

VALIDACIÓN CLÍNICA DE LA PRUEBA LAMP-PCR PARA EL DIAGNÓSTICO DE CHAGAS CONGÉNITO EN EL HOSPITAL DE LA MUJER “PERCY BOLAND” DEL DEPARTAMENTO DE SANTA CRUZ, BOLIVIA

CLINICAL VALIDATION OF THE LAMP-PCR TEST FOR THE DIAGNOSIS OF CONGENITAL CHAGAS DISEASE AT THE “PERCY BOLAND” WOMEN'S HOSPITAL IN THE DEPARTMENT OF SANTA CRUZ, BOLIVIA.

BASMA MELGAR, L. L.

Biología, Universidad Católica Boliviana “San Pablo”

TINAJEROS GUZMÁN, F.

Universidad “John Hopkins”-PRISMA

Santa Cruz, Bolivia

basmaluciana@gmail.com

Recibido en 7 de octubre de 2024
Aceptado en 23 de octubre de 2024

Resumen

El diagnóstico de Chagas congénito en recién nacidos es particularmente difícil debido a la presencia de anticuerpos maternos y la baja parasitemia en los bebés. Aunque el micrométodo es la técnica recomendada por el Ministerio de Salud, su sensibilidad es limitada a la experiencia del operador, lo que impide detectar de manera eficaz muchos casos. Ante esta situación, las técnicas moleculares han surgido como una alternativa prometedora. Entre ellas, el q-PCR destaca con una sensibilidad superior al 90%, pero requiere equipamiento costoso, lo que limita su accesibilidad. Esto resalta la necesidad de soluciones precisas y accesibles para el diagnóstico temprano de Chagas congénito. Una opción es la técnica de LAMP, que se presenta como una alternativa más sencilla al PCR para el diagnóstico de Chagas congénito. No obstante, al ser una técnica nueva, se requiere su validación clínica. Este estudio propone determinar los límites de detección en función de la cantidad de parásitos.

Se trabajó con *Trypanosoma cruzi* en una concentración inicial de 10^7 parásitos/ml. Luego, se extrajo ADN utilizando un kit de Roche, que se diluyó en series 1:10 en ADN humano, alcanzando una concentración final de 10^0 parásitos. Se realizó un qPCR para determinar el CT de cada punto de la curva. Posteriormente, se aplicó una LAMP-PCR sobre la curva estándar, utilizando el gen Hsp70 de *T. cruzi* como blanco por su conservación genética. La amplificación se realizó a 65°C por 1 hora, empleando SYBR Green para la visualización, observando un cambio de color de marrón a verde en las muestras positivas. El límite de detección obtenido fue de 10^3 parásitos o un CT de 23, inferior al del qPCR. Esto podría atribuirse a que el gen Hsp70 no es una región satelital, resultando en menos copias por parásito y afectando la sensibilidad. Aun así, es 5 veces más sensible que el micrométodo, la prueba de referencia nacional.

Palabras clave: Chagas congénito, diagnóstico molecular, LAMP-PCR

Abstract

The diagnosis of congenital Chagas in newborns is particularly challenging due to maternal antibodies and low parasitemia in infants. Although the micromethod is the technique recommended by the Ministry of Health, its sensitivity depends on the operator's experience, limiting effective case detection. Molecular techniques have emerged as a promising alternative, with q-PCR showing over 90%

sensitivity but requiring expensive equipment, which restricts accessibility. This highlights the need for accurate and accessible solutions for early congenital Chagas diagnosis. LAMP (Loop-Mediated Isothermal Amplification) presents a simpler alternative to PCR for congenital Chagas diagnosis. However, as a new technique, clinical validation is required. This study aimed to determine detection limits based on parasite quantity. *Trypanosoma cruzi* was used at an initial concentration of 10^7 parasites/ml. DNA was extracted using a Roche kit and serially diluted 1:10 in human DNA, reaching a final concentration of 10^0 parasites. qPCR was performed to determine the CT value for each point of the standard curve. LAMP-PCR was then applied targeting the conserved Hsp70 gene of *T. cruzi*. Amplification was conducted at 65°C for 1 hour using SYBR Green for visualization, with positive samples showing a color change from brown to green. The detection limit obtained was 10^3 parasites or a CT of 23, lower than qPCR. This may be attributed to Hsp70 not being a satellite region, resulting in fewer copies per parasite and affecting sensitivity. Nevertheless, it is 5 times more sensitive than the micromethod, the national reference test.

Keywords: congenital Chagas, molecular diagnosis, LAMP-PCR

En este estudio se declara que no hubo conflictos de interés.