的前病毒 DNA 的前体，是一种稳定的结构，可以无限期地保留在宿主细胞基因组中，并作为病毒转录的模板[14]。环状 HIV-1 DNA HIV-1 1-LTR 环和 2-LTR 环，有一个或两个长的末端重复序列，是整合过程的副产品，并且只存在于细胞核中[14]。所有未整合的 HIV-1 DNA 的定量可作为揭示隐藏或低估的 HIV-1 储存库的标志物[15]。抗病毒治疗患者样本中检测到 2-LTR 环是病毒近期正在进行复制的潜在标志物[16-17]，可用于监测 HIV-1 储存库动态。在精英控制者中进行 HIV-1 2-LTR 环状检测有助于对这个独特的患者群体进行病毒控制的机制研究[18]。

二、HIV-1 DNA 的主要检测方法

1. 总 HIV-1 DNA 检测：实时荧光定量 PCR（qPCR）和数字液滴 PCR（ddPCR）是常用的方法，可以准确、精确地定量总 HIV-1 DNA[19-20]。ddPCR 是一种核酸检测和绝对定量的新方法。与 qPCR 相比，增加了分液操作，将配好的 PCR 反应体系分隔成众多微小的、独立的反应体系，模板 DNA 分子随机进入到各体系中，通过产物的荧光定量实现样品的绝对定量。两种方法获得的检测结果非常接近，如果 ddPCR 应用于诊断需特别注意可能产生的假阳性[21]。qPCR 检测仅需少量血液或组织，可检测冷冻保存样本，使用全血样本检测总 HIV-1 DNA 可获得与 PBMC 样本一致结果[22]。ddPCR 重复性好，检测无需建立标准曲线，主要应用于血液样本，但需要特定的设备，而 qPCR 检测设备更便宜，在大多数实验室中普遍适用。此外，ddPCR 无法帮助量化低信号，此时，无论采用 qPCR 或 ddPCR 方法都需要足够数量的细胞和进行多次重复检测。

2. 前病毒 HIV-1 DNA 的检测：Alu-PCR 是常用的方法，Alu 序列是人类特有的、在基因组广泛分布并高度保守的间隔重复序列。根据 Alu 序列和 HIV-1 基因组中的相对保守序列分别设计引物进行巢式 PCR，可得到整合型 HIV-1 基因[23-25]。缺点是不能区分有缺陷和完整的前病毒 HIV-1 DNA，易高估 HIV-1 储存库。在未经治疗患者中检测整合病毒 DNA 具有优势，当体内整合 DNA 量非常少，或病毒发生变异，或整合位点距离 Alu 序列很远时，不能检测到整合的发生[5,26]。完整前病毒 DNA 检测（IPDA）和四重定量 PCR（Q4PCR）这两种新检测方法可区分完整的和有复制缺陷的前病毒，代表了在准确量化和表征具有复制能力 HIV-1 储存库方面的重大进展，但还需要在大型独立队列研究中去验证，并确定血液和/或组织中完整的前病毒 HIV-1 DNA 水平是否与分析治疗中断期间病毒反弹的时间或程度相关。带有 4 个探针的 Q4PCR 是一种低通量测定，使用有限稀释长距离 PCR 扩增，然后是实时荧光定量 PCR（qPCR）和近全长基因组测序（nFGS）来估计序列确认完整的前病毒频率并深入了解它们的克隆组成[27]。Q4PCR 检测步骤复杂，与 IPDA 相比通量较低、接近全长的测序成本高昂且耗时，更适合于病毒测序等重要的小型试验。IPDA 通量高，尽管没有进行病毒序列确认，使用靶向包装信号（PS）和包膜（env）中的保守区域的两个探针，能排除大多数有缺陷的前病毒[13]。通过同步 ddPCR 反应直接测量输入细胞，能够报告每百万输入细胞中完整的和有缺陷的前病毒的总频率。IPDA 最适合大型介入或观察性临床研究的高通量分析[28]。但由于 HIV-1 基因多态性，IPDA 的失败率介于 6.3%~28.0%[29]。

