中国公共卫生 2012, 28(4) 425-427 DOI: 10.11847/zgggws2012-28-04-06 ISSN: 1001-0580 CN: 21-1234/R



论文

# 结核杆菌耐药基因膜芯片检测

韦世录[1], 何敏[1], 何晓[2], 蒙江明[3], 王祖恩[3], 银春莲[3], 张志勇[2], 仇小强[2]

1. 广西医科大学医学科学实验中心, 广西 南宁 530021;
2. 广西医科大学公共卫生学院;
3. 南宁市第四人民医院

摘要：

目的 建立一种快速检测结核杆菌对异烟肼、利福平、链霉素、乙胺丁醇、吡嗪酰胺、喹诺酮类耐药的基因的方法。方法 应用Oligo 6.0设计12对引物、54条探针,构建多重聚合酶链式反应(multiplex polymerase chain reaction,多重PCR)结合反向斑点杂交膜芯片检测结核耐药基因的方法,并对52株结核杆菌临床分离株进行检测。结果 12对引物分4个反应管建立了同一条件下PCR反应体系,54条探针组成的膜芯片中包含36条野生型检测探针、16条突变型检测探针、阳性和阴性对照探针各1条;利用膜芯片检测结核杆菌耐药性的灵敏度为95.4%(41/43),特异度为100%,与药敏试验耐药种类的完全一致率为53.5%(23/43)。结论 多重PCR联合膜芯片技术能有效地检测结核杆菌耐药基因,并有助于结核杆菌耐药性判断,具有灵敏度高、特异性好、简便、快速等优点,适合于基层应用。

关键词： 结核杆菌 多重PCR 膜芯片

## Membrane chip for detection of drug resistance gene of *Mycobacterium tuberculosis*

WEI Shi-lu[1], HE Min[1], HE Xiao[2]

Scientific Laboratory Centre, Guangxi Medical University Nanning 530021, China

Abstract:

Objective To develop a rapid method for the detection of *Mycobacterium tuberculosis*(MTB) durg-resistant genes of isonizai,rifampicin,streptomycin,ethambutol,pyrazinamide,and quinolones.Methods We designed 12 pairs primers and 54 probes by Oligo6.0,constructed a gene membrane chip for MTB drug-resistant gene detection by the combinatiion of multiplex PCR and reverse dot blot hybridization,and detected 52 clinical isolates of MTB.Results The 12 primes were divided into 4 reactons to establish a multiplex PCR reaction system under the same conditions.Then with reverse dot blot hybridization,a gene membrane chip of 54 oligonucleotide probes was developed and the chip included 36 wild-type probes,16 mutant probes,and a positive and a negative probe.The sensitivity of the MTB drug-resistant gene detection with the chip was 95.4% (41/43) and the specificity was 100%.Conclusion The gene membrane chip developed with the combination of multiplex PCR and reverse dot blot hybridization could be used to detect MTB drug-resistant gene effectively,and the method is rapid and convenient,and with good sensitivity and specificity for grassroot application.

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis* multiplex PCR gene membrane chip

收稿日期 2011-02-09 修回日期 网络版发布日期

DOI: 10.11847/zgggws2012-28-04-06

基金项目:

广西科技厅资助项目(桂科基0991011;桂科攻033004-11;桂科攻0235024-27);广西高校百名中青年学科带头人资助计划

通讯作者: 何敏:E-mail:m_h_m868@sina.com

作者简介:

参考文献：

扩展功能
本文信息
Supporting info
PDF(KB)
[HTML全文]
参考文献
服务与反馈
把本文推荐给朋友
加入我的书架
加入引用管理器
引用本文
Email Alert
文章反馈
浏览反馈信息
本文关键词相关文章
结核杆菌
多重PCR
膜芯片
本文作者相关文章
韦世录
何敏
何晓
蒙江明
王祖恩
银春莲
张志勇
仇小强
PubMed
Article by WEI Shi-lu
Article by HE Min
Article by HE Xiao
Article by
Article by
Article by
Article by
Article by

