

云南省德宏州2011年HIV-1不同亚型人群分布特征分析

陈敏 姚仕堂 马艳玲 何翔 王继宝 程春林 杨锦 苏莹珍 李艳玲
段松 陈会超 付丽茹 贾曼红 陆林

【摘要】 目的 研究云南省德宏州HIV-1亚型的流行特点。方法 收集2011年1—5月德宏州HIV-1抗体确认阳性血浆样品300份,提取RNA后用巢式PCR对gag基因和env基因的部分片段进行扩增。扩增产物经基因序列测定,所得序列通过构建系统进化树确定HIV-1的分子亚型。结果 结合2个基因片段,共有222份样品获得分型结果,主要为C亚型(43.2%, 96/222),其他依次为独特重组形式(URF; 27.0%, 60/222)、CRF01_AE(21.2%, 47/222)、CRF08_BC(5.0%, 11/222)、B'(2.3%, 5/222)和CRF07_BC(1.4%, 3/222)。C亚型是性传播人群和注射吸毒人群中的首要亚型,但不同传播途径人群中亚型分布具有不同的模式。异性传播人群包括该地区检测到6种基因型,主要为C亚型(40.7%, 70/172)、CRF01_AE(25.0%, 43/172)和多种URF(25.0%, 43/172),呈现亚型分布的多样化。注射吸毒人群中包括除B'和CRF07_BC以外的3种亚型及多种URF,主要为C亚型(54.8%, 23/42)和URF(38.1%, 16/42),呈现亚型相对集中的趋势。URF比例的显著上升成为该地区的另一个流行特点,包括BC重组(41.7%, 25/60)和与CRF01_AE相关的重组(58.3%, 35/60),这两种URF在性传播和注射吸毒人群中分布的差异无统计学意义。结论 德宏州HIV-1流行株较为复杂,存在5种亚型和多种URF,其中C亚型为主要流行株,不同传播途径亚型分布模式存在差异。

【关键词】 人类免疫缺陷病毒-1; 亚型; 分布特征

Distribution of HIV-1 subtypes among different populations in Dehong prefecture, Yunnan province, in 2011 CHEN Min¹, YAO Shi-tang², MA Yan-ling³, HE Xiang³, WANG Ji-bao³, CHENG Chun-lin³, YANG Jin³, SU Ying-zhen³, LI Yan-ling³, DUAN Song³, CHEN Hui-chao¹, FU Li-ru¹, JIA Man-hong³, LU Lin⁴. 1 Yunnan Provincial Center for Disease Control and Prevention, Kunming 650022, China; 2 Dehong Prefecture Center for Disease Control and Prevention; 3 National Center for AIDS/STD Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention; 4 School of Public Health, Kunming Medical College

Corresponding authors: LU Lin, Email: lulin@yncdc.cn; JIA Man-hong, Email: jmanhong@yahoo.com.cn
This work was supported by a grant from the Major Special Project of China's "Twelfth Five-Year Plan" for Science and Technology Development (No. 2011ZX10004-903).

【Abstract】 Objective To investigate the distribution of HIV-1 subtypes in Dehong prefecture, Yunnan province, in 2011. **Methods** 300 HIV-1 positive plasma samples were collected from Jan. 2011 to May 2011 in Dehong prefecture. HIV-1 gag genes and env genes were amplified by nested-polymerase chain reaction (PCR) from viral RNA. After sequencing, the HIV-1 subtypes were determined by phylogenetic analysis. **Results** Based on the phylogenetic trees of gag gene and env gene fragments, a total of 222 samples were genotyped. Subtype C was the predominant strain in Dehong (43.2%, 96/222), followed by unique recombinant forms (URFs, 27.0%, 60/222), CRF01_AE (21.2%, 47/222), CRF08_BC (5.0%, 11/222), B' (2.3%, 5/222) and CRF07_BC (1.4%, 3/222). Subtype C strains were predominant in both heterosexually transmitted population and intravenous drug users (IDUs), but different subtype distribution patterns were found in these two

