

## Development of Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) Targeting the *GroEL* Gene for Rapid Detection of *Riemerella anatipestifer*

Xiangan Han, Chan Ding, Liang He, Qinghai Hu, and Shengqing Yu  
Contact Address: yus@shvri.ac.cn

### Important Findings

A simple and rapid assay for the detection of *Riemerella anatipestifer* (RA) was established and was able to detect all the tested RA strains with different serotypes. This assay showed good specificity to RA strains and did not react with any other species of bacteria. The assay is rapidly completed and the amplification is achieved in a minimum of 20 min at 65 C. Furthermore, the assay successfully detected RA in the liver samples of ducklings infected with RA, suggesting that the assay could be used for the clinical diagnosis of RA infection.

### Significance of Findings

RA infections cause major economic losses in the duck industry. Detection of RA using conventional assays is time-consuming and laborious. In this study, the researchers developed the loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay targeting the *GroEL* gene for the detection of RA. No LAMP products were obtained when the *GroEL* LAMP was tested on other species of bacterial strains. These results show that the *GroEL* gene is a specific target gene for rapid

detection of RA by LAMP. LAMP was 50 times more sensitive than the conventional polymerase chain reaction (PCR) assay.

### Additional Information

RA is the causative agent of some epizootic diseases in poultry, especially in ducks. Currently, at least 21 known serotypes of RA have been reported, and the cross-protection among different serotypes is very poor. RA infection is usually difficult to clinically differentiate from other bacterial pathogenic infections, including *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, and *Pasteurella multocida*, because they cause similar syndromes of serositis in ducks. Therefore, efficient, rapid, and timely detection of RA is critical for successful control of the infection.

Previous methods for the detection of pathogenic RA include slide and tube agglutination tests, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), immunofluorescent assay (IFA), and PCR testing. A LAMP technique targeting the *ompA* gene of RA with a set of four primers has also been recently developed. In this study, we designed a set of six primers targeting the RA *GroEL* gene sequence and developed and tested a LAMP assay using this new set. This assay is capable of identifying RA from bacterial cultures and liver samples of ducklings experimentally infected with RA strains. The researchers selected RA *GroEL* gene as the target gene for developing the LAMP because their previous study showed that the *GroEL* gene is highly conserved among different RA serotypes (DNA sequence identity is over 97.5%).

---

Copyright © 2011, American Association of Avian Pathologists, Inc. 1933-5334 online

## Desarrollo de Amplificación Isotérmica Mediada por Asa de ADN (LAMP) que Hace Blanco al Gen *GroEL* para Detección Rápida de *Riemerella anatipestifer*

Xiangan Han, Chan Ding, Liang He, Qinghai Hu, y Shengqing Yu  
Dirección para contactar: yus@shvri.ac.cn

### Hallazgos Importantes

Se estableció un ensayo simple y rápido para la detección de la *Riemerella anatipestifer* y fue capaz de detectar todas las cepas de *R. anatipestifer* sometidas a prueba con diferentes serotipos. Este ensayo mostró una buena especificidad a las cepas de *R. anatipestifer* y no reaccionó con ninguna otra especie de bacteria. El ensayo se completa rápidamente y la amplificación se alcanza en un mínimo de 20 minutos a 65 °C. Incluso, el ensayo detecta exitosamente *R. anatipestifer* en muestras de hígado de patitos infectados con *R. anatipestifer*, sugiriendo que el ensayo podría utilizarse para el diagnóstico clínico de infección por *R. anatipestifer*.

### Relevancia de los Hallazgos

Las infecciones por *R. anatipestifer* causan importantes pérdidas económicas en la industria de los patos. La detección de *R. anatipestifer* que utiliza ensayos convencionales consume tiempo y es

laboriosa. En este estudio, los investigadores desarrollaron el ensayo de amplificación isotérmica mediada por asas de ADN (LAMP) enfocada al gen *GroEL* para la detección de *R. anatipestifer*. No se obtuvieron productos de la LAMP cuando se sometió a prueba la LAMP para *GroEL* en otras especies de cepas bacterianas. Éstos resultados muestran que el gen es un gen blanco específico para la detección rápida de *R. anatipestifer* por medio de LAMP. Este ensayo fue 50 veces más sensible que el ensayo de reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés).

### Información Adicional

La *R. anatipestifer* es el agente causal de algunas enfermedades epizooticas en la agricultura, especialmente en patos. Actualmente, se han reportado al menos 21 serotipos conocidos de *R. anatipestifer*, y es muy baja la protección cruzada entre los diferentes serotipos. La infección por *R. anatipestifer* normalmente es difícil de diferenciar clínicamente de otras infecciones por bacterias patógenas, incluyendo la *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* y *Pasteurella multocida*, debido a que causan síndrome similares de serositis en patos. Por lo tanto, es crítica la detección eficiente, rápida y oportuna de *R. anatipestifer* para un control exitoso de la infección.

---

Copyright © 2011, American Association of Avian Pathologists, Inc. 1933-5334 online