

产肠毒素大肠杆菌快速检测方法的建立和评价

张小飞, 张召军, 张广州, 崔晓霞, 赵爽, 定明, 白杰英, 曾林

(军事医学科学院实验动物中心, 北京 100071)

【摘要】 目的 利用环介导等温扩增(LAMP)技术,建立产肠毒素大肠杆菌(ETEC)的快速、便捷、敏感、特异的检测方法,并对该方法的特异性和敏感性进行评价,为实验动物检测和细菌性腹泻的诊断提供技术支持。方法 根据 GenBank 公布的产肠毒素大肠杆菌的 LT 毒素基因序列(S60731.1)设计外引物和内引物进行 LAMP 扩增,对 LAMP 特异性和敏感性与 PCR 方法做比较。结果 建立的 LAMP 方法检测最低浓度为 100 pg/ μ L,灵敏度是 PCR 的 10 倍以上并具有较高的特异性,利用该方法对 27 份猴腹泻样品进行 LAMP 和 PCR 方法检测,发现 PCR 检出率为 33.3%,LAMP(60 min 内)结果与 PCR 相同,而 LAMP(90 min 内)检出率为 92.6%,约是 PCR 检出率的 3 倍。结论 建立了一种用于检测肠毒性大肠杆菌(ETEC)的 LAMP 检测方法,该方法特异性强,灵敏度高,方便快捷,适合于 ETEC 临床快速检测。

【关键词】 产肠毒素大肠杆菌; LAMP; 诊断

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2013)05-0031-05

Doi: 10.3969/j.issn.1005-4847.2013.05.007

Establishment and evaluation of the loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay in detection of enterotoxigenic *Escherichia coli*

ZHANG Xiao-fei, ZHANG Zhao-jun, ZHANG Guang-zhou, CUI Xiao-xia, ZHAO Shuang, DING Ming, BAI Jie-ying, ZENG Lin

(Laboratory Animal Center, Academy of Military Medical Sciences, Beijing, 100071, China)

【Abstract】 Objective Using loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay to develop a rapid, convenient, sensitivity and specificity of enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) detection method, and evaluate the specificity and sensitivity of this method, for detection and diagnosis of bacterial diarrhea in laboratory animals. **Methods** According to the published *E. coli* LT toxin gene sequences (S60731.1) to design PCR and LAMP primers, and to compare the specificity and sensitivity of LAMP with that of PCR. **Result** The detection limit of the established LAMP method were 100 pg, its sensitivity was 10 times higher than that of PCR, and had a high specificity. Using PCR and LAMP to detect 27 feces samples of monkey diarrhea, the results of LAMP (within 60 min) were the same as that of PCR, with a positive rate of 33.3%. But the positive rate of LAMP (within 90 min) was 92.6%, about 3 times higher than that of PCR. **Conclusions** We have established an ETEC LAMP detection method, which is highly specific, sensitive, convenient, suitable for rapid detection of ETEC clinical samples.

【Key words】 Enterotoxigenic *Escherichia coli*; ETEC; Loop-mediated isothermal amplification; LAMP; Detection

产肠毒素大肠杆菌(enterotoxigenic *Escherichia coli*, ETEC)是一类重要的食源性致病菌,可产生不耐热性肠毒素(heat-labile enterotoxin, LT)和耐热性

肠毒素(heat-stable enterotoxin, ST),人或牲畜感染会出现严重的腹泻^[1],诊治延误常出现致死病例。一直以来,对 ETEC 性腹泻的诊治仍旧依赖于

【基金项目】“十二五”面上项目(CWS11J092)和“十二五”专项课题(2011ZXJ09201-031)支持。

【作者简介】张小飞(1979年-),女,实验师。E-mail: 15810074189@163.com

【通讯作者】白杰英(1977年-),男,副研究员,主要从事实验动物免疫与生物化学研究。E-mail: baijieying@126.com; 曾林(1965年-),男,研究员,博士生导师,主要从事实验动物病理学及大动物生物安全实验。E-mail: zenglin1965@126.com

常规检测方法,如细菌分离培养、血清鉴定和 ELISA 检测等,这些手段技术成熟,但方法繁琐、检测周期长、检出率低,容易造成病情拖延、贻误最佳治疗时机。随着分子技术的发展,研究开发出了许多检测 ETEC 的方法,如 PCR 方法、基因芯片技术^[2]、蛋白芯片技术^[3]、免疫磁珠富集法^[4-5]、生物传感器法等^[6],这些方法均依赖于高新技术,快速而准确,但对于设备要求较高,检测费用昂贵,难以应用于生产养殖单位^[7]。因此,建立一种特异性高、快速简单、经济实用的检测方法,对 ETEC 性腹泻的诊断和治疗具有指导作用。

