

HIV-1 基因型耐药检测及质量保证指南

HIV-1 基因型耐药检测及质量保证指南

(2023 年版)

Guideline for HIV-1 genotyping drug resistance testing and quality
assurance



中国疾病预防控制中心

2023 年 3 月 20 日

前言

随着我国艾滋病抗病毒治疗工作的日益深化，HIV-1 基因型耐药检测显示出越来越重要的作用，开展耐药检测的试验室也日益增多。截至 2023 年底，共有 30 余家试验室从事 HIV-1 基因型耐药检测，将来还将有更多的试验室参与其中。HIV-1 基因型耐药检测是对操作人员、试验室环境和设备有很高要求的分子生物学技术，为了对开展该项检测工作的试验室进展系统的技术和质量掌握指导，保证检测结果的准确性和牢靠性，特制定《HIV-1 基因型耐药检测及质量保证指南》（以下简称《指南》）。

本指南自 2023 年 12 月开头编写，参与编写的人员为我国试验室检测、抗病毒治疗领域的专家和有富有实践阅历的检测人员，同时聘请 WHO 和美国疾病预防掌握中心的专家作为技术参谋，并参考了大量国内外相关学术文献及技术指导手册。经过编写组屡次修订、补充和审定，于 2023 年 3 月完成《指南》终稿。《指南》分为八章，包括：HIV-1 基因型耐药检测的人员要求、试验室环境与设置、样品治理、检测技术、质量掌握和生物安全。

本《指南》起草单位：中国疾病预防掌握中心性病艾滋病预防掌握中心。

本《指南》参与编写单位：中国医科大学，中国人民 军事医学科学院微生物流行 病争论所，上海市疾病预防掌握中心，复旦大学公共卫生中心，云南省疾病预防掌握中心，云南省传染病医院艾滋病关爱中心，北京出入境检验检疫局。