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2012.09.002

基金项目: 国家“十二五”科技重大专项(2011ZX10004-903)

作者单位: 650022 昆明, 云南省疾病预防控制中心(陈敏、马艳玲、苏莹珍、陈会超、付丽茹、贾曼红、陆林); 德宏州疾病预防控制中心(姚仕堂、王继宝、杨锦、李艳玲、段松); 中国疾病预防控制中心性病艾滋病预防控制中心(何翔、程春林); 昆明医学院公共卫生学院(陆林) 陈敏、姚仕堂同为第一作者

通信作者: 陆林, Email: lulin@yncdc.cn; 贾曼红, Email: jmanhong@yahoo.com.cn

populations. All 6 genotypes including subtype C (40.7%, 70/172), CRF01_AE (25.0%, 43/172), and URFs (25.0%, 43/172) found in this area among heterosexually transmitted population, which showed the diversity of genotypes in this population. Except subtype B' and CRF07_BC, the other 3 subtypes and URFs were detected among IDUs, mainly including subtype C (54.8%, 23/42) and URFs (38.1%, 16/42), which showed the concentration trend of genotypes distribution among IDUs. The proportion of URFs increased significantly in this area, including the new BC recombinants (41.7%, 25/60) and CRF01_AE relative URFs (58.3%, 35/60). However, the distributions of these two URFs among heterosexually transmitted population and IDUs showed no statistical significance. **Conclusion** The distribution of HIV-1 strains prevailing in Dehong prefecture was diversity, including 5 subtypes and a variety of URFs, of which subtype C was the predominant strain. The distribution patterns of subtype were different among different populations.

【Key words】 HIV-1; Subtype; Distribution characteristics

云南省德宏州是我国最早报道 HIV-1 疫情, 受 HIV-1 影响较为严重的地区之一^[1,2]。更重要是 HIV 主要流行株进入国内的第一站, 在早期以注射吸毒为主要传播途径的情况下, 该地区的流行情况对国内的疫情形成直接影响^[3]。具有流行时间长、病毒株多样的特点, 对研究 HIV-1 亚型的演变有重要意义。为此本研究对 2011 年德宏州 HIV-1 各亚型株的流行、分布和进化趋势进行分子流行病学分析。

对象与方法

1. 样本采集: 2011 年 1—5 月德宏州(芒市、瑞丽、陇川、盈江和梁河)新报告 HIV 感染者 751 例, 本研究连续收集 300 例新报告 HIV 感染者(不包括艾滋病患者)的血浆。选择阳性确认血浆样品, 保证其血样量至少为 0.5 ml, 不符合要求者选择 CD4⁺T 淋巴细胞检测后剩余的血样, 分离血浆置 -80 °C 保存。同时收集相关流行病学资料。

2. 研究方法:

(1) 病毒 RNA 提取: 使用 Roche 公司 MagNA Pure LC system 核酸自动提取仪, 根据标准操作程序从 200 μl 样品中提取 HIV-1 RNA。核酸样品保存在 -80 °C 条件下。

(2) 序列扩增和测定: 根据已建立的试验方案和引物采用巢式 PCR 扩增 gag 基因片段(p17、p24、HXB2: 781~1861)和 env 基因片段(V3、V4、HXB2: 7002~7541), 所用引物和条件参见文献[4,5]。使用 TaKaRa 公司 One Step RNA PCR Kit(AMV)试剂盒, 进行反转录及第 1 轮 PCR 扩增, 反应体系为 25 μl; 使用 Tiangen 公司 2×Taq PCR MasterMix 试剂盒, 进行第 2 轮 PCR 扩增, 取第 1 轮反应产物 5 μl, 反应体系为 50 μl。第 2 轮 PCR 产物经 1% 的琼脂糖凝胶电泳鉴定, 阳性样品送北京博迈德生物公司纯化和测序。

