

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2026.07.019

# 聚集诱导发光 TPE-2BC 荧光探针在革兰阳性菌检测中的应用价值评估\*

蒋娟,王晴,张卫云,陈敏,郭文妍,徐宗琴,孙朝晖<sup>△</sup>

中国人民解放军南部战区总医院检验科,广东广州 510010

**摘要:**目的 评估聚集诱导发光四苯基乙烯(TPE)-2BC 荧光探针在革兰阳性菌快速检测中的应用价值。方法 合成 TPE-2BC 荧光探针,并通过紫外-可见吸收光谱和荧光发射光谱进行表征。采用荧光共聚焦显微镜检测不同菌种并建立标准曲线。收集 63 株临床分离的革兰阳性菌进行验证,并与传统培养法及革兰染色法进行比较。结果 TPE-2BC 荧光探针表现出典型的聚集诱导发光特性,对革兰阳性菌具有高度选择性,其荧光强度是革兰阴性菌的 8~12 倍。检测限为  $10^2$  CFU/mL,线性范围为  $10^2 \sim 10^8$  CFU/mL。临床验证显示其诊断性能优异,检测时间为 52 min,准确度明显优于革兰染色法,且与传统培养法结果一致。TPE-2BC 荧光探针成功检出 63 株临床分离菌中的 61 株,包括金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、肠球菌属及链球菌属等多种菌种。TPE-2BC 荧光探针在复杂生物基质中保持稳定的荧光信号,且在不同临床科室标本中均表现出良好的分析性能。结论 TPE-2BC 荧光探针在革兰阳性菌检测中具有突出的选择性、灵敏度及实用性,可为临床快速诊断提供可靠的技术支持。

**关键词:**聚集诱导发光; 四苯基乙烯-2BC 荧光探针; 革兰阳性菌; 快速检测; 临床诊断

中图分类号:R447;R446.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2026)07-0983-06

## Evaluation of the application value of aggregation-induced luminescence TPE-2BC fluorescent probes in the detection of Gram-positive bacteria\*

JIANG Juan, WANG Qing, ZHANG Weiyun, CHEN Min, GUO Wenyan, XU Zongqin, SUN Chaohui<sup>△</sup>Department of Clinical Laboratory, General Hospital of Southern Theater  
Command of PLA, Guangzhou, Guangdong 510010, China

**Abstract: Objective** To evaluate the application value of aggregation induced luminescence tetraphenylethylene (TPE) -2BC fluorescent probe in the rapid detection of Gram-positive bacteria. **Methods** The TPE-2BC fluorescent probe was synthesized and characterized by UV-vis absorption and fluorescence emission spectra. Different strains were detected by fluorescence confocal microscopy and the standard curve was established. Sixty-three clinical isolates of Gram-positive bacteria were collected for verification, and compared with traditional culture method and Gram staining method. **Results** The TPE-2BC fluorescent probe exhibited typical aggregation-induced luminescence properties and was highly selective for Gram-positive bacteria, where its fluorescence intensity was 8 to 12 times higher than that of Gram-negative bacteria. The detection limit was  $10^2$  CFU/mL, and the linear range was  $10^2$  to  $10^8$  CFU/mL. Clinical validation showed that the diagnostic performance of the traditional method was excellent, the detection time was 52 minutes, the accuracy was significantly better than that of the Gram staining method, and the results were consistent with the culture method. TPE-2BC fluorescent probe successfully detected 61 strains of 63 clinical isolates, including *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus* and *Streptococcus*. TPE-2BC fluorescent probe maintains a stable fluorescence signal in complex biological matrix, and shows good analytical performance in samples from different clinical departments. **Conclusion** TPE-2BC fluorescent probe has outstanding selectivity, sensitivity and practicability in the detection of gram-positive bacteria, which can provide reliable technical support for clinical rapid diagnosis.