3. 未整合的 HIV-1 DNA 检测：尽管存在用于检测 HIV-1 1-LTR 环的 PCR 分析方法[30]，但由于缺乏独特的序列特征，通过定量 PCR 对 1-LTR 环进行量化在技术上具有挑战性。HIV-1 2-LTR 环的定量主要基于定量 PCR 或 ddPCR 方法，但因其丰度低而受到阻碍。ddPCR 可提供直接绝对定量，其灵敏度接近或优于定量 PCR。对样品的 PCR 前处理是 2-LTR 环定量的关键步骤，基因组 DNA 分离可实现稳定的 2-LTR 环定量，但在较低的检测范围内，由基因组 DNA 高负载引起的 PCR 抑制大大限制了样品输入量，从而影响检测灵敏度和准确性。以改良的质粒 DNA 分离小的染色体外环状 DNA 与染色体 DNA，可以处理更多的血细胞，能更准确地量化 2-LTR 环[16]。

近来开发的一种 SYBR Green 实时 PCR（TotUFsys 平台检测，U 检测）检测方法[31]，用于同时量化 HIV 感染者总的和染色体外 HIV-1 DNA 形式，使用冷冻血液为样本，以相同的引物和标准曲线在单次 PCR 运行中获得 2 种检测结果，12 例 HIV 感染者检测结果在 2 个工作日内即可获得。还开发了专门检测 2-LTR qPCR 方法，选择用于跨越高度保守区的总 HIV-1 DNA 定量的引物，可检测 M 组的所有 HIV-1 进化支及其未整合形式，临床样本检测成功率达 100%。对两种基于 qPCR 的方法（U 检测和 2-LTR 检测）的比较分析发现[15]，定量所有未整合 DNA（uDNA）种类的 U 检测显示出比 2-LTR 检测更高的灵敏度（75% 比 40%）。并且，uDNA 和总 DNA 之间具有高度相关性。与 2-LTR 检测不同，U 检测的巨大优势能准确评估 uDNA 的水平，即便是在成功的抗病毒治疗期间，当血浆病毒血症低于常见的临床试验临界值（50 拷贝数/ml）和 2-LTR 环有可能低于定量限时，仍然可以测量这些 uDNA。表明 U 检测可用作准确评估血液中 HIV-1 DNA 病毒储存库大小及其动态的支持工具，因为 uDNA 不像总的 HIV-1 DNA 似乎未受影响或仅部分受有缺陷的基因组影响。

三、HIV-1 DNA 检测的临床应用

1. 用于 HIV 感染诊断及筛查策略：HIV-1 DNA 检测可用于人群 HIV-1 抗体筛查有反应性结果的确证检测及高危人群抗体筛查无反应性结果的筛查（窗口期），用于 HIV 感染的早期诊断和 HIV 抗体检测不确定结果的辅助诊断。婴儿抗病毒预防性用药会降低临床核酸检测的敏感性，从而影响婴儿的早期诊断。在接受预防用药的受感染婴儿中，HIV-1 DNA 水平在 1 个月时较低（有时接近定量极限）[32]。同样，在接受暴露前预防的成年人中，HIV-1 感染可能由低水平的病毒引起，出现血液中无法检测到病毒和 HIV-1 抗体不确定的情况，此时超敏感和特异的 HIV-1 DNA 检测可作为有效的辅助诊断手段。前病毒 DNA 可作为诊断标志物用于感染的辅助诊断，总 HIV-1 DNA 也可以作为婴儿早期诊断的标志物[32]。感染 HIV-1 的婴儿早期开始抗病毒治疗可显著提高存活率，WHO 推荐可以通过 qPCR 对干血斑中的 HIV-1 DNA 进行量化，这有助于资源有限国家 HIV-1 暴露婴儿感染的早期诊断诊断[33-34]。可考虑将 DNA 检测作为 MSM 等高危人群 HIV 检测的一种筛查方法。Chen 等[35]对 1 种 HIV-1 DNA 检测作为 HIV 筛查方法在 MSM 中的应用进行了研究，以 DNA 检测和快速检测（RT）同时对 1 301 名以前未被诊断出 HIV 阳性的 MSM 进行筛查，分别检测出 141 和 135 例 HIV 阳性结果。经重复和确认试验（蛋白印迹试验），证实 DNA 检测比 RT 多检测出 10 个真阳性，并且从 RT 校正 4 个假阳性。表明通过 DNA 检测校正了 14 个不准确的 RT 结果。成本效益是制定 HIV 检测策略需考虑的因素，尤其在发展中国家，虽然 DNA 检测试剂比 RT 试剂的价格高很多，但核酸筛查方法适用于 MSM，能更早、更准确的进行诊断，有效控制传染源，额外的费用是可以接受的。目前，美国食品药品监督管理局生物制品评价与研究中心尚无批准用于临床诊断的 HIV-1 DNA 检测试剂，我国国家药品监督管理局批准用于临床诊断的 HIV-1 DNA 检测试剂仅有 1 种定性试剂（天津精耐特基因生物技术有限公司生产）。