环介导等温扩增(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)是一种高效快捷新型的核酸检测技术^[8],仅使用恒温水浴锅即可完成反应,结果可通过肉眼判断^[9],极大降低了检测成本。目前已有学者将该方法应用于细菌检测^[10]、病毒检测、真菌检测、支原体检测^[11]和寄生虫监测^[12]。但目前判定结果常使用琼脂糖凝胶电泳,仅可观察最终反应产物,同时电泳时开盖容易形成气溶胶污染。所以本研究首次利用 LAMP 实时浊度仪建立 ETEC 的实时 LAMP 检测方法,该检测条件准确度更高,可控性好,同时用染料法判断结果,比沉淀法观察更便捷,可应用于肠毒性大肠杆菌所致动物腹泻的快速检测。

1 材料与方法

1.1 细菌来源及实验地点

产肠毒素大肠杆菌(ATCC 35401)、福氏志贺氏菌(ATCC 12022)(上海宝录公司,中国)、大肠埃希氏菌(CMCC 44102)、肠炎沙门氏菌(CMCC 50041)、伤寒沙门氏菌(CMCC 50071)、痢疾志贺氏菌(CMCC 51252)为本实验室保存标准菌株。

1.2 标准菌株培养与核酸提取

将 1.1 中标准菌株接种到 DHL 培养基上分离培养,37℃倒置培养过夜。挑取该平板上的单菌落于营养肉汤培养基内 37℃,220 r/min 摇菌过夜。用 TIANamp Bacteria DNA Kit 提取样品核酸。用 NanoDrap 2000 进行浓度测定。

1.3 LAMP 引物设计与筛选

根据 GenBank 公布的产肠毒素大肠杆菌的 LT 毒素基因序列,进行同源性分析,确定肠毒素 LT (S60731.1)为扩增靶基因,利用北京兰谱公司提供链接网页(<http://primerexplorer.jp/elamp4.0.0/in->

[dex.html](http://primerexplorer.jp/elamp4.0.0/in-dex.html))设计多套引物(包括内、外引物),引物由北京博迈德公司合成。利用 LA-320C 实时浊度仪对不同引物的反应进程和结果进行实时监测、筛选。

1.4 LAMP 反应体系

根据 DNA LAMP Kit 中^[13],Noro Virus LAMP Real Time Turbidimeter LA-320 仪预设参考方案,确定大肠杆菌反应引物和模板含量,设定反应速度曲线峰值超过 0.1 时为阳性。利用 DNA LAMP Kit,用标准菌株进行 LAMP 温度梯度实验,确定最佳反应温度。

1.5 LAMP 反应产物分析

利用 LA-320C 实时浊度仪实时监测 LAMP 的反应情况,当反应速度曲线峰值 > 0.1,柱形图的底部显示红色,即该孔为阳性反应。上面蓝色柱形图高度代表生成沉淀量(即浊度值)。

反应结束后,加入 1μL 的显色液于反应产物中,肉眼观察。阴性反应颜色为桔黄色,阳性反应为淡绿色^[14]。

1.6 LAMP 扩增反应的特异性和敏感性检测

采用 TIANamp Bacteria DNA Kit 提取的标准菌株 DNA,按照 1.4 建立的 ETEC LAMP 法,检测不同菌株,判断该方法的特异性。然后将核酸进行 10 倍系列稀释成 $1.0 \times 10^{-1} \sim 1.0 \times 10^{-7}$ 的 7 个稀释度,进行敏感性试验。

1.7 PCR 产物胶回收及 DNA 测序

以 LAMP 的两条外引物(F3 和 B3)作为 PCR 引物进行扩增,扩增完成后用 1% 的琼脂糖凝胶电泳。胶回收后进行 DNA 测序。

1.8 PCR 反应的特异性检测与敏感性检测

采用 TIANamp Bacteria DNA Kit 提取的标准菌株的基因组核酸,进行 PCR 特异性试验。将核酸进行 10 倍系列稀释成 $1.0 \times 10^{-1} \sim 1.0 \times 10^{-7}$ 的 7 个稀释度,进行 PCR 敏感性试验。

1.9 粪便样品检测

利用 Column Stool DNAOUT(天恩泽公司)提取 27 份样品(腹泻猴粪便)的总 DNA 并测定浓度,用建立的 ETEC LAMP 检测方法和 PCR 检测进行结果对比。

