

Maestría en Ingeniería Civil

Detección de *Legionella pneumophila* y su impacto en salud pública en el agua potable de un hospital municipal

Paula Julieth Herrera López

Bogotá, D.C., 11 de Diciembre de 2019



Detección de *Legionella pneumophila* y su impacto en salud pública en el agua potable de un hospital municipal

Tesis para optar al título de magíster en Ingeniería Civil, con énfasis en Ingeniería Ambiental

Gladys Rocío González Leal

Bióloga, Especialista en Microbiología

Director

Bogotá, D.C., 11 de Diciembre de 2019



NOTA DE ACEPTACIÓN

La tesis de maestría titulada “Detección de *Legionella pneumophila* y su impacto en salud pública en el agua potable de un hospital municipal”, realizada por la estudiante Paula Julieth Herrera López, en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al título de Magister en Ingeniería Civil con Énfasis en Ingeniería Ambiental, fue evaluada como APROBADA por el jurado evaluador el día _____.

Ingeniera Ambiental y Sanitaria, MSc. Amalia Avendaño Sánchez

Jurado Evaluador

Microbiólogo Industrial, Diego Avendaño Herrera

Jurado Evaluador

Bióloga, ESP. Gladys Rocío González Leal

Director del proyecto

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por regalarme inmensa sabiduría y entereza a la hora de realizar esta investigación.

A mis padres, por ese sentimiento incondicional de apoyo y motivación en momentos arduos durante el proceso, por su comprensión y generosidad en busca del cumplimiento de una meta propuesta.

A mi directora de tesis, Gladys González, Bióloga y profesora de la Escuela Colombiana de Ingeniería “Julio Garavito”, por su inmensurable atención e incondicional ayuda, orientación y aporte de ideas durante el desarrollo y culminación de este proyecto de investigación, demostrando ante todo su calidad humana.

A la Escuela Colombiana de Ingeniería “Julio Garavito”, por permitirme desarrollar la investigación dentro de sus instalaciones, al igual que el financiamiento de todos los implementos y materiales que necesite para llevar a cabo este proyecto.

A todos y cada una de las personas que me apoyaron durante la investigación, aportando una voz de aliento y perseverancia en el transcurso del proyecto de grado.

RESUMEN

Legionella pneumophila es una bacteria que se encuentra de forma natural en ambientes acuáticos, su nicho predomina en fuentes de agua natural superficiales, como lagos, ríos o estanques. Desde su hábitat natural puede colonizar los sistemas de abastecimiento hídrico de una ciudad, y a través de las redes de distribución ingresar como organismo patógeno al ser humano. Su estudio es relevante ya que su presencia se ha visto involucrada en el deterioro de la condición respiratoria del ser humano de una forma más rápida que los demás gérmenes comunes en pacientes diagnosticados con neumonía.

En Colombia, las infecciones por bacterias atípicas, son responsables del 2 al 37% de los casos de neumonía adquirida en la comunidad (Arias Guzmán, 2016), pero se desconoce con certeza si *Legionella pneumophila* está o no involucrada allí, siendo su detección una gran incertidumbre, ya que esto no representa un tema de constante investigación, teniendo en cuenta que se requiere del uso de medios de cultivo especiales y poco convencionales, para llevar a cabo el aislamiento e identificación de la especie.

En nuestro país, la incidencia de neumonía por *Legionella pneumophila* no ha logrado ser caracterizada como nativa, teniendo en cuenta que los casos presentados se han encontrado en otros países y su información es limitada. Sin embargo, la Neumonía Adquirida en la Comunidad (NAC), es considerada como la sexta causa de muerte y la primera por infección pulmonar, siendo responsable de aproximadamente el 4% de los egresos al sector hospitalario: pudiéndose afirmar que la tasa de morbi-mortalidad es de 13 por cada 10.000 habitantes de población general; a partir de datos de la Asociación Colombiana de Neumología y Cirugía de Tórax (ACNCT) (Castillo Villar, 2012).

