

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671-9638. 20221953

· 论 著 ·

HIV-1 低病毒载量患者外周血前病毒 DNA 优势耐药位点分析

余维维¹, 陈 钟², 彭 爽², 曾紫微¹, 祁 慧², 王 通², 王 敏²

(1. 南华大学附属长沙医院传染科, 湖南 长沙 421001; 2. 长沙市第一医院艾滋病研究所, 湖南 长沙 410005)

[摘要] **目的** 探索 HIV-1 低病毒载量(LVL)患者外周血 HIV-1 前病毒 DNA 是否携带优势耐药突变位点(DRMs), 以及 HIV-1 前病毒 DNA 耐药检测在临床中的潜在意义。**方法** 采集 2020 年 5 月—2021 年 5 月在某院门诊接受抗病毒治疗 6 个月以上且连续两次检测 HIV-1 RNA 血浆病毒载量(viral load, VL)为 50~1 000 copies/mL 的 HIV-1 感染者的全血标本, 进行 HIV-1 前病毒 DNA 基因型耐药检测, 以巢式 PCR 扩增 HIV-1 pol 区基因并进行 Sanger 测序, 使用斯坦福大学 HIV 耐药数据库等工具对序列信息进行分析。**结果** 对已知 pol 区序列的 26 例 LVL 标本进行 HIV-1 前病毒 DNA 优势 DRMs 分析, 发现 7 例 HIV-1 前病毒 DNA 携带优势 DRMs, 其中 1 例(3.85%)携核苷类逆转录酶抑制剂(NRTIs)优势 DRMs, 4 例(15.38%)携非核苷类逆转录酶抑制剂(NNRTIs)优势 DRMs, 1 例(3.85%)携蛋白酶抑制剂(PIs)优势 DRMs, 1 例携整合酶抑制剂(INSTIs)优势 DRMs。共 3 例呈现低中度以上耐药, 其中 1 例对于目前使用的抗病毒治疗方案中的药物产生低度耐药, 余均为潜在耐药。**结论** HIV-1 LVL 患者外周血 HIV-1 前病毒 DNA 中存在优势 DRMs, 提示 HIV-1 前病毒 DNA 耐药检测可为艾滋病治疗方案的制订和调整提供一定的参考。

[关键词] 人类免疫缺陷病毒; 艾滋病; HIV 低病毒载量; 耐药突变

[中图分类号] R512.91

Dominant drug-resistant mutations of provirus DNA in peripheral blood of patients with low viral load of HIV-1

YU Wei-wei¹, CHEN Zhong², PENG Shuang², ZENG Zi-wei¹, QI Hui², WANG Tong², WANG Min² (1. Department of Infectious Diseases, Changsha Hospital, University of South China, Changsha 421001, China; 2. Institute of AIDS, Changsha First Hospital, Changsha 410005, China)

[Abstract] **Objective** To explore whether HIV-1 provirus DNA in peripheral blood of patients with HIV-1 low viral load (LVL) carries dominant drug-resistant mutations (DRMs), and the potential clinical significance of HIV-1 provirus DNA resistance detection. **Methods** The whole blood specimens of HIV-1 infected persons who received antiviral treatment in the outpatient department of a hospital for more than 6 months and plasma viral load (VL) of HIV-1 RNA was 50 - 1 000 copies/mL in two consecutive DNA genotype resistance detection between May 2020 and May 2021 were collected, HIV-1 pol gene was amplified by nested polymerase chain reaction (PCR) and Sanger sequencing, the sequence information was analyzed by Stanford University HIV resistance database. **Results** The dominant DRMs of HIV-1 provirus DNA in 26 LVL specimens with known pol region sequence were analyzed. It was found that 7 cases of HIV-1 provirus DNA carried dominant DRMs, including 1 case (3.85%) with nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NRTIs) dominant DRMs, 4 cases (15.38%) with non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTIs) dominant DRMs, 1 case (3.85%) with protease inhibitor (PIs) dominant DRMs and 1 case with integrase inhibitor dominant DRMs. A total of 3 cases showed low to moderate drug resistance, 1 of

