

· 综述 ·

HIV 两类反转录酶抑制剂耐药性及耐药检测研究进展

徐萌 袁霖 绳波 陈德喜

由于上世纪90年代全球开展艾滋病高效抗反转录病毒治疗 (highly antiretroviral therapy, HAART), 使艾滋病的病死率显著下降, 感染者的免疫功能得以重建, 生存时间明显延长, 生存质量显著改善^[1]。但是治疗过程中的多种因素可以导致抗病毒治疗的失败, 耐药性是其中的重要问题。为落实国家“四免一关怀”政策, 更好指导艾滋病抗反转录病毒药物治疗, 国家先后出版《国家免费艾滋病抗病毒治疗药物手册》(简称《手册》)第1~3版。根据最新的第3版《手册》, 一线治疗方案由3种抗病毒治疗药物组成, 两种核苷(酸)类反转录酶抑制(nucleoside reverse transcriptase inhibitors, NRTIs)和一种非核苷(酸)类反转录(non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors, NNRTIs)^[2]。本文就HIV耐药毒株的产生、进化和传播, 两类反转录酶(reverse transcriptase, RT)抑制剂的作用机制和流行趋势, 耐药检测方法等作一综述。

一、HIV 耐药毒株的产生、进化和传播

HIV 是迄今为止发现的感染人类后最易发生变异的病原体, 在 HIV 感染的整个过程中都有快速的病毒产生和转换^[3-4]。HIV 对新靶细胞的高感染率、病毒基因的高突变率加上抗病毒治疗时的药物压力, 均促使耐药毒株的产生。

耐药是由于药物作用靶标基因的突变产生的, HIV 耐药的分子进化十分复杂, 血浆中的 HIV 是复杂的准种, 优势耐药准种与劣势种群共存, 由于病毒的种群具有独立进化的特性, 最初的劣势准种沿特定的路径进化, 即可发展成优势准种。一般认为耐药的发生是顺序发展的, 病毒获得新的突变使选择优势增加, 使新的种群生长超过它们的母代而成为主要种群, 每加入一个新的突变就重复这一过程, 最终多突变的高度耐药毒株成为优势株。

艾滋病患者接受抗病毒治疗后, 一旦耐药毒株成为优势毒株, 就可能将带有耐药突变的毒株传播给未治疗的患者。

二、HIV 反转录酶抑制剂及其作用机制

目前美国 FDA 已经批准了 6 类 28 种用于艾滋病

治疗的抗病毒药物, 与耐药有关的 HIV 基因突变有 200 多个^[5], 其中与 NRTIs 耐药有关的突变有 50 多个, 主要包括 M184V、TAMs、非核苷(酸)类似物的耐药相关基因、多核苷耐药突变等; 与 NNRTIs 的耐药有关的突变有 40 多个, 主要包括原发突变、继发突变、多态性附属突变和非多态性次要突变。

反转录酶抑制剂(reverse transcriptase inhibitors, RTIs)包括 NRTIs 和 NNRTIs 两大类。目前临床上主要使用的 NRTIs 类药物有齐多夫定(zidovudine, ZDV)、去羟肌苷(didanosine, ddI)、扎西他滨(zalcitabine, ddC)、司他夫定(stavudine, d4T)、拉米夫定(lamivudine, 3TC)、阿巴卡韦(abacavir, ABC)、替诺福韦酯(tenofovir disoproxil, TDF)、恩曲他滨(FTC)。NNRTIs 类药物有奈韦拉平(nevirapine, NVP)、地拉韦啉(delavirdine, DEL)、依非韦仑(efavirenz, EFV)和恩替卡韦(entecavir, ETV)。反转录酶抑制剂分别在 HIV 病毒周期的各个阶段发挥作用, 因此反转录酶是抗艾滋病病毒药物作用的重要靶点^[6]。

1. 核苷(酸)类反转录酶抑制剂(NRTIs): 对 NRTIs 的耐药有两种机制, 一是减少核苷(酸)类似物掺入到 DNA 链, 二是从未成熟的初始 DNA 链中移走这些核苷(酸)类似物。

