



期刊导读

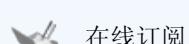
6卷23期 2012年12月 [最新]



期刊存档

[查看目录](#)

期刊订阅



在线订阅



邮件订阅



RSS

作者中心



资质及晋升信息



作者查稿



写作技巧



投稿方式



作者指南

编委会

期刊服务



建议我们



会员服务



广告合作



继续教育

您的位置: [首页](#)>> 文章摘要

甲型H1N1流感病毒实时荧光RT-PCR检测方法的优化及应用

李永利, 刘立明, 廖华芳, 王雪飞, 王海滨

100039 北京, 解放军第302医院临床检验中心

王海滨, Email: haibin_wang@sohu.com

摘要: 目的 优化甲型流感病毒核酸提取步骤和RT PCR反应液组成, 提高RT PCR荧光检测敏感性、缩短报告时间。方法 优化 Viral RNA mini Kit核酸提取操作步骤, 对核酸裂解液处理后的样本进行两次层析柱过滤, 核酸洗脱由试剂盒的室温环境改为72 °C, 30 min后离心洗脱, 荧光RT PCR反应液采用SuperScript III Platinum qRT PCR系统优化, RT PCR扩增程序修改如下: RT反应为50 min, 然后95 °C, 5 min破坏逆转录酶, 继后为45个循环的95 °C, 15 s变性和60 °C, 30 s复性和延伸。结果 优化的甲型流感病毒核酸提取方法与QIAamp Viral RNA 试剂盒方法获得的核酸Ct值基本一致, 但低病毒含量样本的核酸提取效率明显高于未优化方法[优化方法(27 3, 32 2, 39 4), 未优化方法Ct值(27 6, 32 7, 40 6)]。同一核酸在优化荧光RT PCR扩增试剂的Ct值(25 0, 30 5, 36 6), 扩增时间1 h 10 min; 明显优于配发试剂(27 3, 32 5, 40 1), 扩增时间2 h 25 min。结论 优化后的甲型H1N1流感病毒实时荧光RT-PCR检测方法, 无论是核酸提取还是荧光PCR扩增, 其敏感性均明显得到提升, 报告时间明显缩短。

关键词: 流感病毒A型, H1N1亚型; 逆转录聚合酶链反应; 优化

[评论](#) [收藏](#) [全文阅读: FullText](#)

文献标引: 李永利, 刘立明, 廖华芳, 王雪飞, 王海滨. 甲型H1N1流感病毒实时荧光RT-PCR检测方法的优化及应用[J/CD]. 中华临床医学研究会, 2011, 5(17): 5104-5106. [复制](#)

参考文献:

- [1] 中华人民共和国卫生部. 甲型H1N1流感诊疗方案(2009年试行版第1版). 2009
- [2] Chidlow G, Harnett G, Williams S, et al. Duplex real time RT PCR assays for the rapid detection and identification of pandemic (H1N1) 2009 and seasonal influenza viruses A/H1, A/H3 and B. J Clin Microbiol, 2010, 48:862-866. [\[PubMed\]](#)
- [3] Gimeno C, Navarro D. Real time reverse transcription PCR in the diagnosis of influenza A virus in intensive care unit adult patients. Crit Care, 2009, 7, 13:428. [\[PubMed\]](#)
- [4] Cao B, Li XW, Mao Y, et al. Clinical features of the initial cases of 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus infection in China. National Influenza A Pandemic (H1N1) 2009 Clinical Investigation of China. N Engl J Med, 2009, 361:2507-2517. [\[PubMed\]](#)
- [5] Beck ET, Jurgens LA, Kehl SC, et al. Development of a rapid automated influenza A, influenza B, and respiratory syncytial virus A/B multiplex real time RT PCR assay and its use during the 2009 H1N1 swine origin influenza virus epidemic in Milwaukee, Wisconsin. J Mol Diagn, 2010, 12:74-81. [\[PubMed\]](#)
- [6] Karre T, Maguire HF, Butcher D, et al. Comparison of becton dickinson directigen EZ Flu A+B test against the CDC real time PCR assay for detection of 2009 pandemic influenza A/H1N1 virus. J Clin Microbiol, 2010, 48:343-344. [\[PubMed\]](#)
- [7] Dong H, Zhang Y, Xiong H, et al. Detection of human novel influenza A (H1N1) viruses using multiplex fluorescent real time RT PCR. Virus Res, 2010, 147:85-90. [\[PubMed\]](#)
- [8] Ge Y, Cui L, Qi X, Shan J, et al. Detection of novel swine origin influenza A virus (H1N1) by real time nucleic acid sequence based amplification. J Virol Methods, 2010, 163:495-497. [\[PubMed\]](#)
- [9] Shu B, Wu KH, Emery S, et al. Design and performance of the CDC Real time RT PCR swine flu p for detection of 2009 A (H1N1) pandemic influenza virus. J Clin Microbiol, 2011, 49:2614-2619. [\[PubMed\]](#)
- [10] Wong S, Pabbaraju K, Wong A, et al. Development of a real time RT PCR assay for detection of resistance to oseltamivir in influenza A pandemic (H1N1) 2009 virus using single nucleotide polymorphism analysis. J Clin Microbiol, 2010, 48:343-344. [\[PubMed\]](#)

