

Biosensor inmunomagnético para la determinación rápida  
de *Legionella* en aguas: hacia una microbiología  
socialmente responsable.

Guillermo Rodríguez Albalat  
Director Técnico

**biótica**  
FAST DETECTION FOR LIFE

# La Compañía

- Empresa de biotecnología creada en el año 2.005.
- Dedicada al desarrollo y fabricación de productos basados en partículas magnéticas inmovilizadas.
- Misión: dotar al usuario de la capacidad de ofrecer una respuesta oportuna y proporcionada a la magnitud del riesgo biológico.

**Primer target: Legionella**

# Por qué legionella?

- Es un importante patógeno que causa neumonía.
- Los entornos de riesgo y las poblaciones sensibles son de ámbito mundial.
- Las técnicas convencionales no tienen utilidad preventiva.

Tasa de mortalidad:  
12%  
en Europa

Coste sanitario:  
28,0 M€  
en España

Coste industrial:  
20,0 k € / h  
por clausura

Otros costes:  
Bajas laborales  
Sanciones

## Por qué un análisis rápido?.....

## Evidencia nº 1: el nivel, N.

En las instalaciones de riesgo (por ejemplo torres de refrigeración):

- a) El 75 % de las muestras positivas en instalaciones de riesgo presentan niveles de *Legionella* superiores a  $10^3$  UFC /L.
- b) Entre el 58 – 67 % superiores a  $10^4$  UFC/L.

- Irfan Türetgen, Esra Ilhan Sungur and Aysin Cotuk.2005. Enumeration of *Legionella pneumophila* in cooling tower water systems. Environmental Monitoring and Assessment, 100: 53-58. **103 muestras, 50 torres de refrigeración, período: 5 años**

Relative risk assessment and number of towers in each group

<i>Legionella pneumophila</i> (CFU/100 ml)	Risk category <sup>a</sup>	1996	1997	1998	1999	2000
> 100.000	Very high	0	0	0	1 ✓	11 ✓
10.000–99.999	High	0	0 ✓	0	0	1 ✓
1.000–9.999	Moderate	0	5 ✓	0	0	0
100–999	Low	1 ✓	1 ✓	0	0	0
< 100	Very low	3 ✓	4 ✓	0	0	0

<sup>a</sup> According to the relative risk assessments published by Miller and Kenepp (1993).

## Evidencia nº 2: la velocidad de cambio, dN/dt

Las fuentes de riesgo actúan como potentes amplificadores del nivel de *Legionella*, y un nivel infectivo puede ser alcanzado en sólo 2-3 días. Las concentraciones de *Legionella* pueden cambiar en cortos períodos de tiempo considerablemente.



Sin embargo, el método clásico de cultivo requiere DE 12 A 15 DIAS para tener un resultado !!

- Legionella and the prevention of legionellosis. WHO, World Health Organization. 2007.
- García-Nuñez, M. Prevalence and degree of Legionella colonisation in cooling towers. 14th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. May 1-4, 2004.
- Diaraf Farba Yaradou et al. Integrated Real-Time PCR for Detection and Monitoring of Legionella pneumophila in Water Systems. Applied and Environmental Microbiology, vol.73, No 5, p. 1452-1456. Mar. 2007.
- Sonia Ragull, Marian García-Nuñez, María Luisa Pedro-Botet, Nieves Sopena, María Esteve, Rafael Montenegro, and Miquel Sabrià. Legionella pneumophila in Cooling Towers. Applied and Environmental Microbiology, 2007, vol. 73, No. 16, p. 5382-5384. **374 muestras, 15 torres de refrigeración, período: 1 año.**

## Evidencia nº 3: la fluctuación, $\Delta N$

Las concentraciones infectivas de *Legionella* pueden encontrarse de forma habitual en las instalaciones de riesgo y en cualquier época del año:

- Un 30-60 % de las torres de refrigeración contienen *Legionella pneumophila*.
- Un número significativo de torres están en situación de riesgo alto la mayor parte del tiempo.

