บทคัดย่อ

209817

วิธี Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) เป็นวิธีใหม่ที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่มีข้อดีหลายประการ เช่น รวดเร็ว มีความไว ความจำเพาะสูง ใช้สภาวะอุณหภูมิเดียวจึงไม่จำเป็นต้องใช้เครื่อง Thermal Cycler ในการศึกษานี้จึงได้ใช้วิธี LAMP ในการตรวจหาเชื้อ *H. pylori* จากสายพันธุ์ทางคลินิก และ จากตัวอย่าง CLO test ถึงแม้ว่าLAMPไพร์เมอร์ที่จำเพาะกับยีน 16 S rRNA จะสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อ *H. pylori* ได้สำเร็จ แต่พบว่าไพร์เมอร์สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเชื้ออื่นๆด้วยดังนี้ *Salmonella group b, Escherichia coli, Proteus mirabilis, Shigella spp, Salmonella group C, Staphylococcus saprophyticus, Shigella sonnei, Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes, Bacillus cereus, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa* และ *Salmonella group E.* ปริมาณดีเอ็นเอที่ต่ำที่สุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้โดยวิธี LAMP เท่ากับ 1 ng/μl โดยวิธี LAMP สามารถตรวจยืนยันตัวอย่าง CLO test 20 ตัวอย่างจาก 30 ตัวอย่างที่ให้ผลบวก และ ตรวจยืนยันตัวอย่าง CLO test 24 ตัวอย่างจาก 35 ตัวอย่างที่ให้ผลลบ ดังนั้นควรมีการพัฒนาต่อไปให้ได้ไพร์เมอร์ที่จำเพาะกับเชื้อ *H. pylori* เท่านั้น โดยอาจจะเปรียบเทียบ LAMP ไพร์เมอร์ที่จำเพาะยีนอื่นๆของเชื้อ *H. pylori* เช่น 26 kDa SSA, ureaseA, *hpaA*, 860-bp DNA fragment, random sequence, *cagA* และ *glmM* เพื่อเลือกไพร์เมอร์ที่ดีที่สุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์การติดเชื้อ *H. pylori* จากตัวอย่างทางคลินิกได้โดยตรง

209817

Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) is a novel nucleic acid amplification method with many advantages of rapid, high sensitivity, high specificity, isothermal conditions with no need of Thermal Cycle. In this study, we used a LAMP assay for the detection of *Helicobacter pylori* from clinical isolates and CLO test samples. Although, the *H. pylori*-specific LAMP primers which amplified within 16 s rRNA could successfully amplify *H. pylori* DNA, they also amplify other bacterial DNA including *Salmonella group b, Escherichia coli, Proteus mirabilis, Shigella spp, Salmonella group C, Staphylococcus saprophyticus, Shigella sonnei, Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes, Bacillus cereus, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella group E.* The detection limit of the LAMP reaction was 1 ng/μl. By LAMP assay, 20 from 30 of CLO test samples were confirmed as *H. pylori* positive, whereas 24 from 35 of CLO test samples were confirmed as *H. pylori* negative. The LAMP primers should be further developed to specifically amplified *H. pylori* only. LAMP primers for other *H. pylori* specific genes such as 26 kDa SSA, ureaseA, *hpaA*, 860-bp DNA fragment, random sequence, *cagA* and *glmM* might be compared to select the most suitable primers for direct *H. pylori* detection from clinical samples.