2 结果

2.1 LAMP 引物的筛选与反应体系的建立

根据反应温度合适,反应速度最快确定 ETEC 最适 LAMP 引物,序列如表 1 所示。ETEC LAMP 反

应体系(25 μL): 2 $\times$ Reaction Mix 12.5 μL 、F3 1 μL 、B3 1 μL 、FIP 0.8 μL 、BIP 0.8 μL 、Bst 聚合酶 1 μL 、模板 2 μL 、蒸馏水 4.9 μL 。其中引物浓度为 F3: 5 pmol/ μL ; B3: 5 pmol/ μL ; FIP: 40 pmol/ μL ; BIP: 40 pmol/ μL 。

表 1 产肠毒素大肠杆菌 LAMP 引物序列

Tab. 1 The LAMP primer sequences of ETEC

引物名称 Primer name	序列 Promer sequences
F3	AGATATATGGATGATCGTCTGTT
B3	TGTAATTGTTCTTGATGAATCTCC
FIP	GCCGGAGCTATATTCAGATTTCTG-TATTTTGGTGTGATTGATGAACG
BIP	GGTTACAGATTAGCAGGTTTCCCAAC-CTTGTGCTGCATGA

2.2 LAMP 扩增反应温度的确定

利用 DNA LAMP Kit 对 1.2 中提取的产肠毒素大肠杆菌(ATCC 35401)在 60 $^{\circ}\text{C}$ 、61 $^{\circ}\text{C}$ 、62 $^{\circ}\text{C}$ 、63 $^{\circ}\text{C}$ 、64 $^{\circ}\text{C}$ 进行 LAMP 扩增 90 min, LA-320C 实时浊度仪分析表明 63 $^{\circ}\text{C}$ 时反应时间最早, 峰值最高(图 1, 彩插 7)。

2.3 LAMP 扩增产物的分析

利用 LA-320C 实时浊度仪自带软件监控反应进程得知, LAMP 反应在 63 $^{\circ}\text{C}$ 时, 反应 60 min 后, 阳性对照的反应速度曲线峰值 > 0.1, 符合阳性标准。

在 LAMP 反应体系中加入 1 μL 显色液, 肉眼观察。阴性反应颜色为桔黄色, 阳性反应为淡绿色^[14](见图 2, 彩插 7)。

2.4 LAMP 扩增反应的特异性检测

以 DNA LAMP Kit 提供阳性样品为阳性对照, DEPC 处理水为阴性对照。检测产肠毒素大肠杆菌、沙门氏菌和志贺氏菌(图 3, 彩插 7)。只有产肠毒素大肠杆菌出现阳性扩增, 其他样品均为阴性, 结果表明, ETEC LAMP 引物特异性较好, 可以区分常见肠道致病菌。

2.5 LAMP 扩增反应的敏感性检测

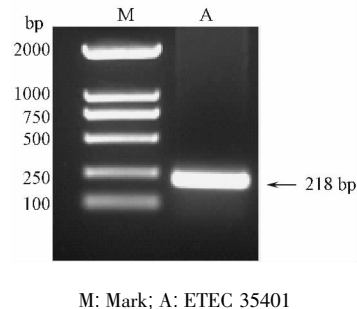
用实时浊度仪对不同稀释度的模板进行分析表明(图 4, 彩插 8), 在反应进行至 90 min 时, $1.0 \times 10^1 \sim 1.0 \times 10^{-4}$ 稀释样品出现阳性扩增; 随模板中 DNA 含量下降, 发生 LAMP 反应的时间逐渐推迟, 最低检出限为 10^{-4} 。但是各稀释度反应速度曲线的斜率相似, 无明显变化, 表明 LAMP 法反应进行快, 核酸产量高。

2.6 PCR 产物胶回收及 DNA 测序

利用 LAMP 的两条外引物(F3 和 B3)作为 PCR

引物对 1.2 中提取的 ETEC DNA 进行 PCR 扩增 20 μL 反应体系: DNA 模板 2 μL 、F3 1 μL 、B3 1 μL 、2 $\times$ Es Taq MasterMix 10 μL 、RNase-Free water 6 μL ; 反应程序: 94 $^{\circ}\text{C}$ 7 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s; 55 $^{\circ}\text{C}$ 30 s; 72 $^{\circ}\text{C}$ 40 s; 72 $^{\circ}\text{C}$ 10 min; 30 个循环。扩增结束后, 在 1.0% 琼脂糖凝胶电泳中检查扩增产物, 扩增片段为 218 bp(图 5), 结果与预期大小吻合。

利用 Gel Extraction Kit 进行胶回收, 将胶回收样品送到北京中科希林公司进行测序, 同样测定的序列在 GenBank 中进行比对(图 6), 与目的基因序列相似性达到 99%, 有部分碱基缺失, 可能由于胶回收造成。



