



# 探讨聚合酶链式反应技术、生物传感器技术、生物芯片技术在临床微生物检验中的应用价值

王序<sup>1</sup>, 彭志平<sup>2</sup> (通信作者\*)

(1. 内蒙古包头医学院, 内蒙古 包头 014040; 2. 内蒙古包头市中心医院 检验科, 内蒙古 包头 014040)

**摘要:** **目的** 探讨聚合酶链式反应技术、生物传感器技术、生物芯片技术在临床微生物检验中的应用价值。**方法** 选取本院检验科2019年5月至2022年5月的500份标本作为研究对象, 均为高度疑似感染性疾病患者, 将每份标本分成4份并进行聚合酶链式反应检验、生物传感器技术检验、生物芯片技术检验及微生物培养, 以微生物培养结果作为金标准, 分析计算聚合酶链式反应检验、生物传感器技术检验、生物芯片技术检验的灵敏度、特异度、符合率。**结果** 微生物培养结果显示共检出细菌感染264例, 其中假绿假单胞菌88例, 肺炎克雷伯菌81例, 白色念珠菌49例, 嗜麦芽窄食单胞菌46例。聚合酶链式反应检验结果与微生物培养结果进行比对, 计算灵敏度为81.44% (215/264), 特异度为95.76% (226/236), 符合率为88.20% (441/500)。生物传感器技术检测结果与微生物培养结果进行比对, 计算灵敏度为79.17% (209/264), 特异度为92.80% (219/236), 符合率为85.60% (428/500)。生物芯片技术检测结果与微生物培养结果进行比对, 计算灵敏度为80.30% (212/264), 特异度为94.07% (222/236), 符合率为86.80% (434/500)。聚合酶链式反应检验、生物传感器技术检验、生物芯片技术检验的灵敏度、特异度、符合率对比差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。**结论** 聚合酶链式反应技术、生物传感器技术、生物芯片技术在临床微生物检验方面均有较高的应用价值, 能够快速、准确地对标本实施检验, 继而对微生物感染性疾病做出准确的判断, 有助于患者得到及时合理的诊治。

**关键词:** 微生物检验; 聚合酶链式反应技术; 生物传感器技术; 生物芯片技术

**中图分类号:** R111

**文献标识码:** A

**DOI:** 10.3969/j.issn.1671-3141.2023.41.026

**本文引用格式:** 王序, 彭志平. 探讨聚合酶链式反应技术、生物传感器技术、生物芯片技术在临床微生物检验中的应用价值[J]. 世界最新医学信息文摘, 2023, 23(41): 146-150.

## Discussion on the Application Value of Polymerase Chain Reaction Technology, Biosensor Technology and Biochip Technology in Clinical Microbiological Test

WANG Xu<sup>1</sup>, PENG Zhi-ping<sup>2\*</sup>

(1. Baotou Medical College, Baotou Inner Mongolia 014040; 2. Clinical Laboratory, Baotou Central Hospital, Baotou Inner Mongolia 014040)

**ABSTRACT: Objective** To explore the application value of polymerase chain reaction technology, biosensor technology and biochip technology in clinical microbiological test. **Methods** Five hundred samples from the Laboratory Department of our hospital from May 2019 to May 2022 were selected as the research objects, and each sample was divided into 4 samples. The feces were examined by polymerase chain reaction, biosensor technology, biochip technology and microbial culture. With the results of microbial culture as the gold standard, the sensitivity, specificity and coincidence rate of polymerase chain reaction test, biosensor technology test and biochip technology test were analyzed and calculated. **Results** The results of microbial culture showed that 264 cases of bacterial infection were detected, including 88 cases of *Pseudomonas aeruginosa*, 81 cases of *Klebsiella pneumoniae*, 49 cases of *Candida albicans*, and 46 cases of *Stenotrophomonas maltophilia*. Comparing the results of PCR with the results of microbial culture, the calculation sensitivity was 81.44% (215/264), the specificity was 95.76% (226/236), and the coincidence rate was 88.20% (441/500). Comparing the detection results of biosensor technology with the results of microbial culture, the calculated sensitivity is 79.17% (209/264), the specificity is 92.80% (219/236), and the coincidence rate is 85.60% (428/500). Comparing the detection results of biochip technology with the results of microbial culture, the computational sensitivity was 80.30% (212/264), the specificity was 94.07% (222/236), and the coincidence rate was 86.80% (434/500). There was no significant difference in the sensitivity, specificity and coincidence rate of polymerase chain reaction test, biosensor technology test and biochip technology test ( $P>0.05$ ). **Conclusion** Polymerase chain