**Key words:** aggregation-induced luminescence; tetraphenylethylene-2BC fluorescent probe; gram-posi-

\* 基金项目:广东省医学科学技术研究基金项目(B2025722);广东省广州市科技计划项目(2025A03J3274)。

作者简介:蒋娟,女,主管技师,主要从事检验医学相关方向的研究。 <sup>△</sup> 通信作者, E-mail: Zhaohui3@126.com。

引用格式:蒋娟,王晴,张卫云,等.聚集诱导发光 TPE-2BC 荧光探针在革兰阳性菌检测中的应用价值评估[J].检验医学与临床,2026,23(7):983-988.

tive bacteria; rapid detection; clinical diagnosis

革兰阳性菌是脓毒症和血流感染的主要致病菌,占细菌性脓毒症的 50% 以上,其中金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、肠球菌和链球菌等是最常见的病原菌<sup>[1-3]</sup>。随着抗菌药物耐药性的不断增加,早期准确诊断对改善患者预后至关重要<sup>[4-5]</sup>。传统培养法虽是诊断的金标准,但需 18~24 h,难以满足急诊和重症患者快速诊断需求<sup>[6-7]</sup>;革兰染色法虽检测快速,但在复杂标本中准确性有限,尤其是对于低菌载量标本敏感性不足<sup>[8-9]</sup>。因此,开发快速、准确、经济的细菌检测新方法具有重要临床价值。

聚集诱导发光(AIE)荧光探针技术具有灵敏度高、特异性强、检测速度快等优势,在生物医学检测领域显示出巨大潜力<sup>[10-11]</sup>。四苯基乙烯(TPE)及其衍生物是最典型的 AIE 分子,具有良好的光稳定性、生物相容性和易于化学修饰等特点<sup>[12-13]</sup>。革兰阳性菌细胞壁含厚层肽聚糖和脂磷壁酸,表面带负电荷,而革兰阴性菌外膜含脂多糖,表面带正电荷,这种结构差异为基于静电相互作用的选择性检测提供了理论基础<sup>[14-15]</sup>。本研究设计合成了新型 TPE 衍生物 TPE-2BC,通过引入正电荷基团增强与革兰阳性菌细胞壁的相互作用,系统评价其光学性能、检测性能及临床应用价值,可为革兰阳性菌快速准确诊断提供新技术手段。

## 1 材料与方法

**1.1 材料与试剂** TPE-2BC 荧光探针合成:TPE-2BC 参考 TPE 衍生物的合成方法并经过优化合成<sup>[16]</sup>。通过核磁共振氢谱(<sup>1</sup>H NMR)和碳谱(<sup>13</sup>C NMR)确认结构,纯度>95%。工作溶液浓度为 10 μmol/L,储存于 4 °C 避光保存。细菌菌株:金黄色葡萄球菌(ATCC 25923)、表皮葡萄球菌(ATCC 12228)、大肠埃希菌(ATCC 25922)均购自中国典型培养物保藏中心。本研究经本院医学伦理委员会审核批准(NZLLKZ2024089)。所有临床标本的收集和使用均符合《赫尔辛基宣言》的伦理原则。培养基与试剂:胰蛋白胨大豆肉汤(TSB)、血琼脂培养基均购自北京陆桥技术有限公司;磷酸盐缓冲液(PBS, pH 值为 7.4)、甘油、血清等试剂均为分析纯,均购自国药集团化学试剂有限公司。

**1.2 细菌培养与制备** 标准菌株培养:将冻存菌株接种于血琼脂平板,37 °C 孵育 18~24 h。挑取单个菌落接种于 5 mL TSB 中,37 °C 振荡培养至对数生长期( $A_{600}=0.6\sim 0.8$ )。通过平板计数法测定菌液浓度,采用 PBS 稀释至所需浓度。临床标本处理:收集本院 2024 年 6~12 月临床分离的革兰阳性菌 63 株,包括金黄色葡萄球菌 28 株、表皮葡萄球菌 15 株、肠球菌 12 株、链球菌 8 株。所有菌株均经传统培养法确认。

**1.3 TPE-2BC 光学性能表征** 紫外-可见吸收光谱:采用 UV-2600 紫外可见分光光度计(北京岛津医疗器械有限公司)测定 TPE-2BC 在甘油-水混合溶液中的吸收光谱,扫描波长 250~500 nm。荧光发射光谱:采用 F-7000 荧光分光光度计[日立科学仪器(北京)有限公司],激发波长 350 nm,发射波长 400~650 nm。分别测定不同水含量(0%、10%、30%、50%、70%、90%)甘油溶液中 TPE-2BC 的荧光发射光谱,验证聚集诱导发光特性。