■ Irfan Türetgen, Esra Ilhan Sungur and Aysin Cotuk.2005. Enumeration of *Legionella pneumophila* in cooling tower water systems. *Environmental Monitoring and Assessment*, 100: 53-58. **103 muestras, 50 torres de refrigeración, período: 5 años**

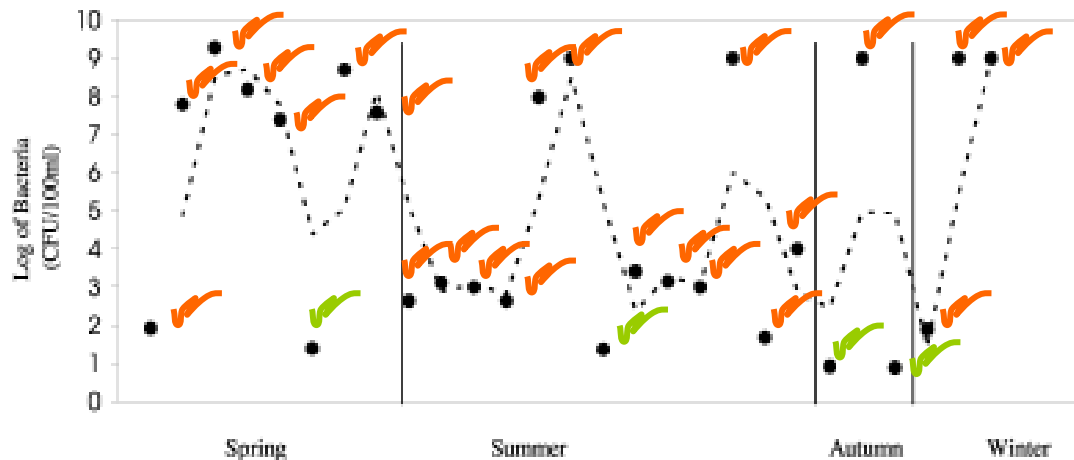
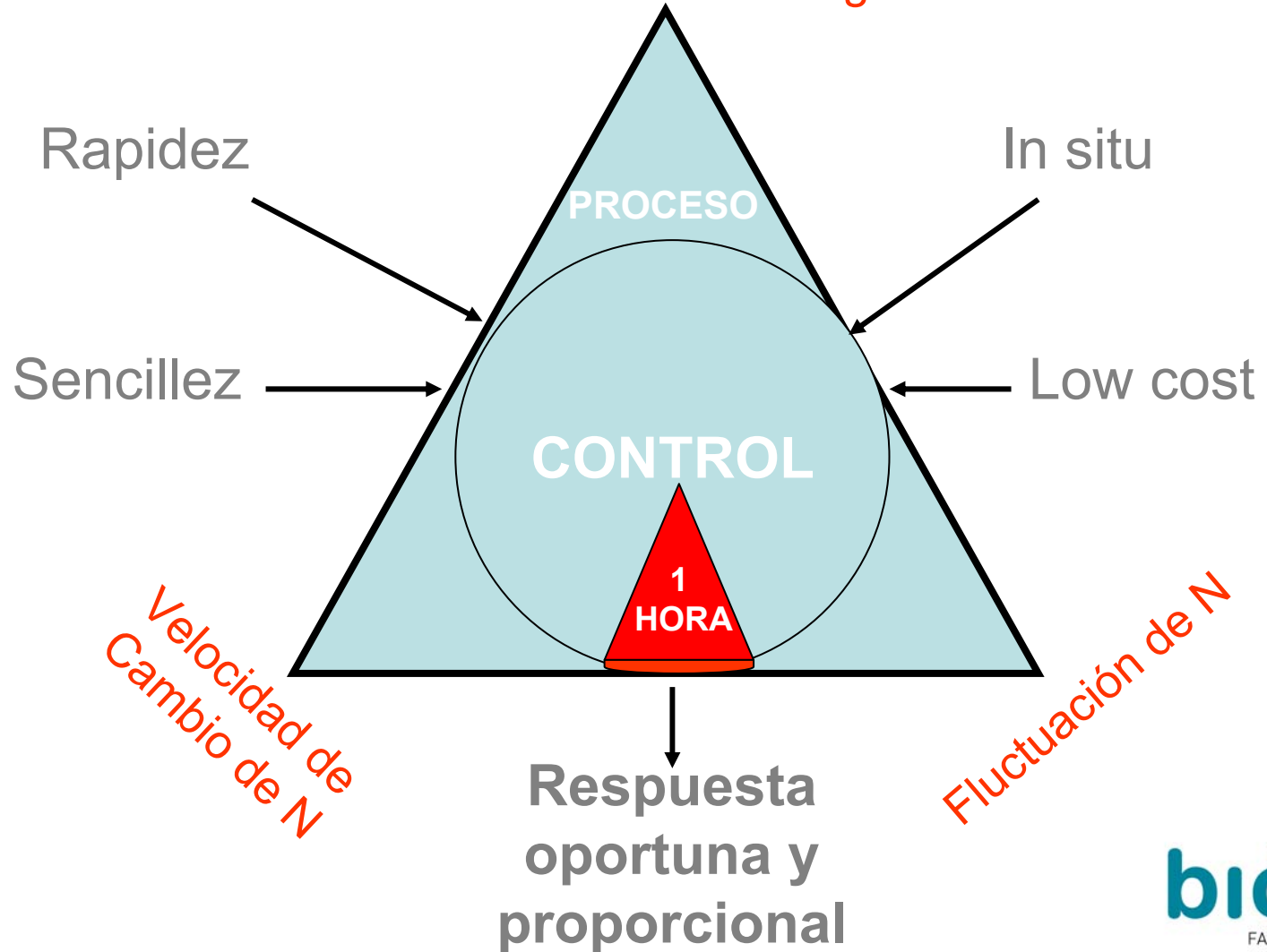