2. 预测传播风险和疾病进展：HIV-1 DNA 定量检测可判定 HIV-1 储存库含量，可更准确预测 HIV-1 传播风险和病程进展。HIV-1 DNA 定量高者，传播风险的可能性高，病程进展快而严重，DNA 定量测定为进一步疗效评价提供新的技术手段[36]。前病毒 DNA 和 2 -LTR DNA 与疾病的进展相关均有报道[18]，虽然未整合的 DNA 中的大部分真实性质和功能仍不明确，但很可能在促进 HIV-1 感染中发挥作用。基线 HIV DNA 可以预测 HIV-1 感染的进展[37-38]。无论血浆病毒载量、CD4 计数和抗病毒治疗如何，基线时 PBMC 中 HIV-1 DNA 水平高的患者 6 年死亡风险都高于其他患者[39]。HIV-1 DNA 是预测艾滋病和全因死亡率的一个重要指标，并显著优于 HIV-1 RNA[39]。就治疗前标志物而言，HIV-1 DNA 似乎是长期预后的更好预测指标。对于所有 HIV-1 DNA 水平为 10^3 拷贝数/10^6PBMC 的 HIV-1 感染者，感染后 5 年进展为艾滋病患者的风险较高（>25%）[40]。HIV-1 DNA 水平、HIV-1 RNA 水平和 CD4 计数三者相组合，提供了对其疾病进展风险的最佳估计。在 HIV-1 感染者管理中，建议初治抗病毒治疗时尽可能将 HIV-1 DNA 水平控制在 <10^3 拷贝数/10^6PBMC，以降低艾滋病发生率[40]。将 HIV-1 DNA 水平控制<300 拷贝数/10^6PBMC，有助于预防病毒反弹及延缓病程进展[41-42]。

3. 预测中断抗病毒治疗后的病毒反弹：必须坚持终身抗病毒治疗，一旦治疗中断或停止将导致病毒的快速反弹和显著发病[43]。确定预测病毒反弹时间的病毒学生物标志物可以加速旨在实现无抗病毒治疗时病毒缓解的疗法研发。HIV-1 DNA 可能有助于识别在未来 HIV-1 根除试验中可以安全中断抗病毒治疗的个体[42]。Williams 等[44]发现 HIV-1 DNA 比血浆病毒载量更能预测疾病进展，并且在抗病毒治疗中断时，预测血浆病毒反弹的时间。在 HIV 感染者停止抗病毒治疗时，HIV-1 DNA 水平较高者比 HIV-1 DNA 水平较低者的病毒反弹速度更快[41]，抗病毒治疗中断后低水平的总 HIV-1 DNA 可能会延长病毒缓解的可能

性[45-46]。与HIV-1 RNA水平和CD4计数结合，应考虑将抗病毒治疗前HIV-1 DNA视为一新的分期标志物，以更好地识别在实现病毒学抑制（≤50拷贝数/ml）后病毒反弹风险较低或较高的人群[47]。尽管一直存在争议，未整合的HIV-1 DNA（主要以2-LTR环的形式检测到）是HIV-1整合的副产品，已被提议用于标记最近感染的细胞[48-49]。