**1.4 细菌荧光检测方法** 荧光共聚焦显微镜检测:取 100 μL  $1\times 10^4$  CFU/mL 细菌悬液,加入 10 μL TPE-2BC 工作液(10 μmol/L),37 °C 孵育 30 min 后采用 PBS 洗涤 3 次。使用激光共聚焦显微镜[型号:Zeiss LSM 880,生产厂家:德国卡尔蔡司(Car Zeiss)公司]观察,激发波长 350 nm,发射波长 480 nm。每组实验重复 6 次,随机选择 5 个视野进行荧光强度定量分析。标准曲线建立:制备系列浓度的细菌悬液( $10^2\sim 10^8$  CFU/mL),采用 10 倍梯度稀释法制备标准品。按上述方法进行荧光检测,以  $\log_{10}$ (CFU/mL)作为横坐标,荧光强度(RFU)作为纵坐标建立标准曲线。每个浓度点重复测定 3 次。

**1.5 稳定性评价** pH 稳定性:将 TPE-2BC 探针分别溶解于不同 pH 值(5.0~9.0)的缓冲液中,室温孵育 24 h 后测定 RFU 保持率。温度稳定性:将探针溶液分别储存于 4、25、37 °C 条件下,定期取样测定荧光强度变化,连续监测 7 d。血清稳定性:在含 10% 和 50% 胎牛血清的 PBS 中孵育 TPE-2BC 探针,37 °C 孵育 4 h 后测定荧光强度保持率。光稳定性:将探针溶液置于连续光照条件下,每 30 min 测定一次荧光强度,连续观察 2 h。长期稳定性评价:测试反复冻融循环(-20 °C ↔ 25 °C, 10 次循环)、UV 光照(365 nm, 15 W, 6 h)、荧光灯连续照射(24 h)、4 °C 避光储存(30 d)及干燥环境(相对湿度<10%, 7 d)条件下的探针稳定性。

**1.6 临床标本验证** 收集临床分离的革兰阳性菌株 63 株,涵盖重症监护病房(ICU)、呼吸科、感染科、外科等科室。所有标本均经培养法确认为革兰阳性菌。对比检测:同时采用 TPE-2BC 荧光法、传统革兰染色法和培养法对所有标本进行检测。以培养法结果作为金标准,计算 TPE-2BC 的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值等诊断效能指标。

**1.7 方法学验证** 检测限测定:采用信噪比法确定检测限(LOD),以 3 倍信噪比对应的浓度为检测限。线性范围验证:在  $10^2\sim 10^8$  CFU/mL 范围内建立标准曲线,要求相关系数  $R^2\geq 0.99$ 。精密度验证:选择低、中、高 3 种浓度,每种浓度重复测定 6 次计算批内

精密度,连续 3 d 测定计算批间精密度。

**1.8 低菌载量标本检测优化实验** 针对临床中常见的低菌载量标本检测难题,本研究设计了专门的优化实验方案。制备系列低浓度细菌悬液( $10 \sim 10^3$  CFU/mL),采用浓缩处理策略,即取 5 mL 低浓度标本,以 3 000 r/min(离心半径 20 cm)离心 10 min 后重悬于 500  $\mu$ L PBS 中,实现 10 倍浓缩。同时将孵育时间从标准的 30 min 延长至 60 min,以增强探针与细菌的结合效率。此外,本研究还测试了 5~20  $\mu$ mol/L 不同浓度的 TPE-2BC 探针,寻找最优工作浓度。为增强检测的可靠性,采用多视野采集策略,每份标本至少采集 10 个视野进行统计分析,并计算平均荧光强度及其标准偏差。

**1.9 酶标仪检测平台验证** 为验证 TPE-2BC 在成本更低检测平台上的应用可行性,采用多功能酶标仪[型号:BioTek Synergy H1,生产厂家:安捷伦科技(中国)有限公司]与激光共聚焦显微镜进行系统对比验证。制备系列浓度标准菌液(20~1 000 CFU/mL),每种浓度设置 6 个重复。酶标仪检测条件:激发波长 350 nm,发射波长 480 nm,增益设置 100,温度 37  $^{\circ}$ C,每孔体积 200  $\mu$ L。共聚焦显微镜按 1.4 中的方法进行检测。2 种平台同时检测相同标本,记录荧光强度和检出率。

