

# Grup A Streptokokların Hızlı Moleküler Tanısında Loop-Mediated Isothermal Amplification PCR (LAMP-PCR)

## Loop-Mediated Isothermal Amplification PCR (LAMP-PCR) For Rapid Molecular Diagnosis of Group A Streptococci

Mustafa Altındış<sup>1</sup>, Bahri Elmas<sup>2</sup>, Ümit Kılıç<sup>1</sup>, Ferhat Gürkan Aslan<sup>1</sup>,

Gökhan Küçükçkara<sup>1</sup>, Mehmet Köroğlu<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sakarya

<sup>2</sup> Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Sakarya

Altındis M, Elmas B, Kılıç U, Aslan FG, Kucukkara G, Koroglu M. Loop-Mediated Isothermal Amplification PCR (LAMP-PCR) For Rapid Molecular Diagnosis of Group A Streptococci. J Biotechnol and Strategic Health Res. 2017;1:11-16.

### Özet

**Amaç:** Bakteriyel farenjit olgularının çoğunluğunu Grup A Streptokoklar (GAS) oluşturur. Bu nedenle akut tonsillofarenjit olgularında tedavinin yönlendirilmesi açısından bakteriyel-viral etkenlerin aynı ve GAS'ın hızlı tanısı ön plana çıkmaktadır. Bu çalışmada ise akut bakteriyel tonsillofarenjit düşünülen çocuk hastalarda, GAS hızlı tanısında Loop-Mediated Isothermal Amplification PCR (LAMP PCR) yönteminin etkinliğinin belirlenmesi ve konvansiyonel yöntem olan kültür testleriyle uyumunun karşılaştırılması amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntemler:** Akut tonsillofarenjit yakınmaları ile Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesine başvuran hastaların posterior farenks ve tonsillerinden alınan sürüntü örneklerinden izole edilen 36 GAS suşu, eş zamanlı boğaz kültürü GAS pozitif olan 8 adet hastanın boğaz sürüntüsü ve bir adet standart *Streptococcus pyogenes* suşu (ATCC 19615) çalışma kapsamına alınmıştır. İzole edilen GAS suşlarından LAMP PCR çalışılmıştır. Hedef bölge olarak Streptolysin B (speB) gen bölgesi hedeflenmiştir. Ekstraksiyon, amplifikasyon ve sonuçların analizi LAMP PCR cihazında (Genie II, Optigene, UK) gerçekleştirilmiş olup, tüm bu işlemlerin 70 dakika içerisinde sonuçlandığı görülmüştür. LAMP PCR cihazında elde edilen sonuç grafikleri Genie Explorer v2.0.6.3 (Optigene, UK) programıyla değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** LAMP PCR ile hasta örneklerinden izole edilmiş olan GAS suşlarının (n=36) % 97.2'si (n=35) pozitif olarak saptandı. Eş zamanlı boğaz kültürü GAS yönünden pozitif olan 8 hastanın boğaz sürüntüsü örneğinden 7'si (% 87.5) LAMP PCR ile GAS pozitif olarak saptandı. Duplike çalışılan standart suş örneği de pozitif bulundu. Enzimatik yöntem ile DNA izolasyonu (~30 dakika) ve izotermal amplifikasyon işlemi (~40 dakika) toplamda ~70 dakikada tamamlandı.

**Sonuç:** LAMP PCR; yüksek duyarlılık ve özgüllükte, ekstraksiyon prosedürü çok basit ve pratik olan, izolasyon ve amplifikasyon ile sonuçların analizinin taşınabilir özellikte küçük tek bir cihazda yapıldığı, 45-70 dk gibi çok kısa sürede sonuç alınabilen, personel açısından kolay uygulanabilen, minimal laboratuvar donanımı ile gerektiren, sonuçların gözle de değerlendirilmesi imkanı olan ve diğer moleküler testlere göre daha uygun fiyatı olan bir yöntemdir. LAMP PCR'in bu alanda kullanımını henüz çok yeni olduğundan yeni ve kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler:** *Streptococcus pyogenes*, Grup A Streptokok, LAMP PCR, hızlı tanı, tonsillofarenjit

### Abstract

**Objective:** Most bacterial pharyngitis is caused by Group A Streptococci (GAS). Therefore, discrimination between bacterial-viral causes, and rapid diagnosis of GAS are important in terms of guiding treatment in acute tonsillopharyngitis cases. The present study aims to assess the efficacy of Loop-Mediated Isothermal Amplification PCR (LAMP PCR) test for rapid diagnosis of GAS, and compare its correlation with culture tests as conventional methods in children with suspected acute bacterial tonsillopharyngitis.