Conforme a lo anterior, el propósito de este proyecto de investigación es evaluar la presencia de *Legionella pneumophila* en el agua potable y su incidencia en problemas asociados a salud pública en un hospital municipal, que, si bien no es habitual su detección, si resulta ser bastante oportuno su identificación, cuantificación y posible eliminación del recurso hídrico.

ÍNDICE GENERAL

1	Introducción	10
2	Objetivos	11
2.1	Objetivo general.....	11
2.2	Objetivos específicos.....	11
3	Marco Teórico	12
3.1	Taxonomía.....	12
3.2	Características Biológicas.....	14
3.3	Enfermedades Producidas por <i>Legionella pneumophila</i>	15
3.3.1	Fiebre de Pontiac.	15
3.3.2	Legionelosis.....	16
3.4	Epidemiología o Cadena Epidemiológica	17
3.4.1	Ecología y fuentes de infección de la bacteria.	17
3.4.2	Mecanismo de transmisión.	22
3.5	Diagnóstico.....	23
3.5.1	Aislamiento de la bacteria mediante el uso de cultivos.	24
3.5.2	Inmunofluorescencia directa (IFD).	25
3.5.3	Serología de inmunofluorescencia indirecta (IFI).	26
3.5.4	Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).	26
3.6	Prevención y Control.....	27
3.6.1	Medidas generales de prevención y control.	27
3.6.2	Prevención y control en ambientes hospitalarios.	30
3.6.3	Medidas de desinfección complementarias.	30
3.7	Normas	31
3.7.1	Normas internacionales.....	31
3.7.2	Normas nacionales.....	34
4	Antecedentes: Casos de Detección e Identificación de <i>Legionella pneumophila</i>	35

4.1	Brote Epidémico de Neumonías por <i>Legionella pneumophila</i> en Niños Cubanos.....	36
4.2	Brote de Legionelosis en un Restaurante de Madrid, España	37
4.3	Detección de Infección Aguda por <i>Legionella pneumophila</i> en Pacientes con Neumonía Adquirida en Buenos Aires	38
4.4	Presencia de <i>Legionella pneumophila</i> en Condensadores Evaporativos ...	40
4.5	Estudio de la Presencia de Legionella en Hospitales de la Ciudad de Barcelona.....	41
4.6	Caso de Legionella pneumophila detectado en Bogotá en el año 2015	42
4.7	Brote de Legionelosis en Murcia, España	43
5	Metodología.....	45
5.1	Muestreo	45
5.1.1	Materiales y equipos.....	48
5.2	Método de Análisis	50
5.2.1	Técnica de sustrato definido.	50
5.2.2	Procedimiento para muestras de agua potable.....	52
5.2.3	Procedimiento para muestras de agua no potable.....	54
6	Resultados	57
6.1	Resultados de parámetros físico-químicos en cada punto de muestreo	57
6.2	Análisis de parámetros físico-químicos en cada punto de muestreo.....	59
6.2.1	Conductividad.....	59
6.2.2	pH.....	60
6.2.3	Oxígeno disuelto.....	61
6.2.4	Temperatura.....	62
6.3	Cuantificación del NMP/100 ml de las bandejas de incubación	64
7	Conclusiones	72
8	Referencias	74

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Especies de Legionella	13
Tabla 2. Clasificación de sistemas/dispositivos en función del riesgo de Legionella pneumophila.	28
Tabla 3. Métodos de desinfección complementarias.....	31
Tabla 4. Resultados medición in situ de Conductividad	57
Tabla 5. Resultados medición in situ de Oxígeno disuelto	58
Tabla 6. Resultados medición in situ de pH	58
Tabla 7. Resultados medición de cloro libre, cloro total y cloro combinado.....	59
Tabla 8. Conteo general del NMP/100 mL de microorganismos	64

