

• 综述 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.07.031

环介导等温扩增技术在病原微生物临床检测中的应用*

廖川¹, 梁丽娜¹, 黄少宇², 马梦霞³, 李雪斌⁴综述, 韦贵将^{1△}审校

1. 右江民族医学院附属医院医学检验中心/广西高校高发病临床分子诊断研究重点实验室/

百色市高发病临床分子诊断与研发重点实验室, 广西百色 533000; 2. 广西壮族自治区

田东县人民医院医学检验科, 广西百色 533000; 3. 右江民族医学院医学检验学院, 广西百色 533000;

4. 右江民族医学院附属医院神经内科, 广西百色 533000

摘要:病原微生物是威胁人类健康的重要因素之一, 快速、准确的检测方法对于感染性疾病的诊断具有重要意义。环介导等温扩增(LAMP)是一种恒温扩增方法, 具有反应时间短、操作简便、灵敏度高、特异度高、检测成本低等优点, 因此被广泛应用于感染性疾病的快速诊断。基于这种情况, 该文主要阐述了 LAMP 的原理、特点及其在临床常见病原微生物检测方面的应用与研究进展。LAMP 技术现在已经被应用于病原微生物的检测, 且具有较高的灵敏度及特异度, 但该技术仍有易产生假阳性、引物设计复杂等不足之处。该文综述了近年来 LAMP 技术在病原微生物感染中的应用与进展, 并对其未来的发展前景进行了展望, 以期在资源有限的环境中为病原微生物感染的快速诊断提供合理的研究方向。

关键词: 环介导等温扩增技术; 核酸检测; 病原微生物; 核酸扩增; 结核分枝杆菌**中图分类号:** R446.5**文献标志码:** A**文章编号:** 1672-9455(2024)07-1003-06**Application of loop-mediated isothermal amplification technique in pathogenic microorganisms clinical detection***LIAO Chuan¹, LIANG Lina¹, HUANG Shaoyu², MA Mengxia³, LI Xuebin⁴, WEI Guijiang^{1△}

1. Medical Laboratory Center, Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities/

Key Laboratory of Clinical Molecular Diagnosis and Research for High Incidence Diseases

in Guangxi Universities/Baise Key Laboratory of Clinical Molecular Diagnosis, Research and

Development for High Incidence Diseases, Baise, Guangxi 533000, China; 2. Department of

Medical Laboratory, Tiandong County People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous

Region, Baise, Guangxi 533000, China; 3. School of Laboratory Medicine, Youjiang Medical

University for Nationalities, Baise, Guangxi 533000, China; 4. Department of Neurology, Affiliated

Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise, Guangxi 533000, China

Abstract: Pathogenic microorganisms are one of the important factors threatening human health. Rapid and accurate detection methods are of great significance for the diagnosis of infectious diseases. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) is one of the isothermal amplification methods, which has the advantages of short reaction time, simple operation, high sensitivity, high specificity and low cost, so it is widely used in the rapid diagnosis of infectious diseases. Based on this situation, this paper mainly elaborates the principle and characteristics of LAMP and its application and research progress in the detection of common pathogenic microorganisms in clinic. LAMP technology has been applied to the detection of pathogenic microorganisms with high sensitivity and specificity, but this technology is still prone to produce false positive, complex primer design and other shortcomings. This paper reviews the application and progress of LAMP technology in pathogenic microbial infection in recent years, and outlooks its future development prospect in order to provide a reasonable research direction for the rapid diagnosis of pathogenic microbial infection in the environment with limited resources.

Key words: loop-mediated isothermal amplification technique; nucleic acid test; pathogenic microorganism; nucleic acid amplification; mycobacterium tuberculosis

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(82260418, 82060570); 右江民族医学院附属医院高层次人才项目(R202011701); 广西壮族自治区百色市科学研究与技术开发计划项目(百科 20232031)。

△ 通信作者, E-mail: weiguijiang2021@163.com。

病原微生物是指能够引起人和动物疾病的微生物,对人类健康具有极大的威胁。临床上很多常见疾病都是病原微生物感染导致的,如各种病毒性肝炎、结核病、新型冠状病毒感染等,这类疾病通常都具有一定的传染性,有的甚至可以造成世界范围的大流行。因此,临床迫切需要一种能够准确、高效、快速、简便地识别相关病原体的检测方法。

