

## · 临床论著 ·

# HIV-1 基因型、假病毒表型与活病毒表型耐药检测结果的比较

杨婧 耿文清 张旻 韩晓旭 崔华露 孙宏 尚红

**【摘要】 目的** 本研究旨在探讨 HIV-1 基因型、假病毒表型与活病毒表型耐药检测结果间的差异。**方法** 采用逆转录和套式 PCR 方法检测 4 例 HIV-1 阳性患者逆转录酶与蛋白酶的编码区基因变异,并与假病毒表型及活病毒表型耐药检测结果相比较,分析三者间的差异。**结果** 基因型耐药结果和活病毒表型耐药相比较存在不一致的情况,其中去羟肌苷:100% 不一致,司他夫定:50% 不一致,齐多夫定:25% 不一致,依非韦伦和拉米夫定的结果 100% 一致。假病毒与活病毒表型方法分别检测两株病毒对五种药物的表型耐药,共得到 10 个结果,其中 9 个结果在耐药解释及耐药程度上均高度一致,仅一株病毒对于齐多夫定的耐药结果存在程度上的差异(假病毒方法为中度耐药,而活病毒方法为高度耐药)。**结论** HIV-1 基因型与表型耐药检测结果存在差异,假病毒表型与活病毒表型耐药检测方法结果高度一致,存在替代活病毒方法的可能。

**【关键词】** 人类免疫缺陷病毒 1 型; 耐药; 基因型; 假病毒表型; 活病毒表型

**Comparison of genotype, pseudovirus phenotype and native virus phenotype of HIV-1 resistance**  
YANG Jing\*, GENG Wenqing, ZHANG Min, HAN Xiaoxu, CUI Hualu, SUN Hong, SHANG Hong. \*Key Laboratory of AIDS Immunology of National Health and Family Planning Commission, Department of Laboratory Medicine, the First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, China; \*Infection Control Department, General Hospital of Shenyang Military Area Command, Shenyang 110840, China

Corresponding author: SHANG Hong, Email: hongshang100@yeah.net

**【Abstract】 Objective** To investigate the difference among HIV-1 genotype, pseudovirus phenotype and native virus phenotype resistance results. **Methods** The gene mutation in reverse transcriptase and protease coding region of HIV-1 positive patients was detected by reverse transcription and nested PCR. The difference among genotype resistance, pseudovirus phenotype and native virus phenotype results was compared and analyzed. **Results** There was discordance between genotype and native virus phenotype resistance: didanosine: 100%, 2'-3'-dideohydro-2'-3'-dideoxythymidine: 50%, azidothymidine: 25%. It was 100% consistent for efavirenz and lamivudine. Pseudovirus and native virus phenotype resistance were detected in two strains for five kinds of drugs and the results were highly consistent. **Conclusions** There was difference between HIV-1 genotype and phenotype resistance results and high consistency between pseudovirus phenotype and native virus phenotype resistance results. The pseudovirus phenotype could be an alternative method for native virus phenotype.

**【Key words】** Human immunodeficiency virus-1 (HIV-1); Resistance; Genotype; Pseudovirus genotype; Native virus phenotype

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2014.03.002

基金项目: 国家十二五重大专项基金项目 (No. 2012ZX10001-006)

作者单位: 110001 沈阳市, 中国医科大学附属第一医院检验科卫计委艾滋病免疫学重点实验室(杨婧、耿文清、张旻、韩晓旭、崔华露、孙宏、尚红); 沈阳军区总医院感染控制科(杨婧)

通讯作者: 尚红, Email: hongshang100@yeah.net

艾滋病是威胁人类健康的重大传染性疾病,尚无治愈方法。高效抗逆转录病毒治疗 (highly active antiretroviral therapy, HAART) 是目前最有效治疗艾滋病并控制人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV) 传播的方法。然而,随着 HAART 的广泛应用, HIV-1 耐药日趋严重,已成为降低 HAART 临床治疗效果的最主要原因<sup>[1]</sup>。HIV-1 耐药性检测方法主要有基因型检测和表型检测两种。在本课题组前期研究中发现,假病毒表型耐药检测更适用于复杂耐药位点的耐药性检测。为明确假病毒进行表型耐药检测的结果与活病毒是否一致,两种表型耐药检测结果与基因型耐药检测结果间的差异,本研究对同一个体进行了基因型耐药、假病毒表型耐药与活病毒表型耐药检测,以明确3种方法间的异同,并用活病毒表型耐药检测方法验证假病毒表型耐药方法的有效性。