M: Marker; A: ETEC 35401

图 5 产肠毒素大肠杆菌 PCR 扩增片段

M: Marker; A: ETEC 35401

Fig. 5 The PCR products of ETEC

LT测序	CTG	3
LT60731	CCT	600
Consensus	c	
LT测序	GGTGGTGCAIGATGA...TCCAGGGTTCCTCTCCCA...GCTT	41
LT60731	TGTGGTGCAIGATGA...TCCAGGGTTCCTCTCCCA...GCTT	640
Consensus	gtgggtgcatgatga tccagggttctctctcca gctt	
LT测序	GGTGATCCGGTGGGAACCTGCTAATCTGTAACCATCCCTC	81
LT60731	GGTGATCCGGTGGGAACCTGCTAATCTGTAACCATCCCTC	680
Consensus	ggtgatccggtgggaacctgctaatactgtaaccatccctc	
LT测序	TGCCGGAGCTATATTCAGATTTCTGTAATACCGGTCTCTA	121
LT60731	TGCCGGAGCTATATTCAGATTTCTGTAATACCGGTCTCTA	720
Consensus	tgccggagctatattcagatttctgtaataacgggtctctta	
LT测序	TATTCCCTGTTACGATGTAATCGTTCATCAATCACACCAA	161
LT60731	TATTCCCTGTTACGATGTAATCGTTCATCAATCACACCAA	760
Consensus	tattccctgttacgatgtaatcggtcatcaatcacaccaa	
LT测序	AATTAACACGATACCATCCATATATCTCT	190
LT60731	AATTAACACGATACCATCCATATATCTCT	800
Consensus	aattaacacgataccatccatataatctct a	

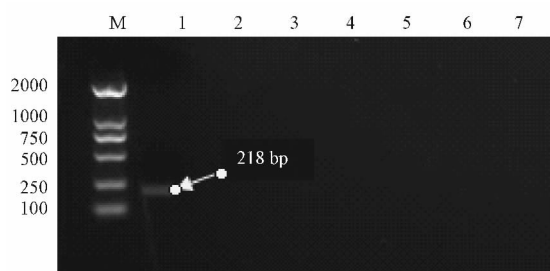
图 6 PCR 产物测序比对结果

Fig. 6 Sequencing results of the PCR products

2.7 PCR 反应的特异性检测与敏感性检测

对 ETEC 以及其他标准菌株进行 PCR 扩增, 结果只有 ETEC 出现大小为 218 bp 的特异性条带(图 7)。将 ETEC 模板进行 10 倍系列稀释, 扩增结束

后电泳检测,最低检出限为 10^{-3} (图 8)。

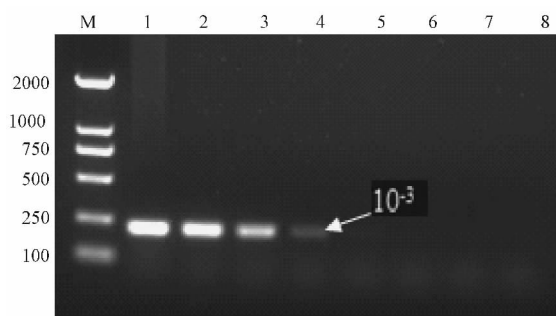


注: M: Marker; 1: 35 401; 2: 44 102; 3: 50 041; 4: 50 071; 5: 51 252; 6: 12 022; 7: 阴性对照。

图 7 产肠毒素大肠杆菌 PCR 特异性检测

Note: M: Marker; 1: 35 401; 2: 44 102; 3: 50 041; 4: 50 071; 5: 51 252; 6: 12 022; 7: Negative control.

Fig. 7 PCR specific detection of ETEC



注: M: Marker; 1: 1.0; 2~8: 1.0×10^{-1} ~ 1.0×10^{-7} 稀释度。

图 8 产肠毒素大肠杆菌 PCR 敏感性检测

Note: M: Marker; 1: 1.0; 2~8: 1.0×10^{-1} to 1.0×10^{-7} dilution.

Fig. 8 Detection of the PCR sensitivity of ETEC

2.8 LAMP 扩增反应与 PCR 反应检测粪便样品

利用 Column Stool DNAOUT 提取 27 份腹泻猴粪便样品的总 DNA,测定浓度。分别进行 ETEC LAMP 检测(图 9,彩插 8)和 PCR 检测(图 10)结果如图所示。图 9 为浊度仪柱形图,其中红色标记为 60 min 内反应达到阳性标准,LAMP 总反应时间为