(3) 亚型及重组分析: 序列测定后使用 Gene Codes 公司的 Sequencher 4.9 软件进行拼接, 然后用

Bioedit 软件进行多序列比对和序列清理。获得的 gag 和 env 基因区序列与 HIV-1 国际参考株比对应后, 用 Mega 4.0 软件构建 Neighbor-joining 进化树分别确定不同基因的亚型, 结合 2 个基因片段的结果确定亚型。按以下定义确定新重组情况: ① gag 和 env 基因片段为不同亚型时, 判为新重组; ② gag 基因片段为至少 2 个亚型的嵌合形式, 这一类重组的序列在系统进化树上位于 2 个亚型之间、接近根部的独立分支上, 为进一步确定重组形式, 采用 Recombination Identification Program (RIP) version 3.0 (<http://hiv-web.lanl.gov>) 和 Similarity plot (SimPlot) analysis version 3.5.1 (<http://sray.med.som.jhmi.edu/RaySoft/SimPlot/>) 进行分析。

3. 统计学分析: 应用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析, 率的比较采用 χ^2 检验。出现理论频数 < 5 时, 采用 Fisher 精确 χ^2 检验; 当不适合参数检验时, 采用多个独立样本的 Kruskal Wallis 检验。

结 果

1. 人口学特征: 本次抽样收集的 300 例新确诊 HIV-1 感染者, 构成情况在地区、感染途径和样品来源上与该时段德宏州报告 HIV 感染者的差异无统计学意义(表 1)。300 份样本经扩增和测序, 获得 gag 基因序列和 env 基因序列各 244 条。结合 2 个基因区序列, 通过构建系统进化树, 同时获得 gag 及 env 基因序列的 222 个样品得到可解释的基因分型。仅获得 gag 区或 env 区的样品, 分为分型不确定的样品, 未进行进一步的分析(表 2)。

222 例感染者年龄 6~81(平均 38.7)岁, 男女性别比 2.04:1。性接触感染者占 77.5%(172/222), 注射吸毒感染者占 18.9%(42/222), 母婴传播感染者占 1.8%(4/222), 血液传播感染者占 0.5%(1/222), 传播途径不详占 1.4%(3/222)。民族分布以汉族(43.2%)、傣族(26.6%)和景颇族(22.5%)为主, 其他

表 1 本次调查的抽样情况

特征	本次 抽样数	1—5月 新报告数	χ^2 值	P 值
地区			6.343	0.175
瑞丽	58	172		
芒市	124	270		
梁河	14	22		
盈江	67	170		
陇川	37	117		
感染途径			0.139	0.722
异性传播	231	572		
注射毒品	60	152		
同性传播	0	2		
母婴传播	5	11		
输血/血制品	1	1		
不详	3	13		
样品来源			8.145	0.320
检测咨询	51	136		
羁押人员、强制/劳教戒毒人员	56	135		
婚前检查(含涉外婚姻)	19	48		
产前期检查	18	48		
居民健康体检	75	141		
就诊者、术前检测	32	98		
专题调查	28	66		
其他*	21	79		

注: *包括出入境人员体检、女性 HIV 阳性者子女检测、无偿献血人员检测、性病门诊、HIV 阳性配偶或性伴检测、公共场所人员体检、结核病筛查和美沙酮门诊检测

表 2 结合 *gag* 和 *env* 基因片段确定 HIV 的基因型别

基因片段分型		亚型	感染例数
<i>gag</i>	<i>env</i>		
B	B	B	5
B	-	未定型	1
-	B	未定型	1
C	C	C	96
C	-	未定型	17
-	C	未定型	11
CRF01_AE	CRF01_AE	CRF01_AE	47
CRF01_AE	-	未定型	4
-	CRF01_AE	未定型	4
CRF07_BC	C	CRF07_BC	3
CRF07_BC	-	未定型	1
CRF08_BC	C	CRF08_BC	11
CRF08_BC	-	未定型	2
B	C	BC	9
BC	C	BC	15
BC	-	未定型	3
C	B	BC	1
B	CRF01_AE	B/CRF01_AE	4
B01	CRF01_AE	B/CRF01_AE	1
BC	CRF01_AE	BC/CRF01_AE	1
C	CRF01_AE	C/CRF01_AE	13
CRF01_AE	B	CRF01_AE/B	1
01BC	C	CRF01_AE/BC	7
01BC	CRF01_AE	CRF01_AE/BC	2
01C	CRF01_AE	CRF01_AE/C	3
CRF01_AE	C	CRF01_AE/C	3