## 资料和方法

### 一、研究对象

4例病毒学失败的艾滋病患者 HIV-1 阳性标本采自门诊随访病例,经本实验室蛋白印迹法试验确认。入组患者均为男性,年龄分布为27~45岁,传播途径为性传播。其中3例为B'亚型,1例为CRF01\_AE亚型。乙二胺四乙酸二钾管采集 HIV-1 感染者的外周静脉血,50 μl 用于测定 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞数,全血经离心分离血浆,分装后-80℃冻存,用于基因型耐药、假病毒表型耐药及病毒载量测定。剩余全血提取外周血单个核细胞 (peripheral blood mononuclear cell, PBMC) 用于活病毒表型耐药检测。3例治疗患者治疗时间均>24周(其中300130和300494号患者治疗时间均>3年),病毒载量仍>400拷贝/ml,符合病毒学治疗失败标准。1例患者经基因型耐药检测发现为 HIV-1 原发耐药。

### 二、主要仪器和试剂

PE9600 PCR 仪 (PE, 美国), 电泳仪 (BIORAD, 美国), 全自动凝胶成像仪 (Tocan, 中国), CO<sub>2</sub> 培养箱 (THERMO, 德国), 荧光倒置显微镜 (Nikon, 日本), Glomax 检测系统 (Promega, 美国), II 级生物安全柜: (NEWAIR, 美国), 离心机 (Beckman, 美国), 细胞计数仪 (NucleoCounter, 丹麦)。

病毒 RNA 提取试剂盒 (QIAgen, 德国), RT-PCR 试剂盒 (TaKaRa, 大连宝生物工程有限公司), PCR 试剂 (Promega, 美国), PCR 引物: 北京博

迈德生物工程有限公司合成。琼脂粉 (Invitrogen, 美国), DNA 分子量标准 (Takara, 大连宝生物), PCR 产物回收试剂盒 (QIAgen, 德国), 抗病毒治疗药物 (东北制药总厂), p24 检测试剂 (BioMerieux, 法国), RPMI1640 液体培养基 (GIBCO, 美国), 新生牛血清 (GIBCO, 美国), TZM-BI 细胞由本实验室保存。

### 三、主要方法

1. CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞的测定: 采用美国 BECTON DICKINSON 公司的流式细胞仪 (FACSCALIBUR) 测定 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup> T 淋巴细胞绝对值, 将20 μl CD4/CD8/CD3 TRITEST 试剂加入 CD4 绝对计数管中, 加入50 μl 抗凝血, 室温避光15 min, 加入免洗溶血素450 μl, 室温避光15 min, FACS MULTISSET 软件检测并进行自动分析。

2. 病毒载量 (viral load, VL) 测定: 以200 μl 血浆采用标准版模板制备法提取核糖核酸 (ribonucleic acid, RNA), 采用 Roche 公司 HIV-1 Monitor 1.5 Commercial Kit 在 COBAS AMPLICOR 自动载量仪上以反转录-聚合酶链反应 (reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR) 方法测定病毒载量。检测范围为400~750 000 拷贝/ml。

3. 基因型耐药的测定: 提取病毒 RNA, 扩增 HIV-1 蛋白酶 1~99 氨基酸和逆转录酶 1~240 氨基酸的编码区序列。RT-PCR 反应体系: 0.5 μl 上下游引物 yp-1 (5' 外侧): GCAAGAGTTTGGCTGAAGCAATGAG (HXB2 位置1867-1892); yp-2 (3' 外侧): CCTTGCCCCTGCTTCTGTATTTCTGC (HXB2 位置3528-3553), MgCl<sub>2</sub> 5 μl (25 mmol/L), 10× RNA PCR Buffer 2.5 μl, dNTP 混合物2.5 μl (10 mmol/L), AMV 逆转录酶0.5 μl, Taq 酶0.5 μl, RNA 酶抑制剂0.5 μl, 无 RNA 酶去离子水7.5 μl, 5 μl 提取的 RNA 模板, 反应体积为25 μl, 反应条件为: 50℃ 30 min, 94℃ 5 min, 1个循环。94℃ 30 s, 55℃ 30 s, 72℃ 2 min 30 s, 30个循环。72℃ 延伸10 min。

