

涪陵区 HIV-1 主要毒株基因分型及其对耐药影响的研究

田霞 谢伶俐

(重庆大学附属涪陵医院感染性疾病科)

【摘要】目的：分析涪陵区HIV-1主要毒株基因分型及其对耐药影响。方法：选取2023年1月-2023年12月990例疾控中心发现且在治疗的HIV-1感染患者，入选患者均采集血样，进行实时荧光定量PCR检查，采用生物学软件对HIV-1基因亚型进行鉴定与统计分析，统计其中HIV RNA大于零患者数量，统计本组患者HIV RNA检测结果；并观察不同HIV-1患者淋巴细胞亚群数量；最后比较不同HIV-1基因亚型耐药点位的分布情况。结果：①本组患者HIV RNA检测结果中以Not Detected所占比重最高，其次为<30 detected、>100000、30-100，Invalid所占比重最低；②990例患者中105例患者CD4+T细胞小于200，其中以CD4⁺T淋巴细胞>200所占比重较高，其次为100-200、50-100，<50所占比重最低；③990例患者中445例患者HIV RNA大于零，在445例样本扩增基因序列中，CRF01.AE型与CRF07.BC型所占比重最高，其次是B型，CRF55.01B型所占比重最低；④不同HIV-1基因亚型耐药点位的分布情况来看，CRF01.AE型的耐药突变位点最多，其次为CRF07.BC型、CRF55.01B型，而B型耐药突变位点最少。结论：涪陵地区HIV-1主要毒株基因分型中以CRF01.AE型、CRF07.BC型占比最高，且CRF01.AE型耐药突变位点最多，因此在临床治疗中，需要密切观察CRF01.AE型患者的耐药情况，合理调整用药方案，确保治疗的有效性。

【关键词】 HIV-1感染；实时荧光定量PCR；基因分型；耐药位点；淋巴细胞亚群数量；临床治疗

Fuling District genotyping of major HIV-1 strains and their effects on drug resistance

Tian Xia Xie Lingli

Department of Infectious Diseases, Fuling Hospital, Chongqing University

[Abstract] Objective: To analyze the genotyping of HIV-1 strains in Fuling and its effect on drug resistance. Methods: 990 HIV-1 infected patients from January 2023 to December 2023 for real-time PCR, identification and statistical analysis of HIV-1 gene subtypes, the number of patients with HIV RNA exceeding zero; the number of lymphocyte subsets of different HIV-1 patients; finally, the distribution of resistance points of different HIV-1 gene subtypes was compared. Results: ① With the highest proportion of Not Detected, Next by <30 detected, > 100000, 30-100, Invalid The lowest proportion; ② 105 of 990 patients had CD4 + T cells less than 200, Among them, the proportion of CD4 + T lymphocytes> 200 was relatively high, Followed by 100 - 200, 50 - 100, <50, which accounts for the lowest proportion; ③ 445 of 990 patients had HIV RNA greater than zero, Of the 445 samples, CRF 01-AE and CRF 07-BC, Next by type B, CRF 55-01 type B is the lowest proportion; ④ Based on the distribution of drug resistance sites of different HIV-1 gene subtypes, CRF 01-AE type had the most resistant mutation sites 10, Followed by CRF 07-BC type and CRF 55-01 type B, And the least sites of type B resistance mutations. Conclusion: CRF 01-AE and CRF 07-BC have the highest proportion of HIV-1 and the most CRF 01-AE resistance mutations. Therefore, in clinical treatment, it is necessary to closely observe the resistance status of CRF 01-AE patients, and reasonably adjust the medication regimen to ensure the effectiveness of treatment.

