

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20241029007

引用格式: 段吉燕, 舒平, 郭启新, 等. 环介导等温扩增技术在真菌检测中的应用研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(4): 284-290.

DUAN JY, SHU P, GUO QX, *et al.* Research progress on the application of loop-mediated isothermal amplification in the detection of fungi [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(4): 284-290. (in Chinese with English abstract).

环介导等温扩增技术在真菌检测中的应用研究进展

段吉燕^{1,2}, 舒平², 郭启新², 徐幸^{2*}

(1. 大理大学公共卫生学院, 大理 671000; 2. 大理白族自治州检验检测院, 大理 671000)

摘要: 真菌是日常生活中较为常见的一种微生物, 与我们的生活息息相关、有利有弊。其有害影响体现在多个方面, 例如有些真菌会导致农作物病害而减产, 误食毒蕈会引起食物中毒, 威胁人们的生命安全, 此外致病真菌还会引起真菌感染等疾病危害人们的身体健康, 因此能快速、准确地检测出病原真菌和识别出毒蕈是非常重要的。环介导等温扩增技术(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)是近几年广泛使用的一种核酸扩增技术, 该技术使用 DNA 聚合酶和特异性引物, 在恒温条件下, 短时间内高效率扩增核酸, 相较于传统的分子生物学方法, 该方法对仪器要求不高, 具有快速、灵敏、简单等特点。目前 LAMP 已广泛应用于细菌、真菌和病毒等微生物的检测, 本文对 LAMP 在真菌检测方面的应用进行总结, 以期对相关研究提供参考。

关键词: 环介导等温扩增技术; 真菌; 核酸扩增

Research progress on the application of loop-mediated isothermal amplification in the detection of fungi

DUAN Ji-Yan^{1,2}, SHU Ping², GUO Qi-Xin², XU Xing^{2*}

(1. School of Public Health, Dali University, Dali 671000, China;
2. Dali Bai Autonomous Prefecture Inspection and Testing Institute, Dali 671000, China)

ABSTRACT: Fungi are one of the more common microorganisms in our daily lives, and are closely related to our lives, with both advantages and disadvantages. Its harmful effects are manifested in a number of ways. For example, some fungi can cause crop diseases and reduce yield, accidental consumption of poisonous mushrooms can cause food poisoning and threaten people's lives, in addition, pathogenic fungi can also cause fungal infections and other diseases that are harmful to people's health, so it is very important to be able to quickly and accurately detect pathogenic fungi and identify poisonous mushrooms. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) is a nucleic acid amplification technique widely used in recent years, which uses DNA polymerase and specific primers to amplify nucleic acids with high efficiency in a short period of time under constant temperature conditions, compared

收稿日期: 2024-10-29

基金项目: 云南省市场监督管理局科技计划项目(2022YSJK01)

第一作者: 段吉燕(1998—), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为公共卫生。E-mail: 207626148@qq.com

*通信作者: 徐幸(1983—), 女, 博士, 高级工程师, 主要研究方向为食品质量安全检测。E-mail: xuxing1983@163.com

with traditional molecular biology methods, this method does not require high instrumentation, and is characterized by rapidity, sensitivity and simplicity. At present, LAMP technology has been widely used in the detection of microorganisms such as bacteria, fungi and viruses, and this paper summarised the application of LAMP technology in the detection of fungi to provide a reference for related research.

KEY WORDS: loop-mediated isothermal amplification technique; fungi; nucleic acid amplification

0 引言

真菌是一种真核生物,广泛存在于自然界中,包括大型真菌、酵母和霉菌等,是一类非常重要的植物病原菌,大部分的植物病害都是由真菌引起的,较早检测出病原真菌有利于植物真菌病害的及时防治,能在一定程度上减少经济损失^[1]。而大型真菌是指有肉眼可见子实体的真菌,具有重要的经济价值和生态功能,包括蕈菌、蘑菇等,其中除常见食用菌和药用菌外,还有一部分的毒蘑菇^[2-3]。有些毒蘑菇与可食用菌相似容易混淆,极易被误食而导致中毒,世界各地每年都有毒蘑菇中毒事件的发生,毒蘑菇中毒已经是全球性的公共卫生问题,能快速检出毒蘑菇对于预防毒蘑菇中毒事件的发生和中毒病人的及时治疗均有重要意义^[4-6]。此外,真菌及其毒素通过污染粮食作物,或者通过皮肤接触、呼吸道等途径对人们的生命健康造成影响^[7],而相关真菌疾病的临床诊断和治疗的关键之一是及时快速的检测出病原菌^[8]。目前对于细菌、真菌等病原微生物的检测有传统的分离培养法、聚合酶链式反应法(polymerase chain reaction, PCR)等方法,但这些方法或所需时间较长或需要昂贵的仪器,不利于快速检测和基层推广使用。环介导等温扩增技术(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)是一种新型核酸体外扩增技术,该技术操作简单,对设备要求不高,具有简便快捷、灵敏度高、特异性好等优点^[9],能在短时间内快速高效扩增目标基因。经过不断的研究发展,目前 LAMP 在食品安全检测、动植物病害检测、生物医药等多个领域均有广泛应用。