套式 PCR: 内侧引物 yp-3 (5' 内侧): TGCAGGGCCCTAGGAAAAGGGCTG (HXB2 位置2002-2027); yp-4 (3' 内侧): CATGTACCGGTTCTTTCAGAATTTCCCTGTT (HXB2 位置3465-3495) 各1 μl。5' 和3' 内侧引物分别包含 *Apa* I 和 *Age* I 酶切位点。5× Buffer 10 μl, (500 mmol/L KCl, 25 mmol/L MgCl<sub>2</sub>), Promega

Taq酶0.5  $\mu\text{l}$  (5 U/ $\mu\text{l}$ )，高压去离子水31.5  $\mu\text{l}$ ，dNTP混合物1  $\mu\text{l}$  (10 mmol/L)，模板5  $\mu\text{l}$ ，反应体积为50  $\mu\text{l}$ 。反应条件：94  $^{\circ}\text{C}$  5 min，1个循环；94  $^{\circ}\text{C}$  30 s，55  $^{\circ}\text{C}$  30 s，72  $^{\circ}\text{C}$  2 min 30 s，35个循环；72  $^{\circ}\text{C}$  延伸10 min。PCR产物送北京博迈德公司测序。

4. 软件处理及分析：Contig 软件处理原始核苷酸序列，参照测序谱图进行基因列修订后，转换为氨基酸序列，将序列与 Stanford HIV Drug Resistance database (<http://hivdb.stanford.edu/hiv/>) 中的参考株序列进行比较，发现耐药变异的位置和种类。

5. 构建假病毒：将 PCR 反应产物纯化后构建 TA 克隆，再将含患者来源的 pol 基因片段的 TA 克隆质粒与 pNL4-3-dE-EGFP 质粒同时进行 *Apa* I / *Age* I 双酶切后进行连接反应，获得的嵌合质粒与 pVSV-G 质粒通过 Eugene HD 转染试剂共转染 293T 细胞，37  $^{\circ}\text{C}$  培养 48 h 获得功能性假病毒。

6. 活病毒分离：HIV-1 感染者 PBMC 用 Ficoll-Hypaque 密度梯度分层液分离，并与至少两个健康人的经植物血凝素 (phytohemagglutinin, PHA) (5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , Sigma, USA) 刺激 2 ~ 3 d 的 PBMC 共培养复制病毒。每 3 ~ 4 d 换液 1 次，每 7 d 添加 1 次经 PHA 刺激生长 3 d 的正常 PBMC。定期对培养细胞上清中的病毒 p24 抗原含量进行检测，按照说明书操作，对检测阳性的病毒进行扩大培养。所分离的病毒冻存于液氮中备用。

7. 表型耐药性检测：在 96 孔板中加入不同浓度的药物（齐多夫定：5、1、0.1、0.01、0.001  $\mu\text{mol}/\text{L}$ ；去羟肌苷：25、5、1、0.1、0.01  $\mu\text{mol}/\text{L}$ ；司他夫定：5、1、0.1、0.01、0.001  $\mu\text{mol}/\text{L}$ ；拉米

夫定：5、1、0.1、0.01、0.001  $\mu\text{mol}/\text{L}$ ；依非韦仑：5、1、0.1、0.01、0.001  $\mu\text{mol}/\text{L}$ ），每个稀释度作 3 个复孔。加入 200 TCID<sub>50</sub>（半数组织培养感染剂量，50% tissue culture infective dose, TCID<sub>50</sub>）病毒，TZM-bl 细胞计数后，接种到平板（ $1 \times 10^4$ /孔）中培养，48 h 后用 Luciferase Assay Kit 检测 TZM-bl 细胞中的荧光值。取 HIV-1 野生株病毒和耐药毒株分别作为阴性和阳性对照。