[Key words] HIV-1 infection; real-time PCR; genotyping; drug resistance loci; lymphocyte subsets; and clinical treatment

人类免疫缺陷病毒(HIV)感染可导致艾滋病(AIDS),其可导致机体免疫功能逐步缺失,从而发生各种恶性肿瘤、感染性疾病,严重威胁患者的生命健康安全^[1]。目前HIV感染无法治愈,整体预后较差,且具有传播迅速,发病缓慢、死亡率高的特点^[2]。目前临床对于HIV感染的治疗主要是采取积极的抗病毒治疗措施,并且还需要积极治疗各种并发症,控制病毒复制情况,改善患者的临床症状,重建免疫功能,减少病毒传播,延长患者的生存时间^[3]。目前国内抗反转录病毒治疗药物较多,多数HIV感染患者采取多种药物联合用药方案^[4]。但是从实际治疗情况来看,HIV基因进化

速度快,容易出现新的耐药株,影响临床治疗效果^[5]。因此需要深入分析HIV-1主要毒株基因分型及其对耐药影响,从而为临床治疗提供有效依据,确保治疗的有效性。文章研究如下。

1.资料与方法

1.1 临床资料

选取2023年1月-2023年12月990例疾控中心发现且在治疗的HIV-1感染患者,其中男730例,女258例;年

龄为 12~82 岁，平均为 (48.08 ± 7.49) 岁。入选标准：①疾控中心免疫蛋白印迹法检测结果诊断为 HIV-1 感染；②本次研究前患者正在进行抗病毒感染治疗；③患者对研究知情并签署同意书。排除标准：①合并精神疾病的患者；②无法配合随访调查的患者。

1.2 方法

入选患者均采集 10mL 抗凝全血，进行实时荧光定量 PCR 检查，采用 RNA 试剂盒进行病毒 RNA 提取，然后扩增基因片段，PCR 产物纯化后进行基因测序，将测得序列与 HIV 基因数据库中的序列进行对比和亚型鉴定，然后将序列提交至 HIV 耐药数据库进行耐药位点对比，寻找耐药位点，然后进行血生化检查，使用流式细胞仪检测外周血 CD4⁺T 淋巴细胞数量。严格按照仪器设备及试剂盒说明书进行操作

1.3 观察指标

统计本组患者 HIV RNA 检测结果；并观察不同 HIV-1 患者淋巴细胞亚群数量；最后比较不同 HIV-1 基因亚型耐药点位的分布情况。

1.4 统计学分析

采用 SPSS22.0 统计学软件进行统计学分析，P < 0.05 时为差异有统计学意义。

2. 结果

2.1 本组患者 HIV RNA 检测结果

本组患者 HIV RNA 检测结果中以 Not Detected 所占比重最高，其次为 <30 detected、>100000，30-100 所占比重最低，见表 1。

表 1 本组患者 HIV RNA 检测结果

组别	例数	百分比
Not Detected	543	54.8
<30 detected	273	27.6
30-100	50	5.1
100-1000	70	7.1
>100000	52	5.3
合计	990	100.0

2.2 本组患者淋巴细胞亚群数量差异

990 例患者中 105 例患者 CD4⁺T 细胞小于 200，其中以 CD4⁺T 淋巴细胞 >200 所占比重较高，其次为 100-200、50-100，<50 所占比重最低，详情见表 2。

表 2 不同 HIV-1 基因亚型患者淋巴细胞亚群数量

CD4 ⁺ T 淋巴细胞 (个/uL)	例数	百分比
> 200	885	89.4
100-200	80	8.1
50-100	18	1.8
< 50	7	0.7

2.3 本组患者 HIV-1 基因分型检查结果

990 例患者中 445 例患者 HIV RNA 大于零，在 445 例样本扩增基因序列中，CRF01_AE 型与 CRF07_BC 型所占比重最高，其次是 B 型，CRF55_01B 型所占比重最低，详情见表 3

表 3 445 例患者基因分型

基因分型	例数	百分比
CRF01_AE 型	166	37.3
CRF07_BC 型	166	37.3
B 型	63	14.1
CRF55_01B 型	50	11.3