**Materials and Methods:** We studied 36 GAS strains isolated from swab samples obtained from posterior pharynxes and tonsils of patients presenting to Sakarya University Training and Research Hospital with acute tonsillopharyngitis symptoms, pharyngeal swab samples from 8 patients who had concurrent positive pharyngeal culture results for GAS, and one standard *Streptococcus pyogenes* strain (ATCC 19615). Isolated GAS strains were analyzed with LAMP PCR. As target region, Streptolysin B (speB) gene region was selected. Extraction, amplification and analysis of the results were performed with LAMP PCR analyzer (Genie II, Optigene, UK), and all these procedures were completed within 70 minutes. Result graphics obtained from LAMP PCR analyzer were evaluated with Genie Explorer v2.0.6.3 (Optigene, UK) program.

**Results:** LAMP PCR method yielded positive results for 97.2% (35/36) of GAS strains isolated from patient samples. Pharyngeal swab samples of 8 patients who had concurrent positive culture results for GAS were analyzed, and 7 of them (87.5%) had positive GAS results with LAMP PCR. Standard strain sample which was analyzed with duplicate run was also detected as positive. With enzymatic method, DNA isolation (~30 minutes) and isothermal amplification process (~40 minutes) were completed in ~70 minutes.

**Conclusion:** LAMP PCR has high sensitivity and specificity with pretty simple and practical extraction procedure. A single small portable device is sufficient for isolation, amplification and analysis of the results, with the whole process taking only as short as 45-70 minutes. It is a convenient method requiring minimal laboratory equipment, and the results can be evaluated visually. It is more affordable compared to other molecular tests. Since LAMP PCR has been introduced recently to clinical practice, more comprehensive studies are necessary.

**Keywords:** *Streptococcus pyogenes*, Group A Streptococcus, LAMP PCR, rapid diagnosis, tonsillopharyngitis



Geliş Tarihi / Received : 16.05.2017

Kabul Tarihi / Accepted : 22.05.2017

\*Corresponding Author:

Prof. Dr. Mustafa Altındış

Sakarya University Faculty of Medicine,  
Department of Medical Microbiology,  
Korucuk Sakarya, Turkey

E-mail: maltindis@gmail.com

**Giriş**

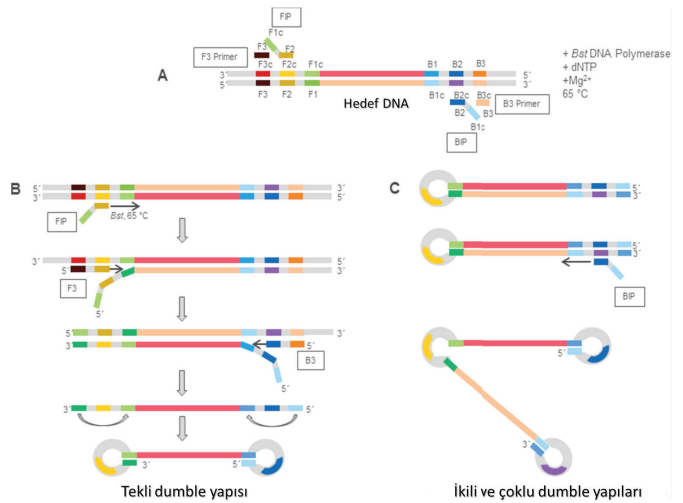
*Streptococcus pyogenes*, yaygın olarak kullanılan diğer isimlendirme ile grup A streptococcus (GAS) olarak da bilinmekte olup, patojen streptokoklar arasında yer alır. GAS, adezyon, kolonizasyon, doku yıkımı, toksin gibi virülans faktörleri ile çeşitli klinik tablolara yol açabilir<sup>1</sup>. Bu klinik tablolar arasında sıklıkla kendini sınırlayan tonsillofarenjit ve impetigo, selülit gibi deri enfeksiyonları vardır. Travma veya yüzeysel deri enfeksiyonlarının komplikasyonu olarak nekrotizan fasiit ve miyonekrozis gibi derin doku enfeksiyonlarına neden olabilir<sup>1</sup>. Sistemik klinik tablolar arasında ise sepsis ve streptokokal toksik şok sendromu gibi tablolar vardır.

