

DOI:10.13350/j.cjpb.250607

• 论著 •

多重 PCR 检测与传统培养在骨关节感染诊断中的比较研究^{*}

陈善斌, 封硕林, 王穗源, 周贤超, 唐长友, 谈立明^{**}

(长沙市第四医院(长沙市中西医结合医院)骨科, 湖南长沙 410006)

【摘要】 目的 比较多重 PCR 检测与传统培养在骨关节感染诊断中的应用价值, 探讨多重 PCR 在临床中的可行性和优势。**方法** 收集 2020 年 3 月至 2023 年 10 月在本医院就诊的疑似骨关节感染患者 92 例, 分别采用多重 PCR 和传统培养方法检测关节液或组织样本。以综合临床诊断为金标准, 评价两种方法的阳性检出率、灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值, 并进行一致性分析和诊断效能比较。**结果** 多重 PCR 的阳性率为 70.65%(65/92), 显著高于传统培养的 54.35%(50/92)($\chi^2 = 4.367, P = 0.037$)。多重 PCR 的灵敏度为 85.71%, 特异度为 77.27%, 阳性预测值为 92.31%, 阴性预测值为 62.96%; 传统培养的灵敏度为 64.29%, 特异度为 77.27%, 阳性预测值为 90.00%, 阴性预测值为 40.48%。两种方法的 Kappa 值为 0.564($P < 0.001$), 具有中等一致性。ROC 曲线下面积(AUC)多重 PCR 为 0.82, 传统培养为 0.76($Z = 2.214, P = 0.027$)。**结论** 多重 PCR 在骨关节感染的诊断中具有较高的阳性检出率和灵敏度, 特别是在急性期、未使用抗生素及膝关节感染的患者中优势明显。多重 PCR 可作为传统培养的有效补充, 二者结合有助于提高骨关节感染的诊断准确性, 指导临床个体化治疗。

【关键词】 骨关节感染; 多重 PCR; 传统培养; 诊断效能; 病原学检测

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2025)06-0724-05

[Journal of Pathogen Biology. 2025 Jun.; 20(06):724-728.]

Comparison of multiplex PCR detection and conventional culture in the diagnosis of bone and joint infections

CHEN Shanbin, FENG Shuolin, WANG Suiyuan, ZHOU Xianchao, TANG Changyou, TAN Liming

(Orthopedics, Changsha Fourth Hospital (Changsha Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital), Changsha 410006, China) ^{***}

【Abstract】 Objective To compare the application value of multiplex PCR detection and traditional culture in the diagnosis of bone and joint infection, and to explore the feasibility and advantages of multiplex PCR in clinical practice.
Methods A total of 92 patients with suspected bone and joint infection who were treated in our hospital from March 2020 to October 2023 were enrolled, and joint fluid or tissue samples were tested by multiplex PCR and traditional culture methods, respectively. Taking comprehensive clinical diagnosis as the gold standard, the positive detection rate, sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of the two methods were evaluated, and the consistency analysis and diagnostic efficiency were compared.
Results The positive rate of multiplex PCR was 70.65% (65/92), which was significantly higher than that of traditional culture (54.35% (50/92) ($\chi^2 = 4.367, P = 0.037$)). The sensitivity of multiplex PCR was 85.71%, the specificity was 77.27%, the positive predictive value was 92.31%, and the negative predictive value was 62.96%; the sensitivity of traditional culture was 64.29%, the specificity was 77.27%, the positive predictive value was 90.00%, and the negative predictive value was 40.48%. The Kappa value of the two methods was 0.564 ($P < 0.001$), which was moderately consistent. The area under the ROC curve (AUC) of multiplex PCR was 0.82, and that of traditional culture was 0.76 ($Z = 2.214, P = 0.027$).
Conclusion Multiplex PCR has a high positive detection rate and sensitivity in the diagnosis of bone and joint infection, especially in patients in the acute stage, without antibiotics, and with knee infection. Multiplex PCR can be used as an effective supplement to traditional culture. The combination of the two methods can help improve the diagnostic accuracy of bone and joint infection and guide clinical individualized treatment.