随着分子生物学研究的不断深入,核酸扩增技术在诊断领域的应用越来越广泛。其中最具代表性的是聚合酶链反应(PCR),它能在短时间内对靶标完成指数级扩增,且具有较高的灵敏度和特异性^[1],因此很多病原微生物检测都将其作为诊断的参考标准。然而,PCR 需要经历变温过程,对设备和操作者要求较高,从而导致其在欠发达地区和现场实施检测上的应用受到一定的限制。而等温扩增技术的出现就很好地解决了这一问题,该技术在恒定温度下即可完成扩增反应,摆脱了对高精密热循环仪的依赖,有望取代 PCR 在诊断领域的地位。环介导等温扩增(LAMP)是由日本荣研株式会社 NOTOMI 等^[2]于 2000 年研发,是一种较为成熟的等温扩增法,具有高效、快速、灵敏度高、特异性强等优点,因此被应用于医学领域中细菌、病毒、寄生虫的检测^[3-4]。

1 LAMP 的反应原理与特点

1.1 LAMP 的反应原理 LAMP 的扩增过程可以分为两个阶段,即起始阶段和扩增循环阶段^[2],扩增完成后可与多种技术相结合实现扩增产物的检测,不同的技术有不同的检测原理,如试纸条法、荧光法等,本文主要讲述 LAMP 的扩增原理。在扩增的过程中需要引物的参与,和其他扩增方法不同的是,LAMP 需要设计 2 对引物,即内部引物(FIP/BIP)和外部引物(F3/B3),通过这两对引物对靶基因的 6 个不同区域(F1-F1c、F2-F2c、F3-F3c、B1-B1c、B2-B2c、B3-B3c)特异性识别,因此 LAMP 具有极强的特异性。

在起始阶段,当温度达到 60~65℃时,双链 DNA 处于解旋与结合的不稳态,其中上游内部引物 FIP 中的 F2 序列区段首先与模板目标区段的单链 DNA 中的 F2c 结合,在 Bst DNA 聚合酶的作用下自 F2 的 3'末端延伸启动链置换 DNA 合成。外引物 F3 则与模板 F3c 结合并延伸,置换出由 FIP 链接的互补单链 DNA,此单链的 F1c 与 F1 区段为互补结构,可通过自我碱基配对形成环状结构。以上述步骤中合成的 5'端以茎环状结构的单链 DNA 为模板,下游内部引物 BIP 的 B2 序列区段与单链 DNA 模板的 B2c 结合,在 Bst DNA 聚合酶的作用下启动链置换反应,自 B2 的 3'末端开始延伸合成 DNA。外引物 B3 则与模板 B3c 结合并延伸,置换出由 BIP 链接的互补单链 DNA,此单链的 F1 与 F1c 区段互补,B1c 与 B1 区段互补,形成哑铃状结构的单链 DNA。哑铃状结构以

3'末端的 F1 区段为起点,以自身为模板进行 DNA 合成。由此,哑铃状结构转变为茎环状结构,LAMP 扩增进入循环阶段。循环阶段以起始阶段形成的单链 DNA 为模板,在内部引物与 Bst DNA 聚合酶的作用下,反复进行延伸和链置换反应,最终产生大量具有多个靶标反向重复序列的茎环 DNA 结构^[2]。

1.2 LAMP 的特点 LAMP 不需要进行高温变性,整个过程在 60~65℃反应 60 min 即可完成。与其他核酸扩增法相比,LAMP 具有更高的特异性和抗干扰性,因为它通过 2 对引物特异性识别靶基因上的 6 个不同区域来启动反应。此外,LAMP 的灵敏度也很高,能够在短时间内扩增出 $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^{10}$ 数量级的产物,比常规 PCR 高 100 倍左右^[5],有报道指出 LAMP 最低可检测 10 个基因拷贝或更低的检测限^[6]。而且 LAMP 对设备要求不高,一般的水浴锅即可满足需求。因此,LAMP 具有高效、灵敏度高、特异性强、简便等优点。当然,LAMP 也有其不足之处:首先,LAMP 反应需要 2 对引物参与,因此对引物设计要求较高,如果引物设计不合理,就可能产生非特异性扩增片段影响结果的正确性。其次,由于 LAMP 的灵敏度很高,在反应过程中易产生气溶胶污染,导致假阳性结果。最后,由于 LAMP 的扩增产物是长短不一且含有大量茎环结构的 DNA 双链,因此很难对其扩增产物进行定量分析。

