

[13] Wang YZ,Xiao YQ,Zhang C,et al. Stugy of analgesic and anti-inflammatory effects of lappaconitine gelata [J]. J Tradit Chin Med,2009,29(2):141-145.

[14] Wright SN. Comparison of aconitine-modified human heart (hH1) and rat skeletal(mul) muscle Na⁺ channels;an important role for external Na⁺ ions[J]. J Physiol,2002, 538 (Pt 3):759-771.

[15] Tolstikova TG,Bryzgalov AO,Sorokina IV,et al. Formation of salts with hydrobromic acid determines the antiarrhythmic effect of lappaconitine derivatives[J]. Dokl Biol Sci,2007,415(3):265-266.

[16] Bryzgalov AO,Romanov VE,Tolstikova TG,et al. Lappaconitine;influence of halogen substituent on the antiarrhythmic activity [J]. Cardiovasc Hematol Agents Med Chem,2013,30(7):621-630.

[17] Vakhitova V, Farafontova EI, Khisamutdinova R, et al. To the mechanisms of anti-arrhythmic action of allapinine [J]. Bioorg Khim,2013,39(10):105-116.

[18] Solyanik GI,Fedorchuk AG,Pyaskovskaya ON,et al. Anticancer activity of aconitine-containing herbal extract BC1[J]. Exp Oncol,2004,26(4):307-311.

[19] 张岩,姚荧. 昂丹司琼和高乌甲素联用致唾液腺肿大 2 例 • 综 述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.20.045

[J]. 药物不良反应杂志,2009,11(3):220-221.

[20] 魏华波,范艾玲,秦争平. 注射用氢溴酸高乌甲素致耳毒性 2 例[J]. 中国医院药学杂志,2012,32(17):1413-1414.

[21] Lin CC,Chou HL,Lin JL. Acute aconitine poisoned patients with ventricular arrhythmias successfully reversed by charcoal hemoperfusion[J]. Am J Emerg Med,2002, 20(1):66-67.

[22] Sheikh-Zade YR,Cherednik IL,Galenko-Yaroshevskii PA. Peculiarities of cardiotropic effect of aconitine[J]. Bull Exp Biol Med,2000,129(4):365-366.

[23] Polyakov NE,Simaeva OA,Taraban MB,et al. CIDNP and EPR study of phototransformation of lappaconitine derivatives in solution[J]. J Phys Chem B,2010,114 (13):4646-4651.

[24] Zhou M,Li Y,Liu C,et al. Simultaneous determination of lappaconitine hydrobromide and isopropiram fumarate in rabbit plasma by capillary electrophoresis with electrochemiluminescence detection[J]. Electrophoresis,2012,33 (16):2577-2583.

(收稿日期:2014-02-04 修回日期:2014-03-18)

环介导等温扩增技术用于消化道和呼吸道病毒检测的研究进展*

李文桂 综述,陈雅棠 审校

(重庆医科大学附属第一医院传染病寄生虫病研究所 400016)

关键词:环介导等温扩增技术;消化道病毒;呼吸道病毒;检测
中图分类号:Q78 文献标识码:A 文章编号:1671-8348(2014)20-2662-04

消化道病毒包括肠道病毒、肝炎病毒和急性胃肠炎病毒等,可分别引起肝炎、急性胃肠炎和手足口病等疾病,呼吸道病毒是呼吸性疾病的一种病原体。据报道 90% 以上急性呼吸道感染是由呼吸道病毒引起的。在收集到的消化道和呼吸道标本中检测到相应病毒是诊断这类疾病的金标准,但通常阳性率较低,需要花费大量的物力和人力等资源;随后人们利用免疫学方法检测这些病毒刺激机体产生的循环抗原或循环抗体,尽管敏感性较高,但存在较多的假阳性;接着人们采用 PCR 方法检测这些病毒,敏感性和特异性有了较大的提高,但昂贵的 PCR 仪购置限制了它的广泛应用,研制新的病毒检测技术已迫在眉睫。