8. 耐药判定标准和抗 HIV-1 药物耐药分析：基因型耐药判定标准：根据斯坦福耐药网站评分系统进行基因型耐药药物耐受程度评估，0 ~ 9 分：敏感 (S)；10 ~ 14 分：潜在耐药 (P)；15 ~ 29 分：低度耐药 (L)；30 ~ 59 分：中度耐药 (I)；> 60 分，高度耐药 (H)。表型耐药判定标准：临床病毒 50% 抑制浓度 (50% inhibitory concentration, IC<sub>50</sub>) 与野生株 IC<sub>50</sub> 相比，根据倍数变化 (fold change, FC) 判断临床病毒耐药水平。根据 IC<sub>50</sub> 倍数变化将病毒耐药水平分为敏感 (S：FC < 4 倍) 和耐药 (R) 两类，耐药又分为中度耐药 (I：FC：4 ~ 10 倍) 和高度耐药 (H：FC > 10 倍)。

#### 四、数据处理

所有资料采用 SPSS 11.5 软件分析，数据处理以  $\bar{x} \pm s$  表示。

## 结 果

### 一、基因型耐药与病毒学、免疫学结果

4 例患者均检出核苷类逆转录酶抑制剂 (nucleoside reverse transcriptase inhibitor, NRTI) 和非核苷类逆转录酶抑制剂 (non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor, NNRTI) 耐药突变。300149

表 1 基因型耐药与病毒学、免疫学结果

编号	CD4 (/μl)	VL (log <sub>10</sub> 拷贝/ml)	基因型耐药突变		基因型耐药水平				
			NRTI	NNRTI	3TC	AZT	d4T	ddI	EFV
300149	189	4.1	T215S	Y188L	S	R (L)	R (L)	S (P)	R (H)
300180	73	5.2	—	K103N	S	S	S	S	R (H)
300130	115	4.2	M184V	K103N P225H	R (H)	S	S	S	R (H)
300494	197	3.7	M184V T215F	V90I K101P K103S	R (H)	R (I)	R (I)	R (L)	R (H)

注：VL：病毒载量，NRTI：核苷类逆转录酶抑制剂，NNRTI：非核苷类逆转录酶抑制剂，3TC：拉米夫定，AZT：齐多夫定，d4T：司他夫定，ddI：去羟肌苷，EFV：依非韦仑，S：敏感，R：耐药，P：潜在耐药，L：低度耐药，I：中度耐药，H：高度耐药

表 2 各毒株的表型耐药结果 (IC<sub>50</sub>,  $\mu\text{mol}/\text{L}$ )

编号	AZT	ddI	d4T	3TC	EFV
300149	0.012	5.78	0.275	0.360	0.133
300180	0.004	2.14	0.074	0.043	0.027
300130	0.002	3.39	0.038	> 5	> 5
300494	0.059	0.124	0.127	> 5	> 5
敏感株对照	0.004	0.433	0.087	0.109	0.004



号病毒株对齐多夫定 (azidothymidine, AZT)、司他夫定 (2'-3'-didehydro-2'-3'-dideoxythymidine, d4T) 和依非韦仑 (efavirenz, EFV) 耐药, 对拉米夫定 (lamivudine, 3TC) 和去羟肌苷 (didanosine, ddI) 敏感; 300180、300149 和 300180 号病毒株对 AZT、d4T、3TC 和 ddI 敏感, 对 EFV 耐药; 300130 号病毒株对 AZT、ddI 和 d4T 敏感, 对 3TC 和 EFV 耐药; 300494 号病毒株对 ddI、d4T、AZT、3TC 和 EFV 均耐药。病毒载量均值为  $(4.3 \pm 0.6) \log_{10}$  拷贝/ml, CD4 均值为  $(144 \pm 60) / \mu\text{l}$ , 见表 1。

