

〔文章编号〕 1007-0893(2021)02-0056-02

DOI: 10.16458/j.cnki.1007-0893.2021.02.027

基因芯片快速诊断细菌感染的临床应用分析

唐晓卿 王秀珍

(郑州市第一人民医院, 河南 郑州 450000)

〔摘要〕 **目的:** 探讨并分析基因芯片快速检验细菌的临床应用价值。**方法:** 选取2018年2月至2020年1月在郑州市第一人民医院检验的72例患者, 收集其致病菌, 其中金黄色葡萄球菌(25例)、大肠杆菌(17例)、沙门氏菌(16例)、志贺氏菌(14例), 对其均行 VereFoodborne Detection chip 基因芯片快速检验法进行检验, 观察并分析此种检测方式的检测结果。**结果:** 采用基因芯片快速检验法检验后, 均得到了准确的检测结果, 所有检测操作均在8 h内完成, 与常规检测方式所用的时间相比较, 检测时间缩短了1/3, 其中部分血液感染的标本在检测时间上, 从原来的3~5 d缩短到了1 d, 并且检测效率也得到了明显的提升。**结论:** 临床上对患者进行细菌检测时, 采用基因芯片快速检验技术, 能够准确、快速地对目的细菌作出检测, 为临床诊断及治疗提供了准确的指导依据, 此种检测技术也是未来检测技术发展的重点方向。

〔关键词〕 基因芯片; 快速检验; 细菌; 致病菌

〔中图分类号〕 R 446.5 〔文献标识码〕 B

目前, 抗菌药物的耐药性已经成了全球医疗界共同面临的问题, 因此, 了解致病菌的耐药性能够为临床用药指导提供重要的依据。目前, 临床上常见的致病菌主要有金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、沙门氏菌、志贺氏菌等几种, 针对这些常见的细菌感染, 临床上主要采用了常规的培养方法进行了细菌检测^[1]。近年来, 随着我国分子生物学的发展, 聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)、荧光定量PCR、基因芯片快速检测技术等检测方法在微生物检验中得到了广泛的应用, 尤其是基因芯片快速检验技术, 在保证诊断准确性的同时, 还极大地缩短了检测的进程。本研究选取了72例在本院检验的患者, 通过对其致病菌行 VereFoodborne Detection chip 基因芯片快速检验, 详细分析了此种检验方式的临床应用效果, 具体如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取72例2018年2月至2020年1月在本院检验的患者, 其中男40例, 女32例, 年龄19~71岁, 平均年龄(45.53±4.33)岁, 病程2 d~3年, 平均病程(1.12±0.34)年; 收集其致病菌, 其中血液标本、痰液标本、粪便标本分别44份、13份和15份, 经检测后发现, 其中金黄色葡萄球菌(25例)、大肠杆菌(17例)、沙门氏菌(16例)、志贺氏菌(14例), 提取细菌DNA后采用 VereFoodborne Detection chip 基因芯片进行检验。

1.2 方法

1.2.1 细菌DNA的提取 在对标本中的细菌DNA进

行提取时, 检验人员要严格按照试剂盒“QIAamp DNA Mini Kit”中的说明书进行各项操作, 提取成功后, 通过PCR检测法进行扩增, 取1 mL 无菌0.9%氯化钠注射液, 置于37℃的恒温环境下将提取成功的细菌DNA和0.9%氯化钠注射液混合滴落1~2个血琼脂平板上进行过夜培养, 12 h后, 取50 μL DNA进行裂解, 在高温下煮沸10~15 min, 置于本院全自动血压离心仪上进行离心处理, 将离心仪的转速调整为12000 r·min⁻¹, 离心5 min, 取上层清液置于-20℃的冰箱中保存待检, 将扩增体系设置为50 μL, 在94℃的温度下进行初变性30 s, 在72℃的温度下延伸60 s, 在52℃的温度下进行退火45 s, 在95℃的温度下延伸10 min, 共进行35个循环, 循环结束后, 最后在72℃的温度下延伸8 min。

1.2.2 探针的设计 在进行探针的设计时, 先要对培养得到的菌株进行测序, 之后对测序结果进行对比验证。在验证的过程中, 需要参考相关的文献资料进行, 设计基于革兰氏阳性菌和阴性菌的通用检测探针, 如探针上有Cy3及20T标识, 则将其判定为阳性探针, 在设计好的阳性探针芯片周围布置稀释液为阴性对照点。最后就是芯片的制备, 本研究中所用的探针均为上海生工生物技术有限公司生产, 点样时采用 Arrayit SpotBot 3 点样仪, 每个检测位点进行平行点样3次, 点完后置于室温下避光保存12 h, 或者也可置于60℃的恒温烤箱中固定2 h, 然后将其固定在NC膜上。基因芯片对细菌DNA的检测, 抽提到细菌DNA后, 采用快速侦检系统对细菌DNA进行检测。

1.3 观察指标

观察并分析此种检测方式的检测结果。

〔收稿日期〕 2020-11-20

〔作者简介〕 唐晓卿, 女, 主管技师, 主要研究方向是临床免疫学检验方面。

2 结果

本研究收集到的 72 份致病菌均采用基因芯片快速检验法检验后,其检验结果均与病理学检验结果相符。本研究检测操作均在规定的时间内完成,用时最短的为 6.5 h,用时最长的为 7.5 h,平均用时 (6.96 ± 0.24) h,与常规检测方式所用的时间 (10.12 ± 0.87) h 相比较,检测时间明显缩短,甚至缩短了 1/3,基因芯片快速检验法对血液感染的标本进行检测时,1 d 内就完成了所有检测,与之前的 3~5 d 相比较,明显缩短,并且检测效率也得到了明显的提升。

