**RESUMEN**

El incremento de la población y la escasez de recursos hídricos naturales debido a la escasa pluviometría irregularmente distribuida en el tiempo, como es el caso de las regiones mediterráneas, hacen necesaria la reutilización de las aguas residuales. Antes de ser tratadas, estas aguas contienen materia orgánica que ofrece un sustrato idóneo para el desarrollo de toda clase de microorganismos, muchos de los cuales son patógenos.

Por otra parte, el agua potable se obtiene a partir de agua natural o cruda captada en ríos, lagunas, pozos, manantiales o pantanos, las cuales también pueden contener microorganismos patógenos. Debido a esto, es de suma importancia realizar un correcto tratamiento de esta agua para evitar la transmisión de enfermedades.

De entre todos los patógenos emergentes en aguas, *H. pylori* es uno de los que mayor interés despierta en estos momentos, ya que su epidemiología aún no está clara.

La infección por *H. pylori* puede conducir al desarrollo de gastritis crónica, úlcera péptica y cáncer gástrico. De hecho, la bacteria está clasificada como agente biológico carcinógeno para el ser humano de categoría 1. Se ha sugerido que *H. pylori* puede ser adquirida mediante diferentes vías de transmisión, entre las que destaca el agua.

Por otra parte, las FLA son un grupo heterogéneo de protozoos ubicuos que, además de contener especies patógenas, pueden actuar como “Caballos de Troya” para bacterias resistentes a las amebas (ARB). De esta forma, las ARB pasarían desapercibidas frente a la primera línea de defensa de un organismo. La interacción *H. pylori-*FLA ha sido demostrada en dos procesos *in vitro,* aunque la viabilidad de la bacteria no se ha demostrado tras el proceso.

Por tanto, en esta Tesis se estudia el posible papel de las FLA como reservorio de *H. pylori* y otras bacterias patógenas en aguas y alimentos mediante técnicas moleculares.

En primer lugar se realizó un ensayo de cocultivo entre la bacteria *H. pylori* y la ameba *Acanthamoeba castellanii*. Se comprobó mediante técnicas moleculares específicas para la detección de células viables, PMA-qPCR y DVC-FISH, que la ameba es capaz de internalizar a la bacteria y que esta última es viable, demostrando que *H. pylori* se comporta como una bacteria ARB.

Seguidamente, se analizaron un total de 120 muestras ambientales, 100 de agua y 20 de vegetales para comprobar la presencia tanto de FLA como de *H. pylori* internalizado en estas FLA.

En el caso de las muestras de agua, se analizaron 69 muestras de agua residual y 31 de agua potable. Un total de 55 (79,7%) muestras de agua residual y 12 (38,7%) de agua potable resultaron positivas para la presencia de FLA. Mediante la técnica PMA-qPCR se demostró la presencia de *H. pylori* internalizado en las FLA presentes en 28 (50,9%) y 11 (91,7%) de las muestras de agua residual y potable analizadas, respectivamente. Mediante DVC-FISH se demostró que las células de *H. pylori* internalizadas dentro de las FLA presentes en las muestras eran viables en 16 (29,5%) y 5 (41,7%) de las muestras de agua residual y potable analizadas, respectivamente. Además, se consiguió recuperar formas viables cultivables de *H. pylori* procedente del interior de FLA en 10 (18,2%) de las muestras de agua residual analizadas. Las FLA aisladas e identificadas en las aguas residuales pertenecieron a los géneros *Acanthamoeba*, *Naegleria*, *Vanellidae* y a la familia Vahlkampfiidae. En el caso del agua potable, las FLA aisladas e identificadas pertenecieron a los géneros *Acanthamoeba*, *Echinamoeba* y *Vermamoeba*.

En el caso de las muestras de vegetales, concretamente lechugas, todas ellas resultaron positivas para el aislamiento de FLA (100%). Mediante la técnica PMA-qPCR se demostró la presencia de *H. pylori* internalizado en las FLA en 11 (55,0%) de las muestras y, mediante DVC-FISH, se demostró que las células de *H. pylori* internalizadas dentro de las FLA eran viables en 5 (25,0%) de las muestras. En este caso no se recuperaron formas viables cultivables de la bacteria.

Finalmente, mediante metagenómica de secuenciación dirigida, se analizó el microbioma de las FLA presentes en 20 de las muestras analizadas en esta Tesis (11 de agua residual, 3 de agua potable y 6 de lechugas). Para ello, se eligieron los iniciadores, se evaluaron *in silico* e *in vitro* y, una vez comprobada su idoneidad, se emplearon para la secuenciación de las muestras.

En los tres tipos de muestras, la clase bacteriana más abundante fue la Gammaproteobacteria. Para los tres tipos de muestras, los filos más abundantes de las bacterias del microbioma de las FLA fueron Proteobacteria y Bacteroidetes y, en el caso del agua residual, también lo fue el filo Planctomycetes. *H. pylori* se detectó mediante esta técnica en los tres tipos de muestra. Además, como parte del microbioma de FLA de muestras ambientales, se detectaron otras bacterias de interés para la salud pública, tales como *Aeromonas*, *Legionella*, *Mycobaterium* o *Pseudomonas*.

Los resultados obtenidos en esta Tesis demuestran la presencia de FLA patógenas en las muestras ambientales, así como el hecho de que, en algunos casos, estas son transportadoras de bacterias patógenas.

Este trabajo también confirma que *H. pylori* se comporta como una bacteria ARB y que se encuentra viable en el interior de FLA presentes, tanto en aguas residuales y potables como en vegetales. De esta forma, se postula que un modo de transmisión de esta bacteria podría ser a través de las FLA presentes en agua o vegetales.