本《指南》编写主持人：蒋岩

本《指南》编写组人员：姚均、邢辉、尚红、李敬云、钟平、徐建青、马艳玲、杨绍敏、韩晓旭、张旻、潘品良、蒋岩、汪宁、康来仪、朱红、邢文革、肖瑶、邱茂锋、吴亚松。

本《指南》技术参谋：美国疾病预防掌握中心杨春富、GAP 北京办公室 Chin-Yih Ou，齐明山。WHO 北京办事处 Nicole Seguy，张岚。

本《指南》编写工作联系人：姚均。

本《指南》自公布之日起实施，解释权归属中国疾病预防掌握中心。

HIV-1 基因型耐药检测及质量保证指南编写组

2023 年 3 月 20 日

目 录

第一章 总则

其次章 人员要求

第三章 试验室环境与实施

第四章 样品采集、处理、运输和保存第

五章 常用 HIV-1 基因型耐药检测方法第

六章 室内质量掌握

第七章 HIV-1 基因型耐药检测力量验证（PT）

第八章 常见问题分析及解决方案

第九章 试验室生物安全

附表 1 HIV-1 基因型耐药检测样品送检及接收单

附表 2 混合碱基转换码表

附表 3 HIV-1 基因型耐药突变位点分析表

附表 4 HIV-1 基因型耐药检测结果

附表 5 国内 In-house 方法常用扩增及测序引物（B 和 07BC 亚型）

附表 6 美国 CDC 推举引物

附表 7 HIV-1 基因型耐药检测力量验证样品接收专用单

附表 8 HIV-1 基因型耐药检测力量验证样品检测结果回报表

附件 1 ChromasPro, BioEdit, MEGA4 软件应用程序

附件 2 国际机构组织的 HIV-1 基因型检测力量验证（PT）介绍

参考文献

缩略语

第一章 总 则

1.1 意义

我国自 2023 年开展免费抗艾滋病病毒治疗以来，累计有十多万艾滋病病毒感染者和病人承受抗逆转录病毒治疗。由于艾滋病病毒本身高速复制及复制过程中缺乏自我校对功能等缘由，易发生基因突变产生耐药。同时，在长期抗病毒治疗药物选择性压力作用下，艾滋病病毒耐药突变几率大大增加。耐药突变的产生和进展会影响抗病毒治疗的疗效。因此，准时进展耐药检测，在艾滋病预防与治疗中具有重要作用：首先，它广泛用于HIV-1 感染人群的耐药监测，以了解HIV-1 耐药毒株流行的状况、进展趋势以及影响因素，指导和完善大规模公共卫生模式抗病毒治疗的程序。其次，对个体在抗病毒治疗前进展耐药检测，可指导临床医生制定抗病毒治疗方案，保证抗病毒治疗的效果；此外，还可对抗病毒治疗失败病人进展耐药检测，指导临床医生分析治疗失败缘由，并制定补救治疗方案。然而，与艾滋病试验室的常规血清学检测技术相比，耐药检测操作过程更为简单，对人员、环境、设备有更高的要求，因此，制定《HIV-1 基因型耐药检测及质量保证指南》，对指导艾滋病检测实验室更好地开展耐药检测具有重要意义。

1.2 目的

标准 HIV-1 基因型耐药检测的方法与程序，保证检测质量，提高检测结果的准确性。

1.3 适用范围

适用于在我国开展 HIV-1 基因型耐药检测的全部实验室。

其次章 人员要求

HIV-1 基因型耐药检测人员分为检验人、复核人、签发人。

2.1 检验人

全部相关检验人员至少有一年以上的分子生物学试验工作阅历，承受国家级以上耐药基因型技术培训 4 周以上，能独立娴熟地操作，会使用相关序列分析软件并经理论和实践操作通过考核。

2.2 复核人、签发人

复核人应具备对检测过程进展分析、觉察问题与解决问题的力量。
签发人为试验室负责人或认证认可体系文件中确定的人员。

第三章 试验室环境与实施

依据《医疗机构临床基因扩增检验实验室治理方法〔卫医发【2023】194 号〕》、《临床基因扩增检验实验室工作标准〔卫医发【2023】8 号〕》和《全国艾滋病检测技术标准〔2023 年版〕》的相关要求设置试验室。

HIV-1 基因型耐药检测应在标准化的基因扩增试验室中进展，试验室应设置核酸扩增前区和核酸扩增后区两个独立的工作区域。核酸扩增前区包括设在不同房间或区域的试剂预备区和样品制备区；核酸扩增后区包括设在不同的房间或区域的扩增区和扩增产物分析区〔图 1〕。各工作区必需有明确的标记，应实行单向工作流向，即试剂预备区→样品处理区→扩增区→产物分析区，不得逆向流淌。不同工作区域内的设备、物品不得混用。不同工作区域使用不同的工作服〔例如不同颜色〕，工作人员离开各工作区域时，不得将工作服带出。

