

DOI:10.13350/j.cjpb.220509

• 论著 •

# 屋尘螨过敏原 Der p 1 基因逆转录环介导等温扩增可视化检测方法的建立\*

周鹰<sup>1\*\*</sup>, 俞黎黎<sup>2</sup>, 杨李<sup>2</sup>, 李启松<sup>2</sup>, 崔玉宝<sup>3</sup>(1. 南京医科大学附属无锡儿童医院儿科实验室, 江苏无锡 214023; 2. 江苏医药职业学院医学技术学院;  
3. 南京医科大学附属无锡人民医院临床研究中心)

**【摘要】** **目的** 建立一种能快速、准确检测环境中屋尘螨过敏原 Der p 1 基因的逆转录环介导等温扩增可视化(RT-LAMP)技术。 **方法** 用 Primer Explore 4.0 对 Der p 1 基因进行 RT-LAMP 引物设计与筛选, 提取屋尘螨、粉尘螨、热带无爪螨、腐食酪螨总 RNA, 利用优化的 RT-LAMP 反应体系分别扩增 4 个螨种的 Der p 1 基因, 评价方法的特异度和灵敏度。采集 74 份哮喘患儿的床尘样品, 提取总 RNA 进行 Der p 1 基因 RT-PCR 和 RT-LAMP 检测。 **结果** 利用优化的 RT-LAMP 方法检测 4 种螨的 Der p 1 基因, 只有屋尘螨阳性, 琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物呈现特征性梯形条带, 肉眼和紫外灯下均观察到绿色荧光。建立的 RT-LAMP 对 Der p 1 基因的最小检测量为  $1.0 \times 10^{-6} \mu\text{g}$ , 敏感性比常规 RT-PCR 高 10 倍; 检测 74 份床尘样品, 阳性率 85.1%, 与 RT-PCR 阳性率 70.3% 比较差异具有统计学意义 ( $\chi^2 = 4.72, P < 0.05$ )。 **结论** 建立的屋尘螨过敏原 Der p 1 基因 RT-LAMP 较常规 RT-PCR 灵敏度和特异性更高, 可用于屋尘螨过敏原污染的快速检测。

**【关键词】** 逆转录环介导等温扩增可视化; 屋尘螨过敏原 Der p 1; 尘螨; 过敏原

**【中图分类号】** R384.4

**【文献标识码】** A

**【文章编号】** 1673-5234(2022)05-0542-04

[Journal of Pathogen Biology. 2022 May;17(5):542-545, 558.]

## Establishment of visual detection method for house dust mite allergen Der p 1 by reverse transcriptional loop-mediated isothermal amplification

ZHOU Ying<sup>1</sup>, YU Li-li<sup>2</sup>, YANG Li<sup>2</sup>, LI Qi-song<sup>2</sup>, CUI Yu-bao<sup>3</sup> (1. Pediatric Laboratory, The Affiliated Wuxi Children's Hospital of Nanjing Medical University, Wuxi 214023, Jiangsu, China; 2. Department of Medical Technology, Jiangsu Vocational College of Medicine; 3. Clinical Research Center, The Affiliated Wuxi People's Hospital of Nanjing Medical University) \* \*\*

**【Abstract】** **Objective** To develop a method to detect the concentration of Der p 1 in the environment dust samples based on reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) visualization technology. **Methods** RT-LAMP Primers were designed and screened with the Primer Explore 4.0. The total RNA were extracted from *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, *Blomia tropicalis* and *Tyrophagus putrescentiae* separately, which were used for detection of Der p 1 with optimized RT-LAMP reaction system to evaluate specificity and sensitivity of the method. Bed dust samples from 74 children with asthma were collected, and the total RNA was extracted from these 74 dust sample separately for the detection of Der p 1 with RT-PCR and RT-LAMP, respectively.

**Results** The optimized RT-LAMP method was used to detect Der p 1 from the total RNA isolated from the four species of mites, and only *Dermatophagoides pteronyssinus* were positive. Agarose gel electrophoresis (2%) showed characteristic trapezoidal strips, and green fluorescence was observed under both naked eye and ultraviolet lamp. The minimum detection amount for Der p 1 was  $1.0 \times 10^{-6} \mu\text{g}$  with RT-LAMP assay and the sensitivity was 10 times higher than that of conventional RT-PCR. Among the 74 bed dust samples, the positive rate of RT-LAMP was 85.1%, which was higher than that of RT-PCR (70.3%), and the difference between the two methods was statistical significance ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** A visual method for detection of Der p 1 was successfully established with RT-LAMP. Compared with conventional RT-PCR, RT-LAMP was more sensitive, rapid and specific in detecting dust mite allergens.