90 min。

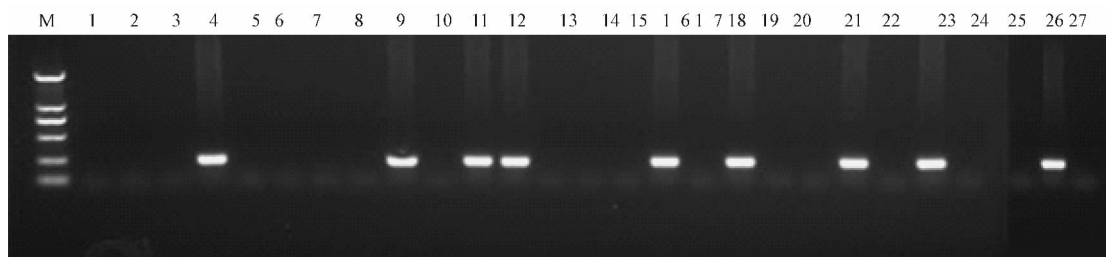
PCR 检测 27 份样品中 9 份为阳性,检出率为 33.3%; LAMP(60 min 内)结果与其相同,而 LAMP(90 min 内)阳性样品检出 25 份,检出率为 92.6%,约为 PCR 检测的 3 倍。

3 讨论

本研究建立 ETEC LAMP 快速检测方法是首次全程利用 LA-320C 实时浊度仪进行监测分析,其引物最适温度、反应进程以及特异性和敏感性都基于实时数据处理分析,检测效率高,特异性强,可直观快捷判定实验结果。实验提取标准菌浓度约为 $200 \mu\text{g}/\mu\text{L}$,检测敏感性为 10^{-4} ,即为 100 pg ,对 ETEC 感染的早期检测具有重要作用^[15]。Yamasaki 等用 LAMP 方法检测沙门氏菌的 *invA* 基因,针对不同血清型的检出限量为每个反应管 2.2 至 18.5 个细胞,敏感度是 PCR 的 10 倍^[16],此外,一些研究还发现其他细菌的 LAMP 方法检测的敏感度也如此^[17,18]。我们的结果与其相同。

利用浊度仪对反应进行实时监测发现(见图 3),反应进行到 43 min 时,即可检测到沉淀的产生,反应样品中核酸含量的变化引起反应出现的时间,随核酸含量降低,可检测到浊度值的时间逐渐推迟,但一旦反应开始进行,浊度的增加不受核酸含量的影响,反应速度曲线斜率没有明显变化(如图 4 所示)。

本研究对采集的 27 份猴腹泻样本进行了 LAMP 和 PCR 法的检测,结果发现 LAMP(60 min 内)检测结果与 PCR 一致,但 90 min 内检测阳性样本为 25 份,阳性率 92.6%。由于浊度仪系统设定 60 min 内反应阳性柱形图标红,所以图 9 中阳性显示有差异。已知样品浓度会影响反应起始时间,因此可设计环引物同时扩增,加快反应进程,提高 60



注: M: Marker; 1~27: 粪便样品 1~27#。

图 10 粪便样品 PCR 检测

Note: M: Marker; 1~27: Feces samples 1~27#.

Fig. 10 ETEC PCR detection of feces samples

min 内 LAMP 检测的敏感性。后续将依照本研究检测结果对腹泻样本进行 ETEC 大肠杆菌培养鉴定,进一步验证 LAMP 反应的敏感性。本研究建立的 ETEC LAMP 法检测用时比传统 PCR 法缩短一半以上,检测样品核酸含量最低约为 100 pg,能有效区别常见肠道致病菌,仪器成本低廉,适合于实验动物生产养殖单位,为产肠毒素大肠杆菌的诊断提供了快捷方法,同时给其他致病菌的检测提供了可行的参考。

(本文图 1~3 见彩插 7,图 4、9 见彩插 8。)

