

Application and progress of rapid detection technology for clinical microbiology

Mingqiong Wang

Hanbin District First Hospital, Ankang, Shaanxi, 725000, China

Abstract

The innovation of rapid detection technology of clinical microorganisms is profoundly transforming the diagnosis and treatment system of infectious diseases. In the field of rapid nucleic acid detection, the coupling of CRISPR Cas system and isothermal amplification technology achieves ultra sensitive identification of trace pathogens through a cascade signal amplification mechanism; Non labeled optical technology breaks through the limitations of traditional labeling, with surface enhanced Raman spectroscopy (SERS) based on metabolite molecular fingerprint feature analysis combined with artificial intelligence algorithms, significantly improving bacterial typing specificity. The quantum dot intelligent detection platform achieves rapid microbial screening through intelligent recognition of fluorescence signals. Microfluidics and chip laboratory technology integrate sample preprocessing, nucleic acid purification, and drug sensitivity analysis into a micro platform through integrated design, greatly reducing the time consumption of the entire detection process. These technological advancements are driving the transformation of infection diagnosis and treatment from empirical medication to precise targeted therapy, providing core support for the rational use of antibiotics and the prevention and control of drug resistance.

Keywords

rapid microbial detection; Nucleic acid amplification; Surface enhanced Raman spectroscopy; Microfluidic technology; Drug sensitivity test

临床微生物快速检测技术的应用与进展

王明琼

汉滨区第一医院, 中国·陕西 安康 725000

摘要

临床微生物快速检测技术的创新正深刻变革感染性疾病诊疗体系。核酸快速检测领域, CRISPR-Cas系统与等温扩增技术的耦合通过级联信号放大机制, 实现痕量病原体的超灵敏鉴定; 非标记光学技术突破传统标记局限, 表面增强拉曼光谱(SERS)基于代谢物分子指纹特征解析结合人工智能算法, 显著提升细菌分型特异性, 量子点智检平台则通过荧光信号智能识别实现微生物快速筛查。微流控与芯片实验室技术通过集成化设计, 将样本预处理、核酸纯化与药敏分析整合于微型平台, 大幅压缩检测全流程耗时。这些技术进步推动感染诊疗从经验性用药向精准靶向治疗转变, 为抗菌药物合理应用及耐药性防控提供核心支撑。

关键词

微生物快速检测; 核酸扩增; 表面增强拉曼光谱; 微流控技术; 药敏试验

1 引言

感染性疾病一直以来都是全球范围内的重大公共卫生挑战, 由特定病原菌所引发的死亡率始终居高不下。传统的微生物检测多依赖培养与生化鉴定, 其过程极为耗时, 冗长的检测时长难以满足重症救治时所必需的时效需求。与此同时, 抗菌药物被滥用的情况不断加剧, 由此所产生的耐药性问题愈发凸显, 使得在微生物检测领域开展技术革新更为紧迫。在这样的背景下, 微流控芯片、纳米材料以及人工智能等跨学科技术相互融合, 催生出了在微生物检测领域中极具突破

性的一系列进展: 新型快速检测技术能够将传统的检测周期大幅压缩, 甚至能够将其压缩至小时级别乃至分钟级别, 并实现了对耐药基因以及表型进行同步分析的功能。本文系统综述该领域中最新的技术原理及其应用价值, 探讨未来发展方向, 为感染性疾病精准诊疗体系优化提供科学技术视角。

2 核酸快速检测技术

该技术以病原体特异性遗传物质为靶标, 通过扩增与信号放大突破传统培养时效限制, 核心突破集中于以下方向:

2.1 等温扩增与 CRISPR-Cas 整合

环介导等温扩增(LAMP)凭借其恒温反应的特性, 能够有效规避对热循环仪的依赖, 所以它比较适用资源相对

【作者简介】王明琼(1977-), 女, 中国陕西安康人, 本科, 副主任医师, 从事临床微生物, 临床输血研究。

有限的场景。在技术革新方面，关键就在于要将 LAMP 和 CRISPR-Cas12a 进行耦合：先在重组酶聚合酶扩增（RPA）阶段让靶标 DNA 富集，进而激活 Cas12a 的反式切割活性，随后 Cas12a 会对侧向层析试纸条（LFS）报告分子进行剪切，最终通过肉眼能够看到的条带便可以实现对结果的判读^[1]。该方法颇具创新性，能够免去核酸提取步骤，直接通过裂解细菌的方式释放 DNA，实现对临床样本中痕量病原体的快速检测。对于高毒力肺炎克雷伯菌（hvKP）的多重 qRT-PCR 体系而言，其通过同步对毒力基因进行靶向，能够在很大程度上显著提升检测的效能。

2.2 微流控芯片的核酸集成检测

微流控技术借助微通道网络，把样本预处理、核酸纯化以及扩增检测等环节整合到一起。其突破性设计具体体现为梯度琼脂糖凝胶电泳平台：细菌在经过酶裂解而释放出 DNA 后，会在电场的驱动下迁移着穿过双层凝胶界面。在这个过程中，高密度凝胶能够截留大分子杂质，而低密度凝胶区则可以富集目标 DNA 片段，如此便达成了原位纯化的效果^[2]。这一整套一体化的流程极大地提升了核酸提取效率，也为呼吸道感染的床旁诊断提供了高效解决办法。