Notomi 等^[1]针对一段 200 bp 左右的靶基因保守区域的 6 个特异序列设计 4 条引物,即上游内部引物(FIP)、下游内部引物(BIP)、上游外部引物(F3)和下游外部引物(B3),利用一种具有链置换反应的 DNA 聚合酶和 2 对设计引物,对靶序列上的 6 个特异序列进行核酸扩增,在 65 ℃ 的等温条件下反应 1 h 即可将靶序列 DNA 扩增 10⁹~10¹⁰ 倍,产生肉眼可见的白色焦磷酸镁沉淀,该技术命名为环介导等温扩增技术(loop-media-

ted isothermal amplification, LAMP)。为了提高扩增效率, Nagamine 等^[2]设计了上游环状引物(FLP)和下游环状引物(BLP)。这对环引物可加快反应速度,在 30~45 min 即可实现目的基因的扩增。LAMP 技术具有较高的敏感性、较强的特异性,不需昂贵仪器,使用简捷、花费时间短,可目测判定结果等许多优点,可用于临床微生物的快速诊断,在各级实验室具有广阔的前景。随后 LAMP 检测消化道和呼吸道病毒的研究在国内外迅速开展起来,并有了许多报道,本文就这些报道展开综述。

1 消化道病毒 LAMP 检测

1.1 肠道病毒 人肠道病毒 71 型(human enterovirus 71, HEV71)和口足疫病毒(foot-and mouth disease virus, FMDV)均是常见的肠道病毒,可分别引起人的手足口病和家畜的口蹄疫。Nie 等^[3]针对 HEV71 的 VP1 基因设计 3 对引物进行 RT-LAMP,发现 HEV71 反应管为阳性,而 ECHO 病毒对照为阴性,其检测该病毒的敏感性为每管 0.04 TCID₅₀;将其用于 25 例 HEV71 患者粪样的检测,发现其阳性率为 100%。李坤等^[4]针对 HEV71 的 VP2 基因设计 2 对引物进行 RT-LAMP,

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(30801052,30671835,30500423,30200239)。 作者简介:李文桂(1967—),研究员,博士,主要从事病原微生物的分子生物学和分子免疫学研究。

发现 HEV71 反应管为阳性,而柯萨奇病毒 A16 型对照为阴性,其检测 HEV71 的敏感性为 100 copy/mL;将其用于 41 份咽拭子标本的检测,发现其阳性率为 65.9%(27/41),与荧光定量 PCR 相当。

Dukes 等^[5]针对 FMDV 的 3D RNA 聚合酶基因序列设计 3 对引物进行 RT-PCR,发现 FMDV 反应管为阳性,而猪水疱病毒、猪疱疹病毒、圣米格尔海狮病毒、牛杯状病毒、马鼻病毒 A 和牛鼻病毒等 6 种病毒对照均为阴性,其检测 FMDV 的敏感性为每管 10 copy,与实时荧光 RT-PCR 相当;将其用于 98 例患者标本的检测,发现其阳性率为 82.7%(81/98),而 RT-PCR 为 79.6%(78/98)。秦智锋等^[6]采用 3D-RT-LAMP 检测证实 FMDV 的 0 型和亚洲 I 型反应管为阳性,而猪水疱病毒、蓝耳病病毒和猪水泡性口炎病毒对照为阴性;将其用于检测 8 份确诊的口蹄疫临床标本均可获得阳性结果。

1.2 肝炎病毒

1.2.1 乙型肝炎病毒(hepatitis virus B, HBV) HBV 是乙型肝炎的病原体。杨劲等^[7]针对 HBV 的 S 区设计 3 对引物进行 LAMP,发现 30 份 HBV 反应管为阳性,其检测 HBV 的敏感性为 40 copy/mL。李青雅等^[8]用 S-LAMP 检测发现 20 份 HBV 反应管为阳性,而 10 份鸭 HBV 对照为阴性。Cai 等^[9]针对 HBV 的 pre-s/S 区设计 3 对引物进行 LAMP 检测发现 HBV 反应管为阳性,而 HCV 对照为阴性,其检测 HBV 的敏感性为 210 copy/mL;将其用于 402 份 HBV 患者血样的检测,发现其阳性率为 73.4%(295/402)。

1.2.2 甲型肝炎病毒(hepatitis virus A, HAV) HAV 是甲型肝炎的病原体。Yoneyama 等^[10]针对 HAV 的 5'-未翻译区序列设计 3 对引物进行 RT-LAMP,发现 HAV 反应管为阳性,而脊髓灰质炎病毒、诺如病毒和 HEV 对照为阴性,其检测 HAV 的敏感性为 0.6 FFU/ μ L,而 RT-PCR 为 0.5 FFU/ μ L;将其用于 5 例 HAV 患者粪样的检测,发现其阳性率为 100%(5/5),与 RT-PCR 相当。

