

江苏省艾滋病患者 HIV-1 耐药株的流行及影响因素研究

肖占沛¹, 郭宏雄², 还锡萍², 傅更锋², 徐晓琴², 胡海洋², 杨传坤¹, 羊海涛^{2*}

(¹东南大学公共卫生学院, 江苏 南京 210009; ²江苏省疾病预防控制中心, 江苏 南京 210009)

[摘要] **目的:**了解江苏省艾滋病患者的耐药性,并探讨其影响因素。**方法:**以正在接受抗病毒治疗的艾滋病患者为研究对象,整群抽取了 1 022 人,对其进行问卷调查和血液采集,采用基因型耐药分析法对其进行耐药性检测。**结果:**共 877 名研究对象被纳入分析,人类免疫缺陷病毒(HIV-1)毒株总耐药率为 6.50%。CD4 水平低、独居、收入水平低、感染时间长、抗病毒治疗时间长和最近 1 个月出现 HIV 相关临床症状等因素是 HIV-1 耐药毒株产生的危险因素。**结论:**江苏省抗病毒治疗人群目前耐药率处于较低水平,但耐药个体核苷类逆转录酶抑制剂(NRTI)和非核苷类逆转录酶抑制剂(NNRTI)双重耐药突出;应多关注病程较长、抗病毒治疗时间较长、身体免疫状况较差、收入水平较低、居住状况不稳定的患者,增加 CD4 检测和耐药检测的频率,以尽早发现耐药情况,降低耐药毒株的发生和传播,提高抗病毒治疗的疗效,进而减少艾滋病患者的死亡。

[关键词] HIV-1; 药物耐受性; 影响因素

[中图分类号] R181.13

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-4368(2012)09-1314-06

Drug resistance of HIV-1 strain and its associated factors in AIDS patients in Jiangsu province

XIAO Zhan-pei¹, GUO Hong-xiong², HUAN Xi-ping², FU Geng-feng², XU Xiao-qin², HU Hai-yang², YANG Chuan-kun¹, YANG Hai-tao^{2*}

(¹The School of Public Health, Southeast University, Nanjing 210009; ²Jiangsu Provincial Center for Diseases Prevention and Control, Nanjing 210009, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the prevalence of human immunodeficiency virus-1(HIV-1) drug resistance and related factors in acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) patients in Jiangsu province. **Methods:** One thousand and twenty-two AIDS patients who received antiretroviral therapy were recruited with cluster sample method in this study. All participants were asked to complete a questionnaire. The mutation of HIV drug resistance was determined through sequencing pol gene of HIV-1. **Results:** A total of 877 subjects were enrolled in the analysis. The total drug resistance rate was 6.50%. The prevalence of HIV drug resistance in AIDS patients with low level of CD4 cells in blood, solitary, low income level, long infection time, long treatment time and having HIV-related clinical symptoms is higher than others. **Conclusion:** The prevalence of HIV-1 drug resistance in AIDS patients receiving antiretroviral therapy was low in Jiangsu. However, among AIDS patients who are resistant to antiviral drug, most of them are resistant to NRTIs and NNRTIs which are two kinds of drugs in first-line antiviral therapy. More attention should be paid to the patients who were with long infection time, long treatment time, low income level, poor state of the body's immune and living in unstable. It is necessary to increase the testing frequency of viral load and drug resistance as early as possible in order to reduce the death of AIDS.

[Key words] HIV-1; drug resistance; associated factors

[Acta Univ Med Nanjing, 2012, 32(9): 1314-1319]

[基金项目] 江苏省社会发展计划资助(BE2009685);江苏省自然科学基金(BK2009432, BK2009435);江苏省医学重点人才资助(RC2011083, RC2011086, RC2011087)

*通讯作者, E-mail: yht@jscdc.cn

高效抗逆转录药物治疗(HAART)的出现使艾滋病的治疗出现革命性的转变,但随着 HAART 的推广,人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)的耐药问题日益显现。国外研究证明,耐药变异是导致临床抗病毒治疗失败的主要原因^[1],