[收稿日期] 2021-09-29

[基金项目] 湖南省科学技术厅湖南创新型省份建设专项(2020SK21361)

[作者简介] 余维维(1996-),女(汉族),湖南省岳阳市人,硕士研究生,主要从事艾滋病 RNA/DNA 耐药研究。

[通信作者] 王敏 E-mail:wangmin2828@163.com

which had low resistance to drugs in the current antiviral treatment scheme, and the rest were potentially drug-resistant. **Conclusion** There are dominant DRMs in peripheral blood HIV-1 provirus DNA of patients with HIV-1 LVL, suggesting that the detection of DNA resistance of HIV-1 provirus can provide certain reference for the formulation and adjustment of AIDS treatment scheme.

[Key words] human immunodeficiency virus; acquired immunodeficiency syndrome (AIDS); HIV low viral load; drug resistance mutation

临床上用于判断抗逆转录病毒疗法(antiretroviral therapy, ART)治疗效果的重要方法是检测血浆病毒载量(viral load, VL)。研究^[1]表明 4%~10%的人类免疫缺陷病毒 I 型(HIV-1)感染者,在接受 ART 治疗后,仍维持低病毒载量(low viral load, LVL),HIV-1 感染者出现病毒学失败,产生耐药性的风险更高。基于 Sanger 测序的传统 HIV-1 RNA 基因耐药检测方法通常只能检测 VL \geq 1 000 copies/mL 的 HIV-1 感染者,当 VL $<$ 1 000 copies/mL 时,病毒基因的扩增失败率较高,导致部分患者的耐药情况易被忽视而导致无法及时进行处理,《全国艾滋病检测技术规范(2015 年修订版)》指出:当耐药毒株在病毒群体中低于 10%~20%时,通常检测不到其存在^[2]。

2018 年,加拿大艾滋病诊疗指南中提出对 HIV-1 RNA $<$ 1 000 copies/mL 的患者,可以进行 HIV-1 前病毒 DNA 基因型耐药检测^[3]。《全国艾滋病检测技术规范(2020 年修订版)》在全球范围内首次将 HIV-1 前病毒 DNA 定量检测纳入检测规范中,文中指出:HIV-1 前病毒 DNA 定量检测可判定 HIV 储存库含量,可更准确预测 HIV 传播风险和病程发展^[4]。为更科学有效的指导艾滋病防治工作,针对 HIV-1 RNA 病毒载量在 50~1 000 copies/mL 的 LVL 患者,本研究利用 Sanger 测序方法,对某院 2020 年 5 月—2021 年 5 月门诊已接受抗病毒治疗半年以上、诊断为 LVL 的 HIV-1 感染者的 HIV-1 前病毒 DNA 耐药情况开展研究。HIV-1 前病毒 DNA 在患者个体水平存在高度的变异性,Sanger 测序的原理是对所有序列中丰度占比最高的优势 DNA 序列(dominant sequence)进行优先测序,这些优势序列的占比理论上要超过总序列数的 40%^[5]。HIV-1 DNA 水平的耐药突变(drug-resistance mutations, DRMs)信息,代表 HIV-1 感染者外周血 HIV-1 储存库中的优势 DRMs。

1 对象与方法

1.1 研究对象 研究纳入 2020 年 5 月—2021 年 5

月在该院门诊接受抗病毒治疗 6 个月以上且连续两次检测 VL 为 50~1 000 copies/mL 的 HIV-1 感染者进行分析。入组标准:(1)年龄 $>$ 18 岁,通过艾滋病抗体确证试验确证的 HIV-1 感染者;(2)接受抗病毒治疗 6 个月以上;(3)连续两次检测 VL 为 50~1 000 copies/mL^[6-7];(4)签署知情同意书。以上条件应同时满足。收集符合以上纳入标准患者的抗凝全血标本,-80℃冰箱储存备用。