1.2.3 丙型肝炎病毒(hepatitis virus C, HCV) HCV 是丙型肝炎的病原体。李启明等^[11]针对 HCV 的 5'-未翻译区序列设计 3 对引物进行 RT-LAMP,发现 HCV 反应管为阳性,而 HIV、HBV 和流感病毒对照为阴性,其检测 HCV 的敏感性为每管 100 copy;将其用于 60 份 HCV 患者血样的检测,发现其阳性率为 98%(59/60),而 RT-PCR 为 100%(60/60)。

1.2.4 小鼠肝炎病毒(mouse hepatitis virus, MHV) MHV 是小鼠肝炎的病原体。袁文等^[12]针对 MHV 的核衣壳蛋白(nucleocapsid protein, NP)编码基因设计 3 对引物进行 LAMP,发现 MHV 反应管为阳性,而小鼠脑脊髓炎病毒、汉坦病毒和犬冠状病毒对照为阴性,其检测 MHV 的敏感性为 0.1 pg 基因组 DNA/ μ L,比 RT-PCR 灵敏 10 倍;将其用于 55 份临床样本的检测,发现其阳性率为 27.3%(15/55),而 RT-PCR 为 12.7%(7/55)。

1.3 诺如病毒 诺如病毒是一种杯状病毒,是急性病毒性胃肠炎的常见病原体。Fukuda 等^[13]针对该病毒的 RNA 依赖的 RNA 聚合酶和衣壳蛋白编码基因之间的保守区域设计 3 对引物进行 RT-LAMP,发现诺如病毒反应管为阳性,而星形病毒、腺病毒和轮状病毒对照为阴性,其检测该病毒的敏感性为每管 $10^2 \sim 10^3$ copy;将其用于 75 例患者的粪样检测,发现其阳性率为 100%(75/75),而 RT-PCR 为 94.7%(71/75)。

宋克云等^[14]针对该病毒的 RNA 聚合酶基因设计 2 对引物进行 RT-LAMP,发现 48 份诺如病毒 G II 型反应管为阳性,

而 12 份轮状病毒 A 对照为阴性,其检测该病毒的敏感性为 15.6 pg 基因组 DNA/管,与 RT-PCR 相当;将其用于 48 份患者的粪样检测,发现其阳性率为 95.8%(46/48),与 RT-PCR 检测结果一致。

罗剑鸣等^[15]针对该病毒的 RNA 依赖的 RNA 聚合酶和衣壳蛋白编码基因区域设计 3 对引物进行 RT-LAMP,发现诺如病毒 G II 型反应管为阳性,而轮状病毒、星状病毒和诺如病毒 G I 型对照为阴性,其检测该病毒的敏感性为每管 1 000 copy,与 RT-PCR 相当;将其用于 93 份腹泻患者的粪样检测,发现其阳性率为 36.6%(34/93),而 RT-PCR 为 38.7%(36/93)。

Yoda 等^[16]针对该病毒的衣壳蛋白编码基因的 N 末端区域设计 3 对引物进行 RT-LAMP,发现诺如病毒 G I 型和 G II 型反应管均为阳性,而轮状病毒 A 和轮状病毒 C 对照均为阴性,其检测该病毒的敏感性为每管 80~200 copy;将其用于 88 例腹泻患者的粪样检测,发现其阳性率为 81.8%(72/88),而 RT-PCR 为 48.9%(43/88)。Fukuda 等^[17]用基于核苷酸序列扩增的 RT-LAMP 检测 14 个牡蛎样品,发现诺如病毒 G I 型和 G II 型的阳性率分别为 64.3%(9/14)和 78.6%(11/14)。Iturriza 等^[18]用 RT-LAMP 试剂盒检测 510 份腹泻患者的粪样,发现其阳性率为 68.8%(350/510),而 RT-PCR 为 70.8%(361/510)。

