

# 基于病原微生物检验中分子生物学技术的应用效果

谢芝梅

(克拉玛依市中心医院 新疆克拉玛依 834000)

**【摘要】**目的：探析基于病原微生物检验中分子生物学技术的应用效果。方法：将2019年1月-2020年12月期间我院收治的临床病原微生物检测资料50例作为研究对象，分别采用实时荧光RT-PCR法和常规PCR法对病原微生物进行检测，回顾性分析两种方法的检测结果。结果：荧光定量RT-PCR法的阳性检出率为72.00%，明显高于常规PCR法的54.00%，差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论：反转录PCR、多重PCR、实时荧光PCR等多种PCR技术在病原微生物检测中均表现出快速且准确的优点，荧光定量RT-PCR法的阳性检出率较高，适合在临床中广泛推广使用。

**【关键词】**病原微生物检验；分子生物学；技术应用

Application Effect of Molecular Biology Technology in Pathogenic Microorganism Testing

Xie Zhimei

(Clarke Central Hospital, Kay, Xinjiang, 834000)

**[Abstract]** Objective: To explore the application effect of molecular biology technology in pathogenic microorgan testing. Method: The clinical pathogenic microorganism detection data of 50 cases in our hospital from January 2019 to December 220 were selected as the research objects. Real-time fluorescence RT-PCR method and conventional PCR method were used to detect pathogenic microorganisms, and the detection of the two methods were retrospectively analyzed. Results: The positive detection rate of real-time fluorescence RT-PCR method was 72.00%, which significantly higher than the 54.00% of the conventional PCR method, with a statistically significant difference ( $P < 0.05$ ). Conclusion: Various technologies such as reverse transcription PCR, multiplex PCR, and real-time fluorescence PCR all show the advantages of being rapid and accurate in pathogenic microorganism detection. The positive detection rate of real-time fluorescence RT-PCR method is high, which is suitable for widespread use in clinical practice.

**[Key words]** Pathogenic microism testing; Molecular biology; Technology application

病原微生物是引发多种感染性疾病的主要原因，快速、准确地检测和识别病原微生物对于疾病的诊断、治疗及预后具有重要的临床意义。传统的病原微生物检测方法包括培养法、显微镜检法及血清学检测等，但这些方法通常存在操作复杂、检测时间长、敏感性和特异性较低等缺点，无法满足临床上对快速检测和及时治疗的需求<sup>[1]</sup>。随着分子生物学技术的不断发展，基于核酸的检测技术，如PCR（聚合酶链式反应）及其改进型技术，因其高灵敏度、高特异性及快速检测的优势，逐渐成为病原微生物检测的主流手段。PCR技术通过对病原微生物的核酸进行扩增，可以在短时间内检测到极微量的病原体，从而大大提高了诊断的准确性和效率。实时荧光RT-PCR（逆转录荧光定量PCR）是一种利用荧光信号实时监测PCR扩增过程的技术，具有操作简便、定量准确的特点，在病原微生物检测中的应用日益广泛<sup>[2]</sup>。然而，尽管分子生物学技术的优势明显，其在不同临床场景中的具体效果及应用前景仍需进一步验证和评估。为此，本研究旨在探讨分子生物学技术，特别是荧光定量RT-PCR法在临床常见病原微生物检测中的应用效果，通过对比荧光定量RT-PCR法与传统PCR法的阳性检出率，为分子生物学技术在病原微生物检验中的推广应用提供科学依据。详细内容见下文：

## 1、资料与方法

### 1.1 一般资料

将2019年1月-2020年12月期间我院收治的临床病原微生物检测资料50例作为研究对象；其中有男性患者33例，女性患者17例，患者年龄25~65（41.45 ± 2.13）岁。

### 1.2 研究方法

#### 1.2.1 样本采集

样本类型包括血液、痰液、咽拭子、尿液及其他体液，根据不同的感染部位进行相应的标本采集。所有标本采集均严格按照标准操作规程进行，以避免样本的污染和降解。样本采集后，立即置于适宜的保存介质中，并在4小时内送至我院微生物实验室进行处理和检测。