1.2 主要仪器及试剂 主要仪器:Sanger 测序仪、荧光定量 PCR 仪。主要试剂:人类免疫缺陷病毒 I 型(HIV-1)DNA 定量检测试剂盒(广州海力特生物科技有限公司)、核酸提取或纯化试剂(海力特)。

1.3 方法

1.3.1 HIV-1 VL 和 HIV-1 DNA 载量的测定 罗氏 Cobas TaqMan HIV-1 Test Version 2.0 全自动分析系统定量检测 HIV-1 RNA VL。为测定 HIV-1 DNA 载量,首先从全血标本中提取 HIV-1 DNA,并通过荧光定量 PCR 法对每百万细胞中 HIV-1 DNA 的拷贝数进行测定^[8-9]。

1.3.2 核酸提取及基因扩增 使用核酸提取纯化试剂(海力特)提取全血标本中的 HIV-1 DNA,通过 in-house HIV-1 基因型耐药检测方法,进行巢式聚合酶链式反应扩增 HIV-1 PR/RT 区基因片段(对应 HXB2 国际标准参考株位置为 2253~3553)和 IN 区基因片段(对应 HXB2 国际标准参考株位置为 4230~5076)。

1.3.3 产物的提纯 PCR 产物经 1%琼脂糖凝胶电泳后切胶纯化,纯化后的产物通过 Sanger 测序。

1.3.4 数据分析 获得序列后,使用美国斯坦福大学 HIV db Program 数据库 9.0 版本进行耐药判定,根据数据库系统将耐药程度分为敏感(S)、潜在耐药(P)、低度耐药(L)、中度耐药(I)和高度耐药(H) 5 个水平,其中后 3 个水平判定毒株为耐药毒株。

2 结果

2.1 基本情况 2020 年 5 月—2021 年 5 月该院门

诊共检测 5 795 例抗病毒治疗半年以上的 HIV-1 感染者的 VL, 其中诊断为 LVL 的 HIV-1 感染者 527 例(占 9.09%), VL>1 000 copies/mL 的 HIV-1 感

染者 211 例(占 3.64%)。依据纳入标准,共纳入 26 例研究对象,收集抗凝全血标本储存备用。26 例 HIV-1 LVL 患者基本情况见表 1。

表 1 26 例 HIV-1 LVL 患者基本情况及优势 DRMs 发生情况

Table 1 Basic information of 26 patients with HIV-1 LVL and occurrence of dominant DRMs

变量	例数	优势 DRMs 发生情况 [例(%)]	变量	例数	优势 DRMs 发生情况 [例(%)]
性别			年龄(岁)		
男	20	6(30.00)	18~	9	3(33.33)
女	6	1(16.67)	30~	6	2(33.33)
文化程度			40~	5	2(40.00)
文盲或小学	4	1(25.00)	50~	6	0(0.00)
初中	6	1(16.67)	CD4 ⁺ T 淋巴细胞计数(个/mL)		
高中及以上	16	5(31.25)	0~	19	4(21.05)
RNA 水平(copies/mL)			300~	4	1(25.00)
50~	9	2(22.22)	600~	3	2(66.67)
201~	11	4(36.36)	DNA 水平(copies/10 ⁶ cells)		
501~1 000	6	1(16.67)	0~	6	1(16.67)
治疗时间(年)			201~	9	3(33.33)
0.5~	7	3(42.86)	501~	4	1(25.00)
1~	15	4(26.67)	1 001~	6	1(16.67)
6~	4	0(0.00)	其他	1	1(100.00)

