

Detrás de la ciencia del diagnóstico: LAMP, más allá de bucles y enzimas

Behind the science of diagnosis: LAMP, beyond loops and enzymes

Katia I. Martínez-González¹, Sheila A. Martínez-Zavala¹, Luz E. Casados-Vázquez^{1,2}, Ma. de Lourdes Pérez-Zavala³, Gabriela Rodríguez-Hernández^{1,2}, José E. Barboza-Corona^{1,2*}

¹ Posgrado en Biociencias, Universidad de Guanajuato, Guanajuato, México.

² Departamento de Alimentos, Universidad de Guanajuato, Guanajuato, México.

³ Departamento de Agronomía, División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato, Guanajuato, México.

ki.martinezgonzalez@ugto.mx; sa.martinez@ugto.mx; edith.casados@ugto.mx; mlperez@ugto.mx; gabriela.rodriguez@ugto.mx; josebar@ugto.mx

Resumen

La detección de patógenos es esencial en áreas como la medicina, la agricultura y la seguridad alimentaria. Para el diagnóstico preciso, oportuno y eficiente, se han desarrollado diversos métodos. Los métodos tradicionales incluyen pruebas bioquímicas, cultivo en medios selectivos o técnicas moleculares como la PCR. Sin embargo, estos procedimientos pueden ser lentos, costosos o requerir equipo sofisticado. En este escenario, la técnica de amplificación isotérmica mediana por bucle (LAMP) surge como una alternativa innovadora a los métodos convencionales. LAMP permite amplificar material genético del patógeno en cuestión de una hora y a una temperatura constante sin la necesidad de equipos sofisticados, permitiendo reducir costos en el diagnóstico. En este trabajo se presenta como el método científico es esencial para el desarrollo y validación de una técnica como LAMP. Se hace énfasis en que la observación de un problema, la formulación de una hipótesis, la experimentación sistemática, y el riguroso análisis de resultados son importantes para resolver un problema. Se espera que, debido a la sensibilidad, especificidad y facilidad de lectura, LAMP se consolide como una herramienta sencilla para la detección de patógenos, que pueda usarse de manera rutinaria en los laboratorios de diagnóstico.

Palabras clave: LAMP, PCR, diagnóstico, patógeno, accesible, sensibilidad, especificidad.

Introducción

Para comenzar este artículo y con base en observaciones del día a día se ha formulado las siguientes preguntas: ¿los alimentos que consumimos a diario son tan seguros como parecen? ¿podemos detectar enfermedades incluso antes de la presencia de síntomas? ¿podemos diferenciar y detectar de manera rápida algún patógeno causante de una enfermedad infecciosa? ¿el agua cristalina en verdad está limpia? ¿cómo pueden sobrevivir los microorganismos en el campo después de aplicarse pesticidas? Preguntas similares son las principales razones por las que el diagnóstico de patógenos se ha vuelto esencial. Hoy en día, el cumplir con los requerimientos y especificaciones de inocuidad, salubridad y fitosanidad establecidos por organizaciones internacionales como la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Codex Alimentarius, no ha sido una tarea fácil. Lo anterior se debe a que las técnicas de diagnóstico, aunque son eficientes, suelen ser lentas y costosas, lo que las hace ser poco accesibles a ciertos sectores de la población. Por tal motivo, los laboratorios de calidad, hospitales, centros de investigación y la industria alimentaria, han dedicado numerosos esfuerzos para implementar herramientas de diagnóstico que sean rápidas, sensibles y específicas. Además, que sean capaces de minimizar el riesgo asociado a la presencia y crecimiento de patógenos.

Particularmente, el método científico ha sido clave para cumplir con tales objetivos. En este se sigue un enfoque sistemático que permite la adquisición de conocimientos, y permite la solución de problemas mediante la observación, la formulación de hipótesis, la experimentación y el análisis de los resultados (Castán, 2014). Gracias a ello, se han desarrollado distintas técnicas de diagnóstico basadas en las necesidades del entorno actual, y en las cuales destacan las herramientas moleculares, debido a que son relativamente rápidas, sensibles y específicas para la detección de patógenos.