GAS enfeksiyonları ayrıca indirekt olarak immün aracılı, akut romatizmal ateş (ARA), romatizmal kalp hastalığı (RKH) ve akut post-streptokokal glomerulonefrit (APSGN) gibi ciddi komplikasyonlara yol açabilmektedir<sup>2</sup>. ARA ve RKH daha sık karşılaşılan tablodur ve sıklıkla tedavi edilmeyen, tekrarlayan GAS tonsillofarenjit olgularını takiben gelişir<sup>3</sup>. Akut tonsillofarenjit olgularının büyük kısmında (%50-80) viral etiyolojik ajan saptanırken bakteriyel etkenlerin sıklığı %5-30 civarındadır<sup>4,5</sup>. Bakteriyel farenjit olgularının çoğunluğunu ise GAS oluşturur. Bu nedenle akut tonsillofarenjit olgularında etiyolojik olarak bakteriyel-viral ayrımında GAS'ın hızlı tanısı ön plana çıkmaktadır. Bu hızlı tanı, antibiyotiklerin uygun kullanımı ve GAS'a bağlı enfeksiyon varlığında daha sonra gelişebilecek ARA, RKH gibi morbidite ve mortalite nedeni olan komplikasyonlara önlem alınması açısından kritik önemdedir.

GAS'a bağlı akut tonsillofarenjitin tanısında altın standart olan kültür 24-48 saatte, bazen daha uzun sürede sonuç vermektedir. Bu nedenle hızlı antijen testleri ve moleküler yöntemler kısa süreli testlere ihtiyaç duyulmaktadır. Yüksek duyarlılık ve özgüllükte olan PCR-real time PCR gibi moleküler metodlar, pahalı olmasının yanında aynı bir laboratuvar ve donanımı gerektirdiğinden genellikle araştırma amaçlı kullanılmıştır<sup>6</sup>.

LAMP PCR ilk kez 2000 yılında bir izotermal amplifikasyon metodu olarak ortaya çıkmıştır<sup>7</sup>. LAMP PCR metodunda; reaksiyon sırasında primer bağlanması için sürekli tek iplikçikli bir bölgenin sağlanması ile izotermal şartlarda PCR reaksiyonu sağlanır. Çift iplikçikli DNA 65 °C'de dinamik dengede olduğundan primerlerden biri hedefine bağlanarak reaksiyonu başlatır. Bu reaksiyon için