**【Key words】** Reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP); Der p 1; House dust mite; Allergen

\* **【基金项目】** 国家自然科学基金项目(No. NSFC31272369、NSFC31572319); 无锡市卫生健康委科研项目(No. MS201949); 江苏省妇幼健康科研项目(No. F202068); 江苏省卫生厅医学科招标立项课题(No. Q201310)。

\*\* **【通讯作者(简介)】** 周鹰(1976-), 女, 医学硕士, 副研究员, 主要研究方向为尘螨与过敏性疾病, E-mail: home0518@163.com。

尘螨是重要的过敏原来源生物之一,全球超过50%的过敏性疾病患者对尘螨过敏<sup>[1]</sup>。患者多因接触和吸入尘螨而引起皮肤和呼吸道炎症表现为特应性皮炎、过敏性鼻炎和哮喘等疾病<sup>[2]</sup>。因此,建立高效、灵敏、快速的尘螨检测方法将有助于评估过敏性疾病患者生活环境中尘螨孳生状况,采取积极有效的尘螨控制措施将有助于改善患者病情。

逆转录环介导等温扩增可视化检测(Reverse transcription loop-mediated isothermal amplification, RT-LAMP)是一种新型体外等温扩增特异核酸片段的技术<sup>[3]</sup>。2020年RT-LAMP首次被应用于生物材料的诊断<sup>[4]</sup>,该技术不需要复杂的仪器,操作简单;使用专门设计的引物,具有快速扩增和对目标生物高特异性的优点,能够准确地检测感染的各种病原体包括病毒、细菌和寄生虫<sup>[5-6]</sup>。李辉等<sup>[7]</sup>运用LAMP能够快速检测GI型诺如病毒。Simon等<sup>[8]</sup>报道可采用LAMP浊度法检测化脓性链球菌分离株speB基因。本研究拟建立RT-LAMP方法用于检测环境中尘螨过敏原Der p 1,结果报告如下。

## 材料与方法

### 1 材料

**1.1 尘螨** 屋尘螨(*Dermatophagoides pteronyssinus*)、粉尘螨(*D. farinae*)、热带无爪螨(*Blomia tropicalis*)、腐食酪螨(*Tyrophagus putrescentiae*)为本室培养,培养设备为人工气候箱(宁波江南仪器厂/RXZ-280D)。培养条件:25℃±1℃,相对湿度(80±5)%。屋尘螨、热带无爪螨培养基用鱼粉、酵母粉按一定比例配制,粉尘螨和腐食酪螨培养基用面粉和酵母粉按一定比例配制。

**1.2 试剂** Bst DNA聚合酶(大片段)购自美国New England Biolabs公司;MgSO<sub>4</sub>和Betain购自美国Sigma公司;AMV反转录酶,One-step RNA PCR kit和dNTP购自日本TaKaRa公司;TRIzol和SYBR GreenI荧光染料购自北京Solarbio公司;RNA提取试剂购自美国Life Technology公司。

### 2 方法

**2.1 引物的设计与合成** 参照国际基因库中Der p 1基因全长序列(GenBank No. U11695)进行比对分析,选择保守区域,利用在线引物设计软件Primer Explore 4.0(<http://primerexplorer.jp/elamp4.0.0/index.html>)进行RT-LAMP引物设计与筛选,每一个LAMP反应包括1对外引物(F3、B3)和1对内引物(FIP、BIP)(表1),引物由宝生物公司合成。

**2.2 总RNA的提取** 采用爬盘法收集人工培养的活螨1000只以上,用无菌生理盐水洗涤后置于研钵

中研碎,再用组织匀浆器制成匀浆,然后按Trizol说明书提取总RNA,于-80℃保存备用。

表1 针对尘螨过敏原Der p 1基因的RT-LAMP引物  
Table 1 The primers of RT-LAMP for amplification of the allergen Der p 1