2 呼吸道病毒 LAMP 检测

2.1 流感病毒 A 流感病毒 A 是甲型流感的病原体。Poon 等^[19]针对该病毒的 M 基因设计 2 对引物进行 RT-LAMP,发现 22 株流感病毒 A 反应管为阳性,而 11 株其他流感病毒对照为阴性,其检测该病毒的敏感性为每管 10^{-3} PFU,而 PCR 为每管 10^{-2} PFU;将其用于 47 例鼻咽分泌物标本的检测,发现其阳性率为 46.8%(22/47)。

Ito 等^[20]针对该病毒的血凝素 A(hemagglutinin A, HA)编码基因设计 2 对引物进行 RT-LAMP,发现 AH1 株和 AH3 株反应管为阳性,其检测该病毒的敏感性为 10 FFU/mL;将其用于 83 份鼻咽分泌物的检测,发现其阳性率为 85.9%(71/83),而病毒分离为 94%(78/83)。

Kubo 等^[21]同样针对该病毒的 HA 编码基因设计 3 对引物进行 RT-LAMP,发现 333 株 H1N1 2009 流行株反应管为阳性,而 H3N2 株对照为阴性,其检测该病毒的敏感性为每管 10 copy;将其用于 260 个鼻咽拭子的检测,发现其阳性率为 52.3%(136/260),而 RT-PCR 为 53.5%(139/260)。Ma 等^[22]用 HA-RT-LAMP 检测发现 26 例 H1N1 株反应管为阳性,而 24 例其他流感病毒株对照为阴性,其检测该病毒的敏感性为每管 40 copy。聂凯等^[23]用 HA-RT-LAMP 检测证实美国甲型 H1N1 流感样品反应管为阳性,而其他流感病毒株对照为阴性,其检测该病毒的敏感性为每管 60 copy;将其用于 30 份人甲型 H1N1 流感患者的样本检测,发现其阳性率为 90%(27/30),而 RT-PCR 为 83.3%(25/30)。张永乐等^[24]用 HA-RT-LAMP 检测发现 36 例甲型 H1N1 流感咽拭子样品为阳性;其检测该病毒的敏感性为每管 10^3 copy,比 RT-PCR 敏感 10 倍。

2.2 禽流感病毒 A 禽流感病毒 A 是禽流感的病原体。李启明等^[25]针对该病毒的 HA 编码基因或神经氨酸酶 A(neuraminidase, NA)编码基因分别设计 3 对引物进行 RT-LAMP,发现禽流感病毒 A H5N1 株反应管为阳性,其检测该病毒的敏感性为每管 10 copy;将其用于 51 份患者的样品检测,发现其

阳性率为 70.6%(36/51),与实时 PCR 相一致。

2.3 SARS 冠状病毒(severe acute respiratory syndrome coronavirus, SARS-Cov) SARS-Cov 是 SARS 的病原体。Thai 等^[26]针对该病毒的 ORF1b 基因设计 3 对引物进行 RT-LAMP,发现 SARS-Cov 反应管为阳性,其检测该病毒的敏感性为每管 0.01 PFU,而 RT-PCR 为每管 1 PFU;将其用于 59 个鼻咽拭子的检测,发现其阳性率为 22.0%(13/59),而 RT-PCR 为 10.0%(6/59)。Poon 等^[27]同样针对该病毒的 ORF1b 基因设计 3 对引物进行 RT-LAMP,发现 SARS-Cov 反应管为阳性,而呼吸道合胞病毒、腺病毒、流感病毒 A 和 B 对照均为阴性,其检测该病毒的敏感性为每管 10 copy;将其用于 31 例鼻咽拭子的检测,发现其阳性率为 64.5%(20/31)。

2.4 人呼吸道合胞病毒(human respiratory syncytial virus, HRSV) HRSV 是儿童呼吸道感染的主要病原体。Ushio 等^[28]针对该病毒的核壳蛋白编码基因设计 3 对引物进行 RT-LAMP,发现 HRSV 反应管为阳性,而流感病毒 A 和 B、麻疹病毒以及腮腺炎病毒对照为阴性,其检测该病毒的敏感性为 0.06 TCID₅₀;将其用于 50 份鼻咽拭子的检测,发现其阳性率为 94%(47/50),而病毒分离和 RT-PCR 为 58%(29/50)和 84%(42/50)。Shirato 等^[29]同样针对该病毒的核壳蛋白基因设计 3 对引物进行 RT-LAMP,发现 HRSV 反应管为阳性,而冠状病毒、流感病毒和腺病毒对照为阴性,其检测该病毒的敏感性为每管 0.01~0.10 PFU;将其用于 59 例鼻咽拭子的检测,发现其阳性率为 61%(36/59),而病毒分离和 RT-PCR 为 34%(20/59)和 68%(34/59)。