1 LAMP 原理及产物检测

1.1 原理

LAMP 由日本学者 NOTOMI 等^[10]在 2000 年首次提出,该技术依赖具有高链置换活性的 Bst DNA 聚合酶和特异性引物,包括起始结构形成和循环扩增两个阶段。首先根据靶基因的 6 个不同区域设计 4 个特异性引物,包括 1 对内引物(FIP、BIP)和 1 对外引物(F3、B3)。起始结构形成阶段,在酶的作用下 4 个引物与模板作用,最终形成哑铃状结构;循环扩增阶段,使用哑铃状的 DNA 作为模板,在内引物的参与下循环扩增,最终的产物为多个反向重复靶序列构成的多环花椰菜状结构 DNA。该反应在 60~65 °C 恒温

条件下反应 30~60 min 扩增靶序列,对核酸具有很高的扩增效率,可达 10^9 的指数级扩增。LAMP 原理图见图 1。

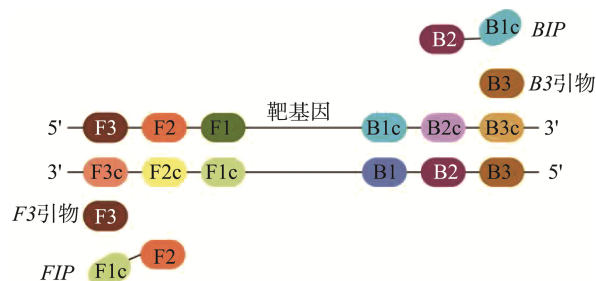


图 1 LAMP 原理图

Fig.1 Principle of amplification by LAMP

1.2 产物检测

LAMP 扩增产物的检测有多种方法可以选择以下方法。

(1)浊度法,在 LAMP 反应过程中, Mg^{2+} 与焦磷酸根离子结合会生成焦磷酸镁白色沉淀,可直接用肉眼观察是否产生白色沉淀来判断目标基因是否发生扩增,也可结合浊度仪实时监测,得到的结果更为准确可靠^[11]。

(2)琼脂糖凝胶电泳法,是普遍使用的核酸检测方法,用于 LAMP 的扩增产物检测时,由于 LAMP 的扩增产物是序列大小、长短不一的序列,所以阳性结果电泳可观察到明显的阶梯状条带^[12],但该方法需要开盖检测,极易造成污染,因此需小心操作且严格分区。

(3)核酸染料法,SYBR Green I 染料灵敏度高,但因为会影响酶,所以需要在反应后加入^[13]。樊月圆等^[14]建立了羊源产气荚膜梭菌的 LAMP 快速检测方法,在 LAMP 反应中加入 SYBR Green I 染料实现可视化,该染料在紫外照射下,阳性结果呈绿色荧光,阴性结果无荧光且呈淡黄色。胡元庆等^[15]基于副溶血性弧菌的 *t1h* 基因,优化了水产品中副溶血性弧菌 LAMP 检测方法,产物鉴定使用 SYBR Green I 染色和 2% 琼脂糖凝胶电泳对照。

(4)金属染料法,目前无需开盖的可视化 LAMP 检测方法应用较为广泛,该方法是在反应开始前,在 LAMP 反应体系中加入指示染料,观察反应后的颜色变化。田卓等^[16]使用钙黄绿素结合 LAMP 建立了水产品和水体中灿烂弧菌的可视化 LAMP 快速检测方法,该方法简单、可靠。此外,在 LAMP 检测中使用较多的指示染料还有羟基萘酚蓝(hydroxynaphthol blue, HNB),该指示染料呈紫罗兰色为阴

性,呈天蓝色为阳性。张鹏飞等^[17]使用 HNB 作为染料,建立了牛奶中产志贺毒素大肠埃希氏菌的 LAMP 快速检测方法,可凭肉眼直接观察结果。欧红玲等^[18]基于 LAMP,加入 HNB 进行可视化,建立了志贺菌的快速检测方法,无需开盖,30 min 即可得到结果。

2 LAMP 的特点

LAMP 检测相较于 PCR 等其他分子生物学检测方法有以下 4 种优点。

(1)高特异性。尹小毛等^[19]研究报道使用 LAMP 对 7 种病原菌进行检测,特异度均为 100%。崔健等^[20]建立了食源性甲型肝炎病毒(hepatitis A virus, HAV)的 LAMP 检测方法,分别使用荧光曲线逆转录(reverse transcription, RT)-LAMP 和可视化 RT-LAMP 检测目标样品 HAV 质粒和 GI 型诺如病毒、GII 型诺如病毒、轮状病毒、星状病毒、腺病毒等 5 种非目标样品质粒,结果显示两种方法都只有 HAV 发生了阳性扩增。郑如雯等^[21]将 LAMP 与横向流动层析试纸(lateral flow dipstick, LFD)相结合,建立了牛病毒性腹泻病毒(bovine viral diarrhea virus, BVDV)的检测方法,可以特异的检测出 BVDV。