toplam 4-6 primer kullanılır. Reaksiyon, Forward Inner (iç) Primer, Forward Outer (dış) Primer, Backward Inner Primer, Backward Outer Primeri ve daha hızlı reaksiyon için ilave kullanılabilecek olan iki loop primeri ve yer değiştirme özelliği olan DNA polimeraz enzimi ile gerçekleşir. İç ve dış primerlerin bağlanmasıyla amplifikasyon için başlangıç materyalinin oluşma adımları başlar. İç primerlerin uç kısımlarında hedef bölgeye bağlanmayan baz dizilimi mevcuttur ve sentezlenecek olan zincirde bu dizinin komplementer kısmı mevcuttur. Bu bağlanmayan kısım yeni sentezlenen zincir arasındaki hedef bölgeden dış primerlerle oluşan sentez sonucu iç primerden sentezlenen kısım ayrılır ve ayrılırken başta bağlanmayan kısım sentezlenen kısımdaki komplementer bölgesine bağlandığında zincir uç kısmından kıvrılmış (ilmik formu) olur. Forward ve backward primerlerin karşılıklı oluşturduğu bu reaksiyon sonunda 'dumble' tarzında amplifikasyon için başlangıç ürünü oluşturur. Bu ilmikli (loop), dumble formasyonlu nükleik asitin ilmiklerindeki primer bölgelerinden seri amplifikasyon işlemi gerçekleşir ve sonunda ilmikli, değişik ve büyük boyutlarda DNA amplikonları oluşur<sup>7-9</sup> (Şekil 1). Konvansiyonel PCR'a göre hızlı, ucuz ve daha kararlı olması ilgi çekmiştir. LAMP PCR *Plasmodium sp.*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Pneumocystis jirovecii* ve *Bordetella pertussis* gibi enfeksiyon etkenlerinin saptanmasında kullanılmaktadır<sup>7,10-13</sup>.



**Şekil 1.** LAMP PCR reaksiyonunun şematik gösterimi<sup>9</sup>. A) Primerler, bağlanma bölgeleri, ve reaksiyon koşulları. B) Amplifikasyon başlangıç ürünü olan çift ilmikli yapının oluştuğu (dumble yapısı) başlangıç reaksiyonu. C) Farklı boyutlarda çoklu dumble yapısında amplikonların oluştuğu amplifikasyon döngüleri

Bu çalışmada ise akut bakteriyel tonsillofarenjit düşünülen çocuk hastalarda, GAS hızlı tanısında LAMP PCR tekniğinin etkinliğinin belirlenmesi ve konvansiyonel yöntem olan kültür testleriyle uyumunun karşılaştırılması amaçlanmıştır.

### Gereç ve yöntem

Akut tonsillofarenjit yakınmaları ile Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesine başvuran hastaların posteriorfarenks ve tonsillerinden alınan sürüntü örneklerinden izole edilen 36 GAS suşu, eş zamanlı boğaz kültürü GAS pozitif olan 8 adet hastanın boğaz sürüntüsü ve bir adet standart *Streptococcus pyogenes* suşu (ATCC 19615) çalışma kapsamına alınmıştır.

Rutinde alınan boğaz sürüntüleri kültür için %5 koyun kanlı agar besiyerine ekildi. Bir gece % 5-10 CO<sub>2</sub>'li ortamda 35±2 °C'de inkübe edildi. Besiyerinde üreyen şüpheli beta hemolitik kolonilere; gram boyama ve katalaz testi yapıldıktan sonra basitrasin ve trime-toprim-sulfometaksazol diskleri, PYR testi ve VITEK 2® otomatize sistemi ile GAS identifikasyonu yapıldı.

İzole edilen GAS suşlarından LAMP PCR çalışıldı. Bu suşlardan 1 McFarland standardında bakteri süspansiyonu hazırlandı. Nükleik asit ekstraksiyonu için bu sıvıdan 20 µL kullanıldı. Direkt sürüntü örneklerinden LAMP PCR çalışılan 8 hastanın boğaz sürüntüsü örneği için ise homojenize swab sıvısından alınan 20 µL sıvı kullanıldı. Hedef bölge olarak Streptolizin B (speB) gen bölgesi hedeflenmiş olup buna uygun şekilde LAMP PCR için 6 primer seti kullanılmıştır. Primer dizileri Genbank'tan seçilmiş ve belirlenmiştir. Nükleik asit ekstraksiyonu; lizozim enzimi ile 37°C'de 15 dk, sonrasında Insko enzimi ile 75° C'de 10 dk ve son olarak 95° C'de 5 dk inkübe edildi. İnkübasyon sonunda oluşan ekstraksiyon üründen 5 µL alınarak amplifikasyon için kullanıldı. Ekstraksiyon ürünü, GspSSD DNA Polimeraz içeren 15 µL mastermiks ve 5 µL primer miks ile karıştırılıp 65° C'de 40 dakika amplifikasyon işlemine tabi tutuldu. Ekstraksiyon, amplifikasyon ve sonuçların analizi LAMP PCR cihazında (Genie II, Optigene, UK) (Şekil 2) gerçekleştirilmiş olup, tüm bu işlemler 70 dakika içerisinde sonuçlandı. LAMP PCR cihazında elde edilen sonuç grafikleri Genie Explorer v2.0.6.3 (Optigene, UK) programıyla değerlendirildi (Şekil 3)<sup>14</sup>.