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Clasificación taxonómica Legionella pneumophila	12
Figura 2. Condiciones favorables para la multiplicación de Legionella pneumophila.....	19
Figura 3. Esquema de la cadena epidemiológica de Legionella pneumophila.....	23
Figura 4. Punto de ducha de pacientes.....	46
Figura 5. Punto de terapia respiratoria.....	46
Figura 6. Punto de lavado en el servicio de urgencias	47
Figura 7. Montaje experimental.....	50
Figura 8. Comportamiento de la conductividad en puntos de muestreo	60
Figura 9. Comportamiento del pH en puntos de muestreo	61
Figura 10. Comportamiento del oxígeno disuelto en puntos de muestreo	62
Figura 11. Comportamiento de la temperatura.....	63
Figura 12. Resultados muestreo N.º 1 - Terapia respiratoria.....	65
Figura 13. Resultados muestreo N.º 1 - Urgencias	65
Figura 14. Resultados muestreo N.º 1 - Ducha de pacientes	66
Figura 15. Resultados muestreo N.º 2 - Terapia respiratoria.....	66
Figura 16. Resultados muestreo N.º 2 - Urgencias	67
Figura 17. Resultados muestreo N.º 2 - Duchas de pacientes	67
Figura 18. Resultados muestreo N.º 3 - Terapia respiratoria.....	68
Figura 19. Resultados muestreo N.º 3 - Urgencias	68
Figura 20. Resultados muestreo N.º 3 - Ducha de pacientes	69

1 Introducción

El presente trabajo de grado tiene como objetivo principal evaluar la presencia de *Legionella pneumophila* en muestras de agua tomadas de tres puntos diferentes de un hospital municipal.

En el capítulo 1 se muestra un preámbulo del tema a desarrollar; en el capítulo 2 se describen cada uno de los objetivos tanto generales como específicos propuestos; en el capítulo 3 se muestra de manera detallada el marco teórico del estudio, donde se describen conceptos básicos y características propias de *Legionella pneumophila*; en el capítulo 4 se exponen los antecedentes al tema, los cuales son casos de detección de *Legionella pneumophila* evaluados y diagnosticados con anterioridad; en el capítulo 5 se presenta la metodología adoptada para llevar a cabo la evaluación de la presencia de dicho microorganismo en muestras de agua potable y no potable; en el capítulo 6 se muestran los resultados obtenidos durante el muestreo, donde se pueden observar las mediciones in situ de parámetros físico-químicos; además se encuentran los resultados de la técnica de sustrato definido; finalmente, en el capítulo 7 se mencionan las conclusiones las cuales son producto del análisis de los resultados obtenidos durante el estudio.

2 Objetivos

2.1 Objetivo general

Evaluar la presencia de *Legionella pneumophila* en el agua potable de un hospital municipal.

2.2 Objetivos específicos

- Revisar bibliografía y estadísticas existentes acerca del impacto en salud pública de la presencia de *Legionella pneumophila* en Colombia.
- Evaluar la presencia de *Legionella pneumophila* en el agua potable de un hospital municipal en tres puntos diferentes (urgencias, terapias respiratorias y duchas), utilizando la técnica de sustrato definido.
- Analizar los resultados obtenidos experimentalmente y su influencia en la problemática ambiental y de salud pública.
- Realizar las recomendaciones pertinentes para la eliminación de esta bacteria en los sistemas de distribución de agua potable en los hospitales.

3 Marco Teórico

3.1 Taxonomía

Legionella pneumophila pertenece a la familia Legionellaceae del género Legionella, en la cual existen más de 50 especies, tales como *Legionella micdadei*, *Legionella pneumophila*, *Legionella anisa*, *Legionella bozemanii* entre otras; que a su vez cuentan con más de 70 serogrupos (Blanco Palencia, 2010).