Algunas técnicas como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la construcción de biosensores, la hibridación de ácidos nucleicos y la secuenciación masiva, han permitido la identificación precisa de patógenos (Palomino-Camargo & González-Muñoz, 2014). No obstante, el tipo de infraestructura que se requiere, los costos, las condiciones controladas y el personal capacitado, han limitado su aplicación, especialmente en contextos con escasas de recursos. Ante esta problemática, el método científico fue puesto en marcha al desarrollar alternativas que cubrieran la necesidad de un diagnóstico rápido, sensible y asequible. A consecuencia de lo anterior, surgieron distintas técnicas que superaban dichas limitaciones, una de ellas fue LAMP. Específicamente, la amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP, por sus siglas en inglés), es una alternativa de amplificación que ha ganado popularidad por su simplicidad. Fue desarrollada en el año 2000 por Nagamine *et al.*, (2002) y desde entonces ha sido utilizada para detectar patógenos en el sector salud, ambiental, industrial y agroalimentario. En comparación con la PCR, esta técnica no requiere ADN desnaturizado ya que la polimerasa Bst con actividad de desplazamiento de cadena permite trabajar a temperatura constante, simplificando el uso de equipos (Nagamine *et al.*, 2002).

Si a LAMP se le adiciona un enzima transcriptasa reversa, podrá amplificar RNA, lo cual se le conoce como RT-LAMP. A diferencia del PCR que utiliza dos cebadores (sentido y antisentido), LAMP requiere cinco o seis oligonucleótidos específicos (F3, B3, FIP, BIP, LF y LB) que pueden reconocer hasta ocho regiones distintas del ADN diana (Nagamine *et al.*, 2002). Este diseño complejo le confiere a LAMP, alta sensibilidad y rápida capacidad de amplificación, ideal para detectar ácidos nucleicos en concentraciones sumamente bajas. Además, la posibilidad de obtener resultados visuales simplifica notablemente su interpretación (Wei *et al.*, 2022; Yang *et al.*, 2024), por lo que se ha consolidado como una técnica ideal para trabajar bajo condiciones isotérmicas y con requerimientos mínimos de laboratorio (Frisch *et al.*, 2021) lo que representó no solo un avance técnico, si no también, un claro ejemplo de la aplicación del método científico para su desarrollo. Por tal motivo en este artículo se destaca el proceso general de cómo se desarrolló la técnica de LAMP y como el método científico ha sido clave para utilizarlo en la detección de patógenos.

El método científico en acción

Formulando la pregunta de investigación a partir de la observación

Sin duda, al observar un fenómeno y no saber porque suceden las cosas, surge la curiosidad y el deseo de aprender; derivado de ello emergen preguntas que intentan sentar las bases para comprender lo observado. En el caso de los métodos de detección de patógenos, podríamos plantearnos las siguientes preguntas: ¿Qué problemas o limitaciones presentan las técnicas de diagnóstico existentes? ¿es posible desarrollar una mejor técnica de amplificación? ¿por qué es importante reducir los costos?

Estas preguntas cobran particular relevancia si consideramos como han evolucionado las herramientas de diagnóstico molecular en las últimas décadas. Desde el desarrollo de la PCR en la década de los 80's, las pruebas de amplificación de los ácidos nucleicos se habían convertido en una herramienta indispensable en el diagnóstico, llegando incluso a ser el estándar de oro (Becherer *et al.*, 2020). Sin embargo, presentaba cuatro limitantes que exigían mejoras: (i) la necesidad de equipos costosos, (ii) la realización de ciclos múltiples de temperatura, (iii) personal capacitado, y (iv) tiempo de procesamiento prolongado. Por lo anterior, Notomi *et al.* (2000) se cuestionó si era posible desarrollar técnicas de amplificación que conservarán la eficacia diagnóstica de un PCR, con condiciones más simples, rápidas y económicas, desarrollándose así la técnica de LAMP como una opción a la técnica de PCR.