2.2 耐药情况分析 对已知 pol 区序列的 26 例患者的 LVL 标本进行逆转录酶、蛋白酶、整合酶区优势 DRMs 分析,病毒型别 CRF01_AE 发生率最高,为 53.84%(14 例),并且在蛋白酶、逆转录酶、整合酶区基因位点,均发生了优势 DRMs。CRF07_BC、CRF55_01B、B + C、CRF67_01B、CRF08_BC、B 的发生率分别为 19.23%(5 例)、7.69%(2 例)、7.69%(2 例)、3.85%(1 例)、3.85%(1 例)、3.85%(1 例)。26 例患者的 LVL 标本中确定 7 例携带优势 DRMs。其中 1 例携核苷类逆转录酶抑制剂(nucleoside reverse transcriptase inhibitors, NRTIs)优势 DRMs,发生率为 3.85%(1 例),4 例携非核苷类逆转录酶抑制剂(non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors, NNRTIs)优势 DRMs,发生率为 15.38%。蛋白酶抑制剂(protease inhibitors, PIs)优势 DRMs 与整合酶抑制剂(integrase inhibitors, INSTIs)优势 DRMs 各携 1 例,发生率均为 3.85%。2 号标本的病毒类型为 B 病毒亚型,其发生了多处优

势 DRMs。见表 2。

2.3 耐药突变标本耐药程度及抗病毒治疗情况 7 例出现优势 DRMs 的患者标本中,3 例出现低中度耐药,2 号标本对多拉韦林(DOR)、依非韦伦(EFV)、依曲韦林(ETR)的耐药程度为 L,对奈韦拉平(NVP)、利匹韦林(RPV)的耐药程度为 I。12 号标本对阿巴卡韦(ABC)、替诺福韦(TDF)的耐药程度为 L,13 号标本对卡博特韦(CAB)、埃替拉韦(EVG)、拉替拉韦(RAL)的耐药程度为 L。余 4 例的耐药程度均为 P。2 号标本中,目前使用的抗病毒方案为拉米夫定(3TC) + TDF + EFV,而其发生的优势 DRMs 对 EFV 的耐药程度为 L,考虑为主要位点突变。余 6 例的优势 DRMs 考虑为次要位点突变,其对目前的抗病毒治疗方案可能无明显影响。在 NNRTI 区中 V106L 的优势 DRMs 发生率最高,为 7.69%(2 例)。NRTI 区、PI 区、INSTI 区优势 DRMs 分别为 K70KT、M46MI、H51Y,发生率均为 3.85%(1 例)。见表 3。

表 2 26 例患者的 HIV-1 前病毒 DNA 优势 DRMs 结果

Table 2 Results of HIV-1 provirus DNA dominant DRMs in 26 patients

患者编号	DNA 结果 (copies/10 ⁶ cells)	RNA	CD4	病毒型别	PI 区	逆转录酶区		INSTI 区
						NRTI 区	NNRTI 区	
1	886.91	247	639	CRF01_AE	M46MI;	-	-	-
2	318.21	416	327	B	-	-	V1061,M230M	-
3	2 210.00	328	348	CRF01_AE	-	-	V1061	-
4	<20.00	76	593	CRF01_AE	-	-	-	-
5	134.64	585	498	CRF07_BC	-	-	-	-
6	101.93	255	576	CRF08_BC	-	-	-	-
7	353.03	870	279	CRF07_BC	-	-	-	-
8	137.97	657	505	CRF55_01B	-	-	-	-
9	237.67	416	327	CRF07_BC	-	-	-	-
10	5 900.00	322	/	CRF67_01B	-	-	-	-
11	134.00	474	227	CRF55_01B	-	-	V179E	-
12	/	690	280	CRF01_AE + C	-	K70KT	-	-
13	248.00	185	568	CRF01_AE	-	-	-	H51Y
14	521.00	492	/	CRF01_AE	-	-	-	-
15	5 860.00	209	169	CRF01_AE	-	-	-	-
16	953.00	121	303	CRF01_AE	-	-	-	-
17	656.00	287	184	CRF01_AE	-	-	-	-
18	1 350.00	994	313	CRF01_AE	-	-	-	-
19	424.00	436	473	CRF01_AE	-	-	-	-
20	1 370.00	144	322	B + C	-	-	-	-
21	106.27	868	713	B + C	-	-	-	-
22	1 400.00	88	205	CRF07_BC	-	-	-	-
23	400.27	120	579	CRF01_AE	-	-	-	-
24	301.93	188	610	CRF01_AE	-	-	-	-
25	331.04	170	733	CRF07_BC	-	-	-	-
26	382.04	86	575	CRF01_AE	-	-	V179D	-