参 考 文 献

- [1] 陆佩学,于志臻,赵尚敏等. 1840 例老年患者医院感染前瞻性调查[J]. 中华医院感染学杂志,2000,10: 41-42.
- [2] Call DR, Brockman FJ, Chandler DP. Detecting and genotyping *Escherichia coli* O157: H7 using multiplexed PCR and nucleic acid microarrays[J]. Int J Food Microbiol, 2001, 67(1-2): 71-80.
- [3] Lee W, Park KS, Kim YW, et al. Protein array consisting of sol-gel bioactive platform for detection of *E. coli* O157: H7[J]. Biosens Bioelectr, 2005, 20(11): 2292-2299.
- [4] 俞顺章,卢林耿,张幼展,等. 快速检测大肠杆菌 O157 菌株在流行病学上的应用[J]. 中华流行病学杂志,1999,20(4): 237-239.
- [5] Gehring AG, Tu SI. Enzyme-linked immunomagnetic electrochemical detection of live *Escherichia coli* O157: H7 in apple juice[J]. J Food Protec, 2005, 68: 146-149.
- [6] Demarco DR, Lim DV. Detection of *Escherichia coli* O157: H7 in 10 and 25-gram ground beef samples with an evanescent-wave biosensor with silica and polystyrene wave guides[J]. J Food Protect, 2002, 65(4): 596-602.
- [7] 张小飞,白杰英,赵爽,等. 环介导等温扩增技术的研究进展和微生物检测应用[J]. 实验动物与比较医学,2011,31(3): 226-230.
- [8] Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA[J]. Nucl Acids Res, 2000, 28(12): 63.
- [9] Chen HT, Zhang J, Yang SH, et al. Rapid detection of porcine parvovirus DNA by sensitive loop-mediated isothermal amplification[J]. J Virol Methods, 2009, 158(1-2): 100-103.
- [10] Iwamoto T, Sonobe T, Hayashi K. Loop-mediated isothermal amplification for direct detection of mycobacterium tuberculosis complex, *M. avium* and *M. intracellulare* in sputum samples[J]. J Clin Microbiol, 2003, 41(6): 2616-2622.
- [11] Saito R, Misawa Y, Moriya K, et al. Development and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of *Mycoplasma pneumoniae*[J]. J Med Microbiol, 2005, 54(11): 1037-1041.
- [12] 杨秋林,许丽芳,张愉快,等. 环介导等温扩增技术检测日本血吸虫尾蚴的实验研究[J]. 中国血吸虫病防治杂志,2008,20(3): 209-211.
- [13] Nagamine K, Watanabe K, Ohtsuka K, et al. Loop-mediated isothermal amplification reaction using a modified template[J]. Clin. Chem, 2001, 47(9): 1742-1743.
- [14] Nagamine K, Hase T, Notomi T. Accelerated reaction by loop-mediated isothermal amplification using loop primers[J]. Molec Cell Probes, 2002, 16(3): 223-229.
- [15] 王丽,徐振波,赵喜红,等. 环介导等温核酸扩增技术快速检测食物中的大肠杆菌 O157[J]. 食品与发酵工业,2011,37(5): 146-150.
- [16] Wang L, Li L, Alam MJ, et al. Loop-mediated isothermal amplification method for rapid detection of the toxic dinoflagellate *Alexandrium*, which causes algal blooms and poisoning of shellfish[J]. FEMS Microbiol Lett, 2008, 282: 15-21.
- [17] Han F, Ge B. Evaluation of a loop-mediated isothermal amplification assay for detecting *Vibrio vulnificus* in raw oysters[J]. Food Borne Pathogens Dis, 2008, 5: 311-320.
- [18] Song T, Toma C, Nakasone N, et al. Sensitive and rapid detection of *Shigella* and enteroinvasive *Escherichia coli* by a loop-mediated isothermal amplification method[J]. FEMS Microbiol Lett, 2005, 243: 259-263.