减少核苷(酸)类似物的掺入, 即反转录酶的几个或一组突变通过选择性降低核苷(酸)类似物掺入 DNA 的能力而产生耐药性, 这包括 M184V 突变、Q151M 复合体突变和 K65R 突变^[7-8]。M184V 是拉米夫定作为 HARRT 方案中的一种药物时首先出现的耐药突变, 从而导致对 3TC 的高度耐药。Q151M 复合体在 HIV-1 中比较罕见(Q151M 复合体在 HIV-2 比 HIV-1 多见), 在对核苷(酸)类似物耐药的所有 HIV 毒株中少于 5%, 但是能导致对多数核苷(酸)类似物的高度耐药。K65R 突变毒株的流行正在增加, 特别是当治疗方案中包含 ABC 和 TDF 时。

从 DNA 链中移除核苷(酸)类似物, 胸苷类似物耐药突变(thymidine analogue-associated mutations, TAMs)是最常见的核苷(酸)类似物相关突变, 是被胸苷类似物 AZT 和 d4T 选择出来的, 包括 M41L、D67N、K70R、L210W、T215Y/F 和 K219Q^[9]。TAMs 突变导致耐药产生的机制是增强 ATP 或焦磷酸盐(酸)介导的核苷类似物从 DNA 链的 3'-末端移除。ATP 或焦磷酸盐在正常淋巴细胞中很丰富, 并不参加 DNA

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2014.04.031

基金项目: 十二五国家科技重大专项资助项目 (No. 2012ZX10001-002); 国家自然科学基金资助项目 (No. 30910103915)

作者单位: 100069 北京, 首都医科大学附属北京佑安医院性病艾滋病实验室

通讯作者: 陈德喜, Email: Dexi09@yahoo.com

的聚合反应,但是具有 TAMs 突变的反转录酶结构发生了变化,促使 ATP 或焦磷酸盐进入胸苷类似物整合的临近部位,在这个位置上,ATP 或焦磷酸盐可以攻击连接胸苷类似物与 DNA 的磷酸二酯键。

2. 非核苷(酸)类反转录酶抑制剂(NNRTIs): NNRTIs 是一类小分子,对 NNRTIs 的耐药性突变全部位于药物在反转录酶的口袋靶标,通过减小药物与酶的亲和力而导致耐药。最常见的耐药突变有 Y181C、Y188C、K103N、G190A 和 V106A。尽管不同的 NNRTIs 与疏水性口袋相互作用只有细微的差别,但是,常见的 NNRTIs 类耐药突变有些是药物特异的。NVP 的耐药突变主要是 Y181C,其他突变,例如 Y188C、K103N、G190A、V106A 也可以出现。对 EFV 出现最早的耐药突变是 K103N,但是也可以见到 Y188L 突变。

三、HIV 全国耐药流行趋势

《2011 年中国艾滋病疫情估计》显示:截至 2011 年底,中国存活艾滋病病毒感染者和艾滋病患者(PLHIV)约 78 万人。在 78 万 PLHIV 中,以性传播和注射吸毒传播两种方式为主,其中,异性传播占 46.5%,同性传播占 17.4%,注射吸毒传播占 28.4%。对 2011 年新发 HIV 感染估计人数约为 4.8 万人,其中异性传播占 52.2%,同性传播占 29.4%,注射吸毒传播占 18.0%,母婴传播占 0.4%^[10]。经注射吸毒传播的 PLHIV,主要分布在云南、新疆、广西、广东、四川和贵州 6 省(自治区),占全国该人群的 87.2%;河南、安徽、湖北和山西 4 省以既往有偿采供血、输血或使用血制品传播为主,占全国该人群 PLHIV 估计数的 92.7%;经母婴传播总体占 1.1%。

全国疫情流行趋势在不同省份差异较大,累计报告 HIV 感染者和 AIDS 病人数排在前 6 位的省份,依次为云南、广西、河南、四川、新疆和广东,占全国报告总数的 75.8%。其中累计报告数排名在前 20 位的县(区、市)均分布在云南、广西、新疆和四川。并且在对 2003 至 2010 年监测的结果显示,男男性行为人群抗-HIV 阳性率上升趋势明显^[10]。下面对几个疫情重点区域近几年相关报道进行详细阐述。