【Keywords】 bone and joint infection; multiplex PCR; traditional culture; diagnostic performance; etiology detection

^{*} **【基金项目】** 湖南省卫生健康委科研计划项(No. 202304076919)。

^{**} **【通信作者】** 谈立明, E-mail: xiangshen4cs@126.com

【作者简介】 陈善斌(1989-), 男, 湖南娄底人, 硕士, 主治医师, 主要研究从事骨科、关节与运动相关疾病工作。
E-mail: chenshanbin2024@163.com

骨关节感染(bone and joint infection)是骨科领域中危险性较高且病程复杂的临床问题之一,常见病原体包括金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、链球菌属及革兰阴性杆菌等^[1]。由于受病原体多样性、部分细菌生长缓慢或难以在传统培养基上生长等因素影响,骨关节感染的早期诊断和鉴别诊断在临床实践中面临较大挑战^[2]。及时准确地识别病原菌不仅对个体化抗菌治疗的实施和手术方案的选择至关重要,也与患者预后紧密相关^[3]。

传统培养方法由于操作简单、费用相对低廉,一直是临床实验室的常规检测手段^[4]。但传统培养难以满足对部分特殊或生长缓慢菌株的检测需求,且培养周期较长,一旦延误精准治疗时机,可能致患者病情加重或并发症。想要兼顾检测速度与灵敏度,需要引入分子生物学相关技术。多重 PCR(multiplex PCR)技术能够在单次扩增反应中同时检测多种病原体,大幅提升诊断效率和特异度,尤其在针对低丰度或特殊细菌的早期识别方面具备潜在优势。有研究表明,多重 PCR 在关节液、组织标本等病原检测中可显著提高阳性检出率^[5-6],而对于阴性培养病例而言,多重 PCR 还能补充培养漏检带来的不足。不过,多重 PCR 也存在假阳性风险,如环境污染、实验室操作不规范等都可能对检测结果产生干扰;传统培养方法则有其临床体系中应用成熟、评价标准明确等优点^[7-8]。基于此,如何结合 2 种不同技术手段的特点,为临床提供更精准、更高效的诊断方案,一直是骨科感染领域的热点与难点之一。

本研究旨在全面比较多重 PCR 与传统培养在骨关节感染诊断中的应用价值,利用临床患者手术或穿刺样本,分别检测标本的阳性率及主要细菌种类分布。通过综合评估灵敏度、特异度、检测早期性与一致性指标,结合临床特征和预后分析,期望为骨关节感染诊断路径的优化提供高质量依据,为临床制定个体化诊疗方案提供参考,从而提升患者整体预后水平。

对象与方法

1 研究对象

本研究连续收集了 2020 年 3 月至 2023 年 10 月于长沙市第四医院骨科就诊的临床骨关节感染的住院患者 92 例,纳入前均根据关节局部红肿、疼痛、渗液以及影像学或血清炎症指标的异常情况进行初步判断。所有患者自愿签署了知情同意书。研究采用前瞻性诊断试验设计,将符合纳入标准且能够获取足量关节液或组织标本者纳入分析。免疫功能极度低下、无法正确采集和储存标本或因其他原因导致检测流程不完整者排除在外。

本研究获得医院伦理委员会批准同意,研究过程严格遵循赫尔辛基宣言医学伦理准则。

2 研样本采集与处理

在关节穿刺或手术操作中获取关节穿刺液与周围组织样本。关节液经常规抽取后即置于无菌容器,用于多重 PCR 检验的部分低温保存并尽快送至分子实验室,剩余部分送至常规微生物室进行传统培养。组织标本同样在无菌条件下收集,一部分制备用于多重 PCR 检测,另一部分根据常规方法室温保存送至微生物实验室。

3 多重 PCR 检测流程

提取前先于专用洁净区域进行样本预处理,将标本置于核酸提取试剂中,经过裂解、洗涤与纯化步骤后得到基因组 DNA。样本制备完成后移即开展多重引物扩增程序,引物设计针对常见导致骨关节感染的病原体,通过优化反应体系实现单次扩增中多种病原微生物序列的同步检出。每次扩增均设置阴性对照与已知靶序列阳性对照。扩增结束后根据荧光平台或电泳结果判定是否存在目标条带,结合内参核对 DNA 提取及扩增流程的完整性。

