

- ABC transporter [J]. *Ann Neurol*, 2012, 72(1):53-64.
- [29] KONG B S, KIM Y, KIM G Y, et al. Increased frequency of IL-6-producing non-classical monocytes in neuromyelitis optica spectrum disorder [J]. *J Neuroinflammation*, 2017, 14(1):191.
- [30] SAADOUN S, BRIDGES L R, VERKMAN A S, et al. Paucity of natural killer and cytotoxic T cells in human neuromyelitis optica lesions [J]. *Neuroreport*, 2012, 23(18):1044-1047.
- [31] PAPAODOPOULOS M C, BENNETT J L, VERKMAN A S. Treatment of neuromyelitis optica: state-of-the-art and emerging therapies [J]. *Nat Rev Neurol*, 2014, 10(9):493-506.
- [32] MICHAEL B D, ELSONE L, GRIFFITHS M J, et al. Post-acute serum eosinophil and neutrophil-associated cytokine/chemokine profile can distinguish between patients with neuromyelitis optica and multiple sclerosis; and identifies potential pathophysiological mechanisms—a pilot study [J]. *Cytokine*, 2013, 64(1):90-96.
- [33] ZHANG H, VERKMAN A S. Eosinophil pathogenicity mechanisms and therapeutics in neuromyelitis optica [J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(5):2306-2316.

(收稿日期:2018-08-04 修回日期:2018-10-10)

• 综 述 •

LAMP 在临床微生物检测中的应用及进展

郭 绮¹综述, 杨魁庆^{2△}审校

(1. 重庆市药品技术审评认证中心, 重庆 401120; 2. 重庆医疗器械质量检验中心, 重庆 401147)

摘 要: 环介导等温扩增技术(LAMP)是在等温条件下对目标 DNA 序列进行扩增的一种技术。在临床微生物检测方面, LAMP 与染色镜检、生化鉴定、逆转录聚合酶链式反应(RT-PCR)、核磁共振等技术比较, 具有方法简单、特异度强、便于观察结果、不需要精密仪器等优势, 是一种非常有价值的检测技术。该文主要对 LAMP 的终点检测方法以及 LAMP 在临床微生物检测上的应用及进展作一综述, 并对其应用的优缺点进行了分析, 旨在为检验人员选择 LAMP 作为临床微生物检验手段提供参考。

关键词: 核酸扩增技术; 细菌; 病毒; 寄生虫; 敏感度; 特异度

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2019.01.029

中图法分类号: R446.5

文章编号: 1673-4130(2019)01-0111-05

文献标识码: A

The application and progress of LAMP in clinical microorganism detection

GUO Qi¹, YANG Suqing^{2△}

(1. Chongqing Technical Center of Drug Evaluation Certification, Chongqing, 401120, China;

2. Chongqing Quality Testing & Inspection Center of Medical Devices, Chongqing 401147, China)

Abstract: Loop mediated Isothermal Amplification (LAMP) is a technique for amplification of target DNA sequences under isothermal conditions. It is a hot research topic in recent years. In clinical microorganism detection, Compared with staining microscopy, biochemical identification, reverse transcriptase chain reaction (RT-PCR) and nuclear magnetic resonance (NMR), LAMP has the advantages of simplicity, strong specificity, easy observation and no need of precision instruments. It is a very valuable detection technology. In this paper, the end point detection method of LAMP and the application and progress of LAMP in clinical microorganism detection are reviewed, and the advantages and disadvantages of the application are analyzed. The purpose of this article is to provide a reference for examiners to select lamp as a means of clinical microorganism detection.

Key words: nucleic acid amplification technique; bacteria; virus; parasite; sensitivity; specificity

环介导等温扩增技术(LAMP)的关键是链置换型合成酶、引物及终点检测方法^[1]。与一般的 DNA 聚合酶不同, 链置换型合成酶能催化引物以双链 DNA 的一条链为模板延伸, 合成一条与之互补的链, 替换另一条链。为保证核酸扩增的特异度与灵敏度,

LAMP 的引物至少需设计 4 条, 用于识别 DNA 模板的 6 个不同区域。在产物检测方法方面, LAMP 主要通过监测颜色变化评价反应。近 20 年来, 研究者们开发出了引物设计软件, 发现了新型链置换型合成酶, 优化了产物检测方法, 还设计出了多重 LAMP 及

△ 通信作者, E-mail: 516688048@qq.com。

本文引用格式: 郭绮, 杨魁庆. LAMP 在临床微生物检测中的应用及进展[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(1): 111-114.

