

魏桢元. 环介导等温扩增技术在食源性沙门氏菌检测中的应用研究进展[J]. 江苏农业科学, 2020, 48(3): 80–85.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.03.013

环介导等温扩增技术在食源性沙门氏菌检测中的应用研究进展

魏桢元

[腾德商品检测(上海)有限公司, 上海 201114]

摘要:沙门氏菌是世界上最常见的食源性致病菌之一,全球每年沙门氏菌中毒事件居细菌性中毒事件首位。环介导等温扩增技术(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)是一种新型的核酸恒温扩增方法。2005 年首次报道了采用 LAMP 技术快速检测沙门氏菌的研究,在随后的十几年中, LAMP 技术不断优化完善,并广泛应用于食品沙门氏菌的现场检测。本综述阐述 LAMP 的技术原理和特点,归纳基于 LAMP 技术的不同平台在沙门氏菌快速检测中的应用,同时对 LAMP 技术假阳性率高的问题进行了探讨,并对 LAMP 技术的研究方向和研究趋势提出了几个设想。

关键词:环介导等温扩增技术;沙门氏菌;食源性致病菌;现场检测;研究进展

中图分类号:TS207.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2020)03-0080-06

沙门氏菌是需氧或兼性厌氧的革兰氏阴性菌,属于肠杆菌科。非伤寒沙门氏菌对人体健康的影响很大。据 WHO 食源性疾病监控计划统计,非伤寒沙门氏菌导致 9 380 万人感染,其中通过食源性导致 8 030 万人感染,每年有 15.5 万人因此而丧生^[1]。沙门氏菌感染对全球造成巨大的经济损失和负担。在 2010 年美国由沙门氏菌感染导致的医疗成本、人员工资损失、过早死亡的成本高达 27 亿美元,这并不包括相关产品召回、疾病防控以及不

可估量的相关生产厂商及农产品的商誉损失^[2]。在中国,70%~80% 细菌性食源性疾病是由沙门氏菌感染引起的,其中 90% 的食物是肉、奶、蛋等畜产品^[3]。已经鉴定出的肠炎沙门氏菌血清型超过 2 500 种,但大多数人体感染是由有限数量的血清型引起的^[4]。肠炎沙门氏菌是最常见沙门氏菌株之一,通常与鸡蛋、家禽及其产品的沙门氏菌病的爆发有关^[5]。在 2016 年全球食品致病菌测试量达到 2.8 亿份,市场价值超过 180 亿美元。其中,测试量排名第一的致病菌是沙门氏菌,占检测量的 43%^[6]。

迄今为止,细菌检测或鉴定主要基于培养的方法^[7]。沙门氏菌的传统检测方法(ISO 6579:2002

收稿日期:2019-08-27

作者简介:魏桢元(1984—),男,硕士,工程师,从事食品安全检测。

E-mail: wzyits@163.com。

[75] Stein T. *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions[J]. *Molecular Microbiology*, 2005, 56(4): 845–857.

[76] Jouzani G S, Valijanian E, Sharafi R. *Bacillus thuringiensis*: a successful insecticide with new environmental features and tidings [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2017, 101(7): 2691–2711.

[77] Turatto M F, Dourado F D, Zilli J E, et al. Control potential of *Meloidogyne javanica* and *Ditylenchus* spp. using fluorescent *Pseudomonas* and *Bacillus* spp. [J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2017, 49(1): 54–58.

[78] del Rosario – Cappellari L, Chiappero J, Banchio E. Invisible signals from the underground: A practical method to investigate the effect of microbial volatile organic compounds emitted by rhizobacteria on plant growth [J]. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 2019, 47(4): 388–393.

[79] Farag M A, Zhang H, Ryu C M. Dynamic chemical communication between plants and bacteria through airborne signals: induced resistance by bacterial volatiles [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2013, 39(7): 1007–1018.

[80] Park H B, Lee B, Kloepper J W, et al. One shot – two pathogens blocked: exposure of *Arabidopsis* to hexadecane, a long chain volatile organic compound, confers induced resistance against both *Pectobacterium carotovorum* and *Pseudomonas syringae* [J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2013, 8(7): e24619.

[81] Choi H K, Song G C, Yi H S, et al. Field evaluation of the bacterial volatile derivative 3 – pentanol in priming for induced resistance in pepper [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2014, 40(8): 882–892.