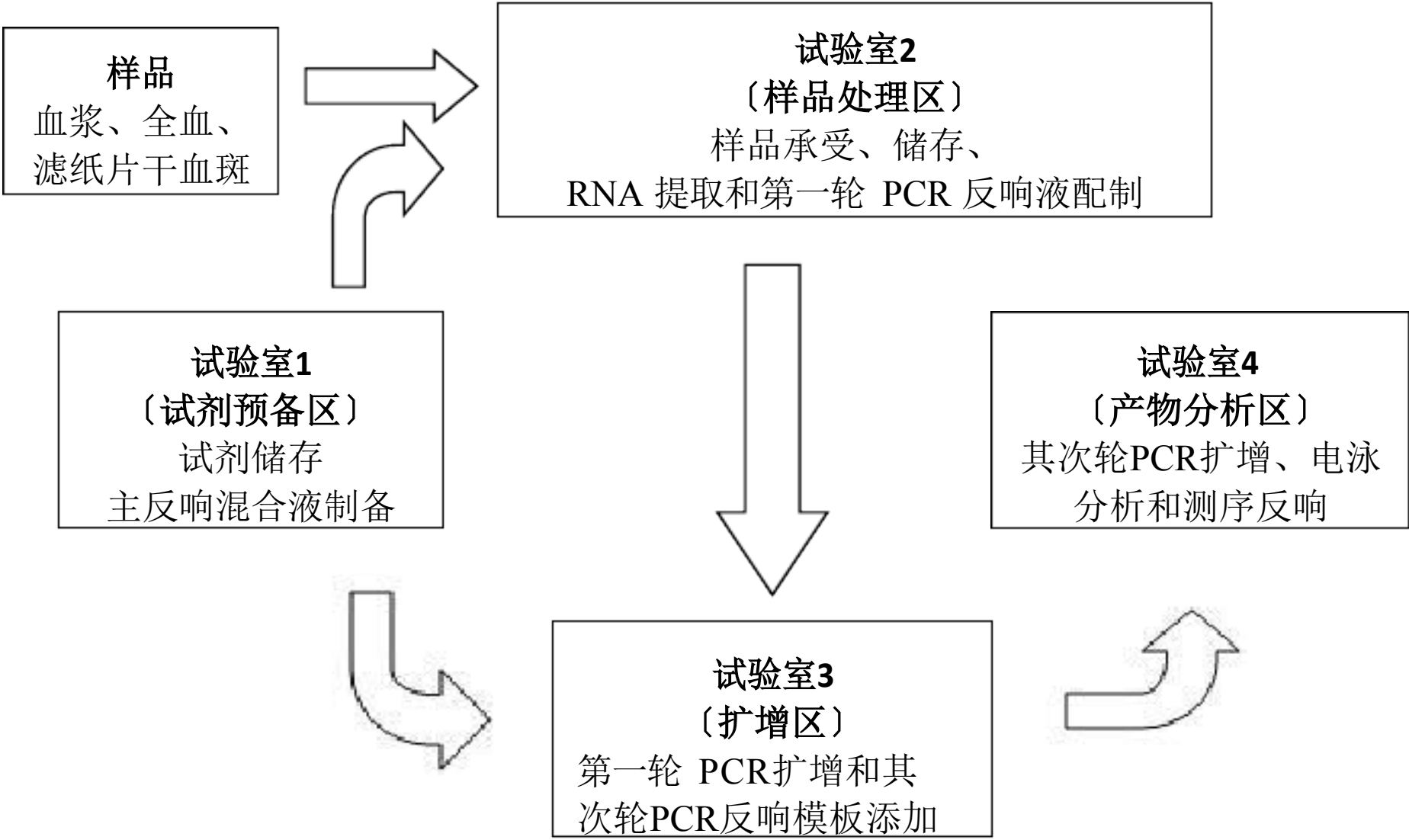


图 1 HIV-1 基因型耐药检测试验室具体分区与流程例如图〔来自 WHO〕

HIV-1 基因型耐药检测及质量保证指南

各区的功能及所需的根本仪器及材料如下：

3.1 试剂预备区：用于扩增试剂的储藏、配制和分装。

- 3.1.1 2~8℃和-20℃冰箱。
- 3.1.2 混匀器。
- 3.1.3 加样器 1 套（20 μL、200 μL、1000 μL）。
- 3.1.4 微量离心机。
- 3.1.5 1.5mL 离心管（无 DNA 和 RNA 酶）和 1.5mL 试管架。
- 3.1.6 75%乙醇和移动紫外消毒灯。
- 3.1.6 专用工作服。
- 3.1.7 消耗品：有滤芯的一次性吸头（无 DNA、RNA 酶）、无粉手套、一次性吸水纸。
- 3.1.8 专用办公用品：记录纸及记号笔等。