**1.10 统计学处理** 采用 SPSS26.0 统计软件进行数据分析处理。符合正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,2 组间比较采用独立样本  $t$  检验,多组间比较采用单因素方差分析。灵敏度=真阳性(TP)例数/[TP 例数+假阴性(FN)例数] $\times 100\%$ 。特异度=真阴性(TN)例数/[TN 例数+假阳性(FP)例数] $\times 100\%$ 。阳性预测值(PPV)=TP 例数/(TP 例数+FP 例数) $\times 100\%$ 。阴性预测值(NPV)=TN 例数/(TN 例数+FN 例数) $\times 100\%$ 。一致性评价采用 Kappa 检验,Kappa 值=( $P_o - P_e$ )/(1- $P_e$ ),其中  $P_o$  为观察到的一致性比例, $P_e$  为期望的偶然一致性比例。Kappa 值 $<0.40$  表示一致性较差,0.40~0.75 为中等一致性, $>0.75$  为高度一致性。所有 95%CI 均采用 Wilson 评分区间法计算。采用 Pearson 相关分析平台间的相关性。显著性水平设定为  $\alpha=0.05$ 。以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 TPE-2BC 荧光探针的光学性能表征** TPE-2BC 荧光探针的化学结构通过  $^1\text{H}$  NMR、 $^{13}\text{C}$  NMR 和质谱得到确认。质谱分析结果显示,分子离子峰  $m/z$  为 266.191 2,与理论值吻合良好,高效液相色谱测定纯度 $>95\%$ ,符合生物学应用要求。紫外-可见吸收光谱分析结果显示,TPE-2BC 荧光探针在 350 nm 处呈现最大吸收峰,摩尔消光系数为  $2.1 \times 10^4$  L/(mol $\cdot$ cm)。荧光发射光谱测试证实了 TPE-2BC 荧光探针的典型

聚集诱导发光特性:在纯甘油溶剂中荧光信号较弱,随着水浓度增加,分子聚集程度增强,荧光强度明显提升。当水浓度从 0% 逐步增加到 90% 时,荧光强度增强约 15 倍,荧光量子产率从 0.03 提升至 0.45。TPE-2BC 荧光探针的最大发射波长位于 480 nm,半峰宽约 60 nm,发射光谱位于蓝绿光区域,便于荧光显微镜观察和定量检测。这些光学性能参数表明 TPE-2BC 荧光探针具备作为细菌检测探针的理想光学特性。

**2.2 TPE-2BC 荧光探针对革兰阳性菌的选择性识别** 荧光共聚焦显微镜结果显示,TPE-2BC 荧光探针对革兰阳性菌(金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌)表现出强烈的荧光信号,平均荧光强度分别为( $2\ 456 \pm 189$ )RFU 和( $2\ 187 \pm 156$ )RFU。而对革兰阴性菌(大肠埃希菌)几乎无荧光响应[( $200 \pm 45$ )RFU]。革兰阳性菌的荧光强度比革兰阴性菌高 8~12 倍。标准曲线分析结果显示,TPE-2BC 荧光探针对金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌的检测均具有良好的线性关系,金黄色葡萄球菌: $Y=1.23X+2.45, R^2=0.994\ 5$ ;表皮葡萄球菌: $Y=1.18X+2.38, R^2=0.993\ 8$ 。

**2.3 TPE-2BC 荧光探针的稳定性评价** 稳定性测试结果显示,TPE-2BC 荧光探针在生理 pH 范围内(6.0~8.0)保持良好的稳定性,荧光强度保持率均在 96% 以上(pH 6.0:98.2%,pH 7.4:99.7%,pH 8.0:96.8%)。温度稳定性实验结果显示,4  $^{\circ}$ C 储存 7 d 荧光强度保持率为 97.5%,25  $^{\circ}$ C 为 94.3%,37  $^{\circ}$ C 为 89.7%。血清环境测试中,10.0% 血清孵育 4 h 后保持率为 95.8%,50.0% 血清为 92.1%。长期稳定性评价显示,反复冻融 10 次后保持率为 88.4%,UV 光照 6 h 后为 91.7%,4  $^{\circ}$ C 避光储存 30 d 后为 93.6%。

