

The main application possibilities of the LAMP (Loop-mediated Isothermal Amplification) technique in veterinary science

Literature review

O. Zorkóczy K.¹

Zs. Bujtor¹

A. Szíves¹

L. Ózsvári^{2,3}

Zs. Wagenhoffer¹

P. Zenke^{1*}

1. Állatorvostudományi Egyetem, Állattenyésztési, Takarmányozástani, és Laborállat-tudományi Intézet, H-1078 Budapest, István utca 2.

2. Állatorvostudományi Egyetem, Gazdaságtudományi és Biostatistikai Intézet, Törvényszéki Állatorvostani és Gazdaságtudományi Tanszék, Budapest

3. Fertőző Állatbetegségek, Antimikrobiális Rezisztencia, Állatorvosi Közegészségügy és Élelmiszerlánc-biztonság Nemzeti Laboratóriuma, Állatorvostudományi Egyetem, Budapest

*e-mail: zenke.petra@univet.hu

A LAMP- (hurok által közvetített izotermikus sokszorosítás) technika fő alkalmazási lehetőségei az állatorvostudományban

Irodalmi összefoglaló

Zorkóczy K. Orsolya¹, Bujtor Zsófia¹, Szíves András¹, Ózsvári László^{2,3}, Wagenhoffer Zsombor¹, Zenke Petra^{1*}

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők irodalmi adatok és saját tapasztalataik alapján bemutatják a hurok közvetítette izotermikus amplifikációs (Loop-mediated Isothermal Amplification, LAMP) technika számos alkalmazási lehetőségét az állatorvostudományban, különösen a fertőző betegségek diagnosztizálásában. Az állattenyésztésben az embriók és ivari dimorfizmust kevésbé mutató fajok ivari azonosítása, az élelmiszer-vizsgálatok területén pedig a faji eredet meghatározása szintén megvalósítható ezzel a módszerrel. Az összefoglalóban bemutatják a rendelkezésre álló főbb vizsgálati lehetőségeket ezeken a területeken. A LAMP-technika gyorsasága és pontossága miatt ígéretes diagnosztikai eszköz az állatorvosi gyakorlatban, amely költséghatékony működése, egyszerű kivitelezhetősége és minimális műszerigénye miatt lehetőséget ad nagy mintaszámú vizsgálatok akár helyszíni alkalmazására is.

SUMMARY

The Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP) technique has various application possibilities in veterinary sciences, particularly in diagnosing infectious diseases, animal husbandry, and food testing. In this summary, the authors show how the technique is utilized in these fields. LAMP is widely used in veterinary medicine for the sensitive, rapid and accurate diagnosis of infectious diseases in animals. The technique allows for the detection of specific DNA or RNA sequences of pathogens present in clinical samples, such as blood, tissues, urine, a feces, or swabs. LAMP is highly sensitive and specific, and can provide results as quickly as 30-60 minutes, making it valuable in identifying pathogens responsible for diseases in livestock and pets. It aids in early detection, surveillance, and control of infectious diseases, allowing for prompt treatment and prevention measures. LAMP can also be applied to determine the sex of several domestic animals. This information allows for the selection of specific traits associated with either sex and optimizing breeding strategies, and it is crucial for dairy and beef cattle breeding programs. To ensure the safety and quality of animal-derived food products, LAMP can be used to identify the species components of meat and milk products, and therefore, can detect adulteration or mislabeling. This helps to ensure the accuracy of labeling, meet regulatory requirements, and prevent fraudulent practices in the meat and dairy industry. Overall, LAMP's simplicity, rapidity and accuracy make it a promising cost-efficient diagnostic tool with the potential for on-site applications of a large number of samples in veterinary practice.

Az állatorvosi tudományokban a korszerű molekuláris genetikai vizsgálatok mára nélkülözhetetlenné váltak. A hurok által közvetített izotermális sokszorosítás (Loop-mediated Isothermal Amplification, LAMP) az élettudományok területén egyre szélesebb körben alkalmazott módszer a nukleinsav-szakaszok vizsgálatára. A hasonló célra használt egyik legismertebb technikától, a polimeráz láncreakciótól (Polymerase Chain Reaction, PCR) főképpen az különbözteti meg, hogy a PCR során ciklusonként ismételt hőmérsékleti profil helyett izotermális, azaz állandó hőmérsékletű környezetben megy végbe a reakció és általában rövidebb idő alatt. Bár az elmúlt évtizedekben számos egyéb, a DNS-szakaszok sokszorosításán alapuló vizsgálati módszert fejlesztettek ki (pl. Rolling Circle Amplification, RCA; Standard Displacement Amplification, SDA), egyik sem terjedt el a LAMP technika-hoz hasonló mértékben az állatorvosi vizsgálatok területén.

*A hurok által
közvetített izotermális
sokszorosítás (LAMP)
egyre szélesebb körben
alkalmazott módszer*

TECHNIKAI HÁTTÉR ÉS ELŐNYÖK

A LAMP-módszert csaknem negyed évszázaddal ezelőtt fejlesztették ki japán kutatók, amely gyorsan, nagy specifitással és hatékonysággal képes a DNS-szál sokszorosítására izotermális hőmérsékleten [1]. A reakcióhoz minimális mennyiségű DNS is elégséges, amelynek izolálása elvégezhető akár a legegyszerűbb sejtroncsoló módszerek alkalmazásával is [2–6].

A speciális előírásoknak (PrimerExplorer szoftver) megfelelően tervezett négy primer közül kettő az amplifikációért felelős, míg a másik kettő a termékek leválasztásáért. A négy primer összesen hat célszakaszt ismer fel a genomban, ezért jó a szelektivitása. A primerek szekvenciája és elrendezése hatására megvalósuló „száláthelyeződés” (*strand displacement*) módszer, valamint a szál és a primervégek komplementer szekvenciáinak köszönhetően a szál két végén egy-egy hurok képződik, létrehozva egy úgynevezett „súlyzó” (*dumbbell*) formát (1. ábra). A hurokképződés során kevesebb, mint egy óra alatt akár milliárdnyi új másolat keletkezik a célszekvenciáról. Az állandó hőmérsékleten végbemenő reakció általában 50–67°C közötti, amely kedvezőbb energiafogyasztást és reakcióidőt eredményez a hagyományos, ill. a valós idejű (*real-time*) PCR-rel való összehasonlításban, továbbá megvalósítható drága PCR-készülékek nélkül, akár vízfürdőben vagy hőblokkban is [1, 6, 7]. A *Taq* polimerázhoz hasonlóan a LAMP-reakcióban használt *Bst* és *Bsm* DNS-polimerázok szintén termofil baktériumokból származnak, viszont az 5'-3' polimerázaktivitás mellett erős száláthelyeződési aktivitást mutatnak [1, 8, 9]. A reakcióidő tovább csökkenthető két további, úgynevezett *loop* primer hozzáadásával, amely miatt bár a költségek magasabbak lesznek, tovább növeli a módszer hatékonyságát is [10]. Bár a *real-time* PCR pontos kvantitatív adatokat nyújt, lehetővé téve a célnukleinsav kezdeti mennyiségének mérését és jobban alkalmazható többcélpontos (*multiplex*) amplifikálásra, a LAMP-technika előnye egyszerűségében, gyorsaságában és a gátló anyagokkal, ill. kontaminációval szembeni kisebb érzékenységében nyilvánul meg [11].

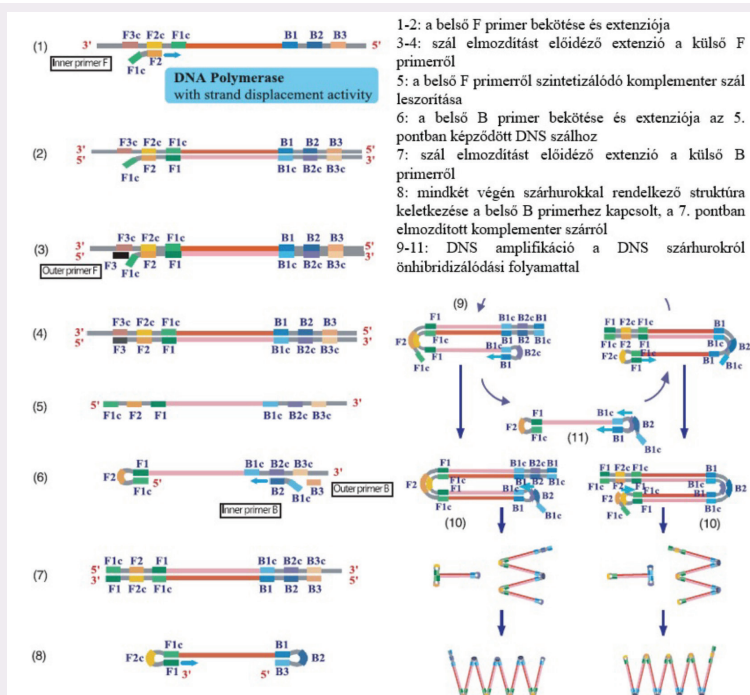
A LAMP-reakció sikeres végbemenetelének (pozitív reakció), ill. eredménytelenségének (negatív reakció) elkülönítésére számos módszer áll rendelkezésre. A reakciócsőben képződő amplikonok detektálása a hagyományos agarózgél elektroforézis mellett, ill. helyett történhet szabad szemmel is (2. ábra). Egyik ilyen módszer a turbiditásváltozás, azaz az oldat elhomályosodásának megfigyelése, ill. mérése, amely a végbemenő pozitív reakció eredményeként a reakcióelegy összetételében bekövetkező változás eredménye [12–14]. A DNS-szálakba beépülő (interkaláló) festékek szintén megbízható módon jelzik a reakció eredményességét, amely akár szabad szemmel is megfigyelhető, ill. kék- vagy UV-fény megvilágítással ennek érzékenysége tovább fokozható [15–17] (2. ábra). A végbemenő pozitív reakció során, megfelelő összetételű reakcióelegyet használva a közeg pH-ja is megváltozik, így a pH-indikátorok segítségével kimutatott színváltozás már a reakció folyamán is nyomon követhető [18–20].

