

Un método de amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP) para detectar *Microcystis* tóxica

Croci, Carolina¹; Martínez de la Escalera, Gabriela¹; Scavone, Paola ²; Kruk, Carla ^{3,4};
Segura, Angel⁴; Piccini, Claudia¹

¹Laboratorio de Ecología Microbiana Acuática, Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE), Uruguay.

²Laboratorio de Biofilms, Departamento de Microbiología, IIBCE.

³Instituto de Ecología y Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias, UdelAR, Uruguay.

⁴Departamento de Modelación Estadística de Datos e Inteligencia Artificial, Centro Universitario Regional del Este, UdelAR, Uruguay.

carocroha@gmail.com

Una de las mayores preocupaciones en torno a las floraciones de cianobacterias es que algunas de ellas son capaces de producir metabolitos tóxicos para los animales y humanos (cianotoxinas). Es así que su presencia en el agua afecta los usos que hacemos los humanos, desde consumo directo, riego, acuicultura, hasta recreativos. En Uruguay, la cianobacteria más frecuentemente asociada a estos eventos, son las especies del género *Microcystis*, la cual incluye poblaciones tóxicas (porta el cluster *mcyA-J*) y no tóxicas. En la actualidad, no existen métodos de detección temprana de estos organismos, lo que dificulta generar alertas tempranas para prevenir a la población con tiempo. Con este fin, buscamos generar un método de monitoreo de *Microcystis* tóxicas rápido, de bajo costo, sencillo de aplicar y cuya lectura del resultado no requiera equipos costosos. Para ello, se diseñó un protocolo de amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP) usando el gen *mcyJ* como blanco. Este gen se ha descrito que no sufre recombinación y está presente en copia única en las poblaciones tóxicas. Se ensayaron diferentes juegos de cebadores diseñados con un software online y se logró la amplificación para muestras naturales, que luego se buscó optimizar empleando distintos compuestos como trehalosa, DMSO y BSA. A su vez, la presencia del gen *mcyJ* fue confirmada en forma paralela realizando PCR cuantitativo en tiempo real. La sensibilidad del método se confirmó utilizando una cepa tóxica axénica de *Microcystis aeruginosa*, detectándose hasta 3 pg/ul (ADN total) que equivale aproximadamente a 5000 células tóxicas. Esta herramienta podría aplicarse de forma rutinaria para contribuir a generar alertas tempranas de floraciones tóxicas, permitiendo prevenir el riesgo para la salud.