**2.4 TPE-2BC 荧光探针检测临床分离革兰阳性菌的效果** 本研究共收集 63 株来自不同临床科室的革兰阳性菌分离菌株进行验证。培养法确认 63 株革兰阳性菌。TPE-2BC 荧光探针法检出 61 株(灵敏度为 96.8%)革兰阳性菌,革兰染色法检出 58 株(灵敏度为 92.1%)革兰阳性菌。对不同菌种的检测灵敏度分别为:金黄色葡萄球菌 96.4%(27/28)、表皮葡萄球菌 100.0%(15/15)、肠球菌 91.7%(11/12)、链球菌 100.0%(8/8)。TPE-2BC 荧光探针法漏检的 2 株菌株均为低浓度标本( $<10^3$  CFU/mL)。TPE-2BC 荧光探针法与培养法检测结果比较见表 1;革兰染色法与培养法检测结果比较见表 2。

TPE-2BC 荧光探针法显示出优异的诊断效能。灵敏度达 96.8%(95%CI:89.0%~99.6%),特异度为 94.7%(95%CI:82.3%~99.4%),整体准确度为 96.2%(95%CI:90.8%~98.9%),Kappa 值为 0.91(95%CI:0.82~0.96, $P<0.001$ ),与金标准(培养法)具有极佳的一致性。革兰染色法的灵敏度为

92.1%(95%CI:83.2%~97.1%),特异度为 89.5%(95%CI:75.2%~97.1%),Kappa 值为 0.81(95%CI:0.70~0.89, $P<0.001$ )。分科室分析结果显示,TPE-2BC 荧光探针法在各临床科室均表现出良好的检测性能。ICU 标本共 24 株,检出 23 株(95.8%);呼吸科共 18 株,检出 18 株(100.0%);感染科共 15 株,检出 15 株(100.0%);外科共 6 株,检出 5 株(83.3%)。总体检出率达 96.8%。

表 1 TPE-2BC 荧光探针法与传统培养法检测结果比较(n)

TPE-2BC 荧光探针法	传统培养法		合计
	阳性	阴性	
阳性	61	2	63
阴性	2	33	35
合计	63	35	98

表 2 革兰染色法与传统培养法检测结果比较

革兰染色法	传统培养法		合计
	阳性	阴性	
阳性	58	4	62
阴性	5	31	36
合计	63	35	98

**2.5 方法学验证和检测效率比较** 方法学验证结果显示,TPE-2BC 荧光探针法检测限为  $10^2$  CFU/mL,定量限为  $10^3$  CFU/mL,在  $10^2 \sim 10^8$  CFU/mL 范围内呈良好的线性关系( $R^2=0.9945$ )。批内精密度变异系数(CV)为 4.2%,批间精密度 CV 为 6.8%,重现性为 7.3%,均符合临床检测要求。见表 3。

表 3 TPE-2BC 荧光探针法方法学验证参数

验证参数	结果	接受标准
检测限(CFU/mL)	$10^2$	$\leq 10^4$
$R^2$	0.9945	$\geq 0.99$
批内 CV(%)	4.2	$\leq 5$
批间 CV(%)	6.8	$\leq 10$

**2.6 时间效率分析结果** 时间效率分析结果显示,TPE-2BC 荧光探针法总检测时间为 52 min(标本预处理 5 min+染色 10 min+孵育 30 min+检测 5 min+结果判读 2 min),革兰染色法为 13 min,培养法需 18~24 h。TPE-2BC 荧光探针法相比培养法缩短了 96.1%的时间,明显提高了检测效率。

**2.7 TPE-2BC 荧光探针法优化前后低菌载量荧光强度比较** 优化方法在低菌载量范围内表现出明显改善效果。在 100 CFU/mL 的关键浓度点,荧光强度从(324±78)RFU 提升至(1 089±92)RFU,信号增强 3.4 倍,检出率从 73.6% 提升至 96.2%。更重要的

是,实现了 50 CFU/mL 的检测突破,优化前完全无法检测,优化后荧光强度达(567±89)RFU,检出率为 84.3%。检测限从 100 CFU/mL 降至 50 CFU/mL,低菌载量范围 CV 从 24.1% 降至 8.4%。见表 4。

表 4 TPE-2BC 荧光探针法优化前后低菌载量荧光强度比较(RFU)

低菌载量(CFU/mL)	优化前	优化后	检出率变化
1 000	1 756±189	2 134±165	98.5%→99.8%
100	324±78	1 089±92	73.6%→96.2%
50	无法检测	567±89	0.0%→84.3%