*A LAMP-reakció
a PCR-rel
ellentétben állandó
hőmérsékleten megy
végbe, eszközigénye
minimális*

*A pozitív, ill.
negatív reakciók
több módszerrel is
elkülöníthetők*

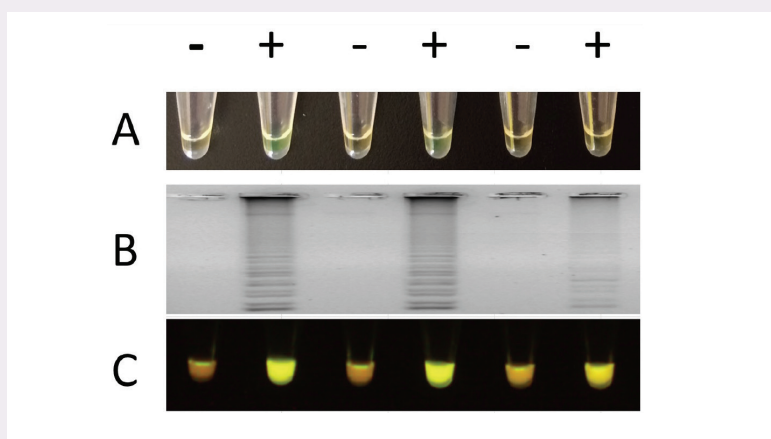
1. ÁBRA. A LAMP-reakció általi DNS-sokszorosítás elve (HIRAYAMA és mtsai alapján [8])

FIGURE 1. The principles of DNA amplification by LAMP (HIRAYAMA et al. 2013 [8])



2. ÁBRA. A reakciócsövekben képződő ampliconok detektálása a DNS szálakba beépülő festékkel szabad szemmel (A), agarózgél-elektroforézissel (B), ill. kék fény megvilágítással (C); (-) negatív reakció, (+) pozitív reakció

FIGURE 2. Detection of the amplicons formed in the reaction tubes with incorporating dye into the DNA strands with the naked eye (A), agarose gel electrophoresis (B), and blue light illumination (C); (-) negative reaction, (+) positive reaction



A LAMP-technika kivitelezése az előbbieken bemutatott tulajdonságai miatt jóval egyszerűbb laboratóriumi háttérrel igényel, ezért lényegesen könnyebben mobilizálható a hagyományos genetikai vizsgáló módszerekhez képest. Így lehetővé válik a mintavételezés helyszínén történő vizsgálatok gyors elvégzése, amely döntő fontosságú lehet az állatorvosi vizsgálatok számos területén.

A LAMP-TECHNIKA FELHASZNÁLÁSI TERÜLETEI

A nukleinsav-amplifikáció a biológiai tudományok egyik legfontosabb módszere, amelyet a betegségek diagnosztizálásától kezdve, az igazságügyi nyomozáson át egészen a biotechnológiai eljárásokig terjedően alkalmaznak. Kifejlesztése óta a LAMP rengeteget fejlődött az amplifikációs technikák alkalmazási területén, felhasználási körétől függően számos különböző módszerét fejlesztették ki.

KLINIKAI DIAGNOSZTIKA

Mivel a LAMP-technika gyors, rendkívül érzékeny, nagyon specifikus és kevésbé munkaigényes, kiváló alternatívát kínál a fertőző betegségek kórokozóinak kimutatására és a mikrobiális betegségek korai felismerésére. Ezek a technikák a kórokozók specifikus

*Kiválóan alkalmazható
fertőző betegségek
diagnosztikájában*

DNS-szekvenciáit célozzák meg, és lehetővé teszik a gyors és érzékeny kimutatást. Számos LAMP-tesztet fejlesztettek ki és validáltak a háziállatok járványos állatbetegségeire, amelyek közül a fontosabbakat a különböző, gazdasági szempontból kiemelkedő madár- és emlősfajokon mutatunk be (1–3. táblázat). A táblázatokban feltüntetett kórokozók neve melletti számok az alábbi csoportosítást jelentik: (1) vírus – DNS-, vagy RNS-vírus; (2) baktérium; (3) gomba – mikrosporidia vagy oomikóta is lehet; (4) parazita – protozoa, fonál-, lapos-, vagy orsóféreg.

A madarak különböző megbetegedéseit okozó vírusok jelentős gazdasági veszteséget okoznak a baromfiiparban. A korai felismerés fontos a fertőzött madaraknak az állomány többi részétől való elkülönítéséhez, így korlátozva a fertőzés terjedését. Sok esetben nem áll jelenleg rendelkezésre hatékony gyógyszer vagy vakcina, ezért a megelőző eljárások, ill. a vertikális és horizontális fertőzések elleni védekezés főként a vírushordozók korai felismerésétől és korlátozásától függenek. Jelenleg számos PCR-alapú módszert használnak a madárvírusok kimutatására, de mindegyikhez precíziós műszerekkel felszerelt laboratóriumi háttérre van szükség a célminta nukleinsavának amplifikálásához és kimutatásához, ezért terepi körülmények között nem alkalmazhatók. Következésképpen szükség van a PCR-módszerrel gyorsaságban, érzékenységgel és pontossággal megegyező, ugyanakkor a vírusok költséghatékony, farmon történő nagyszabású diagnosztizálására alkalmas tesztekre, amelyek az 1. táblázatban feltüntetett kórokozókra már rendelkezésre állnak.

Kérődzők és más emlős haszonállatfajok esetében a vírusok diagnosztizálása mellett egyéb kórokozók, mint a baktériumok, gombák és paraziták nagy mintaszámon történő egyszerű és gyors diagnózisa szintén kulcsfontosságú a betegségek hatékony leküzdéséhez (2. táblázat). Kiemelt fontosságú ezen a területen az RNS-vírusok reverz transzkripció (RT-) LAMP-vizsgálata, mivel a fertőzés – a szerológiai tesztekkel való összehasonlításban – már korai stádiumban kimutatható [39]. A LAMP-módszer a többi amplifikációs technikához hasonlóan lehetőséget kínál a legtöbb biológiai szövettípus vizsgálatára, így az invazív módon vehető minták (pl. vér, izom- és fülbiopszia) mellett a vizelet, ürülék, nyál- és tejminta is hatékonyan analizálható. Pl. a *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) elleni küzdelemben a legnagyobb feladat az, hogy kizárják azokat az állatokat, amelyek széklettel és tejjel ürítik a MAP-ot, mielőtt a Johnne-betegség tüneteit mutatnák (különösen a kiskérődzők nem mutatják a hasmenés jeleit a betegség végső stádiumáig). Mivel világszerte szükség van a MAP-al fertőzött állatok felszámolására, hogy megállítsák a betegség terjedését az állattartó telepeken, SANGE és mtsai (2019) kidolgoztak egy ürülékből és tejmintából elvégezhető detektálást [15]. Ehhez hasonlóan a *Brucella* spp. fakultatív intracelluláris baktériumok (amelyek az állatok mellett megfertőzik az embereket is) LAMP-módszerrel történő kimutatása is rendelkezésre áll a vér mellett tejmintából is [40]. Vizeletminták esetén a LAMP akár hatékonyabb is lehet, mint a valós idejű PCR, így pl. a *Leptospira* fajok kimutatásában. Mivel ez az eljárás olcsóbb és egyszerűbb, a LAMP kiváló alternatíva a szarvasmarhák és bivalyok leptospirozisának rutinszerű megfigyelésére [41].