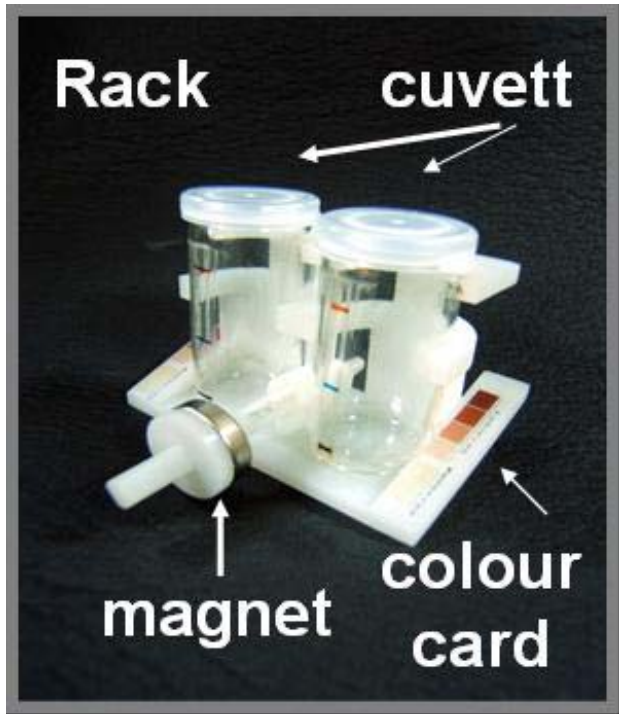
Figure 2. Cumulative profile of *L. pneumophila* counts detected in cooling tower water basin, which shows an insignificant correlation by season (1996–2000).