(2)高灵敏性。范阳阳等^[22]建立了牛奶中金黄色葡萄球菌、鼠伤寒沙门菌和大肠杆菌 O517:H7 的 LAMP 检测方法,该方法的灵敏度比常规 PCR 高 10 倍。薛晓岩等^[23]使用 LAMP 和 PCR 法分别检测禽腺病毒 4 型,结果显示 LAMP 的检出限可达 7.5×10^{-8} ng/ μ L 的 DNA,灵敏度是 PCR 法的 100 倍,且 LAMP 的临床样品阳性检出率更高,因此比 PCR 法更适用于临床样品检测。赵玥明等^[24]将 LAMP 用于检测肉中的金黄色葡萄球菌,发现 LAMP 的灵敏度是同样是 PCR 的 100 倍。从这些研究结果可以看出,LAMP 的灵敏度比传统 PCR 等方法更高。

(3)简单。LAMP 反应不需要昂贵、复杂的仪器,只需要一个简单,易获得的恒温仪器,比如水浴锅等,提高了普及性,因此该方法有利于在基层等推广使用。

(4)快速。这是 LAMP 反应的一个明显的优点,在一般情况下只需 1 h 左右的时间就能判读结果,有些在 30 min 左右就能得到结果^[25],而实时荧光 LAMP 所需的反应时间更短,在 20 min 左右即可得到结果^[26]。

3 LAMP 在真菌检测中的应用

3.1 LAMP 在植物真菌病害检测中的应用

在植物病原真菌检测方面,建立快速、准确的病原真菌检测方法对植物真菌病害的防治是非常重要的,可以在早期及时发现、预防植物病害。目前 LAMP 在造成农业病害的真菌、细菌等病原微生物的快速检测方面已有较为广泛的应用^[27]。王冠华^[28]针对苹果霉心病菌的 *TUB* 和 *En39*

基因序列,苹果斑点落叶病菌和苹果红点病菌的 *aagp* 基因序列,苹果腐烂病菌 *TUB* 和 *PMA1* 基因序列,以及苹果炭疽病菌 *TUB* 基因序列分别设计了特异性引物,成功建立了这 4 种苹果真菌病害的 LAMP 快速检测方法,在 65 °C 下反应 60 min 即可得到结果。该方法还适用于田间样品的检测,且这 4 种致病真菌的 LAMP 检出率高于 PCR 检测和传统分离检测方法,为烟台地区苹果病原真菌的诊断和防治提供了新的技术方法。GHOSH 等^[29]基于鹰嘴豆干根腐病真菌的部分 ITS 和 5.8S 序列的保守区设计了 6 条特异性引物,在 63 °C 下反应 75 min,加入 SYBR-Green I 染料进行 LAMP 可视化检测,该方法检出限为 10 fg DNA,能灵敏、快速检测出鹰嘴豆的干根腐病菌。张书亚^[30]建立了稻种中恶苗病菌的 LAMP 检测体系,针对 *NRPS31* 基因序列设计了 4 条引物,优化 LAMP 反应体系后,结果显示能检测到低至 0.001 ng/ μ L 质量浓度的 DNA。此外该学者还分别基于稻曲病菌的 *RPS* 基因和稻瘟病菌 *ALB1* 基因的保守区域分别设计了 4 条特异性 LAMP 引物,建立了稻曲菌病和稻瘟菌病的 q-LAMP 检测体系,灵敏度远远高于 q-PCR,为水稻真菌病害的早期检测提供了技术支持。由此可见,LAMP 在植物病原真菌的检测中比 PCR 法具有更高的灵敏性、特异性,所需检测时间也更少。

检出植物病原真菌后,及时进行防治有利于农作物的正常生长,植物真菌病害常用的防治方法有物理防治、化学防治、生物防治,其中生物防治对环境友好且不易产生抗性,主要通过生防真菌、生防细菌、生防放线菌达到防治效果,目前逐渐被应用于植物真菌病害的防治^[31]。玫烟色棒束孢是一种虫生真菌,对蚜虫、粉虱的等害虫的生物防治有重要作用,但如何科学的评价其防治效果是一个难题。刘晓菲等^[32]使用金属离子 Calcein 作为指示剂,首次建立了高灵敏度、高特异性的玫烟色棒束孢的 LAMP 可视化检测体系,该方法的检出限为 10 fg,灵敏度比常规 PCR 高 100 倍,与其他生物防治菌和病原菌无交叉反应,且在 1 h 内就能得到检测结果,为玫烟色棒束孢菌株的毒力测定与安全性评价提供了新的技术支持,不仅能更好地对其田间应用进行科学评价,还能对其他生物防治菌的科学应用提供参考。综上所述,LAMP 在植物真菌病害的快速检测中应用较广,不仅可以在早期检测出引起农作物真菌病害的病原真菌,还在其生物防治中起到重要作用。

3.2 LAMP 在毒蕈检测中的应用

毒蕈也就是毒蘑菇,在全球范围内已报道 1000 多种,误食后会导致中毒,引起身体功能、器质性损害,对人们的健康乃至生命造成威胁,因此建立一种毒蘑菇的快速检测方法是至关重要的^[33-34]。2013 年,VAAGT 等^[35]基于 LAMP,建立了检测方法,可以在不同蘑菇混合物中检测出剧毒鹅膏,这是较早将该技术应用于剧毒鹅膏检测的研