逆转录 LAMP, 每一次技术的突破, 均推动了 LAMP 在临床微生物检测领域的应用。

1 LAMP 技术原理及检测方法发展

1.1 LAMP 扩增原理

LAMP 反应开始后内引物上游引物(FIP, 由 F2 和 F1c 组成)的 F2 区与靶 DNA 的 F2c 区杂交, 在链置换 DNA 聚合酶(Bst)聚合酶作用下, 合成 1 条 FIP 连接的与靶 DNA 互补的 DNA 单链, 然后外引物 F3 与靶 DNA 的 F3c 区杂交并延伸, 取代 FIP 连接的互补链。互补 DNA 单链被置换脱离后 F1c 和 F1 区互补配对形成茎环, 然后作为内引物下游引物(BIP, 由 B2 和 B1c 组成)的模板。BIP 的 B2 区与模板 DNA 的 B1c 区杂交, 合成 1 条 BIP 连接的与模板 DNA 互补的 DNA 单链, 并打开模板 DNA 的茎环结构。随后 B3 与模板 DNA B3c 区域杂交并延伸, 取代 BIP 连接的互补链。此 BIP 连接的互补链脱落, 分别在两端形成茎环, 得到一个哑铃状的 DNA 链, 其过程见图 1。这种结构作为 LAMP 扩增循环阶段的模板, 最终得到的产物是具有不同个数茎环结构、不同长度 DNA 的混合物(靶 DNA 的交替反向重复序列)。

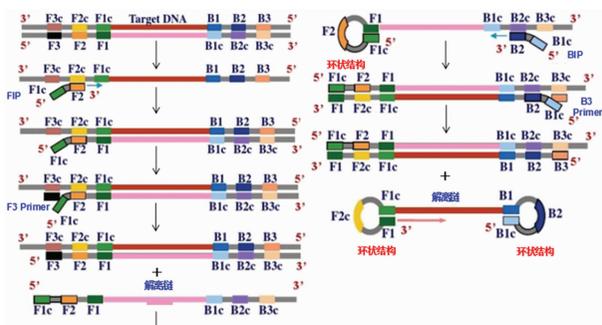


图 1 LAMP 哑铃状模板结构的形成过程

1.2 LAMP 的终点检测方法

LAMP 应用在临床微生物检测中的一大优势是结果观察方便、简单。LAMP 在临床微生物检测中用的终点检测方法有浊度法、琼脂糖凝胶电泳法、显色法及横向流动试纸条法(LFD)、对扩增产物进行探针分析等, 各方法具备相应的优缺点, 在选取检测方法时要根据实际情况考量。

1.2.1 琼脂糖凝胶电泳法

琼脂糖凝胶电泳是 LAMP 设计初期采用的方法。因为检测过程中需打开反应管, 易导致气溶胶溢出, 增加携带污染的风险, 且琼脂糖凝胶制备过程中用到的荧光染色剂——溴化乙锭是一种对人体有致癌作用的高危险化学物质, 因此, 其应用受到一定的限制。

1.2.2 显色法

用于 LAMP 显色的染色剂有钙黄绿素、羟基萘酚蓝(HNB)、荧光染料(SYBR Green I)等。SYBR Green I 在恒温孵育前加入, 抑制反应, 在恒温孵育后加入易引起气溶胶污染^[2]。HNB 染料可在恒温孵育前加入, 但 HNB 不能发射荧光, 仅能用肉眼观察颜色变化。钙黄绿素是最常用的

LAMP 染色剂, 已被用于克氏锥虫、丙型肝炎病毒、人乳头瘤病毒、人冠状病毒^[3-4]等病原微生物的检测。其不仅可在恒温孵育前加入, 且结果通过紫外线、自然光均能观察到^[5-6]。