# La estrategia: el planteamiento.

Nivel infectivo de riesgo N



# Del planteamiento al formato: el método cualitativo para MEDIDA de *Legionella* in situ.

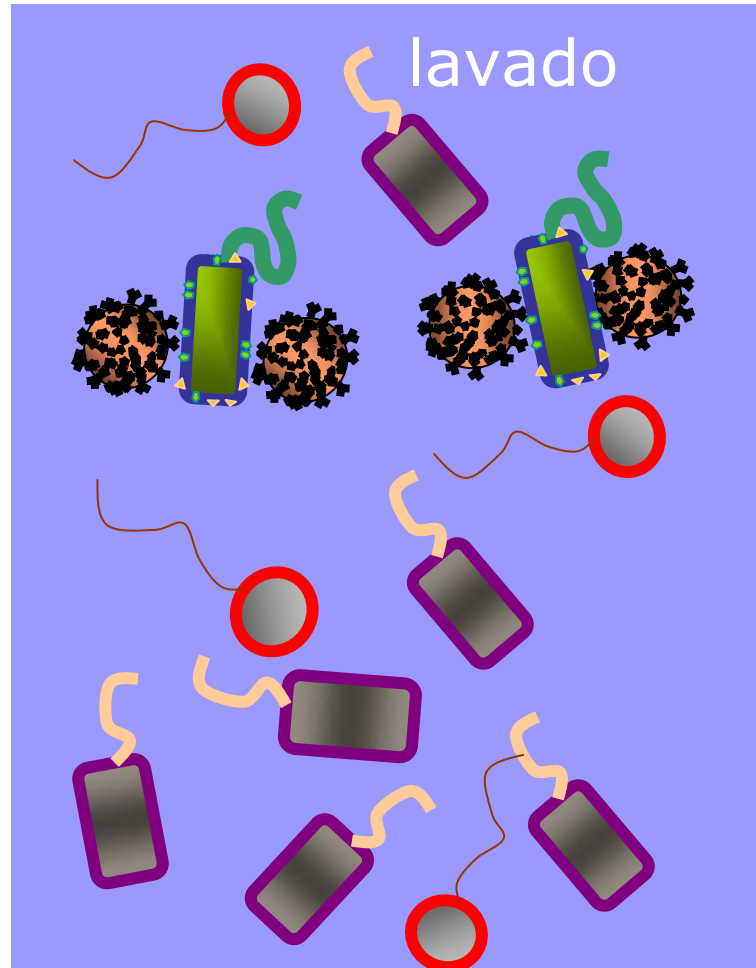


El formato amigable es un factor clave.