[收稿日期] 2013-05-08

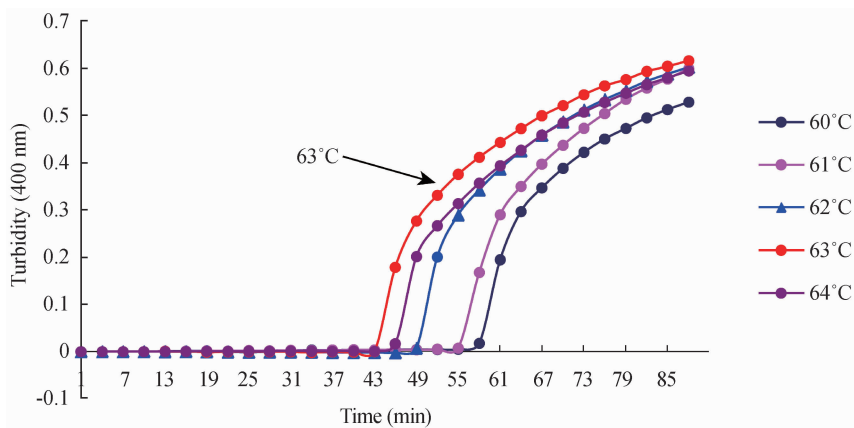
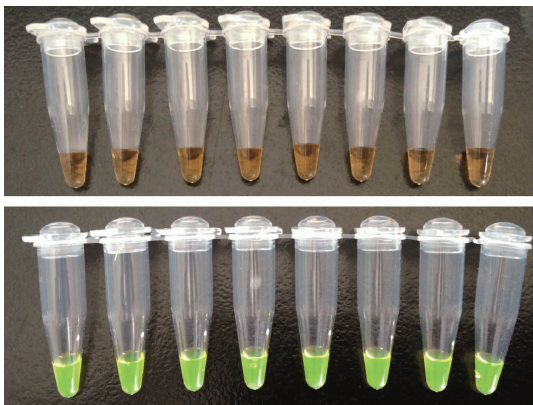
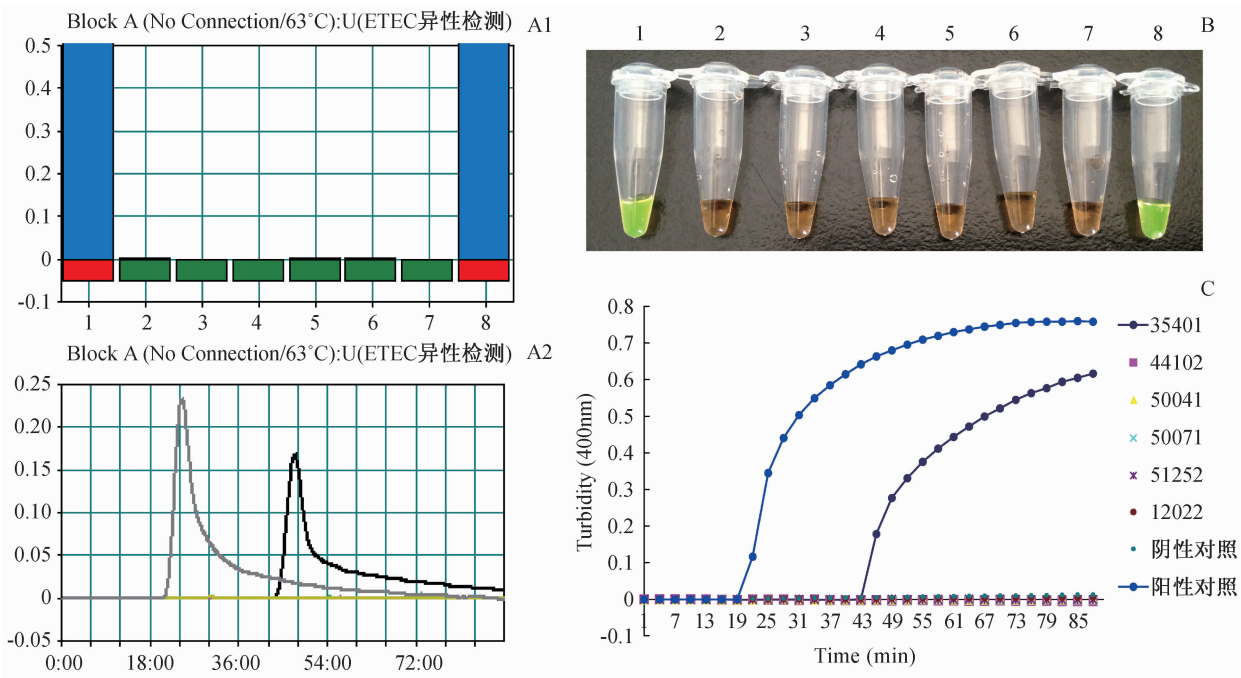


图 1 LAMP 扩增反应最适温度检测

Fig. 1 The optimal temperature of detection of LAMP reaction



注:上:阴性反应结果;下:阳性反应结果。
图 2 产肠毒素大肠杆菌 LAMP 扩增(加入显色液)
Note: Upper: Negative result; Lower: Positive result
Fig. 2 The LAMP reaction of ETEC (add in fluorescent)



注: 1: 35401; 2: 44102; 3: 50041; 4: 50071; 5: 51252; 6: 12022; 7: 阴性对照; 8: 阳性对照。

图 3 产肠毒素性大肠杆菌特异性检测

Note: 1: 35401; 2: 44102; 3: 50041; 4: 50071; 5: 51252; 6: 12022; 7: Negative control; 8: Positive control.