1. 云南:彭霞等^[11]2013 年对云南省临沧市老年人感染 HIV/AIDS 疫情报道显示,1999 至 2010 年累计报告 208 例 50 岁及以上的老年人 HIV/AIDS 病例,感染途径以异性感染为主,占 78.8%,从 2004 年的 7 例(0.9%)到 2009 年的 52 例(5.4%)、再到 2010 年 48 例(4.7%),7 年间,50 岁及以上 HIV/AIDS 新发病例呈明显上升趋势,可见云南省临沧市老年人艾滋病疫情发展迅速。

高良敏等^[12]2013 年对玉溪市 1995 至 2011 年老年 HIV/AIDS 流行特征报道显示,17 年共累计报道 196 例病例,性传播途径感染 183 (93.3%),静脉注

射吸毒 12 例(6.10%),经血传播 1 例(0.50%)。在性传播途径中异性间感染占绝大多数,为 180 例,特别是在 50 岁及以上人群中,新发 HIV/AIDS 病例的百分比由 2002 年的 13.04% 上升到 2011 年的 17.93%,病例上升趋势明显,说明 50 岁及以上人群已成为疫情防范的重点。

陈立力^[13]2011 年报道,感染途径已由上世纪 80 年代的静脉吸毒转向异性性接触途径,达到 64.0%。HIV-1 流行亚型最复杂且变化大,流行毒株共发现 5 个亚型,分别是 CRF08_BC、CRF01_AE、CRF07_BC、B(B') 和 C 亚型,其中前 3 种为主要流行亚型,占总数的 84.4%,CRF08_BC 更是在云南主要流行地区均有分布。

2. 新疆:吐尔洪·木萨等^[14]2011 年报道的新疆库车县吸毒人群 HIV 感染情况及行为特征调查分析显示,370 例被检测吸毒者中,检出 HIV 感染者 163 例,感染率为 44.05%,其中,经静脉注射毒品 213 例,检出 HIV 感染者 141 例,感染率为 66.20%;口吸 157 例,检出 HIV 感染者 22 例,感染率 14.01%。163 例 HIV 感染者中,维吾尔族 160 例,占感染者总数的 98.16% (160/163)。较库车县疾病预防控制中心 2004 基线调查的静脉吸毒人群 HIV 感染率 80.20%^[15] 低 14%,提示,吸毒人群艾滋病感染率有一定幅度的下降,充分显示库车县近年来开展的艾滋病防治各项干预工作的实际效果。

倪明建等^[16]2013 年报道的新疆吸毒人群艾滋病感染现状及其影响因素分析表明,吸毒人群艾滋病感染率为 21.4% (963/4493),维吾尔族感染率为 30.1% (800/2 660),> 30 岁者为 28.6% (789/2754)。与其他吸毒人群聚集区比较,新疆吸毒人群 HIV 感染率处于中等水平,吸毒人群感染 HIV 的主要影响因素包括性别、民族、吸毒方式和是否共用针具等,据此应制定针对性的防治措施。

3. 广西:陈立力^[13]2011 年报道,已由早期的 HIV-1 的 C 亚型和 CRF01_AE 亚型在静脉吸毒人群中流行转向异性性传播人群的 CRF01_AE 亚型,说明广西大部分地区的 HIV-1 的流行人群和流行亚型较为单一。

4. 广东:陈建海等^[17]报道的广东中山市 2011 至 2012 年抗-HIV 检测与自愿咨询检测数据分析显示,HIV 总的筛查阳性率为 0.18% (95%CI: 0.17%~0.19%),其中男男性行为人群筛查阳性率为 10.65% (95%CI: 8.56%~12.74%);强制/劳教戒毒人员筛查阳性率为 4.30% (95%CI: 3.79%~4.82%),医院一般人群筛查阳性率 0.10% (95%CI: 0.09%~0.10%)。说明在广东中山市中,男男性行为人群和吸毒人群的感染率显著高于一般人群,应予以高度关注和干预。