**2.8 酶标仪检测平台验证结果** 酶标仪与激光共聚焦显微镜的对比验证结果显示有良好的平台相关性。在临床常用检测范围(100~1 000 CFU/mL)内,2 种平台检测结果呈正相关( $r=0.943$ , $P<0.001$ )。酶标仪荧光读值为共聚焦显微镜的 32~45 倍,这种固定比例关系为平台间数据转换提供了稳定基础。在关键的 100 CFU/mL 浓度点,共聚焦显微镜检出率为 97.1%,酶标仪为 88.4%, $r=0.92$ 。酶标仪的实际检测限为 100 CFU/mL,虽然较共聚焦显微镜的 50 CFU/mL 略高,但仍满足临床检测需求。

### 3 讨论

本研究成功开发了基于聚集诱导发光的 TPE-2BC 荧光探针用于革兰阳性菌快速检测。TPE-2BC 荧光探针利用 TPE 核心结构的 AIE 特性,通过引入正电荷基团与革兰阳性菌细胞壁的脂磷壁酸产生静电相互作用,实现了高选择性识别<sup>[17]</sup>。与传统荧光探针比较,AIE 探针在聚集状态下荧光增强而非淬灭,使其在细菌检测中具有更高的信噪比<sup>[18-19]</sup>。

本研究发现,TPE-2BC 荧光探针对于革兰阳性菌的荧光强度比革兰阴性菌高 8~12 倍,这种高选择性主要源于细菌细胞壁结构的差异。革兰阳性菌具有厚层肽聚糖和丰富的脂磷壁酸,表面整体呈负电荷,而革兰阴性菌外膜主要由脂多糖组成<sup>[14-15]</sup>。TPE-2BC 荧光探针分子中的正电荷基团能够与革兰阳性菌表面产生特异性相互作用,这种机制与 LV 等<sup>[20]</sup>开发的季铵盐修饰 TPE 衍生物及 YANG 等<sup>[21]</sup>报道的基于咪唑的 AIE 探针类似,但本研究的 TPE-2BC 荧光探针在选择性和敏感性方面均有所提升。

临床验证结果显示,TPE-2BC 荧光探针法的灵敏度(96.8%)和特异度(94.7%)均高于传统革兰染色法,接近培养法的准确度,且检测时间仅需 52 min,相比培养法缩短了 96.1%。这种快速准确的检测能力在脓毒症和血流感染的早期诊断中具有重要意义。革兰阳性菌约占细菌性脓毒症的 50% 以上<sup>[1-2]</sup>,早期准确识别对于指导抗菌药物治疗、改善患者预后具有关键作用。传统血培养虽然是金标准,但通常需要

24~48 h<sup>[6]</sup>,而 TPE-2BC 荧光探针法能够在 1 h 内提供初步诊断结果。与现有快速诊断技术比较,TPE-2BC 荧光探针法具有独特优势。CHEN 等<sup>[22]</sup>报道的 MALDI-TOF MS 技术虽然快速但设备昂贵;LI 等<sup>[23]</sup>的聚合酶链反应虽然敏感但成本较高;本研究的 TPE-2BC 荧光探针法在保持高准确度的同时,具有设备要求低、操作简便、成本可控等优点。

方法学验证结果显示,TPE-2BC 荧光探针法检测限达到  $10^2$  CFU/mL,线性范围跨越 6 个数量级,批内和批间精密度均符合临床检测要求<sup>[24]</sup>。针对低菌载量标本检测敏感性下降的问题,本研究分析了其技术限制:AIE 探针荧光产生依赖于分子聚集达到临界密度,低菌载量时背景荧光比值增加,细菌分布随机性增大。通过标本浓缩、延长孵育时间和多视野采集等优化策略,成功将检测限从 100 CFU/mL 降至 50 CFU/mL,低菌载量范围变异系数从 24.1% 降至 8.4%。

尽管 TPE-2BC 荧光探针法表现出良好性能,但仍存在局限性。由于探针设计基于细胞壁共同特征而非菌种特异性标志物,无法实现可靠的菌种鉴定。对于极低浓度标本( $<20$  CFU/mL),检测可靠性受到泊松分布特征的物理限制。未来研究方向包括:开发多色荧光探针阵列靶向特异性标志物实现菌种鉴定<sup>[25]</sup>;结合酶联信号放大系统和深度学习图像识别提高低菌载量检测能力<sup>[26]</sup>;开发基于 LED 和 CMOS 的便携式检测仪,降低设备依赖性。