reaction technology, biosensor technology and biochip technology have high application value in clinical microbial testing, which can quickly and accurately test specimens, and then make accurate judgment of microbial infectious diseases, helping patients to get timely and reasonable diagnosis and treatment.

**KEY WORDS:** microbial inspection; polymerase chain reaction technology; biosensor technology; biochip technology

## 0 引言

微生物检验是临床实验室检测的重要项目,通过微生物检验能够判断引起感染性疾病的微生物,继而确立患者的治疗方案<sup>[1]</sup>。常见的微生物包括细菌、真菌、病毒、支原体等,这些微生物可引起多种不同的疾病。微生物感染的不同直接影响着患者的治疗方案<sup>[2]</sup>。如常见的细菌感染,采用针对该类型的细菌敏感性高的抗生素治疗即可;但如果是病毒感染,则不能选择抗菌药物进行治疗<sup>[3-4]</sup>。微生物检验结果的准确性,直接影响着治疗方案的合理性,因此受到临床的重视。近年来微生物检验发展迅速,目前国内广泛应用的微生物检验技术包括聚合酶链式反应技术、生物传感器技术、生物芯片技术、微生物培养技术等<sup>[5-6]</sup>。其中微生物培养技术是为微生物的生长提供有利的环境,使其迅速增殖,最后对培养的产物实施观测而达到检验的目的<sup>[7]</sup>。微生物检验技术的优势是结果准确,但缺点是耗时长,对培养环境的要求高,因此难以作为一种可广泛应用推广的检测技术<sup>[8]</sup>。聚合酶链式反应技术、生物传感器技术、生物芯片技术则是快速检测技术,能够快速提供诊断报告<sup>[9]</sup>。本次研究对聚合酶链式反应技术、生物传感器技术、生物芯片技术在微生物检验中的应用价值进行探讨,结果如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取本院检验科2019年5月至2022年5月的500份微生物检验标本作为研究对象,提供标本的患者年龄在30~70岁,其中男性264例,女

性236例;均为痰液标本,在患者有痰液时,指导患者清水漱口,然后用力咳出气管、肺部痰液,收集到专用痰液标本杯中,避免混入胃内容物、唾液、血液。

纳入标准:(1)高度疑似感染性疾病患者;(2)患者同意进行微生物检验。

排除标准:检验不完整者。

### 1.2 方法

将每份待检标本分成4份,分别进行聚合酶链式反应检验、生物传感器技术检验、生物芯片技术检验及微生物培养。

#### 1.2.1 聚合酶链反应检验技术

采用简易痰液处理方法,将痰液加4倍体积4%NaOH液,室温液化5min,取1mL,15000r/min,离心25min,沉淀加双蒸水打匀,15000r/min,离心10~15min,重复洗1次。准备扩增缓冲液10 $\mu$ L,dNTP混合物各250 $\mu$ mol/L,设计引物最终浓度为20 $\mu$ mol/L,模板DNA0.1 $\mu$ g,Taq DNA聚合酶10U。DNA变性温度设置90 $^{\circ}$ C~96 $^{\circ}$ C,双链DNA模板在热作用下氢键断裂,形成单链DNA。退火温度60 $^{\circ}$ C~65 $^{\circ}$ C,局部双链形成。延伸温度60 $^{\circ}$ C~65 $^{\circ}$ C,合成与模板互补的DNA链。