2 LAMP 技术在病原微生物临床检测中的应用

目前,临床上对于病原微生物感染的诊断方法主要有培养法、血清学方法及 PCR。但这些方法都有其不足之处:培养法耗时较长;血清学方法特异性不高,易产生假阳性结果;PCR 对设备和实验环境要求较高。而 LAMP 因其具有灵敏度高、特异性强、操作简便等优点,有望取代传统技术在病原微生物检测中的地位。

2.1 LAMP 技术在新型冠状病毒检测中的应用 新型冠状病毒感染者主要表现为发热、咳嗽,严重者会休克甚至死亡。虽然目前已经上市了大量的疫苗,但对新型冠状病毒快速、准确、高效地诊断仍然是疫情防控的关键。实时反转录 PCR 因具有特异性强、灵敏度高等优点,被视为诊断新型冠状病毒感染的金标准^[7],但它耗时较长,而且对设备和操作人员的要求也较高,因此在资源匮乏地区和现场实时检测新型冠状病毒的应用方面受到一定的限制。LAMP 作为一种恒温扩增法,不仅操作简便,而且其灵敏度不低于反转录 PCR^[8],因此 LAMP 可以作为反转录 PCR 的替代方法以弥补其不足之处。目前,已经有大量基于 LAMP 的试剂盒被用于新型冠状病毒的检测,Eiken 公司开发的 LoopampTM 新型冠状病毒检测试剂盒基于 N 基因和 RdRp 基因设计,通过测量反应体系浊度确定检测结果。为了评估 LoopampTM 新型冠状病毒

检测试剂盒的有效性, YAN 等^[9]用该试剂盒检测新型冠状病毒, 并使用 LA-200 浊度计对扩增产物进行实时检测, 结果表明该反应能够在 35 min 内检测到水平为 10 copy/ μ L 的 RNA。HUANG 等^[4]针对新型冠状病毒的 ORF1ab、S、N 基因, 将比色法与 LAMP 结合用于检测新型冠状病毒, 该方法仅需 30 min 即可完成检测, 通过肉眼判读结果, 无须精密仪器, 且灵敏度可达 80 copy/ μ L。此外, LAMP 还可以和荧光检测^[10]、微流控^[11]等技术结合用于检测新型冠状病毒。这些方法的建立为新型冠状病毒快速、准确、高效地检测提供了新的思路, 也为疫情防控做出了重大贡献。

2.2 LAMP 技术在结核分枝杆菌检测中的应用 结核分枝杆菌是引起结核病的病原菌。2020 年世界卫生组织(WHO)报告显示, 我国结核感染人数位居世界第 3 位^[12]。早期诊断并给予恰当的治疗是控制结核病传播的关键, 因此, 临床迫切需要寻找一种快速、准确、简单的检测方法。

LAMP 能在 60~65 °C 的条件下对结核分枝杆菌进行快速检测, 1 h 即可完成试验^[13]。贾枫等^[14]通过临床试验对比了抗酸染色法、LAMP 法和改良罗氏培养法检测痰标本中结核分枝杆菌的阳性率、灵敏度和特异度。结果表明 LAMP 法在结核分枝杆菌的诊断中具有快速、灵敏等优点。此外, LAMP 对于一些罕见的肺外结核病的诊断也具有很高的价值。KHAN 等^[15]以 mpt64 和 pstS1 为靶点, 建立了多靶点 LAMP 检测骨关节结核患者结核分枝杆菌的方法, 结果表明多靶点 LAMP 在骨关节结核总病例中的灵敏度显著高于多重 PCR 和 GeneXpert。SHARMA 等^[16]采用 IS6110 和 MPB64 靶点对 35 例临床疑似胃肠道结核患者的回盲活检标本和 30 例非结核对照者的回盲活检标本进行结核分枝杆菌复合体 LAMP 检测。结果表明, LAMP 检测胃肠道结核分枝杆菌的灵敏度明显高于 IS6110 PCR 和培养法。此外, 在结核病的诊断方面, 仍有大量基于 LAMP 的新技术不断被开发出来。如将 LAMP 技术与基于纳米颗粒的侧流装置(LFD)^[17]及微流控芯片^[18]等技术的联合应用。由此可见 LAMP 在结核病的诊断发面也有广阔的前景。

2.3 LAMP 技术在沙门菌检测中的应用 沙门菌是全球最主要的食源性致病菌。若误食含有沙门菌的食物可导致食物中毒, 严重者会引发肠胃炎、败血症等症状, 若不及时就医甚至会危及生命。因此该菌被世界卫生组织(WHO)列为具有中等乃至严重危害的食源性病原菌^[19]。