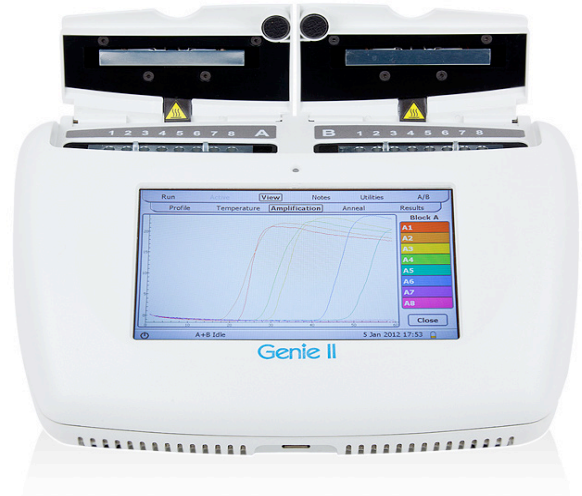
### Bulgular

LAMP PCR ile hasta örneklerinden izole edilmiş olan GAS suşlarının (n=36) %97.2'si (n=35) pozitif olarak saptandı. Eş zamanlı boğaz kültürü GAS yönünden pozitif olan 8 hastanın boğaz sürüntüsü örneğinden 7'si (%87.5) LAMP PCR ile GAS pozitif olarak saptandı (Tablo). Duplike çalışılan standart suş örneği de pozitif bulundu. Enzimatik yöntem ile DNA izolasyonu (~30 dakika) ve izotermal amplifikasyon işlemi (~40 dakika) toplamda ~70 dakikada tamamlandı.

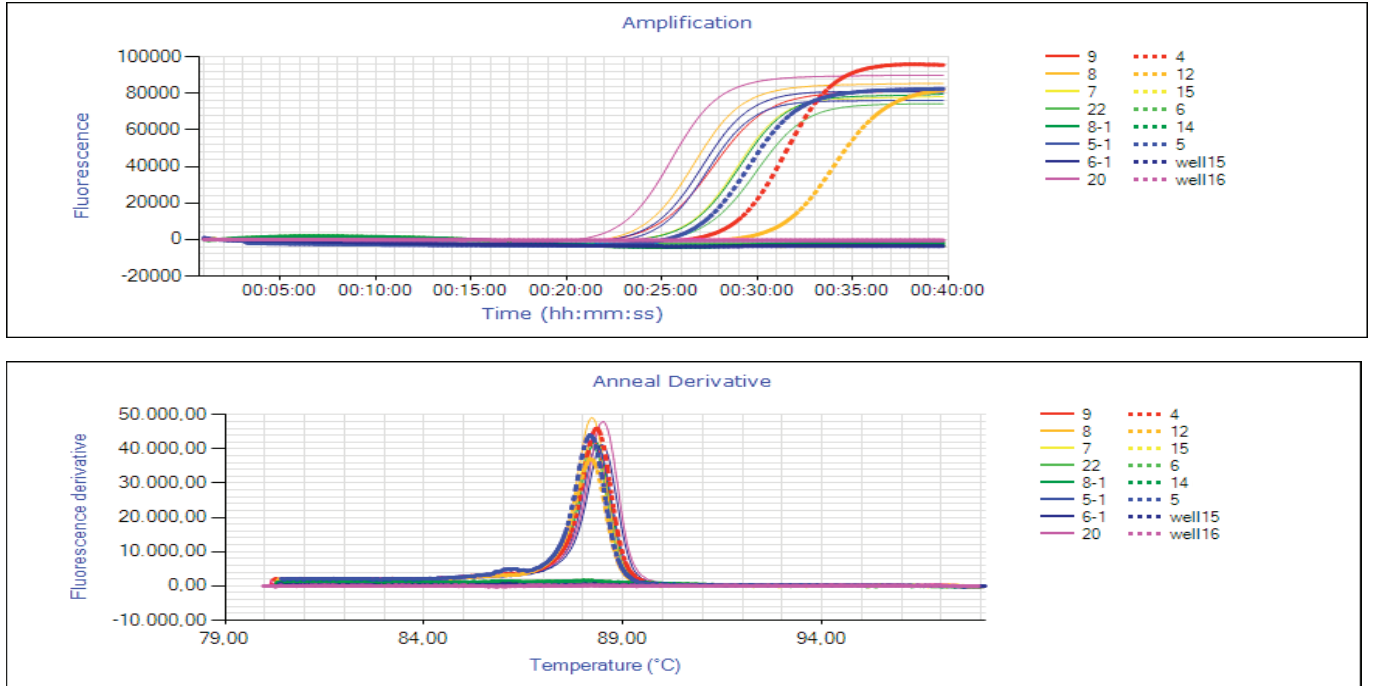
**Tablo.** LAMP PCR ile elde edilen sonuçlar.