#### 1.2.2 生物传感器检验技术

取待检标本,再将其扩散大能够进行生物识别的程度,启动生物传感器仪器,使待检标本被该元件上的分子识别,并与分子特异性结合发生生物化学反应,转化为光信号,最后以电子测量仪测量,观察检测结果。

#### 1.2.3 生物芯片检验技术

将待检本病进行处理、扩增,之后对生物芯片标记靶基因,固化处理后使经过处理的芯片与核酸杂交,完成后洗涤生物芯片,对生物

芯片实施检测并进行结果的判定。

### 1.2.4 微生物培养

进行原始样本微生态的检测测序，确认是否含有目标菌株。确认目标菌株后，选择合适的培养条件。将不同的培养基分别配制成固定平板，取样本进行不同梯度的稀释。取部分菌液涂抹在不同的培养基表面上，按照厌氧或需氧的条件进行培养。收集菌体部分对目标菌株实施分离、纯化，最终确定纯菌株。

### 1.3 观察指标

以微生物培养结果作为金标准，计算分析标本的细菌感染结果，如确认为细菌感染则视标本为阳性，如确认未发生细菌感染则视标本为阴性。将聚合酶链式反应检验、生物传感器技术检验、生物芯片技术检验的结果与微生物培养结果进行比对，计算检测结果的灵敏度、特异度、符合率。

### 1.4 统计学方法

采取SPSS 22.0对资料进行分析处理，计数资料以(%)表示，卡方检验， $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 微生物培养结果

微生物培养结果显示共检出细菌感染264例，其中假绿假单胞菌88例，肺炎克雷伯菌81例，白色念珠菌49例，嗜麦芽窄食单胞菌46例，见表1。

表 1 微生物培养结果 (例)

检测结果	例数
假绿假单胞菌	88
肺炎克雷伯菌	81
白色念珠菌	49
嗜麦芽窄食单胞菌	46
合计	264

### 2.2 聚合酶链式反应检验结果分析

聚合酶链式反应检验结果与微生物培养结果进行比对，其中阳性符合215例，阴性符合226例，计算灵敏度为81.44% (215/264)，特

异度为95.76% (226/236)，符合率为88.20% (441/500)，见表2。

表 2 聚合酶链式反应检验结果分析 (n)

聚合酶链式反应	微生物培养		合计
	阳性	阴性	
阳性	215	10	225
阴性	49	226	275
合计	264	236	500

### 2.3 生物传感器技术检验结果分析

生物传感器技术检测结果与微生物培养结果进行比对，其中阳性符合209例，阴性符合219例，计算灵敏度为79.17% (209/264)，特异度为92.80% (219/236)，符合率为85.60% (428/500)，见表3。

表 3 生物传感器技术检验结果分析 (n)

生物传感器技术	微生物培养		合计
	阳性	阴性	
阳性	209	17	226
阴性	55	219	274
合计	264	236	500

### 2.4 生物芯片技术检验结果分析

生物芯片技术检测结果与微生物培养结果进行比对，其中阳性符合212例，阴性符合222例，计算灵敏度为80.30% (212/264)，特异度为94.07% (222/236)，符合率为86.80% (434/500)，见表4。

表 4 生物芯片技术检验结果分析 (n)

生物芯片技术	微生物培养		合计
	阳性	阴性	
阳性	212	14	226
阴性	52	222	274
合计	264	236	500

### 2.5 三种检验技术的结果对比

聚合酶链式反应检验、生物传感器技术检验、生物芯片技术检验的结果对比差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )，见表5。

## 3 讨论

进入新世纪以来我国的分子生物学得到快速的发展，聚合酶链反应技术、生物传感器技

表 5 三种检验技术的结果对比 (%)

类型		灵敏度	特异度	符合率
聚合酶链式反应检验①		81.44 (215/264)	95.76 (226/236)	88.20 (441/500)
生物传感器技术②		79.17 (209/264)	92.80 (219/236)	85.60 (428/500)
生物芯片技术③		80.30 (212/264)	94.07 (222/236)	86.80 (434/500)
① vs ②	$\chi^2$	0.431	1.925	1.485
	<i>P</i>	0.511	0.165	0.223
① vs ③	$\chi^2$	0.110	0.702	0.448
	<i>P</i>	0.740	0.402	0.503
② vs ③	$\chi^2$	0.106	0.311	0.303
	<i>P</i>	0.745	0.577	0.582