4. 监测抗病毒治疗效果：HIV-1 RNA水平是目前监测抗病毒治疗疗效的黄金标准，HIV-1DNA水平也可作为监测治疗效果的新工具。随着抗病毒治疗的进行，前病毒DNA逐渐下降，同时CD4计数上升、血清HIV-1 RNA水平下降，提示HIV-1前病毒DNA水平是监测HIV-1感染的一个重要参数。在罕见的精英控制者和治疗后控制者中都具有极低水平的HIV-1 DNA，能够在抗病毒治疗中断后的几年内控制病毒复制。因此，低水平的HIV-1 DNA可以预示感染个体的临床治疗效果更好[44]。另外，将HIV-1 DNA控制到极低水平可简化治疗[50]，PBMC或血液中的总HIV-1DNA可用作为反映HIV-1储存库大小的一个指标，可作为长期有效抗病毒治疗效果的病毒学标志物。吴育龙等[51]发现随着抗病毒治疗时间的延长，PBMC的HIV-1 DNA逐渐消减，34例抗病毒治疗组的HIV-1感染者在治疗过程中，在血浆HIV-1 RNA首次转阴时、RNA转阴1年时、RNA转阴2年时的3个时间点HIV-1感染者PBMC中，HIV-1 DNA含量分别为（2.88±0.50）、（2.58±0.47）、（2.57±0.43）log10拷贝数/10^6 PBMC，差异有统计学意义；而接受抗病毒治疗组与未治疗组的感染者相比，PBMC的HIV-1 DNA含量较低，HIV-1 DNA检测有助于判断抗病毒治疗疗效。早期、长期和有效的抗病毒治疗，已证明对HIV-1储存库/转录的消耗和免疫保护/恢复有积极影响[52-55]。在接受抗病毒治疗96周后，超低的HIV-1 DNA水平是较高的CD4/CD8比的唯一相关因素[56]。在慢性感染的成年HIV-1感染者尽早开始抗病毒治疗，可以达到较低的HIV-1储存库水平[57]。在有效抗病毒治疗的情况下，HIV-1 DNA水平处于稳定或持续下降水平，若HIV-1 DNA持续出现大幅上升，提示其可能有病毒反弹，警惕耐药突变等不良现象的产生，建议近期密切监测各项临床指标。检测未整合的HIV-1 DNA与其他应用于细胞内HIV-1 DNA和RNA定量的生物标志物以及常规血浆HIV-1 RNA病毒载量和CD4计数相结合的方法，可能会改进抗病毒治疗监测的诊断方法，并为临床治疗策略提供支持。

四、小结与展望

HIV-1 DNA具有良好的临床相关性，在辅助诊断、预测疾病进展和监测疗效等方面体现出重要应用前景。持续、精确地量化HIV-1储存库及监测其潜在残留水平的动态情况仍是当前面临的挑战，如何选择最合适标志物或与传统标志物的组合取决于所提出的研究问题。目前，限制HIV-1 DNA作为HIV-1储存库标志物的临床应用的一个主要因素是国内外缺乏通过注册审批的商品化HIV-1 DNA定量检测试剂，开发高通量、可扩展的HIV-1储存库检测手段是临床实践中亟需解决的问题。目前，我国尚缺乏国际标准来校准不同的HIV-1 DNA检测方法，应关注HIV-1亚型的遗传变异对检测结果准确性的影响。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

参 考 文 献

[1] UNAIDS. 2020 Global AIDS Update, Seizing the moment, tackling entrenched inequalities to end epidemics [EB/OL]. (2020-07-06) [2021-12-01]. https://www.unaids.org/en/resources/documents/2020/global-aids-report.

[2] 中华医学会感染病学分会艾滋病丙型肝炎学组，中国疾病预防控制中心. 中国艾滋病诊疗指南(2018年版)[J]. 中华内科杂志，2018, 57(12): 867-884. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2018.12.002.
AIDS and Hepatitis C Professional Group, Society of Infectious Diseases, Chinese Medical Association, Chinese Center for Disease Control and Prevention. Chinese guidelines for diagnosis and treatment of HIV/AIDS (2018) [J]. Chin J Intern Med, 2018, 57(12):867-884. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2018.12.002

[3] Eisele E, Siliciano RF. Redefining the viral reservoirs that prevent HIV-1 eradication[J]. Immunity, 2012, 37(3): 377-378. DOI:10.1016/j.immuni.2012.08.010.

[4] Kiselinova M, De Spiegelaere W, Buzon MJ, et al. Correction: integrated and total HIV-1 DNA predict Ex vivo viral outgrowth[J]. PLoS Pathog, 2016, 12(3): e1005532. DOI:10.1371/journal.ppat.1005532.