## 二、病毒株的表型耐药结果

300149 和 300180 号病毒株对 AZT、d4T 和 3TC 敏感, 对 ddI 和 EFV 耐药; 300130 号病毒株对 AZT 和 d4T 敏感, 对 ddI、3TC 和 EFV 耐药; 300494 号病毒株对 ddI 和 d4T 敏感, 对 AZT、3TC 和 EFV 耐药, 见表 2 和图 1。

## 三、活病毒表型耐药与基因型耐药结果比较

ddI: 100% 不一致, d4T: 50% 不一致,

AZT: 25% 不一致, EFV 和 3TC 的结果无不一致, 见表 3。

## 四、活病毒与假病毒表型耐药结果比较

分别检测两株病毒对 5 种药物的表型耐药, 共得到 10 个结果, 其中 9 个结果在耐药解释及耐药程度上均高度一致, 仅 300494 号病毒株对于 AZT 的耐药结果存在程度上的差异 (假病毒方法为中度耐药, 而活病毒方法为高度耐药), 见表 4。

## 讨 论

活病毒培养检测 HIV-1 表型耐药的方法可以对抗病毒药物的耐药性进行直接、定量的测定<sup>[2]</sup>, 适用于各种 HIV-1 亚型, 可以测定任意新药的耐药性, 是 HIV-1 耐药检测的“金标准”。活病毒表型耐药检测目前有两种方法, 一种是用活病毒感染正常人 PBMC 进行药物敏感性试验<sup>[3]</sup>, 一种是用活病毒感染细胞系来进行药物敏感性检测<sup>[4]</sup>。国际和国内很多报道都采用 TZM-bl 细胞系进行 HIV 相关研究<sup>[5-8]</sup>。

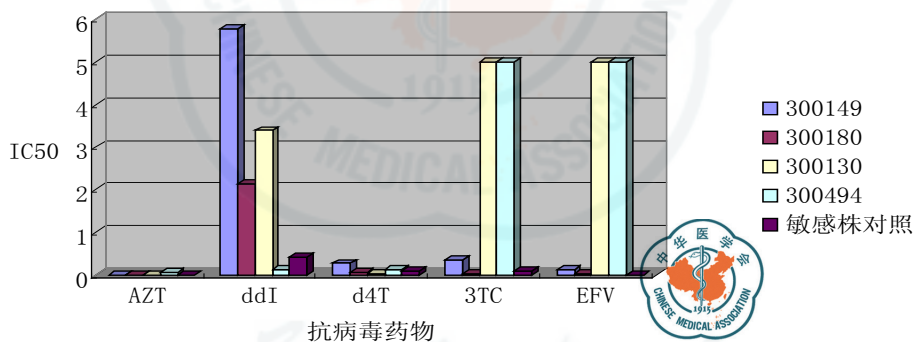


图 1 各分离株的 IC<sub>50</sub> 值 (μmol/L)

表 3 活病毒表型耐药与基因型耐药结果的比较

编号	3TC		AZT		d4T		ddI		EFV	
	表型	基因型	表型	基因型	表型	基因型	表型	基因型	表型	基因型
300149	S (3)	S	S (3)	R (L)	S (3)	R (L)	R (H:13)	S (P)	R (H:33)	R (H)
300180	S (0.4)	S	S (1)	S	S (1)	S	R (I:5)	S	R (I:7)	R (H)
300130	R (H: > 46)	R (H)	S (0.5)	S	S (0.4)	S	R (I:5)	S	R (H: > 1 250)	R (H)
300494	R (H: > 46)	R (H)	R (H:15)	R (I)	S (2)	R (I)	S (0.3)	R (L)	R (H: > 1 250)	R (H)

注: S: 敏感, R: 耐药, L: 低度耐药, I: 中度耐药, H: 高度耐药

表 4 两株活病毒与假病毒表型耐药结果的比较

编号	药物	3TC	AZT	d4T	ddI	EFV
300130	活病毒表型耐药结果	R (H: > 46)	S (0.5)	S (0.4)	R (I:8)	R (H: > 1 250)
	假病毒表型耐药结果	R (H: > 19.2)	S (1.3)	S (0.5)	R (I:6)	R (H:66.5)
300494	活病毒表型耐药结果	R (H: > 46)	R (H:15)	S (2)	S (0.3)	R (H: > 1 250)
	假病毒表型耐药结果	R (H: > 19.2)	R (I:5.5)	S (1.2)	S (1.1)	R (H:58.5)