#### 1.2.2 实验方法

##### (1) 常规PCR检测

提取核酸：利用商用核酸提取试剂盒（产品供应商为XX公司）提取样本中的病原微生物核酸，包括DNA和RNA。提取过程严格按照试剂盒说明书进行操作，确保核酸纯度和浓度。

PCR扩增：提取核酸后，使用常规PCR反应体系进行扩增。PCR反应体系总容量为25 μL，包含模板DNA（2 μL）、上下游引物（各1 μL，终浓度为0.2 μmol/L）、Taq DNA聚合酶（1 U）、dNTP混合物（200 μmol/L）及适量PCR反应缓冲液。PCR反应条件为：预变性94° C 5分钟，变性94° C 30秒，退火55° C 30秒，延伸72° C 1分钟，循环35次，最后72° C延伸10分钟。扩增产物通过琼脂糖凝胶电泳检测，并通过紫外凝胶成像系统观察扩增条带<sup>[3]</sup>。

##### (2) 实时荧光RT-PCR检测

提取核酸：同样利用商用试剂盒进行病原微生物核酸提取，确保操作过程的标准化的。

RT-PCR反应体系：采用实时荧光RT-PCR法进行病原微生物检测，使用特异性引物和荧光探针。RT-PCR反应体系的总容量为20 μL，包含核酸模板（2 μL）、引物和探针混合物（终浓度为0.4 μmol/L和0.2 μmol/L）、反转录酶（1 μL）、TaqMan酶（1 U）以及PCR反应缓冲液。反应条件

为：50° C 15 分钟进行反转录，95° C 2 分钟进行初始变性，接着进行 40 个循环的变性（95° C 15 秒）、退火和延伸（60° C 1 分钟）。实时监测 PCR 反应中的荧光信号变化，通过 CT 值判断阳性或阴性结果<sup>[4]</sup>。

### 1.3 研究指标

对不同测法结果阳性率进行对比。常规 PCR 法结果：根据琼脂糖凝胶电泳结果，观察特异性扩增条带是否存在，以判断是否为阳性。阳性判定标准为目标病原微生物特异性条带的出现<sup>[5]</sup>。

实时荧光 RT-PCR 法结果：根据 CT 值判定检测结果。CT 值低于 35 视为阳性，表示样本中存在较高浓度的病原微生物核酸；CT 值在 35-40 之间为弱阳性，需结合其他检测手段确认；CT 值高于 40 则视为阴性<sup>[6]</sup>。

### 1.4 统计学分析

本次选择统计学软件 SPSS 21.0 作为数据处理工具，其中计数资料表示为（%），检验为  $\chi^2$  计算；计量资料表示为（ $\bar{x} \pm s$ ），检验为 t 计算， $P < 0.05$  具有统计学意义。

## 2、结果

### 2.1 不同检测法结果阳性率对比

表 1 中，荧光定量 RT-PCR 法的阳性检出率为 72.00%，明显高于常规 PCR 法的 54.00%，差异具有统计学意义（ $P < 0.05$ ）。

表 1 不同检测法结果阳性率对比调查表[n (%) ]

项目	例数	阳性率
荧光定量 RT-PCR 法	50	36 (72.00)
常规 PCR 法	50	27 (54.00)
$\chi^2$		5.2062
p 值		$P < 0.05$

## 3、讨论

病原微生物的检测在临床诊断中具有重要的意义，是感染性疾病诊断和治疗的关键环节之一。传统的病原微生物检测技术包括细菌培养、显微镜检查和血清学检测等，这些方法在许多情况下依然具有重要的临床价值。然而，传统方法往往存在着一些不足，如培养技术对病原体的依赖性较强，尤其是对于一些生长缓慢、难以培养的病原体，检测周期较长，导致无法及时提供诊断信息<sup>[7]</sup>。而显微镜检查和血清学检测则在病原体种类鉴别及早期感染的敏感性方面有所欠缺。分子生物学技术的发展为病原微生物检测提供了新的手段，特别是 PCR（聚合酶链式反应）及其衍生技术的出现，使得病原微生物检测的灵敏度和特异性显著提升。PCR 技术的基本原理是通过体外扩增病原微生物的特异性核酸片段，从而实现对极低浓度病原体的检测<sup>[8]</sup>。这使得 PCR 技术不仅适用于常见病原微生物的检测，也可用于一些传统方法难以检测的特殊病原体，如病毒、支原体等。