[1] 韦世录,何晓,何敏,等.利用反向杂交膜片检测结核杆菌多耐药基因的研究[J].广西医科大学学报,2008,25(2):202-204.
[2] 何敏,万逢洁,周凌云,等.反向杂交膜片检测结核菌耐利福平基因突变[J].中国公共卫生,2005,21(12):1420-1422.
[3] Felmlee TA,Liu Q,et al.Genotypic detection of Mycobacterium tuberculosis rifampin resistance:comparison of single-strand conformation polymorphism and dideoxy fingerprinting[J].J Clin Microbiol,1995,33:1617-1623.
[4] 崔振玲,景奉香,胡忠义,等.用DNA芯片快速检测结核杆菌对异烟肼的耐药性[J].中华检验医学杂志,2003,26(4):244.
[5] Rudi R,Hamidou T,Hans D B,et al.Evaluation of the INNO-LIPA Rif TB assay,a reverse hybridization assay for the simultanceous detection of Mycobacterium tuberculosis omplex and its resistance to rifampin[J].Antimicrobial Agents And Chemotherapy,1997,41(10):2093-2098.
[6] Zhang Y,Telenti A.Genetics of dray resistance in Myocbacterium tuberculosis[M]//Hatful GF,Jacobs Jr WR.Molecular Genetics of Myocbacteria,Washington DC:ASM Press,2000:235-251.
[7] Sreevatsan S,Pan X,Stockbauer KE,et al.Restricted structural gene polymorphism in the Myocbacterium tuberculosis complex indicates evolutionary recent global dissemination[J].Proc Natl Acad Sci USA,1997,94:9869-9874.
[8] 黄四邑,邱望龙,潘智灵,等.聚合酶链反映-单链构象多态性技术检测多药结核分支杆菌ropB、katG、rpsL突变的研究[J].中国防痨杂志,2001,23(6):341-343.
[9] J.萨姆布鲁克,D.W.拉塞尔.分子克隆实验指南[M].3版,北京,科学出版社,2002:698-699.

本刊中的类似文章

1. 奉水东, 凌宏艳, 王忠刚, 李东阳.耐多药结核杆菌多重PCR-SSCP检测敏感性分析[J]. 中国公共卫生, 2012,28(2): 222-223
2. 段刚, 吴亚玲, 殷幼平.3种高发致病菌多重PCR快速检测方法建立[J]. 中国公共卫生, 2011,27(10): 1335-1336
3. 雷霞, 海岩, 郭卫东, 李昕, 王文瑞.人冠状病毒HKU1重症肺炎病原检测及鉴定[J]. 中国公共卫生, 2011,27(10): 1344-1346
4. 徐菊玲, 徐伯赢, 周洪昌, 张慧, 段劲, 薛利军, 邵圣文.结核分枝杆菌荧光定量PCR检测方法建立[J]. 中国公共卫生, 2011,(10): 1250-1252
5. 段刚, 吴亚玲, 殷幼平.3种高发致病菌多重PCR快速检测方法建立[J]. 中国公共卫生, 2011,27(10): 1335-1336
6. 雷霞, 海岩, 郭卫东, 李昕, 王文瑞.人冠状病毒HKU1重症肺炎病原检测及鉴定[J]. 中国公共卫生, 2011,27(10): 1344-1346
7. 徐菊玲, 徐伯赢, 周洪昌, 张慧, 段劲, 薛利军, 邵圣文.结核分枝杆菌荧光定量PCR检测方法建立[J]. 中国公共卫生, 2011,(10): 1250-1252

文章评论 (请注意:本站实行文责自负, 请不要发表与学术无关的内容!评论内容不代表本站观点.)

| | | | |
|---|---|---|---|
| 反馈人 | | 邮箱地址 | |
| 反馈标题 | | 验证码 | 8127 |

Copyright 2008 by 中国公共卫生