而 HIV-1 耐药性与病毒基因组的高度变异特性、药物的选择压力、机体的免疫压力、药代动力学因素和服药依从性等多种因素有关^[2-4]。本研究拟通过对江苏省艾滋病治疗人群进行耐药变异检测和流行病学调查,全面了解江苏省 HIV 耐药毒株的流行情况,分析影响 HIV 耐药的相关因素,为江苏省有效开展抗病毒治疗,进而减少艾滋病患者的死亡提供参考依据。

1 对象与方法

1.1 对象

以江苏省 2011 年 7 月底所能监测到的艾滋病患者为研究对象,结合 2011 年 3 月份江苏省疾病预防控制中心病毒载量检测工作,采用整群抽样的方法,抽取了正在接受抗病毒治疗的艾滋病患者共 1 022 例。

1.2 方法

1.2.1 现场调查

由经过培训的专职艾滋病(AIDS)流调医务人员使用自行设计的调查表进行问卷调查,通过逐一访谈的方式了解患者的一般人口学特征、身体健康状况、抗病毒治疗和服药情况等。同时,采集 10 ml 经 EDTA 抗凝的静脉血,于 24 h 内送至指定的实验室,进行 CD4⁺ T 淋巴细胞测定,经常规离心分离血浆,分装后冻存于-80℃。

1.2.2 CD4⁺ T 淋巴细胞测定

用流式细胞仪(美国 BECTON DICKINSON 公司)及相应的试剂盒对 CD4⁺ T 淋巴细胞进行分类计数。

1.2.3 病毒载量测定

以 200 μl 血浆采用标准版模板制备法提取 RNA,采用 HIV-Monitor 1.5 Version commercial kit(美国 Roche 公司)在 COBAS AMPLICOR 自动载量仪上测定病毒载量。检测范围为 400~750 000 U/ml。

1.2.4 耐药株基因变异的测定

参照基因型耐药检测标准,对 HIV RNA > 1 000 U/ml 的病例进行虚拟表型基因分析。检测使用 QIAamp Viral RNA Mini Kit 试剂盒,提取血浆中 HIV-1 RNA;采用巢式 PCR 扩增编码 HIV 蛋白酶区和逆转录酶的 pol 区基因片段,使用引物包括:MAW26(外侧上游引物)、RT21(外侧下游引物)、Pro-1(内侧上游引物)、RT20(内侧下游引物)、扩增产物纯化回收后,以 Pro-1、RTA、RTB、RT20、ProCl-down 作为测序引物,在 ABI3730 测序仪上进行核苷

酸序列测定。采用 Contig Express 软件处理原始核苷酸序列,参照测序谱图进行基因序列的编辑,将编辑好的序列提交到“<http://hivdb.stanford.edu/>”网站,分析蛋白酶区和部分逆转录酶区的变异及相关的耐药位点。

1.3 统计学方法

调查结果采用 EpiData3.02 软件进行双轨录入和双人核对,采用 SPSS13.0 软件进行检验,非条件 Logistic 回归模型分析 HIV-1 耐药的相关因素。

2 结果

2.1 HIV-1 毒株耐药性分析

本次调查共发放问卷 1 022 份,回收问卷 930 份(回收率为 91.0%),有效问卷 877 份(有效率为 94.3%),其中病毒载量 > 1 000 U/ml 的有 149 例,经过扩增和测序,共获得 108 例患者的 pol 区序列,有 57 例患者至少对 1 种抗病毒药物产生低度以上耐药,总耐药率为 6.5%(57/877);在 57 例耐药者中,针对核苷类逆转录酶抑制剂(NRTIs)的耐药 44 例,针对非核苷类逆转录酶抑制剂(NNTRIs)的耐药 54 例,对 NRTIs 和 NNTRIs 的双重耐药有 41 例,未发现针对蛋白酶抑制剂(PIs)的耐药现象;其中耐药位点 M184V 和 G190A 出现频率最高,分别为 28.07%(16/57)和 26.32%(15/57)。