目前临床上主要通过传统的实验室方法在标本中检测沙门菌。但这些传统的实验室方法操作复杂、耗时较长, 需要 3 d 以上才能通过多个分析步骤获得

结果。近年来, 随着核酸检测技术的不断发展与完善, 许多基于核酸扩增的技术已经被广泛使用, 如 PCR、实时 PCR 等, 这些方法均能将检测时间缩短到 3 d 以内^[20]。其中 PCR 虽然灵敏度高, 但需要配备训练有素的人员和复杂的热循环仪, 这使得其难以在设备不足的实验室和资源匮乏的现场环境中应用。而 LAMP 作为一种新型的核酸扩增技术, 在病原微生物的检测方面有其独特的优势。自 2005 年 LAMP 被应用于沙门菌的检测之后, 已经开发出数十种基于 LAMP 的沙门菌检测方法, 这给临床早期诊断沙门菌感染带来了新的希望。近年来, 随着对 LAMP 技术的深入研究, 大量的商业试剂盒被用于沙门菌的快速检测^[21]。此外, 还有一些基于 LAMP 的新技术被开发出来。试纸条作为一种简单、快速的检测方法, 常与 LAMP 技术结合用于现场快速检测, 朱传新等^[22]建立了环介导核酸恒温扩增结合试纸条(LAMP-LFD)检测技术用于沙门菌的快速检测, 30 min 内即可完成检测, 其灵敏度与 PCR 相当, 为 10 copy/ μ L。DRAZ 等^[23]将 LAMP 与酶联免疫吸附试验(ELISA)联合用于检测沙门菌 D 型血清型菌株, 检测灵敏度为 1×10^3 CFU/mL, 比 PCR-ELISA 的灵敏度高 10 倍。DRAZ 等^[23]将 LAMP 与表面增强拉曼技术联合用于检测肠炎沙门菌, 其灵敏度比常规 PCR 高 10 倍, 达到了 66 CFU/mL。与 PCR 相比, LAMP 不仅快速、简单, 而且具有高灵敏度、高特异度等优点, 因此, LAMP 技术具有替代传统方法检测沙门菌的潜力。

2.4 LAMP 技术在金黄色葡萄球菌检测中的应用 金黄色葡萄球菌是一种常见的机会致病菌, 当机体免疫力降低时, 它可以迁移到其他组织或器官造成感染, 严重者甚至出现菌血症, 具有较高的致死率。目前临床上金黄色葡萄球菌的常规检测方法是微生物培养法, 这种方法虽然具有较高的灵敏度和准确性, 但检测过程烦琐、耗时较长^[24]。很多患者因此错过了最佳治疗期。因此, 开发一种快速、可靠的检测方法来检测金黄色葡萄球菌是临床上迫切需要的。

近年来, 越来越多的分子诊断技术被用于病原微生物的分类鉴定, 与培养法相比, 分子诊断技术具有快速、准确、灵敏等优点, 常见的分子诊断技术有 PCR、重组酶聚合酶扩增技术(RPA)、LAMP 等。其中 PCR 在金黄色葡萄球菌的临床标本检测中具有较高的准确率^[25], 然而, 由于需要昂贵的设备和熟练的操作人员, PCR 在资源匮乏地区的应用受到一定的限制。LAMP 作为一种恒温扩增法, 无须昂贵的设备和复杂的操作步骤。WU 等^[3]开发了一种基于 LAMP 的可视化检测法, 通过使用比色指示剂羟基萘酚蓝目视检测金黄色葡萄球菌, 结果表明 LAMP 的检测限为每反应 8 copy 或每反应 400 CFU。与常规 PCR 相比, LAMP 将检测限降低至 1/10。邹作成等^[26]也设

计了基于 *nuc* 基因的 LAMP 可视化检测法,该方法的检测限可达 5.6×10^1 CFU/mL,其灵敏度比常规 PCR 高出 10 000 倍。LIM 等^[27]以金黄色葡萄球菌的 *spa* 和 *arcC* 基因为靶标,将 LAMP 与 PCR 对比,结果表明二者的特异度、阳性预测值和阴性预测值完全一致,LAMP 的检测限为 2.5 ng/ μ L 或 1×10^2 CFU/mL,而 PCR 的检测限为 12.5 ng/ μ L 或 1×10^3 CFU/mL。由此可见,在检测金黄色葡萄球菌方面,与 PCR 相比,LAMP 不仅具有同样的特异度和准确率,而且检测时间更短,灵敏度更高。因此 LAMP 是一种很有前途的快速检测金黄色葡萄球菌的方法。