究。高洁等^[36]针对疣孢褐盘菌核糖体 DNA 内部 ITS 序列设计了特异性 LAMP 引物,建立了使用酚红指示剂的可视化 LAMP 和实时荧光 LAMP 两种检测方法并相互验证,30~45 min 即可得到结果,LAMP 所用的检测时间比 PCR 法短。且该方法只需少量的 DNA 即可检测,检出限可达 0.8 ng/ μ L,还可以对加工、胃液消化后的蘑菇进行检测,可用于临床诊断和法医分析。蒋子娟等^[37]建立了基于 LAMP 的肉褐鳞环柄菇的快速检测方法,结合 HNB 染料,可在 1 h 内得到检测结果,检出限为 7.56 pg/ μ L,可以快速、准确的检测出肉褐鳞环柄菇。何正蜜^[38-39]基于 LAMP,设计了两组通用引物,一组用来区分鹅膏菌属与非鹅膏菌属,另一组用于区分剧毒鹅膏和非剧毒鹅膏,并分别建立了 LAMP 检测方法;此外,还针对不同种的剧毒鹅膏设计了相应的特异性引物,结合 HNB 建立了相应的 LAMP 检测方法,总而言之,其所建立的 LAMP 检测方法能快速、简单、灵敏的检测和鉴定出鹅膏菌属以及剧毒鹅膏。LONG 等^[40]使用 LAMP 建立了亚稀褶红菇的快速检测方法,采用实时荧光定量系统、凝胶电泳和 HNB 染料 3 种方法检测 LAMP 的扩增产物,3 种方法的灵敏度均为传统 PCR 的 100 倍,且检测时间只需 45 min,少于 PCR 法,提高了检测效率。GAO 等^[41]通过对黄环鹅膏的 ITS 序列设计特异性引物,建立实时荧光 LAMP 检测方法,结果显示与 41 种非目标蘑菇无交叉反应,说明该方法灵敏度、特异性都较高,能快速、准确检测出黄环鹅膏。WANG 等^[42]建立了大青褶伞的 LAMP 快检方法,检出限可达 1 pg 的 DNA,同时该方法也适用于快速检测煮过和消化后的样品,在短时间内也可检测出低至 1%的大青褶伞。文莉等^[43]也提到基于 LAMP 可以快速、灵敏的检测出致死性毒蘑菇,检出限可达到致死剂量的 1/10。综上,LAMP 在毒蕈的快速检测中发挥重要作用,不仅缩短了检测时间,还可以应用于临床诊断,对野生菌中毒事件的及时处置、中毒患者的及时救治均有积极意义。

3.3 LAMP 在人类真菌疾病检测中的应用

当真菌作为一种病原微生物时,常会引起人类多种疾病的发生,无论是浅表真菌感染,还是侵袭性真菌感染都会威胁人们的健康,且近几年真菌感染的发病呈现上升的趋势^[44-45]。而选择合适治疗方法的关键是及早识别出致病真菌病原体,有利于快速准确作出诊断,为临床治疗用药提供参考。CHOOPARA 等^[46]基于 LAMP,设计了 ITS1 LAMP 引物,加入 HNB 染料可视化,建立了 ITS1 LAMP-HNB 真菌检测方法,能检测出食物、血液中的真菌,说明 LAMP 检测可用于临床检测。AHMED 等^[47]使用 LAMP 和重组酶聚合酶扩增(recombinase polymerase amplification, RPA)两种方法检测真菌瘤的病原真菌-足菌肿马杜拉分支菌,结果表明,这两种方法对真菌 DNA 的

扩增均具有较强的特异性和较高的灵敏度,LAMP 检出限为 0.47 ng,这也是首次报道将分子技术应用于检测临床标本中的足菌肿马杜拉分支菌。TATIBANA 等^[48]针对副球孢子菌病原体巴西副球孢子菌的 *gp43* 基因的部分序列设计了引物,建立了副球孢子菌病的 LAMP 检测方法,该方法灵敏、快速,且不会产生交叉反应,特异性好,可作为副球孢子菌病的诊断方法之一。LAMP 相较于传统的培养法等方法,检测时间缩短,灵敏度、特异性也高,在临床检测方面的应用有着较大的潜力。

4 结束语

LAMP 是一种分子生物学快速检测技术,有快速、准确,所需设备简单等优点,但也存在着引物设计难、易污染,假阳性等优点。造成假阳性的原因可能有非特异性扩增、气溶胶污染等,非特异性扩增可能与引物二聚体的产生等有关,还需要更多的研究;而气溶胶污染与 LAMP 产物检测有关,LAMP 灵敏度高,开盖检测容易造成气溶胶污染,目前通过改良产物检测方式,如在反应前提前加入 HNB 染料可视化等,能在一定程度上解决气溶胶污染的问题。随着技术的进步,有望在今后 LAMP 的相关研究中有效解决这些问题。此外,还可以将 LAMP 与其它技术联用:如将 LAMP 与微流体芯片结合用于登革病毒的检测,该方法为设计特异性引物、制备 LAMP 微流控芯片并检测,方便灵敏且所需时间短,还可以用于现场检测,为蚊媒登革病毒的快速检测和防控提供了新的技术手段^[49]。或者将 LAMP 与横向流动试纸条(lateral flow dipstick, LFD)联用,将 LAMP 与胶体金免疫层析技术相结合,建立 LAMP-LFD 法用于检测沙门菌,该方法灵敏度高,临床标本检测结果与荧光 PCR 法一致,相较于传统的培养法大大缩短了检验时间,可在短时间内得到结果,因此该方法适用于沙门菌的快速筛查^[50]。LAMP 适用于现场检测,为公共卫生事件的应急处置提供了新的思路,可以用于传染病的监测、预防,食物中毒的快速检测等,有利于提升公共卫生应急能力。此外,还可与纳米金、酶联免疫吸附等技术相结合^[51-52]。技术联用不仅可以有效扩大 LAMP 的应用范围,实现高通量检测^[53],还可以使 LAMP 更加简便易行。