引物 Primer	长度(nt) Length	序列(5'→3') Sequence
F3	20	TCGATACGTTGCACGAGAAC
B3	21	AGCGTGATAGTTTGGTTGGTA
FIP	44	TGGGTTTGGAGCCAAAGCTTCACGGCA CAACGTTTCGGTATCTCA
BIP	43	GCGCTATTGCCGTCATTATTGGCCGC GTTGAATGATTGTTCCG

**2.3 RT-LAMP反应体系的建立及其优化** 内引物FIP和BIP各1.6 μmol/L,外引物F3和B3各0.2 μmol/L,1.4 mmol/L dNTP,0.8 mol/L甜菜碱(Betaine),6.0 mmol/L MgSO<sub>4</sub>,2.5 μL 10×ThermoPol II (Mg<sup>2+</sup>-free) Reaction Buffer [20 mmol/L Tris-HCl,10 mmol/L KCl,10 mmol/L (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,0.1% Triton X-100],8U Bst DNA聚合酶大片段,5U AMV reverse transcriptase XL,0.5 μL RNA模板,加灭菌双蒸水补足25 μL。将反应体系置65℃水浴锅中反应60 min,80℃水浴10 min终止反应。在此基础上再对Mg<sup>2+</sup>浓度(2、4、6、8、10、12 mmol/L)及反应温度(56、58、60、62、64、66℃)和时间(10、20、30、40、50、60、70 min)进行优化。取2 μL扩增产物进行1.5%琼脂糖凝胶电泳分析。

**2.4 RT-LAMP可视化检测** 在扩增产物中加入1.0 μL SYBR Green I (100×)染料,并将溶液置于365 nm紫外光下观察有无荧光产生。如果产生绿色为阳性反应,浅棕色则为阴性反应。

**2.5 RT-LAMP的特异性及灵敏度分析** 利用优化的RT-LAMP反应体系,以屋尘螨、粉尘螨、热带无爪螨、腐食酪螨总RNA为待测样品进行检测,观察可视化结果,并取2 μL RT-LAMP反应产物进行2%琼脂糖凝胶电泳检测分析。

将制备的屋尘螨总RNA按10倍递增稀释为1.0、1.0×10<sup>-1</sup>、1.0×10<sup>-2</sup>、1.0×10<sup>-3</sup>、1.0×10<sup>-4</sup>、1.0×10<sup>-5</sup>、1.0×10<sup>-6</sup>、1.0×10<sup>-7</sup>和1.0×10<sup>-8</sup> μg后用RT-LAMP方法进行检测,并与常规RT-PCR进行比较,分析方法的灵敏度。

**2.6 RT-PCR** 对各浓度RNA利用One-step RNA PCR kit (TaKaRa)进行一步RT-PCR扩增。反应体系:2.5 μL 10×One Step RNA PCR Buffer,5 mmol/L MgCl<sub>2</sub>,1.0 mmol/L dNTP mixture,20 U RNase Inhibitor,5 U AMV reverse transcriptase XL,2.5 U AMV Optimized Taq,0.2 mol/L LAMP外引物(F3

和 B3), 0.5 μL total RNA, 加灭菌双蒸水补足 25 μL。反应程序: 50 °C 反转录 30 min, 94 °C 2 min; 94 °C 30 s, 53 °C 30 s, 72 °C 30 s, 共 30 个循环。取扩增产物进行 1.5% 琼脂糖凝胶电泳分析。