3.3 样品制备区：用于核酸提取和第一轮PCR 反响液配制

- 3.3.1 二级生物安全柜。
- 3.3.2 2~8℃、-20℃或-80℃冰箱。
- 3.3.3 台式高速冷冻离心机及微量离心机。
- 3.3.4 水浴箱或加热模块。
- 3.3.5 混匀器。
- 3.3.6 计时器。加样器 1 套（20 μL、200 μL、1000 μL）。
- 3.3.7 75%乙醇和移动紫外消毒灯。
- 3.3.8 专用工作服。
- 3.3.9 消耗品：有滤芯的一次性吸头（无 DNA、RNA 酶）、无粉手套、鞋套、一次性吸水纸。
- 3.3.10 专用办公用品：记录纸及记号笔等。
- 3.3.11 如有条件可配置全自动核酸提取仪和制冰机。

3.3 扩增区：第一轮 PCR 扩增和其次轮 PCR 反响模板添加。

- 3.3.1 二级生物安全柜。
- 3.3.2 -20℃冰箱。
- 3.3.3 核酸扩增仪。
- 3.3.4 微量离心机。
- 3.3.5 加样器 1 套（20 μL、200 μL、1000 μL）。
- 3.3.6 75%乙醇和移动紫外消毒灯。

3.3.7 专用工作服。

HIV-1 基因型耐药检测及质量保证指南

3.3.8 消耗品:带滤芯的一次性吸头〔无 DNA、RNA 酶〕、无粉手套、一次性吸水纸。

3.3.9 专用办公用品:记录纸及记号笔等。

3.4 扩增产物分析区:对扩增产物鉴定和进展数据分析

3.4.1 2~8℃和-20℃冰箱。。

3.4.2 加样器 1 套〔20 μL、200 μL、1000 μL〕。

3.4.3 电泳槽、电泳仪。

3.4.4 天平。

3.4.5 凝胶成像仪。

3.4.6 75%乙醇和移动紫外消毒灯。

3.4.7 专用工作服。

3.4.8 消耗品:带滤芯无 DNA、RNA 酶的一次性吸头、无粉手套、鞋套、一次性吸水纸。

3.4.9 专用办公用品:记录纸及记号笔等。

3.4.10 使用商品化试剂盒和序列测定的仪器放置于该区域。

3.4.11 建议在该区所得到的试验结果数据和照片通过网络传输至办公区。

第四章 样品采集、处理、运输和保存

用于 HIV-1 基因型耐药检测的样品类型可为血浆和滤纸片干血斑。在缺乏上述两种样品类型时，在保证血清样品质量的条件下，也可用于耐药性检测，其检测结果作为参考。

4.1 血浆样品

4.1.1 血浆样品的采集和处理

4.1.1.1 采样器材：一次性抗凝真空采血管、持针器、蝶形针等。

4.1.1.2 抗凝剂：承受 EDTA（乙二胺四乙酸）或 ACD（枸橼酸钠），不要使用肝素，肝素是 Taq 酶的强抑制剂，且在核酸提取过程中很难除去。

4.1.1.3 样品标识：在采血管上标明唯一的样品编号。

4.1.1.4 样品采集量：通常考虑该样品进展多项检测（如 CD4 细胞与病毒载量）所需的样品总量，一般应采集全血 8~10ml，采集的样品量应尽可能与定量采血管的刻度全都，采集量过多或缺乏，会造成血液凝固或被稀释。

4.1.1.5 样品的混匀：采集血液后，马上轻轻上下颠倒抗凝管（约10 次），使血液与抗凝剂充分混匀。

4.1.1.6 要求在 6 小时内将采集的抗凝全血 1500-3000r/min 离心 15 分钟，上层即为血浆，吸出并分装到无菌、聚丙烯螺口、已贴上样品编号的冻存管中（无 RNA 酶），注明分装时间。

4.1.1.7 血浆样品不能灭活。

4.1.1.8 猎取信息：按要求填写 HIV-1 基因型耐药检测样品送检及接收单，包括采集对象的根本信息和流行病学资料，抗病毒药物使用状况，病毒载量检测结果（附表 1）。