注：- 表示未发现其他位点突变；/表示未检测或数据缺失。

表 3 7 例耐药突变患者的耐药程度及治疗情况

Table 3 Drug resistance and therapy of 7 patients with drug resistance mutation

患者编号	初治方案	更换药物	目前治疗方案	耐药位点	抗病毒药物
1	3TC + TDF + EFV	否	3TC + TDF + EFV	PI;M46MI	S:DRV P:ATV/r,LPV/r
2	3TC + TDF + EFV	否	3TC + TDF + EFV	NNRTI;V106L,M230MI	S:ABC,AZT,FTC,3TC,TDF L:DOR,EFV,ETR I:NVP,RPV
3	3TC + ABC + DTG	否	3TC + ABC + DTG	NNRTI;V106L	S:ABC,AZT,FTC,3TC,TDF P:DOR,ETR,NVP,RPV
11	3TC + TDF + EFV	否	3TC + TDF + EFV	NNRTI;V179E	S:ABC,AZT,FTC,3TC,TDF,DOR P:NVP,RPV,EFV,ETR
12	BIC/FTC/TAF	否	BIC/FTC/TAF	NRTI;K70KT	S:AZT,DOR,NVP,RPV,EFV,ETR P:FTC,3TC L:ABC,TDF

续表 3 (Table 3, Continued)

患者编号	初治方案	更换药物	目前治疗方案	耐药位点	抗病毒药物
13	EFV + AZT/3TC	否	EFV + AZT/3TC	INSTI; H51Y	P; BIC, DTG L; CAB, EVG, RAL
26	BIC/FTC/TAF	是	3TC + DTG	NNRTI; V179D	S; ABC, AZT, FTC, 3TC, TDF, DOR P; NVP, RPV, EFV, ETR

注: AZT 为齐多夫定; DTG 为多替拉韦; FTC 为恩曲他滨; BIC 为比克替拉韦; TAF 为丙酚替诺福韦。

3 讨论

HIV-1 病毒在感染人体后, 病毒进入免疫细胞, 脱外壳, RNA 逆转录成 DNA 后进入细胞核, 大多数 HIV-1 DNA 整合在人基因组上, 形成稳定的病毒储存库(HIV-1 DNA)。HIV-1 DNA 作为复制模板, 转录子代 RNA, 翻译蛋白并包装成子代病毒。在病毒感染发生发展的过程中, 病毒基因组的各种变化被持续记录在 HIV-1 前病毒 DNA 中, 基因突变持续不断的进入潜伏病毒库。相较于 HIV-1 RNA, HIV-1 前病毒 DNA 具有更大的遗传异质性, 可携带大量 DRM_s^[10]。由于 RNA 耐药检测通常在 VL > 1 000 copies/mL 才能实现扩增, 因此对于 HIV-1 LVL 感染者的耐药检测研究不多, 一般认为其出现病毒学失败以及耐药性可能与测序时无法有效摄取患者 RNA 中的 DRM_s 以及未能及时更换抗病毒治疗方案有关^[11-13]。

近年来, 许多实验室开发了对低水平病毒复制有效的基因型耐药性分析的方法。在 LVL 的 HIV-1 感染者中, 由于研究对象及目的不同, 报道的 DRM_s 发生率差异也较大, 总体发生率约为 49%~72%, 在一些研究中也探讨了在低水平病毒复制时发生新的 DRM_s 的可能性, 结果证明会出现 7%~46% 新的 DRM_s^[12, 14-15]。在本研究中 HIV-1 病毒耐药基因 PCR 模板来源于全血中的 HIV-1 前病毒 DNA, 所采用的 Sanger 测序策略通过优先测序总序列中丰度占比最高的优势 DNA 序列, 这些优势序列的占比理论上要超过总序列数的 40%, 更加倾向于检测优势 DRM_s, HIV-1 DNA 水平的耐药突变信息, 代表 HIV-1 感染者外周血 HIV-1 储存库中的优势 DRM_s。而本研究表明 HIV-1 前病毒 DNA 使用 Sanger 测序可在 HIV-1 LVL 患者外周血中发现优势 DRM_s, 可为临床治疗方案的及时调整提供重要的参考信息。但是, 该策略是否可有效逆转或避免治疗失败还需要更进一步的研究加以验证。目前有相关研究^[16-19]表明 HIV-1 前病毒 DNA