2.5 LAMP 技术在乙型肝炎病毒(HBV)检测中的应用 HBV 是一种环状部分双链 DNA 病毒,主要通过血液传播,由于 HBV 感染早期没有任何症状,且感染者血液内缺乏乙型肝炎表面抗原,HBV-DNA 含量较低,因此很难在早期检测到 HBV 感染。ELISA 和实时定量 PCR 是目前临床检测 HBV 最常用的方法^[28],然而 ELISA 诊断乙型肝炎的灵敏度非常低^[29],实时定量 PCR 作为 ELISA 的替代方法,其灵敏度较高,但它对实验设备和环境要求也很高^[30],在资源不足的情况下很难满足,因此,需要开发出一种快速、灵敏、特异、易于使用的 HBV 检测方法。

CHEN 等^[31]通过使用 LAMP 检测 HBV,该方法可以不用提取 DNA 直接检测血液中的 HBV,其灵敏度为每反应 10 copy,与 PCR 相当。CHEN 等^[32]设计了一种 LAMP 与基于纳米颗粒的 LFD 用于临床上 HBV 的检测,在 60 min 内即可完成结果的读取,其灵敏度为每反应 7.5 IU。MAITY 等^[33]同样将 LAMP 与 LFD 结合用于检测 HBV,结果表明 HBV-LAMP-LFD 法检测 HBV 的灵敏度为 92%,特异度为 100%,检测限低至 500 pg/ μ L。为了更好地评估 LAMP 对 HBV 诊断的准确性,CHEN 等^[34]通过检索 Embase、Cochrane Library 和 PubMed 数据库中使用 LAMP 检测 HBV 的研究,然后使用 QUADAS-2 工具提取数据并评估文献质量,分析发现 LAMP 检测 HBV 的灵敏度和特异度分别为 0.91 和 0.97,阳性似然比、阴性似然比、诊断优势比分别为 16.93、0.08 和 397.57。由此可见,与 PCR 相比,LAMP 是一种简便、快速、有效的检测 HBV 的方法。因此,LAMP 可以取代其他方法用于临床诊断 HBV 感染。

2.6 LAMP 技术在华支睾吸虫检测中的应用 华支睾吸虫又称肝吸虫,是临床上常见的一种人类寄生虫,主要流行于中国、韩国和越南等国家^[35]。感染早期无明显症状,随着病情的发展,患者会出现腹部不适、黄疸、发热、呕吐和腹泻等,甚至可能引发癌变,因此华支睾吸虫被 WHO 的国际癌症研究机构归类为 I 类生物致癌物^[36]。

华支睾吸虫的准确诊断对于患者的治疗极为重

要,目前临床上主要通过涂片镜检法和血清学方法来诊断华支睾吸虫,但镜检法阳性率较低,因此轻度感染病例可能会被遗漏;而血清学方法又无法判断是既往感染还是现在感染^[37]。虽然已经开发出了几种基于 PCR 的检测方法,但它们的灵敏度和特异度波动较大^[38]。近年来,LAMP 也被用于华支睾吸虫的检测,RAHMAN 等^[39]将 LAMP 用于检测从韩国的华支睾吸虫疫区采集的人粪便样品,并使用 Kato-Katz 方法和实时 PCR 作为参考标准,LAMP 测定显示灵敏度为 97.1%(95%CI:90.1%~99.2%),特异度为 100.0%(95%CI:92.9%~100.0%)。此外,朱海等^[40]以华支睾吸虫 ITS2 基因为靶标成功建立了一种可用于检测淡水鱼中华支睾吸虫囊蚴的 LAMP 方法,该方法对华支睾吸虫成虫 DNA 的最低检出限可达到 3.33×10^{-4} ng/ μ L,灵敏度和特异度与 PCR 法一致,均为 100%,相对于 PCR,LAMP 不仅具有很高的灵敏度和特异度,而且操作更加简便、反应时间更短。因此,LAMP 完全可以替代其他方法用于临床检测华支睾吸虫。

3 总结与展望

3.1 LAMP 的优势 LAMP 是一种新型的恒温扩增技术,在模板、多条引物及链置换酶的参与下,无须温度循环即可快速完成扩增过程。与 PCR 相比,LAMP 无须精密的控温装置,操作简便、快捷,更适用于资源条件有限的基层医院使用,在病原微生物的现场检测方面有非常广阔的前景。