3 非标记光学检测技术

该技术能够直接捕获病原体所固有的物理化学特征，借此规避对标记物的依赖，在很大程度上简化了检测流程。表面增强拉曼光谱（SERS）以及量子点智检均处在相关领域的前沿位置，通过各自独特的信号放大机制来达成对微生

物的“指纹识别”^[3]。

3.1 表面增强拉曼光谱 (SERS)

利用贵金属纳米结构的等离子共振效应，把吸附分子的拉曼信号增强达到数百万倍之多，进而获取到具备高分辨率的分子指纹。其取得的突破性进展体现为建立了可对代谢物进行解析的 SERS 技术：借助热裂解释放细菌代谢物，结合激光解吸 / 电离质谱来对纳米颗粒表面分子加以鉴定，并运用可解释性卷积神经网络模型达成光谱特征和代谢物之间的溯源关联。该技术表明革兰阴性菌与阳性菌在光谱方面存在的差异是因为代谢物对纳米表面氯离子展开了竞争性置换为菌种鉴定奠定了分子理论基础，在很大程度上提升了分型的特异性。

3.2 量子点智检平台

该技术把量子点荧光探针同人工智能算法相互融合起来，其最为核心的创新之处为“微生物指纹识别算法”。具体来讲，量子点会和微生物表面受体相结合，进而产生出具有特征的荧光，在经过高分辨率成像加以捕获后，便由 AI 模型来开展实时分析工作。另外，云 - 端协同架构能够对检测数据予以支持，使其实现同步，借此来对本地算法不断进行优化，从而达成持续提升性能的目的^[4]。其突破性价值体现为，能够把传统的检测周期大幅压缩，使其缩短至分钟级别，还能够应用在种类识别、药敏评估以及活菌计数等多种多样的场景中，为临床感染防控工作提供一个极为高效的工具。

表 1 核酸快速检测技术性能比较

技术名称	靶标 / 机制	检测限	检测时间	优势领域
RPA-Cas12a-LFS	Cas12a 反式切割	10 CFU/mL	50 分钟	食品污染筛查、MRSA 快速诊断
微芯片电泳 (MED)	电泳纯化 DNA	10 ² CFU/mL	30 分钟 (提取)+ 扩增	呼吸道感染 POCT
多重 qRT-PCR	hvKP 毒力基因	未明确	约 2 小时	高毒力肺炎克雷伯菌鉴定
LAMP 可视化检测	OTG 显色染料	未明确	约 1 小时	基层实验室病原筛查

表 2 非标记光学检测技术比较

技术类型	检测原理	准确率 / 灵敏度	检测时间	技术优势
代谢物解析 SERS	代谢物指纹图谱	90.44%	约 2 小时	分子机制明确，AI 模型可解释性强
量子点智检	量子点荧光 +AI	>95%	30 分钟	云 - 端协同，多场景适用
噬菌体传感器	荧光共振能量转移	82.3-119.2% 回收率	≤1 小时	活菌特异性检测
AIE 探针药敏	膜损伤荧光开启	84-95% 符合率	6 小时	直接检测阳性血培养

3.3 活菌特异性检测技术

针对核酸检测难以区分死菌与活菌的局限，噬菌体传感器借助病毒对活微生物具备的特异性感染特性来达成精准鉴别的目的。该项技术于食品污染监测中呈现出了颇为高效的性能，也为血流感染的快速诊断开拓出了一条全新的路径。

非标记光学技术仍需克服样本基质干扰与标准化瓶颈，但其免培养、活菌特异性等优势，在抗菌药物实时评价领域具有广阔应用前景。

4 微流控与芯片实验室技术

微流控技术能够对微观尺度的流体进行精确操控，把样本预处理、分离检测等诸多步骤全部集成到芯片平台上，这样一来，检测的自动化程度以及时效性都得到了颇为明显的提升。在微生物检测领域，该技术重点聚焦于核酸快速提取、药敏表型分析及一体化系统开发三大方向。

4.1 微芯片电泳核酸提取

在核酸提取相关领域中，新型梯度凝胶微芯片电泳（MED），成功突破了传统离心柱或者磁珠分离所存在的种种局限，实现芯片内细菌裂解 - 电泳纯化 -DNA 富集一体

化流程。这项技术在很大程度上优化了核酸提取效率，为呼吸道感染床旁快速诊断提供了高效的解决办法，尤其适合资源有限地区的现场检测需求^[9]。

4.2 噬菌体传感芯片

噬菌体传感芯片为活菌检测开辟了一条创新途径，其核心机制便是把经过工程化处理的噬菌体稳稳地固定在微通道的内表面上。此类芯片在针对复杂样本进行检测时，展现出了极为出色的性能，如食品表面病原体的筛查以及环境微生物的监测，都能够实现不需预先富集的高效分析。