5. 河南: 河南作为我国艾滋病的高发区域之一, 多年来已累计确认的感染人数位居全国前三^[18]。随着近30年的发展, 从上世纪80年代有偿献血为主的单一传播途径(亚型多为B和B')^[19], 已向垂直传播^[20]、性传播等多传播途径转变, 尤以性传播比例明显增加, 其中男男性行为者(men who have sex with men, MSM)最为突出^[21]。

在男男性行为人群感染明显增加的情况下, 宋丹等^[22]2012年调查了河南郑州市MSM人群HIV基因亚型现状, 共存在3种亚型, 感染由高到低排列依次为: CRF01-AE亚型(10例, 41.67%), B亚型(8例, 33.33%), CRF07-BC亚型(6例, 25.00%)。郑州市的调查结果与北京、上海和石家庄等地区的MSM人群基因亚型分布基本一致, 均以CRF01-AE亚型为主, B和CRF07-BC亚型分布次之, 说明我国中东部地区该人群的HIV基因亚型流行情况基本一致。

6. 四川: 梁莉等^[23]2013年报道的2008至2011年四川HIV检测分析中显示, 阳性检出数从2008年的6313例上升到2011年的8792例, 平均每年增长11.67%。以2011年为例: 目前疫情的传播途径以异性性传播为主(50.15%), 其次为静脉注射吸毒(32.73%)和同性性传播(16.37%)。综合医院检测量占总检测量的48%, 阳性检出数占总阳性数的44%, VCT、高危人群和监管场所的检测量仅占总检测量的6%, 但阳性检出数占总阳性数的42%。加强对如VCT、监管场所检测、高危人群进行监测和干预。

四、HIV耐药检测

HIV耐药检测对指导临床抗病毒治疗具有重要意义, 其中对治疗失败的患者、HIV合并其他感染的特殊人群、儿童/婴幼儿和孕妇等更是意义重大。在临床治疗方面, 耐药检测可以有效降低初始治疗失败的风险, 指导患者正确服药, 减少耐药的产生。另外, 耐药检测对于阐明不同地区HIV耐药发生规律和水平以及影响因素, 遏制和减少耐药毒株的发生、发展和传播具有重要意义。HIV耐药检测方法主要有3种: 基因型耐药检测、表型耐药检测和虚拟表型耐药检测。

(一) HIV基因型耐药检测

目前, HIV基因型耐药检测是使用最为广泛的方法, 方法主要包括病毒RNA的提取、RNA反转录为cDNA、聚合酶链反应或巢式聚合酶链反应, 通过上述方法得到目的片段后, 再经测序得到序列信息, 将获得的序列通过软件校正、提交耐药评价数据库得到耐药突变信息。这样检测可以看出感染者体内的HIV优势株基因突变情况^[24], 分析基因组中与耐药相关的基因位点突变和氨基酸突变。

目前, 已有的经美国FDA验证的商业化检测系统有: TRUGENGTM (Simens)、ViroSeqTM (Abbott)、LiPATM (Innogenetics)。TRUGENGTM

(Simens)扩增包括PR和RT区, Sanger测序, 敏感性>1000拷贝/ml; ViroSeqTM (Abbott)扩增包括PR和RT区, Sanger测序, 敏感性>2000拷贝/ml; LiPATM (Innogenetics)通过杂交原理检测点突变, 敏感性>1000拷贝/ml。3种方法的不足均为费用较高、操作繁琐、不能检测低丰度耐药位点。

耐药基因检测的最后一步是序列分析, 将来自患者的RT-PCR序列与野生型病毒株序列比较并检查耐药位点的突变情况。目前较为广泛应用的斯坦福大学HIV耐药数据库(<http://hivdb.stanford.edu>), 其包含两种程序: HIV seq和HIV alg。HIV seq程序接受使用者提交的RT和PR序列并与参考野生株病毒序列比较; HIV alg程序接受使用者提交的RT和PR序列或特定的突变, 推断对FDA批准的抗反转录病毒药物的耐药水平。

基因型耐药检测方法具有快捷价廉、能预测短期病毒学结果、应用广泛等特点, 但也存在一些缺点:

①间接检测耐药, 不能解释复杂的多位点突变模式, 对于NRTIs多以多位点联合突变、PIs类突变具有药物特异性的特点, 检测的局限性就会凸显, 往往会低估患者的耐药水平; ②不能检出劣势病毒株(<25%的病毒群); ③耐药性解释存在一定的滞后性: 成熟的HIV耐药数据库是基于大量实验室数据积累的基础上构建而成, 而对于一些新发现的突变位点对耐药性的影响不能解释。

(二) HIV表型耐药检测

相对于基因型耐药检测, 表型耐药检测可以更为准确直观地反应病毒对药物的敏感性, 在HIV耐药性诊断中具有不可替代的作用。表型耐药检测是对病毒耐药性进行分析和判断的标准方法, 利用体外药物敏感试验, 在药物梯度浓度作用下, 对HIV复制能力进行评价, 结果以耐药毒株的50%抑制浓度(IC₅₀)做分子, 以敏感参考株的IC₅₀做分母, 得到耐药倍数(fold change, FC), 以此来评估耐药程度。

HIV表型耐药检测能直接测出病毒对药物的敏感性, 并能检测出原本存在或交叉的耐药, 有利于指导HIV感染者有效用药。目前, 尚未有商品化表型检测系统, 有如VIRCO公司(AntivirogramTM系统)^[25]、Virologic公司(PhenoSense GTTM系统)^[26]和Viralliance公司(PhenoScriptTM系统)可提供商业性检测服务。HIV表型耐药检测的种类主要有以下两种。

1. 基于真病毒的HIV表型耐药检测方法: 根据选择的细胞种类, 基于真病毒的表型耐药检测主要包括: PBMC的表型耐药检测方法(传统表型耐药检测)、TZM-bl细胞系的表型耐药检测方法、HaLa CD4⁺细胞蚀斑减少法和经改造的细胞系的表型耐药检测方法等。这几种方法对生物安全级别要求较高

(需要在生物安全III级实验室中进行),操作复杂耗时费力,费用较高,都具有一定的局限性。

2. 基于假病毒的HIV表型耐药检测方法:使用重组病毒的HIV表型耐药检测方法:上面提到的三家提供商业性检测服务公司的方法均归为此类,该方法基于将RT-PCR扩增的HIV感染者的蛋白酶区和反转录酶区基因插入到载体中,通过产生的重组病毒进行表型耐药检测。以下着重说明两种使用单复制循环病毒(假病毒)的HIV耐药表型检测方法(自建方法)。

(1) 使用pNL4.3.Luc R⁻E⁻载体构建的假病毒耐药表型检测方法:该载体为env和rev基因缺失载体并含有荧光素酶基因,其原理是利用该骨架载体,分离患者血浆或PBMC,从中对HIV多聚酶基因进行体外扩增,再与此骨架载体进行互换连接,即形成带有感染者HIV多聚酶基因的pNL4.3.Luc R⁻E⁻载体,转染293T细胞后包装成假病毒,假病毒感染GHOST细胞后会产生荧光,可在发光仪上读取相对的荧光值。不同药物浓度对荧光素酶表达的抑制水平不同,因而可反映出药物对病毒的抑制程度,此方法可用于对反转录酶和蛋白酶的耐药检测^[31]。

(2) 使用SG3^{Δenv}和TZM-b1细胞假病毒检测系统的HIV耐药表型检测方法:包膜缺失的HIV骨架载体,与克隆在真核表达载体中的患者HIV包膜env基因共转染293T细胞后,获得具有单复制循环感染性的假病毒。假病毒感染TZM-b1细胞可检测反转录酶抑制剂的敏感性。荧光素酶的表达量反应TZM-b1细胞被假病毒感染后,同种药物的不同浓度对荧光素酶表达的抑制水平不同,可反映药物对病毒的抑制程度,但此方法不能用于蛋白酶和整合酶抑制剂的检测^[25]。

HIV表型耐药检测可以指导后续化疗方案并预防耐药毒株的流行。另外,随着高效和副作用小的新型抗病毒药物不断被开发,表型耐药检测还有助于在联合用药方案中识别是哪一种药物的耐药性对治疗失败起主要作用,也能用来对HIV急性感染中耐药毒株的传播情况进行评估。