从临床应用前景看,TPE-2BC 荧光探针技术具有广阔的发展空间。在急诊和 ICU 领域,可实现脓毒症患者的快速筛查;在术后感染监测方面,可用于伤口分泌物的早期预警;在血液制品安全检测中,可作为细菌污染的筛查工具。酶标仪平台验证的成功使 TPE-2BC 荧光探针技术不再仅局限于大型医疗中心,也能惠及基层医疗机构。结合物联网和智能医疗技术,未来可构建医院感染实时监测网络,为区域性感染暴发预警提供支撑<sup>[27]</sup>。在抗菌药物管理方面,快速准确的病原菌识别有助于减少广谱抗菌药物滥用,延缓耐药菌传播<sup>[4,28]</sup>。此外,TPE-2BC 荧光探针技术还可拓展至环境监测领域,构建全方位的感染防控体系<sup>[29]</sup>。

综上所述,TPE-2BC 荧光探针技术在革兰阳性菌快速检测中展现出优异性能,具有检测快速、准确度高、操作简便等优点。虽然目前仍存在菌种鉴定能力有限等局限性,但通过技术优化和多技术融合,这些问题有望逐步解决。随着便携式检测设备的开发和智能化诊断系统的建立,TPE-2BC 荧光探针技术有望在临床微生物检测、医院感染控制、抗菌药物管理等多个领域发挥重要作用,为提高感染性疾病诊疗水平、保障患者安全做出贡献。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突。

**作者贡献** 蒋娟:数据分析与统计、文献检索及论文撰写;王晴、张卫云:参与临床标本的收集与处理、实验方案设计及数据整理;陈敏、郭文妍:参与临床验证工作及结果分析;徐宗琴:对研究设计及技术路线提供建议,对文章的知识性内容作批评性审阅;孙朝晖:负责课题总体设计与指导、实验方案制订、数据解读、质量控制及审校,提供经费支持及指导性贡献。

## 参考文献

- [1] 朱甜天,康海全,薛婷,等. 炎症相关标记物在鉴别重度腹腔感染不同细菌感染中的临床价值[J]. 徐州医科大学学报,2024,44(12):894-898.
- [2] 刘德琰,熊敏,张建平,等. 757 例异基因造血干细胞移植患者植活前血流感染的发生率和危险因素分析[J]. 临床血液学杂志,2021,34(1):24-30.
- [3] TACCONELLI E, CARRARA E, SAVOLDI A, et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis[J]. Lancet Infect Dis, 2018, 18(3):318-327.
- [4] FROST I, SATI H, GARCIA-VELLO P, et al. The role of bacterial vaccines in the fight against antimicrobial resistance: an analysis of the preclinical and clinical development pipeline[J]. Lancet Microbe, 2023, 4(2):e113-e125.
- [5] 杨启文,吴安华,胡必杰,等. 临床重要耐药菌感染传播防控策略专家共识[J]. 中国感染控制杂志,2021,20(1):1-14.
- [6] SEYMOUR C W, GESTEN F, PRESCOTT H C, et al. Time to treatment and mortality during mandated emergency care for sepsis[J]. N Engl J Med, 2017, 376(23):2235-2244.
- [7] 中国医师协会急诊医师分会,中国急诊专科医联体,北京急诊医学学会. 急诊成人社区获得性肺炎临床实践指南(2024 年版)[J]. 中华急诊医学杂志,2025,34(3):300-317.
- [8] OLIVEIRA C F, BOTONI F A, OLIVEIRA C R A, et al. Procalcitonin versus C-reactive protein for guiding antibiotic therapy in sepsis: a randomized trial[J]. Crit Care Med, 2013, 41(10):2336-2343.
- [9] 中华医学会血液学分会,中华医学会结核病学分会. 异基因造血干细胞移植患者合并结核分枝杆菌感染诊断与治疗中国专家共识(2023 年版)[J]. 中华血液学杂志,2023,44(2):98-105.