Az emlősállat-tenyésztési szektorból származó adatok alapján a paraziták által okozott tünetek a termelésekiesés alapvető okai, amelyek kezelés nélkül nagy elhullási arányt és jelentős termelési veszteséget okozhatnak (csökkent növekedési ütem, tejtermelés és húshozam). A férgek kimutatására rendelkezésre álló hagyományos módszerek sokszor fáradságosak, drágák és specifikusságuk korlátozott; olykor nem tekinthetők alkalmasnak *post mortem* kórokozó kimutatására és prevalencia vizsgálatokra. Ezekben az esetekben is rendelkezésre állnak már olyan LAMP-alapú detektálási technikák, amelyek egyszerűséget, specifikusságot és gyorsaságot kínálnak [20, 42]. A protozoák kimutatására hagyományosan a gyors és olcsó mikroszkópos diagnózist alkalmazzák, azonban a vizsgálat eredménye

*Több állatfaj, számos
kórokozójának
kimutatására dolgoztak
már ki LAMP-módszert*

1. TÁBLÁZAT. Szárnyas háziállatfajok főbb kórokozóinak diagnosztizálására rendelkezésre álló LAMP (hurok által közvetített izotermikus sokszorosítás) és reverz transzkripcós, ún. RT-LAMP-tesztek

TABLE 1. LAMP (Loop-mediated Isothermal Amplification) and reverse-transcription RT-LAMP techniques available for the diagnosis of major pathogens in domestic poultry species

Állatfaj	Kórokozó neve	Referencia
házi tyúk (<i>Gallus gallus</i>)	Madárinfluenza-vírus (AIV) – Orthomyxoviridae	[14, 21–26]
	Madárleukózis vírus (J szubtípus, ALV-J) – Retroviridae	[27]
	Fertőző bronchitis vírus (IBV) – Coronaviridae	[28, 29]
	Newcastle disease vírus (NDV) – Paramyxoviridae	[29]
	Csirkeanaemia-vírus (CAV) – Anelloviridae	[16]
	Tyúkadenovírus (FAdV-4) – Adenoviridae	[12]
	<i>Gallibacterium anatis</i>	[30]
kacsa (<i>Anas platyrhynchos</i>)	Madárinfluenza-vírus (AIV) – Orthomyxoviridae	[14, 21, 25, 31]
	Hepatitiszvírus (1-es típus, DHV-1) – Picornaviridae	[32–34]
	Tembusu-vírus (TMUV) – Flaviviridae	[35]
	Lúd haemorrhagiás polyomavírus (GHPV) – Polyomaviridae	[36]
pézsmaréce (<i>Cairina moschata</i>)	Madárinfluenza-vírus (AIV) – Orthomyxoviridae	[14]
	Muscovy duck parvovirus (MDPV) – Parvoviridae	[37]
lúd (<i>Anser anser</i>)	Lúdparvovírus (GPV) – Parvoviridae	[17]
	Lúdcircovírus (GoCV) – Circoviridae	[9]
	Lúd haemorrhagiás polyomavírus (GHPV) – Polyomaviridae	[36]
pulyka (<i>Meleagris gallopavo</i>)	Madárinfluenza-vírus (AIV) – Orthomyxoviridae	[14, 21, 31]
	<i>Gallibacterium anatis</i>	[30]
galamb (<i>Columba livia</i>)	Galambcircovírus (PiCV) – Circoviridae	[38]

2. TÁBLÁZAT. Emlős háziállatfajok kórokozóinak diagnosztizálására rendelkezésre álló LAMP-technikák**TABLE 2.** Available LAMP techniques for diagnosing pathogens in domestic mammal species

Állatfaj	Kórokozó neve	Referencia
juh (<i>Ovis aries</i>)	Száj és körömfájás vírusa (FMDV) – Picornaviridae	[44]
	Kiskérődzők pestis vírusa (PPRV) – Paramyxoviridae	[45]
	Kecske arthritis encephalitis vírus (CAEV) – Retroviridae	[46]
	Capripoxvírus (CaPV) – Poxviridae	[47–49]
	Kéknylev-betegség vírusa (BTV-1,2,9,10,16,21,23 szerotípusok) – Reoviridae	[19]
	Kéknylev-betegség vírusa (BTV-8 szerotípus) – Reoviridae	[50]
	Rift Valley láz vírus (RVFV) – Bunyaviridae	[51]
	Orf vírus	[52]
	<i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i>	[15]
	<i>Brucella</i> fajok	[33]
	<i>Trypanosoma</i> fajok	[53]
	<i>Haemonchus contortus</i>	[20, 42]
	<i>Taenia</i> fajok	[54]
	<i>Fasciola gigantica</i>	[55]
szarvasmarha (<i>Bos taurus</i>)	Akabane vírus-Peribunyaviridae	[56]
	Bovine rotavirus (A szerotípus) – Reoviridae	[57]
	Szarvasmarha vírusos hasmenés vírusa (BVDV) – Flaviviridae	[58]
	Szarvasmarhaleukamia-vírus (BLEV) – Retroviridae	[39]
	Ragadós száj és körömfájás vírusa (FMDV) – Picornaviridae	[59]
	Bovine herpesvirus 1 (BoHV-1) – Herpesviridae	[60]
	<i>Brucella</i> fajok	[33]
	<i>Leptospira</i> fajok	[41]
	<i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i>	[13]
	<i>Mycobacterium avium</i> . <i>avium</i> és <i>M. a. hominissuis</i>	[61]
	Bovine herpesvirus 1 (BoHV-1) – Herpesviridae, <i>Brucella abortus</i> , <i>Leptospira interrogans</i> ser. <i>Pomona</i>	[62]
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	[63]
	<i>Mycobacterium bovis</i>	[64]
	<i>Trypanosoma</i> fajok	[53, 65]
	<i>Trypanosoma vivax</i>	[66]
	<i>Babesia bovis</i>	[43]
	<i>Cryptosporidium parvum</i>	[55]
	<i>Echinococcus granulosus</i>	[67]
	<i>Explanatum explanatum</i>	[18]
bivaly (<i>Bubalus bubalis</i>)	<i>Leptospira</i> fajok	[41]
	<i>Trypanosoma</i> fajok	[65]
	<i>Explanatum explanatum</i>	[18]
ló (<i>Equus caballus</i>)	Lovak fertőző kevésvérűség vírusa (EIAV) – Retroviridae	[68]
	<i>Streptococcus equi. equi</i>	[69]
	<i>Pythium insidiosum</i>	[70]
	<i>Candida</i> fajok	[71]
	<i>Trypanosoma evansi</i>	[65]
	<i>Trypanosoma</i> fajok	[53]
sertés (<i>Sus scrofa domestica</i>)	Ragadós száj és körömfájás vírusa (FMDV) – Picornaviridae	[72]
	Influenza A vírus-Orthomyxoviridae	[25]
	Sertésparvovírus (PPV) – Parvoviridae	[73, 74]
	Afrikai sertéspestis vírus (ASFV) – Asfarviridae	[75]
	<i>Glaesserella parasuis</i>	[76]
	<i>Mycobacterium avium. avium</i> és <i>M. a. hominissuis</i>	[61]
	<i>Candida</i> -fajok	[71]
	<i>Trypanosoma</i> -fajok	[53]

Kutyák esetében
a parvovírus
mellett paraziták
kimutatására
is fejlesztettek
LAMP-teszteket

nagymértékben függ a mikroszkópos analízist végző személy képzettségétől, és így nem feltétlenül képes kimutatni kis számban előforduló kórokozókat és krónikus fertőzéseket. Így pl., mivel a szarvasmarhák babeziózisa a trópusi és szubtrópusi országokban az egyik gazdaságilag legfontosabb kullancs által terjesztett betegség – és az oltóanyag nem feltétlenül hozzáférhető minden rászoruló fél számára, ennek következtében pedig a betegség elleni védekezés sem mindig sikeres –, kifejlesztették a LAMP-módszert a *Babesia bovis* gyors és pontos kimutatására [43]. Az emlős haszonállatfajok egyéb kórokozóinak diagnosztizálására rendelkezésre álló LAMP technikákat a 2. táblázat foglalja össze.

A kutyák és macskák kórokozóinak diagnosztizálására is számos elérhető LAMP-technika létezik (3. táblázat). A fertőzések gyors és pontos diagnosztizálása segíti az állatorvosokat a fertőzött kedvencek kezelésében és a megfelelő védekezési intézkedések végrehajtásában. Kutyáknál a parvovírus kimutatása mellett számos tesztet fejlesztettek a paraziták azonosítására. Ezek a rendkívül érzékeny (akár 1–10 pg kimutatási határ) vizsgálatok a különböző protozoák és férgek specifikus detektálását biztosítják a legkülönbözőbb szövetekből, többek között kötőhártya és bélsár mintából is [77, 78]. Az *Echinococcus multilocularis* kimutatása fertőzött kutyafélékben és a környezetben kulcsfontosságú az endémiás területeken előforduló alveolaris echinococcosis epidemiológiájának jobb megértéséhez. A boncolás/ülepítés és a számlálási technika továbbra is az „arany standard” módszer a kutyafélék fertőzésének kimutatásában, de nagy léptékű prevalencia vizsgálatokban a terepi alkalmazásra is alkalmas LAMP-technikával nem veszik fel a versenyt.