La hipótesis, más allá de una simple predicción

La formulación de una hipótesis no consiste en una suposición al azar, más bien es una afirmación fundamentada que surge de la observación y de la pregunta de investigación. En este sentido, los investigadores se preguntaron si era posible desarrollar una herramienta molecular parecida a la PCR, pero que fuera más sencilla, más económica y que no necesitara equipos como el termociclador. Se propuso la idea de utilizar una polimerasa especial capaz de trabajar en condiciones de temperatura constante (60-65 °C), diferente a las termo ADN polimerasas convencionales como la TaqPol, que fuera capaz de amplificar el ADN de manera eficiente en poco tiempo. La hipótesis que dio origen a esta importante herramienta de diagnóstico fue más allá de lo técnico, no solo se buscaba demostrar que tenía ventajas sobre la PCR, sino que los laboratorios con pocos recursos tuvieran acceso al diagnóstico molecular con LAMP resolviendo una necesidad social y sanitaria real. Esto, es importante porque LAMP se puede realizar en un baño de agua sin necesidad de un termociclador costoso. En este sentido surgió una nueva hipótesis, donde la pregunta era: ¿puede LAMP permitir la detección real de patógenos en diferentes tipos de muestras mediante el diseño de cebadores específicos (regiones específicas del ADN objetivo)?

La experimentación

El desarrollo de la técnica molecular LAMP como se conoce hoy en día es un resultado exhaustivo de prueba y error. Tal como lo expusieron Notomi *et al.*, (2000), pioneros en comprobar la viabilidad de esta nueva forma de amplificación. Experimentaron con múltiples condiciones, principalmente combinaciones de oligonucleótidos hasta obtener una configuración que permitiera una amplificación rápida, específica y fácil de detectar. Desde entonces distintos autores (Wang *et al.*, 2010; Tang *et al.*, 2011; Shan *et al.*, 2012; Cho *et al.*, 2014; Wachirarupan *et al.*, 2017; Srisawat *et al.*, 2022; Prasad *et al.*, 2024), han modificado y optimizado la técnica con distintos enfoques experimentales, rigurosos y flexibles. Esto permitió no solo validar la hipótesis inicial, sino también establecer las bases para que la técnica fuera reproducible y robusta en diversos contextos de diagnóstico. Por ejemplo, en nuestro laboratorio, se ha adaptado la técnica de LAMP para detectar *Listeria monocytogenes* y *L. innocua*. La primera es un patógeno que puede ocasionar la muerte o el aborto en mujeres embarazadas; además puede causar infección en el sistema nervioso central en humanos y rumiantes domésticos (Berge & Baars, 2020). Por otra parte, *L. innocua* actúa como un indicador de contaminación con *L. monocytogenes*, ya que puede coexistir con ella (Melian *et al.*, 2019; Lecuit, 2020).

Una vez que la técnica funciona a nivel laboratorio, es necesario evaluar en la matriz específica donde se desea detectar el patógeno. Se evaluó leche y queso fresco, y se ha observado que debido a su composición fisicoquímica es necesario la estandarización de un método particular de extracción de DNA. En primer lugar, se deben determinar las características fisicoquímicas de la muestra a evaluar (pH, contenido de proteínas, grasas, humedad), después evaluar diferentes técnicas de extracción de ácidos nucleicos que sean compatibles con las propiedades de nuestra muestra a analizar, y al final evaluar las diferentes condiciones para lograr condiciones óptimas de amplificación y detección (ej. temperatura, volumen de reacción, tiempo de incubación, diseño de cebadores). Todos estos factores son clave para asegurar el funcionamiento de esta técnica como herramienta de diagnóstico. Desde el punto de vista molecular, el diseño de los cebadores para el reconocimiento de distintas regiones del ADN diana es fundamental para la técnica e involucra el uso de herramientas bioinformáticas, que, si bien pueden predecir su funcionamiento *in silico*, deben ser validados en el laboratorio. Un parámetro crítico para evaluar la sensibilidad analítica de una prueba molecular, incluyendo LAMP, es el límite de detección, este se puede referir a la cantidad menor de material genético (ADN o ARN), colonias o concentración de colonias que puede detectar de manera confiable y reproducible. En este contexto, se busca que el método desarrollado detecte la cantidad de interés para la muestra a evaluar.