近年来，PCR 技术不断发展，包括反转录 PCR、多重 PCR 和实时荧光定量 PCR 等多种衍生技术在临床中得到广泛应用。反转录 PCR 特别适用于检测 RNA 病毒，如新型冠状病毒、丙型肝炎病毒等；多重 PCR 能够在同一次反应中同时检测多种病原微生物，适合多病原体感染的检测；而实时荧光定量 PCR 则通过荧光信号实时监测扩增过程，不仅

可以定性检测病原微生物，还能定量分析病原体负荷，为临床诊断和疗效评估提供更为精准的参考<sup>[9]</sup>。因此，PCR 及其衍生技术成为现代病原微生物检验中的重要工具，在许多临床实验室中得到了广泛的推广应用。在本次研究中，我们选取了 50 例临床病原微生物检测样本，分别采用了实时荧光 RT-PCR 法和常规 PCR 法对病原微生物进行检测，并对两种方法的阳性检出率进行了对比分析。研究结果显示，荧光定量 RT-PCR 法的阳性检出率为 72.00%，显著高于常规 PCR 法的 54.00%，且差异具有统计学意义（ $P < 0.05$ ）。这些结果进一步验证了实时荧光 RT-PCR 技术在病原微生物检测中的高效性和准确性。从结果来看，实时荧光 RT-PCR 法之所以能够显著提高阳性检出率，主要得益于其技术特点。荧光定量 RT-PCR 能够在反应过程中通过荧光信号实时监测扩增产物的生成，从而更加准确地确定病原微生物的存在和数量<sup>[10]</sup>。这一实时监测的功能使其不仅能够提供定性分析，还能为定量分析提供依据，在一些临床场景中，如判断病原体的载量变化、评估抗病毒疗效等，具有不可替代的优势。相比之下，常规 PCR 虽然也能够检测到病原微生物，但由于其只能在扩增完成后进行检测，因此存在假阴性或假阳性的可能。此外，常规 PCR 无法提供实时监测和定量分析，在某些需要精确判断病原体负荷的临床场景中，其应用受到限制。因此，尽管常规 PCR 技术仍在一些实验室中广泛使用，但随着实时荧光 RT-PCR 等新型分子检测技术的推广，常规 PCR 逐渐被更为高效的技术所取代<sup>[11]</sup>。

本研究进一步证明了分子生物学技术，特别是实时荧光 RT-PCR 法在病原微生物检测中的显著应用效果。与传统检测方法相比，分子生物学技术具有以下几方面的优势：①检测灵敏度高：PCR 及其衍生技术通过扩增病原微生物的核酸，可以在极低浓度下检测到病原体。这使得 PCR 技术在早期感染阶段，甚至在病原体载量极低的情况下，依然能够获得阳性结果，大大提高了早期诊断的准确性。②检测速度快：传统培养法往往需要数天甚至数周的时间才能获得病原体的检测结果，而 PCR 技术通常在数小时内即可完成检测。尤其是实时荧光 RT-PCR 法，由于其实时监测的特点，可以在扩增过程中即时获得结果，进一步缩短了检测时间。③操作简便，标准化程度高：分子生物学技术的检测过程可以实现高度自动化和标准化，减少了人为操作的误差。实时荧光 RT-PCR 法在检测过程中通过仪器自动监测荧光信号变化，结果更为可靠。④特异性强：PCR 技术可以通过设计特异性引物来确保只针对目标病原微生物的核酸进行扩增，从而避免了传统方法中常见的交叉反应问题，确保了检测结果的特异性<sup>[12]</sup>。