4 传统培养流程

送检标本在巧克力琼脂培养基上进行 37℃ 孵育,初步观察 24~48 h 有无可疑菌落。对于厌氧菌或不易生长的病原微生物,视情况将培养时间适当延长,并加做特定条件培养。出现可疑菌落时结合革兰染色与生化检测进行初步鉴定,若与骨关节感染常见病原体特征吻合则记录为阳性结果。连续培养一致阴性时进行充分评估,若与临床表现明显不符则重新检测。

5 统计学分析

数值型资料先行检查正态分布及方差齐性,符合正态分布者以均数加减标准差表示并选用 t 检验进行组间比较,不符合正态分布者以中位数和四分位数间距呈现并根据 Mann-Whitney U 检验评估差异。计数资料用例数和构成比描述,通过卡方检验判定 2 组或多组差异。多重 PCR 与传统培养的检测效果经灵敏度、特异度、阳性预测值及阴性预测值进行综合评价,并以 ROC 曲线评估诊断准确度,取曲线下面积(AUC)衡量方法判别能力。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义,由 SPSS 23.0 统计分析软件完成。

结 果

1 一般资料

本研究共纳入 92 例骨关节感染患者,男 50 例,女 42 例,年龄 20~81(52.35±14.28)岁。患者主要感染部位分布于膝关节 38 例、髋关节 27 例及肩关节 10 例,其余 17 例分布于踝关节、肘关节等其他部位;其中

近期内接受过关节手术的病例数为 31 例,合并糖尿病、高血压等内科共病的病例数为 26 例。

2 多重 PCR 与传统培养结果比较

多重 PCR 检测阳性率为 70.65%(65/92),传统培养检测阳性率为 54.35%(50/92),2 组差异有统计学意义($\chi^2=4.367, P=0.037$)(图 1)。在多重 PCR 检测阳性者中,金黄色葡萄球菌(30 例,46.15%)最为常见,其次为表皮葡萄球菌(10 例,15.38%)、大肠埃希菌(8 例,12.31%)及其他病原体(17 例,26.16%);传统培养阳性者则以金黄色葡萄球菌(24 例,48.00%)最常见,其余依次为大肠埃希菌(8 例,16.00%)、表皮葡萄球菌(6 例,12.00%)及其他菌种(12 例,24.00%)。经 2 种方法均检出的病例有 48 例(52.17%),仅多重 PCR 检出者 17 例(18.48%),仅传统培养检出者 2 例(2.17%),其余 25 例(27.17%)则为两种方法均阴性。整体来看,多重 PCR 不仅在阳性检出率上优于传统培养,而且可同时涵盖多种常见致病菌种。

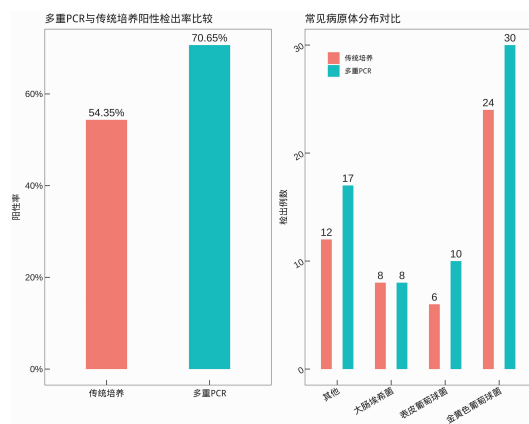


图 1 多重 PCR 与传统培养结果比较及病原体分布对比

Fig. 1 Comparison of multiplex PCR and traditional culture results and pathogen distribution

3 多重 PCR 与传统培养检测的一致性差异

对多重 PCR 与传统培养的检测结果进行配对分析,结果显示多重 PCR 与传统培养均阳性的 48 例,占总例数的 52.17%(48/92);仅多重 PCR 阳性 17 例,占 18.48%(17/92);仅传统培养阳性 2 例,占 2.17%(2/92);两者均阴性则有 25 例(27.17%)。进一步依据配对结果计算可得 Kappa 值为 0.564($P<0.001$),提示 2 者间具有中等一致性。McNemar 检验结果显示,2 种方法在检测骨关节感染病原体方面仍存在一定差异($\chi^2=11.842, P=0.001$)。