民族占 7.7%。职业分布以农民为主(80.2%)，其他职业占 19.8%。

2. HIV-1 亚型分布特点: HIV-1 株基因型较为复杂。其中 C 亚型占 43.2%(96/222)，是主要的亚型;其他亚型按照流行比例依次为独特重组形式(URF; 27.0%, 60/222)、CRF01_AE(21.2%, 47/222)、CRF08_BC(5.0%, 11/222)、B'(2.3%, 5/222)和 CRF07_BC(1.4%, 3/222)。

从表 3 可见，各主要 HIV-1 亚型按性别、年龄、民族和婚姻状况分布的差异无统计学意义。但分析传播途径，异性传播人群和注射吸毒人群中 HIV-1 亚型分布的差异有统计学意义($\chi^2=15.396, P=0.005$)，提示不同途径传播人群中存在不同的亚型分布模式。异性传播人群中包括该地区检测到 5 种亚型及多种 URF 重组型，包括 C(40.7%, 70/172)、CRF01_AE(25.0%, 43/172)、CRF08_BC(4.7%, 8/172)、B'(2.9%, 5/172)、CRF07_BC(1.7%, 3/172)和 URF(25.0%, 43/172);注射吸毒人群中检测到除 B' 和 CRF07_BC 以外的 3 种亚型及多种 URF 重组型，包括 C(54.8%, 23/42)、CRF08_BC(4.8%, 2/42)、CRF01_AE(2.4%, 1/42)和 URF(38.1%, 16/42)。该两人群中 C 亚型的比例均为最高，但 C 亚型在注射吸毒人群中的比例(54.8%)高于在异性传播人群中的比例(40.7%)。注射吸毒人群中 URF 的比例(38.1%)也高于异性传播人群中 URF 的比例(25.0%)。相反，CRF01_AE 在异性传播人群中的比例(25.0%)高于在注射吸毒人群中的比例(2.4%)，说明 CRF01_AE 仍然主要分布在异性传播人群中。CRF08_BC 在该两人群中的比例接近一致。提示异性传播人群中亚型分布趋于多样化，而注射吸毒人群的亚型分布主要集中于 C 亚型和多种 URF。

本次调查发现 URF 的比例仅次于 C 亚型。其中，71.7%(43/60)的 URF 发生在性接触感染者中，26.7%(16/60)发生在注射吸毒感染者，另有 1 例为母婴传播。在所有 URF 中，BC 重组占 41.7%(25/60)，其他重组占 58.3%(35/60)，均为 CRF01_AE 与 B 和/或 C 的重组(CRF01_AE 相关的 URF)，包括 C/CRF01_AE(21.7%, 13/60)、CRF01_AE/BC(15.0%, 9/60)、CRF01_AE/C(10.0%, 6/60)、B/CRF01_AE(8.3%, 5/60)、CRF01_AE/B(1.7%, 1/60)和 BC/CRF01_AE(1.7%, 1/60)，见表 4。BC 重组在异性传播和注射吸毒人群中的比例为 79.2%(19/24)和 20.8%(5/24)，CRF01_AE 相关的 URF 在异性传播和注射吸毒人群中的比例为 68.6%(24/35)和 31.4%