2.2 HIV-1 耐药性影响因素分析

2.2.1 HIV-1 毒株耐药性与一般人口学特征的关系

将患者按不同年龄、性别、婚姻状况、体重、身高、民族、文化程度、居住状况、职业、月收入水平、传播途径等特征分组,采用检验的方法,比较各组艾滋病患者的耐药率。结果显示:不同性别、婚姻状况、体重、民族、文化程度、职业的艾滋病患者的耐药率差异无统计学意义,而年龄较小、身高较矮、母婴传播、独居和月收入水平较低的人群其耐药率较其他组高,且差异有统计学意义($P < 0.05$,表 1)。

2.2.2 HIV-1 毒株耐药性与身体免疫状况、抗病毒治疗情况和服药依从性等的关系

将患者按不同 CD4 水平、感染时间、抗病毒治疗时间、抗病毒治疗方案、最近 1 个月的临床症状、服药情况、安全套使用情况等变量分组,采用检验的方法,比较各组艾滋病患者中的耐药率(表 2)。

2.2.3 多因素的非条件 Logistic 耐药分析

单因素分析发现:年龄、身高、传播途径、居住状况、月收入水平、CD4 水平、感染时间、抗病毒治疗时间、抗病毒治疗方案和最近 1 个月出现 HIV 相关

表1 HIV-1 耐药性与一般人口学特征的关系

Table 1 The relationship between HIV-1 drug resistance and demographic characteristics

特征	n	耐药数	耐药率(%)	χ^2 值	P 值(双侧)
年龄(岁)					
< 20	13	3	23.1	10.259	0.016
20~40	405	23	5.7		
40~60	405	24	5.9		
> 60	54	7	13.0		
身高(cm)					
< 140	5	2	40.0	10.538	0.015
140~160	183	11	6.0		
160~180	674	42	6.2		
> 180	15	2	13.3		
传播途径					
同性传播	260	10	3.8	20.147	0.001
异性传播	462	36	7.8		
血液传播	107	4	3.7		
母婴传播	8	3	37.5		
毒品注射	18	1	5.6		
不详	22	3	13.6		
居住状况					
独居	226	35	15.5	47.998	0.000
与配偶一起	430	7	1.6		
与配偶外的亲人一起	185	14	7.6		
与非家庭成员一起	36	1	2.8		
月收入水平(元)					
< 1 000	325	40	12.3	28.843	0.000
1 000~2 000	266	7	2.6		
2 000~3 000	166	6	3.6		
> 3 000	120	4	3.3		

临床症状、药物漏服及未坚持使用安全套是 HIV-1 耐药毒株产生的影响因素。但身高对 HIV 耐药发生的影响只是年龄对耐药发生影响的一个表象,是一个混杂因素;同时,有无漏服药物与服药比例具有相关性,是关于依从性质和量的两个问题,留其一即可,所以在多因素分析中,除去了身高和服药比例两个因素。以发生耐药为应变变量,以研究对象的年龄、传播途径、居住状况、月收入水平、CD4 水平、HIV 的感染时间、最近 1 个月出现临床症状、药物漏服率、安全套坚持使用率为自变量,采用 Forward:LR 法进行非条件 Logistic 回归分析,表 3 为各因素赋值表。结果显示,CD4 水平低、独居、收入水平低、感染时间长、抗病毒治疗时间长和最近 1 个月出现临床症状是 HIV-1 耐药毒株产生的危险因素(表 4)。

