

## Diseño de un sistema de diagnóstico rápido para la detección múltiple de células viables de *Legionella* spp, *L. pneumophila* y otras especies de *Legionella* patógenas mediante qPCR combinada con PMA “LEGILOUP”

La legionelosis es una enfermedad con elevada repercusión mediática al ser asociada a brotes comunitarios habitualmente relacionados con agua caliente sanitaria, torres de refrigeración, jacuzzis, fuentes ornamentales, etc. Aunque el método estándar para la detección del patógeno es el cultivo (UNE-EN ISO 11731), presenta una serie de limitaciones como el largo tiempo de espera para obtener resultados, las precauciones que se han de tener con la muestra para asegurar la viabilidad de los microorganismos, la imposibilidad de detección de bacterias viables no cultivables y la dificultad del aislamiento de la bacteria en muestras que presentan un elevado número de microbiota acompañante.

La discriminación entre células vivas y muertas es de suma importancia en la detección de *Legionella* spp. ya que el hecho de detectar DNA de este microorganismo no significa necesariamente la existencia de una población viable, y por lo tanto, capaz de causar infección. Por tanto, el principal objetivo del proyecto es desarrollar, optimizar y validar un protocolo de detección y cuantificación simultánea de células viables y por tanto infectivas de tres especies patógenas de *Legionella* spp. (*L. pneumophila*, *L. micdadeii* y *L. longbeache*) mediante múltiple qPCR combinada con un tratamiento previo de PMA. De esta forma, se pretende superar las limitaciones técnicas actuales, desarrollando un nuevo método inexistente en el mercado de detección rápida, sensible y específica de células viables no cultivables de las tres especies patógenas de *Legionella* comentadas, mediante la utilización de una PCR múltiple acoplada a un pre-tratamiento de PMA con agentes intercalantes de las moléculas de DNA (como el Propidio de Monoazida, PMA). De este modo se conseguiría el diagnóstico simultáneo de varias especies patógenas viables de *Legionella* en menos de 8 horas, tanto a partir de muestras de agua, como de muestras clínicas. Este protocolo además, nos permitiría evaluar de manera eficiente los tratamientos de desinfección, ya que podríamos distinguir las formas VBNC potencialmente infectivas que aparecerían tras el mismo y que no serían detectables por otros métodos.

**Financiación:** El proyecto, con nº de expediente IMIDTA/2016/218 y un presupuesto financiable de 128.375€, ha sido cofinanciado por el Instituto Valenciano de Competitividad Empresarial (IVACE) y los Fondos dentro del Plan de I+D+I empresarial para el ejercicio 2016.

**Periodo de ejecución:** 2016-2017.