3. TÁBLÁZAT. Kutyák és macskák kórokozóinak diagnosztizálására rendelkezésre álló LAMP technikák

TABLE 3. Available LAMP techniques for diagnosing pathogens in dogs and cats

Állatfaj	Kórokozó neve	Referencia
kutya (<i>Canis familiaris</i>)	<i>Kutya parvovírus</i>	[79]
	<i>Babesia gibsoni</i>	[80]
	<i>Trypanosoma</i> fajok	[53]
	<i>Babesia canis</i>	[81]
	<i>Leishmania infantum</i>	[78, 82]
	<i>Leishmania</i> fajok	[83]
	<i>Toxoplasma gondii</i>	[84]
	<i>Trypanosoma evansi</i>	[65]
	<i>Pythium insidiosum</i>	[70]
	<i>Dirofilaria immitis</i>	[85]
	<i>Dirofilaria repens</i>	[86]
	<i>Ancylostoma caninum</i>	[77]
	<i>Taenia</i> fajok	[54]
	<i>Echinococcus multilocularis</i>	[87]
	<i>Paragonimus westermani</i>	[88]
macska (<i>Felis catus</i>)	Macska koronavírus (FCoV)-Coronaviridae	[89]
	<i>Mycobacterium avium</i> , <i>avium</i> és <i>M. a. hominissuis</i>	[61]
	<i>Toxoplasma gondii</i>	[84, 90]

A LAMP-technika alkalmazásával számos madárfajban lehetséges már az egyedek genetikai ivarvizsgálata

A LAMP-módszer szarvasmarha-embriók ivarának meghatározására is alkalmas

IVARMEGHATÁROZÁS AZ ÁLLATTENYÉSZTÉSBEN

A legtöbb madárfaj külső jellemzői lehetővé teszik az egyedek ivari elkülönítését, ez azonban nem feltétlenül igaz a *Columbidae* rend tagjaira. Az ivar meghatározása létfontosságú szerepet játszik a galambtenyésztésben, mivel lehetővé teszi a tenyésztők számára, hogy megalapozott döntéseket hozzanak a párosítással, a genetikai sokféleséggel, a tenyésztési stratégiákkal és a piaci igények kielégítésével kapcsolatban. Az egyedek ivarának ismerete ugyanilyen jelentőségű a baromfitenyésztésben a hatékony állománygazdálkodás, a genetikai szelekció, a tojástermelés optimalizálása, a betegségek elleni védekezés, a célzott tenyésztési programok és a piaci preferenciák teljesítése érdekében, mivel lehetővé teszi a tenyésztők számára, hogy maximalizálják baromfiállományuk termelékenységét és minőségét. A LAMP-technika alkalmazásával – a módszer nyújtotta előnyök kiaknázása mellett – számos gazdaságilag fontos madárfajban lehetséges már az egyedek genetikai ivarvizsgálata (4. táblázat).

A *Bovidae* családba tartozó háziállatok esetében a tenyésztés hatékonysága, ill. a tej/hústermelés maximalizálása érdekében szükséges az utódok ivarának előválogatása. Az embriótranszfer-technika és a preimplantációs embriók Y-kromoszóma-specifikus DNS-szekvenciák kimutatásán alapuló ivar-meghatározási módszerek kidolgozása ezt lehetővé teszi. A LAMP-módszer bizonyítottan használható az embriók ivarának meghatározására, amellyel sikeresen szexálhatóak az embriók még a beültetés előtt. Ugyanígy a free-martinizmus, amely ikerborjaknál léphet fel, és az üsző borjú sterilitását okozza, szintén nagy pontossággal megállapítható az XY leukociták LAMP-módszerrel történő kimutatásával (4. táblázat). A szarvasmarha-embrióknál a hímekre specifikus, valamint a hím és nőstény egyedekben egyaránt megtalálható gének egyidejű, multiplex LAMP-pal történő vizsgálata megbízhatóan, igen nagy szenzitivitással és specificitással működik [91]. Továbbá vízi bivalyban és lóban is kifejlesztették az Y kromoszóma specifikus szekvenciáin alapuló LAMP-technikát, amellyel sikeresen elvégezhető az embriók ivarának meghatározása (4. táblázat).

4. TÁBLÁZAT. Házi madár- és emlősfajok ivar- és faji azonosítására rendelkezésre álló LAMP-technikák

TABLE 4. Available LAMP techniques for sex and species identification of domestic birds and mammals

Állatfaj	Latin név	Ivarazon.	Fajazon.	Referencia
galamb	<i>Columbidae</i>	vér toll		[92]
házi tyúk	<i>Gallus gallus</i>	vér, hús	hús	[31, 93–96]
kacsa	<i>Anas platyrhynchos</i>		hús	[94, 97]
pulyka	<i>Meleagris gallopavo</i>		hús	[94]
strucc	<i>Struthio camelus</i>		hús	[98]
kecske	<i>Capra hircus</i>		hús, tej	[94, 99–102]
juh	<i>Ovis aries</i>		hús	[94, 99, 101, 102]
sertés	<i>Sus scrofa domestica</i>		hús	[93, 94, 101, 103–107]
szarvasmarha	<i>Bos taurus</i>	embrió	hús, tej	[8, 91, 93, 94, 101, 102, 108, 109]
vízibivaly	<i>Bubalus bubalis</i>	embrió	hús, tej	[4, 101, 110, 111]
ló	<i>Equus caballus</i>	embrió	hús, tej	[94, 102, 112–115]
szamár	<i>Equus asinus</i>		hús	[115]
teve	<i>Camelus</i>		tej	[102]
jak	<i>Bos grunniens</i>		tej	[102]
mosómedve	<i>Nyctereutes procyonoides</i>		hús	[116]
egér	<i>Mus musculus</i>		hús	[117]

Hús-, ill. tejhamisítás bizonyítására is használható a módszer

ÉLELMISZER-KÉSZÍTMÉNYEK FAJI ÖSSZETÉTELÉNEK AZONOSÍTÁSA

Napjainkban a hamisított hús problémája a világ egyik legnagyobb élelmiszer-biztonsági és -minőségi kihívása lett. A húskészítmények faji eredetének megbízható technikákkal történő azonosítása kritikus követelmény a megfelelő árumegjelölés biztosításához, a fogyasztói preferenciák védelméhez, a veszélyeztetett fajok megőrzéséhez és a húskereskedelem előforduló csalások megelőzéséhez [107, 108, 115]. A hamisításhoz használt húsok olcsóbbak és rosszabb minőségűek, valamint közéjük tartozhat akár a róka-, mosómedve-, nyérc- és egérhús is [116]. Bár ezek a húsok a világ bizonyos területein ehetőnek számítanak, potenciálisan károsak lehetnek az emberi egészségre a bennük található baktériumok, vírusok és káros anyagok miatt. Számos példa áll rendelkezésre a drágább húsok helyettesítésére, úgymint a marhahús helyettesítése kacsa-, ill. strucc hússal [94, 97, 98], valamint az ázsiai országokban különleges, tradicionális gyógyászati értéket képviselő számrhús helyettesítése ló- és más hússal [115]. A hús összetevőinek hamisítása mellett a nagyértékű tej cseréje olcsó tejjel szintén hatással van az élelmiszer-biztonságra. Mivel a nagymértékben feldolgozott tej- és húskészítmények összetevőit nehéz a hagyományosan elérhető módszerekkel (pl. fehérjeanalízis) megkülönböztetni, ezért merült fel az igény olyan új analitikai módszerek kifejlesztésére, amelyek egyszerű módon gyorsan és pontosan képesek a faji eredet hatékony azonosítására. A mitokondriális genom cirkuláris DNS-e általában sértetlen marad a feldolgozott (pl. pasztörizált, főzött, sült) készítményekben is ugyanúgy, mint a nyers termékekben, ezért hatékonyan sokszorozható a LAMP-technikával (4. táblázat). Az egymással közeli rokonságban álló fajok elkülönítésére is alkalmas módszer igen érzékeny, akár a 0,01%-ban jelen lévő élelmiszer-komponens is kimutatható [94, 98].

KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

A WHO kritériumai alapján az ideális diagnosztikai tesztnek megfelelő szenzitivitással, specifitással és gyorsasággal kell rendelkeznie, egyszerűen használhatónak és kis költségvetésűnek kell lennie [118]. Az amplifikációs módszerek közül kiemelkedő a LAMP, mivel a reakcióhoz izotermikus körülményekre van szükség, amely nem igényel bonyolult műszereket, így a terepen történő diagnosztizálásra is alkalmas [11, 119]. A technika másik jelentős előnye a szenzitivitása és gyorsasága, amelynek segítségével akár 30 percen belüli diagnózist adhat. Az eredmények detektálása szintén egyszerű, hiszen akár szabad szemmel elemezhető a pozitív reakcióra jellemző szín- vagy homályosság-változás, így nincs szükség elektroforézis-készülékre sem a kimutatáshoz. Ezt a technológiát azonban egyértelmű gyakorlati előnyei ellenére még mindig nem használják ki teljes mértékben az állatorvosi diagnosztikában [120]. A szakirodalmi áttekintésünkben bemutatott rendelkezésre álló LAMP-tesztek köre ugyanakkor gyorsan bővül. Azok tovább fejleszthetők más kórokozókra, hogy segítsék a fertőző betegségek diagnosztizálását és monitorozását az állatgyógyászatban, az állattenyésztés és élelmiszerbiztonság területén pedig az újonnan felmerülő kérdések megoldására adhat a technika gyors és megbízható választ. A vázolt módszertannak különös jelentősége van a házi-, ill. vadon élő állatok által terjeszthető zoonotikus betegségek korai felismerésében és ezáltal azok megelőzésében.

A LAMP érzékenységeiben rejlik azonban egyik lehetséges hátránya is, mivel emiatt könnyen kontaminálható a reakcióközeg, fals-pozitív értékeket eredményezve [121]. A helyszíni tesztek kivitelezésének egyik nehézsége lehet még a reagensek és primerek megfelelő körülmények közötti szállítása és tárolása, amelynek megoldása ezek szárítása, liofilizálása és speciális anyagokkal történő stabilizálása [122]. A jövőben egy mobil, szállítható bioszenzor kifejlesztése,

**A LAMP-technika
gyorsasága,
érzékenysége,
specifikussága és
egyszerűsége egyedülálló
lehetőséget kínál az
állatorvostudomány
különböző területein**

amely kombinálva tartalmazza a nukleinsav sokszorozításához és kimutatásához szükséges funkciókat, nagyban megkönnyítené a terepi diagnosztizáláshoz a LAMP-technika használatát.