El análisis de resultados, cuando los datos validan la ciencia

En toda investigación científica los resultados son la brújula que orienta hacia el camino del éxito o del fracaso científico ya que, al examinar los ensayos, considerar el comportamiento de distintas variables, la interpretación de patrones o datos estadísticos se determina si se acepta o se rechaza la hipótesis inicial. Desde sus inicios, se sospechaba que LAMP podría surgir como una alternativa a la PCR u otra técnica de análisis molecular. Sin embargo, con el transcurso de los años y con los datos obtenidos, no solamente se evaluó su eficacia, si no también se evidenció su enorme potencial como herramienta de diagnóstico (Mori & Notomi, 2009). Gracias a la experimentación realizada por Mori & Notomi (2009) y Wang *et al.*, (2015) se obtuvieron datos cualitativos y cuantitativos que confirmaron alta especificidad, gran sensibilidad de detección e interpretación de los resultados de forma inmediata. Para la interpretación de resultados, se han implementado diferentes técnicas, principalmente visuales que ayudan a concluir de una forma simple y rápida, destacándose aquellas de forma visual como el cambio de color, la turbidez generada por la precipitación salina, la fluorescencia, y la detección por electroforesis en gel de agarosa (Figura 1). Cada una de estas formas de detección presentan ventajas y desventajas para ser utilizadas dentro de un laboratorio. No obstante, parece increíble como un simple cambio en un microtubo de color, precipitación o emisión de fluorescencia, permita la detección de la presencia o ausencia de un patógeno. Otra ventaja de los ensayos por detección visual, es la posible cuantificación de los resultados para determinar la cantidad de unidades formadoras de colonias (UFC), la cual se puede medir en una muestra utilizando diversas curvas de calibración del patógeno a evaluar.

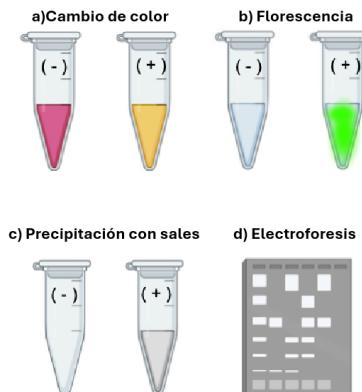


Figura 1. Diferentes formas visuales de detección utilizadas en LAMP. (a) El cambio de coloración puede ocurrir por un cambio en el pH o por la reducción de Mg²⁺ en la reacción de amplificación. Aquí se usan colorante como el rojo fenol. (b) El uso de compuesto fluorescente como el SYBR permite la emisión de fluorescencia debido a que el colorante se intercala en el ADN. (c) Durante la síntesis de DNA aumenta la concentración de pirofosfatos que puede ocasionar la precipitación del ADN (d) La amplificación del ADNA puede ser observada por electroforesis en geles de agarosa.

Fuente: Elaboración propia con datos de Sánchez *et al.*, (2014).

Cuando el método científico sale mal ¿es un fracaso?