[5] O'Doherty U, Swiggard WJ, Jeyakumar D, et al. A sensitive, quantitative assay for human immunodeficiency virus type 1 integration[J]. J Virol, 2002, 76(21):10942-10950. DOI:10.1128/jvi.76.21.10942-10950.2002.

[6] Goujard C, Bonarek M, Meyer L, et al. CD4 cell count and HIV DNA level are independent predictors of disease progression after primary HIV type 1 infection in untreated patients[J]. Clin Infect Dis, 2006, 42(5): 709-715. DOI:10.1086/500213.

[7] Ruhanya V, Jacobs GB, Glashoff RH, et al. Clinical relevance of total HIV DNA in peripheral blood mononuclear cell compartments as a biomarker of HIV-associated neurocognitive disorders (HAND)[J]. Viruses, 2017, 9(11): 324. DOI:10.3390/v9110324.

[8] Rouzioux C, Trémeaux P, Avettand-Fenoël V. HIV DNA: a clinical marker of HIV reservoirs[J]. Curr Opin HIV AIDS, 2018, 13(5): 389-394. DOI: 10.1097/COH.0000000000000483.

[9] Eriksson S, Graf EH, Dahl V, et al. Comparative analysis of measures of viral reservoirs in HIV-1 eradication studies [J]. PLoS Pathog, 2013, 9(2): e1003174. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003174.

[10] Ho YC, Shan L, Hosmane NN, et al. Replication-competent noninduced proviruses in the latent reservoir increase barrier to HIV-1 cure[J]. Cell, 2013, 155(3):540-551. DOI: 10.1016/j.cell.2013.09.020.

[11] Bruner KM, Murray AJ, Pollack RA, et al. Defective proviruses rapidly accumulate during acute HIV-1 infection[J]. Nat Med, 2016, 22(9): 1043-1049. DOI: 10.1038/nm.4156.

[12] Imamichi H, Dewar RL, Adelsberger JW, et al. Defective HIV-1 proviruses produce novel protein-coding RNA species in HIV-infected patients on combination antiretroviral therapy[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2016, 113(31):8783-8788. DOI:10.1073/pnas.1609057113.

[13] Bruner KM, Wang Z, Simonetti FR, et al. A quantitative approach for measuring the reservoir of latent HIV-1 proviruses[J]. Nature, 2019, 566(7742): 120-125. DOI: 10.1038/s41586-019-0898-8.

[14] Furtado MR, Callaway DS, Phair JP, et al. Persistence of HIV-1 transcription in peripheral-blood mononuclear cells in patients receiving potent antiretroviral therapy[J]. N Engl J Med, 1999, 340(21): 1614-1622. DOI: 10.1056/NEJM199905273402102.

[15] Orlandi C, Canovari B, Bozzano F, et al. A comparative analysis of unintegrated HIV-1 DNA measurement as a potential biomarker of the cellular reservoir in the blood of patients controlling and non-controlling viral replication[J]. J Transl Med, 2020, 18(1): 204. DOI: 10.1186/s12967-020-02368-y.

[16] Malatinkova E, Kiselinova M, Bonczkowski P, et al. Accurate episomal HIV 2-LTR circles quantification using optimized DNA isolation and droplet digital PCR[J]. J Int AIDS Soc, 2014, 17(4 Suppl 3): 19674. DOI: 10.7448/IAS.17.4.19674.

[17] Puertas MC, Gómez-Mora E, Santos JR, et al. Impact of intensification with raltegravir on HIV-1-infected individuals receiving monotherapy with boosted PIs[J]. J Antimicrob Chemother, 2018, 73(7): 1940-1948. DOI: 10.1093/jac/dky106.

[18] Graf EH, Mexas AM, Yu JJ, et al. Elite suppressors harbor low levels of integrated HIV DNA and high levels of 2-LTR circular HIV DNA compared to HIV+ patients on and off HAART[J]. PLoS Pathog, 2011, 7(2): e1001300. DOI: 10.1371/journal.ppat.1001300.

[19] Malatinkova E, de Spiegelaere W, Vandekerckhove L, et al. HIV reservoir characterization symposium[J]. J Virus Erad, 2017, 3(1): 66-68. DOI: 10.1016/S2055-6640(20)30299-5.