3.2 LAMP 的不足 近年来,LAMP 技术发展迅速,但仍然面临着许多困难与挑战:(1)由于 LAMP 技术灵敏度高,一旦开盖容易形成气溶胶污染,加上目前国内大多数实验室不能严格分区,假阳性问题比较严重,因此需要通过设置空白对照确定是否为假阳性,并且在实验过程中使用实时浊度仪,避免开盖导致的污染。(2)LAMP 与其他恒温扩增法不同,它需要 2 对引物参与反应,因此引物设计比较复杂,有些疾病的靶基因可能不适合用 LAMP 方法检测。(3)由于 LAMP 技术发展时间较短,因此它的集成检测设备不够成熟、商品化应用有待加强。

3.3 未来展望 随着 LAMP 技术的发展及其与多学科技术的联合创新,上述问题都将会得到解决。总之,LAMP 技术作为一种新型核酸扩增检测技术,在现场快速检测和基层应用于诊断病原微生物感染的前景较广阔,但仍需要不断深入研究。

参考文献

[1] KELLER M, NAUE J, ZENGERLE R, et al. Automated forensic animal family identification by nested PCR and melt curve analysis on an off-the-shelf thermocycler augmented with a centrifugal microfluidic disk segment[J].

- PLoS One, 2015, 10(7):e0131845.
- [2] NOTOMI T, OKAYAMA H, MASUBUCHI H, et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA[J]. Nucleic Acids Res, 2000, 28(12):e63.
- [3] WU C, ZENG Y, HE Y. Rapid visualization and detection of staphylococcus aureus based on loop-mediated isothermal amplification [J]. World J Microbiol Biotechnol, 2021, 37(12):209.
- [4] HUANG W E, LIM B, HSU C, et al. RT-LAMP for rapid diagnosis of coronavirus SARS-CoV-2[J]. Microbiol Biotechnol, 2020, 13(4):950-961.
- [5] SEKI M, YAMASHITA Y, TORIGOE H, et al. Loop-mediated isothermal amplification method targeting the *lytA* gene for detection of streptococcus pneumoniae[J]. J Clin Microbiol, 2005, 43(4):1581-1586.
- [6] NZELU C O, KATO H, PETERS N C, et al. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): an advanced molecular point-of-care technique for the detection of Leishmania infection[J]. PLoS Negl Trop Dis, 2019, 13(11):e0007698.
- [7] SHARFSTEIN J, BECKER S, MELLO M. Diagnostic testing for the novel coronavirus[J]. JAMA, 2020, 323(15):1437-1438.
- [8] SCHELLENBERG J J, ORMOND M, KEYNAN Y. Extraction-free RT-LAMP to detect SARS-CoV-2 is less sensitive but highly specific compared to standard RT-PCR in 101 samples[J]. J Clin Virol, 2021, 136:104764.
- [9] YAN C, CUI J, HUANG L, et al. Rapid and visual detection of 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) by a reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay[J]. Clin Microbiol Infect, 2020, 26(6):773-779.
- [10] LAMB L E, BARTOLONE S N, WARD E, et al. Rapid detection of novel coronavirus/Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) by reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification [J]. PLoS One, 2020, 15(6):e0234682.
- [11] RODRIGUEZ-MATEOS P, NGAMSOM B, WALTER C, et al. A lab-on-a-chip platform for integrated extraction and detection of SARS-CoV-2 RNA in resource-limited settings[J]. Anal Chim Acta, 2021, 1177:338758.
- [12] CHAKAYA J, KHAN M, NTOUMI F, et al. Global tuberculosis report 2020-reflections on the global TB burden, treatment and prevention efforts[J]. Int J Infect Dis, 2021, 113(Suppl 1):S7-S12.
- [13] 丁运生, 彭远远, 徐东芳, 等. 抗酸染色涂片法、Genexpert 法和 LAMP 法检测对结核性胸腔积液的诊断价值[J]. 医学临床研究, 2020, 37(5):772-774.
- [14] 贾枫, 叶海容, 曾云龙, 等. 环介导等温扩增技术(LAMP)在肺结核诊断中的应用研究[J]. 实验与检验医学, 2021, 39(05):1041-1043.
- [15] KHAN A, KAMRA E, SINGH R, et al. Diagnosis of osteoarticular tuberculosis: multi-targeted loop-mediated isothermal amplification assay versus multiplex PCR[J]. Future Microbiol, 2021, 16:935-948.
- [16] SHARMA M, SINHA S K, SHARMA M, et al. Challenging diagnosis of gastrointestinal tuberculosis made simpler with multi-targeted loop-mediated isothermal amplification assay [J]. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2020, 32(8):971-975.
- [17] CHEN X, HUANG J, XIAO Z, et al. Highly specific and sensitive detection of the mycobacterium tuberculosis complex using multiplex loop-mediated isothermal amplification combined with a nanoparticle-based lateral flow biosensor[J]. Braz J Microbiol, 2021, 52(3):1315-1325.
- [18] JIANG L, LAN X, REN L, et al. Design of a digital LAMP detection platform based on droplet microfluidic technology [J]. Micromachines (Basel), 2023, 14(5):1077.
- [19] 程辉, 梁奕, 俞圣韬, 等. 双重 RT-RPA 法快速检测沙门氏菌及其 1 类整合酶基因[J]. 浙江农业学报, 2019, 31(4):661-668.
- [20] ZHANG G, BROWN E W, GONZALEZ-ESCALONA N. Comparison of real-time PCR, reverse transcriptase real-time PCR, loop-mediated isothermal amplification, and the FDA conventional microbiological method for the detection of Salmonella spp. in produce[J]. Appl Environ Microbiol, 2011, 77(18):6495-6501.
- [21] ANUPAMA K P, CHAKRABORTY A, KARUNASAGAR I, et al. Loop-mediated isothermal amplification assay as a point-of-care diagnostic tool for vibrio parahaemolyticus: recent developments and improvements [J]. Exp Rev Mol Diagn, 2019, 19(3):229-239.
- [22] 朱传新, 郑文力, 吴矛矛, 等. 环介导核酸恒温扩增结合试纸条技术快速筛查沙门菌的方法[J]. 上海预防医学, 2021, 33(6):492-495.
- [23] 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.
- [24] ZHOU W, WU R, DURAISWAMY S, et al. Development of microfluidic cartridge for culture-free detection of Staphylococcus aureus in blood[J]. J Micromech Microeng, 2021, 31(5):55012.
- [25] WANG H, HECHT S, KLINE D, et al. Staphylococcus aureus and methicillin resistance detection directly from pediatric samples using PCR assays with differential cycle threshold values for corroboration of methicillin resistance[J]. J Microbiol Methods, 2019, 159:167-173.
- [26] 邹作成, 王西, 刘雪兰, 等. 基于 *nuc* 基因的环介导等温核酸扩增(LAMP)可视化技术检测食源性金黄色葡萄球菌[J]. 中国动物传染病学报, 2021, 29(1):1-7.
- [27] LIM K T, TEH C S J, THONG K L. Loop-mediated isothermal amplification assay for the rapid detection of staphylococcus aureus[J]. Biomed Res Int, 2013, 2013:1-5.
- [28] VILLAR L M, CRUZ H M, BARBOSA J R, et al. Update on hepatitis B and C virus diagnosis[J]. World J Virol, 2015, 4(4):323-342.