[82] Lee S, Yap M, Behringer G, et al. Volatile organic compounds emitted by *Trichoderma* species mediate plant growth [J]. *Fungal Biology and Biotechnology*, 2016, 3(1): 7.

《食品和动物饲料微生物学——沙门氏菌检测》, GB 4789.4—2016《食品微生物学检验 沙门氏菌检验》)包括前增菌、选择性增菌、菌落形态观察、生化和血清分型鉴定。传统方法虽然可靠,但是人工操作繁琐,需要几天时间才能确定结果,无法满足食品安全控制的要求^[8-10]。建立公共健康和食品行业快速、灵敏、专一的沙门氏菌检测方法是必要的^[11]。致病菌快速筛选和检测方法已经被开发和验证。由于特异性低,用于检测沙门氏菌的酶联免疫法(ELISA)的应用受到限制^[12]。此外,免疫学快速筛选法需要大量目标病原体^[13]。

近些年来,利用 PCR、real-time PCR 和基因芯片在食源性致病菌检测上的应用已非常广泛^[14-16]。基于分子学方法设计沙门氏菌的目标基因包括 *invA*、*fimC*、*ttrSBCA*、*phoP* 等。大部分的分子学方法已经能够把检测时间缩短到 3 d 以内^[10],但是 PCR 方法仍然需要额外的样品前处理去消除扩增抑制。此外,PCR 方法对化合物中存在的污染和抑制非常敏感,同时,需要凝胶电泳和扩展测序或建立 real-time PCR 体系来完成检测^[17]。因此,需要建立有效和稳定的食源性致病菌快速筛选方法以控制由沙门氏菌造成的风险。环介导等温扩增技术是一种新型的核酸扩增技术,目前已经成为各种细菌、真菌、寄生虫、病毒快速检测手段中 PCR 方法的“替代者”^[18-19]。在 2005 年,Hara-Kudo 发表了首篇 LAMP 技术在沙门氏菌检测中的应用^[20]。此后,LAMP 沙门氏菌检测技术的研究不断发展,并广泛应用于人类食品和动物饲料领域。该篇综述的目的是阐述 LAMP 的技术原理和特点,归纳 LAMP 技术在食品中沙门氏菌检测中的研究进展,并对 LAMP 技术的发展方向和研究趋势提出了几个设想。

1 LAMP 技术概况

环介导等温扩增(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)技术是一种由 Notomi 等在 2000 年率先建立的新型核酸体外扩增技术^[21],与其他快速检测方法相比,LAMP 具有特异性强、灵敏度高、操作简单、成本低等优点,并成为在食源性致病菌快速诊断中具有潜在价值的工具^[22]。

1.1 技术原理

LAMP 技术的原理是以目标基因的特异区域设计引物(图 1),用 2 条内引物 FIP(forward inner primer)和 2 条外引物 BIP(backward inner primer)分

别识别目标基因的 6 个特定区域(3'端的 F3c、F2c、Flc,5'端的 B1、B2、B3)。然后利用 Bst DNA 聚合酶在恒温条件下参与反应以完成目的基因的扩增^[23]。LAMP 技术的扩增反应体系包括 Bst DNA 聚合酶、缓冲液 dNTPs 等;反应过程由反应原料积累、循环扩展、自动延伸和循环 3 个阶段构成;基本步骤是在该体系下 60~65℃ 恒温反应 60 min,由于聚合酶在 80℃ 以上的温度下会失去活力,因此在此条件下加热 2 min 终止反应^[24]。在优化 LAMP 技术的过程中,Nagamine 等通过加入 2 条环引物以加快目标基因的扩增速度,添加环引物的 LAMP 比传统方法的反应时间大幅缩短,提高了扩增效率^[25]。