4.3 一体化药敏检测平台

针对血流感染等危重症所急需的快速药敏检测，QuickMIC系统借助微流控梯度以及光散射显微技术开辟了全新的药敏检测模式。微流控芯片技术在临床转化方面面临量产成本以及密封稳定性等挑战。不过，其具备的“样本进-结果出”的集成化模式，正在对微生物诊断流程范式加以重塑，促使实验室检测朝着床边即时诊断的方向实现转型。

5 药敏试验技术革新

抗菌药物敏感性试验（AST）的技术革新提升耐药菌

感染救治效率。新型的快速AST技术采取了表型-基因型同步分析的方式，成功地把检测时间大幅压缩到了数小时级别，为临床能够用药提供了关键支撑。

5.1 血流感染快速AST

鉴于血流感染有着高病死率这一特点，QuickMIC系统实现了对阳性血培养样本直接开展药敏分析的目标。其核心技术方面取得的重大突破在于，借助微流控多腔室芯片来生成连续的抗菌药物梯度，同时还与动态光散射显微技术相结合，以此对单细胞增殖状态展开实时监测。

表型-基因型同步分析技术有着显著的发展，在很大程度上优化了针对碳青霉烯类耐药肠杆菌目细菌的治疗决策。

5.2 膜损伤荧光探针

膜损伤评估策略开拓出了一条全新的药敏路径。如聚集诱导发光探针中的DATVP，通过对细菌膜完整性所发生的变化予以检测，进而达成快速判读的目的。该项技术突破了传统药敏试验（AST）依赖细菌增殖速度所形成的局限，能够直接针对阳性血培养样本展开检测，无需先经过纯培养分离这一环节，从而为脓毒症患者在数小时之内给予药敏方面的指导。

表3 快速药敏检测系统性能比较

技术/平台	检测原理	检测时间	准确性(CA/EA)	技术特点
QuickMIC系统	光散射显微技术	平均192分钟	EA 89.5%, CA 93.3%	微流控梯度, 单细胞监测
BD Phoenix NMIC-461	比浊法+氧化还原法	24-35小时	CPO 确证≥95%	确证-分型-药敏三位一体
DATVP探针	聚集诱导发光	≤6小时	CA 84-95%	膜损伤直接评估
dCERS技术	单分子拉曼计数	未明确	超低浓度定量	活体药代动力学监测

5.3 革兰阴性菌检测突破

革兰阴性菌耐药的防控工作，直至如今依然是全球重点挑战。未来，有必要借助以耐药机制作为导向的探针设计方式，再配合上人工智能辅助MIC判读手段，进一步提高对铜绿假单胞菌等非发酵菌检测的准确性。

6 挑战与未来方向

微生物快速检测技术在临床转化的过程中，面临着诸多挑战。在成本方面，精密光学元件与芯片工艺，对其在基层的应用形成了制约。而标准化瓶颈主要体现在纳米基底均一性以及芯片结构差异等因素上，会对检测的重复性产生影响。再者，宿主谱存在限制，让噬菌体传感器等活菌技术无法对广谱病原体做到全面涵盖。

未来突破需多学科协同创新：①成本控制：开发纸基芯片等替代材料，整合智能手机传感器构建简易平台；②标准化建设：推动国际标准物质库与验证流程建立，参考现有指南完善技术规范；③宿主谱扩展：采用噬菌体鸡尾酒制剂与基因工程改造提升识别广度；④AI融合：基于深度学习的特征识别算法结合云端数据库优化，发展多模态耐药预测模型；⑤多组学整合：联合代谢组学-SERS分析增强光谱解析可靠性，微流控芯片同步实现基因检测与表型药敏；⑥便携化：开发冻干试剂、手机适配成像模块及手持设备，构

建模块化“掌上实验室”满足分级诊疗需求。

7 结语

综上所述，临床微生物快速检测技术的突破性进展正重塑感染性疾病诊疗范式：量子点智检实现病原体快速筛查，微流控芯片完成核酸提取与检测一体化整合，SERS技术通过代谢指纹图谱解析耐药机制，快速药敏系统推动精准用药决策。这些创新显著缩短诊断周期，前移危重症救治窗口；同时精准区分药物敏感性，优化抗菌治疗策略，为遏制耐药传播提供核心支撑。随着人工智能、微纳制造与合成生物学的深度交叉融合，未来技术将向多组学整合、设备微型化及操作智能化加速演进。

参考文献

- 郭伟,肖忠敏. 临床微生物检验标本细菌耐药性检测结果分析[J]. 中外医药研究, 2025, 4(13): 142-144.
- 何雪梦. 不同临床标本微生物检验的阳性率结果对比分析[J]. 实验室检测, 2025, 3(09): 124-126.
- 韩东升,郑书发. 融合思政教育的临床微生物检验教学策略探索[J]. 全科医学临床与教育, 2025, 23(01): 60-63.
- 沈佳骏,张亿宁. 规范化采集临床微生物标本对临床检验结果准确率的影响分析[J]. 中国标准化, 2025, (02): 261-264.
- 肖越,高雪萍. 靶向二代测序技术在肺部感染中病原检测的临床应用[J]. 现代诊断与治疗, 2024, 35(24): 3680-3682+3685.