[11] Hatano B, Goto M, Fukumoto H, et al. Mobile and accurate detection system for infection by the pandemic influenza A (H1N1) virus with a pocket warmer reverse transcriptase loop mediated isothermal amplification. J Med Virol, 2011, 83:568–573 [PubMed]

短篇论著

急性胰腺炎严重程度床边指数评分对急性胰腺炎严重程度的早期评估价值

黄玉莲, 张玲, 马丽娜. . 中华临床医师杂志: 电子版
2011;5(17):5090–5092.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

转化生长因子β1在糖尿病肾病大鼠肾组织中的表达及川芎嗪与氯沙坦联合干预对其影响的研究

王全顺, 刘辉, 张佳楠, 苏宁, 任建民. . 中华临床医师杂志: 电子版
2011;5(17):5093–5096.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

吸入布地奈德对被动吸烟大鼠肺功能及肺组织IL-32表达的影响

邓星奇, 张志锋, 刘梅, 顾薇, 凌美蓉, 丁念昌, 程德山, 周健, 王继芹. . 中华临床医师杂志: 电子版
2011;5(17):5097–5099.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

磁共振增强后液体衰减反转恢复序列在结核性脑膜炎诊断中的应用

揭冰, 江森, 孙希文, 朱晓华, 袁栋, 彭刚. . 中华临床医师杂志: 电子版
2011;5(17):5100–5103.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

甲型H1N1流感病毒实时荧光RT-PCR检测方法的优化及应用

李永利, 刘立明, 廖华芳, 王雪飞, 王海滨. . 中华临床医师杂志: 电子版
2011;5(17):5104–5106.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

血友病并发晚期急性重型乙型肝炎救治成功一例并文献复习

吉英杰, 田雅茹, 牟劲松, 范振平, 夏杰, 蔡少平, 张文瑾, 李克. . 中华临床医师杂志: 电子版
2011;5(17):5107–5109.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

去甲氧柔红霉素与柔红霉素治疗老年髓系白血病疗效对比

黄耘, 王思力, 于永洋, 樊亚群. . 中华临床医师杂志: 电子版
2011;5(17):5110–5112.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

利用组织芯片研究stahmin在肝癌相关肝病组织中的表达

甘淋, 刘晓燕, 陶忠桦, 何涛, 刘银坤. . 中华临床医师杂志: 电子版
2011;5(17):5113–5115.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

抑郁对老年高血压患者血压昼夜节律的影响

李耘, 马丽娜, 杨伟. . 中华临床医师杂志: 电子版
2011;5(17):5116–5118.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