2.5 麻疹病毒 麻疹病毒是麻疹的病原体。Fujino 等^[30]针对该病毒的核蛋白的编码基因设计 3 对引物进行 LAMP,发现麻疹病毒反应管为阳性,其检测该病毒的敏感性为 0.04 TCID₅₀,而 RT-PCR 为 0.4 TCID₅₀;将其用于 50 例冻存 4 年的标本和 11 个新鲜标本的检测,发现其阳性率分别为 98%(49/50)和 81.8%(9/11),而 RT-PCR 分别为 88%(44/50)和 72.7%(8/11)。

2.6 腮腺炎病毒 腮腺炎病毒是流行性腮腺炎的病原体。Okafuji 等^[31]针对该病毒的血凝素-神经氨酸酶(hemagglutinin-neuraminidase, HN)编码基因设计 3 对引物进行 LAMP,发现腮腺炎病毒反应管为阳性,其检测该病毒的敏感性为 0.024 PFU/ μ L,与 RT-PCR 相当;将其用于 75 个唾液拭子的检测,发现其阳性率为 64.0%(48/75),而 RT-PCR 为 62.7%(47/75)。

2.7 风疹病毒 风疹病毒是风疹的病原体。Mori 等^[32]针对该病毒的 E1 基因设计 3 对引物进行 RT-LAMP,发现风疹病毒反应管为阳性,而麻疹病毒、腮腺炎病毒、呼吸道合胞病毒和流感病毒对照为阴性,其检测该病毒的敏感性为 30 PFU/mL;将其用于 9 例患者的标本检测,发现其阳性率为 77.8%(7/9),而病毒分离和 RT-PCR 为 33.3%(3/9)和 66.7%(6/9)。

2.8 新城疫病毒(newcastle disease virus, NDV) NDV 是鸡瘟病的病原体。Pham 等^[33]针对该病毒的融合基因设计 2 对引物进行 RT-LAMP,发现 38 株 NDV 反应管为阳性,而鸡痘病毒和禽呼肠孤病毒对照为阴性,其检测该病毒的敏感性为每管 0.5 pg,与巢式 PCR 相当;将其用于感染 NDV 3d 的鸡气管组织的检测,发现其阳性率为 75%(6/8),而感染 6d 标本的阳性率为 100%。

2.9 结膜炎腺病毒 结膜炎腺病毒是眼科感染的常见病原体。Wakabayashi 等^[34]针对该病毒的 Ad1 亚型、ad3 亚型和

Ad4 亚型的第 6 区基因以及 ad8 亚型、ad19 亚型和 ad37 亚型的纤维区基因分别设计 2 对引物进行 LAMP,发现这些亚型反应管均为阳性,其检测该病毒的敏感性为每管 $10^3 \sim 10^4$ copy;将其用于 13 份临床标本的检测,发现其阳性率为 84.6%(11/13),而 PCR 为 100%(13/13)。

3 展 望

将 LAMP 技术用于消化道和呼吸道病毒的检测具有许多好处。因为 LAMP 技术针对保守靶序列的 6 个特定片段设计 2~3 对相关引物进行核酸扩增,所以核酸扩增具有较强的特异性;在 LAMP 刚开始反应时,以 6^n 倍量进行核酸扩增,在 1 h 内就能扩增出 $10^9 \sim 10^{10}$ copy 的靶序列基因,所以灵敏度较高,其灵敏度可与实时定量 PCR 相当,比传统的 PCR 技术的灵敏度提高 2~3 个数量级;因为 LAMP 反应可生成肉眼可见的白色焦磷酸镁沉淀,所以用目测即可鉴定结果;因为 LAMP 反应在等温条件下进行,不需要变温条件,所以不需要昂贵的 PCR 设备,操作步骤非常简单,应用方便,所以在基层应用具有较广阔的前景。