**2.7 床尘样品检测** 采集 74 份哮喘患儿床尘样品, 提取总 RNA, 分别采用 RT-PCR 和 RT-LAMP 检测 Der p 1 基因, 对检测结果进行比较分析。

## 结 果

### 1 RT-LAMP 检测 Derp1 基因的最佳反应体系和反应条件

通过对 Mg<sup>2+</sup> 浓度, 反应温度 (56~66 °C) 和反应时间 (10~70 min) 进行优化, 根据琼脂糖凝胶电泳结果分析获得 Der p 1 基因 RT-LAMP 的最佳反应体系和反应条件: 内引物 (PRSV-FIP 和 PRSV-BIP) 各 1.6 μmol/L, 外引物 (PRSV-F3 和 PRSV-B3) 各 0.2 μmol/L, 0.8 mol/L 甜菜碱, 8 mmol/L MgSO<sub>4</sub>, 2.5 μL 10× ThermoPol II (Mg<sup>2+</sup>-free), 反应缓冲液 (20 mmol/L Tris-HCl, 10 mmol/L KCl, 10 mmol/L (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.1% Triton X-100), 8 U Bst DNA 聚合酶大片段, 5 U AMV 逆转录酶 XL, 0.5 μL RNA 模板, 加灭菌双蒸水补足 25 μL。将反应体系于 62 °C 水浴锅中反应 60 min, 然后 80 °C 水浴 10 min 终止反应。

### 2 RT-LAMP 的特异性

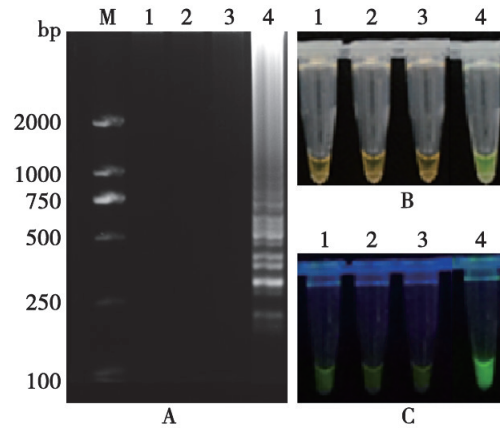
用建立的 RT-LAMP 方法检测屋尘螨、粉尘螨、热带无爪螨和腐食酪螨总 RNA, 屋尘螨为阳性, 2% 琼脂糖凝胶电泳呈现特征性梯形条带 (图 1A), 肉眼和紫外灯下观察到绿色荧光 (图 1B, C)。粉尘螨、热带无爪螨、腐食酪螨均为阴性, 2% 琼脂糖凝胶电泳均无特征性梯形条带出现 (图 1A), 且肉眼观察可见棕色, 在紫外灯下无荧光 (图 1B, C)。

### 3 RT-LAMP 的灵敏度

建立的 RT-LAMP 对 Der p 1 基因的最小检测量为 1.0×10<sup>-6</sup> μg (图 2A-C), 即肉眼和紫外灯下均观察到绿色荧光, 2% 琼脂糖凝胶电泳呈现特征性梯形条带, 常规 RT-PCR 的最小检测量为 1.0×10<sup>-5</sup> μg (图 2D), RT-LAMP 方法的敏感性比常规 RT-PCR 高 10 倍。

### 4 床尘尘螨检测

74 份床尘样品抽提总 RNA 后用 RT-LAMP 检测 Der p 1 基因, 结果有 63 份阳性, 常规 RT-PCR 检测 52 份阳性 (表 2)。RT-LAMP 和 RT-PCR 检测的阳性率分别为 85.1% 和 70.3%, 差异具有统计学意义 (χ<sup>2</sup>=4.72, P<0.05)。

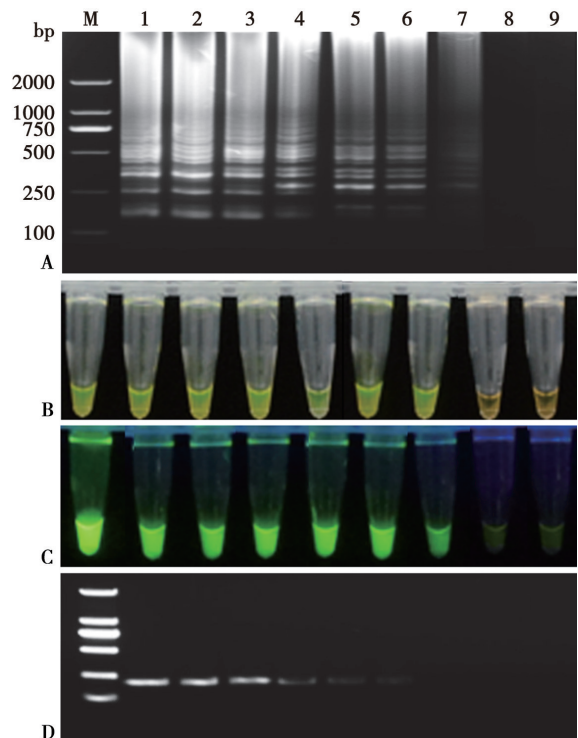


A Der p 1 基因 RT-LAMP 产物 2% 琼脂糖凝胶电泳分析 B、C 分别为肉眼和紫外灯下观察到的绿色荧光 M D2000 DNA 标志物 1 粉尘螨对照 2 热带无爪螨对照 3 腐食酪螨对照 4 屋尘螨 RT-LAMP 产物