4.1.2 血浆样品的转运及接收

4.1.2.1 依据《可感染人类的高致病性病原微生物菌（毒）种或样品运输治理规定》的要求运输，并严格掌握运输的冷冻状态，防止样品溶化。

4.1.2.2 发送样品时附带 HIV-1 基因型耐药检测样品送检及接收单（附表 1）。

4.1.2.3 血浆运输时间在 24 小时内，应参加冰袋。如运输时间超过 24 小时，应使用干冰以保持血浆处于冷冻状态。

4.1.2.4 接收样品时，按 HIV-1 基因型耐药检测样品送检及接收单内容（附表 1）核对样品数量，检查样品状况。

4.1.2.5 样品管破损造成样品溢出及明显溶血、凝血的样品，应重采样送检；假设样品已经溶化，4℃保存并尽快检测，记录冻融一次。

HIV-1 基因型耐药检测及质量保证指南

4.1.3 血浆样品的保存

4.1.3.1 样品保存应有专人负责，每天监测和记录冰箱温度。

4.1.3.2 保存条件：依据血浆检测时间而定，4 天内可在 4℃临时保存，3 个月以内应冻存于-20℃以下，3 个月以上应置于-70℃以下。

4.1.3.3 血浆样品冻融不应超过 3 次。

4.1.3.4 防止样品变质、泄漏及污染。

4.2 滤纸片干血斑样品 (Dried Blood Spots, DBS)

4.2.1 DBS 采集与处理

4.2.1.1 使用 Whatman903 滤纸片。

4.2.1.2 在滤纸片上标记受检者编号和收集日期。

4.2.1.3 末梢血和抗凝血均可用于 DBS 制作。假设用末梢血制备DBS，采集部位为足弓、耳垂或手指。

4.2.1.4 用 70%乙醇或酒精棉消毒采血部位。

4.2.1.5 用消过毒的针头留神刺破皮肤。

4.2.1.6 弃去第一滴末梢血。

4.2.1.7 将其次滴血点在滤纸片中心的圆圈内，大约每孔需要 60-80u1 全血，保证滴满圆圈。

4.2.1.8 每个样品应点满一张滤纸片的每个孔。

4.2.1.9 如用抗凝血制备 DBS，使用移液器从前述采集的抗凝血样品管中吸取约 80 μ l 血样，对准滤纸片印圈的中心处，将血样滴在滤纸上。应滴满一张滤纸片的每个孔。

4.2.1.10 DBS 于室温下自然枯燥至少 4 小时 (在潮湿气候下至少 24 小时)，严禁加热和堆叠血片，避开滤纸标本的相互污染。

4.2.2 DBS 保存

4.2.2.1 DBS 枯燥后，每张滤纸片应单独包装在一个不透气的密封塑料袋里，密封袋内加 2-3 包枯燥剂和一个湿度指示卡。

4.2.2.2 装入 DBS 后应排尽袋内空气并将袋密封。

4.2.2.3 完整包装的 DBS 可在室温下避光储存 2 周。

4.2.2.4 收集 2 周后的 DBS 必需存放在-20℃或以下。

4.2.2.5 在贮存的第一周需要每天监测湿度变化，以后每周检查一次。湿度指示卡变成粉红色时，应更换湿度指示卡和枯燥剂袋。检查包装袋是否漏气，必要时要更换包装袋。

4.2.3 DBS 运输和接收

4.2.3.1 在包装运输时不要折压 DBS。

4.2.3.2 假设 DBS 收集后存放在室温并在 2 周内运送，可常温下用特快专递运送；已经

HIV-1 基因型耐药检测及质量保证指南

保存在-20 ℃或以下的样品，应在冷冻条件下运送。

HIV-1 基因型耐药检测及质量保证指南

4.2.3.4 接收样品时，按HIV-1 基因型耐药检测样品送检及接收单（附表 1）核对样品数量，检查样品状况。对于发霉或样品量明显缺乏等不合格样品，应要求重采样送检。