3 讨论

本研究是江苏省首次较系统地关于 HIV 耐药影响因素开展的大规模调查,调查结果显示,江苏省

抗病毒治疗患者的总耐药率为 6.5%(57/877)。而何卫华等^[5]于 2004 年对湖北 109 例抗病毒治疗患者的研究表明,该人群 HIV-1 毒株总耐药率为 53.3%。河南地区的研究显示,在接受抗病毒治疗的患者中,HIV-1 毒株总耐药率为 38.1%^[6]。陈琳等^[7]研究表明,2009 年浙江 273 例抗病毒治疗者 HIV-1 毒株总耐药率为 7.7%。由此可见,江苏省的 HIV 耐药率低于上述研究结果,这可能与江苏省抗病毒治疗管理完善、医务人员工作认真、患者依从性较高等有关,同时,也可能与江苏省开展抗病毒治疗较晚,患者用药时间相对较短有关,另外,也可能与江苏省的经济发展水平相对较高有关。在本研究中,抗病毒治疗患者出现了 NRTIs 和 NNTRIs 双重耐药的现象。这可能与江苏省抗病毒治疗治疗方案主要使用两种核苷类和一种非核苷类联合用药有关,当前我省的抗病毒治疗药物主要有艾非那韦(EFV)、齐多夫定(AZT)、拉米夫定(3TC)、司他夫定(D4T)、奈韦拉平(NVP),抗病毒治疗方案包括有以下 4 种:EFV+

表 2 HIV-1 耐药性与身体免疫状况、抗病毒治疗和服药情况等的关系

Table 2 The relationship between HIV-1 drug resistance and the immune status, anti-viral treatment and drug situation of patients

变量	n	耐药数	耐药率(%)	χ^2 值	P 值(双侧)
CD4 水平(个/ml)					
<200	218	31	14.2	28.525	0.000
200~400	399	15	3.8		
400~600	185	8	4.3		
>600	75	3	4.0		
最近 1 个月临床症状					
有	72	10	13.9	6.881	0.009
无	797	47	5.9		
最近 1 个月的漏服情况					
有	92	11	12.0	5.037	0.028
无	785	46	5.9		
最近 1 个月按时服药的比例					
>90%	833	51	6.1	8.398	0.038
75%~90%	27	2	7.4		
50%~75%	8	2	25.0		
<50%	9	2	22.2		
最近 1 个月坚持使用安全套					
是	261	10	3.8	4.353	0.037
否	616	47	7.6		
感染 HIV 的大约时间(y)					
1	36	1	2.8	10.945	0.027
2	113	2	1.8		
3	157	6	3.8		
4	106	7	6.6		
≥ 5	465	41	8.8		
抗病毒治疗时间(y)					
<1	146	5	3.4	16.172	0.006
1~2	306	19	6.2		
2~3	164	9	5.5		
3~4	96	4	4.2		
4~5	76	6	7.9		
≥ 5	89	14	15.7		
抗病毒治疗方案					
EFV+AZT+3TC	161	5	3.1	9.028	0.029
EFV+D4T+3TC	129	6	4.7		
NVP+AZT+3TC	392	36	9.2		
NVP+D4T+3TC	195	10	5.1		

EFV: 艾非那韦; AZT: 齐多夫定; 3TC: 拉米夫定; D4T: 司他夫定; NVP: 奈韦拉平。

AZT +3TC、EFV +D4T +3TC、NVP +AZT +3TC、NVP +D4T+3TC。

耐药性是指病毒对某种药物敏感性降低,抑制 50%或 90%病毒生长的药物浓度上升几倍至几十倍以上^[8]。例如, AZT 抑制敏感的野型 HIV-1 的半数有效浓度(IC₅₀) 为 0.01~0.05 $\mu\text{mol/ml}$, 而高度耐受毒株的 IC₅₀ 则高达 1 mmol/ml 以上。HIV 出现耐药性是其基因的高度变异性和药物选择压力共同作用

的结果。多项研究表明, HIV-1 耐药毒株产生的影响因素包括: 病毒自身变异、患者的身体免疫状况、服药依从性、抗病毒治疗方案、治疗时间、职业、文化程度、婚姻状况, 与年龄、种族和性别没有相关性, 对感染途径和病毒基因亚型对耐药的影响没有统一结论^[2-4, 6-7, 9-12]。

本研究结果显示: 感染时间长、抗病毒治疗时间长和有药物漏服现象的人群, 其耐药率较高, 这与前

表 3 HIV-1 耐药影响因素非条件多元 Logistic 回归的主要研究因素及赋值方法

Table 3 The main factors and assignment methods the multivariate logistic regression analysis