En ocasiones los experimentos presentan errores, inconsistencias o fallos, por lo que es necesario volver a la pregunta inicial y cuestionarse: ¿la observación era clara, específica y estaba bien planteada?; ¿cuál fue la base de la observación?, ¿la hipótesis se sustentó en fundamentos sólidos? En el procedimiento ¿se utilizaron los controles adecuados? ¿se definieron de manera correcta las variables? Indudablemente existen un sinfín de preguntas que hacen replantear todo lo construido. Sin embargo, no es un fracaso, en realidad es un aprendizaje. Si Kim *et al.*, (2023) no hubiese reportado que la presencia múltiple de cebadores puede aumentar el riesgo de amplificaciones no específicas dando falsos positivos, se seguirían empleando el mismo juego de cebadores que hace 20 años. De igual forma, si Lin *et al.*, (2015) no hubiera reportado las inconsistencias en la multiplexación, hoy en día no se hubiera hecho realidad. Todo esto ha permitido que los investigadores se estén centrado en mejorar el diseño de la técnica para ofrecer mejores resultados y asegurar el éxito de la reacción. En este mismo contexto, el aplicar la técnica para detectar patógenos en diversas áreas involucra matrices complejas como alimentos o muestras de sangre, que pueden contener inhibidores, es decir, compuestos que no permiten funcionar de manera correcta la reacción de LAMP.



Aplicaciones en la actualidad: un mundo de posibilidades impulsado por la ciencia

Actualmente LAMP se ha destacado por su rapidez, sensibilidad y facilidad de uso convirtiéndose en una herramienta versátil con aplicaciones en sectores clave como salud, ambiental, industrial y agroalimentario. Su capacidad para detectar de forma rápida y precisa sin necesidad de equipos complejos le ha permitido adaptarse a diversas situaciones de diagnóstico, desde la detección de enfermedades hasta el control de plagas en cultivos agrícolas. Dicha multifuncionalidad se respalda con una base científica (Tabla 1) que reafirma su importancia y su uso potencial.

Tabla 1. Aplicaciones de LAMP en la actualidad en distintos sectores

Sector	Patógeno detectado	Tipo de muestra	Referencias
Alimenticio	Bacterias <i>Campylobacter jejuni</i> y <i>Campylobacter coli</i>	Productos cárnicos	Kreitlow, (2021)
	Bacteria <i>Listeria monocytogenes</i>	Leche y carne de pollo	Prasad <i>et al.</i> (2024) Mendoza-Valerio <i>et al.</i> (2024)
Salud	Virus respiratorio SARS-CoV-2	Muestras clínicas (hisopado faríngeo)	Dao Thi <i>et al.</i> (2020)
	Virus respiratorio Influenza A/B	Muestras clínicas (hisopado nasofaríngeo)	Jang <i>et al.</i> (2024)
Ambiental	Bacteria <i>Enterococcus spp.</i>	Agua corriente	Martzy <i>et al.</i> (2017)
	Molusco <i>Dreissena polymorpha</i>	Agua de río	Carvalho <i>et al.</i> (2021)
Agronómico	Gusano cogollero <i>Spodoptera (Lepidoptera: Noctuidae)</i>	Plagas agrícolas	Nam <i>et al.</i> (2021)
	Palomilla del tomate <i>Phthorimaea absoluta (Meyrick)</i>	Tejidos de insectos	Yang <i>et al.</i> (2024)

Fuente: Elaboración propia con los datos obtenidos de las referencias citadas.