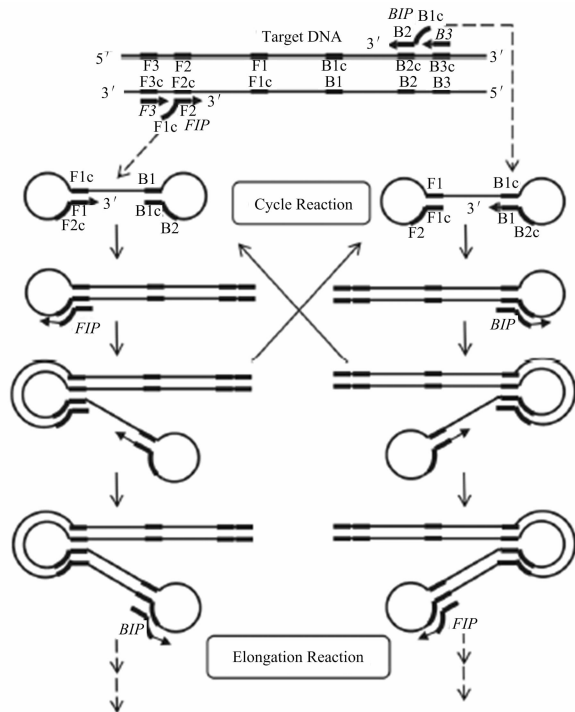


图1 LAMP 反应原理

1.2 技术特点

(1)特异性强。PCR 只需要 2 条引物识别靶基因的 2 个特异区域,而 LAMP 扩增技术需要设计 4 条引物与目标基因的 6 个特异区域匹配才能进行扩增反应。

(2)灵敏度高。LAMP 技术能检测到 10^9 的拷贝数,检测灵敏度高于传统 PCR 技术。李雪等比较了加环引物 LAMP 法、LMAP 法和 PCR 法测定沙门氏菌的灵敏度,结果显示加环引物的 LAMP 法的灵敏度为 2.28 CFU/mL,高于 PCR 法 3 个数量级^[26]。

(3)成本低廉。与 PCR 法相比,LAMP 法为恒温反应,只需要普通水浴锅即可完成反应,不需要使用设备昂贵、精密的设备控制温度变化。

(4)速度快。LAMP 是恒温扩增反应,在 60 min 即可完成反应。LAMP 形成的哑铃状结构作为反应的模板,有多个扩增起始位点,与 PCR 相比在相同时间内会产生更多的扩增产物。

(5)操作便捷。在 LAMP 扩增过程中 dNTPs 析出的焦磷酸根离子与体系中 Mg^{2+} 结合,会产生大量

焦磷酸镁衍生物,呈现白色沉淀,可用肉眼直接观察或者可添加染料进行可视化判断。LAMP 方法摆脱了对于精密设备的依赖。若需对检测进行实时监测,也可使用价格低廉的实时浊度仪^[27]。

LAMP 与 PCR、real-time PCR 的技术特点比较详见表 1。

表 1 LAMP 与 PCR、real-time PCR 特点比较

项目	灵敏度	特异性	生物样本的抑制性	设备要求	检测方法	定性检测	定量检测	便携性	实用性	耗时(h)	成本
PCR	灵敏	特异性	是	热循环仪	凝胶电泳	是	否	特定环境	是	3~5	便宜
real time PCR	高灵敏	特异性	是	热循环仪、荧光检测仪	实时荧光谱	是	是	否	特定环境	2.5~4.0	昂贵
LAMP	高灵敏	高度特异性	否	水浴锅、浊度仪(非必需)	肉眼观察、实时浊度计、凝胶电泳、生化荧光	是	是	是	是	1.5~2.5	便宜

2 基于 LAMP 技术的不同平台在沙门氏菌快速检测中的应用

通过多种平台可以对 LAMP 扩增技术产物进行检测,包括肉眼鉴别、凝胶电泳、比色法、浊度法、荧光法、生物发光、电化学传感器、微流控芯片等检测平台^[28]。

在早期研究中,有 3 种肉眼观察方法对 LAMP 扩增产物进行检测。第一,直接用肉眼观察。LAMP 体系中 DNA 聚合反应释放焦磷酸盐离子,与反应体系中的镁离子发生反应,生成白色沉淀。该方法的优点是由于反应试管不会暴露在空气中,没有交叉污染的风险。然而,该方法必须在反应后立即检测,阳性样品保持稳定的时间非常短暂。第二,加入荧光染料用肉眼观察。荧光染料可以选择性地与双链 DNA(dsDNA)结合,染料-dsDNA 复合物的形成会导致染料的颜色发生变化。荧光染料检测的灵敏度明显高于浊度法^[29]。此外,由于需要

打开反应管才能加入,该方法存在交叉污染的风险。第三,使用比色指示剂用肉眼观察。该指示剂可直接添加在 LAMP 反应体系中,实现单步检测。与 DNA 荧光染料相比,由于反应后没有开盖,减少了交叉污染的风险^[30]。