注: S: 敏感, R: 耐药, I: 中度耐药, H: 高度耐药

本实验室前期研究发现基因型耐药与假病毒表型耐药检测存在不一致的结果,需要用活病毒耐药检测方法来进行进一步确认。

本试验首先从患者的外周血分离 PBMC, 然后与健康人 PBMC 共培养, 获得 HIV-1 毒株。测定其 TCID<sub>50</sub> 后, 用 200 TCID<sub>50</sub> 的病毒量来感染 TZM-BI 细胞, 加入不同浓度药物的情况下检测对 TZM-BI 细胞产生荧光素酶的抑制作用。本研究中分离到的四株病毒 3 株为 B' 亚型, 1 株为 CRF01\_AE 亚型, 均可采用 TZM-bI 细胞系进行表型耐药检测。参照 Sarmati 等<sup>[9-10]</sup>的表型耐药检测标准, 本研究根据 IC<sub>50</sub> 倍数变化将病毒耐药水平分为敏感 (S: FC < 4 倍) 和耐药 (R) 两类, 耐药又分为中度耐药 (I: FC 4 ~ 10 倍) 和高度耐药 (H: FC > 10 倍)。研究结果显示: 4 株病毒中对 AZT、ddI、d4T、3TC 和 EFV 耐药的病毒分别为 1、3、0、2 和 4 株, 主要表现为对 EFV 耐药。Hirsch 等<sup>[11]</sup>进行了 HIV-1 的基因型和表型耐药检测后发现, 对于 79% 的药物上述两种方法检测结果是一致的, 其中 EFV 一致性最高 (92%), ddI 一致性最低 (57%)。本研究中表型耐药和基因型耐药结果相比较, 结果与之相近, ddI: 100% 不一致, d4T: 50% 不一致, AZT: 25% 不一致, EFV 和 3TC 的结果 100% 一致。对于 EFV 和 3TC 结果一致的原因可能在于 K103N、Y181C 等单一突变即可引起对 NNRTI 的耐药, 而 M184V 单一突变可引起对 3TC 的高度耐药。在本研究中, 发生基因型与表型耐药结果不一致的原因可能是: ①在 HIV-1 感染者体内存在着大量的病毒准种, 一旦突变发生在逆转录酶和蛋白酶的编码基因序列, 就可以通过基因型耐药检测方法检测出来。但如果发生突变的病毒比例较小时, 表型检测方法可能检测不出耐药<sup>[12]</sup>; ②本研究中毒株的亚型为 B' 和 CRF01\_AE, 但所用的基因型解释系统却是以 B 亚型为主建立的耐药数据库, 可能会存在彼此耐药位点不对应的情况, 从而使两种方法检测的结果不一致; ③耐药位点之间具有相互作用<sup>[13]</sup>, 有的互相增强, 而有的互相抵消, 但在基因型耐药解释时通常是把各位点的贡献分别相加, 而表型耐药检测却可以测出相互作用后的总效应。

本研究对 4 例标本进行了从基因型、假病毒表型和活病毒表型耐药的全面检测, 其中 2 例成功建立假病毒毒株, 分别检测两株病毒对五种药物的表型耐药, 共得到 10 个结果, 其中 9 个结果在耐药解释及耐药程度上均高度一致, 仅有一个毒株对于 AZT 的耐药结果存在程度上的差异 (假病毒方法为

中度耐药, 而活病毒方法为高度耐药)。二者存在程度上差异的原因在于, 两种方法的敏感株对照一个为活病毒, 一个为构建的假病毒。如果能用同一株敏感株做对照, 就可能消除二者在程度上的差异。重组假病毒表型耐药检测方法只产生具有单轮感染特性的假病毒, 具有较好的生物安全性, 不要求在生物安全三级实验室条件下操作。培养过程相对简便快速, 降低了病毒变异, 并减少了检测时间<sup>[14]</sup>。活病毒表型耐药虽然是耐药检测的“金标准”, 但其检测耗时、费力、实验室条件要求过高。本研究通过这两株毒株对五种药物进行表型耐药检测的一致结果初步证实假病毒表型耐药检测方法存在代替活病毒表型耐药检测方法的可能, 但由于本实验例数较少, 其可替代性还需增加样本量进一步证明。