综上,建立真菌的 LAMP 快速检测方法,用于检测毒蘑菇、植物病原真菌和人类致病真菌等,可以快速简单的检测出真菌,有灵敏度高、特异度高、快速等特点,在植物真菌病害防治、人类真菌病的治疗等方面均有重要意义,可以为疾病预防、食品安全,农业发展等提供更有力的技术保障。随着 LAMP 的不断发展与其他技术的融合,在未来该技术将更适用于基层检测、现场化检测,在临床检测、公共卫生事件应急处置、动植物检验检疫等多领域有广阔的应用前景。

参考文献

- [1] 彭丹丹, 张源明, 舒灿伟, 等. 植物病原真菌分子检测技术的研究进展[J]. 基因组学与应用生物学, 2017, 36(5): 2015–2022.
PENG DD, ZHANG YM, SHU CW, *et al.* Research progress on the molecular detection techniques of plant pathogenic fungi [J]. Genomics and Applied Biology, 2017, 36(5): 2015–2022.
- [2] 贺茂强, 朱新宇, 李泰辉, 等. 世界大型真菌分类系统及信息平台 <http://www.nmdc.cn/macrofungi/> 上线 [J]. 菌物学报, 2022, 41(6): 899–905.
HE MQ, ZHU XY, LI TH, *et al.* Macrofungal classification system and information platform <http://www.nmdc.cn/macrofungi/> is launched [J]. Mycosystema, 2022, 41(6): 899–905.
- [3] 戴玉成, 杨祝良, 崔宝凯, 等. 中国森林大型真菌重要类群多样性和系统学研究[J]. 菌物学报, 2021, 40(4): 770–805.
DAI YC, YANG ZL, CUI BK, *et al.* Diversity and systematics of the important macrofungi in Chinese forests [J]. Mycosystema, 2021, 40(4): 770–805.
- [4] 万蓉, 刘志涛, 万青青, 等. 2011–2017年云南省野生菌中毒情况分析[J]. 卫生软科学, 2019, 33(10): 84–86, 97.
WAN R, LIU ZT, WAN QQ, *et al.* Analysis of wild mushroom poisoning in Yunnan Province, 2011–2017 [J]. Soft Sciences for Health, 2019, 33(10): 84–86, 97.
- [5] 马春茂, 彭爱华, 曹钰. 鹅膏毒肽蘑菇中毒的研究进展[J/OL]. 华西医学, 1–7. [2023-10-22]. DOI: 10.7507/1002-0179.202309217
MA CM, PENG AIH, CAO Y. Research progress of amanitin-containing mushroom poisoning [J/OL]. West China Medical Journal, 1–7. [2023-10-22]. DOI: 10.7507/1002-0179.202309217
- [6] HE ZF, LI XH, FENG M, *et al.* Wild mushroom poisoning: A case study of amatoxin-containing mushrooms and implications for public health [J]. Toxicon, 2024, 240: 107639.
- [7] 吕建欣, 郭梦月, 张会茹, 等. 磁性纳米材料的制备、修饰及其在真菌毒素检测和脱除中的应用研究进展[J/OL]. 食品科学, 1–21. [2024-08-04]. DOI: 10.7506/spkx1002-6630-20240407-049
LV JX, GUO MY, ZHANG HR, *et al.* Research advance in the preparation and modification of magnetic nanomaterials and their application in mycotoxin detection and removal [J/OL]. Food Science, 1–21. [2024-08-04]. DOI: 10.7506/spkx1002-6630-20240407-049
- [8] 杨靖, 胡姣姣, 柏先泽, 等. 环介导等温扩增技术在病原微生物快速检测中的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(23): 6082–6089.
YANG J, HU JJ, BAI XZ, *et al.* Research progress of loop-mediated isothermal amplification technology in rapid detection of pathogenic microorganisms [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2018, 9(23): 6082–6089.
- [9] 张曼, 刘宝林, 高志贤. 环介导等温扩增技术的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(18): 6124–6130.
ZHANG M, LIU BL, GAO ZX. Research progress of loop-mediated isothermal amplification technology [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2019, 10(18): 6124–6130.
- [10] NOTOMI T, OKAYAMA H, MASUBUCHI H, *et al.* Loop-mediated isothermal amplification of DNA [J]. Nucleic Acids Research, 2000, 28(12): E63.