术、生物芯片技术等逐渐在临床广泛应用,为临床实验室检测提供丰富的检测技术<sup>[10]</sup>。这些技术的应用使得临床微生物检测的精度、效率不断提升,也极大促进医院诊疗服务质量的提升<sup>[11]</sup>。本次研究主要对分子生物学技术在微生物检验方面的价值进行探讨,分析聚合酶链反应技术、生物传感器技术、生物芯片技术的应用。

### 3.1 聚合酶链反应技术

聚合酶链反应技术的检验原理是对特定的DNA片段扩增、放大,能够将微量DNA信息大幅度扩增,因而在检测中仅需要极少的组织<sup>[12]</sup>。目前聚合酶链反应在细菌、病毒、肿瘤基因检测中均有广泛的应用,成为医院检验科的重要检测方法。在微生物检测中一般将微生物培养作为检测结果的金标准,但是微生物培养存在培养时间长、人力耗费大等问题<sup>[13]</sup>;此外还有许多微生物培养十分困难或培养阳性检出率不高,因此微生物培养难以作为一种普遍应用的检测方法<sup>[14]</sup>。而随着聚合酶链反应技术的发展,能够在微生物检验中发挥重要价值。

随着技术的发展,在微生物检验方面可利用实时定量聚合酶链反应技术、实时荧光聚合酶链反应技术、聚合酶链反应技术-酶联免疫吸附实验等多种技术,对提升微生物检验的效率和准确性提供重大帮助<sup>[15]</sup>。如在细菌感染性疾病的诊断中,利用聚合酶链反应技术的阳性检出率可达到70%~80%,其检测结果相较细菌培养结果十分接近,并且具有更高的检测效率,因此受到临床的认可<sup>[16]</sup>。

### 3.2 生物传感器技术

生物传感器技术是利用对生物物质敏感并将其转化为电信号、光信号的仪器,把分子生物学技术、传感技术进行有机的结合起来<sup>[17]</sup>。固定化的生物敏感的材料作为识别元件,如酶、抗体、抗原等;并利用理化换能器、信号放大装置等实施检测和观察<sup>[18]</sup>。生物传感器有分子识别部分和转化部分组成,能够分辨生物组织中的酶、抗体、细胞、细菌等,是近年来临床应用较多的一种检测技术。生物传感器技术的优势包括,检测费用由低、专业性强、准确度高,在微生物检测中应用可识别常见的致病菌,为疾病的治疗提供指导。针对进一步发展的分子生物学技术而言,生物传感器技术成为一种十分科学的、不可缺失的检测手段之一。

### 3.3 生物芯片技术

生物芯片技术是一种综合性、交叉类型的检测方法,在高通量基因检测、基因表达研究、蛋白质和蛋白质功能之间的相互影响等相关领域中得到了大力的应用。目前生物芯片技术在临床中应用,可对常见病原微生物实施快速检测,并且检测的效率、准确性得到临床认可。

## 4 结论

本次研究对三种分子生物学检测技术进行分析,结果显示聚合酶链式反应检验、生物传感器技术检验、生物芯片技术检验在微生物检验中均具有较高的价值。研究结果显示在细菌的检测中聚合酶链反应的灵敏度为81.44%,特异度为95.76%,符合率为88.20%;生物传感器技术灵敏度

为79.17%，特异度为92.80%，符合率为85.60%。生物芯片技术灵敏度为80.30%，特异度为94.07%，符合率为86.80%。其检测结果证实在微生物检测中三种检测技术均能够发挥重要价值。