图 1 可视化 RT-LAMP 检测 Der p 1 基因结果

A 2% Agarose gel electrophoresis analyses of the product of Der p 1 coding gene by RT-LAMP B green fluorescence was observed under naked eye C green fluorescence was observed under ultraviolet lamp M D2000 DNA marker 1 *D. farinae* control 2 *Blomia tropicalis* control 3 *Tyrophagus putrescentiae* control 4 The RT-LAMP product of *D. pteronyssinus*

Fig. 1 Visualization result of amplification of Der p 1 by RT-LAMP



M DL2000 DNA 标志物 1~9 分别为屋尘螨总 RNA 上样量 1.0, 1.0×10<sup>-1</sup>, 1.0×10<sup>-2</sup>, 1.0×10<sup>-3</sup>, 1.0×10<sup>-4</sup>, 1.0×10<sup>-5</sup>, 1.0×10<sup>-6</sup>, 1.0×10<sup>-7</sup>, 1.0×10<sup>-8</sup> μg

图 2 RT-LAMP (A-C) 和 RT-PCR (D) 检测尘螨过敏原 Der p 1 基因灵敏性比较

M DL2000 DNA marker 1-9 1.0, 1.0×10<sup>-1</sup>, 1.0×10<sup>-2</sup>, 1.0×10<sup>-3</sup>, 1.0×10<sup>-4</sup>, 1.0×10<sup>-5</sup>, 1.0×10<sup>-6</sup>, 1.0×10<sup>-7</sup>, 1.0×10<sup>-8</sup> μg of total RNA of *D. pteronyssinus*

Fig. 2 The comparison of Der p 1 detection by RT-LAMP (A-C) and RT-PCR (D)

表2 RT-LAMP和RT-PCR检测床尘螨结果比较  
Table 2 The comparison of Der p 1 detection by RT-LAMP and RT-PCR

方法 Methods	RT-PCR		合计 Total
	阳性例数 Positive cases	阴性例数 Negative cases	
RT-LAMP 阳性例数	52	11	63
RT-LAMP 阴性例数	0	11	11
合计 Total	52	22	74

## 讨论

尘螨是室内过敏原的主要来源,引起过敏性鼻炎和哮喘等过敏性疾病<sup>[9]</sup>。尘螨主要包括屋尘螨、粉尘螨、热带无爪螨、腐食酪螨等<sup>[10]</sup>,广泛地孳生在沙发、地毯、被褥、床单以及其它生活环境中。过敏原是引起机体特异性 IgE 升高的蛋白质,其命名是以来源物质,属名的头 3 个字母(如 Dermatophagoides,头 3 个字母为 Der),空格,种名第一个字母(如 pteronyssinus 的首字母),空格,最后用阿拉伯数字表示该过敏原发现的顺序或其临床意义,本研究中的 Der p 1 即为屋尘螨过敏原第 1 组分。在已发现的 39 种屋尘螨变应原组分中 Der p 1 和 Der p 2 是 80% 屋尘螨过敏患者的主要致敏组分,Der p 1 主要存于屋尘螨排泄物中,每个颗粒约含 0.1 ng,Der p 2 主要存在于屋尘螨体内。在 1987 年首届室内尘螨变态反应的国际研讨会上,参会专家制定了致病风险因素标准,即在床垫和地毯中沉积的每克灰尘中含有 2 μg 的 Der p 1 就被视为过敏体质者发生急性哮喘的一个主要风险因<sup>[11]</sup>。在第二届室内尘螨变态反应学会上这个临界值浓度被视为与哮喘发作有关,即将每克灰尘含有 2 μg 和 10 μg 的 Der p 1 作为风险暴露因素<sup>[11]</sup>。因此,本研究中以 Der p 1 作为检测对象。