[20] Rutsaert S, Bosman K, Trypsteen W, et al. Digital PCR as a tool to measure HIV persistence[J]. Retrovirology, 2018, 15(1):16. DOI:10.1186/s12977-018-0399-0.

[21] Bosman KJ, Nijhuis M, van Ham PM, et al. Comparison of digital PCR platforms and semi-nested qPCR as a tool to determine the size of the HIV reservoir[J]. Sci Rep, 2015, 5(1):13811. DOI:10.1038/srep13811.

[22] Lin L, Yue YS, Wang ND, et al. Whole blood as an alternative to peripheral blood mononuclear cell for detection of total HIV-1 DNA[J]. BMC Infect Dis, 2020, 20(1):941. DOI:10.1186/s12879-020-05675-3.

[23] Brussel A, Delelis O, Sonigo P. Alu-LTR real-time nested PCR assay for quantifying integrated HIV-1 DNA[J]. Methods Mol Biol, 2005, 304: 139-154. DOI: 10.1385/1-59259-907-9:139.

[24] Yu JJ, Wu TL, Liszewski MK, et al. A more precise HIV integration assay designed to detect small differences finds lower levels of integrated DNA in HAART treated patients[J]. Virology, 2008, 379(1): 78-86. DOI: 10.1016/j.virol.2008.05.030.

[25] 李娟, 焦艳梅, 高艳青, 等. Alu-LTR PCR方法检测HAART治疗系列各细胞亚群的整合型HIV-1 DNA[J]. 首都医科大学学报, 2011, 32(4): 449-452. DOI: 10.3969/j. issn. 1006-7795.2011.04.002.
Li J, Jiao YM, Gao YQ, et al. Optimization of Alu-LTR PCR approach to detect integrated HIV-1 DNA in variety of cell subsets at different stages after HAART[J]. J Cap Med Univ, 2011, 32(4): 449-452. DOI: 10.3969/j. issn. 1006-7795.2011.04.002.

[26] Murray JM, Zaunders JJ, McBride KL, et al. HIV DNA subspecies persist in both activated and resting memory CD4$^+$ T cells during antiretroviral therapy[J]. J Virol, 2014, 88(6):3516-3526. DOI:10.1128/JVI.03331-13.

[27] Gaebler C, Falcinelli SD, Stoffel E, et al. Sequence evaluation and comparative analysis of novel assays for intact proviral HIV-1 DNA[J]. J Virol, 2021, 95(6): e01986-20. DOI:10.1128/JVI.01986-20.

[28] Archin NM, Vaidya NK, Kuruc JD, et al. Immediate antiviral therapy appears to restrict resting CD4$^+$ cell HIV-1 infection without accelerating the decay of latent infection [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109(24): 9523-9528. DOI:10.1073/pnas.1120248109.

[29] Simonetti FR, White JA, Tumiotto C, et al. Intact proviral DNA assay analysis of large cohorts of people with HIV provides a benchmark for the frequency and composition of persistent proviral DNA[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2020, 17(31): 18692-18700. DOI: 10.1073/pnas. 2006816117.

[30] Yoder KE, Fishel R. PCR-based detection is unable to consistently distinguish HIV 1LTR circles[J]. J Virol Methods, 2006, 138(1/2): 201-206. DOI: 10.1016/j. jviromet. 2006.07.022.

[31] Casabianca A, Orlandi C, Canovari B, et al. A real time PCR platform for the simultaneous quantification of total and extrachromosomal HIV DNA forms in blood of HIV-1 infected patients[J]. PLoS One, 2014, 9(11):e111919. DOI: 10.1371/journal.pone.0111919.

[32] Véronique AF, Marie-Laure C, Stéphane B, et al. LTR real-time PCR for HIV-1 DNA quantitation in blood cells for early diagnosis in infants born to seropositive mothers treated in HAART area (ANRS CO 01) [J]. J Med Virol, 2009, 81(2):217-223. DOI:10.1002/jmv.21390.

[33] UNAIDS. Ending AIDS: progress towards the 90-90-90 targets [EB/OL]. (2017-07-20) [2021-12-01]. https://reliefweb. int/report/world/ending-aids-progress-towards-90-90-90-targets.