Fig. 3 Specific detection of ETEC with a real time turbidimeter LA-320

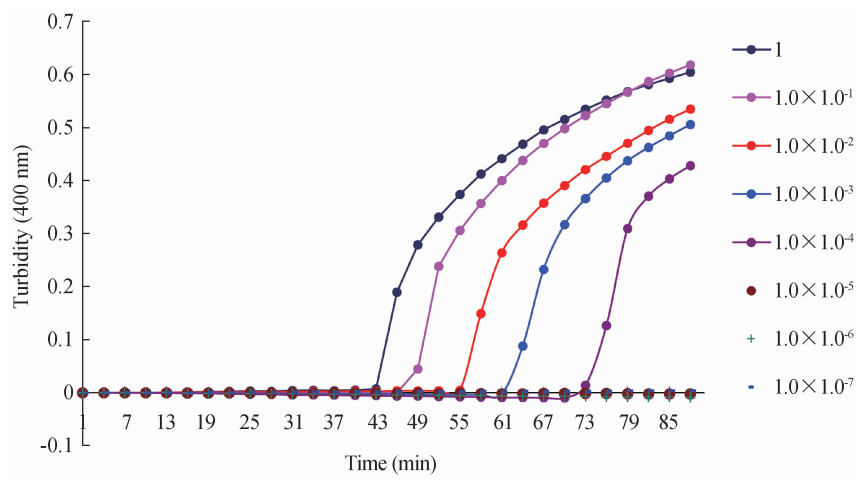
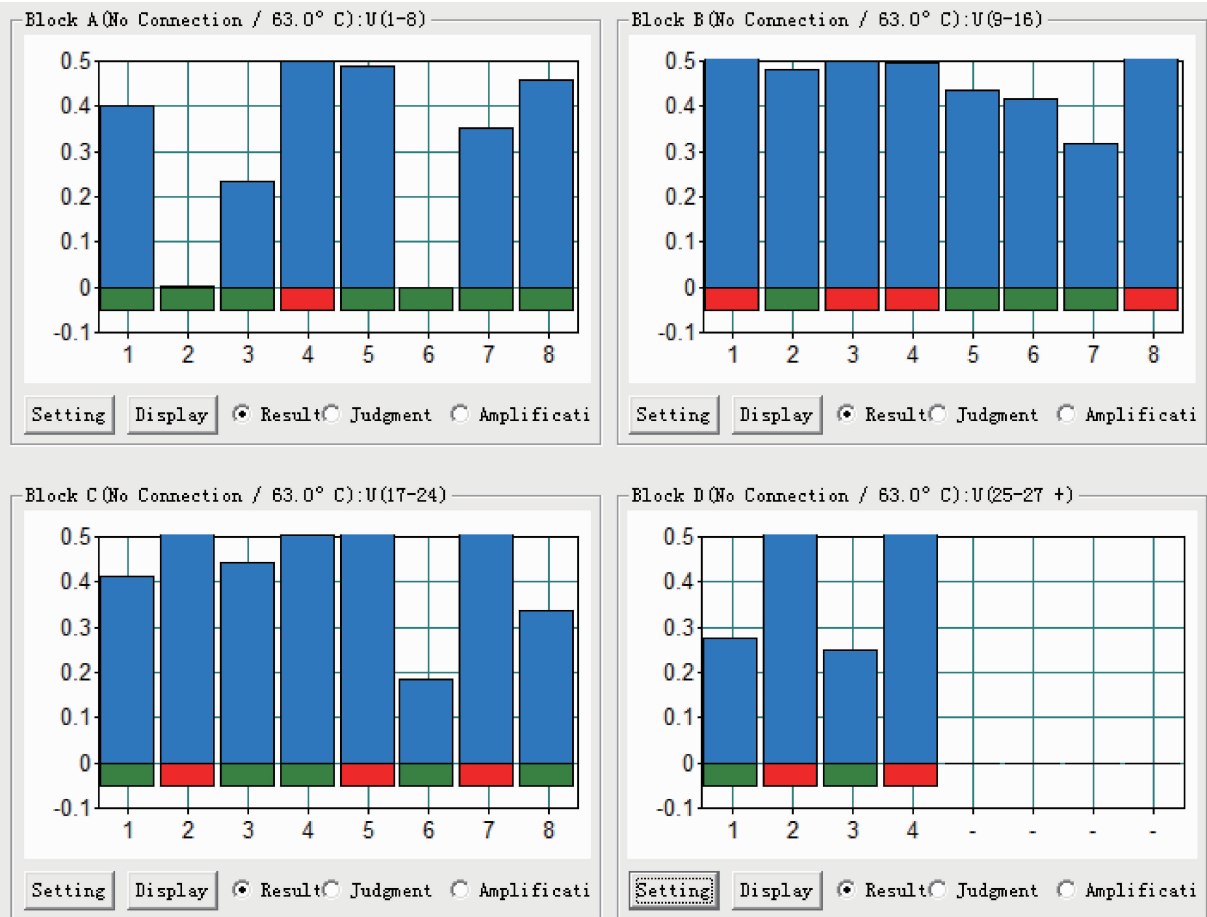


图 4 产肠毒素大肠杆菌的敏感性检测

Fig. 4 Sensitivity of ETEC detection



注: Block A:CH1-CH8;1-8 号粪便样品; Block B:CH1-CH8;9-16 号粪便样品; Block C:CH1-CH8;17-24 号粪便样品; Block D:CH1-CH3;25-27 号粪便样品,CH4:阳性对照。

图 9 粪便样品 ETEC LAMP 检测

Note: Block A: CH1-CH8;1-8# samples; Block B: CH1-CH8;9-16# samples; Block C:CH1-CH8;17-24# samples; Block D: CH1-CH3;25-27# samples, CH4: Positive control.

Fig. 9 ETEC LAMP detection of feces samples