

DESAFÍO UNIVERSIDAD - EMPRESA

Esta necesidad tecnológica forma parte del Concurso de Proyectos de I+D+i y/o consultoría en colaboración Universidad – Empresa “Desafío Universidad Empresa” 2017 organizado por la Fundación Universidades y Enseñanzas Superiores de Castilla y León.

TÍTULO DE LA DEMANDA TECNOLÓGICA A RESOLVER

Referencia:

NT44

Título de la demanda tecnológica propuesta

Desarrollo de un kit de diagnóstico molecular para la detección indolora de Leishmania infantum

Acrónimo:

LEISH-TEST

Áreas de interés de la demanda tecnológica

(Principal) Salud, Atención Social, Cambio demográfico y Bienestar

Resumen:

La presente demanda se trata de un kit de diagnóstico molecular para la detección indolora del ADN de Leishmania infantum, parásito que afecta principalmente a perros pero también a personas y que puede producir la muerte. El cliente final serán las clínicas veterinarias aunque también se podrá comercializar para la detección de la enfermedad en personas en países con elevada incidencia como India. El desarrollo de un prototipo servirá de modelo para el desarrollo de kits que permitan detectar otras enfermedades. El kit utilizará la tecnología LAMP-PCR, y la muestra a analizar será un raspado bucal.

PALABRAS CLAVE: ADN; Diagnóstico molecular; Leishmania; LAMP-PCR; raspado bucal

DESCRIPCIÓN DE LA NECESIDAD DEMANDADA

1.- Descripción de la demanda tecnológica.

El kit se basa en la detección del ADN del parásito mediante la tecnología LAMP-PCR. Este tipo de PCR evita la utilización de termocicladores ya que la amplificación tiene lugar a temperatura constante, sin ciclos, por lo que simplemente con un termobloque o un baño con agua que mantenga la temperatura constante es suficiente para llevar a cabo el diagnóstico.

Tecnología LAMP-PCR para la detección de *L. infantum*. A partir de una muestra de raspado bucal recogida con un hisopo se realizará la extracción del ADN utilizando un protocolo sencillo y con duración máxima de 15 min por muestra a analizar. Una vez extraído el ADN se realizará el diagnóstico utilizando un termobloque o un baño de agua en un tiempo máximo de 60 min.

Desarrollo de un prototipo o kit. El prototipo del kit debe de constar de una caja de cartón que incluya los reactivos necesarios para poder llevar a cabo el diagnóstico. Todos los reactivos irán liofilizados para que el envío del kit pueda ir a temperatura ambiente y no necesite de la cadena de frío. Se podrán desarrollar dos tipos diferentes de kit: con los reactivos incluidos en muestras individuales o a modo de pool para analizarlas todas a la vez.

2.- Antecedentes.

La tecnología LAMP-PCR ya está descrita para el diagnóstico de numerosas enfermedades aunque para la detección de *L. infantum* en raspado bucal no se ha descrito. Pocas empresas en el mundo utilizan esta tecnología y venden kits para diagnóstico molecular. Entre éstas la pionera fue la empresa japonesa Eiken y por lo tanto es la que tiene casi todo el mercado, aunque se centra principalmente en el diagnóstico de enfermedades humanas. Existe una empresa de Israel, Biogal, especializada en el diagnóstico de enfermedades animales, incluida la Leishmaniosis (aunque a partir de sangre), por lo que se trata de un competidor directo. Otra de las empresas que utiliza también esta tecnología es Lucigen Applied Sciences, de Estados Unidos, especializada en diagnóstico de humana pero también de veterinaria aunque centrada en animales de producción (vaca, cerdos, pollos).

En cuanto a los antecedentes de la tecnología se aconseja utilizar las siguientes publicaciones para el desarrollo la LAMP-PCR:

- Optimization of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assays for the detection of Leishmania DNA in human blood samples. Acta Trop. 2016. 162, 20-6.
- Development of a LAMP assay for detection of Leishmania infantum infection in dogs using conjunctival swab samples. Parasit Vectors. 2015. 8, 370.
- Diagnostic accuracy of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for detection of Leishmania DNA in buffy coat from visceral leishmaniasis patients. Parasit Vectors. 2012. 5, 280.

3.- Posibles enfoques del proyecto de investigación.

Optimización del diagnóstico molecular.

- Extracción del ADN: se testarán diferentes protocolos comparando los resultados entre kits que hay en el mercado y una extracción más sencilla (con el menor número de pasos posibles y equipamiento) que incluya las siguientes etapas: dilución del hisopo con buffer; incubación con proteinasa K; precipitación del ADN.

- Tecnología de la LAMP-PCR. Se testarán diferentes concentraciones de reactivos del kit hasta definir aquellas que presenten una mayor sensibilidad.
- Para que tenga lugar la reacción se utilizará un termobloque o un baño de agua. Se testarán ambas posibilidades.

Desarrollo del prototipo. Una vez definidas las cantidades de reactivo para cada reacción se realizará un prototipo para 20 reacciones que incluyan todos los componentes y cuyos reactivos irán liofilizados. Se testarán muestras con los reactivos liofilizados para determinar la viabilidad del kit.

Para llevar a cabo todo el proyecto de investigación inicialmente las pruebas se realizarán utilizando ADN extraído a partir de un cultivo de *L. infantum*. Tras determinar la sensibilidad y la viabilidad de la técnica (LAMP-PCR) se probarán muestras de raspado bucal de perros o personas infectadas por *L. infantum*. La positividad de estas muestras tendrá que haber sido confirmadas anteriormente mediante otras técnicas.

4.- Enfoques sin interés.

Los investigadores han de ceñirse a la descripción anterior para que su respuesta pueda ser valorada.

Si desea remitir una propuesta de solución tecnológica (proyecto de investigación y/o consultoría) deberá enviar el formulario de participación (ANEXO II), descargable en www.redtcue.es/desafio a una de las direcciones de correo electrónico que se indican en las bases del concurso antes del 31/10/2017.

[Acceso a información general del concurso](#)