2.4 不同 HIV-1 基因亚型的性别分布情况

不同 HIV-1 基因亚型的性别分布情况来看，差异无意义 (P > 0.05)，见表 4。

表 4 不同 HIV-1 基因亚型的性别分布情况

组别	男性 (n, %)	女性 (n, %)	X ² 值	P 值
CRF01_AE 型	119 (36.2)	48 (41.4)	1.321	0.123
CRF07_BC 型	124 (37.7)	42 (36.2)	1.231	0.114
B 型	49 (14.9)	13 (11.2)	1.115	0.102
CRF55_01B 型	37 (11.2)	13 (11.2)	1.234	0.114
合计	329	116	1.635	0.154

2.5 不同 HIV-1 基因亚型患者淋巴细胞亚群数量差异

445 例患者中不同 HIV-1 基因亚型患者淋巴细胞亚群数量相比，差异无意义 (P > 0.05)，见表 5。

表 5 不同 HIV-1 基因亚型患者淋巴细胞亚群数量

组别	CD4 ⁺ T 淋巴细胞 (个/uL)
CRF01_AE 型	301.4 ± 32.5
CRF07_BC 型	278.6 ± 26.8
B 型	285.6 ± 27.8
CRF55_01B 型	288.7 ± 28.6
t 值	2.132
P 值	0.204

2.6 不同 HIV-1 基因亚型耐药点位的分布情况

不同 HIV-1 基因亚型耐药点位的分布情况来看，CRF01_AE 型的耐药突变位点最多，其次为 CRF07_BC 型、CRF55_01B 型，而 B 型耐药突变位点最少，见表 6。

表 6 不同 HIV-1 基因亚型耐药点位的分布情况 (个)

组别	P1 突变位点	NRTIs 突变位点	NNRTIs 突变位点	合计
CRF01_AE 型	8	6	4	18
CRF07_BC 型	4	4	0	8
B 型	0	0	3	3
CRF55_01B 型	2	1	2	5

3. 讨论

HIV 根据血清学分型,主要分为 HIV-1(I 型)与 HIV-2(II 型),前者是我国主要流行类型,后者则主要分布在非洲国家^[6]。HIV 的传染源为 HIV 感染者与艾滋病患者,其主要通过性传播、血液传播、母婴传播。我国人群对于 HIV 普遍易感,且多为青中年人群,尤其是男男性行为、静脉吸毒、多个性伴侣人群^[7]。有报告指出,2022 年我国新报告 HIV/AIDS 病例 10.7 万人,全国累计现存活 HIV 感染者 122.3 万例,由此可见我国 HIV 感染防控形势严峻^[8]。

HIV 感染发生后,会引起多种免疫细胞凋亡,最终导致免疫功能缺陷,从而引起各种恶性肿瘤、机会性感染的发生^[9]。HIV 感染目前无特效治疗方法,但是可以通过积极的治疗,控制病毒复制,延长患者的生存时间。但是如果不积极治疗,HIV 感染的死亡率较高^[10-11]。因此需要采取积极的治疗方案。从 HIV 感染患者的抗病毒治疗结局来看,许多患者的治疗效果不够理想,这与耐药株增多有关^[12]。HIV-1 病毒在我国广泛传播,可分为 M、N、O 组,且 M 组又分为 11 个亚型,亚型之间可通过基因序列进行划分,我国普遍流行亚型为 B 型,且存在循环重组形式,国内比较常见的亚型包括 CRF01_AE 型、CRF07_BC 型,这与文章结果一致^[13-14]。

由于 HIV-1 病毒在传播过程中容易变异,因此基因亚型分布存在一定的差异。本次研究中:445 例患者样本扩增基因序列中,CRF01_AE 型 166 例(37.3%)、CRF07_BC 型 166 例(37.3%)、B 型 63 例(14.1%)、CRF55_01B 型 50 例(11.3%)。从不同 HIV-1 基因亚型的性别分布情况来看,差异无意义($P > 0.05$),这可能是由于 HIV-1 病毒的传播途径相同,因此基因亚型分布无明显差异;不同 HIV-1 基因亚型患者淋巴细胞亚群数量相比,差异无意义($P > 0.05$),这可能是由于不同 HIV-1 基因亚型均会对人体的免疫细胞造成影响,因此淋巴细胞计数的差异不明显。耐药株感染会导致抗病毒治疗失败,容易造成 HIV 感染发病率的升高,因此需要深入分析其耐药突变情况^[15]。本次研究中:不同 HIV-1 基因亚型耐药位点的分布情况来看,CRF01_AE 型的耐药突变位点最多,其次为 CRF07_BC 型、CRF55_01B 型,而 B 型耐药突变位点最少,因此需要关注 CRF01_AE 型患者,此类基因容易发生耐药的情况。