当然 LAMP 技术也有一些不可避免的缺点。因为 LAMP 引物设计需专门软件,需设计引物 2~3 对,设计程序繁琐,所以引物筛选工作将花费大量的时间和精力;因为 LAMP 引物之间可能存在互补结构而出现非特异条带的扩增,所以出现假阳性的概率较多;LAMP 反应扩增的靶序列基因长度通常不超过 300 bp,与非特异扩增的产物不宜鉴别;LAMP 扩增的靶基因序列通常较短,所以不能进行基因的克隆、测序和表达;当进行常规 LAMP 反应完毕后,打开反应管时可造成气溶胶污染;LAMP 技术很难扩增长度大于 500 bp 的靶基因,所以不能进行长链 DNA 扩增。随着时间的推移, LAMP 技术将不断得到完善,在不远的将来极有可能用于消化道和呼吸道病毒的临床检测。

参考文献:

- [1] Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA [J]. *Nucleic Acid Res*, 2000, 28(12): E63.
- [2] Nagamine K, Hase T, Notomi T. Accelerated reaction by loop-mediated isothermal amplification using loop primers [J]. *Mol Cellular Probes*, 2002, 16(2): 223-229.
- [3] Nie K, Zhang Y, Luo L, et al. Visual detection of Human enterovirus 71 subgenotype C4 and Coxsackievirus A16 by reverse transcription loop-mediated isothermal amplification with the hydroxynaphthol blue dye [J]. *J Virol Methods*, 2011, 175(2): 283-286.
- [4] 李坤, 史伟峰, 石旦, 等. 逆转录-环介导等温扩增快速检测 EV71 病毒 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2012, 4(1): 26-29.
- [5] Dukes JP, King DP, Alexandersen S. Novel reverse transcription loop-mediated isothermal amplification for rapid detection of foot-and-mouth disease virus [J]. *Arch Virol*, 2006, 151(6): 1093-1106.
- [6] 秦智锋, 曾少灵, 阮周曦, 等. 口蹄疫病毒 RT-LAMP 检测方法的建立 [J]. *中国预防兽医学报*, 2008, 30(5): 375-378.
- [7] 杨劲, 蔡挺, 徐岱, 等. 乙型肝炎病毒 DNA 等温扩增体系的建立 [J]. *中华检验医学杂志*, 2006, 29(11): 1021-1023.