表3 研究对象的人口学特征和HIV-1亚型分布

人口学特征	例数 (构成比, %)	HIV-1亚型例数						P值
		B'	C	CRF01_AE	CRF07_BC	CRF08_BC	URF	
合计	222(100.0)	5	96	47	3	11	60	
性别								0.311
男	149(67.1)	3	67	26	2	9	42	
女	73(32.8)	2	29	21	1	2	18	
年龄(岁)								0.458 [*]
≤29	49(22.1)	0	22	11	1	3	12	
30~	82(36.9)	0	42	13	0	6	21	
40~	55(24.8)	2	19	11	2	1	20	
50~	36(16.2)	3	13	12	0	1	7	
婚姻状况								0.372
未婚	45(20.3)	0	20	8	0	3	14	
已婚	135(60.8)	3	64	25	2	6	35	
离异或丧偶	42(18.9)	2	12	14	1	2	11	
民族								0.179
汉族	96(43.2)	0	39	25	1	3	28	
其他	126(56.8)	5	57	22	2	8	32	
感染途径								0.005 [*]
异性传播	172(77.5)	5	70	43	3	8	43	
注射毒品	42(18.9)	0	23	1	0	2	16	
母婴传播	4(1.8)	0	1	1	0	1	1	
输血/血制品	1(0.5)	0	0	1	0	0	0	
不详	3(1.4)	0	2	1	0	0	0	

注: *非参数检验, 多个独立样本的 Kruskal Wallis 检验; 其他使用 Fisher 精确 χ^2 检验; ^{*}仅比较各亚型在异性传播和注射毒品感染病例中的分布

表4 60例 HIV-1 UFR 亚型在不同传播途径中的分布

感染途径	BC	CCR01_AE	CRF01_AE/BC	CRF01_AE/C	B'CRF01_AE	CRF01_AE/B	BC/CRF01_AE	合计
异性传播	19	7	9	3	4	1	0	43
注射毒品	5	6	0	3	1	0	1	16
母婴传播	1	0	0	0	0	0	0	1
合计	25	13	9	6	5	1	1	60

(11/35), 提示这两类 URF 在两类人群中分布的差异无统计学意义($\chi^2=0.809, P=0.394$)。本研究提示该地区存在频繁而复杂的 HIV-1 重组。

讨论

本研究采用结合 *gag* 基因片段(p17 和 p24, HXB2: 781~1861) 和 *env* 基因片段(V3 和 V4, HXB2: 7002~7541) 确定病毒的基因型别提高了分型的准确性。以往的调查仅使用单一的 *env* 基因片段, 并不能区分 C、CRF07_BC 和 CRF08_BC, 因为 CRF07_BC 和 CRF08_BC 都是以 C 亚型为骨架, 在 *gag* 区和 *pol* 区插入 B 亚型的片段。因此选择适合的 *gag* 基因片段对区分 C、CRF07_BC 和 CRF08_BC 很重要。本研究选择的引物 GUX/GDX 所扩增的 *gag* 基因片段经评价, 在进行系统进化树分析时可获得稳定的 B、C、CRF01_AE、CRF07_BC 和 CRF08_BC 5 个进化簇, 其 Bootstrap 值均超过 80%, 且仅用下游

引物 GDX 测序获得的较短片段亦能获得较为可靠的系统进化树^[4]。因此, 本研究中亚型分析结果可靠。另外, 对德宏州 2011 年耐药警戒线调查中所获得的 *pol* 基因片段的分析, 也得到了相一致的亚型分布特点(待发表)。尽管增加了分析的基因片段数, 但由于该地区基因重组复杂, 目前的方法也有一定局限性, 因此近全长序列(near full length sequence)测定将是研究方向。

德宏州 HIV-1 的疫情可追溯到 80 年代末, 最早是在注射吸毒人群中由 B 亚型和 B' 亚型引起^[6-8]。在随后的传播过程中, B' 亚型逐渐取代了 B 亚型, 其在所有 B 亚型中所占比例从 1990 年的 20% 升高到 1996 年的 90%^[6-8]。

1990 年代初期, C 亚型经吸毒人群从印度传入德宏州, 引起另一轮疫情^[9]。2000 年以后的分子流行病学调查显示德宏州性传播人群和注射吸毒人群中 B 亚型(包括 B') 的比例分别为 11.4%~14.0% 和 8.3%~15.4%^[10,11], 而本次调查发现该比例进一步下降, 在吸毒人群中未检出 B 亚型, 性传播人群中 B 亚型仅占 2.9%。与此相反, C 亚型维持了一个较高的比例, 成为该地区的流行株, 在两种人群中亦为首要流行株。B 和 C 亚型流行特征的差异化, 可能提示存在不同的传播模式和动力学特征。