LAMP 是在单一温度下,只需要一种酶就可以进行自循环链置换 DNA。该方法不需要昂贵的仪器,价格便宜,对操作人员要求不高。每一个 LAMP 反应设计 1 对内引物和 1 对外引物,提高了反应的特异性。合成的副产物(焦磷酸镁)随着反应的进行而积累增加,通过浊度法或添加各种染料进行目测,方便、快捷<sup>[12]</sup>。吴丹丹等<sup>[13]</sup>采用 RT-LAMP 和 LAMP 两种方法检测结核分枝杆菌并进行比较分析,发现 RT-LAMP 不仅可以避免出现结核菌残留 DNA 引起的假阳性,而且灵敏度是 LAMP 的 10 倍。由于 RT-LAMP 具有上述优点,广泛地被应用在进出口食品、畜禽饲料、添加剂、卫生检疫等领域病毒、类病毒和微生物的检查,并且存在多个国家标准和行业标准<sup>[14-15]</sup>。在新冠病毒全球大流行的情况下,采用这种方法检测冠状病毒能够更加快速、准确、廉价的获得实验结果。

Kitajima 等<sup>[16]</sup>采用 RT-PCR 和 RT-LAMP 方法对比评估了在 COVID-19 诊断中的差异,RT-LAMP 表现出高度的特异性和敏感性。Fowler 等<sup>[17]</sup>采用 RT-LAMP 快速检测 SARS-CoV-2,其结果与 RT-PCR 具有高度一致性。

为验证 RT-LAMP 方法对屋尘螨 Der p 1 检测的灵敏性和特异性,本研究采集了 74 份床尘样品进行检测,结果显示 RT-LAMP 阳性检出率显著高于 RT-PCR。因此,RT-LAMP 是过敏原检测方法的一个重要补充,其灵敏度高、特异性强及操作简单的优点适于基层医院推广应用,也有助于尘螨过敏患者便捷、准确地评估居住环境尘螨孳生情况,预防过敏性疾病的发生。

## 【参考文献】

- [1] Resch Y, Blatt K, Malkus U, et al. Molecular, structural and immunological characterization of Der p 18, a chitinase-like house dust mite allergen [J]. PLoS One, 2016, 11(8): e0160641.
- [2] Satitsuksanoa P, Kennedy M, Gilis D, et al. The minor house dust mite allergen Der p 13 is a fatty acid-binding protein and an activator of a TLR2-mediated innate immune response [J]. Allergy, 2016, 71(10): 1425-1434.
- [3] 石洁, 艾俊. 丙型肝炎病毒环介导恒温扩增可视化快检方法的应用研究[J]. 临床血液学杂志, 2020, 33(12): 859-862.
- [4] Sheu SC, Tsou PC, Lien YY, et al. Development of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assays for the rapid detection of allergic peanut in processed food[J]. Food Chem, 2018(257): 67-74.
- [5] Sano S, Fukushi S, Yamada S, et al. Development of an RT-LAMP assay for the rapid detection of SFTS virus[J]. Viruses, 2021, 13(4): 693.
- [6] Zhang X, Xu G, Tang H, et al. Development of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for the rapid detection of *Alternaria alternata* [J]. J AOAC Int, 2017, 100(1): 99-103.
- [7] 李辉, 李雪梅, 刘沙, 等. 实时逆转录环介导等温扩增法快速检测 G1 型诺如病毒[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(9): 3739-3742.
- [8] Simon AS, Subbiah SK, Lung Than LT, et al. Improved visual detection of speB gene in *Streptococcus pyogenes* isolates by real-time loop-mediated isothermal amplification Turbidimetry method [J]. Jundishapur J Microbiol, 2021, 14(2): e108540.
- [9] Hesse L, van Ieperen N, Habraken C, et al. Subcutaneous immunotherapy with purified Der p 1 and 2 suppresses type 2 immunity in a murine asthma model[J]. Allergy, 2018, 73(4): 862-874.
- [10] 梁敏, 冯笑, 胡腊, 等. 尘螨过敏原 Der p 2 和 Der f 2 结构与抗原表位的比较研究[J]. 现代医学, 2017, 17(11): 1665-1669.
- [11] 崔玉宝. 尘螨与变态反应性疾病 [M]. 北京: 科学出版社, 2018: 190-204.

group B *Streptococcus* infections among pregnant and postpartum women[J]. Clin Infect Dis, 2011, 53(2):114-123.