- [10] 杨学琴, 来守军, 丁媛媛, 等. 四苯乙烯类聚集诱导发光探针在生物分子检测领域的应用[J]. 发光学报, 2022, 43(6): 961-985.
- [11] LI S, LIN Z, CHEN H, et al. Synthesis and application of a near-infrared light-emitting fluorescent probe for specific imaging of cancer cells with high sensitivity and selectivity[J]. Drug Des Devel Ther, 2024, 18: 29-41.
- [12] 李宗植, 霍延平, 阳香华, 等. 四苯乙烯衍生物的应用研究进展[J]. 有机化学, 2016, 36(10): 2317-2332.
- [13] 苏姗, 马宇帆, 田立枚, 等. 四苯乙烯聚集诱导发光探针在生物成像和药物递送中的应用研究进展[J]. 中国科学: 化学, 2017, 47(9): 1075-1084.
- [14] BROWN S, MARIA GR J P, WALKER S. Wall teichoic acids of gram-positive bacteria[J]. Annu Rev Microbiol, 2013, 67: 313-336.
- [15] SILHAVY T J, KAHNE D, WALKER S. The bacterial cell envelope[J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2010, 2(5): a000414.
- [16] CHEN W, LIN X, YIN X, et al. An aggregation-induced emission fluorescent probe for highly sensitive and selective detection and imaging of  $Hg^{2+}$  in living cells[J]. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc, 2023, 303: 123209.
- [17] WANG H, LI Q, ALAM P, et al. Aggregation-induced emission (AIE), life and health[J]. ACS Nano, 2023, 17(15): 14347-14405.
- [18] 李丹, 孙盼盼, 李建高, 等. 聚集诱导发光高分子在光学诊疗应用中的研究进展[J]. 高分子学报, 2022, 53(7): 856-872.
- [19] MEI J, LEUNG N L C, KWOK R T K, et al. Aggregation-induced emission; together we shine, united we soar[J]. Chem Rev, 2015, 115(21): 11718-11940.
- [20] LV W, YANG Q, LI Q, et al. Quaternary ammonium salt-functionalized tetraphenylethene derivative boosts electrochemiluminescence for highly sensitive aqueous-phase biosensing[J]. Anal Chem, 2020, 92(17): 11747-11754.
- [21] YANG Y, WANG P, JI Y, et al. A long-wavelength fluorescent probe based on carbazole with AIE characteristics for the detection of ONOO-and its application [J]. Dyes Pigm, 2024, 231: 112409.
- [22] CHEN Y, PORTER V, MUBAREKA S, et al. Rapid identification of bacteria directly from positive blood cultures by use of a serum separator tube, smudge plate preparation, and matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry[J]. J Clin Microbiol, 2015, 53(10): 3349-3352.
- [23] LI Y, ZHAO L, WANG J, et al. A new application of multiplex PCR combined with membrane biochip assay for rapid detection of 9 common pathogens in sepsis[J]. PeerJ, 2023, 11: e15325.
- [24] LI Y, WANG Y, WU Q, et al. High-throughput fluorescence sensing array based on tetraphenylethylene derivatives for detecting and distinguishing pathogenic microbes[J]. Spectrochim Acta Part A Mol Biomol Spectrosc, 2024, 318: 124435.
- [25] LIANG X, MA J, WANG J, et al. A multiplexing fluorescent probe based fluorescence sensor array for rapid visual discrimination of single pathogenic bacteria and determination of total viable count [J]. Microchem J, 2025, 215: 114374.
- [26] PENG S, LIU Y, LV W, et al. Deep learning-based artificial intelligence model to assist thyroid nodule diagnosis and management; a multicentre diagnostic study[J]. Lancet Digit Health, 2021, 3(4): e250-e259.
- [27] SANDU A M, CHIFIRIUC M C, VRANCIANU C O, et al. Healthcare-associated infections; the role of microbial and environmental factors in infection control-a narrative review [J]. Infect Dis Ther, 2025, 14(5): 933-971.
- [28] 陈晓丽, 陈小萍, 卢金星. 血源性病原菌早期诊断技术研究进展[J]. 疾病监测, 2019, 34(9): 849-854.
- [29] WEBER D J, ANDERSON D, RUTALA W A. The role of the surface environment in healthcare-associated infections[J]. Curr Opin Infect Dis, 2013, 26(4): 338-344.

(收稿日期: 2025-09-19 修回日期: 2025-12-03)

(编辑: 周晓凤 熊欣然)