

云南省德宏州2009年HIV-1耐药株传播水平调查

马艳玲 段松 陈敏 姚仕堂 杨莉 李艳玲 罗红兵 王继宝 杨锦
韩文香 濮永成 杨世江 贾曼红

【关键词】 艾滋病病毒; 耐药警戒线检测; 抗病毒治疗
Survey on HIV drug resistance transmission in Dehong of Yunnan province in 2009 MA Yan-ling¹, DUAN Song², CHEN Min¹, YAO Shi-tang², YANG Li¹, LI Yan-ling², LUO Hong-bing¹, WANG Ji-bao², YANG Jin², HAN Wen-xiang³, PU Yong-cheng³, YANG Shi-jiang², JIA Man-hong¹. 1 Yunnan Center for Disease Control and Prevention, Kunming 650022, China; 2 Dehong Center for Disease Control and Prevention; 3 Longchuan Center for Disease Control and Prevention
Corresponding author: JIA Man-hong, Email: jmanhong@yahoo.com.cn

This work was supported by a grant from the Major Special Project of China's "Eleventh Five-Year Plan" for Science and Technology Development (No. 2008ZX10001-004)

【Key words】 Human immunodeficiency virus; Drug resistance transmission threshold survey; Antiretroviral therapy

抗反转录治疗(ART)在降低HIV-1感染者并发症和艾滋病患者死亡率的同时,也促进了HIV-1耐药株的发生。耐药株有可能传播到新感染人群,从而使尚未开始治疗的HIV感染者携带HIV耐药株,导致以后的抗病毒治疗产生困难。本研究于2009年在云南省德宏州开展了HIV-1耐药警戒线调查。

1. 材料与与方法:

(1)样本来源:监测HIV耐药毒株的传播应该选择新发HIV感染者。由于新发感染者不易确定,故选择年龄<25岁的HIV感染者作为研究对象。德宏州2009年报告的年龄<25岁未接受抗病毒药物治疗的HIV感染者共有307例,本研究随机收集了159份满足以下条件的样本作为新发感染的样本:①经免疫印迹试验确认为HIV抗体阳性;②无艾滋病指征性疾病;③年龄<25岁;④未经抗病毒药物治疗;⑤知情同意参加本研究。

(2)方法:①基因序列获取及耐药分析:通过HIV-1 RNA的提取、反转录PCR和巢式PCR扩增pol基因区后,对

扩增产物进行电泳鉴定和测序。序列测定后经过拼接和整理,提交HIV耐药数据库(hivdb.stanford.edu)在线贴网分析,确定耐药性突变位点和对各种抗病毒药物的耐受程度。②HIV-1耐药株传播水平分析:根据耐药警戒线调查方案^[1],采用截断顺序抽样法(TSS)进行抽样及结果判断^[2]。将获得序列的样本按采样时间排序,先抽取14个样本填入“耐药警戒线监测抽样表”,计算累计耐药样本数,如果该累计数小于与样本量所对应的同一行的下限,确定为低传播水平(<5%);如果大于同一行中的上限,确定为高传播水平(>15%)。否则继续增加样本量,按照上述标准进行判别。达到最大样本量47个时,停止抽样。如果检出耐药的样本数小于下限,为低传播水平;大于上限,为高传播水平;介于上下限之间,为中度传播水平(5%~15%)。

2. 结果:

(1)PCR扩增及测序结果:对159份样本中56份样本的pol基因区进行扩增后,获得满足最大样本量的47条基因序列,成功率为83.9%(47/56)。47份样本序列中14.9%(7/47)的HIV感染者为静脉吸毒传播,78.7%(37/47)为性途径传播,6.4%(3/47)感染途径不详。

(2)耐药基因型分析结果:对47个有效pol区序列耐药基因型分析结果显示,4例样本各出现1种耐药相关的突变位点,发生率为8.5%(表1)。从传播途径来看,发生耐药突变的4例样本中,1例(YN09S0092)为注射毒品,其余3例为异性传播。

表1 耐药相关的突变位点及耐药情况

样品编号	耐药突变位点			耐药情况
	PIs	NRTIs	NNRTIs	
YN09S0035	-	T215D	-	L:AZT, D4T; P:ABC, TDF, DDI
YN09S0092	-	-	Y181C	H:DLV, NVP; I:EFV, ETR
YN09S0114	-	-	G190A	H:NVP; I:EFV; P:ETR
YN09S0129	L90M	-	-	H:NFV; I:IDV, SQV; L:ATV, FPV; P:LPV

注:H:高度耐药; I:中度耐药; L:低度耐药; P:潜在低度耐药

(3)HIV-1耐药传播水平:有4份样本出现耐药传播相关的耐药突变,流行率介于5%~15%之间,属HIV-1耐药株的中度传播水平。

3. 讨论:随着时间的推移,进入艾滋病阶段需要抗病毒治疗的人数逐年增加,监测HIV-1耐药株的发生和传播,是科学评价抗病毒治疗效果、合理调整治疗方案的有效措施。目前德宏州使用的药物包括AZT、D4T、DDI、NVP、EFV、3TC、ABC、克立芝、IDV及TDF。本次调查中,针对NNRTI的2个耐药位点Y181C和G190A,2009年在治疗艾滋

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2011.04.022

基金项目:国家“十一五”科技重大专项课题(2008ZX10001-004)

作者单位:650022 昆明,云南省疾病预防控制中心性病艾滋病预防控制中心(马艳玲、陈敏、杨莉、罗红兵、贾曼红);德宏州疾病预防控制中心(段松、姚仕堂、李艳玲、王继宝、杨锦、杨世江);陇川县疾病预防控制中心(韩文香、濮永成)