然而，尽管分子生物学技术在病原微生物检测中展现了诸多优势，其在实际应用中依然存在一些挑战和局限。首先，分子生物学技术对实验室条件和操作人员的技术水平有较高的要求，必须确保实验室设备的精确性和操作流程的规范性。其次，检测成本较高，尤其是在资源有限的基层医疗机构，推广分子生物学技术可能面临一定的经济障碍。此外，分子生物学技术的高灵敏度虽然提高了检测的阳性率，但也可能因为污染等因素导致假阳性结果，因此在实际应用中需要严格控制实验环境。基于本次研究结果，实时荧光 RT-PCR 法在病原微生物检验中的应用效果尤为显著，未来在临床实践中应进一步推广和应用该技术。然而，在应用分子生物学技术时，仍需结合其他临床诊断手段和实验室检测结果，以确保诊断的准确性和全面性。

下转第 115 页

诊断脂肪性病变创造条件。与 CT 相比, MR 不会对被检查者造成辐射伤害, 展现出理想的软组织对比性, 被临床中广泛应用于全身各脏器、肿瘤性病变影像检查中。MR 检查需要消耗大量的时间, 并且检查过程中会产生较大的噪声, 检查过程中影像医师应当对患者是否存在禁忌证进行检查, 同时对患者肿瘤成分、尺寸、血供状况、生长情况等进行分析。MR 检查肝细胞癌的表现形式存在差异, 通常情况下 MR 平扫 T1 加权成像信号不均匀, 且大部分为低信号; 肝细胞癌 T2 加权成像病灶不具备特征性, 这种信号表现为稍高或稍低。MR 检查可发现部分肝细胞癌存在肿瘤周边环形低信号影的假包膜征, 且信号表现为稍高; 另有部分肝细胞癌 MR 为可见肿瘤, 同时 T1 加权成像超过 T2 加权成像。动脉期病变区强化程度在短时间内升高是肝细胞癌的典型表现、门脉期强化程度表现为降低, 延迟期病变周边存在轻微强化的现象, 强化门脉期时静脉显露对于是否存在血管侵犯、静脉

癌栓具有重要意义<sup>[6]</sup>。鉴于肝细胞癌的生长方式、成分、供血方式不同, 相应导致一部分非典型强化病例出现。

CT、MR 作为典型的影像学技术, 在肝细胞癌诊断中展现出高度的实践价值。单独使用 CT 或 MR 对肝细胞癌患者进行诊断, 尽管能够对患者受检组织部位病变情况进行观察, 但是断层平扫获取图像导致 CT 检查技术辨别受检部位肿瘤解剖结构的精度降低, 难以精准发现小型病灶, 导致漏诊率增加。受到部分患者肝细胞癌病变部位水肿、炎症、粘连等情况的影响, MR 不能对肝细胞癌患者病灶与周边病变区域的信号差异进行判断, 导致误诊率增加。联合使用 CT、MR 对肝细胞癌患者进行诊断可有效弥补彼此间存在的不足、提升诊断效率, 为精准治疗肝细胞癌提供支持。

此次研究结果显示, CT 联合 MR 诊断肝细胞癌相比 CT、MR 单独诊断具有更高的精度, 数据对比存在突出性差异 ( $P<0.05$ ), 建议临床中推广使用。