[34] Chiu A, Modi S, Rivadeneira ED, et al. Optimizing infant HIV diagnosis in resource-limited settings: modeling the impact of HIV DNA PCR testing at birth[J]. J Acquir Immune Defic Syndr, 2016, 73(4):454-462. DOI:10.1097/QAI.0000000000001126.

[35] Chen K, Wang YH, He XX, et al. HIV DNA measurement and improved detection of HIV infection among men who have sex with men: a strategic implication[J]. AIDS Res Hum Retroviruses, 2019, 35(10): 920-923. DOI: 10.1089/AID.2019.0091.

[36] 中国疾病预防控制中心性病艾滋病预防控制中心. 全国艾滋病检测技术规范(2020年修订版) [EB/OL]. (2020-05-18) [2021-12-01]. https://www. sohu. com/a/398060733_120054199.

[37] Tierney C, Lathey JL, Christopherson C, et al. Prognostic value of baseline human immunodeficiency virus type 1 DNA measurement for disease progression in patients receiving nucleoside therapy[J]. J Infect Dis, 2003, 187(1): 144-148. DOI:10.1086/345870.

[38] N'takpe JB, Gabillard D, Moh R, et al. Association between cellular HIV-1 DNA level and mortality in HIV-1 infected African adults starting ART with high CD4 counts[J]. eBioMedicine, 2020, 56: 102815. DOI: 10.1016/j. ebiom. 2020.102815.

[39] Laanani M, Ghosn J, Essat A, et al. Impact of the timing of initiation of antiretroviral therapy during primary HIV-1 infection on the decay of cell-associated HIV-DNA[J]. Clin Infect Dis, 2015, 60(11): 1715-1721. DOI: 10.1093/cid/civ171.

[40] Rouzioux C, Hubert JB, Burgard M, et al. Early levels of HIV-1 DNA in peripheral blood mononuclear cells are predictive of disease progression independently of HIV-1 RNA levels and CD4$^+$ T cell counts[J]. J Infect Dis, 2005, 192(1):46-55. DOI:10.1086/430610.

[41] Hatzakis AE, Touloumi G, Pantazis N, et al. Cellular HIV-1 DNA load predicts HIV-RNA rebound and the outcome of highly active antiretroviral therapy[J]. AIDS, 2004, 18(17): 2261-2267. DOI:10.1097/00002030-200411190-00006.

[42] Liu J, Fan PY, Xue XJ, et al. Characteristics of long-term nonprogressors and viremia controllers infected with HIV-1 *via* contaminated blood donations or transfusions conducted 20 years earlier[J]. Biomed Environ Sci, 2017, 30(12):907-912. DOI:10.3967/bes2017.121.

[43] Ahlenstiel CL, Symonds G, Kent SJ, et al. Block and lock HIV cure strategies to control the latent reservoir[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2020, 10: 424. DOI: 10.3389/fcimb.2020.00424.

[44] Williams JP, Hurst J, Stohr W, et al. HIV-1 DNA predicts disease progression and post-treatment virological control[J]. eLife, 2014, 3: e03821. DOI: 10.7554/eLife.03821.

[45] Sáez-Cirión A, Bacchus C, Hocqueloux L, et al. Post-treatment HIV-1 controllers with a long-term virological remission after the interruption of early initiated antiretroviral therapy ANRS VISCONTI study[J]. PLoS Pathog, 2013, 9(3):e1003211. DOI:10.1371/journal.ppat.1003211.

[46] Frange P, Faye A, Avettand-Fenoël V, et al. HIV-1 virological remission lasting more than 12 years after interruption of early antiretroviral therapy in a perinatally infected teenager enrolled in the French ANRS EPF-CO10 paediatric cohort: a case report[J]. Lancet HIV, 2016, 3(1):e49-54. DOI:10.1016/S2352-3018(15)00232-5.

[47] Ceccherini-Silberstein F, Lepri AC, Alteri C, et al. Pre-ART HIV-1 DNA in CD4$^+$ T cells correlates with baseline viro-immunological status and outcome in patients under first-line ART[J]. J Antimicrob Chemother, 2018, 73(12): 3460-3470. DOI:10.1093/jac/dky350.