与血浆游离 RNA 之间 DRM_s 具有相关性, 有研究^[20]也初步阐述了其临床价值, 在 HIV-1 前病毒 DNA 基因测序指导下更换 ART 方案不会导致病毒学失败, 可能有助于增加长期安全性和改善生活质量。

DRM_s 的累积可能通过以下 4 个阶段^[21]: ① HIV DNA 碱基出现 DRM_s; ② HIV DNA 的 DRM_s 被复制扩增, 开始出现耐药病毒; ③ 随着 DRM_s 积累及耐药病毒复制, 可能出现 LVL; ④ 耐药病毒快速增加, 临床表现为病毒反弹或治疗失败。尽管患者体内血浆 HIV-1 RNA 更能直接反映患者耐药情况, 但 HIV-1 前病毒 DNA 也可以在一定程度上反映患者耐药情况, 并且能将耐药发现的时间点提前, 做到在第三阶段甚至第二阶段就能发现 DRM_s。

在本研究中, LVL 的 HIV-1 感染者通过 HIV-1 前病毒 DNA 扩增的优势 DRM_s 突变率较高, 为 26.92%。其中 NNRTI 携 4 例优势 DRM_s, NNRTI 出现频数最高的基因突变位点 V106L, 该位点主要出现在未经治疗的 HIV 感染者的 1%~2% 的病毒中。若与其他突变位点相结合, 将协同降低 NNRTI 敏感性。NNRTI 在资源有限的情况中作为临床一线用药, 具有较高的 DRM_s 发生率^[22]。PI 的基因突变位点为 M46MI, M46MI 是相对非多态性的 PI 选择性突变, 与降低除达芦那韦(darunavir, DRV)外的其他 PI 的敏感性有关。本研究中 INSTIs 出现 1 例优势 DRM_s, 突变位点为 H51Y, H51Y 是一种罕见的非多态性附加突变, 在接受 RAL 和 EVG 的患者中, H51Y 最低限度地降低了 EVG 和可能的 CAB 敏感性。在我国, INSTIs 耐药发生率较低, 云南省艾滋病关爱中心邓雪媚等^[23]收集了 2015—2016 年云南省 14 个地州(市)未接受过含 INSTIs ART 的 531 例 HIV-1 感染者的血浆, 发现 29 例 IN 区基因突变的序列标本, 9 例表现出耐药, 原发性 INSTIs 耐药率为 1.7%。本研究中还出现了包含 V106L、M230MI 多耐药基因位点突变, 是唯一 1 例出现中度耐药的标本, 通常单个突变或仅对一种药物耐药的位点单独出现时耐药程度并不高, 突变的累积增加了耐药程度, 可导致严重的交叉

耐药。

综上所述,本研究通过 HIV-1 前病毒 DNA 扩增对 LVL 的 HIV-1 感染者的 PR/RT 区基因片段以及 IN 区基因片段的序列进行分析,发现了使用 HIV-1RNA 耐药检测方法检测不到的优势 DRMs,但本研究存在一定局限性,首先,标本量较小,可能会造成耐药结果的误差,使耐药率偏高。其次,本研究未对患者进行基线基因耐药突变检测,本次检测均为 ART 后,不排除耐药出现也可能为传播性耐药(transmissible drug resistance, TDR)。在 HIV-1 前病毒 DNA 上检测到的优势 DRMs 也可能是无法复制的缺陷病毒的一部分,仅仅根据 HIV-1 前病毒 DNA 中发现的突变来更换抗病毒治疗方案还有待商榷,需要更多标本量,以及提高研究精度,争取在 LVL 的 HIV-1 RNA 水平进行平行对照研究,从而为临床抉择提供科学依据。但对于存在优势 DRMs 的 HIV-1 LVL 感染者,有必要增加检测频率,以便尽早发现 HIV-1 感染者出现病毒学失败^[24],为临床 ART 方案的制订和调整提供有效的参考意见。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