Dentro de este mundo de posibilidades, la técnica LAMP llegó a nuestro equipo de trabajo acompañado con grandes expectativas. Si bien, la calidad nutricional y la inocuidad de los alimentos son factores importantes que repercuten en la salud y la calidad de vida de las personas, es necesario asegurar el acceso a alimentos libres de patógenos. Lo anterior permitirá prevenir la transmisión de enfermedades de origen alimentario (Kopper, 2009), las cuales, representan un problema de carácter social, tecnológico, económico, cultural y político. Sin embargo, en México no existen estadísticas actualizadas debido a que no se consideran enfermedades de notificación obligatoria (Castañeda-Ruelas *et al.*, 2018). Por ello, se decidió evaluar LAMP en dos de los alimentos lácteos más consumidos en nuestro país, la leche (Mendoza-Valerio *et al.*, 2024), y el queso fresco para la detección de bacterias del género *Listeria* con el objetivo de prevenir brotes epidemiológicos que pueden afectar adversamente la salud de la población. Por estas razones, LAMP se ha convertido en una de las técnicas de elección para el diagnóstico de bacterias patógenas, no solo para establecer medidas de control y tratamiento eficaces, sino también para garantizar la seguridad sanitaria, optimizar procesos productivos y prevenir riesgos asociados a patógenos o contaminantes en diferentes entornos.



Conclusión

El método científico es vital para la creación de nuevas tecnologías, pues a partir de una problemática se observa, se plantean hipótesis, se experimenta y se desarrollan ideas de forma sistemática que ayudan a tener protocolos reproducibles que ayuden a la solución de problemas reales. En este sentido, la detección de patógenos mediante la amplificación isotérmica mediada por bucle, una herramienta molecular rápida y precisa, diferente a la PCR convencional. LAMP logró evolucionar hasta convertirse en una ciencia aplicada con impacto real. En definitiva, su consolidación no solo respondió a las necesidades dentro del laboratorio, sino también fuera de él.

Referencias

- Becherer, L., Borst, N., Bakheit, M. A., Frischmann, S., Zengerle, R., & von Stetten, F. (2020). Loop-mediated isothermal amplification (LAMP)—review and classification of methods for sequence-specific detection. *Analytical Methods*, 12(6), 717-746. <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2020/ay/c9ay02246e>
- Berge, A. C., & Baars, T. (2020). Raw milk producers with high levels of hygiene and safety. *Epidemiology & Infection*, 148, e14. <https://doi.org/10.1017/S0950268820000060>
- Carvalho, J., Garrido-Maestu, A., Azinheiro, S., Fuciños, P., Barros-Velázquez, J., De Miguel, R. J., ... & Prado, M. (2021). Faster monitoring of the invasive alien species (IAS) Dreissena polymorpha in river basins through isothermal amplification. *Scientific Reports*, 11(1), 10175. <https://www.nature.com/articles/s41598-021-89574-w>
- Castán, Y. (2014). Introducción al método científico y sus etapas. *Metodología en Salud Pública España*, 6(3), 1-6. <https://gc.scalahed.com/recursos/files/r161r/w25794w/Introduccion%20al%20metodo.pdf>
- Castañeda-Ruelas, G. M., Chaidez-Quiroz, C., Salazar-Jiménez, E. P., Hernández-Chiñas, U., & Eslava-Campos, C. A. (2018). *Listeria monocytogenes* y la listeriosis, problema de salud pública en México. *Salud pública de México*, 60, 376-377. <https://doi.org/10.21149/9466>
- Cho, A. R., Dong, H. J., Seo, K. H., & Wachiralurpan, S. (2014). Development of a loop-mediated isothermal amplification assay for detecting *Listeria monocytogenes* prfA in milk. *Food Science and Biotechnology*, 23(2), 467-474. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10068-014-0064-x>
- Dao Thi, V. L., Herbst, K., Boerner, K., Meurer, M., Kremer, L. P., Kirrmaier, D., & Anders, S. (2020). A colorimetric RT-LAMP assay and LAMP-sequencing for detecting SARS-CoV-2 RNA in clinical samples. *Science translational medicine*, 12(556), eabc7075. <https://www.science.org/doi/full/10.1126/scitranslmed.abc7075>
- Frisch, L. M., Mann, M. A., Marek, D. N., & Niessen, L. (2021). Development and optimization of a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for the species-specific detection of *Penicillium expansum*. *Food Microbiology*, 95, 103681. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103681>
- Jang, W. S., Lee, J. M., Lee, E., Park, S., & Lim, C. S. (2024). Loop-Mediated Isothermal Amplification and Lateral Flow Immunoassay Technology for Rapid Diagnosis of Influenza A/B. *Diagnostics*, 14(9), 967. <https://doi.org/10.3390/diagnostics14090967>
- Kim, S. H., Lee, S. Y., Kim, U., & Oh, S. W. (2023). Diverse methods of reducing and confirming false-positive results of loop-mediated isothermal amplification assays: A review. *Analytica Chimica Acta*, 1280, 341693. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2023.341693>
- Kopper, G., Calderón, G., Schneider, S., Domínguez, W., Gutiérrez, G., Rosell, C., & Mejía, D. (2009). Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico. Informe de la Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación. Roma, Italia: FAO, 6, 1-194. <https://www.proyectosame.com/brotes/Apoyo/Bibliograf%C3%A3Da/26.%20Enfermedades%20transmitidas%20por%20alimentos..pdf>
- Kreitlow, A., Becker, A., Ahmed, M. F., Kittler, S., Schotte, U., Plötz, M., & Abdulmawjood, A. (2021). Combined loop-mediated isothermal amplification assays for rapid detection and one-step differentiation of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in meat products. *Frontiers in microbiology*, 12, 668824. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.668824>
- Lecuit, M. (2020). *Listeria monocytogenes*, a model in infection biology. *Cellular microbiology*, 22(4), e13186. <https://doi.org/10.1111/cmi.13186>