# Cómo trabajan las partículas?

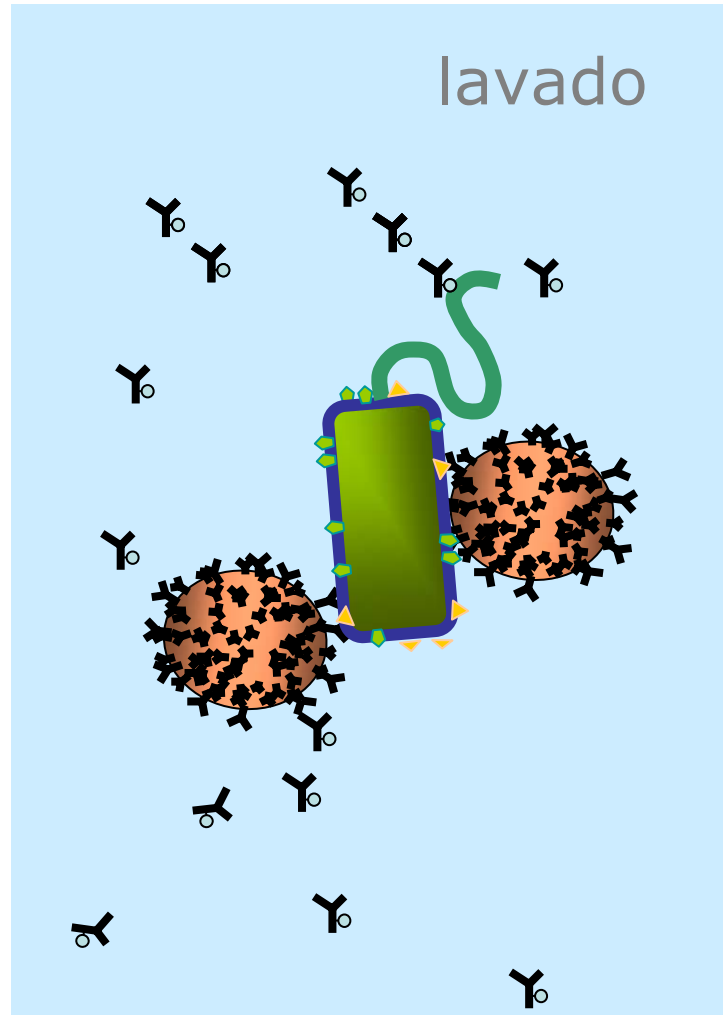
muestra →  
partículas →



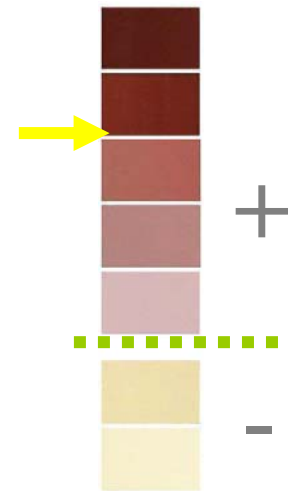
IMÁN

# Cómo trabajan las partículas?

Molécula de lectura   
Substratos 



CARTA DE COLOR



1 HORA

# Resultados de la MEDIDA de *Legionella* in situ

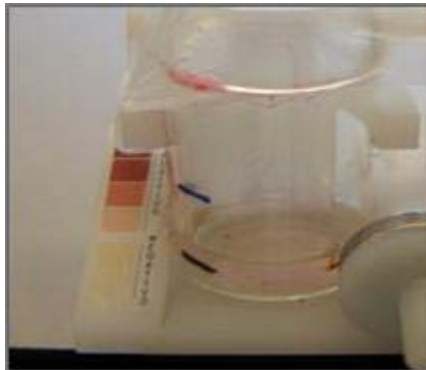


0 cfu/L

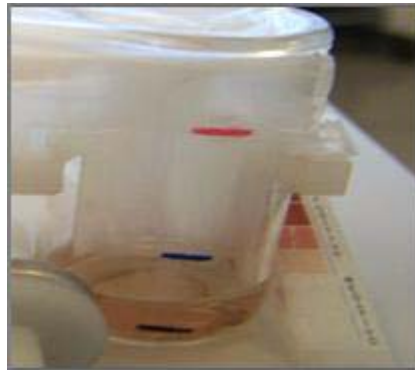


$2 \times 10^3$  cfu/L

+



$7,3 \times 10^3$  cfu/L



$7,3 \times 10^4$  cfu/L

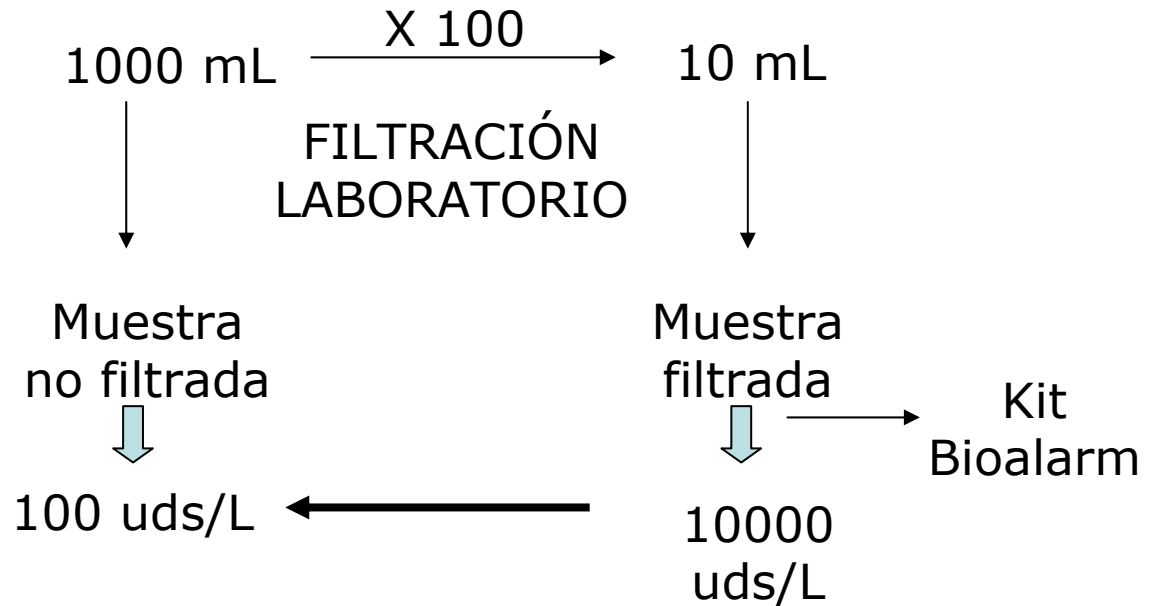
+ +

Análisis de *Legionella pneumophila* con el kit Bioalarm/*Legionella*.

Resultados semicuantitativos:  