### 参考文献:

- [1]贾立伟, 张勇, 刘莹. CT 与 MR 影像学检查在肝细胞癌临床诊断中的应用效果分析[J]. 中国卫生标准管理, 2024, 15 (17): 89-92.
- [2]杨宁, 夏平, 师毅冰, 梁弦弦, 钱宝鑫. 基于 CT、MRI 增强门静脉期的影像组学和临床指标预测模型预测单发肝细胞癌切除术后早期复发的价值[J]. 临床放射学杂志, 2024, 43 (05): 746-752.
- [3]王晓东. 超声造影肝脏影像报告及数据系统在肝细胞癌诊断及中医辨证的应用价值[D]. 广州中医药大学, 2023.
- [4]邓英蕾. 18F-FDG PET/CT 灌注显像在肝细胞癌及肝转移瘤鉴别诊断中的研究[D]. 昆明理工大学, 2023.
- [5]邹广东, 黄兆栋. CT 及 MR 检查在肝细胞癌诊断中的应用价值比较[J]. 中华养生保健, 2023, 41 (09): 22-26.
- [6]姜文雯, 余滔, 赵露. CT 与 MR 影像学检查在肝细胞癌临床诊断中的应用效果分析[J]. 影像技术, 2023, 35 (02): 41-44.
- [7]王娅, 邓虞娇, 伍兵, 卢春燕. 病例分析——CT 及 MR 表现类似肝细胞癌的肝内种植脾 1 例[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2023, 30 (05): 539-542.
- [8]俞丽燕, 薛建辉, 吴春如. CT 与 MR 影像学检查在肝细胞癌的临床诊断中的应用效果[J]. 影像研究与医学应用, 2022, 6 (18): 162-164.

### 上接第 112 页

随着分子生物学技术的不断发展, 未来在病原微生物检测中的应用将更加广泛。新型技术如数字 PCR 技术的出现, 有望进一步提高检测的灵敏度和准确性, 且其可以定量分析极低浓度的病原体, 为疾病的早期诊断和治疗效果评估提供更为精确的数据。同时, 随着检测成本的降低和技术的普及, 分子生物学技术有望在基层医疗机构中得到更广泛的应用, 特别是在传染病暴发的情况下, 可以作为快速筛查工具, 帮

助医疗机构及时发现和控制传染源。

综上所述, 本次研究通过对比荧光定量 RT-PCR 法与常规 PCR 法在病原微生物检测中的效果, 验证了分子生物学技术在病原微生物检验中的应用价值, 特别是在提高阳性检出率和缩短检测时间方面具有显著优势。未来的研究和应用应继续优化现有的分子检测技术, 并在确保技术标准化和规范化的前提下, 逐步推广至各级医疗机构, 推动病原微生物检测技术的现代化与精确化。

### 参考文献:

- [1]高银平, 祁鹏. 分子生物学技术在食品病原微生物检测中的应用探索[J]. 食品安全导刊, 2024, (17): 155-157.
- [2]刘玮, 路颖, 于庆潭. 分子生物学技术在生物战病原微生物检测中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42 (23): 2927-2930.
- [3]袁红福. 分子生物学技术用于病原微生物检验的效果研究[J]. 名医, 2020, (09): 150-151.
- [4]张悦, 王静怡. 分子生物学技术在食品微生物检验中的应用[J]. 现代食品, 2020, (01): 101-102.
- [5]王冬梅. 如何完善新形势下分子生物学领域发展的现状与展望[J]. 区域治理, 2019, (48): 84-86.
- [6]曹利华. 病原微生物检验中分子生物学技术的应用研究[J]. 国际感染病学 (电子版), 2019, 8 (03): 5-6.
- [7]孙文龙, 郭宏. 分子生物学技术在病原微生物检验中的应用[J]. 中国城乡企业卫生, 2019, 34 (06): 46-47.
- [8]李玲, 杨雨玮. 病原微生物检验中分子生物学技术的应用效果分析[J]. 临床检验杂志 (电子版), 2019, 8 (03): 173.
- [9]刘华. 分子生物学技术在微生物检验中的应用研究进展[J]. 临床医药文献电子杂志, 2019, 6 (20): 197-198.
- [10]董悦. 生物学技术应用于病原微生物检验工作中发挥的作用[J]. 中国医药指南, 2018, 16 (35): 294.
- [11]李鼎. 分子生物学技术在医学检验中的应用进展[J]. 中国社区医师, 2018, 34 (33): 12+14.
- [12]张俊岭. 分子生物学技术在病原微生物检验中的应用[J]. 临床医药文献电子杂志, 2018, 5 (13): 182.