İncelenen örnek	Sayı (n)	LAMP PCR			
		Pozitif		Negatif	
		Sayı	%	Sayı	%
GAS izolatları	36	35	97.2	1	2.8
Boğaz sürüntüsü*	8	7	87.5	1	12.5
<b>Toplam</b>	<b>44</b>	<b>42</b>	<b>95.5</b>	<b>2</b>	<b>4.5</b>

\* Eş zamanlı Kültür pozitif hastaların boğaz sürüntüleri



**Şekil 2.** Nükleik asit izolasyonu, amplifikasyon ve sonuçların analizi



Şekil 3. Sırasıyla PCR amplifikasyon ve erime eğrileri.

### Tartışma

Tonsillofarenjit olgularında tedavinin zaman kaybedilmeden yönlendirilmesi, diğer bir ifade ile antibiyotik tedavisi başlanması için hızlıca etkenin ayrımının (virüs/bakteri) yapılması gerekmektedir. Bu ayrım sağlandığı taktirde gereksiz antibiyotik kullanımı önenebilecek ve antibiyotik kullanım oranları düşecektir. Konvansiyonel mikrobiyolojik testlerden olan ve tanıda gold standart metod olan kültür yöntemi; 24-48 saat zaman alır, yoğun üreme olduğunda GAS kolonileri atlanabilir ve deneyimli personel gerektirmektedir. GAS hızlı antijen testlerinin duyarlılığının düşük olması ve yine kültüre ihtiyaç duyulması en önemli dezavantajdır. PCR yöntemleri ise laboratuvar donanımı ve deneyimli personel gerektirmesinden dolayı birçok sağlık kurumunda yapılamayan pahalı yöntemlerdir. Dolayısıyla bu konuda kültüre alternatif, uygun fiyatlı, hızlı, kolay uygulanabilen, fazlaca donanım gerektirmeyen, duyarlılığı yüksek ve birinci basamak sağlık kurumlarında dahi uygulanabilecek testlere/yöntemlere ihtiyaç vardır.

Son yıllarda kullanıma giren Loop-Mediated Isothermal Amplification PCR (LAMP-PCR), 4-6 adet primerle yaklaşık bir saat gibi kısa bir sürede, izotermal şartlarda (60-65°C), yüksek özgülükte nükleik

asit amplifikasyonu yapabilen bir yöntemdir. Amplifikasyonda hedef bölge Streptolizin B (speB) gen bölgesidir. Reaksiyonların gözlemlenmesi fluoressan indikatör ya da gerçek zamanlı bulanıklık ile sağlanır<sup>15</sup>. LAMP PCR cihazı ebatları küçük olduğundan çok yer kaplamamaktadır. Bir metrekare kadar laboratuvar tezgah alanı çalışma alanı olarak yeterli olmaktadır. Testin çalışılabilmesi için amplifikasyon cihazına ilaveten sadece otomatik mikropipetler gerekmektedir. Ekstraksiyon aşamalarında da cihaz ısı bloğu gibi kullanılabilir. Görsel olarak gözle bulanıklık değerlendirilmesinin yapılabilmesi; deney sonucunun okunması ve oluşabilecek deneysel problemleri belirlemek için çok büyük avantaj sağlamaktadır.