4 多重 PCR 与传统培养的诊断效能分析

以综合临床诊断为金标准(其中确诊感染 70 例、非感染 22 例),分别计算多重 PCR 与传统培养在诊断骨关节感染中的灵敏度、特异度、阳性预测值及阴性预

测值,结果见表 1。多重 PCR 在灵敏度和阴性预测值方面显著高于传统培养,ROC 曲线下面积(AUC)对比亦呈统计学差异($Z=2.214, P=0.027$),提示多重 PCR 对骨关节感染病原体的检出具有更优诊断效能。

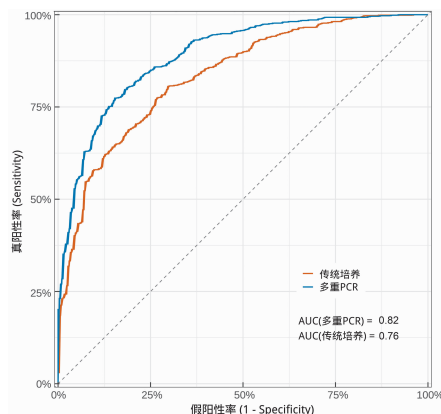


图 2 多重 PCR 与传统培养方法的 ROC 曲线

Fig. 2 ROC curves of multiplex PCR and traditional culture methods

表 1 多重 PCR 与传统培养的诊断效能比较

Table 1 Comparison of diagnostic efficacy between multiplex PCR and traditional culture

方法	灵敏度 (%)	特异度 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)	AUC	Z	P
多重 PCR	85.71	77.27	92.31	62.96	0.82	2.214	0.027
传统培养	64.29	77.27	90.00	40.48	0.76	-	-

5 其他分析及结果补充

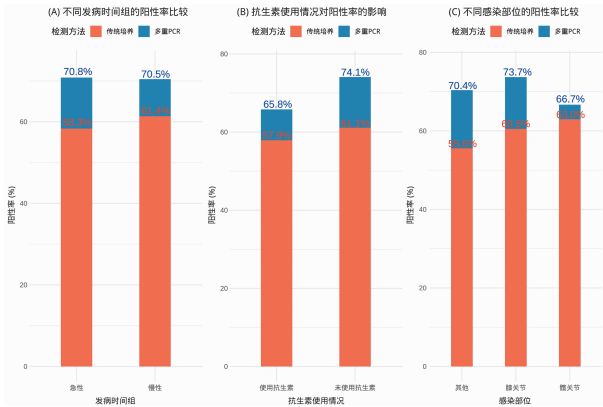
本研究对不同时间节点的检测阳性率及潜在干扰因素进行了进一步分析。根据感染病程长短,将患者分为急性组(发病时间 ≤ 2 周,48 例)和慢性组(发病时间 > 2 周,44 例)。急性组中,多重 PCR 的阳性率为 70.85%(34/48),高于传统培养的 58.32%(28/48)($\chi^2=4.801, P=0.028$);慢性组方面,多重 PCR 与传统培养分别为 70.51%(31/44)和 61.43%(27/44),差异无统计学意义($\chi^2=1.051, P=0.305$)(图 3A)。结果显示多重 PCR 在急性骨关节感染的早期诊断中更具优势。

根据患者在入院前是否已经使用了抗菌药物,本研究将患者分为未使用抗生素组(54 例)和使用抗生素组(38 例)。前者中,多重 PCR 和传统培养的阳性率分别是 65.83%(36/54)与 57.96%(32/54)($\chi^2=5.029, P=0.025$)。后者中,多重 PCR 和传统培养分别为 74.17%(28/38)和 61.11%(23/38)($\chi^2=0.784, P=0.376$)(图 3B)。结果提示已接受抗菌药物干预的患者在 2 种检测方法上的阳性率都会受到影响,但多重 PCR 受干扰程度更低。