- [11] 徐匆, 罗华建, 李艳芳, 等. 环介导等温扩增技术的应用及研究进展[J]. 广东农业科学, 2019, 46(4): 116–123.
XU C, LUO HJ, LI YF, *et al.* Application and progress of loop-mediated isothermal amplification technology [J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2019, 46(4): 116–123.
- [12] 李森, 王源升, 余红伟, 等. 多重环介导等温扩增技术的研究进展[J]. 生物技术通讯, 2017, 28(2): 217–221.
LI S, WANG YS, YU HW, *et al.* Development of the multiplex loop-mediated isothermal amplification technology [J]. Letters in Biotechnology, 2017, 28(2): 217–221.
- [13] 贾晓曼, 翟浩, 张勇, 等. LAMP技术的染料、辅助剂的研究进展[J]. 江西农业学报, 2018, 30(12): 60–65.
JIA XM, ZHAI H, ZHANG Y, *et al.* Research progress in dyes and additives for lamp technology [J]. Acta Agriculturae Jiangxi, 2018, 30(12): 60–65.
- [14] 樊月圆, 王瑾艺, 刘亚波, 等. 羊源产气荚膜梭菌LAMP检测方法的建立 [J/OL]. 中国兽医科学, 1–10. [2024-09-21]. DOI: 10.16656/j.issn.1673-4696.2025.0013
FAN YY, WANG JY, LIU YB, *et al.* Establishment of a lamp detection method for *Clostridium perfringens* in sheep [J/OL]. Chinese Veterinary Science, 1–10. [2024-09-21]. DOI: 10.16656/j.issn.1673-4696.2025.0013
- [15] 胡元庆, 黄玉萍, 李凤霞, 等. 水产品中副溶血性弧菌LAMP检测方法的优化[J]. 现代食品科技, 2017, 33(6): 313–320, 247.
HU YQ, HUANG YP, LI FX, *et al.* Optimization of loop-mediated isothermal amplification methods for the detection of *Vibrio parahaemolyticus* in aquatic products [J]. Modern Food Science and Technology, 2017, 33(6): 313–320, 247.
- [16] 田卓, 郑秋月, 麻丽丹, 等. 水产品和水体中灿烂弧菌现场可视化环介导等温扩增快检方法的建立及应用[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2022, 38(1): 108–119.
TIAN Z, ZHENG QY, MA LD, *et al.* Establishment and application of visual lamp methods for quick detection of *Vibrio splendidus* in aquatic products and water [J]. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2022, 38(1): 108–119.
- [17] 张鹏飞, 张萌, 阮傅倩, 等. 可视化环介导等温扩增法检测牛奶中产志贺毒素大肠埃希氏菌[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(23): 7598–7604.
ZHANG PF, ZHANG M, RUAN FQ, *et al.* Determination of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in milk by visual loop mediated isothermal amplification [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2022, 13(23): 7598–7604.
- [18] 欧红玲, 王岩, 白静, 等. 基于环介导等温扩增的志贺菌快速检测方法的建立[J]. 标记免疫分析与临床, 2021, 28(5): 847–852.
OU HL, WANG Y, BAI J, *et al.* A rapid detection method of Shigella based on loop mediated isothermal amplification [J]. Labeled Immunoassays and Clinical Medicine, 2021, 28(5): 847–852.
- [19] 尹小毛, 希伦, 王治伟. 应用环介导等温扩增技术快速检测血培养阳性瓶中的七种常见病原菌[J]. 广州医科大学学报, 2021, 49(2): 89–93.
YIN XM, XI L, WANG ZW. The Application of loop-mediated isothermal amplification in positive blood bottles for the detection of seven common pathogenic bacteria [J]. Academic Journal of Guangzhou Medical University, 2021, 49(2): 89–93.