Jayaratne et al. LAMP PCR ile kültürü kıyasladıkları çalışmada, boğaz sürüntülerinden GAS saptaması yönünden LAMP PCR'in performans değerlerini; duyarlılık; % 94.1, özgülük; % 94.1, pozitif prediktif değer; % 80 ve negatif prediktif değer; % 98.1 şeklinde rapor etmişlerdir. Uyumsuzluk analizi sonrasında ise duyarlılık, özgülük, PPV ve NPV değerlerini sırasıyla % 100, % 96.4, % 88 ve % 100 olarak bildirmişlerdir. LAMP için sonuç süresini, kültür için olan minimum 24 saat ile karşılaştırıldığında 75 dakika olduğunu

belirtmişlerdir. LAMP için maliyet hesaplaması da yapmışlar ve test başına 3 dolar (Kanada doları) fiyat tespit etmişlerdir<sup>14</sup>.

Kılıç ve ark.'nın yapmış olduğu başka bir çalışmada boğaz sürüntü örnekleri ve simüle GAS örnekleri kullanılmış olup; saptama sınırını simüle örneklerde 1 bakteri sürüntü örneklerinde ise 100 bakteri olarak belirtmişlerdir, testin 25-45 dk sürdüğünü, özgüllük ve duyarlılığının %100 olduğunu rapor etmişlerdir. Yöntemin laboratuvarlar dışında muayenehaneler ve aile hekimliğinde de kullanılabilirliğini belirtmişlerdir. Birim maliyeti ise 9 ABD doları olarak bildirmişlerdir<sup>16</sup>. Bizim çalışmamızda birim test maliyetinin yaklaşık 30 Türk Lirası olduğu saptanmıştır (cihazla ilgili giderler hariç).

Yaptığımız bu çalışmada ise LAMP PCR'in kültür ile tanımlanan suşların %97'sini saptayabildiği görüldü. Ayrıca direkt sürüntü örneğinden çalışılan 8 pozitif örnekten 7'sini saptayabildi. Bu sonuçlarla, LAMP PCR yönteminin kültürle yüksek oranda uyumlu olduğu saptandı. Bu sonuçlarımız da literatürde bulunan kısıtlı sayıdaki yayınlara uyumlu bir şekilde LAMP PCR'in yüksek özgüllük ve duyarlılık değerlerine sahip olduğunu göstermektedir. Bu alandaki yeni, hızlı ve doğru tanımlama yöntemlerinden olan LAMP PCR, antibiyotiklerin yerinde kullanımı konusunda pozitif etki edecektir.

LAMP PCR yönteminin avantajları; yüksek duyarlılık ve özgüllük, ekstraksiyon prosedürünün çok basit ve pratik olması, ekstraksiyon için ayrı bir cihaz gerektirmemesi, çok kısa sürede sonuç alınması (45-70 dk), personel açısından kolay uygulanabilir olması, minimal laboratuvar donanımı ile uygulanabilir olması, cihazın küçük ve taşınabilir olması (pille çalışabilme ve 2 kg), tek cihazla DNA izolasyonu ile amplifikasyonun yapılabilmesi ve hasta başı testler için de laboratuvar dışı uygulanabilir olması sayılabilir. Aynı bir bilgisayar ihtiyacı olmadan cihazın üzerindeki ekranda PCR amplifikasyon ve erime eğrileri görülebilmekte, analizi ve yorumu yapılabildiği gibi gözle bulanıklık değerlendirmesi şeklinde de reaksiyon sonucu yorumlanabilmektedir. Ayrıca diğer moleküler yöntemlere göre daha uygun fiyatlı olması da maliyet etkinliği yönünden önemlidir. LAMP PCR'in bu alanda kullanımı henüz çok yeni olduğundan literatürde çok kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Yeni ve kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