HIV 耐药发生原因复杂,考虑与年龄、婚姻状态、治疗

方案、依从性、治疗时间、基线病毒载量水平、基线 CD4 + T 淋巴细胞计数水平等因素相关。①开始抗病毒治疗时,HIV 感染者/AIDS 患者的年龄越大,HAART 治疗失败患者发生基因型耐药的风险越大。考虑原因如下:一方面,治疗开始后,年龄较大的 HIV 感染/AIDS 患者 CD4 + T 淋巴细胞绝对数的增长低于低年龄者;另一方面,年龄大的 HIV 感染/AIDS 患者更易合并高血压、糖尿病、脑中风、冠心病等基础疾病,或并发各种机会性感染,这些疾病的发生常导致 HAART 治疗中断、服药依从性降低,此外治疗各种基础疾病的药物与抗病毒药物之间可能存在相互作用,进一步增加了患者发生耐药的风险。②已婚或同居的 HIV 感染/AIDS 患者发生耐药的风险低于未婚、离异(分居)或丧偶的患者。已婚或同居患者的日常生活较规律,且家属能够起到情感支持、督促服药的作用,患者的服药依从性较好,从而降低了患者发生耐药的风险。③有研究表明,与使用含 d4T、EFV 的治疗方案比较,使用含 AZT、TDF 或 NVP 治疗方案的患者发生耐药的风险更高,这可能是因为药物的毒副作用会影响服药依从性,从而间接影响耐药的发生。④良好的服药依从性能维持患者体内的药物浓度水平,从而达到对完全抑制病毒复制、减少耐药株出现的目的。⑤由于 HIV 的反转录酶缺乏校对功能,易导致复制链发生碱基错配,使得患者体内出现复杂混合的病毒准种;随后在药物选择压力下,耐药毒株成为体内的优势毒株,并逐渐形成对一种或者多种药物产生耐药的现象。因此,随着治疗时间的延长,耐药的发生风险也在不断增高。⑥HAART 能最大限度地减少病毒载量,并将其维持在检测不到的水平,使患者的免疫功能得以维持或重建,从而延长其生存时间并提高生活质量。但治疗前体内的病毒载量越高,治疗达到病毒抑制所需的时间也越长;而治疗时间越长,患者体内产生抗药性的可能性就越大,发生耐药的风险也就越高。⑦CD4 + T 淋巴细胞计数基线水平越低,耐药发生风险越高。基线 CD4 + T 淋巴细胞计数高的患者发生机会性感染等疾病的风险较低,因此患者的精神、睡眠、生活质量得以保障,服药依从性也较高;而严格按时、按量服药能保证治疗方案长期、有效地应用,从而防止 HIV 耐药的出现。

综上所述,涪陵地区 HIV-1 主要毒株基因分型中以 CRF01_AE 型、CRF07_BC 型占比最高,且 CRF01_AE 型耐药突变位点最多,因此在临床治疗中,需要密切观察 CRF01_AE 型患者的耐药情况,合理调整用药方案,确保治疗的有效性。

参考文献:

- [1]高占,陈立,刘正敏,等.北京市一例 HIV-1 独特型重组毒株近全长基因组特征分析[J].国际病毒学杂志,2022,29(6):467-472.
- [2]张文娟,杨学刚,张雨辰,等.保定市 1 株新型 HIV-1 重组毒株的近似全长基因组鉴定分析[J].传染病信息,2023,36(2):103-107.