在 1990 年代吸毒人群中 B' 亚型和 C 亚型共同存在, 由此产生大量 BC 重组^[10-13]。1997 年分别在新疆和广西地区的注射吸毒人群中鉴定出 CRF07_BC 和 CRF08_BC^[14,15]。根据毒品运输路线推测, 这两种 CRF 可能是形成于云南, 并经不同毒品运输路线分别传播至新疆和广西^[16,17]。德宏州的地理位置、疫情特点以及大量 BC 重组的存在, 推测 CRF07_BC

和CRF08_BC可能是在该地区形成,也有回顾性研究认为在该地区发现这两个CRF可能的共同祖先^[13]。然而到2001年在德宏州仍未检出这两种CRF,而同时期在云南省东部的红河州和文山州已经有CRF07_BC和CRF08_BC的高流行^[12]。分子流行病学的观察并不支持上述推测,认为德宏州的CRF07_BC和CRF08_BC也可能是从云南省东部地区传播而来。从全省情况分析,CRF08_BC而非C亚型是目前流行率最高的病毒株(待发表)。本次调查发现CRF07_BC和CRF08_BC在该地区仍处于低度流行状态,前者主要分布在性传播人群中^[1],而后者在性传播人群和吸毒人群中趋于随机分布。

1994年在由泰国返回我国云南省的性工作者中首次发现CRF01_AE^[16],随后该CRF便成为该地区性传播人群中主要亚型^[10,11]。2002—2006年的分子流行病学研究提示CRF01_AE具有明显的地域分布特征,主要分布在云南省西部与缅甸接壤的德宏、保山、西双版纳和普洱4个州市,CRF01_AE占88.7%。同期德宏州性传播人群和注射吸毒人群中CRF01_AE的比例分别为70.0%~77.1%和23.1%~25.0%^[10,11],而本次调查该比例均有下降,CRF01_AE的比例分别为25.0%和2.4%。CRF01_AE虽然仍主要分布在性传播人群中,但已不是性传播人群中首要的流行亚型。这与随着性传播比例的增加,CRF01_AE的流行率会上升的预期截然相反^[1]。具体原因有待进一步分析。

德宏州HIV-1分子流行病学的另一个特征是存在着大量新出现的URF。这些URF的流行率仅次于C亚型,除了上述提到的BC重组,其他重组均与CRF01_AE相关,两类URF在性传播人群和吸毒人群中分布的差异无统计学意义,表明这些URF在不同传播途径中随机分布,并可能开始在人群中传播,是形成新CRF的基础。

综上所述,本研究揭示了德宏州HIV-1分子流行病学的新特征。C亚型成为该地区首要的流行株。URF在人群中的分布显著上升,成为潜在CRF形成的基础。不同传播途径人群中亚型的分布显示不同模式:性传播人群中以C亚型为主,并呈现亚型分布的多样化,CRF01_AE的比例显著高于注射吸毒人群;而注射吸毒人群的亚型分布相对集中。

参 考 文 献

- [1] Lu L, Jia M, Ma Y, et al. The changing face of HIV in China. *Nature*, 2008, 455(7213): 609-611.
- [2] Zheng X, Tian C, Choi KH, et al. Injecting drug use and HIV infection in southwest China. *AIDS*, 1994, 8(8): 1141-1147.