Összességében a LAMP-technika gyorsasága, érzékenysége, specifikussága és egyszerűsége egyedülálló lehetőséget kínál az állatorvostudomány különböző területein, mivel költséghatékony módon segíti a betegségek elleni védekezést és az ételmszer-biztonság magas színvonalának fenntartását, valamint támogatja az állattartási gyakorlatokat.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Munkánkat a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal Egyetemi Innovációs Ökoszisztéma című pályázati konstrukcióján belül, az Állatorvostudományi Egyetem által elnyert, 2019-1.2.1-EGYETEMI-ÖKO-2019-00010 számú pályázat biztosította. Az RRF-2.3.1-21-2022-00001 számú projekt a Helyreállítási és Ellenállóképességi Eszköz és Nemzeti Helyreállítási Alapból nyújtott támogatásával, az RRF-2.3.1-21 pályázati program finanszírozásában valósult meg.

IRODALOM

1. H, Masubuchi H, Yonekawa T, Watanabe K, Amino N, Hase T (2000) Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Res* 28:e63–e63 <https://doi.org/10.1093/nar/28.12.e63>
2. Stiedl CP, Weber K (2017) Fast and simple detection methods for the 4–base pair deletion of canine MDR1/ABCB1 gene by PCR and isothermal amplification. *J Vet Diagn Invest* 29:176–180 <https://doi.org/10.1177/1040638716683213>
3. Truett GE, Heeger P, Mynatt R, Truett A, Walker J, Warman M (2000) Preparation of PCR-quality mouse genomic DNA with hot sodium hydroxide and tris (HotSHOT). *Biotechniques* 29:52–54 <https://doi.org/10.2144/00291bm09>
4. Hirayama H, Kageyama S, Takahashi Y, Moriyasu S, Sawai K, Onoe S, Watanabe K, Kojiya S, Notomi T, Minamihashi A (2006) Rapid sexing of water buffalo (*Bubalus bubalis*) embryos using loop-mediated isothermal amplification. *Theriogenology* 66:1249–1256 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.03.036>
5. Centeno-Cuadros A, Abbasi I, Nathan R (2017) Sex determination in the wild: a field application of loop-mediated isothermal amplification successfully determines sex across three raptor species. *Mol Ecol Resour* 17:153–160 <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12540>
6. Lee PL (2017) DNA amplification in the field: move over PCR, here comes LAMP. *Mol Ecol Resour* 17:138–141 <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12548>
7. Mori Y, Kanda H, Notomi T (2013) Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): recent progress in research and development. *J Infect Chemother* 19:404–411 <https://doi.org/10.1007/s10156-013-0590-0>
8. Hirayama H, Kageyama S, Moriyasu S, Sawai K, Minamihashi A (2013) Embryo sexing and sex chromosomal chimerism analysis by loop-mediated isothermal amplification in cattle and water buffaloes. *J Reprod Dev* 59:321–326 <https://doi.org/10.1262/jrd.2013-028>
9. Woźniakowski G, Kozdruń W, Samorek-Salamonowicz E (2012) Loop-mediated isothermal amplification for the detection of goose circovirus. *Virol J* 9:1–11 <https://doi.org/10.1186/1743-422X-9-110>
10. Nagamine K, Hase T, Notomi T (2002) Accelerated reaction by loop-mediated isothermal amplification using loop primers. *Mol Cell Probes* 16:223–229 <https://doi.org/10.1006/mcpr.2002.0415>
11. Wong Y, Othman S, Lau Y, Radu S, Chee H (2018) Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a versatile technique for detection of micro-organisms. *J Appl Microbiol* 124:626–643 <https://doi.org/10.1111/jam.13647>
12. Yuan X-Y, Wang Y-L, Meng K, Zhang Y-X, Xu H-Y, Ai W (2019) LAMP real-time turbidity detection for fowl adenovirus. *BMC Vet Res* 15:1–4 <https://doi.org/10.1186/s12917-019-2015-5>
13. Enosawa M, Kageyama S, Sawai K, Watanabe K, Notomi T, Onoe S, Mori Y, Yokomizo Y (2003) Use of loop-mediated isothermal amplification of the IS 900 sequence for rapid detection of cultured *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. *J Clin Microbiol* 41:4359–4365 <https://doi.org/10.1128/jcm.41.9.4359-4365.2003>
14. Shivakoti S, Ito H, Murase T, Ono E, Takakuwa H, Yamashiro T, Otsuki K, Ito T (2010) Development of reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) assay for detection of avian influenza viruses in field specimens. *J Vet Med Sci* 72:519–523 <https://doi.org/10.1292/jvms.09-0473>
15. Sange MD, Becker A, Hassan AA, Bülte M, Ganter M, Siebert U, Abdulmawjood A (2019) Development and validation of a loop-mediated isothermal amplification assay—a rapid and sensitive detection tool for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in small ruminants. *J Appl Microbiol* 127:47–58 <https://doi.org/10.1111/jam.14284>
16. Huang C, Lai G, Lee M, Lin W, Lien Y, Hsueh S, Kao J, Chang W, Lu T, Lin W (2010) Development and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of chicken anaemia virus. *J Appl Microbiol* 108:917–924 <https://doi.org/10.1099/jmm.0.46071-0>
17. JinLong Y, Rui Y, AnChun C, MingShu W, LiZhi F, SongQuan Y, SuHui Z, Liu Y, ZhiYong X (2010) A simple and rapid method for detection of Goose Parvovirus in the field by loop-mediated isothermal amplification. *Virol J* 7:1–7 <https://doi.org/10.1186/1743-422X-7-14>
18. Rashid M, Rashid MI, Ali Q (2021) An accurate, rapid and simple loop-mediated isothermal amplification method for Explanatum explanatum detection in animals. *Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran*, p 377 doi: 10.30466/vrf.2020.111872.2657
19. Mohandas SS, Muthuchelvan D, Pandey AB, Biswas SK, Chand K, Venkatesan G, Choudhary D, Ramakrishnan MA, Mondal B