4.2.3.6 收到的 DBS 应存放在-20℃或-80℃冰箱里。

4.2.3.7 完成试验后 DBS 应至少保存 12 个月。

第五章 常用 HIV-1 基因型耐药检测方法

目前，用于 HIV-1 基因型耐药检测方法主要有美国 FDA 批准的 ViroSeq™ HIV-1 基因型自动检测方法、TRUGENE® HIV-1 基因型半自动检测方法和各试验室依据工作和争论需要自建的〔In-house 或 Home-brew〕方法。自建方法与前二种方法相比，检测结果的准确性无显著性差异且价格低廉，因此应用更为广泛。

5.1 自建基因型耐药检测方法〔In-house〕

自建基因型耐药检测方法应依据试验室认可体系文件中非标方法确实认程序验证或依据 WHO 推举的检测认证方法认证后使用。

5.1.1 适用范围与要求：

5.1.1.1 样品类型：血浆、滤纸片干血斑(DBS)。

5.1.1.2 对于血浆病毒载量 ≥ 1000 拷贝/毫升样品扩增效率应大于 85%。

5.1.1.3 扩增和测序的目的基因片段应掩盖蛋白酶区4-99 位氨基酸和逆转录酶区38-320 位氨基酸的基因区域。

5.1.1.4 可检测出我国流行的 HIV-1B, BC, AE 等主要亚型毒株。

5.1.2 操作过程：

5.1.2.1 试验前预备

(1) 引物设计：依据所检测的目的基因，参考文献和本地区HIV-1 流行毒株的序列设计扩增和测序引物。建议先使用B 亚型引物进展扩增，假设扩增效率不高，改用BC 亚型引物进展扩增，还可以依据实际扩增状况使用美国 CDC 推举引物进展扩增。用于 HIV-1 耐药检测常用的引物见附表 5 和附表 6，更具体的信息可参考《HIV 耐药监测策略和检测技术》中推举的 HIV-1 耐药检测备用引物参考序列。

(2) 主要试剂：试验室自建方法需配置病毒核酸提取、逆转录、扩增和测序反响等步骤所需的试剂。试剂要求见第六章。

5.1.2.2 核酸提取

目前市场上有多种核酸提取试剂盒，可选择适合的一种，依据试剂盒说明书操作。提取血浆 RNA 常使用 QIAamp viral RNA Mini Kit 试剂盒，提取 DBS 样品中的总核酸〔包括 RNA 和 DNA 常使用 NucliSENS RNA Isolation kit 试剂盒。试验中应加阳性和阴性外比照，提取 RNA 时应留意防止 RNA 降解。提取的 RNA 和需长期保存的 DNA 应在-80℃保存。

5.1.2.3 逆转录和 PCR 扩增

将 RNA 模板、逆转录引物、dNTP、逆转录酶、RNA 酶抑制剂、缓冲液和适量无 RNA 酶

HIV-1 基因型耐药检测及质量保证指南

的超纯水参加反响管中，在适宜温度下进展逆转录反响，合成 cDNA。将模板（DNA 或 cDNA）、dNTP、引物、缓冲液、Taq 酶和适量灭菌纯水参加反响管中，置于扩增仪上，依据设定的程序进展 PCR 扩增。建议使用 RT-PCR 一步法试剂进展第一轮扩增反响。

(1) RT-PCR

下面以某试剂为例说明 PCR 体系配制过程，配制的总体系为 25 μ l, 配制体系见表 4-2。第一轮 PCR 运行程序是：
50℃ 30 分钟，95℃ 5 分钟；
94℃ 30 秒，55℃30 秒，72℃2 分 30 秒，30 循环；
72℃10 分钟，4℃保温。