力军,要从思想、理念、思维、技能、创新等方面入手,着重帮助他们将学、思、悟、践四个阶段贯通,促进实习生快速实现理论知识与临床检验实践有效地融合,尽快地转换角色并融入检验工作中。人民日益提升的健康需求,临床检验医学技术飞速发展带来的新知识盲区,技能培养要求更高更严格等现状对医学检验人员也提出了更高的要求。新时代临床免疫学检验实习带教一定要以培养实习生医学职业精神为引领,以多种教学方式培育临床思维为依托,以探求新知、教学相长、创新思考为突破,不断探求新方法、新方案,努力培养出符合时代特色的高素质医学检验人才。

参考文献

[1] 张红,金家贵,彭克军,等. 四年制医学检验技术专业人才培养模式探讨[J]. 国际检验医学杂志,2016,37(12):1742-1743.

[2] 王兰兰,欧启水. 临床免疫学检验的现状与思考[J]. 中华检验医学杂志,2014,37(1):13-16.

[3] 王家源,郑京晶. 医学生职业精神全学期培养的情况调查及思考[J]. 医学教育管理,2019,5(2):195-199.

[4] 何珊,马淑一,于敬达,等. 医学检验技术专业实验室生物安全教学研究[J]. 科技视界,2022,12(16):118-120.

[5] 周文娟. 2019—2020 年某院医务人员职业防护 KAP 现状调查分析[J]. 内蒙古医学杂志,2021,53(10):1213-1215.

[6] 万泉卉. 某基层医院 2016—2018 年全院医务人员职业暴

露调查分析[J]. 健康必读,2021,29(4):39.