- (2015) Development of reverse transcription loop mediated isothermal amplification assay for rapid detection of bluetongue viruses. *J Virol Methods* 222:103–105 <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2015.06.005>
20. Tiersong W, He L, Zhu T, Yang X, Zhang Z, Ahmad AA, Di W, Wang C, Zhou C, Liu H (2020) Development and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for the detection of the E198A SNP in the isotype-1 β -tubulin gene of *Haemonchus contortus* populations in China. *Vet Parasitol* 278:109040 <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109040>
21. Golabi M, Flodrops M, Grasland B, Vinayaka AC, Quyen TL, Nguyen T, Bang DD, Wolff A (2021) Development of reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay for rapid and on-site detection of avian influenza virus. *Front cell infect microbiol* 11:652048 <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.652048>
22. Chen H, Zhang J, Sun D, Ma L, Liu X, Cai X, Liu Y (2008) Development of reverse transcription loop-mediated isothermal amplification for rapid detection of H9 avian influenza virus. *J Virol Methods* 151:200–203 <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2008.05.009>
23. Peng Y, Xie Z, Liu J, Pang Y, Deng X, Xie Z, Xie L, Fan Q, Feng J, Khan MI (2011) Visual detection of H3 subtype avian influenza viruses by reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay. *Virol J* 8:1–10 <https://doi.org/10.1186/1743-422X-8-337>
24. Bao H, Wang X, Zhao Y, Sun X, Li Y, Xiong Y, Chen H (2012) Development of a reverse transcription loop-mediated isothermal amplification method for the rapid detection of avian influenza virus subtype H7. *J Virol Methods* 179:33–37 <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112437>
25. Min Tun H, Wisedchanwet T, Wongphatcharachai M, Nonthabenjawan N, Chaiyawong S, Theamboonlers A, Poovorawan Y, Amonsin A (2014) Development of one-step reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (LAMP) as a screening tool for influenza A viruses. *Thai J Vet Med* 44:427–434 <https://doi.org/10.56808/2985-1130.2593>
26. Luo S, Xie Z, Xie L, Liu J, Xie Z, Deng X, Huang L, Huang J, Zeng T, Khan MI (2015) Reverse-transcription, loop-mediated isothermal amplification assay for the sensitive and rapid detection of H10 subtype avian influenza viruses. *Virol J* 12:1–7 <https://doi.org/10.1186/s12985-015-0378-1>
27. Zhang X, Liao M, Jiao P, Luo K, Zhang H, Ren T, Zhang G, Xu C, Xin C, Cao W (2010) Development of a loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of subgroup J avian leukosis virus. *J Clin Microbiol* 48:2116–2121 <https://doi.org/10.1128/jcm.02530-09>
28. El-Tholoth M, Mauk MG, Anis E, Bau HH (2020) A closed-tube, single-step, real time, reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification assay for infectious bronchitis virus detection in chickens. *J Virol Methods* 284:113940 <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2020.113940>
29. Wu X, Song Z, Zhai X, Zuo L, Mei X, Xiang R, Kang Z, Zhou L, Wang H (2019) Simultaneous and visual detection of infectious bronchitis virus and Newcastle disease virus by multiple LAMP and lateral flow dipstick. *Poult Sci* 98:5401–5411 <https://doi.org/10.3382/ps/pez372>
30. Stepień-Pysniak D, Kosikowska U, Hauschild T, Burzynski A, Wilczyński J, Kolinska A, Nowaczek A, Marek A (2018) A loop-mediated isothermal amplification procedure targeting the *sodA* gene for rapid and specific identification of *Gallibacterium anatis*. *Poult Sci* 97:1141–1147 <https://doi.org/10.3382/ps/pex420>
31. Kim E-M, Jeon H-S, Kim J-J, Shin Y-K, Lee Y-J, Yeo S-G, Park C-K (2016) Uracil-DNA glycosylase-treated reverse transcription loop-mediated isothermal amplification for rapid detection of avian influenza virus preventing carry-over contamination. *J Vet Sci* 17:421–425 <https://doi.org/10.4142/jvs.2016.17.3.421>
32. Li C, Chen Z, Meng C, Liu G (2014) Rapid detection of duck hepatitis A virus genotype C using reverse transcription loop-mediated isothermal amplification. *J Virol Methods* 196:193–198 <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2013.11.009>
33. Song C, Wan H, Yu S, Han X, Qiu X, Hu Q, Tan L, Ding C (2012) Rapid detection of duck hepatitis virus type-1 by reverse transcription loop-mediated isothermal amplification. *J Virol Methods* 182:76–81 <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2012.03.013>
34. Yang L, Li J, Bi Y, Xu L, Liu W (2012) Development and application of a reverse transcription loop-mediated isothermal amplification method for rapid detection of Duck hepatitis A virus type 1. *Virus Genes* 45:585–589 <https://doi.org/10.1007/s11262-012-0798-6>
35. Wang Y, Yuan X, Li Y, Yu K, Yang J, Xu H, Zhang Y, Yu K, Liao M, Qin Z (2011) Rapid detection of newly isolated Tembusu-related Flavivirus by reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification assay. *Virol J* 8:1–7 <https://doi.org/10.1186/1743-422X-8-553>
36. Woźniakowski G, Tarasiuk K (2015) Visual detection of goose haemorrhagic polyomavirus in geese and ducks by loop-mediated isothermal amplification. *Avian Pathol* 44:311–318 <https://doi.org/10.1080/03079457.2015.1049585>
37. Ji J, Xie Q, Chen C, Bai S, Zou L, Zuo K, Cao Y, Xue C, Ma J, Bi Y (2010) Molecular detection of Muscovy duck parvovirus by loop-mediated isothermal amplification assay. *Poult Sci* 89:477–483 <https://doi.org/10.3382/ps.2009-00527>
38. Tsai SS, Chang YL, Huang YL, Liu HJ, Ke GM, Chiou CJ, Hsieh YC, Chang TC, Cheng LT, Chuang KP (2014) Development of a loop-mediated isothermal amplification method for rapid detection of pigeon circovirus. *Arch Virol* 159:921–926 <https://doi.org/10.1007/s00705-013-1906-1>
39. Komiyama C, Suzuki K, Miura Y, Sentsui H (2009) Development of loop-mediated isothermal amplification method for diagnosis of bovine leukemia virus infection. *J Virol Methods* 157:175–179 <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2008.12.015>
40. Song L, Li J, Hou S, Li X, Chen S (2012) Establishment of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for rapid detection of *Brucella* spp. and application to milk and blood samples. *J Microbiol Methods* 90:292–297 <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2012.05.024>
41. Suwancharoen D, Limlertvatee S, Chetiyawan P, Tongpan P, Sangkaew N, Sawaddee Y, Inthakan K, Wiratsudakul A (2016) A nationwide survey of pathogenic leptospires in urine of cattle and buffaloes by Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method in Thailand, 2011–2013. *J Vet Med Sci* 78:1495–1500 <https://doi.org/10.1292/jvms.15-0493>
42. Khangembam R, Tóth M, Vass N, Várady M, Czeglédi L, Farkas R, Antonopoulos A (2021) Point of care colourimetric and lateral flow LAMP assay for the detection of *Haemonchus contortus* in ruminant faecal samples. *Parasite* 28:82 doi: 10.1051/parasite/2021078
43. Arnuphappasert A, Nugraheni YR, Aung A, Asada M, Kaewthamasorn M (2023) Detection of *Babesia bovis* using loop-mediated isothermal amplification (LAMP) with improved thermostability, sensitivity and alternative visualization methods. *Sci Rep* 13:1838 <https://doi.org/10.1038/s41598-023-29066-1>
44. Dukes JP, King DP, Alexandersen S (2006) Novel reverse transcription loop-mediated isothermal amplification for rapid detection of foot-and-mouth disease virus. *Arch Virol* 151:1093–1106 <https://doi.org/10.1007/s00705-005-0708-5>
45. Li L, Bao J, Wu X, Wang Z, Wang J, Gong M, Liu C, Li J (2010) Rapid detection of peste des petits ruminants virus by a reverse

transcription loop-mediated isothermal amplification assay. *J Virol Methods* 170:37–41 <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2010.08.016>

46. Huang J, Sun Y, Liu Y, Xiao H, Zhuang S (2012) Development of a loop-mediated isothermal amplification method for rapid detection of caprine arthritis-encephalitis virus proviral DNA. *Arch Virol* 157:1463–1469 <https://doi.org/10.1007/s00705-012-1322-y>

47. Batra K, Kumar A, Kumar V, Nanda T, Maan NS, Maan S (2015) Development and evaluation of loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of Capripoxvirus. *Vet World* 8:1286 doi: 10.14202/vetworld.2015.1286-1292

48. Murray L, Edwards L, Tuppurainen ES, Bachanek-Bankowska K, Oura CA, Mioulet V, King DP (2013) Detection of capripoxvirus DNA using a novel loop-mediated isothermal amplification assay. *BMC Vet Res* 9:1–8 <https://doi.org/10.1186/1746-6148-9-90>

49. Tang Y, Yeh Y-T, Chen H, Yu C, Gao X, Diao Y (2015) Comparison of four molecular assays for the detection of Tembusu virus. *Avian Pathol* 44:379–385 <https://doi.org/10.1080/03079457.2015.1061650>

50. Mulholland C, Hoffmann B, McMenamy MJ, Korthase C, Earley B, Markey B, Cassidy JP, McKillen J, Allan G, Welsh MD (2014) The development of an accelerated reverse-transcription loop mediated isothermal amplification for the serotype specific detection of bluetongue virus 8 in clinical samples. *J Virol Methods* 202:95–100 <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2014.03.004>

51. Le Roux CA, Kubo T, Grobbelaar AA, van Vuren PJ, Weyer J, Nel LH, Swanepoel R, Morita K, Paweska JT (2009) Development and evaluation of a real-time reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of Rift Valley fever virus in clinical specimens. *J Clin Microbiol* 47:645–651 <https://doi.org/10.1128/jcm.01412-08>

52. Li J, Song D, He W, Bao Y, Lu R, Su G, Wang G, Lu H, Zhao K, Gao F (2013) Rapid detection of orf virus by loop-mediated isothermal amplification based on the DNA polymerase gene. *Arch Virol* 158:793–798 <https://doi.org/10.1007/s00705-012-1526-1>

53. Njiru Z, Mikosza A, Matovu E, Enyaru J, Ouma J, Kibona S, Thompson R, Ndung'u J (2008) African trypanosomiasis: sensitive and rapid detection of the sub-genus Trypanozoon by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) of parasite DNA. *Int J Parasitol* 38:589–599 <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2007.09.006>

54. Feng K, Li W, Guo Z, Duo H, Fu Y, Shen X, Tie C, XIAO C, LUO Y, QI G (2017) Development of LAMP assays for the molecular detection of taeniid infection in canine in Tibetan rural area. *J Vet Med Sci* 79:1986–1993 <https://doi.org/10.1292/jvms.17-0430>

55. Domingo C, Alili R, Alvaran I, Aquino R (2018) Prepatent RT-LAMP Detection of *Fasciola gigantica* in Snails (*Lymnaea* spp.) and Goats (*Capra hircus*) Targeting Cathepsin B3 gene. *J Vet Sci Med Diagn* 7 3:2 DOI: 10.4172/2325-9590.1000263

56. Qiao J, Wang J, Meng Q, Wang G, Liu Y, He Z, Yang H, Zhang Z, Cai X, Chen C (2013) Rapid detection of Akabane virus by a novel reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay (RT-LAMP). *Virol J* 10:1–5 <https://doi.org/10.1186/1743-422X-10-288>

57. Xie Z, Fan Q, Liu J, Pang Y, Deng X, Xie Z, Liji X, Khan MI (2012) Reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of Bovine Rotavirus. *BMC Vet Res* 8:1–9 <https://doi.org/10.1186/1746-6148-8-133>

58. Fan Q, Xie Z, Xie L, Liu J, Pang Y, Deng X, Xie Z, Peng Y, Wang X (2012) A reverse transcription loop-mediated isothermal amplification method for rapid detection of bovine viral diarrhea virus. *J Virol Methods* 186:43–48 <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2012.08.007>

59. Bath C, Scott M, Sharma PM, Gurung RB, Phuentshok Y, Pefanis S, Colling A, Singanallur Balasubramanian N, Firestone SM, Ungvanijban S (2020) Further development of a reverse-

transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) assay for the detection of foot-and-mouth disease virus and validation in the field with use of an internal positive control. *Transbound Emerg Dis* 67:2494–2506 <https://doi.org/10.1111/tbed.13589>

60. El-Kholy AA, Abdelrahman K, Soliman H (2014) Rapid detection of BoHV-1 genomic DNA by loop-mediated isothermal amplification assay. *J Virol Methods* 204:81–85 <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2014.04.011>