近年来,不同 LAMP 商业试剂盒已经被应用到沙门氏菌的快速检测。表 2 总结了 LAMP 沙门氏菌检测试剂盒特点及应用说明^[31-32]。作为闭管和一站式诊断的代表,实时浊度和实时荧光广泛应用于食品中沙门氏菌的检测。另一个闭管方法检测沙门氏菌是实时生物荧光法(BART)。3M 公司生产了分子检测系统(molecular detection system,MSD)。该设备基于 BART 的原理利用 LAMP 反应所转换的三磷酸腺苷(ATP),利用“荧光素酶-荧光素体系”监测 ATP 的变化情况。

此外,一些新颖的检测方法也利用 LAMP 扩增技术检测沙门氏菌。表 3 归纳了不同技术平台基于

表 2 沙门氏菌检测试剂盒特点及应用说明

商品名	生产厂家	目标基因	平台	灵敏度
Looppamp Salmonella Detection kit	EIKEN CHEMICAL CO., LTD., Japan	invasion gene (<i>invA</i>)	Looppamp Realtime 浊度仪	60 CFU/test
3M Molecular Detection Assay Salmonella	3M, Food Safety, USA		MDS-100 生物荧光检测器	1~5 CFU/25 g
Salmonella spp. Detection Kit	SA Scientific Ltd., USA	invasion gene(<i>invA</i>)	LA-Realtime 浊度仪	1 CFU/test
evoPrep DNA extraction (Salmonella Detection Fish and Kitchen Surfaces - Application Note)	Evogen, Inc, USA	<i>ttr</i> gene cluster of <i>S. enterica</i>	Bio-Rad MiniOticon (实时荧光 PCR 系统)	860 CFU/mL(鱼) 86 CFU/mL(表面)
沙门氏菌核酸检测试剂盒(恒温荧光法)	EDAOU 迪澳生物,中国	invasion gene (<i>invA</i>)	Deaou-308c 恒温荧光检测仪	3 000~11 000 CFU/25 g

表 3 基于 LMAP 技术检测方法的不同特征比较

检测方法	原理	优点	缺点	定量/定性	监测方式	便携性	操作时间
肉眼观察 (白色沉淀)	反应生成焦磷酸镁沉淀	简便,无交叉污染	主观误差,灵敏度低	定性	终点	现场/实验室	0
肉眼观察 (DNA 染料)	在反应后加入荧光染料	简便,高灵敏度	交叉污染	定性	终点	现场/实验室	~2 min
肉眼观察 (比色指示剂)	在反应前加入比色指示剂	简便、无交叉污染,相对灵敏	存在抑制放大现象	定性	终点/实时	现场/实验室	0
电泳	凝胶电泳分离和显色	高灵敏度	人工操作、存在交叉污染	定性	终点	实验室	~60 min
实时浊度	反应生成焦磷酸镁沉淀	自动、无交叉污染	同质性和高透明性要求	定量	实时	现场/实验室	0
实时荧光	荧光染料与扩增子的结合	自动、无交叉污染	存在抑制放大现象	定量	实时	现场/实验室	0
横向试纸法 LFD	色谱法,杂交免疫识别	高灵敏度,无需特定设备	交叉污染,人工操作	定性	终点	现场/实验室	~20 min
酶联免疫 吸附 ELISA	杂交免疫识别	高灵敏度,无需特定设备	交叉污染,人工操作	定性	终点	现场/实验室	~20 min

LAMP 技术在沙门氏菌检测中的应用。

酶联免疫吸附法 (enzyme - linked immunosorbent assays, ELISA) 是一项将抗原抗体免疫反应特异性和酶高效催化作用相结合的技术, Ravans 等先将带有地高辛标记的 LAMP 产物变性,再把产物稀释后加入到用带有目标基因特异性探针的链霉亲和素包被的微量滴定板中,进行 ELISA 反应,该方法用于检测沙门氏菌血清型 D (*Salmonella* serogroup D),检测限低至 10³ CFU/mL^[33]。

表面增强拉曼 (surface - enhanced Raman scattering, SERS) 技术是基于被测分子吸附在某些经特殊处理的纳米结构的金属表面而具有极强拉曼散射增强效应的分子振动光谱技术。 Draz 等利用 LMAP - SERS 技术检测肠炎沙门氏菌 (*Salmonella enteritidis*),目标 DNA 经 LAMP 扩增后,用金纳米探针标记,再用特异性的 cy5/DNA 探针修饰后,进行表面增强拉曼光谱检测。该方法的检测限为 66 CFU/mL,比传统的 PCR 方法高 100 倍^[34]。