[48] Sharkey M, Triques K, Kuritzkes DR, et al. In vivo evidence for instability of episomal human immunodeficiency virus type 1 cDNA[J]. J Virol, 2005, 79(8):5203-5210. DOI: 10.1128/JVI.79.8.5203-5210.2005.

[49] Pace MJ, Graf EH, O'Doherty U. HIV 2-long terminal repeat circular DNA is stable in primary CD4+T cells[J]. Virology, 2013, 441(1):18-21. DOI:10.1016/j.virol.2013.02.028.

[50] Piketty C, Weiss L, Assoumou L, et al. A high HIV DNA level in PBMCs at antiretroviral treatment interruption predicts a shorter time to treatment resumption, independently of the CD4 nadir[J]. J Med Virol, 2010, 82(11):1819-1828. DOI:10.1002/jmv.21907.

[51] 吴育龙, 江建宁, 曹汴川, 等. PBMC HIV-1 DNA的动态监测在HIV-1感染者抗病毒治疗过程中的临床意义[J]. 中国艾滋病性病, 2020, 26(9): 925-927, 940. DOI: 10.13419/j.cnki.aids.2020.09.04.
Wu YL, Jiang JN, Cao BC, et al. Clinical significance of PBMC HIV-1 DNA dynamic monitoring for HIV-1 infected patients with ART[J]. Chin J AIDS STD, 2020, 26(9): 925-927, 940. DOI:10.13419/j.cnki.aids.2020.09.04.

[52] Trono D, van Lint C, Rouzioux C, et al. HIV persistence and the prospect of long-term drug-free remissions for HIV-infected individuals[J]. Science, 2010, 329(5988): 174-180. DOI:10.1126/science.1191047.

[53] Cellerai C, Harari A, Stauss H, et al. Early and prolonged antiretroviral therapy is associated with an HIV-1-specific T-cell profile comparable to that of long-term non-progressors[J]. PLoS One, 2011, 6(4): e18164. DOI: 10.1371/journal.pone.0018164.

[54] Hocqueloux L, Avettand-Fènoël V, Jacquot S, et al. Long-term antiretroviral therapy initiated during primary HIV-1 infection is key to achieving both low HIV reservoirs and normal T cell counts[J]. J Antimicrob Chemother, 2013, 68(5): 1169-1178. DOI: 10.1093/jac/dks533.

[55] Chéret A, Bacchus-Souffan C, Avettand-Fenoël V, et al. Combined ART started during acute HIV infection protects central memory CD4+ T cells and can induce remission[J]. J Antimicrob Chemother, 2015, 70(7): 2108-2120. DOI:10.1093/jac/dkv084.

[56] Yue YS, Wang ND, Han Y, et al. A higher CD4/CD8 ratio correlates with an ultralow cell-associated HIV-1 DNA level in chronically infected patients on antiretroviral therapy: a case control study[J]. BMC Infect Dis, 2017, 17(1):771. DOI:10.1186/s12879-017-2866-y.

[57] Luo L, Wang ND, Yue YS, et al. The effects of antiretroviral therapy initiation time on HIV reservoir size in Chinese chronically HIV infected patients:a prospective, multi-site cohort study[J]. BMC Infect Dis, 2019, 19(1): 257. DOI: 10.1186/s12879-019-3847-0.

中华流行病学杂志第八届编辑委员会通讯编委组成人员名单

（按姓氏汉语拼音排序）

鲍倡俊　陈　曦　陈　勇　冯录召　高　培　高立冬　高文静　郭　巍　胡晓斌
黄　涛　贾存显　贾曼红　姜　海　金连梅　靳光付　荆春霞　寇长贵　李　曼
李　霓　李　希　李杏莉　林　玫　林华亮　刘　昆　刘　莉　刘　淼　马　超
毛宇嵘　潘　安　彭志行　秦　天　石菊芳　孙　凤　汤奋扬　汤后林　唐雪峰
王　波　王　娜　王　鑫　王海俊　王丽萍　席　波　谢　娟　闫笑梅　严卫丽
燕　虹　杨　鹏　杨祖耀　姚应水　余灿清　喻荣彬　张　本　张茂俊　张周斌
郑　莹　郑英杰　周　蕾　朱益民