# Kaynaklar

- Walker MJ, Barnett TC, McArthur JD, Cole JN, Gillen CM, Henningham A, Sriprakash KS, Sanderson-Smith ML, Nizet V. Disease manifestations and pathogenic mechanisms of group A Streptococcus. *Clin Microbiol Rev* 2014;27(2):264-301.
- Ralph AP, Carapetis JR. Group A streptococcal diseases and their global burden. *Curr Top Microbiol Immunol* 2013;368:1-27.
- Cunningham MW. Pathogenesis of group A streptococcal infections. *Clin Microbiol Rev* 2000;13(3):470-511.
- Bisno AL. Acute pharyngitis: etiology and diagnosis. *Pediatrics* 1996;97:949-54.
- Ebell MH, Smith MA, Barry HC, Ives K, Carey M. The rational clinical examination. Does this patient have strep throat? *JAMA* 2000;284:2912-8.
- Kim DW, Kilgore PE, Kim EJ, et al. The enhanced pneumococcal LAMP assay: a clinical tool for the diagnosis of meningitis due to *Streptococcus pneumoniae*. *PLoS One* 2012;7:e42954.
- Nagamine K, Watanabe K, Ohtsuka K, Hase T, Notomi T. Loop-mediated Isothermal Amplification Reaction Using a Non denatured Template. *Clinical Chemistry* 2001; 9: 47.
- Dhama K, Karthik K, Chakraborty S, Tiwari R, Kapoor S, Kumar A, Thomas P. Loop-mediated isothermal amplification of DNA (LAMP): a new diagnostic tool lights the world of diagnosis of animal and human pathogens: a review. *Pak J BiolSci.* 2014;17(2):151-66.
- Niessen L. Current state and future perspectives of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) – based diagnosis of filamentous fungi and yeasts. *Appl Microbiol Biotechnol* 2015;99:553–574
- Han ET, Watanabe R, Sattabongkot J, Khuntirat B, Sirichaisinthop J, Iriko H, Jin L, Takeo S, Tsuboi T. Detection of Four Plasmodium Species by Genus- and Species-Specific Loop-Mediated Isothermal Amplification for Clinical Diagnosis. *J Clin Microbiol.* 2007;45(8):2521-8.
- Saito R, Misawa Y, Moriya K, Koike K, Ubukata K, Okamura N. Development and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of *Mycoplasma pneumoniae*. *J Med Microbiol.* 2005; 54:1037-1041.
- Uemura N, Makimura K, Onozaki M, Otsuka Y, Shibuya Y, Yazaki H, Kikuchi Y, Abe S, Kudoh S. Development of a loop-mediated isothermal amplification method for diagnosing *Pneumocystis pneumoniae*. *J Med Microbiol.* 2008;57(Pt 1):50-7.
- Kamachi K, Toyozumi-Ajisaka H, Toda K, Soeung SC, Sarath S, Nareth Y, Horiuchi Y, Kojima K, Takahashi M, Arakawa Y. Development and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification method for rapid diagnosis of *Bordetella pertussis* infection. *J Clin Microbiol.* 2006;44(5):1899-902.
- Jayarathne P, and Rutherford C. Detection of Group A streptococci (GAS) by Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) directly from specimens: a rapid, simple and cost-effective alternative to culture. P0684. 25th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID 2015) Copenhagen, Danimarka
- Kimura K, Yanagisawa H, Wachino J, et al. Rapid and reliable loop-mediated isothermal amplification method for detecting *Streptococcus agalactiae*. *Jpn J Infect Dis* 2013; 66: 5468.
- Kılıç S, Özgün SN, Özgümüş GG, Turan M, Ketre C, Kolkürk M. A Grubu Beta Hemolitik Streptokoklar (AGBHS) Hızlı Tanısı İçin LAMP Tabanlı Bir Yöntem Geliştirilmesi. S.26. 37. TMC Kongresi, 16-20 Kasım 2016, Antalya