61. Yashiki N, Yamazaki Y, Subangkit M, Okabayashi T, Yamazaki W, Goto Y (2019) Development of a LAMP assay for rapid and sensitive detection and differentiation of *Mycobacterium avium* subsp. *avium* and subsp. *hominissuis*. *Lett Appl Microbiol* 69:155–160 <https://doi.org/10.1111/lam.13188>

62. Ali SA, Boby N, Preena P, Singh SV, Kaur G, Ghosh SK, Nandi S, Chaudhuri P (2022) Microcapillary LAMP for rapid and sensitive detection of pathogen in bovine semen. *Anim Biotechnol* 33:1025–1034 <https://doi.org/10.1080/10495398.2020.1863225>

63. Hang'ombe MB, Nakajima C, Ishii A, Fukushima Y, Munyeme M, Matandiko W, Mweene AS, Suzuki Y (2011) Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex in cattle and lechwe (*Kobus lechwe kufuensis*) at the slaughter house. *Vet Sci Dev* 1:e5–e5 <https://doi.org/10.4081/vsd.2011.2374>

64. Kapalamula TF, Thapa J, Akapelwa ML, Hayashida K, Gordon SV, Hang'Ombe BM, Munyeme M, Solo ES, Bwalya P, Nyenje ME (2021) Development of a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method for specific detection of *Mycobacterium bovis*. *PLoS Negl Trop Dis* 15:e0008996 <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008996>

65. Kumar B, Maharana BR, Brahmbhatt NN, Thakre BJ, Parmar VL (2021) Development of a loop-mediated isothermal amplification assay based on RoTat1. 2 gene for detection of *Trypanosoma evansi* in domesticated animals. *Parasitol Res* 120:1873–1882 <https://doi.org/10.1007/s00436-021-07118-7>

66. Castilho Neto KJG de A, Garcia AB da CF, Fidelis Junior OL, Nagata WB, André MR, Teixeira MMG, Machado RZ, Cadioli FA (2021) Follow-up of dairy cattle naturally infected by *Trypanosoma vivax* after treatment with isometamidium chloride. *Rev Bras Parasitol Vet* 30: <https://doi.org/10.1590/S1984-29612021019>

67. Ahmed ME, Eldigail MH, Elamin FM, Ali IA, Grobusch MP, Aradaib IE (2016) Development and evaluation of real-time loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of cystic echinococcosis. *BMC Vet Res* 12:1–10 <https://doi.org/10.1186/s12917-016-0809-2>

68. HAN J, ZHANG H, Qin T, LIU T, Jing X, Li L, Gang Y, Yin W, YAO X, YANG Z (2017) Preliminary study of LAMP method for the detection of equine infectious anemia virus. *Atlantis Press*, pp 492–499 <https://doi.org/10.2991/bbe-17.2017.79>

69. Boyle AG, Stefanovski D, Rankin SC (2017) Comparison of nasopharyngeal and guttural pouch specimens to determine the optimal sampling site to detect *Streptococcus equi* subsp. *equi* carriers by DNA amplification. *BMC Vet Res* 13:1–8 <https://doi.org/10.1186/s12917-017-0989-4>

70. Htun ZM, Rotchanapreeda T, Rujirawat T, Lohnoo T, Yingyong W, Kumsang Y, Sae-Chew P, Payattikul P, Yurayart C, Limsivilai O (2020) Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for identification of *Pythium insidiosum*. *Int J Infect Dis* 101:149–159 <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.09.1430>

71. Inácio J, Flores O, Spencer-Martins I (2008) Efficient identification of clinically relevant *Candida* yeast species by use of an assay combining panfungal loop-mediated isothermal DNA amplification with hybridization to species-specific oligonucleotide probes. *J Clin Microbiol* 46:713–720 <https://doi.org/10.1128/jcm.00514-07>

72. Chen H, Zhang J, Liu Y, Liu X (2011) Detection of foot-and-mouth disease virus RNA by reverse transcription loop-mediated

- isothermal amplification. *Virol J* 8:1–4 <https://doi.org/10.1186/1743-422X-8-510>
73. Zhao K, Hu R, Ni J, Liang J, He X, Du Y, Xu Y, Zhao B, Zhang Q, Li C (2020) Establishment of a porcine parvovirus (PPV) LAMP visual rapid detection method. *J Virol Methods* 284:113924 <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2020.113924>
74. Qu G, Fu S, Shen N, Wang J, Xiao Y, Guan Y, Tang N, Chen L, Gao S, Shen Z (2010) Rapid and sensitive diagnosis of porcine parvovirus by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method. *J Appl Anim Res* 37:113–116 <https://doi.org/10.1080/0971219.2010.9707106>
75. Wang D, Yu J, Wang Y, Zhang M, Li P, Liu M, Liu Y (2020) Development of a real-time loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay and visual LAMP assay for detection of African swine fever virus (ASFV). *J Virol Methods* 276:113775 <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2019.113775>
76. Chen H-T, Chu Y-F, Liu Y-S, Zhang J, Lu Z-X (2010) Loop-mediated isothermal amplification for the rapid detection of *Haemophilus parasuis*. *FEMS Microbiol Immunol* 60:283–285 <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2010.00728.x>
77. Avila HG, Risso MG, Cabrera M, Ruybal P, Repetto SA, Butti MJ, Trangoni MD, Santillán G, Pérez VM, Periago MV (2021) Development of a new LAMP assay for the detection of *Ancylostoma Caninum* DNA (Copro-Lampac) in dog fecal samples. *Front vet sci* 8:770508 <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.770508>
78. Gao C, Ding D, Wang J, Steverding D, Wang X, Yang Y, Shi F (2015) Development of a LAMP assay for detection of *Leishmania infantum* infection in dogs using conjunctival swab samples. *Parasites Vectors* 8:1–8 <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0991-2>
79. Sun Y-L, Yen C-H, Tu C-F (2014) Visual detection of canine parvovirus based on loop-mediated isothermal amplification combined with enzyme-linked immunosorbent assay and with lateral flow dipstick. *J Vet Med Sci* 76:509–516 <https://doi.org/10.1292/jvms.13-0448>
80. Ikadai H, Tanaka H, Shibahara N, Matsuo A, Uechi M, Itoh N, Oshiro S, Kudo N, Igarashi I, Oyamada T (2004) Molecular evidence of infections with *Babesia gibsoni* parasites in Japan and evaluation of the diagnostic potential of a loop-mediated isothermal amplification method. *J Clin Microbiol* 42:2465–2469 <https://doi.org/10.1128/jcm.42.6.2465-2469.2004>
81. Müller H, Aysul N, Liu Z, Salih D, Karagenc T, Beyer D, Kullmann B, Ahmed J, Seitzer U (2010) Development of a Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP) Assay for Rapid Diagnosis of *Babesia canis* infections. *Transbound Emerg Dis* 57:63–65 <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2010.01113.x>
82. Chaouch M, Mhadhbi M, Adams ER, Schoone GJ, Limam S, Gharbi Z, Darghouth MA, Guizani I, BenAbderrazak S (2013) Development and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of *Leishmania infantum* in canine leishmaniasis based on cysteine protease B genes. *Vet Parasitol* 198:78–84 <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.07.038>
83. Maurelli MP, Bosco A, Foglia Manzillo V, Vitale F, Giaquinto D, Ciuca L, Molinaro G, Cringoli G, Oliva G, Rinaldi L (2020) Clinical, molecular and serological diagnosis of canine leishmaniosis: an integrated approach. *Vet Sci* 7:43 <https://doi.org/10.3390/vetsci7020043>
84. Xue Y, Kong Q, Ding H, Xie C, Zheng B, Zhuo X, Ding J, Tong Q, Lou D, Lu S (2021) A novel loop-mediated isothermal amplification-lateral-flow-dipstick (LAMP-LFD) device for rapid detection of *Toxoplasma gondii* in the blood of stray cats and dogs. *Parasite* 28:41 doi: 10.1051/parasite/2021039
85. Aonuma H, Yoshimura A, Perera N, Shinzawa N, Bando H, Oshiro S, Nelson B, Fukumoto S, Kanuka H (2009) Loop-mediated isothermal amplification applied to filarial parasites detection in the mosquito vectors: *Dirofilaria immitis* as a study model. *Parasites Vectors* 2:1–7 <https://doi.org/10.1186/1756-3305-2-15>
86. Raele DA, Pugliese N, Galante D, Latorre LM, Cafiero MA (2016) Development and application of a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) approach for the rapid detection of *Dirofilaria repens* from biological samples. *PLoS Negl Trop Dis* 10:e0004789 <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004789>
87. Bucher BJ, Muchaamba G, Kamber T, Kronenberg PA, Abydkerimov KK, Isaev M, Deplazes P, Alvarez Rojas CA (2021) LAMP Assay for the Detection of *Echinococcus multilocularis* Eggs Isolated from Canine Faeces by a Cost-Effective NaOH-Based DNA Extraction Method. *Pathogens* 10: <https://doi.org/10.3390/pathogens10070847>
88. Chen M, Ai L, Zhang R, Xia J, Wang K, Chen S, Zhang Y, Xu M, Li X, Zhu X (2011) Sensitive and rapid detection of *Paragonimus westermani* infection in humans and animals by loop-mediated isothermal amplification (LAMP). *Parasitol Res* 108:1193–1198 <https://doi.org/10.1007/s00436-010-2162-x>
89. Rapichai W, Saejung W, Khumtong K, Boonkaewwan C, Tuanthap S, Lieberzeit PA, Choowongkamon K, Rattanasrisomporn J (2022) Development of colorimetric reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay for detecting feline coronavirus. *Animals* 12:2075 <https://doi.org/10.3390/ani12162075>
90. Cao Z, Zhang K, Yin D, Zhang Q, Yu Y, Wen J, Ni H (2022) Clinical validation of visual LAMP and qLAMP assays for the rapid detection of *Toxoplasma gondii*. *Front Cell Infect Microbiol* 12:1024690 <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.1024690>
91. Khamlor T, Pongpiachan P, Parnpai R, Punyawai K, Sangsritavong S, Chokesajjawatee N (2015) Bovine embryo sex determination by multiplex loop-mediated isothermal amplification. *Theriogenology* 83:891–896 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.11.025>
92. Chan K-W, Liu P-C, Yang W-C, Kuo J, Chang C-T, Wang C-Y (2012) A novel loop-mediated isothermal amplification approach for sex identification of Columbidae birds. *Theriogenology* 78:1329–1338 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.05.034>
93. Ahmed MU, Hasan Q, Hossain MM, Saito M, Tamiya E (2010) Meat species identification based on the loop mediated isothermal amplification and electrochemical DNA sensor. *Food Control* 21:599–605 <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.09.001>
94. Cho A-R, Dong H-J, Cho S (2014) Meat species identification using loop-mediated isothermal amplification assay targeting species-specific mitochondrial DNA. *Korean J Food Sci Anim Resour* 34:799 doi: 10.5851/kosfa.2014.34.6.799
95. Sul S, Kim M-J, Kim H-Y (2019) Development of a direct loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for rapid and simple on-site detection of chicken in processed meat products. *Food Control* 98:194–199 <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.11.025>
96. Thangsunan P, Temisak S, Jaimalai T, Rios-Solis L, Suree N (2022) Sensitive detection of chicken meat in commercial processed food products based on one-step colourimetric loop-mediated isothermal amplification. *Food Anal Methods* 1–15 <https://doi.org/10.1007/s12161-021-02210-1>
97. Wang Y, Wang B, Wang D (2022) Development of a Ladder-shape melting temperature isothermal amplification assay for detection of duck adulteration in beef. *J Food Prot* 85:1203–1209 <https://doi.org/10.4315/JFP-22-015>
98. Abdulmawjood A, Grabowski N, Fohler S, Kittler S, Nagengast H, Klein G (2014) Development of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for rapid and sensitive identification of ostrich meat. *PLoS one* 9:e100717 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100717>
99. Mounika T, Girish P, Shashi Kumar M, Kumari A, Singh S,