- Lin, W. H., Zou, B. J., Song, Q. X., & Zhou, G. H. (2015). Progress in multiplex loop-mediated isothermal amplification technology. *Yi Chuan = Hereditas*, 37(9), 899–910. <https://europepmc.org/article/med/26399529>
- Martzy, R., Kolm, C., Brunner, K., Mach, R. L., Krska, R., Šinkovec, H., ... & Reischer, G. H. (2017). A loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for the rapid detection of *Enterococcus* spp. in water. *Water research*, 122, 62-69. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.05.023>
- Melian, C., Segli, F., Gonzalez, R., Vignolo, G., & Castellano, P. (2019). Lactocina AL705 como inhibidor de quórum sensing para controlar la formación de biopelículas de *Listeria monocytogenes*. *Journal of Applied Microbiology*, 127(3), 911–920. <https://doi.org/10.1111/jam.14348>
- Mori, Y. & Notomi, T. (2009). Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a rapid, accurate, and cost-effective diagnostic method for infectious diseases. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 15(2), 62–69. <https://doi.org/10.1007/s10156-009-0669-9>
- Nagamine, K., Hase, T., & Notomi, T. (2002). Accelerated reaction by loop-mediated isothermal amplification using loop primers. *Molecular and Cellular Probes*, 16(3), 223-229. <https://doi.org/10.1006/mcpr.2002.0415>
- Nam, H. Y., Kim, J. H., Lee, S. H., Heckel, D. G., & Kim, J. (2021). Desarrollo de un método de diagnóstico molecular de especies basado en LAMP para cuatro plagas agrícolas importantes del género *Spodoptera* (*Lepidoptera: Noctuidae*). *Insects*, 12(10), 883. <https://doi.org/10.3390/insects12100883>
- Notomi, T., Okayama, H., Masubuchi, H., Yonekawa, T., Watanabe, K., Amino, N., & Hase, T. (2000). Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Research*, 28(12). <https://doi.org/10.1093/nar/28.12.e63>
- Palomino-Camargo, C., & González-Muñoz, Y. (2014). Técnicas moleculares para la detección e identificación de patógenos en alimentos: ventajas y limitaciones. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 31, 535-546. <https://www.scielosp.org/pdf/rpmesp/2014.v31n3/535-546/es>
- Prasad, M. C. B., Milton, A. A. P., Menon, V. K., Srinivas, K., Bhargavi, D., Das, S., & Thomas, N. (2024). Development of a novel visual assay for ultrasensitive detection of *Listeria monocytogenes* in milk and chicken meat harnessing helix loop-mediated isothermal amplification (HAMP). *Food Control*, 155, 110081. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.110081>
- Sánchez, E., Nina, M., Aguirre, P., Arce, M., Toro, N., & Vilela, R. (2014). Amplificación isotérmica mediada por LOOP (LAMP) de ácidos nucleicos en el diagnóstico clínico. *Revista Con-ciencia*, 2(1), 127-140. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S2310-02652014000100014&script=sci_arttext