通信作者:贾曼红, Email:jmanhong@yahoo.com.cn

病患者的耐药检测都有发现,而针对PI和NRTI的2个耐药位点L90M和T215D尚未发现。提示耐药株的传播可能来源于在治患者的继发突变。

2008年北京市、河南省和湖南省等开展了HIV耐药监测,耐药突变株总体的传播水平尚处于低流行状态($<5\%$)^[3-5]。本研究耐药警戒线分析提示,2009年云南省德宏州耐药株已达中度传播水平(5%~15%),而且同时检测到了RT和PR区的耐药突变株。为应对耐药传播上升的趋势,对治疗人群的规范治疗及科学管理仍然是当前艾滋病患者治疗工作的重点。应进一步提高依从性,减少治疗患者中耐药毒株的发生,重视对接受治疗患者的行为干预,采取措施减少耐药株向新近感染人群的传播。此外,为全面了解耐药传播的情况,还需要考虑增加监测点并扩大监测地区,每年进行耐药警戒线的调查,根据监测结果决定是否进行治疗前的耐药检测。

参 考 文 献

- [1] Bennett DE, Myatt M, Bertagnolio S, et al. Recommendations for surveillance of transmitted HIV drug resistance in countries scaling up antiretroviral treatment. *Antivir Ther*, 2008, 13 Suppl 2: S25-36.
- [2] Myatt M, Bennett DE. A novel sequential sampling technique for

the surveillance of transmitted HIV drug resistance by cross-sectional survey for use in low resource settings. *Antivir Ther*, 2008, 13 Suppl 2: S37-48.

- [3] Chen X, Xing H, He JM, et al. Study on the threshold of HIV-1 drug resistance in Hunan province. *Chin J Epidemiol*, 2008, 29(8): 787-789. (in Chinese)
- 陈曦,邢辉,贺健梅,等. 湖南省HIV-1耐药警戒线调查. *中华流行病学杂志*, 2008, 29(8): 787-789.
- [4] Hei FX, Li Y, Liao LJ, et al. The prevalence of HIV-1 drug resistant strain in Beijing in 2008. *Chin J Microbiol Immunol*, 2008, 29(6): 499-502. (in Chinese)
- 黑发欣,李洋,廖玲洁,等. 2008年北京市HIV-1耐药株传播调查. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2008, 29(6): 499-502.
- [5] Yuan Y, Cao XL, Liu HW, et al. Study on the transmission of drug resistant human immunodeficiency virus-1 in Henan province. *Chin J Prev Med*, 2009, 43(11): 956-959. (in Chinese)
- 袁源,曹新良,刘宏伟,等. 河南省人类免疫缺陷病毒-1型耐药毒株的变异情况研究. *中华预防医学杂志*, 2009, 43(11): 956-959.

(收稿日期:2010-10-18)

(本文编辑:尹廉)

病毒性脑炎病例中Echo6河南分离株VP1基因特征分析

李幸乐 黄学勇 许汴利 陈豪敏 唐晓燕 杜燕华 晁灵

【关键词】 病毒性脑炎;埃可病毒

Analysis on the gene characteristics of VP1 region in Echo6 strains in Henan, China Li Xing-le¹, HUANG Xue-yong¹, XU Bian-li¹, CHEN Hao-min¹, TANG Xiao-yan¹, DU Yan-hua¹, CHAO Ling². 1 Henan Provincial Center for Disease Control and Prevention, Zhengzhou 450016, China; 2 School of Public Health, Zhengzhou University

Corresponding author: XU Bian-li, Email: xubl@hncdc.com.cn

This work was supported by grants from the Scientific and Technological Research Projects of Henan Medicine (No. 200702016) and Major Projects of Medical Science Research in Henan Province (No. 201001015).

【Key words】 Viral encephalitis; Echovirus

本研究对2008年Echo6河南分离株VP1区全基因序列

进行分析,并在此基础上对Echo6的基因特征和分子流行病学进行初步分析。

1. 材料与方法:

(1)标本来源:2008年1月至2010年10月,在开封、洛阳、新乡3地县级以上医院无菌采集诊断为病毒性脑炎病例的脑脊液标本,标本在24 h内-20℃冻存,并通过冷链送至河南省疾病预防控制中心(CDC)。

(2)病毒分离和定型:每份脑脊液标本各取100 μl接种至人横纹肌瘤细胞(RD)、人喉癌上皮细胞(Hep-2)和非洲绿猴肾细胞(Vero),分别置36℃(RD和Hep-2)和37℃(Vero)、5% CO₂培养箱培养,连续培养7 d,逐日观察并记录细胞病变(CPE)。盲传3代,未出现CPE者弃去,出现CPE者,继续盲传至出现规律CPE,收获的病毒利用肠道病毒组合血清(RIVM)进行微量板中和试验以定型^[1]。

(3)VP1区序列分析:将病变细胞反复冻融3次使病毒释放至培养液,利用天根生化科技(北京)有限公司生产的病毒基因组RNA提取试剂盒提取病毒RNA,所有操作按照说明书进行;参照文献[2],合成VP1区的2对引物:012-011、008-013,序列为:012: 5'-ATG TAY GTI CCI CCI GGI GG-3', 011: 5'-GCI CCI GAY TGI TGI CCR AA-3'; 008:

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2011.04.023

基金项目:河南省医学科技攻关项目(200702016);河南省医学科学攻关重大项目(201001015)

作者单位:450016 郑州,河南省疾病预防控制中心(李幸乐、黄学勇、许汴利、陈豪敏、唐晓燕、杜燕华);郑州大学公共卫生学院(晁灵)

通信作者:许汴利, Email: xubl@hncdc.com.cn