不同颅骨成型材料的选择及评价

熊莹帆, 邱建华, 楚胜华, 段志新. . 中华临床医师杂志: 电子版
2011;5(17):5119–5121.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

慢性乙型肝炎病毒感染自然史中表面抗原水平的研究

王临旭, 黄长形, 李新红, 王毕娟, 尹晨. . 中华临床医师杂志: 电子版
2011;5(17):5122–5124.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

额叶癫痫症候学与致痫灶定侧的关系探讨

汤国太, 赵炜, 张菊华. . 中华临床医师杂志: 电子版

2011;5(17):5125—5128.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

应用神经内镜行第三脑室底部造瘘术治疗特发性正常压力脑积水效果探讨

赵澎, 李储忠, 桂松柏, 王新生, 宗绪毅, 张亚卓. . 中华临床医师杂志: 电子版
2011;5(17):5129—5131.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

前交叉韧带重建术股骨隧道制作方式的临床研究

张抒, 张强, 李瑞, 刘亚. . 中华临床医师杂志: 电子版
2011;5(17):5132—5134.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

Anchor钉结合Krackow缝合法治疗急性跟腱止点撕脱

徐圣康, 赵猛, 刘家国, 罗斌, 张劲松, 熊为, 查昆. . 中华临床医师杂志: 电子版
2011;5(17):5135—5137.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

偏瘫合并髋关节骨折患者的生存质量研究

赵栋, 姚洪春, 吴四军, 张昆, 张光武. . 中华临床医师杂志: 电子版
2011;5(17):5138—5140.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

卡培他滨联合顺铂腹腔灌注治疗进展期胃癌腹腔积液的疗效分析

徐晓妹, 朱新红, 张传涛, 林存智. . 中华临床医师杂志: 电子版
2011;5(17):5141—5143.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

食管癌术后重症吸入性肺炎早期集束化治疗分析

李晓林, 张芳, 王嘉玮, 蔡礼鸣. . 中华临床医师杂志: 电子版
2011;5(17):5144—5145.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

腹腔镜诊断及治疗原发性大网膜扭转四例并文献复习

庄树彤, 程书榜, 郑凯, 文剑锋, 徐敏, 李伟朋. . 中华临床医师杂志: 电子版
2011;5(17):5146—5147.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

直肠超声引导下经会阴与经直肠前列腺穿刺活检的对比研究

张栩亮, 权伟合, 刘毅, 李虎宜, 梁志恒, 刘卫华, 高梦. . 中华临床医师杂志: 电子版
2011;5(17):5148—5150.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

非穿透性小梁切除联合小梁切开术与传统小梁切除术治疗开角性青光眼的比较

罗红, 戴汉军. . 中华临床医师杂志: 电子版
2011;5(17):5151—5153.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

冻融胚胎移植中周期生化妊娠发生率及影响因素分析

龙文, 尹太郎, 赵庆红, 杨菁. . 中华临床医师杂志: 电子版
2011;5(17):5154—5157.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

介入再通术与宫、腹腔镜联合治疗输卵管近端阻塞比较

冯长征, 邢福祺, 郭庆禄, 韩立薇. . 中华临床医师杂志: 电子版
2011;5(17):5158—5160.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

自然受孕后卵巢过度刺激综合征的诊治并文献复习

赵庆红, 杨菁, 尹太郎, 李星, 陈瑾. . 中华临床医师杂志: 电子版
2011;5(17):5161—5164.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

腺苷A3受体和缺氧诱导因子-1 α 的表达与大肠癌临床病理特征的关系

尹林林, 李静, 张钢峰, 王俊丽, 张新铭. . 中华临床医师杂志: 电子版

2011;5(17):5165-5168.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

| [编委会](#) | [联系我们](#) | [合作伙伴](#) | [友情链接](#) | [网站地图](#) | [建站](#)

© 2013版权声明 中华临床医师杂志(电子版)编辑部

网站建设: 北京华夏世通信息技术有限公司 京ICP备09112119号-7

北京市公安局西城分局备案编号: 110102000676