横向试纸法 (lateral flow dipstick, LFD) 是一种可视化的检测方法,利用 LAMP 产物经标记的探针杂交后,在 LFD 上完成检测,可在现场进行实时快捷的沙门氏菌可视化监测^[35]。

微流控芯片技术 (micro - fluidics) 是把样品制备、反应、分离、检测等基本操作单元集成到一块微米尺度的芯片上,自动完成分析全过程。张璐团队

设计了包括沙门氏菌在内的 6 种致病菌的可携带、无插电的 LAMP 微流控检测技术,包括 DNA 提取、LAMP 扩增、通过荧光信号检测等流程全部集成到微流控芯片内,实现了样品到结果的实时现场检测手段(图 2)^[36]。

3 关于 LAMP 技术假阳性率高的探讨

从 2000 年报道 LAMP 技术以来,发展至今已接近 20 年了,在实际推广和应用过程中也出现假阳性率高的现象。造成检测样品假阳性的原因主要是对死活菌区分问题。

自然环境中死亡的细菌,其 DNA 依然存在。食品安全要求检测食品中的活菌,以判断潜在的风险。若无法区分死菌和活菌,易导致假阳性的结果,造成不必要的社会恐慌和经济损失。传统的 LAMP 技术是以目的基因判断微生物的数量,而死菌的 DNA 难以降解,可能会导致 LAMP 技术无法区分死活细胞,导致检测的假阳性问题。

梁玉林等使用信使 RNA (mRNA) 作为检测的目标基因,建立了沙门氏菌实时荧光 RT - LAMP 检测方法,由于 RNA 具有的单链结构不稳定, RNA 在死菌细胞内会很快被降解。该方法能够有效区分细菌的死活,避免假阳性结果的发生,对固体人工污染脱脂乳检测灵敏度达到 60 CFU/g,高于 RT - PCR 检测方法^[37]。Chen 等利用 DNA 结合染料技

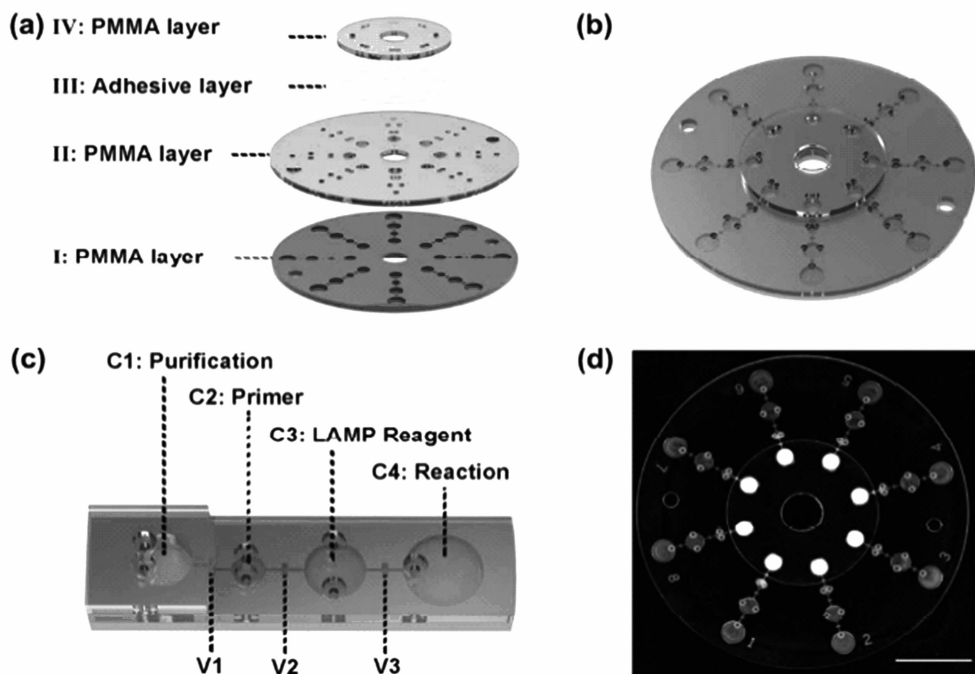


图2 LAMP 微流控用于多重致病菌分析

术区分死活菌^[12]。叠氮溴化丙锭(propidium monoazide, PMA)是一种高度光敏的DNA结合染料,PMA不能透过完整的活细胞膜,却能选择性地透过不完整的死细胞膜,并结合到DNA上。透过死细胞膜的PMA能与DNA形成不可逆共价键,抑制死细胞DNA的扩增,以达到区分死活细胞的目的。