1.2.3 浊度法

浊度法可对反应产物进行定性和定量检测, 原理为反应产生的副产物与反应溶液中的 Mg^{2+} 反应, 生成白色沉淀, 既可通过目视法检查浑浊, 也可通过在特定波长下监测沉淀的生成定量检测扩增产物。目前, 市面有实时检测 LAMP 反应的浊度仪, 如 LA-200、LA-320 和 LA-500。采用浊度法检测的临床微生物有肺炎支原体、人乳头瘤病毒及艰难梭菌等^[7-8]。

1.2.4 LFD

LFD 由于成本低、使用方便、简单、快速、轻便等优点而成为目前最受青睐的技术之一。只需将待测样本滴加于结合有 LAMP 缓冲液和生物素的试纸条一端(样品垫)就能进行检测。其原理为利用异硫氰酸荧光素(FITC)标记的 DNA 探针与生物素标记的 LAMP 扩增产物杂交后^[9]与胶体金标记的抗 FITC 抗体结合形成复合物, 被横向流动试纸条上具有生物素抗体的检测线捕获并显示结果^[10]。

1.2.5 对扩增产物进行探针分析

纳米金作为光学探针及电化学传感器正广泛用于 DNA 检测领域^[11]。DRAZ 等^[12]应用纳米金探针对肠炎沙门菌扩增产物进行标记, 然后用莱卡显微镜采集表面增强拉曼光谱进行分析。结果显示, 该方法的灵敏度(66 CFU/mL)比传统的 PCR 法提高了 100 倍, 具有较高的特异性, 可将其与密切相关的细菌或非特异性污染的 DNA 区分开来。

2 LAMP 在临床微生物检测中应用及进展

2.1 LAMP 在细菌检测中的应用及进展

LAMP 被成功用于检测人体感染的细菌, 如结核分枝杆菌、肺炎链球菌、脑膜炎奈瑟菌、铜绿假单胞菌等, 且不断有新的细菌反应体系的构建。某些用传统方法检测有困难的细菌, 在建立了特异性 LAMP 反应体系后可成功检测并快速得到结果。肺炎链球菌的传统诊断方式为染色镜检, 但在样品采集和处理过程中肺炎链球菌的自溶酶系统易使其快速死亡, 导致检测难以进行。XIA 等^[13]建立了一个对肺炎链球菌进行实时诊断的 LAMP 反应体系, 利用实时荧光检测装置, 对肺炎链球菌 ATCC49619 的 DNA 进行检测, 结果显示, 该反应能在 20 min 扩增得到结果, 荧光峰通常持续 10 min, 检测限为 300 pg/ μ L, 且能有效区分肺炎链球菌和其他 15 株非肺炎链球菌。在拓宽检测病原菌种类的基础上, LAMP 在检测病原菌的技术方面也不断地创新, 多重 LAMP 的应用不仅缩短了病原菌检测时间, 且可区分 2 个甚至多个病原菌。沙门菌和副溶血性弧菌是人类最常感染的食物传播病原体, 如能对从疑似病例上采集的样本同时进行这 2 个病原体的快速检测, 对判断食源性感染疾病非常有意义。

LIU 等^[14]建立了一种多重实时循环介导的等温扩增 LAMP(mLAMP)方法,该方法结合熔融曲线分析,允许在 60 min 内根据不同的解链温度(T_m)值对扩增产物进行检测和鉴别。该研究共分析了 19 株已知的细菌,包括 1 株副溶血性弧菌参考株(ATCC 17802)和 7 株沙门菌属。结果显示,副溶血性弧菌的 T_m 值为 83.8℃,7 株沙门菌的 T_m 值为 86.5~86.8℃,平均(86.61±0.11)℃,对非沙门菌和非副溶血性弧菌株未获得 T_m 值,未发生扩增,表明 mLAMP 能特异性检测和区分沙门菌和副溶血性弧菌。LAMP 不仅可对细菌进行鉴别,还可解决细菌的分型问题,传统血清学分型易受细菌表面抗原表达量的影响。另外,抗生素的不当使用,导致临床标本中存在抗生素,能培养出的细菌量很少甚至没有。LEE 等^[15]首次采用 LAMP 法进行脑膜炎血清群特异性鉴定试验,对 31 例脑膜炎球菌阳性脑脊液标本进行检测,结果显示,PCR 检测的检出限为每反应 103~104 个基因组拷贝,LAMP 分析的检出限为 10~100 个基因组拷贝,LAMP 的灵敏度较 PCR 提高了约 100 倍。且在 2 h 内对 31 例样本中的 29 例成功分型,其中 A、B、C、X、Y 型各 5 株,W 型 6 株。