3. HIV虚拟表型耐药检测:虚拟表型方法是利用基因型耐药检测结果预测表型耐药的一种方法,预测成功基于大容量的基因型-表型相匹配关联的数据库(如Virco NETTM数据库),该数据库至少包含28 000例临床检测结果,预测出基因型耐药检测中检出的突变在表型试验中可能对药物敏感性的影响^[32],预测结果一般通过病毒抑制浓度(IC)或耐药倍数(FC)来表述。

虚拟表型有助于发现新的耐药突变位点或对已有的耐药突变进行监测。对NRTIs耐药的预测并不准确,对NNRTIs和PIs有关耐药准确一致。由于受到数据库资料的限制,会限制对新发耐药突变位点以及新药耐药位点突变预测的准确性。

耐药已成为影响艾滋病临床治疗效果的主要因

素,总结HIV耐药毒株的产生、进化和传播,反转录酶抑制剂及其作用机制和全国耐药的流行趋势,通过HIV耐药检测方法进行检测,这无论是对耐药流行株的监测还是对艾滋病患者的关怀都是非常重要和有价值的,耐药监测/检测不仅可以帮助公共卫生科研人员了解耐药毒株传播现状和趋势,以制定相应的防治策略,还可以帮助临床治疗选择有效的药物并作出反转录病毒治疗的决定。

参考文献

- 1 Palella FJ Jr, Delaney KM, Moorman AC, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection[J]. *N Engl J Med*, 1998, 338(13): 853-860.
- 2 卫生部艾滋病临床专家工作组. 国家免费艾滋病抗病毒药物治疗手册[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 27.
- 3 Preston BD, Poiesz BJ, Loeb LA. Fidelity of HIV-1 reverse transcriptase[J]. *Science*, 1988, 242(4882): 1168-1171.
- 4 Roberts JD, Bebenek K, Kunkel TA. The accuracy of reverse transcriptase from HIV-1[J]. *Science*, 1988, 242(4882): 1171-1173.
- 5 Shafer RW, Schapiro JM. HIV-1 drug resistance mutations: an updated framework for the second decade of HAART[J]. *AIDS Rev*, 2008, 10(2): 67-84.
- 6 Barbaro G, Scozzafava A, Mastrolorenzo A, et al. Highly active antiretroviral therapy: current state of the art, new agents and their pharmacological interactions useful for improving therapeutic outcome[J]. *Curr Pharm Des*, 2005, 11(14): 1805-1843.
- 7 Naeger LK, Margot NA, Miller MD. Increased drug susceptibility of HIV-1 reverse transcriptase mutants containing M184V and zidovudine-associated mutations: analysis of enzyme processivity, chain termination or removal and viral replication[J]. *Antivir Ther*, 2001, 6(2): 115-126.
- 8 Clavel F, Hance AJ. HIV drug resistance[J]. *N Engl J Med*, 2004, 350(10): 1023-1035.
- 9 Christian H, Jurgen KR, Bernd SK. HIV Medicine 2007[M]. Publisher: Flying Publisher, 2009: 329-330.
- 10 中华人民共和国卫生部、联合国艾滋病规划署世界卫生组织. 2011年中国艾滋病疫情估计[M]. 北京. 2011.
- 11 彭霞, 杨翠云, 李再友, 等. 云南省临沧市老年人感染HIV/AIDS疫情分析[J]. *卫生软科学*, 2013, 27(6): 383-385.
- 12 高良敏, 陈黎跃, 蔡英, 等. 云南省玉溪市1995-2011年老年HIV/AIDS流行特征[J]. *中国皮肤性病杂志*, 2013, 27(2): 163-165.
- 13 陈立力. 云南和广西HIV-1流行毒株的基因变异和分子进化研究[D]. 军事医学科学院微生物流行病所, 2011.
- 14 吐尔洪·木萨, 艾力·买买提, 刘德强, 等. 新疆库车县吸毒人群HIV感染情况及行为特征调查分析[J]. *当代医学*, 2011, 17(1): 133-134.
- 15 全国艾滋病综合防治示范区管理办公室. 加大行为干预力度, 同心携手, 共遏艾滋[G]. 2005年全国艾滋病综合防治示范区经验交流资料汇编, 2005: 186-190.
- 16 倪明健, 陈学玲, 陈晶, 等. 新疆吸毒人群艾滋病感染现状及其影响因素分析[J]. *中国公共卫生*, 2013, 29(8): 1101-1103.
- 17 陈建海, 汪涛, 李雷, 等. 广东中山市2011-2012年HIV抗体检测与自愿咨询检测数据分析[J]. *公共卫生与预防医学*, 2013, 24(3): 27-30.