- Shan, X., Zhang, Y., Zhang, Z., Chen, M., Su, Y., Yuan, Y., Alam, M. J., Yan, H., & Shi, L. (2012). Rapid detection of food-borne *Listeria monocytogenes* by real-time quantitative loop-mediated isothermal amplification. *Food Science And Biotechnology/Food Science And Biotechnology*, 21(1), 101-106. <https://doi.org/10.1007/s10068-012-0012-6>
- Srisawat, W., Saengthongpinit, C., & Nuchchanart, W. (2022). Development of loop-mediated isothermal amplification-lateral flow dipstick as a rapid screening test for detecting *Listeria monocytogenes* in frozen food products using a specific region on the ferrous iron transport protein B gene. *Veterinary World*, 15(3), 590. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9047130/>
- Tang, M. J., Zhou, S., Zhang, X. Y., Pu, J. H., Ge, Q. L., Tang, X. J., & Gao, Y. S. (2011). Rapid and sensitive detection of *Listeria monocytogenes* by loop-mediated isothermal amplification. *Current microbiology*, 63, 511-516. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00284-011-0013-3>
- Wachiralurpan, S., Sriyapai, T., Areekit, S., Kaewphinit, T., Sriyapai, P., Santiwatanakul, S., & Chansiri, K. (2017). Development of a rapid screening test for *Listeria monocytogenes* in raw chicken meat using loop-mediated isothermal amplification (LAMP) and lateral flow dipstick (LFD). *Food Analytical Methods*, 10, 3763-3772. <https://link.springer.com/article/10.1007/s12161-017-0949-4>
- Wang, Y., Wang, Y., Luo, L., Liu, D., Luo, X., Xu, Y., Hu, S., Niu, L., Xu, J., & Ye, C. (2015). Rapid and Sensitive Detection of *Shigella* spp. and *Salmonella* spp. by Multiple Endonuclease Restriction Real-Time Loop-Mediated Isothermal Amplification Technique. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1400. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01400>
- Wang, D., Huo, G., Ren, D., & Li, Y. (2010). Development and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method for detecting *Listeria monocytogenes* in raw milk. *Journal of food safety*, 30(2), 251-262. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4565.2009.00196.x>



- Wei, Y., Ding, S., Chen, G., Dong, J., Du, F., Huang, X., Cui, X., Chen, R., & Tang, Z. (2022). Identificación colorimétrica y por fluorescencia en tiempo real de fritillarias bulbosas mediante amplificación isotérmica de ADN mediada por bucle asistida por recombinasa (RALA). *Frontiers in Plant Science*, 13, 948879. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.948879>
- Yang, L. F., Liu, Y. G., Tao, Y. L., Zhang, W. M., Li, J. Y., Chi, S. Q., & Chu, D. (2024). Desarrollo de un ensayo LAMP de diagnóstico in situ para la rápida diferenciación de la plaga invasora *Phthorimaea absoluta* (Meyrick) mediante tejidos de insectos. *Pest Management Science*, 80(8), 4069-4073. <https://doi.org/10.1002/ps.8114>
- Yang, N., Zhang, H., Han, X., Liu, Z., & Lu, Y. (2024). Advancements and applications of loop-mediated isothermal amplification technology: a comprehensive overview. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1406632. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1406632>