变量名称	水平	赋值
耐药	是/否	1/0
年龄(岁)	≤19/20~39/40~59/≥60~	1/2/3/4
传播途径	异性传播/同性传播/血液传播/母婴传播/毒品注射/不详	设哑变量
居住状况	独居/与配偶住/与配偶外的亲人住/与非家庭成员住	设哑变量
月收入水平(元)	<1 000/1 000~2 000/2 000~3 000/>3 000	1/2/3/4
CD4 水平(个/ml)	<200/200~400/400~600/>600	1/2/3/4
感染时间(年)	<1/1~2/2~3/3~4/>4	1/2/3/4/5
治疗时间(年)	<1/1~2/2~3/3~4/4~5/>5	1/2/3/4/5/6
抗病毒治疗方案	EFV+AZT+3TC/EFV+D4T+3TC/NVP+AZT+3TC/NVP+D4T+3TC	设哑变量
漏服药物	有/无	1/2
坚持使用安全套	是/否	1/2
未出现临床症状	是/否	1/2

表 4 HIV 耐药影响因素非条件多元 Logistic 回归

Table 4 The multivariate logistic regression analysis of risk factors of HIV-1 drug resistance

变量	回归系数	标准误	OR(95%CI)	P 值
CD4 ⁺ T 细胞水平	-0.770	0.191	0.463(0.318,0.673)	0.000
居住状况				
独居	-	-	-	-
与配偶一起	-2.808	0.452	0.060(0.025,0.146)	0.000
与配偶外的亲人一起	-0.987	0.367	0.373(0.182,0.764)	0.007
与非家庭成员一起	-1.803	1.062	0.165(0.021,1.320)	0.089
月收入	-0.645	0.175	0.525(0.373,0.739)	0.000
感染时间	0.431	0.158	1.538(1.129,2.096)	0.006
最近 1 个月无临床症状	1.082	0.448	2.950(1.227,7.091)	0.016
抗病毒治疗时间	0.204	0.098	1.226(1.012,1.486)	0.037

面的结论^[6-7,9-12]相符。随着抗病毒治疗时间和病程的延长,耐药率会变高,这与长时间的药物选择压力有关^[13];同时,随着治疗时间的延长,服药依从性也降低。在河南的调查发现,患者的服药依从性由服药 3 个月时的 78.8%下降到服药 6 个月后的 33.9% ($P < 0.005$)^[14]。以往的研究还表明耐药的产生和患者的机体免疫状况有关^[13],在本研究中,也发现 CD4 水平较低和出现 HIV 相关临床症状的人群其耐药率较高,但是否是由于这部分患者身体健康状态较差引起的耐药,还有待进一步的研究。

同时,在本研究中我们发现独居和月收入水平较低的人群其耐药率较高,这与前面的研究结论^[6-7,9-12]不同,独居人群的耐药率较高的现象可能与服药依从性相关,诸多研究显示,家庭及朋友的社会支持能帮助 HIV 感染者克服被歧视的心理障碍和服药过程中的不良反应,增强他们克服疾病的信心,提高服药依从性^[15-18],从而减少 HIV 耐药毒株的发生。Gordillo 等^[15]的研究也显示,居住和工作状况

对依从性有影响,居住较稳定和有稳定收入的人群其依从性较好。同时,家庭收入较低的人群,因经济因素所限,其生活质量必然不高,其身体健康状况就可想而知,身体健康状况较差的人群,其耐药率较高,所以,家庭收入对耐药的影响是多因素的作用,其原因还有待进一步的研究。

本研究是结合江苏省疾病预防控制中心 2011 年 3 月份病毒载量检测工作一起开展的,所以,本文选择了整群抽样法,故问卷回收率仅达到了 91.0%;同时,本研究为横断面调查,无法进行因果先后关系的判定,所以,需要设计精确的队列研究进一步验证本研究的结果。

目前,江苏省抗病毒治疗患者耐药率处于较低水平,但耐药突变出现双重耐药现象,应多关注病程较长、身体健康状况较差、收入水平较低和居住状况不稳定的患者,增加 CD4 检测和耐药检测的频率,以尽早发现耐药情况,降低耐药毒株的发生和传播,提高抗病毒治疗的疗效,进而较少艾滋病患者的死亡。