color vs [*Legionella*]

Resultados reportados por un Cliente

# Resultados de la MEDIDA de *Legionella* in Lab

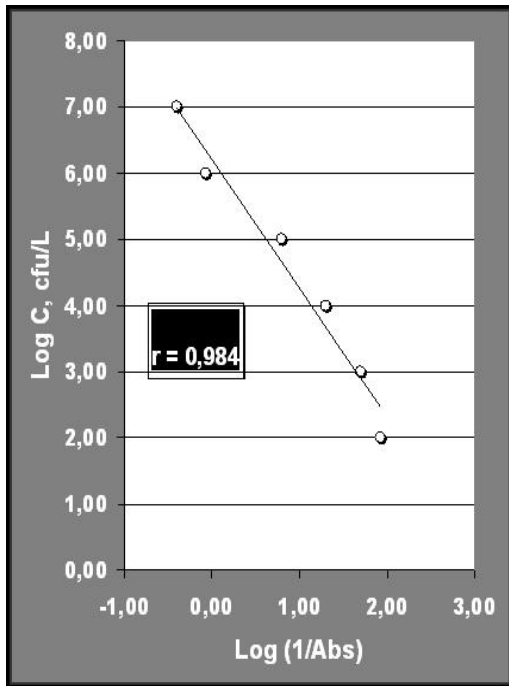


## Muestra TR (ISO11731)

<u>Original</u>	<u>Filtrada</u>
No detectado	$1,9 \times 10^3$ ; +

# Resultados como método cuantitativo y cualitativo para MEDIDA de *Legionella*

- Comparación con el método ISO 11731; más de 265 muestras con 3 matrices diferentes: agua sanitaria, agua de torre de refrigeración, agua residual.



Comparison between Reference Method (ISO11731) and Kit Bioalarm.		Kit Bioalarm	
		Samples +	Samples -
Reference Method	+	a = 201	b = 0
	-	c = 4	d = 60