- 18 赵飞, 王哲, 李文杰. 河南省1157份人免疫缺陷病毒型1毒株亚型分析[J]. 中华预防医学杂志, 2008, 42(6): 418-421.
- 19 Wang Z, Li J, Li L, et al. Construction and characterization of a full-length infectious molecular clone from the HIV type 1 subtype Thai-Bisolated in Henan Province, China[J]. AIDS Res Hum Retrov, 2008, 24(2): 251-257.
- 20 Adeleke SI, Mukhtar-Yola M, Gwarzo GD. A wareness and knowledge of mother-to-child transmission of HIV among mothers attending the pediatric HIV clinic, Kano, Nigeria[J]. Ann Afr Med, 2009, 8(4): 210-214.
- 21 Zhao F, Wang Z, Li WJ. Human immunodeficiency virus type 1 subtypes prevalence in central China[J]. Yonsei Med J, 2009, 50(5): 644-649.
- 22 宋丹, 孙国清, 张艳敏, 等. 河南郑州市男男同性恋HIV-1感染者 gag区基因亚型分析[J]. 病毒学报, 2012, 28(4): 345-350.
- 23 梁莉, 刘莉, 裴晓迪, 等. 2008-2011年四川省艾滋病HIV检测分析[J]. 预防医学情报杂志, 2013, 29(6): 453-456.
- 24 Gallant JE. Antiretroviral drug resistance and resistance testing[J]. Top HIV Med, 2005, 13(5): 138-142.
- 25 Hertogs K, Bloor S, De Vroey V, et al. A novel human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase mutational pattern confers phenotypic lamivudine resistance in the absence of mutation 184V[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2000, 44(3): 568-573.
- 26 Petropoulos CJ, Parkin NT, Limoli KL, et al. A novel phenotypic drug susceptibility assay for human immunodeficiency virus type 1[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2000, 44(4): 920-928.
- 27 孙坚萍, 马丽英, 黄江虹, 等. TZM-b1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): 439-449.
- 28 Chesebro B, Wehrly K, Metcalf J, et al. Use of a new CD4-positive HeLa cell clone for direct quantitation of infectious human immunodeficiency virus from blood cells of AIDS patients[J]. J Infect Dis, 1991, 163(1): 64-70.
- 29 Hachiya A, Aizawa-Matsuoka S, Tanaka M, et al. Rapican and simple phenotypic assay for drug susceptibility of human immunodeficiency virus type 1 using CCR5 expressing HeLa/CD4⁺ cell clone 1-10MAGIC-5[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2001, 45(2): 495-501.
- 30 Miyake H, Lizawa Y, Baba M. Novel reporter T-cell line highly susceptible to both CCR5 and CXCR4 using human immunodeficiency virus type 1 and its application to drug susceptibility tests[J]. J Clin Microbiol, 2003, 41(6): 2515-2521.
- 31 仇超, 彭虹, 黄相刚, 等. 携带绿色荧光蛋白基因的单轮感染活性HIV假病毒的建立及其活性检测[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2006, 26(5): 394-398.
- 32 Wang K, Samudrala R, Mittler JE. Antivirogram or phenosense: a comparison of their reproducibility and analysis of their correlation[J]. Antivir Ther, 2004, 9(5): 703-712.

(收稿日期: 2013-12-27)

(本文编辑: 孙荣华)

徐萌, 袁霖, 绳波, 等. HIV两类反转录酶抑制剂耐药性及耐药检测研究进展[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2014, 8(4): 568-572.