4 LAMP 技术展望

LAMP技术在科学和商业上的进步很大可能会改变该领域未来的发展。新的LAMP试剂和检测平台的发展进一步巩固了LAMP技术最明显的2个特点:简单和快速。例如Bst 2.0和Bst 2.0 WarmStart DNA聚合酶具有更好的耐热性,更高的扩增效率,更适合在资源和条件有限的场地使用。商业化的冻干LAMP试剂已经应用于临床诊断,这种形式可能会应用在食品中沙门氏菌的检测。快速、特异性强、灵敏度高、实时扩增和检测平台将成为主流。例如,微流控芯片技术把样品前处理、扩增、检测集成于芯片中,实现了样品到检测结果的可视化监测。因此,有理由相信LAMP技术具有替代传统方法检测沙门氏菌的潜力,为食品安全检测的快速化、现场化、可视化提供更多的手段。

参考文献:

[1] The community summary report on trends and sources of zoonoses,

zoonotic agents, antimicrobial resistance and foodborne outbreaks in the European Union in 2005 [J]. The EFSA Journal, 2006, 94: 1 - 352.

[2] Jenkins D M, Kubota R, Dong J, et al. Handheld device for real - time, quantitative, LAMP - based detection of *Salmonella enterica* using assimilating probes [J]. Biosensors & Bioelectronics, 2011, 30 (1): 255 - 260.

[3] Zeng X F. Inspection and control of *Salmonella* pollution in domestic animal products [J]. Sichuan Animal and Veterinary Sciences, 2003, 30(4): 28 - 29.

[4] Hendriksen R S, Vieira A R, Karlsmose S, et al. Global monitoring of *Salmonella* serovar distribution from the World Health Organization global foodborne infections network country data bank: results of quality assured laboratories from 2001 to 2007 [J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2011, 8(8): 887 - 900.

[5] Ohtsuki R, Kawamoto K, Kato Y, et al. Rapid detection of *Brucella* spp. by the loop - mediated isothermal amplification method [J]. Journal of Applied Microbiology, 2008, 104(6): 1815 - 1823.

[6] Ferguson B. A look at the microbiology testing market [J]. Food Safety Magazine 2017: 14 - 15.

[7] Francois P, Tangomo M, Hibbs J, et al. Robustness of a loop - mediated isothermal amplification reaction for diagnostic applications [J]. FEMS Immunology and Medical Microbiology, 2011, 62(1): 41 - 48.

[8] Wang L, Shi L, Alam M J, et al. Specific and rapid detection of foodborne *Salmonella* by loop - mediated isothermal amplification method [J]. Food Research International, 2008, 41(1): 69 - 74.

[9] Yang J L, Ma G P, Yang R et al. Simple and rapid detection of *Salmonella* serovar enteritidis under field conditions by loop - mediated isothermal amplification [J]. Journal of Applied