- [3] Zhang L, Chen Z, Cao Y, et al. Molecular characterization of human immunodeficiency virus type 1 and hepatitis C virus in paid blood donors and injection drug users in China. *J Virol*, 2004, 78(24): 13591-13599.
- [4] Xin RL, Peng Y, Cheng CL, et al. Primers of *gag* gene for HIV-1 subtyping in China and application there of in practice. *Natl Med J Chin*, 2009, 89(13): 876-880. (in Chinese)
- [5] 辛若雷,冯毅,程春林,等.适用于中国HIV-1分型的 *gag* 基因引物及其应用. *中华医学杂志*, 2009, 89(13): 876-880.
- [5] Zhao CY, Li QM, Zhao HR, et al. Subtype and sequence analysis of the *gag* and *env* genes for HIV-1 strains isolated in Hebei province. *Chin J Microbiol Immunol*, 2010, 30(10): 914-918. (in Chinese)
- [6] 赵翠英,李巧敏,赵宏儒,等.河北省HIV-1流行株基因序列测定及亚型分析. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2010, 30(10): 914-918.
- [6] Shao YM, Zhao QB, Wang B, et al. Sequence analysis of HIV *env* gene among HIV infected IDUs in Yunnan epidemic area of China. *Chin J Virol*, 1994, 10(4): 291-299. (in Chinese)
- [7] 邵一鸣,赵全璧,王斌,等.我国云南德宏地区HIV感染者HIV毒株蛋白白基因的序列测定和分析. *病毒学报*, 1994, 10(4): 291-299.
- [7] Weniger BG, Takebe Y, Ou CY, et al. The molecular epidemiology of HIV in Asia. *AIDS*, 1994, 8 Suppl 2: S13-28.
- [8] Graf M, Shao Y, Zhao Q, et al. Cloning and characterization of a virtually full-length HIV type 1 genome from a subtype B'-Thai strain representing the most prevalent B-clade isolate in China. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 1998, 14(3): 285-288.
- [9] Luo CC, Tian C, Hu DJ, et al. HIV-1 subtype C in China. *Lancet*, 1995, 345(8956): 1051-1052.
- [10] Ma YL, Zhang Y, Lu L, et al. The analysis of human immunodeficiency virus-1 subtypes in Yunnan province. *Chin J Prev Med*, 2008, 42(12): 892-894. (in Chinese)
- [10] 马艳玲,张勇,陆林,等.云南省人类免疫缺陷病毒-1亚型分析. *中华预防医学杂志*, 2008, 42(12): 892-894.
- [11] Zhang Y, Lu L, Ba L, et al. Dominance of HIV-1 subtype CRF01_AE in sexually acquired cases leads to a new epidemic in Yunnan province of China. *PLoS Med*, 2006, 3(11): e443.
- [12] Yang R, Xia X, Kusagawa S, et al. On-going generation of multiple forms of HIV-1 intersubtype recombinants in the Yunnan province of China. *AIDS*, 2002, 16(10): 1401-1407.
- [13] Qiu Z, Xing H, Wei M, et al. Characterization of five nearly full-length genomes of early HIV type 1 strains in Ruili city: implications for the genesis of CRF07_BC and CRF08_BC circulating in China. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2005, 21(12): 1051-1056.
- [14] Piyasirisilp S, McCutchan FE, Carr JK, et al. A recent outbreak of human immunodeficiency virus type 1 infection in southern China was initiated by two highly homogeneous, geographically separated strains, circulating recombinant form AE and a novel BC recombinant. *J Virol*, 2000, 74(23): 11286-11295.
- [15] Su L, Graf M, Zhang Y, et al. Characterization of a virtually full-length human immunodeficiency virus type 1 genome of a prevalent intersubtype (C/B') recombinant strain in China. *J Virol*, 2000, 74(23): 11367-11376.
- [16] Beyrer C, Razak MH, Lisam K, et al. Overland heroin trafficking routes and HIV-1 spread in south and south-east Asia. *AIDS*, 2000, 14(1): 75-83.
- [17] Tee KK, Pybus OG, Li XJ, et al. Temporal and spatial dynamics of human immunodeficiency virus type 1 circulating recombinant forms 08_BC and 07_BC in Asia. *J Virol*, 2008, 82(18): 9206-9215.
- [18] Cheng H, Zhang J, Capizzi J, et al. HIV-1 subtype E in Yunnan, China. *Lancet*, 1994, 344(8927): 953-954.

(收稿日期:2012-03-01)

(本文编辑:张林东)