表 5-1 第一轮 PCR：一个反响体系配制〔总体积为 25 μ l〕

成分	体积〔 μ l〕
10*buffer	2.5
MgCl ₂	5.0
dNTP	2.5
上游引物	0.5
下游引物	0.5
逆转录酶	0.5
Taq 酶	0.5
RNA 酶抑制剂	0.5
ddH2O	7.5
RNA 模板	5.0

其次轮 PCR 反响总体系为 50 μ l，配制体系见表 4-3，运行程序是：
94℃ 5 分钟；
94℃ 30 秒，63℃ 30 秒，72℃ 2.5 分钟，30 循环；
72℃ 10 分钟，4℃保温。

表 5-2 其次轮 PCR：一个反响体系配制〔总体积为 50 μ l〕

成分	〔 μ l〕
扩增混合液	25
上游引物	1.0
下游引物	1.0
ddH2O	18
第一轮 PCR 产物	5.0

HIV-1 基因型耐药检测及质量保证指南

(2) 扩增产物鉴定

制备琼脂糖凝胶 (0.8%~1%), 称取 0.8~1.0g 琼脂糖, 参加 100ml 1×TBE, 加热熔化, 冷却至 60℃后参加 5 μl 无生物污染核酸染料(如 GoodView 或替代物 SYBRGreen)。混合后均匀导入胶槽, 室温放置 30 分钟待胶体凝固。然后吸取 5 μl PCR 产物参加上样孔, 以 5V/cm 电压电泳 20~30 分钟, 待溴酚蓝或显色物迁移至凝胶长度的 2/3~4/5 处完毕电泳, 将凝胶置于凝胶成像内观看结果并照相保存。

(3) PCR 产物纯化回收

在紫外光下切下目的条带装入 1.5ml EP 管中, 用商品化凝胶回收试剂盒按操作说明书操作进展胶回收。

5.1.2.4 序列测定

可以在本试验室内测序, 也可以送到有资质的商业测序公司进展。通常承受 Sanger 法进展 DNA 测序。将扩增产物、dNTP、ddNTP、测序引物、缓冲液、Taq 酶和适量灭菌纯水参加反响管中, 置于扩增仪上, 依据设定的程序进展测序反响, 在测序仪中读取序列数据。测序完成的序列保存为 ABI 格式。经过测序后获得的核酸序列, 在进展耐药分析以前, 需要对序列进展初步的质量评估、拼接、混合碱基判读、清理和质量掌握等一系列流程。常用的软件包括序列质量评估软件、序列拼接和编辑清理软件及用于质量掌握的系统进化树分析软件。其中, 用于序列清理、拼接和编辑的软件为 ChromasPro/Sequencher、BiEdit 及 MEGA4。ChromasPro 软件可以从 BioEdit 及 MEGA4 可以在网上免费下载。附件 9 中给出 ChromasPro, BioEdit, MEGA4 软件操作程序。

5.1.2.5 耐药程度分析

供给 HIV-1 耐药基因型检测数据分析和解释系统(HIVDRDB)的主要机构有: 国际艾滋病协会(IAS, [:// iasusa.org](http://iasusa.org)), 美国斯坦福大学(HIVDB, [://hivdb.stanford.edu](http://hivdb.stanford.edu)), 法国国家艾滋病争论署 (ANRS, Leuven 大学 Rega 医学争论所(REGA, <http://www.rega.be>))。

耐药相关的基因突变一般分基因区报告, 如将蛋白酶 (PRO) 和逆转录酶 (RT) 两个基因区的基因突变分开报告。基因突变以“字母-数字-字母”的书写方式来表示, 第一个字母代表野生型病毒株特定密码子处的氨基酸, 其次个字母代表在特定密码子处替换了的氨基酸。以美国斯坦福大学 HIV 耐药数据库使用为例, 首先进入该数据库网站, 点击 HIV db PROGRAM 框进入下一页面, 选择 ANALYZE SEQUENCES 框进入序列提交页面; 可将整理好的文本格式序列直接粘贴在 Text Input 框中, 也可点击 Text File Upload 框中的扫描键上传序列文本文件; 可输入 Identifier、Date 等根本信息, 点击右下角 ANALYZE 键, 开头进展耐药位点分析。