2.2 LAMP 在病毒检测中的应用及进展 病毒检测最常用的方法是逆转录环介导的等温扩增(RT-LAMP),利用逆转录酶从 RNA 中获得互补 DNA,并通过 DNA 聚合酶进行进一步扩增。RT-LAMP 将所有的引物和酶(Bst 聚合酶和逆转录酶)在恒温下孵育,可一步完成检测^[16],已用于检测各种病毒,如登革热病毒、流感病毒、丙型肝炎病毒、埃博拉病毒和寨卡(ZIKA)病毒等。LAU 等^[17]研发出一种快速检测登革热病毒 2 种血清型的单管一步法 RT-LAMP 检测系统,该方法设计了针对登革热病毒的每一种血清型的 LAMP 引物集,并将引物集及其他反应需要物质加入到一个 LAMP 反应管中,加入样本反应 30 min 后就能检测出登革热病毒。研究样本为登革热感染者血清,反应过程通过环介导实时浊度仪 LA-320 监测。结果显示,该方法的检测限低至 10 个目的 RNA 拷贝,在 189 个样本中检出 115 个阳性样本,检出率较实时荧光定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)高 15%,且与样本中登革热病毒特别相似的虫酶病毒无交叉反应。此种单管一步法 PR-LAMP 虽然不能区分登革热病毒的血清型,但可迅速判断登革热病毒感染与否,具有临床实用性。目前,RT-LAMP 最成功的应用之一是诊断人类免疫缺陷病毒(HIV)逆转录病毒。HIV 病毒载量的检测受到规模、成本和复杂操作的限制,开发一个能使病毒载量更易获得的技术非常迫切。DAMHORST 等^[18]利用微流控芯片和硅微芯片平台,对经最小处理的 HIV 全血样品进行 RT-LAMP,并在移动智能设备上进行了荧光测量,结果显示,RT-LAMP 能检测到微量全血样品中的 HIV 量,

且满足低成本、便携性和易用性的实际要求,具有用于检测其他病毒的潜力,让病毒载样量的检测可在患者家中及临床实验室中用手指血进行。新型 Omni-Amp DNA 聚合酶(POL)的发现是 RT-PCR 的一次重要革新,其替代了 DNA 聚合酶(Bst)和逆转录酶,实现靶 RNA 的单酶检测,让 RT-PCR 在病毒方面的检测前景更加广阔^[19]。与传统 DNA 聚合酶(Bst)和逆转录酶比较,该酶受全血成分的抑制作用较小,对稀释的低病毒血症样品的检测速度更快,具有更高的耐热性和较好的干燥条件,可延长常温下的储存时间,更适于侧流装置和冻干 LAMP 反应管的研制。其利用 POL 对 6 种 RNA 病毒进行了 RT-LAMP 检测,在 30 min 内扩增出了所有靶标,不需额外步骤,也不改变用于 DNA 靶标的反应设计。POL 较传统 RT-LAMP 聚合酶更具有优势,更适于恶劣环境下的病毒诊断,为 LAMP 的便携化发展奠定了基础。