对于关节部位因素,膝关节感染时,多重 PCR 和传统培养的阳性率分别为 73.75%(28/38)与 60.59%

(23/38)($\chi^2=4.280, P=0.046$); 髋关节感染时, 多重 PCR 和传统培养阳性率为 66.77% (18/27) 与 63.06% (17/27), 差异无统计学意义($\chi^2=1.042, P=0.307$)。肩关节、踝关节等其他部位共 27 例中, 2 种检测方式差异同样不显著(图 3C)。在膝关节感染的诊断中, 多重 PCR 优势更为明显。

对潜在的混杂因素如年龄、性别、合并症等进行 Logistic 回归后, 未见显著影响($P>0.05$, 图 4)。基于上述结果, 多重 PCR 在急性期、未使用抗生素以及膝关节感染的人群中检测率更高, 对慢性期感染或已接受药物干预的患者应结合临床表现和其他检测手段综合评估。



A 发病时间 B 抗生素使用情况 C 感染部位

图 3 不同因素下检测阳性率对比

Fig. 3 Comparison of positive test rates under different factors

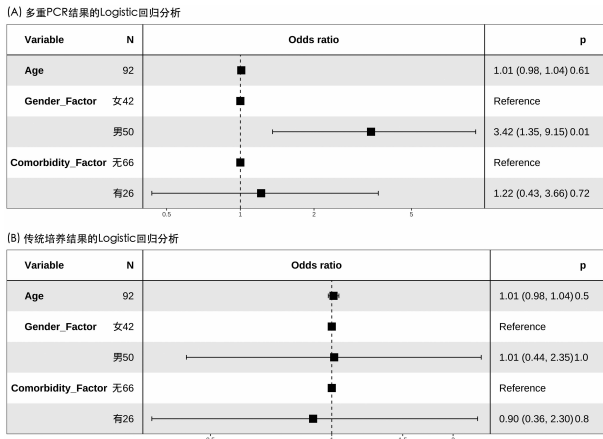


图 4 多重 PCR(A) 和传统培养(B)结果的 Logistic 回归分析

Fig. 4 Logistic regression analysis of multiplex PCR and traditional culture results

讨论

骨关节感染是临床上严重且复杂的疾病, 及时、准确的病原学诊断对于制定有效的治疗策略至关重要。本研究比较了多重 PCR 与传统培养在骨关节感染诊断中的应用价值, 结果显示多重 PCR 在阳性检出率、灵敏度和阴性预测值方面均优于传统培养, 尤其在急

性期、未使用抗生素以及膝关节感染的患者中优势更为显著。

多重 PCR 技术通过同时扩增多种病原体的特异性基因序列, 能够在短时间内检测出可能的致病菌^[6,9]。本研究中, 多重 PCR 的阳性率为 70.65%, 明显高于传统培养的 54.35%。这一结果与既往研究一致。例如, Berinson 等^[10]的研究指出, 多重 PCR 在关节感染中的阳性检出率可达到 75% 以上。这种高检出率的背后, 反映了多重 PCR 对生长缓慢、难培养或被抗生素抑制的病原体具有较高的敏感性。此外, 多重 PCR 在检测多重感染方面也表现出优势, 能够同时识别多种共存的病原微生物, 为临床提供更全面的病原学信息^[11-13]。传统培养方法虽然是诊断感染的金标准, 但其局限性逐渐显现。由于部分病原菌生长要求苛刻, 或者在患者接受抗生素治疗后菌量减少, 传统培养易出现假阴性^[14-15]。本研究发现, 传统培养的阳性率仅为 54.35%, 且在已使用抗生素的患者中, 阳性率进一步降低。这一现象提示, 在临床实际中, 单纯依赖传统培养可能导致漏诊, 耽误患者的最佳治疗时机。多重 PCR 与传统培养的中等一致性 (Kappa 值为 0.564) 也非常重要。2 种方法在部分病例中出现结果不一致的情况, 可能与多种因素有关。多重 PCR 的高敏感性可能导致检测到非致病性的微生物 DNA 片段, 产生假阳性^[16-18]; PCR 检测的目标是微生物的核酸序列, 无法区分活菌与死菌, 而传统培养只对活菌有检测能力。因此, 临床上应综合考虑患者的症状、实验室指标以及影像学结果, 结合 2 种方法的检测结果, 做出准确的诊断^[19-21]。在诊断效能方面, 多重 PCR 的灵敏度 (85.71%) 显著高于传统培养 (64.29%), 这意味着多重 PCR 更有可能在确诊感染的患者中检测到病原体, 提高了诊断的可靠性。虽然 2 种方法的特异度相近, 但多重 PCR 的阴性预测值更高, 提示其阴性结果具有更大的参考价值, 可以帮助排除感染。此外, 多重 PCR 的 ROC 曲线下面积 (AUC) 也高于传统培养, 进一步证明了其在诊断骨关节感染中的优势。

