

Tecnología de Amplificación Isotérmica (LAMP) para el diagnóstico de enfermedades de importancia agronómica y en salud humana

Vojnov, Adrián; Werbahj, S; Carrillo, C; Larocca, L; Stolowicz,F.

Instituto de Ciencia y Tecnología Dr. Cesar Milstein-CONICET
aavojnov@gmail.com

La Tecnología de amplificación isotérmica LAMP para el diagnóstico de enfermedades de importancia agronómica y salud humana se introdujo en el laboratorio en el año 2008, teniendo como objetivo desarrollar kits moleculares muy simples para ser utilizados para el diagnóstico de enfermedades que abarquen distintas áreas de importancia tanto agronómicas como en salud humana. Los primeros desarrollos estuvieron enfocados en la detección del agente causal de la canchro y Huanglongbing de los cítricos, *Xanthomonas citri* y *Candidatus Liberibacter*, respectivamente. Un kit, basado en esta tecnología para la detección de Chagas en recién nacidos ya ha sido aprobado por el ente regulador, la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT). El método de detección de COVID-19 desarrollado, se basa en la retrotranscripción del genoma del SARS-CoV-2 (ARN) seguida de una amplificación molecular específica de cuatro fragmentos del ADN resultante, a partir del ARN aislado de la muestra clínica (hisopado nasofaríngeo l orofaríngeo, saliva o esputo). La síntesis de un ADNc (retrotranscripción) seguida de amplificación específica del fragmento (amplificación molecular isotérmica) ocurre a temperatura constante (64°C), en un único paso operativo. El resultado se revela a través de un simple cambio de color. En la mezcla de reacción se encuentra presente el Azuldehidroxinaftol (Hydroxynaphtholblue-HNB), un colorante indicador que vira de color violeta a color azul-celeste cuando la reacción de amplificación es positiva. Dicho viraje, se debe al cambio de concentración del magnesio libre en solución conforme disminuyen los dNTPs y aumenta el pirofosfato producto de la polimerización. El desarrollo fue transferido a NEOKIT SAS, una empresa de base tecnológica, constituida por investigadores de CONICET (Adrián Vojnov, Carolina Carrillo, Luciana Larocca, Fabiana Stolowicz), de la Fundación Pablo Cassará (Santiago Werbahj), y el Laboratorio Pablo Cassará S.R.L. NEOKIT SAS ha logrado desarrollar y registrar en el ANMAT dos kits, uno que detecta el COVID-19 a partir de RNA purificado y otro, NEOKIT PLUS, de manera directa sin un paso de purificación. Análisis *in silico* demuestran que, NEOKIT COVID-19 es capaz de detectar todas las variantes de SARS-CoV-2 que están circulando a nivel mundial, incluidas una variante del Reino Unido conocida como 501Y.V1, VOC 202012/01 o linaje B.1.1.7, una variante sudafricana conocida como 501Y.V2 o linaje B.1.351, un linaje brasileño variante conocida como 501Y.V3 o linaje P.1, variantes de California conocidas como B.1.427 y B.1.429.