- [20] 崔健, 高子惠, 张晓波, 等. 基于荧光及可视化逆转录环介导等温扩增检测食源性甲型肝炎病毒的方法开发[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(18): 103–111.
CUI J, GAO ZH, ZHANG XB, *et al.* Development of a method for the detection of foodborne hepatitis A virus based on fluorescence and visualization loop-mediated isothermal amplification [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2023, 14(18): 103–111.
- [21] 郑如雯, 黄涛, 吴道义, 等. 牛病毒性腹泻病毒 LAMP-LFD 检测方法的建立及初步应用[J/OL]. 畜牧兽医学报, 1-15. [2023-10-29]. DOI: 10.11843/j.issn.0366-6964.2023.11.02
ZHENG RW, HUANG T, WU DY, *et al.* Establishment and preliminary application of LAMP-LFD detection method for bovine viral diarrhea virus [J/OL]. *Acta Veterinaria Et Zootechnica Sinica*, 1-15. [2023-10-29]. DOI: 10.11843/j.issn.0366-6964.2023.11.028
- [22] 范阳阳, 张全芳, 刘艳艳, 等. LAMP 法检测牛奶中金黄色葡萄球菌、鼠伤寒沙门菌和大肠杆菌 O517:H7[J]. 食品与药品, 2017, 19(6): 381–387.
FAN YY, ZHANG QF, LIU YY, *et al.* Detection of *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* O517:H7 in milk by LAMP [J]. *Food and Drug*, 2017, 19(6): 381–387.
- [23] 薛晓岩, 张振兴, 季佳, 等. 禽腺病毒 4 型环介导等温扩增检测方法的建立[J]. 中国兽医科学, 2023, 53(3): 285–291.
XUE XY, ZHANG ZX, JI J, *et al.* Establishment of LAMP method for detection of fowl adenovirus serotype 4 [J]. *Chinese Veterinary Science*, 2023, 53(3): 285–291.
- [24] 赵玥明, 满朝新, 曲艳艳, 等. 环介导等温扩增技术快速检测肉中金黄色葡萄球菌[J]. 中国食物与营养, 2016, 22(1): 57–61.
ZHAO YM, MAN CX, QU YY, *et al.* Rapid detection of *Staphylococcus aureus* in raw meat samples by loop-mediated isothermal amplification [J]. *Food and Nutrition in China*, 2016, 22(1): 57–61.
- [25] 贾雅菁, 付博宇, 王羽, 等. 实时荧光环介导等温扩增技术检测牛乳中的蜡样芽孢杆菌[J]. 食品科学, 2016, 37(6): 184–189.
JIA YJ, FU BY, WANG Y, *et al.* Detection of *Bacillus cereus* in milk by real-time fluorescence loop-mediated isothermal amplification method [J]. *Food Science*, 2016, 37(6): 184–189.
- [26] 徐文文, 宋惠月, 梁玉林, 等. 环介导等温扩增技术检测不同乳制品常见食源性致病菌[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(2): 546–551.
XU WW, SONG HY, LIANG YL, *et al.* Detection of common food borne pathogens in different dairy products by loop-mediated isothermal amplification [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2021, 12(2): 546–551.
- [27] 王一波, 孙泓希, 史普想, 等. 环介导等温扩增技术在农业病害检测中的应用综述[J]. 江苏农业科学, 2024, 52(7): 17–24.
WANG YB, SUN HX, SHI PX, *et al.* A review on the application of ring-mediated isothermal amplification in agricultural disease detection [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2024, 52(7): 17–24.
- [28] 王冠华. 烟台地区苹果重要病害 LAMP 快速检测体系的建立[D]. 烟台: 烟台大学, 2021.
WANG GH. Establishment of LAMP rapid detection system for apple diseases in Yantai [D]. Yantai: Yantai University, 2021.
- [29] GHOSH R, TARAFDAR A, SHARMA M. Rapid and sensitive diagnoses of dry root rot pathogen of chickpea [*Rhizoctonia bataticola* (Taub.) Butler] using loop-mediated isothermal amplification assay [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 42737.
- [30] 张书亚. 恶苗病的田间抗药性及水稻三种真菌病害的快速检测技术研究[D]. 杭州: 浙江农林大学, 2019.
ZHANG SY. Study on field resistance of bakanae disease to fungicides and rapid detection techniques of rice three fungal diseases [D]. Hangzhou: Journal of Zhejiang A & F University, 2019.
- [31] 蒲欣, 吴茂华, 刘锋, 等. 芽孢杆菌对玉米真菌病害生物防治效果的研究进展[J]. 江苏农业科学, 2024, 52(4): 23–30.
PU X, WU MH, LIU F, *et al.* Research progress on the biological control effect of *Bacillus sphaericus* on fungal diseases of maize [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2024, 52(4): 23–30.
- [32] 刘晓菲, 陈睿元, 郑宇. 基于环介导等温扩增技术的玫瑰色棒束孢可视化检测[J]. 中国生物防治学报, 2020, 36(5): 795–801.
LIU XF, CHEN RY, ZHENG Y. Visual detection of entomogenous fungi *Isaria fumosorosea* by loop-mediated isothermal amplification technology [J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2020, 36(5): 795–801.
- [33] 宋阳, 张誉, 陈文, 等. 2016-2018 年四川省毒蕈中毒事件流行病学分析[J]. 预防医学情报杂志, 2021, 37(7): 982–987.
SONG Y, ZHANG Y, CHEN W, *et al.* Epidemiological analysis on mushroom poisoning events in Sichuan Province from 2016 to 2018 [J]. *Journal of Preventive Medicine Information*, 2021, 37(7): 982–987.
- [34] 陈文, 林黎, 田玉琼. 2020 年四川省毒蕈中毒事件及毒蕈种类分析[J]. 现代预防医学, 2022, 49(5): 922–926.
CHEN W, LIN L, TIAN YQ. Mushroom poisoning outbreaks and toadstool species in Sichuan [J]. *Modern Preventive Medicine*, 2022, 49(5): 922–926.
- [35] VAAGT F, HAASE I, FISCHER M. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP)-based method for rapid mushroom species identification [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61(8): 1833–1840.
- [36] 高洁, 王楠, 张娟, 等. 基于环介导等温扩增技术快速检测疣孢褐盘菌[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(20): 6503–6510.
GAO J, WANG N, ZHANG J, *et al.* Rapid detection of *Peziza badia* based on loop-mediated isothermal amplification method [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2022, 13(20): 6503–6510.
- [37] 蒋子娟, 龙攀, 何正蜜, 等. 利用环介导等温扩增技术快速可视化检测肉褐鳞环柄菇[J]. 菌物研究, 2023, 21(Z1): 207–213.
JIANG ZJ, LONG P, HE ZM, *et al.* Rapid and visual detection of *Lepiota brunneoincarnata* based on loop-mediated isothermal amplification [J]. *Journal of Fungal Research*, 2023, 21(Z1): 207–213.
- [38] 何正蜜. 基于环介导等温扩增技术快速检测和鉴定剧毒鹅膏的研究[D]. 长沙: 湖南师范大学, 2016.
HE ZM. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP)-based assay for rapid detection and identification of lethal amanitas [D]. Changsha: Hunan Normal University, 2016.
- [39] 何正蜜. 剧毒鹅膏等温扩增检测及鹅膏毒素基因多样性研究[D]. 长沙: 湖南师范大学, 2019.
HE ZM. Isothermal amplification detection for lethal amanitas and the diversity of toxin genes in amanitas mushrooms [D]. Changsha: Hunan Normal University, 2019.
- [40] LONG P, JIANG Z, HE Z, *et al.* Development of a loop-mediated isothermal amplification assay for the rapid detection of *Russula*