2.3 LAMP 在寄生虫检测中的应用及进展 寄生虫是世界主要的死亡原因之一。LAMP 在寄生虫检测中的应用为寄生虫临床样本的现场检测和寄生虫感染早期的及时检测提供了有效手段。ZHANG 等^[20]采用 LAMP 法对 30 例恶性疟原虫临床标本进行了检测,结果显示,LAMP 检测阳性率可高达 90%,检测限低至每微升 5 个寄生虫,且对间日疟原虫、约氏疟原虫和弓形虫的基因组 DNA 的检测结果呈阴性,具有较强的抗干扰能力。POOLE 等^[21]以 RF4 基因为目标,研制了一种高灵敏度的 LAMP 检测方法,结果显示,RF4 特异度 LAMP 能在 30 min 内检测到 1 条微丝蚴(100 pg)。NZELU 等^[22]采用 LAMP 检测了利什曼原虫,对 122 份疑似临床样本进行了测试。结果显示,LAMP 能有效检测到 101 个 DNA 拷贝,灵敏度至少是常规 PCR 的 100 倍。这对利什曼原虫感染早期,其密度很低时的检测是非常有意义的。有研究利用 mLAMP 与斑点酶联免疫吸附试验(dot-ELISA)相结合,进行猪肉绦虫、牛肉绦虫和亚洲带绦虫的鉴别,以细胞色素 C 氧化酶亚基 1 基因为靶标,分别采用 FITC、地高辛(DIG)和四甲基罗丹明(TAMRA)标记 FIP 引物和生物素标记 BIP 引物进行单管 mLAMP 反应。每个物种的 mLAMP 产物通过 dot-ELISA 针对 FITC、DIG 或 TAMRA 的特异性抗体进行区分。如果用传统的方法鉴别,一个样品需 3 个反应混合物,既耗时又复杂,并增加了交叉污染的风险。mLAMP 法与 dot-ELISA 相结合,可使人带绦虫的鉴定更加简单、实用^[23]。

3 LAMP 的优缺点分析

LAMP 作为临床微生物检测手段具有快速、适合推广、特异性强等优点。LAMP 最显著的优点是其快速性,由于 LAMP 不需传统 PCR 中 DNA 模板的初始热变性过程,所以,较传统 PCR 减少了约 2/3 的反应时间,可实现立即诊断。LAMP 的另一个优点是推

广性强,与其他扩增反应比较,只需简单水浴或金属浴等提供恒温条件,且结果评价可进行肉眼观察。有研究者结合缓冲液中 Bst DNA 聚合酶的特点,研制出了一种用于 LAMP 的 pH 敏感染料。pH 敏感染料根据 LAMP 扩增过程中 pH 从碱性到酸性的变化监测 LAMP 反应,易于观察,进一步提高了 LAMP 结果观察的便利性^[24]。LAMP 的检测特异性强,不受与靶 DNA 相似度高的非靶 DNA 及 PCR 抑制剂的影响,如血液的检测可在不需要模板提取步骤和未经处理样本的情况下进行^[25]。

尽管 LAMP 具有很多优势,但仍有一些限制因素阻碍其顺利应用。由于 LAMP 扩增后得到的产物是 1 条大的 DNA 链,不适用于除鉴定外的其他分子生物学目的,通用性较 PCR 低。为提高扩增灵敏度和特异性,引物的设计较复杂且受到限制。尽管目前已有免费的引物设计软件,但为保证选择到优选目标位点,仍需人工参与引物设计。另外,多个引物的使用将增加引物之间的杂交概率,产生假阳性结果^[26]。

LAMP 的反应产物非常稳定,不易降解^[6],易形成气溶胶污染,且 LAMP 灵敏度高,即使极少量的阳性产物污染也会对结果产生影响,这就对操作过程提出了较高的要求^[2]。

4 展 望

随着造成感染性疾病的微生物种类日益复杂和耐药菌甚至多重耐药菌的剧增,微生物鉴定变得越来越困难,因此,需不断更新诊断方法。在种类繁多的基因扩增技术中,LAMP 以其快速、灵敏、特异度高等优点促使研究人员不断探索其在临床微生物检测中的应用。到目前为止,已开发了冻干形式的 LAMP 试剂和商业化用于微生物特异性检测的 LAMP 试剂盒,但离便携式 LAMP 产品的商业化还有一段距离。由于 LAMP 易于适应任何现场环境,且具有实时检测所需的所有特性,相信随着便携式 LAMP 产品的进一步发展,LAMP 在临床微生物检测领域的应用范围会更加广泛,为基层医疗及恶劣环境下的病原微生物检测提供了有价值的工具。

参考文献

[1] NOTOMI T, OKAYAMA H, MASUBUCHI H, et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA[J]. *Nucleic Acids Res*, 2000, 28(12): E63.

[2] KARTHIK K, RATHORE R, THOMAS P, et al. New closed tube loop mediated isothermal amplification assay for prevention of product cross-contamination[J]. *Methods X*, 2014, 1(12): 137-143.

[3] ZHAO N, LIU J, SUN D. Detection of HCV genotypes 1b and 2a by a reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay[J]. *J Med Virol*, 2017, 89(6): 1048-1054.