Karabasanavar NS (2021) Identification of sheep (*Ovis aries*) meat by alkaline lysis-loop mediated isothermal amplification technique targeting mitochondrial D-loop region. *J. Food Sci Technol* 58:3825–3834 <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04843-2>

100. Kim M-J, Kim H-Y (2018) Direct duplex real-time loop mediated isothermal amplification assay for the simultaneous detection of cow and goat species origin of milk and yogurt products for field use. *Food Chem* 246:26–31 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.014>

101. Kumari S, Kumar RR, Mendiratta SK, Kumar D, Rana P, Kumar D, Jawla J (2019) Species-specific loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for identification of tissue of cattle origin by targeting mitochondrial gene sequences. *3 Biotech* 9:1–9 <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1595-x>

102. Yu W, Chen Y, Wang Z, Qiao L, Xie R, Zhang J, Bian S, Li H, Zhang Y, Chen A (2021) Multiple authentications of high-value milk by centrifugal microfluidic chip-based real-time fluorescent LAMP. *Food Chem* 351:129348 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129348>

103. Cai S, Kong F, Xu S (2020) Detection of porcine-derived ingredients from adulterated meat based on real-time loop-mediated isothermal amplification. *Mol Cell Prob* 53:101609 <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2020.101609>

104. Kanchanaphum P, Maneenin S, Chaiyana W (2014) Analysis of pork meat using loop mediated isothermal amplification (LAMP) to confirm halal status. *Int J Biosci* 4:62–68 <http://dx.doi.org/10.12692/ijb/4.9.62-68>

105. Yang L, Fu S, Peng X, Li L, Song T, Li L (2014) Identification of pork in meat products using real-time loop-mediated isothermal amplification. *Biotechnol Biotechnol Equip* 28:882–888 <https://doi.org/10.1080/13102818.2014.963789>

106. Lee S-Y, Kim M-J, Hong Y, Kim H-Y (2016) Development of a rapid on-site detection method for pork in processed meat products using real-time loop-mediated isothermal amplification. *Food Control* 66:53–61 <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.01.041>

107. Girish P, Barbuddhe S, Kumari A, Rawool DB, Karabasanavar NS, Muthukumar M, Vaithiyanathan S (2020) Rapid detection of pork using alkaline lysis-Loop Mediated Isothermal Amplification (AL-LAMP) technique. *Food Control* 110:107015 <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.107015>

108. Deb R, Sengar G, Singh U, Kumar S, Raja T, Alex R, Alyethodi R, Prakash B (2017) LAMP assay for rapid diagnosis of cow DNA in goat milk and meat samples. *Iran J Vet Res* 18:134

109. Jawla J, Kumar RR, Mendiratta S, Agarwal R, Kumari S, Saxena V, Kumar D, Singh P, Boby N, Rana P (2021) based loop-mediated isothermal amplification and lateral flow (LAMP-LF) assay for identification of tissues of cattle origin. *Anal Chim Acta* 1150:338220 <https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.338220>

110. Kumari S, Kumar R, Mendiratta S, Kumar D, Kumar A, Kumar D, Rana P, Jawla J (2020) On-site detection of tissues of buffalo origin by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay targeting mitochondrial gene sequences. *Food Anal Methods* 13:1060–1068 <https://doi.org/10.1007/s12161-020-01718-2>

111. Deb R, Sengar GS, Singh U, Kumar S, Alyethodi R, Alex R, Raja T, Das A, Prakash B (2016) Application of a loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of cow components adulterated in buffalo milk/meat. *Mol Biotechnol* 58:850–860 <https://doi.org/10.1007/s12033-016-9984-4>

112. Dini P, Van Poucke M, Herrera C, Peelman L, Daels P (2016) Preimplantation gender determination on equine embryos using LAMP. *J Equine Vet Sci* pp 75–75 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.12.013>

113. Zahradnik C, Martzy R, Mach RL, Krška R, Farnleitner AH, Brunner K (2015) Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for the detection of horse meat in meat and processed meat products. *Food Anal Methods* 8:1576–1581 <https://doi.org/10.1007/s12161-014-0072-8>

114. Wang J, Wan Y, Chen G, Liang H, Ding S, Shang K, Li M, Dong J, Du F, Cui X (2019) Colorimetric detection of horse meat based on loop-mediated isothermal amplification (LAMP). *Food Anal Methods* 12:2535–2541 <https://doi.org/10.1007/s12161-019-01590-9>

115. Zhang C, Zhang X, Liao G, Shang Y, Ge C, Chen R, Wang Y, Xu W (2019) Species-specific TM-LAMP and Trident-like lateral flow biosensor for on-site authenticity detection of horse and donkey meat. *Sensors and Actuators B: Chemical* 301:127039 <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.127039>

116. Liu J, Shi Y, Teng S, Wu L, Zhang X (2017) Establishment and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification assay for detection of Raccoon dog in meat mixtures. *J Food Qual* 2017: <https://doi.org/10.1155/2017/9319035>

117. Li X, Gao X, Guan Y (2019) A novel isothermal amplification method for detecting mouse source component in meat. *J AOAC Int* 102:872–877 <https://doi.org/10.5740/jaoacint.18-0325>

118. Mabey D, Peeling RW, Ustianowski A, Perkins MD (2004) Diagnostics for the developing world. *Nat Rev Microbiol* 2:231–240 <https://doi.org/10.1038/nrmicro841>

119. Fu S, Qu G, Guo S, Ma L, Zhang N, Zhang S, Gao S, Shen Z (2011) Applications of loop-mediated isothermal DNA amplification. *Appl Biochem Biotechnol* 163:845–850 <https://doi.org/10.1007/s12010-010-9088-8>

120. Mansour SM, Ali H, Chase CC, Cepica A (2015) Loop-mediated isothermal amplification for diagnosis of 18 World Organization for Animal Health (OIE) notifiable viral diseases of ruminants, swine and poultry. *Anim Health Res Rev* 16:89–106 <https://doi.org/10.1017/S1466252315000018>

121. Hsieh K, Mage PL, Csordas AT, Eisenstein M, Soh HT (2014) Simultaneous elimination of carryover contamination and detection of DNA with uracil-DNA-glycosylase-supplemented loop-mediated isothermal amplification (UDG-LAMP). *ChemComm* 50:3747–3749 <https://doi.org/10.1039/C4CC00540F>

122. Chen H-W, Ching W-M (2016) The development of lyophilized loop-mediated isothermal amplification reagents for the detection of *Coxiella burnetii*. *J Vis Exp* e53839 <https://doi.org/10.3791/53839>

Közlésre érck.: 2023. Aug. 13.