[参 考 文 献]

- [1] Castillo-Mancilla JR, Morrow M, Coyle RP, et al. Low-level viremia is associated with cumulative adherence to antiretroviral therapy in persons with HIV[J]. *Open Forum Infect Dis*, 2021, 8(9): ofab463.
- [2] 中国疾病预防控制中心. 全国艾滋病检测技术规范(2015 年修订版)[J]. *中国病毒病杂志*, 2016, 6(6): 401-427. Chinese Center for Disease Control and Prevention. National guideline for detection of HIV/AIDS(the 2015 revision)[J]. *Chinese Journal of Viral Diseases*, 2016, 6(6): 401-427.
- [3] NIH. Guidelines for the use of antiretroviral agents in adults and adolescents with HIV. 2018[EB/OL]. [2021-09-20]. <https://aidsinfo.nih.gov/>.
- [4] 中国疾病预防控制中心性病艾滋病预防控制中心. 《全国艾滋病检测技术规范(2020 年修订版)》正式发布[EB/OL]. (2020-05-18) [2021-09-20]. https://www.chinaaids.cn/xxgx/jszl/202005/t20200518_216798.htm. National Center for AIDS/STD Control and Prevention, China CDC. The National AIDS Testing Technical Specification (revised edition 2020) was officially released[EB/OL]. (2020-05-18)[2021-09-20]. https://www.chinaaids.cn/xxgx/jszl/202005/t20200518_216798.htm.
- [5] Hebert PDN, Braukmann TWA, Prosser SWJ, et al. A sequel to sanger: amplicon sequencing that scales[J]. *BMC Genomics*, 2018, 19(1): 219.
- [6] Wirlden M, Todesco E, Valantin MA, et al. Low-level HIV-1 viraemia in patients on HAART: risk factors and management in clinical practice[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2015, 70(8): 2347-2353.
- [7] Jones AD, Khakhina S, Jaison T, et al. CD8⁺ T-cell mediated control of HIV-1 in a unique cohort with low viral loads[J]. *Front Microbiol*, 2021, 12: 670016.
- [8] 岳永松, 王妮丹, 韩扬, 等. 合并带状疱疹病毒感染对 HIV-1 感染者外周血中 HIV-1 DNA 的影响[J]. *中国艾滋病性病*, 2018, 24(8): 756-759. Yue YS, Wang ND, Han Y, et al. Impact of varicella-zoster virus coinfection on the decay of HIV-1 DNA in the peripheral blood of HIV-1 infected patients[J]. *Chinese Journal of AIDS & STD*, 2018, 24(8): 756-759.
- [9] 徐玲, 岳永松, 韩扬, 等. 基线极高 HIV-1 RNA 水平对初治 HIV-1 感染者外周血 total HIV-1 DNA 的影响[J]. *国际病毒学杂志*, 2021, 28(2): 140-144. Xu L, Yue YS, Han Y, et al. Impact of very high baseline HIV-1 RNA level on the decay of total HIV-1 DNA in the peripheral blood of HAART-naive HIV-1 infected patients[J]. *International Journal of Virology*, 2021, 28(2): 140-144.
- [10] Stultz RD, Cenker JJ, McDonald D. Imaging HIV-1 genomic DNA from entry through productive infection[J]. *J Virol*, 2017, 91(9): e00034-17.
- [11] Jordan MR, Winsett J, Tiro A, et al. HIV drug resistance profiles and clinical outcomes in patients with viremia maintained at very low levels[J]. *World J AIDS*, 2013, 3(2): 71-78.
- [12] Fleming J, Mathews WC, Rutstein RM, et al. Low-level viremia and virologic failure in persons with HIV infection treated with antiretroviral therapy[J]. *AIDS*, 2019, 33(13): 2005-2012.
- [13] Crespo-Bermejo C, de Arellano ER, Lara-Aguilar V, et al. Persistent low-level viremia in persons living with HIV under-treatment: an unresolved status[J]. *Virulence*, 2021, 12(1): 2919-2931.
- [14] Li JZ, Gallien S, Do TD, et al. Prevalence and significance of HIV-1 drug resistance mutations among patients on antiretroviral therapy with detectable low-level viremia[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, 56(11): 5998-6000.
- [15] Gallien S, Delaugerre C, Charreau I, et al. Emerging integrase inhibitor resistance mutations in raltegravir-treated HIV-1-infected patients with low-level viremia[J]. *AIDS*, 2011, 25(5): 665-669.
- [16] De La Cruz J, Vardhanbhuti S, Sahoo MK, et al. Persistence of human immunodeficiency virus-1 drug resistance mutations in proviral deoxyribonucleic acid after virologic failure of efavirenz-containing antiretroviral regimens[J]. *Open Forum Infect Dis*, 2019, 6(3): ofz034.
- [17] Musingwini TV, Zhou DT, Mhandire D, et al. Use of proviral DNA to investigate virus resistance mutations in HIV-infected Zimbabweans[J]. *Open Microbiol J*, 2017, 11: 45-52.