[4] LIN J, MA B, FANG J, et al. Colorimetric detection of 23 human papillomavirus genotypes by Loop-Mediated iso-

thermal amplification[J]. *Clin Lab*, 2017, 63(3): 495-505.

[5] SAHOO P R, SETHY K, MOHAPATRA S, et al. Loop mediated isothermal amplification: An innovative gene amplification technique for animal diseases[J]. *Vet World*, 2016, 9(5): 465-469.

[6] FISCHBACH J, XANDER N C, FROHME M, et al. Shining a light on LAMP assays-A comparison of LAMP visualization methods including the novel use of berberine[J]. *Biotechniques*, 2015, 58(4): 189-194.

[7] SAKAI J, MAEDA T, TARUMOTO N, et al. A novel detection procedure for mutations in the 23S rRNA gene of *Mycoplasma pneumoniae* with peptide nucleic acid-mediated loop-mediated isothermal amplification assay[J]. *J Microbiol Methods*, 2017, 141(2): 90-96.

[8] KUMVONGPIN R, JEARANA KOOL P, WILAILUCK-ANA C, et al. High sensitivity, loop-mediated isothermal amplification combined with colorimetric gold-nanoparticle probes for visual detection of high risk human papillomavirus genotypes 16 and 18[J]. *J Virol Methods*, 2016, 234(3): 90-95.

[9] PARK B H, OH S J, JUNG J H, et al. An integrated rotary microfluidic system with DNA extraction, loop-mediated isothermal amplification, and lateral flow strip based detection for point-of-care pathogen diagnostics[J]. *Biosens Bioelectron*, 2017, 91(14): 334-340.

[10] NAWATTANAPAIBOON K, PROMBUN P, SANTANIRAND P, et al. Hemoculture and direct sputum detection of mecA-Mediated Methicillin-Resistant staphylococcus aureus by Loop-Mediated isothermal amplification in combination with a Lateral-Flow dipstick[J]. *J Clin Lab Anal*, 2016, 30(5): 760-767.

[11] KAEWPHINIT T, CKUMDEE J, CHANSIRI K, et al. Development and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification combined with au-nanoprobe assay for rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *Indian J Med Microbiol*, 2017, 35(2): 302-304.

[12] DRAZ M S, LU X. Development of a loop mediated isothermal amplification (LAMP)-surface enhanced raman spectroscopy (SERS) assay for the detection of salmonella enterica serotype enteritidis[J]. *Theranostics*, 2016, 6(4): 522-532.

[13] XIA Y, GUO X G, ZHOU S. Rapid detection of *Streptococcus pneumoniae* by real-time fluorescence loop-mediated isothermal amplification[J]. *J Thorac Dis*, 2014, 6(9): 1193-1199.

[14] LIU N, ZOU D, DONG D, et al. Development of a multiplex loop mediated isothermal amplification method for the simultaneous detection of *Salmonella* spp. and *Vibrio parahaemolyticus*[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(12): 45601.

[15] LEE D, KIM E J, KILGORE P E, et al. A novel Loop-Mediated isothermal amplification assay for serogroup identification of *neisseria meningitidis* in cerebrospinal fluid[J]. *Front Microbiol*, 2016, 6(6): 1548.

[16] NOTOMI T, MORI Y, TOMITA N, et al. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): principle, features, and future prospects[J]. *J Microbiol*, 2015, 53(1): 1-5. (下转第 118 页)

参考文献

- [1] 崔明,王惠民,鞠少卿,等. Excel 在评价 XE-2100 全自动血细胞分析仪精密度的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2017,38(23):3240-3242.
- [2] 蒋红君,蒋杰,王凡. 全自动生化分析仪的检测精密度、正确度评价及参考区间的验证[J]. 国际检验医学杂志, 2013,34(9):1147-1148.
- [3] 于森琛,孙芹敏,姜凤全. 强生 VITROS 5600 全自动生化免疫分析仪性能验证报告[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(1):56-60.
- [4] 贾栗,赵瑞勤,赵君,等. GLP 体系下生化分析仪的 3Q 验证过程及要点[J]. 军事医学, 2013,37(10):752-755.
- [5] 吕会田. GLP 条件下实验仪器的验证和管理[J]. 中国药理学与病毒学杂志, 2013,27(3):457.
- [6] 张谦,张微,吕晓丽,等. GLP 体系下全自动血凝分析仪的 3Q 验证[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(23):3241-3245.
- [7] 刘晓萌,谢寅,孟建华,等. GLP 实验室仪器验证的质量保证[J]. 中国药理学与病毒学杂志, 2013,37(3):607.
- [8] 林海标,范雪莲,王建兵,等. 分析和评价强生 Vitros 5. 1 FS 生化仪的精密度和正确度[J]. 检验医学与临床, 2014,11(15):2047-2048.