本研究中多重 PCR 在急性期患者中的阳性率显著高于传统培养。这可能是由于在感染早期, 病原菌数量较少, 传统培养难以检测, 而多重 PCR 的高敏感性能够弥补这一不足^[22-24]。同时, 未使用抗生素的患者中, 多重 PCR 的阳性率也更高, 这与抗生素可能抑制细菌生长、影响培养结果有关^[25]。对于这些患者, 采用多重 PCR 有助于提高病原体的检出率, 指导及时、有效的抗感染治疗。

但多重 PCR 也存在一定的局限性, 其高敏感性可能导致环境污染或正常菌群的 DNA 被扩增, 产生假阳性结果。因此, 严格的实验操作规范和质量控制措

施至关重要。此外,多重 PCR 无法进行药物敏感性试验,临床上仍需结合培养结果进行综合判断^[26-27]。未来的发展方向可考虑将多重 PCR 与基因测序技术相结合,以获取更全面的病原信息和耐药基因数据。本研究的结果在一定程度上受到样本量和单中心研究设计的限制,可能影响其普适性。虽然纳入了不同感染部位和病程的患者,但仍需要在更大规模、多中心的研究中验证。

综上所述,多重 PCR 在骨关节感染的诊断中表现出较高的敏感性和较强的检出能力,特别是在急性期和未使用抗生素的患者中优势明显。虽然其存在一定的假阳性风险,但通过严格的质量控制和结果解读,仍可为临床提供重要的病原学信息。建议临床实践中,将多重 PCR 与传统培养相结合,发挥各自优势,提高骨关节感染的诊断准确性,改善患者预后。