- subnigricans* and *Russula japonica* [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 918651.
- [41] GAO J, XIE RB, WANG N, *et al.* Rapid identification of *Amanita citrinoannulata* poisoning using colorimetric and real-time fluorescence and loop-mediated isothermal amplification (LAMP) based on the nuclear ITS region [J]. *Food Chemistry: Molecular Sciences*, 2022, 4: 100082.
- [42] WANG N, ZHAO ZY, GAO J, *et al.* Rapid and visual identification of chlorophyllum molybdates with loop-mediated isothermal amplification method [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 638315.
- [43] 文莉, 欧三桃. 鹅膏毒菌的研究现状及展望[J]. *西南军医*, 2019, 21(2): 142–146.
- WEN L, OU ST. Current status and prospect of the research on the *Amanita* [J]. *Journal of Military Surgeon in Southwest China*, 2019, 21(2): 142–146.
- [44] 黄维晨, 唐朝贵, 梁松, 等. 淮安地区公立医疗机构真菌感染检测能力调查[J]. *临床检验杂志*, 2024, 42(8): 628–633.
- HUANG WC, TANG ZG, LIANG S, *et al.* Survey on the detection ability of fungal infections in public medical institutions in Huaian area [J]. *Chinese Journal of Clinical Laboratory Science*, 2024, 42(8): 628–633.
- [45] 龚晓雪, 马迁, 俞迪, 等. 临床常见真菌分离菌株的种类、分布及其耐药性分析[J]. *中国真菌学杂志*, 2024, 19(2): 138–142.
- GONG XX, MA Q, YU D, *et al.* Analysis of common fungal infections and drug resistance [J]. *Chinese Journal of Mycology*, 2024, 19(2): 138–142.
- [46] CHOOPARA I, TEETHAISONG Y, ARUNRUT N, *et al.* Specific and sensitive, ready-to-use universal fungi detection by visual color using ITS1 loop-mediated isothermal amplification combined hydroxynaphthol blue [J]. *Peer J*, 2021, 9: e11082.
- [47] AHMED SA, VAN-DE-ANDE WWJ, DESNOS-OLLIVIER M, *et al.* Application of isothermal amplification techniques for identification of *madurella mycetomatis*, the prevalent agent of human mycetoma [J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2015, 53(10): 3280–3285.
- [48] TATIBANA BT, SANO A, UNO J, *et al.* Detection of *Paracoccidioides brasiliensis* gp43 gene in sputa by loop-mediated isothermal amplification method [J]. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 2009, 23(2): 139–143.
- [49] 姜宁, 白洁, 李平, 等. 基于环介导等温扩增微流控芯片技术快速检测蚊媒携带登革病毒方法的建立[J]. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志*, 2024, 42(2): 234–241.
- JIANG N, BAI J, LI P, *et al.* Establishment of a rapid detection method of mosquito-borne dengue virus based on loop-mediated isothermal amplification microfluidic chip technology [J]. *Chinese Journal of Parasitology and Parasitic Diseases*, 2024, 42(2): 234–241.
- [50] 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.
- ZHU CX, ZHENG WL, WU MM, *et al.* Rapid screening of *Salmonella* by loop-mediated isothermal amplification combined with lateral flow dipstick [J]. *Shanghai Journal of Preventive Medicine*, 2021, 33(6): 492–495.
- [51] 谢佳芮, 寇美玲, 苗海生. 环介导等温扩增技术的最新研究进展[J]. *畜牧与兽医*, 2021, 53(2): 119–125.
- XIE JR, KOU ML, MIAO HS. Latest progress in research on loop-mediated isothermal amplification [J]. *Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2021, 53(2): 119–125.
- [52] 刘亚东, 冷雪, 时坤, 等. 环介导等温扩增技术检测方法的研究进展[J/OL]. *中国人兽共患病学报*, 1-8. [2023-04-13]. DOI:10.3969/j.issn.1002-2694.2018.00.068
- LIU YD, LENG X, SHI K, *et al.* Advanced of the detection method of LAMP [J/OL]. *Chinese Journal of Zoonoses*, 1-8. [2023-04-13]. DOI:10.3969/j.issn.1002-2694.2018.00.068
- [53] 秦爱, 张明娟, 邓方进, 等. 等温核酸扩增技术在食源性致病菌检测中的研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2023, 14(5): 173–182.
- QIN AI, ZHANG MJ, DENG FJ, *et al.* Research progress of isothermal nucleic acid amplification techniques in the detection of foodborne pathogens [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2023, 14(5): 173–182.

(责任编辑: 安香玉 蔡世佳)