a + b = 201

c + d = 64

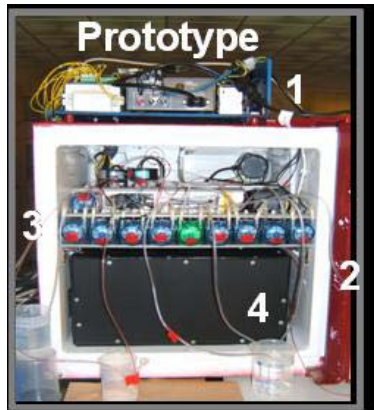
a + c = 205

b + d = 60

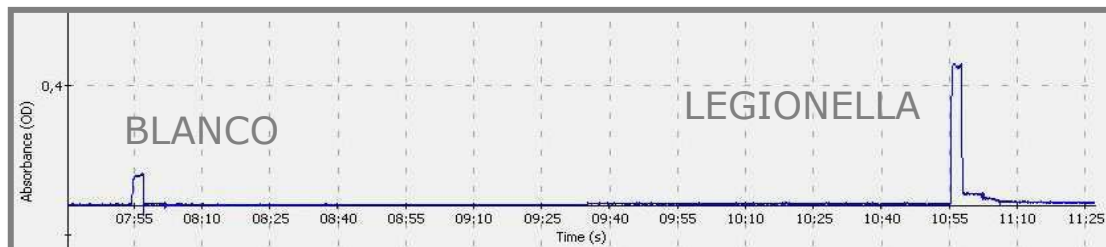
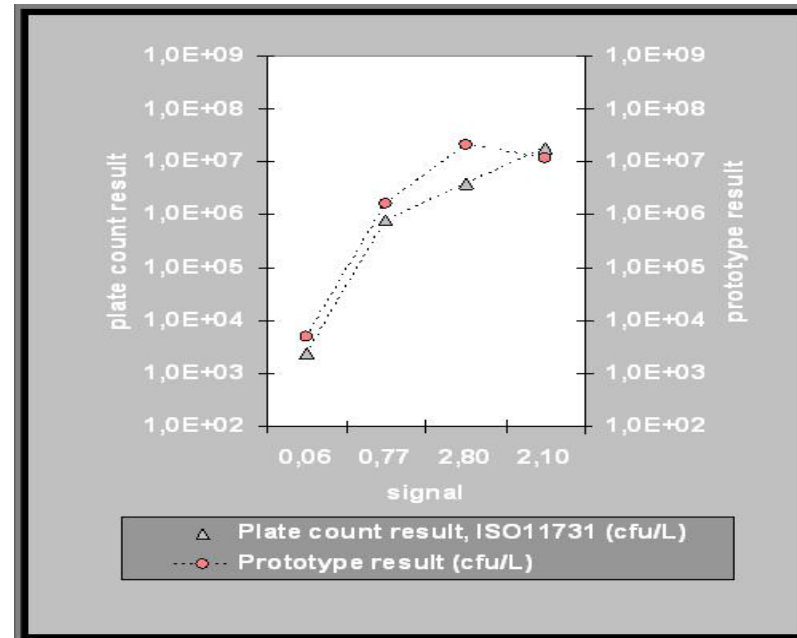
265

**Sensitivity** =  $a / (a + b) = 100 \%$   
**Especificity** =  $d / (c + d) = 94 \%$   
**False positive** =  $c / (a + c) = 1,9 \%$   
**False negative** =  $b / (b + d) = 0 \%$   
**Efficiency** =  $(a + d) / n = 98,5 \%$

# Resultados como biosensor automático para la determinación de *Legionella*.



1. Módulo eléctrico
2. Módulo contenedor
3. Módulo fluidoico.
4. Módulo transductor



# Conclusiones

- Las concentraciones de *Legionella* pueden variar considerablemente en cortos períodos de tiempo, alcanzando niveles infectivos ( $10^4$ - $10^5$  uds/L) sostenidos.
- El control del proceso requiere de un análisis rápido, frecuente, y viable técnica (formato simple) y económicamente (low cost).
- Las partículas inmunomagnéticas proporcionan herramientas eficientes para una monitorización operativa de los entornos de riesgo sanitario y ambiental.
- El análisis rápido, confiable y **preventivo**, en un formato amigable, es posible.

# Gracias por su atención

## Contáctenos:

C/ Pasaje José Pascual Goterris Albiol, 2,  
12540 Vila-real (Castellón) - SPAIN-

Tel: +34 964 522358  
info@biotica.es  
www.biotica.es