【参考文献】

- [1] Papalini C, Pucci G, Cenci G, et al. Prosthetic joint infection diagnosis applying the three-level European Bone and Joint Infection Society (EBJIS) approach [J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2022, 41(5): 771-778.
- [2] Bauer T, Senneville E, Gehrke T. Is there still room for improvement in the diagnosis, treatment and prevention of bone and joint infection? [J]. *Orthop Traumatol Surg Res*, 2021, 107(4): 102928.
- [3] 邓婕婕, 金长辉. 膝关节骨性关节炎关节置换术后切口感染病原菌分布及术后护理效果分析[J]. *中国病原生物学杂志*, 2024, 19(3): 324-327, 332.
- [4] Ribeiro TC, Honda EK, Daniachi D, et al. The impact of sonication cultures when the diagnosis of prosthetic joint infection is inconclusive [J]. *PLoS One*, 2021, 16(7): e0252322.
- [5] Barry R, Dempsey C, Barry L, et al. On-site multiplex PCR for CSF diagnostics in an acute hospital versus referral to reference laboratories: assessing economic factors, length of stay and antimicrobial stewardship [J]. *J Infect*, 2021, 82(3): 414-451.
- [6] Clark TW, Lindsley K, Wigmosta TB, et al. Rapid multiplex PCR for respiratory viruses reduces time to result and improves clinical care: Results of a systematic review and meta-analysis [J]. *J Infect*, 2023, 86(5): 462-475.
- [7] Matic N, Lawson T, Young M, et al. Melting curve analysis reveals false-positive norovirus detection in a molecular syndromic panel [J]. *J Clin Virol*, 2024, 173(1): 105697.
- [8] Lopez N, Cuesta G, Rodriguez-Vega S, et al. Multiplex real-time PCR FilmArray performance in the diagnosis of meningoencephalitis: lights and shadows [J]. *Infection*, 2024, 52(1): 165-172.
- [9] Abelenda-Alonso G, Calatayud L, Rombauts A, et al. Multiplex real-time PCR in non-invasive respiratory samples to reduce antibiotic use in community-acquired pneumonia: a randomised trial [J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 7098.
- [10] Berinson B, Spenke L, Krivec L, et al. Performance and hypothetical impact on joint infection management of the biofire joint infection panel: A retrospective analysis [J]. *J Clin Microbiol*, 2023, 61(8): e0059223.
- [11] 上海美吉生物医药科技有限公司. 一种微量 DNA 的 emQPCR 多靶标联检的方法、试剂盒及用途: CN202411080871. 9 [P]. 2024-09-03.
- [12] Li P, Feng X, Chen B, et al. The detection of foodborne pathogenic bacteria in seafood using a multiplex polymerase chain reaction system [J]. *Foods*, 2022, 11(23): 3909.
- [13] Wu J, Tang B, Qiu Y, et al. Clinical validation of a multiplex droplet digital PCR for diagnosing suspected bloodstream infections in ICU practice: a promising diagnostic tool [J]. *Crit Care*, 2022, 26(1): 243.
- [14] Chung PH, Leong JY, Wallen JJ, et al. Molecular testing with next-generation sequencing appears to identify biofilm on penile prostheses better than traditional cultures: The new gold standard? [J]. *Can J Urol*, 2022, 29(6): 11348-11354.
- [15] Fu Y, Chen Q, Xiong M, et al. Clinical performance of nanopore targeted sequencing for diagnosing infectious diseases [J]. *Microbiol Spectr*, 2022, 10(2): e0027022.
- [16] Nik Zuraina NMN, Mohamad S, Hasan H, et al. Diagnostic performance of an in-house multiplex PCR assay and the retrospective surveillance of bacterial respiratory pathogens at a teaching hospital, Kelantan, Malaysia [J]. *Pathog Glob Health*, 2023, 117(1): 63-75.
- [17] Pereyre S, Camelena F, Henin N, et al. Clinical performance of four multiplex real-time PCR kits detecting urogenital and sexually transmitted pathogens [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2022, 28(5): 733 e737-733, e713.
- [18] Zhao Y, O'Keefe CM, Hsieh K, et al. Multiplex digital methylation-specific PCR for noninvasive screening of lung cancer [J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2023, 10(16): e2206518.
- [19] 陈星光, 刘珏, 王晓东. 金氏杆菌相关儿童骨关节感染的研究进展[J]. *中华骨科杂志*, 2024, 44(17): 1176-1183.
- [20] Wojno KJ, Baunoch D, Luke N, et al. Multiplex PCR based urinary tract infection (UTI) analysis compared to traditional urine culture in identifying significant pathogens in symptomatic patients [J]. *Urology*, 2020, 136(1): 119-126.
- [21] Peri AM, Harris PNA, Paterson DL. Culture-independent detection systems for bloodstream infection [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2022, 28(2): 195-201.
- [22] Truong M, Slapeta J. Analytical sensitivity of a multiplex quantitative PCR for *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* [J]. *Parasitol Res*, 2023, 122(4): 1043-1047.
- [23] Zeng Y, Zhou L, Yang Z, et al. High sensitivity SARS-CoV-2 detection using graphene oxide-multiplex qPCR [J]. *Anal Chim Acta*, 2022, 1234(1): 340533.
- [24] 王度, 方心俞, 吴百健, 等. 宏基因组二代测序技术在非结核分枝杆菌骨关节感染诊断中应用价值的初步报道[J]. *中华创伤骨科杂志*, 2021, 23(7): 577-582.
- [25] Lapinska U, Voliotis M, Lee KK, et al. Fast bacterial growth reduces antibiotic accumulation and efficacy [J]. *Elife*, 2022, 11(1): e74062.
- [26] Fan J, Feng Y, Cheng Y, et al. Multiplex gene quantification as digital markers for extremely rapid evaluation of chemo-drug sensitivity [J]. *Patterns (N Y)*, 2021, 2(10): 100360.
- [27] Choi YJ, Kim Y, Park HJ, et al. Development of a multiplex droplet digital PCR method for detection and monitoring of *Mycobacterium tuberculosis* and drug-resistant tuberculosis [J]. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 2024, 23(1): 29.

【收稿日期】 2024-12-26 【修回日期】 2025-03-10