- Microbiology, 2010, 109(5): 1715–1723.
- [10] Zhang G D, Brown E W, González 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]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(18): 6495–6501.
 - [11] Ueda S, Kuwabara Y. The rapid detection of *Salmonella* from food samples by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) [J]. Biocontrol Science, 2009, 14(2): 73–76.
 - [12] Chen S, Wang F, Beaulieu JC, et al. Rapid detection of viable salmonellae in produce by coupling propidium monoazide with loop-mediated isothermal amplification [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(12): 4008–4016.
 - [13] Lee K, Iwata T, Shimizu M, et al. A novel multiplex PCR assay for *Salmonella* subspecies identification [J]. Journal of Applied Microbiology, 2009, 107(3): 805–811.
 - [14] Elizaquível P, Aznar R. A multiplex RTi-PCR reaction for simultaneous detection of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp. and *Staphylococcus aureus* on fresh, minimally processed vegetables [J]. Food Microbiology, 2008, 25(5): 705–713.
 - [15] Oliveira S D, Santos L R, Schuch D M T, et al. Detection and identification of salmonellas from poultry related samples by PCR [J]. Veterinary Microbiology, 2002, 87(1): 25–35.
 - [16] Naravaneni R, Jamil K. Rapid detection of food-borne pathogens by using molecular techniques [J]. Journal of Medical Microbiology, 2005, 54(1): 51–54.
 - [17] Kothary M H, Babu U S. Infective dose of foodborne pathogens in volunteers: a review [J]. Journal of Food Safety, 2001, 21(1): 49–73.
 - [18] Niessen L, Luo J, Denschlag C, et al. The application of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) in food testing for bacterial pathogens and fungal contaminants [J]. Food Microbiology, 2013, 36(2): 191–206.
 - [19] Li Y M, Fan P H, Zhou S S, et al. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a novel rapid detection platform for pathogens [J]. Microbial Pathogenesis, 2017, 107(6): 54–61.
 - [20] Hara-Kudo Y, Yoshino M, Kojima T, et al. Loop-mediated isothermal amplification for the rapid detection of *Salmonella* [J]. FEMS Microbiology Letters, 2005, 253(1): 155–161.
 - [21] Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA [J]. Nucleic Acids Research, 2000, 28(12): E63.
 - [22] Shao Y, Zhu S, Jin C, et al. Development of multiplex loop-mediated isothermal amplification-RFLP (mLAMP-RFLP) to detect *Salmonella* spp. and *Shigella* spp. in milk [J]. International Journal of Food Microbiology, 2011, 148(2): 75–79.
 - [23] Mori Y, Kanda H, Notomi T. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): recent progress in research and development [J]. Journal of Infection and Chemotherapy, 2013, 19(3): 404–411.
 - [24] Li S G, Luo Y P, Kuang Y Y. Loop-mediated isothermal amplification method for detection of nucleic acids and its application [J]. Microbiology China, 2007, 34(3): 557–560.
 - [25] Nagamine K, Hase T, Notomi T. Accelerated reaction by loop-mediated isothermal amplification using loop primers [J]. Molecular and Cellular Probes, 2002, 16(3): 223–229.
 - [26] Li X, Tang S H, Hao X Q, et al. Lamp with added primers for rapid detection of *Salmonella* [J]. Journal of Southwest University for Nationalities, 2011, 38(1): 64–88.
 - [27] Xin L, Cui Y, Zhang L W. Advance of loop-mediated isothermal amplification application in rapid detecting food-borne pathogenic microorganism [J]. Chinese Institute of Food Science and Technology, 2018, 18(3): 212–220.
 - [28] Zhang X Z, Lowe S B, Gooding J J. Brief review of monitoring methods for loop-mediated isothermal amplification (LAMP) [J]. Biosensors & Bioelectronics, 2014, 61: 491–499.
 - [29] Le T H, Nguyen N T, Truong N H, et al. Development of mitochondrial loop-mediated isothermal amplification for detection of the small liver fluke *Opisthorchis viverrini* (Opisthorchiidae; Trematoda; Platyhelminthes) [J]. Journal of Clinical Microbiology, 2012, 50(4): 1178–1184.
 - [30] Tomita N, Mori Y, Kanda H, et al. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) of gene sequences and simple visual detection of products [J]. Nature Protocols, 2008, 3(5): 877–882.
 - [31] Kokkinos P A, Ziros P G, Bellou M, et al. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for the detection of *Salmonella* in food [J]. Food Analytical Methods, 2014, 7(2): 512–526.
 - [32] Karanth P A, Anirban C, Iddya K, et al. Loop-mediated isothermal amplification assay as a point-of-care diagnostic tool for *Vibrio parahaemolyticus*: recent developments and improvements [J]. Expert Review of Molecular Diagnostics, 2019, 19(3): 229–239.
 - [33] Ravan H, Yazdanparast R. Development and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification method in conjunction with an enzyme-linked immunosorbent assay for specific detection of *Salmonella* serogroup D [J]. Analytica Chimica Acta, 2012, 733(6): 64–79.
 - [34] 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.
 - [35] Zhao Y, Jiang X, Qu Y, et al. *Salmonella* detection in powdered dairy products using a novel molecular tool [J]. Journal of Dairy Science, 2017, 100(5): 3480–3496.
 - [36] Zhang L, Tian F, Liu C, et al. Hand-powered centrifugal microfluidic platform inspired by the spinning top for sample-to-answer diagnostics of nucleic acids [J]. Lab On A Chip, 2018, 18(4): 610–619.
 - [37] Liang Y L, Liu X, Zhou Z S, et al. Detection of *Salmonella* by reverse transcriptase loop-mediated isothermal amplification [J]. Microbiology China, 2018, 45(10): 2293–2300.