- [18] Amendola A, Sberna G, Forbici F, et al. The dual-target approach in viral HIV-1 viremia testing: an added value to virological monitoring? [J]. PLoS One, 2020, 15(2): e0228192.
- [19] Huruy K, Mulu A, Liebert UG, et al. HIV-1C proviral DNA for detection of drug resistance mutations [J]. PLoS One, 2018, 13(10): e0205119.
- [20] Ellis KE, Nawas GT, Chan C, et al. Clinical outcomes following the use of archived proviral HIV-1 DNA genotype to guide antiretroviral therapy adjustment [J]. Open Forum Infect Dis, 2020, 7(1): ofz533.
- [21] Villalobos C, Ceballos ME, Ferrés M, et al. Drug resistance mutations in proviral DNA of HIV-infected patients with low level of viremia [J]. J Clin Virol, 2020, 132: 104657.
- [22] 李敬云. HIV 耐药的现状趋势与应对 [J]. 中国艾滋病性病, 2018, 24(6): 635 - 638, 642.
Li JY. Current state, trend and response to HIV drug resistance [J]. Chinese Journal of AIDS & STD, 2018, 24(6): 635 - 638, 642.
- [23] 邓雪媚, 刘家法, 张米, 等. 云南省 HIV/AIDS 病人原发性整合酶基因耐药突变情况 [J]. 中国艾滋病性病, 2019, 25(4): 327 - 330, 341.
Deng XM, Liu JF, Zhang M, et al. Mutations of primary integrase gene resistance of HIV/AIDS patients in Yunnan province [J]. Chinese Journal of AIDS & STD, 2019, 25(4): 327

- 330, 341.

- [24] 中华医学会感染病学分会艾滋病丙型肝炎学组, 中国疾病预防控制中心. 中国艾滋病诊疗指南(2018 版) [J]. 传染病信息, 2018, 31(6): 481 - 499, 504.
Chinese Society of Infectious Diseases Branch of the Chinese Medical Association, China Center for Disease Control and Prevention. Chinese guidelines for diagnosis and treatment of HIV/AIDS (2018) [J]. Infectious Disease Information, 2018, 31(6): 481 - 499, 504.

(本文编辑:陈玉华)

本文引用格式:余维维, 陈钟, 彭爽, 等. HIV-1 低病毒载量患者外周血前病毒 DNA 优势耐药位点分析 [J]. 中国感染控制杂志, 2022, 21(4): 323 - 329. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20221953.

Cite this article as: YU Wei-wei, CHEN Zhong, PENG Shuang, et al. Dominant drug-resistant mutations of provirus DNA in peripheral blood of patients with low viral load of HIV-1 [J]. Chin J Infect Control, 2022, 21(4): 323 - 329. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20221953.