### 参考文献

- 1 Sabin CA, Hill T, Lampe F, et al. Treatment exhaustion of highly active antiretroviral therapy (HAART) among individuals infected with HIV in the United Kingdom: multicentre cohort study[J]. *BMJ*, 2005, 330(7493): 695-699.
- 2 Hanna GJ. HIV-1 genotypic and phenotypic resistance[J]. *Clin Lab Med*, 2002, 22(3): 637-649.
- 3 Japour AJ, Mayers DL, Johnson VA, et al. Standardized peripheral blood mononuclear cell culture assay for determination of drug susceptibilities of clinical human immunodeficiency virus type 1 isolates[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1993, 37(5): 1095-1101.
- 4 Platt EJ, Wehrly K, Kuhmann SE, et al. Effects of CCR5 and CD4 cell surface concentrations on infections by macrophagetropic isolates of human immunodeficiency virus type 1[J]. *J Virol*, 1998, 72(4): 2855-2864.
- 5 Han X, Ouyang W, Liu B, et al. Enantioselective inhibition of reverse transcriptase (RT) of HIV-1 by non-racemic indole-based trifluoropropanoates developed by asymmetric catalysis using recyclable organocatalysts[J]. *Org Biomol Chem*, 2013, 11(48): 8463-8475.
- 6 Ma L, Sun J, Xing H, et al. Genotype and phenotype patterns of drug-resistant HIV-1 subtype B'(Thai B) isolated from patients failing antiretroviral therapy in China[J]. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2007, 44(1): 14-19.
- 7 孙坚萍, 马丽英, 黄江虹, 等. TZM-BI 细胞系检测我国 HIV-1 病毒表型耐药性[J]. *中国艾滋病性病*, 2008, 14(5): 439-441.
- 8 李亮助, 李琳. 一种新的 HIV-1 潜伏感染模型的建立方法[J]. *医药前沿*, 2012, 2(3): 41-42.
- 9 Sarmati L, Nicastrì E, Parisi SG, et al. Discordance between genotypic and phenotypic drug resistance profiles in human immunodeficiency virus type 1 strains isolated from peripheral blood mononuclear cells[J]. *J Clin Microbiol*, 2002, 40(2): 335-340.
- 10 Hanna GJ, D'Aquila RT. Clinical use of genotypic and phenotypic drug resistance testing to monitor antiretroviral chemotherapy[J]. *Clin Infect Dis*, 2001, 32(5): 774-782.
- 11 Hirsch HH, Drechsler H, Holbro A, et al. Genotypic and phenotypic resistance testing of HIV-1 in routine clinical care[J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2005, 24(11): 733-738.
- 12 Shafer RW, Hertogs K, Zolopa AR, et al. High degree of interlaboratory reproducibility of human immunodeficiency virus type 1 protease and reverse transcriptase sequencing of plasma samples from heavily treated patients[J]. *J Clin Microbiol*, 2001, 39(4): 1522-1529.
- 13 Whitcomb JM, Parkin NT, Chappey C, et al. Broad nucleoside reverse-transcriptase inhibitor cross-resistance in human immunodeficiency virus type 1 clinical isolates[J]. *J Infect*

Dis,2003,188(7):992-1000.

Med Virol,2007,79(2):127-137.

- 14 Garcia-Perez J, Sanchez-Palomino S, Perez-Olmeda M, et al. A new strategy based on recombinant viruses as a tool for assessing drug susceptibility of human immunodeficiency virus type 1[J]. J

(收稿日期: 2013-12-15)

(本文编辑: 孙荣华)

杨婧, 耿文清, 张旻, 等. HIV-1基因型、假病毒表型与活病毒表型耐药检测结果的比较[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2014, 8 (3): 308-313.