- [9] 郑自立,李燕. 罗氏 cobas8000 全自动生化分析仪检测系统性能验证试验[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(1):78-80.
- [10] 陈渊博,郑文婷,尹志军,等. CA7000 全自动凝血仪性能验证[J]. 国际检验医学杂志, 2013,34(2):209-211.
- [11] 刘玉侠,张凡,李兴武. COBAS 8000 生化分析仪的性能评价[J]. 蚌埠医学院学报, 2015,40(11):1567-1569.
- [12] Clinical and Laboratory Standards Institute. User verification of performance for precision and trueness; EP15-A2 [S]. Wayne, PA USA: CLSI, 2006.
- [13] 尚红,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社, 2015:1017-1018.
- [14] National Committee for Clinical Laboratory. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: a statistical approach; EP6-P2 [S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2003.
- [15] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Preliminary Evaluation of Quantitative Laboratory Methods; EP10-A2[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2004.

(收稿日期:2018-08-12 修回日期:2018-10-18)

(上接第 114 页)

- [17] LAU Y L, LAI M Y, TEOH B T, et al. Colorimetric detection of dengue by single tube Reverse-Transcription-Loop-Mediated isothermal amplification[J]. PLoS One, 2015,10(9):e0138694.
- [18] DAMHORST G L, DUARTE-GUEVARA C, CHEN W, et al. Smartphone-Imaged HIV-1 Reverse-Transcription Loop-Mediated isothermal amplification (RT-LAMP) on a chip from whole blood[J]. Engineering (Beijing), 2015, 1(3):324-335.
- [19] CHANDER Y, KOELBL J, PUCKETT J, et al. A novel thermostable polymerase for RNA and DNA loop-mediated isothermal amplification(LAMP)[J]. Front Microbiol, 2014,5(3):395.
- [20] ZHANG Y, YAO Y, DU W, et al. Development of loop-mediated isothermal amplification with Plasmodium falciparum unique genes for molecular diagnosis of human malaria[J]. Pathog Glob Health, 2017,111(5):247-255.
- [21] POOLE C B, ETTWILLER L, TANNER N A, et al. Genome filtering for new DNA biomarkers of Loa loa infection suitable for Loop-Mediated isothermal amplification [J]. PLoS One, 2015,10(9):e0139286.
- [22] NZELU C O, GOMEZ E A, CACERES A G, et al. Devel-

opment of a loop-mediated isothermal amplification method for rapid mass-screening of sand flies for Leishmania infection[J]. Acta Trop, 2014,132(2):1-6.

- [23] NKOUAWA A, SAKO Y, OKAMOTO M, et al. Simple identification of human taenia species by multiplex Loop-Mediated isothermal amplification in combination with dot Enzyme-Linked immunosorbent assay[J]. Am J Trop Med Hyg, 2016,94(6):1318-1323.
- [24] TANNER N A, ZHANG Y, EVANS T C J R. Visual detection of isothermal nucleic acid amplification using pH-sensitive dyes[J]. Biotechniques, 2015,58(2):59-68.
- [25] MORI Y, KANDA H, NOTOMI T. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): recent progress in research and development[J]. J Infect Chemother, 2013,19(3):404-411.
- [26] WATTS M R, JAMES G, SULTANA Y, et al. A Loop-Mediated isothermal amplification (LAMP) assay for strongyloides stercoralis in stool that Uses a visual detection method with SYTO-82 fluorescent dye [J]. Am J Trop Med Hyg, 2014,90(2):306-311.

(收稿日期:2018-08-08 修回日期:2018-10-14)