3 结论

基因芯片也叫做 DNA 微阵列,其是以大量 DNA 或者寡核苷酸探针经密集排列后所形成的一种探针阵列,其检测原理实际上也是通过杂交对 DNA 信息进行检测,基因芯片快速检测技术对细菌感染标本的检测中,涉及到了多个学科,如信息技术、微电子技术、分子生物学技术等,通过利用基因芯片实现对基因信息的大规模检测。基因芯片快速检测技术是以基因序列为主要分析对象的一种生物芯片,其应用技术相对来说,已经基本趋于成熟,目前,已经实现了商用。有研究人员对基因芯片快速检测技术的检测原理进行详细的分析后发现,此种技术的核心是集成处理,将所有的探针集成在同一个芯片上,通过对芯片上杂交信号的检测,进而对得到的大量的基因信息进行检测分析,研究人员对基因芯片快速检测技术的工作原理进行分析后发现,其主要是在遵循相关原则的基础上对载体上的分子探针进行固定,采用 PCR 技术、分子杂交技术等对目的基因进行快速、准确的检测^[2]。此种基因芯片快速检测技术在微生物学中的应用,临床检测结果的准确性以及对细菌 DNA 的检测效率均得到了明显的提升。

当出现感染性疾病的高发现象时,感染环境也会变得极其复杂,这也在很大程度上增加了对微生物检测的强度和难度,如果只是采用单一的细菌分离培养检测技术对细菌感染情况进行诊断,则所得到的检测结果并不能为临床诊断及治疗提供相关的信息指导依据,但是为了尽快得到准确的检测结果,为患者争取到更多的治疗时间,就需要采用一种快速、高效的检测技术对细菌的感染情况进行检测。基因芯片快速检测技术的应用,不但对细菌 DNA 检测的效率明显提高,并且检测所用的时间更少,近年来,在对微生物检测、病原菌快速检测等领域得到了广泛的应用。除此之外,有研究学者还将基因芯片快速检测技术应用在了医学研发领域,如基因序列的分析、抗感染药物的研制等^[3]。

本研究中收集到的 72 份致病菌均采用基因芯片快速检验法进行了检验之后,结果显示,其检验结果均与病理学检验结果相符。本次检测操作均在规定的时间内完成,用时最短的为 6.5 h,用时最长的为 7.5 h,与常规检测方式所用的时间相比较,检测时间明显缩短,甚至缩短了 1/3,基因芯片快速检验法对血液感染的标本进行检测时,1 d 内就完

成了所有检测,与之前的 3~5 d 相比较,明显缩短,并且检测效率也得到了明显的提升。

随着我国临床诊断技术的不断发展,诊断设备的不断更新和优化,基因芯片快速检测技术也得到了改进,从样品的制备开始,一直到检测数据的存储,每一个环节都制定了标准化的流程。目前,被广泛应用于微生物检验中的基因芯片快速检测技术,其芯片的设计过程中,探针的序列片段与正在等待检测的序列片段信息进行了互补,所以探针的序列片段对特定目标序列片段的敏感性和特异性均比较高,当与其他序列片段进行信息互补时,并不会产生杂交信号,基因芯片的容错性和可靠性得到了明显的提升,保证了最终得到的杂交图像的直观性,使诊断人员能够更加容易对得到的图像进行观察和理解,基因芯片的质量及稳定性得到了提升,且检测人员还可根据患者的具体情况对其实施重复检测^[4]。

根据本研究结果,基于基因芯片快速检测技术与目标细菌检测结果一致,提示,基因芯片快速检测技术的检测准确率着实令人满意。随着基因芯片快速检测技术的逐步发展,玻璃芯片、液相芯片、模芯片等不同的模式也正在扩大着基因芯片在细菌检测中的应用范围。但是在经过大量的研究后发现,基因芯片快速检测技术在细菌检测中也存在着一定的局限性,其不能对细菌的毒力、耐药性等进行精准的判断,并且还极易受到细菌杂交的影响。但是随着我国分子生物学、半导体电子技术等的不断发展,利用多重 PCR 与芯片技术相结合的 DNA 芯片,能够同时对 8 种生物病原菌进行检测,且检测结果的准确率还比较高^[5]。另外,采用基因芯片快速检测技术检验完毕后,可将芯片进行长时间的保留,为后期复检提供参考依据。目前,很多新的技术还处于试验摸索阶段,但是相信在未来,随着基因芯片快速检测技术的成熟,其应用范围也会更加广阔,会被应用于更多的领域。

综上所述,临床上对患者进行细菌检测时,采用基因芯片快速检测技术,能够准确、快速地对目的细菌作出检测,为临床诊断及治疗提供了准确的指导依据,此种检测技术也是未来检测技术发展的重点方向。

〔参考文献〕

- (1) 许俊钢. 基因芯片快速检测细菌的临床应用 (J). 中国实用医药, 2016, 11(1): 33-34.
- (2) 马萍, 康熙雄. 基因芯片快速检测脑脊液常见病原菌的应用研究 (J). 标记免疫分析与临床, 2018, 25(3): 306-309.
- (3) 瞿良, 王惠萱, 谭德勇, 等. 金黄色葡萄球菌的基因芯片检测研究 (J). 国际检验医学杂志, 2010, 31(8): 773-775, 777.
- (4) 卢丽华, 章武战. 常规培养法与基因芯片法在细菌性痢疾患者黏液脓血便病原菌检测中的对比分析 (J). 现代实用医学, 2017, 29(3): 389-391.
- (5) 杨艳兵, 胡海英, 吴荣英, 等. 基因芯片技术在成人下呼吸道感染病原学检测中的临床应用及评价 (J). 广东医学, 2019, 40(21): 3025-3029.