在研究中还发现不同检测技术具有独到的特点，首先是聚合酶链反应在对微生物检测中效率高，整个检测的过程可控制在1~2 h，并且能够保障较高的灵敏度、特异度。但相对而言聚合酶链反应的检测操作步骤较为繁琐，技术难度较大。其次是生物传感器技术，其检测结果直接受到活性材料的性能的影响，因此在当前虽然灵敏度、特异度相对较低，但随着检测材料的发展，其结果的准确性也将不断提升。最后是生物芯片技术，该技术具有多样化自动化、微型化的特点，随着技术的发展能够在一张芯片上进行多种微生物的检测，具有较高的应用前景。

综上所述，本次研究对三种分子生物学检测技术在临床微生物检验中的应用进行探讨，结果显示三种检测技术均具有较高的应用价值，值得在临床应用推广。

#### 参考文献

[1] 邓穗燕,郭旭光,李莹,等.BDKiestralnoquA全自动标本处理系统在临床微生物检验中的应用研究[J].重庆医学,2021,50(4):582-585,590.

[2] 陈潇,国鸽,张婧,等.我国食品微生物检验专业技术人员的食品安全知识、态度、行为调查及影响因素分析[J].中国食品卫生杂志,2022,34(4):791-798.

[3] 陈淼,邬硕平,江唯波,等.不同微生物检验法对念珠菌阴道炎患者阴道分泌物的检验效果比较[J].中国妇幼保健,2020,35(19):3663-3665.

[4] 陈宇宁.微生物检验标本不达标的标本类型、产生原因及管理方法分析[J].检验医学与临床,2020,17(8):1116-1118.

[5] 熊丕显,邓辉,杨金宜,等.2018年重庆市酉阳县某学校志贺氏菌疫情暴发微生物检验及结果分析[J].医学动物防制,2020,36(11):1074-1077.

[6] 张焱鑫,芦云,王新宇,等.实时荧光聚合酶链式反应技术与国标方法检测致病菌的应用与研究[J].食品安全质量检测学报,2020,11(6):1941-1946.

[7] 唐月明,伊洁.数字聚合酶链反应(dPCR)技术在病原体基因检测应用中的研究进展[J].现代检验医学杂志,2021,36(5):174-179.

[8] 黄晨璐,许伟,胡乾坤,等.实时荧光核酸恒温扩增试验和定量反转录-聚合酶链反应对血清乙型肝炎病毒RNA定量检测的一致性评价[J].微生物与感染,2020,15(3):158-165.

[9] 王贵清,董晓艳,钟海琴,等.多重聚合酶链反应技术对判定住院儿童肺炎病原谱的初步研究[J].中国实用儿科杂志,2021,36(8):617-622.

[10] 张明娟,王娟,袁磊,等.多重聚合酶链式反应技术在食源性致病菌检测上的应用研究进展[J].食品与发酵工业,2021,47(2):305-310.

[11] 胡柳杨,韩冰.试纸型生物传感器检测病原微生物的研究进展[J].检验医学与临床,2020,17(6):857-859,862.

[12] 王纯.电化学生物传感器在细菌病原体检测中的应用及发展趋势[J].卫生研究,2021,50(1):168-172.

[13] 白小莲,爱军.生物传感器在食源性致病菌大肠杆菌O157:H7检测中的应用进展[J].生物技术进展,2021,11(3):269-278.

[14] 李梦妍,麦绰颖,邹李.基于核酸放大技术的光学生物传感器在疾病诊断中的研究进展[J].分析试验室,2022,41(7):842-850.

[15] 刘成成,宋为娟.厌氧菌检验在微生物学检验技术教学中的应用[J].检验医学与临床,2022,19(21):3013-3015.

[16] 邢飞,杨春生,金跃,等.某院120例感染性患者微生物病原菌分布及耐药性分析[J].临床军医杂志,2021,49(9):1023-1025.

[17] Gianni L, Huang CS, Egle D, et al. Pathologic complete response (pCR) to neoadjuvant treatment with or without atezolizumab in triple-negative, early high-risk and locally advanced breast cancer: NeoTRIP Michelangelo randomized study[J].Ann Oncol,2022,33(5):534-543.

[18] 中华医学会检验医学分会.宏基因组测序病原微生物检测生物信息学分析规范化管理专家共识[J].中华检验医学杂志,2021,44(9):799-807.