[7] 覃梅,秦枫,史静. 职业暴露风险管理在医学检验工作人员中的应用及效果分析[J]. 国际检验医学杂志,2022,43(7):889-894.

[8] 辛春红,兰春祥,王志永,等. PBL 和问题讨论式教学法在血液科见习带教中的应用探究[J]. 中国继续医学教育,2023,15(10):64-68.

[9] 李宗清,王敏,潘峰. 基于 ISO15189 质量管理体系的 PBL + CBL 双轨教学模式在检验科实习生带教中的应用[J]. 中国高等医学教育,2023,37(3):49-50.

[10] 梁淑兰,邓伟航. 1 例患者两种乙肝两对半检测结果分析[J]. 检验医学与临床,2010,7(22):2522-2523.

[11] 郝晓柯. 国内实验室自动化的现状与思考[J]. 中华检验医学杂志,2013,36(1):25-28.

[12] 李启亮,李稀瑶,冯景泓,等. 生产实习阶段开展医学检验本科生科研训练的实践研究[J]. 中华医学教育探索杂志,2023,22(4):559-563.

[13] 宿元元,陈泽鑫,谢华斌. 微生物实验室实习带教规范化的探讨与建议[J]. 医学检验与临床,2023,34(3):69-71.

[14] 吴志奇,张洁心,谢而付,等. 导师制教学模式在医学检验专业临床实习中的应用[J]. 国际检验医学杂志,2017,38(24):3494-3496.

[15] 张倩,尹美玲,王慧妍,等. 导师制联合 PBL 教学模式在医学检验技术专业实习生带教中的应用[J]. 国际检验医学杂志,2022,43(10):1279-1280.

(收稿日期:2023-08-10 修回日期:2024-01-13)

(上接第 1007 页)

[29] OCANA S. Diagnostic strategy for occult hepatitis B virus infection[J]. World J Gastroenterol,2011,17(12):1553.

[30] COFFIN C S,ZHOU K,TERRAULT N A. New and old biomarkers for diagnosis and management of chronic HBV infection[J]. Gastroenterology,2019,156(2):355-368.

[31] CHEN H,BELINSKAYA T,ZHANG Z,et al. Simple detection of hepatitis B virus in using loop-mediated isothermal amplification method[J]. Milit Med,2019,184(7/8):e275-e280.

[32] CHEN X,WANG S,TAN Y,et al. Nanoparticle-based lateral flow biosensors integrated with loop-mediated isothermal amplification for the rapid and visual diagnosis of hepatitis B virus in clinical application[J]. Front Bioeng Biotechnol,2021,9:731415.

[33] MAITY S N,POONATI R,PUNATI R D,et al. Development of sensitive and specific loop-mediated isothermal amplification combined with lateral flow device for the rapid detection of hepatitis B virus infection[J]. Braz J Microbiol,2022,53(2):615-623.

[34] CHEN C M,OUYANG S,LIN L Y,et al. Diagnostic accuracy of LAMP assay for HBV infection[J]. J Clin Lab Anal,2020,34(7):e23281.

[35] HONG S,FANG Y. Clonorchis sinensis and clonorchiasis, an update[J]. Parasitology International,2012,61(1):17-24.

[36] TANG Z L,HUANG Y,YU X B. Current status and perspectives of clonorchis sinensis and clonorchiasis: epidemiology,pathogenesis,omics,prevention and control[J]. Infect Dis Poverty,2016,5(1):71.

[37] KIM Y J,LEE S M,CHOI G E,et al. Performance of an enzyme-linked immunosorbent assay for detection of clonorchis sinensis Infestation in high-and low-risk groups[J]. J Clin Microbiol,2010,48(7):2365-2367.

[38] KIM E M,VERWEIJ J J,JALILI A,et al. Detection of clonorchis sinensis in stool samples using real-time PCR[J]. Ann Trop Med Parasitol,2013,103(6):513-518.

[39] RAHMAN S M M,SONG H B,JIN Y,et al. Application of a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay targeting cox1 gene for the detection of Clonorchis sinensis in human fecal samples[J]. PLoS Negl Trop Dis,2017,11(10):e0005995.

[40] 朱海,汪奇志,孙成松,等. 淡水鱼华支睾吸虫囊蚴 LAMP 检测方法的建立[J]. 热带病与寄生虫学,2021,19(4):181-184,198.

(收稿日期:2023-06-16 修回日期:2023-10-08)