- [8] 李青雅,徐秋英,刘妮,等.快速检测 HBV-DNA 的环状介导等温 DNA 扩增法[J].生物技术通讯,2005,16(6):647-648.
- [9] Cai T, Lou GQ, Yang J, et al. Development and evaluation of real-time loop-mediated isothermal amplification assay for Hepatitis B virus DNA quantification; A new tool for HBV management[J]. J Clin Virol, 2008, 41(2): 270-276.
- [10] Yoneyama T, Kiyohara T, Shimasaki N, et al. Rapid and real-time detection of Hepatitis A virus by reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay [J]. J Virol Methods, 2007, 145(1): 162-168.
- [11] 李启明, 马学军, 周蕊, 等. 环介导逆转录等温扩增技术 (RT-LAMP) 在丙型肝炎病毒基因检测中的应用[J]. 病毒学报, 2006, 22(5): 334-338.
- [12] 袁文, 刘忠华, 张珏, 等. 小鼠肝炎病毒逆转录环介导等温扩增检测技术的建立[J]. 中国实验动物学报, 2009, 17(5): 354-359.
- [13] Fukuda S, Takao S, Kuwayama M, et al. Rapid detection of Norovirus from fecal specimens by real-time transcription loop-mediated isothermal amplification assay [J]. J Clin Microbiol, 2006, 44(4): 1376-1381.
- [14] 宋克云, 张如胜, 欧新华, 等. RT-LAMP 快速检测 Norovirus 病毒 G II 型[J]. 病毒学报, 2009, 25(4): 291-295.
- [15] 罗剑鸣, 吴希阳, 徐子乾, 等. 基于颜色判定的逆转录环介导等温扩增技术检测 G II 型诺如病毒基因[J]. 病毒学报, 2012, 28(2): 165-171.
- [16] Yoda T, Suzuki Y, Yamazaki K, et al. Evaluation and application of reverse transcription loop-mediated isothermal amplification for detection of Norovirus[J]. J Med Virol, 2007, 79(2): 326-334.
- [17] Fukuda S, Sasaki Y, Seno M. Rapid and sensitive detection of Norovirus genomes in oysters by a two-step isothermal amplification assay system combining nucleic acid sequence-based amplification and reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assays [J]. Appl Environ Microbiol, 2008, 74(12): 3912-3914.
- [18] Iturriza GM, Xerry J, Gallimore CI, et al. Evaluation of the loopamp(loop-mediated isothermal amplification) kit for detecting Norovirus RNA in faecal samples[J]. J Clin virol, 2008, 42(2): 389-393.
- [19] Poon LLM, Leung CS, Chan KH, et al. Detection of human Influenza A viruses by loop-mediated isothermal amplification[J]. J Clin Microbiol, 2005, 43(1): 427-430.
- [20] Ito M, Watanabe M, Nakagawa N, et al. Rapid detection and typing of Influenza virus A and B by loop-mediated isothermal amplification; comparison with immunochromatography and virus isolation[J]. J Virol Methods, 2006, 135(2): 272-275.
- [21] Kubo T, Agoh M, Mai LQ, et al. Development of a reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay for detection of Pandemic(H1N1) 2009 virus as a novel molecular method for diagnosis of pandemic influenza in resource-limited settings [J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(3): 728-735.
- [22] Ma XJ, Shu YL, Nie K, et al. Visual detection of Pandemic influenza A H1N1 virus 2009 by reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification with hydroxynaphthol blue dye[J]. J Virol Methods, 2010, 167(2): 214-217.
- [23] 聂凯, 王大燕, 秦萌, 等. 基于颜色判定的环介导逆转录等温扩增技术检测人甲型 H1N1 流感病毒基因[J]. 病毒学报, 2010, 26(2): 81-87.
- [24] 张永乐, 潘克女, 武静, 等. 环介导等温扩增检测甲型 H1N1 病毒核酸方法的建立[J]. 医学研究杂志, 2011, 40(6): 144-147.
- [25] 李启明, 马学军, 高寒春, 等. 逆转录环介导等温核酸扩增技术(RT-LAMP)在 H5N1 禽流感病毒基因检测中的应用[J]. 病毒学报, 2008, 24(3): 178-184.
- [26] Thai HT, Le MQ, Yuong CD, et al. Development and evaluation of a novel loop-mediated isothermal amplification method for rapid detection of Severe acute respiratory syndrome coronavirus [J]. J Clin Microbiol, 2004, 42(5): 1956-1961.
- [27] Poon LLM, Leung CSW, Tashiro M, et al. Rapid detection of the Severe acute respiratory syndrome(SARS) coronavirus by a loop-mediated isothermal amplification assay [J]. Clin Chem, 2004, 50(6): 1050-1052.
- [28] Ushio M, Yui I, Yoshida N, et al. Detection of Respiratory syncytial virus genome by subgroup-A, B specific reverse transcription loop-mediated isothermal amplification(RT-LAMP) [J]. J Med Virol, 2005, 77(1): 121-127.
- [29] Shirato K, Nishimura H, Saijo M, et al. Diagnosis of human Respiratory syncytial virus infection using reverse transcription loop-mediated isothermal amplification[J]. J Virol Methods, 2007, 139(1): 78-84.
- [30] Fujino M, Yoshida N, Yamaguchi S, et al. A simple method for the detection of Measles virus genome by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) [J]. J Med Virol, 2005, 76(3): 406-413.
- [31] Okafuji T, Yoshida N, Fujino M, et al. Rapid diagnostic method for detection of Mumps virus genome by loop-mediated isothermal amplification [J]. J Clin Microbiol, 2005, 43(4): 1625-1631.
- [32] Mori N, Motegi Y, Shimamura Y, et al. Development of a new method for diagnosis of Rubella virus infection by reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification [J]. J Clin Microbiol, 2006, 44(9): 3268-3273.
- [33] Pham HM, Nakajima C, Ohashi K, et al. Loop-mediated isothermal amplification for rapid detection of Newcastle disease virus [J]. J Clin Microbiol, 2005, 43(4): 1646-1650.
- [34] Wakabayashi T, Yamashita R, Kakita T, et al. Rapid and sensitive diagnosis of adenoviral keratoconjunctivitis by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method [J]. Current Eye Res, 2004, 28(6): 445-450.