[参考文献]

- [1] Vandamme AM, Van Laethem K, De Clercq E. Managing resistance to anti-HIV drugs: an important consideration for effective disease management [J]. *Drugs*, 1999, 57 (3): 337-361
- [2] Kuritzkes DR. Preventing and managing an tire troviral drug resistance [J]. *AIDS Patient Care STDs*, 2004, 18 (5): 259-273
- [3] Carlson JM, Brumme ZL. HIV evolution in response to HLA-restricted CTL selection pressures: a population based perspective [J]. *Microbes Infect*, 2008, 10 (5): 455-461
- [4] Hsu A, Isaacson J, Brun S, et al. Pharmacokinetic-pharmacodynamic analysis of lop in avir-ritonavir in combination with efavirenz and two nucleoside reverse transcriptase inhibitors in extensively pretreated human immunodeficiency virus-infected patients [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2003, 47(1): 350-359
- [5] 何卫华, 周沛林, 何华仙, 等. 艾滋病病毒耐药性及其影响因素的研究[J]. *疾病控制杂志*, 2006, 10(3): 259-261
- [6] 朱新朋, 刘宏伟, 田随安, 等. 河南艾滋病病毒基因型耐药检测研究[J]. *中国卫生检验杂志*, 2009, 19(6): 1324-1326
- [7] 陈琳, 潘晓红, 杨介者, 等. 浙江省 273 名抗病毒治疗患者 HIV-1 毒株耐药性及其影响因素研究 [J]. *疾病监测*, 2010, 25(11): 869-873
- [8] Angarano G, Monno L. Genotype and phenotype resistance: an overview [J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2000, 14(1): 11-14
- [9] 王艳, 邢辉, 王哲, 等. 河南省某县 HIV 感染者耐药性影响因素分析 [J]. *中国公共卫生*, 2007, 23(7): 803-805
- [10] 张曼, 胡清海, 程华, 等. 中国部分地区人免疫缺陷病毒耐药及其影响因素分析 [J]. *中国实用内科杂志*, 2007, 27(12): 942-944
- [11] 朱新朋, 李宏, 刘宏伟, 等. 河南省接受抗病毒治疗的艾滋病患者耐药性及 CD4⁺ T 淋巴细胞计数影响因素的研究 [J]. *中华流行病学杂志*, 2008, 29 (12): 1181-1184
- [12] 苏齐鉴, 周平, 闭志友. 抗病毒治疗艾滋病患者 HIV-1 耐药性影响因素[J]. *中国公共卫生*, 2010, 26(4): 438-441
- [13] Jackson JB, Becker-Pergola G, Gauay LA, et al. Identification of the K103N resistance mutation in Ugandan women receiving nevirapine to prevent HIV-1 vertical transmission[J]. *AIDS*, 2000, 14(11): F111-F115
- [14] 李宏, 王哲, 崔为国, 等. 艾滋病感染者抗病毒治疗的服药依从性及其相关因素的研究[J]. *中华流行病学杂志*, 2005, 26(7): 507-510
- [15] Gordillo V, del Amo J, Soriano V, et al. Sociodemographic and psychological variables influencing adherence to antiretroviral therapy[J]. *AIDS*, 1999, 13(13): 1763-1769
- [16] Duran S, Spire B, Raffi F, et al. Self-reported symptoms after initiation of a protease inhibitor in HIV-infected patients and their impact on adherence to HAART [J]. *HIV Clin Trials*, 2001, 2(1): 38-45
- [17] Murri R, Ammassari A, Gallicano K, et al. Patient-reported nonadherence to HAART is related to protease inhibitor levels[J]. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2000, 24 (2): 123-128
- [18] Catz SL, Kelly JA, Boqart LM, et al. Patterns, correlates, and barriers to medication adherence among persons prescribed new treatments for HIV disease [J]. *Health Psychol*, 2000, 19(2): 124-133

[收稿日期] 2011-12-05