美国斯坦福大学耐药数据库供给的结果包括样品号, 分析时间, 蛋白酶、反转录酶和整合酶区的氨基酸编码位置, 病毒亚型及与数据库中同亚型序列的同源性, 序列质量以及

HIV-1 基因型耐药检测及质量保证指南

耐药位点及解释等根本信息。依据耐药突变位点得到某种药物的单分值，然后累计得到该药物的总分值，依据总分值来推断耐药的程度，0~9 分为敏感，10~14 分为潜在耐药，15~29 分为低度耐药，30~59 分为中度耐药，60 分以上为高度耐药。

不同 HIV-1 耐药基因型解释系统对耐药程度的划分不同：HIVDB 系统分为敏感〔S〕、潜在耐药〔P〕、低度耐药〔L〕、中度耐药〔I〕和高度耐药〔H〕五个水平；Rega、ANRS 和商品化试剂盒所承受的系统则可分为敏感、可能耐药和显示耐药三个水平。

当耐药毒株在个体内病毒群体中的比例低于 10%~20%时，通常检测不到其存在。因此，当在 HIVDB、Rega 或 ANRS 系统中报告为“敏感时”，只可报告本次试验结果为“未觉察耐药”，不行报告“敏感”。

5.1.2.6 出具耐药报告：由具体检测人填写耐药检测结果〔附表4〕并由复核人复核后签字。

5.2.2.7 结果审核和反响：由试验室主管审核耐药报告并将报告由特地人员将结果录入中国疾病预防掌握中心耐药系统，供临床医生参考。

5.2 TRUGENE® HIV-1 基因型系统

TRUGENE® HIV-1 基因型系统是最早经过美国 FDA 批准的用于 HIV 耐药检测方法，从含有病毒的血浆中提取病毒 RNA，然后反转录成 cDNA，在同一个反响体系中完成 PCR 扩增反响，最终用荧光标记测序产物并用自动的激光检测装置来检测。由“OpenGene UNIX”软件读取相关基因序列信息，然后由“GeneLibraian Module”分析样品中的基因型信息并产生耐药报告。

5.2.1 适用范围：

5.2.1.1 血浆，病毒载量 ≥ 1000 拷贝/毫升。

5.2.1.2 检测序列掩盖蛋白酶（4~99aa）和逆转录酶（38~248aa）。

5.2.1.3 检测特点为单管 RT-PCR 反响扩增。

5.2.2 TRUGENE® HIV-1 基因型系统主要包括如下步骤：

5.2.2.1 样品制备：在样品制备区生物安全柜中使用 QIAamp viralRNA Mini Kit 或其它商品化试剂盒提取血浆中的 RNA。

5.2.2.2 RT-PCR 反响：使用 ABI9700 热循环仪进展 RT-PCR 逆转录和扩增反响扩增靶基因。

5.2.2.3 DNA 测序：使用 ABI9700 热循环仪进展 CLIP 测序反响。

5.2.2.4 电泳分析：制备 MicroGel 胶板，使用 Long-Read Towers 进展测定。

5.2.2.5 序列评估和结果确认：由两位技术员进展序列分析结果确认并填写附表 3。

5.2.2.6 污染分析：对所测得的序列应用系统树分析鉴定是否有污染发生。

5.2.2.7 出具耐药报告：由具体检测人填写耐药检测结果〔附表4〕并由复核人复核后签字。

HIV-1 基因型耐药检测及质量保证指南

5.2.2.8 结果审核和反响：由试验室主管审核耐药报告并将报告反响给临床医生。

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：

<https://d.book118.com/055223124201011241>