[3] Kortsalioudaki C, Scott S, et al. Group B streptococcal disease in infants aged younger than 3 months; systematic review and meta-analysis[J]. Lancet, 2012, 379(9815):547-556.

[4] Minami M, Nishiyama H, Ikegami S, et al. Trend of invasive streptococcus agalactiae at tertiary care hospital in Japan [J]. J Biosci Med, 2016, 4(3):15-20.

[5] Kwatra G, Gunnington MC, Merrall E, et al. Prevalence of maternal colonisation with group B *Streptococcus*: a systematic review and meta-analysis[J]. Lancet Infect Dis, 2016, 16(9):1076-1084.

[6] Gynecologists. A C O N. Prevention of group B streptococcal early-onset disease in newborns[J]. Obstet Gynecol, 2019, 134(1):206-210.

[7] Lao TT. Epidemiological factors impact group B streptococcus carriage[J]. An Intern J Obstetrics Gynaecol, 2019, 126(11):1353.

[8] 时春艳, 曲道辉, 杨磊, 等. 妊娠晚期孕妇 B 族链球菌带菌状况的检测及带菌对妊娠结局的影响[J]. 妇产科微生物学, 2010, 22(10):942-944.

[9] 宋海燕. 孕晚期妇女 B 族链球菌的筛查及其分子流行特征分析[D]. 青岛大学, 2020.

[10] 左麦红, 余丽雅, 陈倩. 1450 例孕妇 B 族链球菌感染的高危因素及妊娠结局分析[J]. 重庆医学, 2020, 11(22):3755-3758.

[11] 覃德明. 围产期妇女携带 B 族链球菌的血清分型及其耐药性分析[D]. 南昌大学, 2021.

[12] Rusell NJ, Seale AC, O’driscoll M, et al. Maternal colonization with group B streptococcus and serotype distribution worldwide: systematic review and meta-analyses[J]. Clin Infect Dis, 2017, 65(suppl 2):S100-S111.

[13] 何青青. 围产期孕妇生殖道 B 族链球菌感染相关因素及对妊娠结局的影响[D]. 新乡医学院, 2020.

[14] 王莹, 何佩, 陈莉, 等. 孕晚期生殖道 B 族链球菌感染的影响因素分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2019, 29(17):2700-2704.

[15] 廖宗琳, 陈丽霞, 沈宏志, 等. 围产期孕妇生殖道 B 族链球菌感染的影响因素分析及对妊娠结局的影响[J]. 中华医院感染学杂志, 2018, 28(2):247-253.

【收稿日期】 2022-03-09 【修回日期】 2022-05-13

(上接 545 页)

[12] Drame PM, Fink DL, Kamgno J, et al. Loop-mediated isothermal amplification for rapid and semiquantitative detection of Loa Loa infection [J]. J Clin Microbiol, 2014, 52(6):2071-2077.

[13] 吴丹丹, 李保胜, 亢继文, 等. RT-LAMP 与 LAMP 法检测结核分枝杆菌的效果比较[J]. 中国人兽共患病学, 2018, 34(3):248-254.

[14] Lu T, Tao L, Yu H, et al. Development of a reverse transcription loop mediated isothermal amplification assay for the detection of Mouse reovirus type 3 in laboratory mice [J]. Sci Rep, 2021(11):3508.

[15] Inaba M, Higashimoto Y, Toyama Y, et al. Diagnostic accuracy of LAMP versus PCR over the course of SARS-CoV-2 infection [J]. Int J Infect Dis, 2021(107):195-200.

[16] Kitajima H, Tamura Y, Yoshida H, et al. Clinical COVID-19 diagnostic methods: Comparison of reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) and quantitative RT-PCR (qRT-PCR) [J]. J Clin Virol, 2021(139):104813.

[17] Fowler VL, Armson B, Gonzales JL, et al. A highly effective reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) assay for the rapid detection of SARS-CoV-2 infection [J]. J Infect, 2021, 82(1):117-125.

【收稿日期】 2022-02-04 【修回日期】 2022-04-27