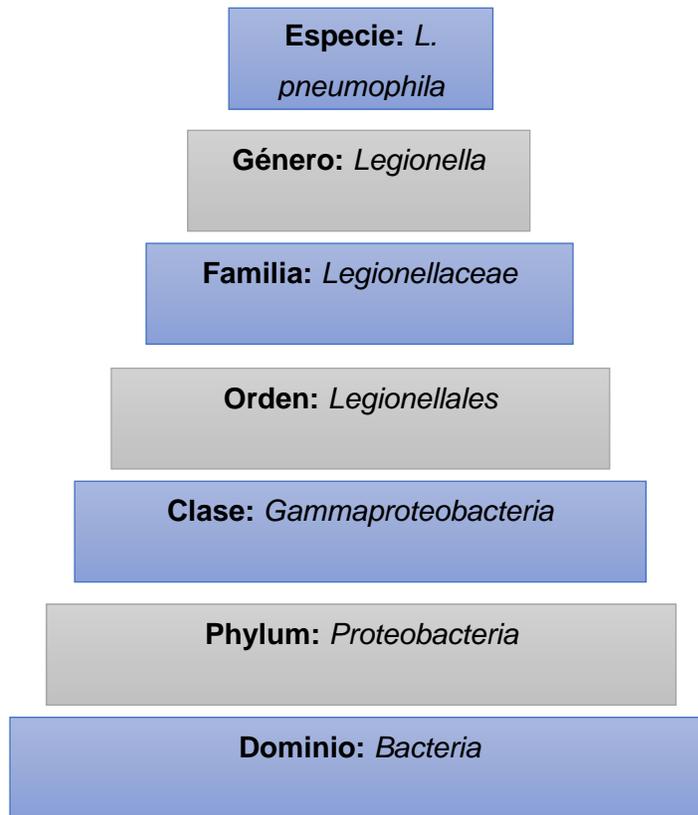


Figura 1. Clasificación taxonómica *Legionella pneumophila*

Fuente. Elaboración propia

Todas las especies de este género se encuentran presentes en medios acuáticos, y la gran mayoría de las infecciones humanas son de tipo pulmonar, asociadas a la exposición a una fuente ambiental que esté contaminada por dicho microorganismo (Blanco Palencia, 2010).

En la Tabla 1, se presentan algunas de las especies de Legionella identificadas como posibles generadoras de patologías humanas.

Tabla 1. Especies de Legionella

Especies	N.º de serogrupos
L. pneumophila	15
L. micdadei	1
L. anisa	1
L. birminghamensis	1
L. bozemanii	2
L. cincinnatiensis	1
L. dumoffii	1
L. feeleii	2
L. gormanii	1
L. hackeliae	2
L. israelensis	1
L. jordanis	1
L. lansingensis	1
L. longbeachae	2
L. maceachernii	1
L. oakridgensis	1

Fuente. (Blanco Palencia, 2010)

Actualmente los estudios realizados al hábitat natural de este grupo de bacterias, han permitido determinar el descubrimiento de nuevas especies, haciendo posible que el número de serogrupos aumente de forma significativa (Salvador García, 2011).

3.2 Características Biológicas

Legionella pneumophila es un microorganismo gramnegativo aerobio que generalmente presenta forma de bacilo, tiene movilidad gracias a la presencia de uno o más flagelos, no presenta formas de resistencia (esporas) y regularmente mide de 0.5 a 1 μm de ancho y de 2 a 4 μm de longitud. Esta posee una pared bacteriana con membrana externa, un polímero de peptidoglicano que contiene ácido m-diaminopimérico y una membrana citoplasmática (Salvador García, 2011).

Es una bacteria que tiene la capacidad de invadir y crecer intracelularmente en gran cantidad de células eucariotas, como pueden ser las pertenecientes al sistema fagocítico mononuclear, fundamentalmente monocitos y macrófagos alveolares, así como diversas células epiteliales y fibroblastos humanos y animales (Horwitz & Silverstein, 1980).

Una característica biológica de este microorganismo es su mecanismo de supervivencia, ya que la presencia de amebas favorece su crecimiento y proliferación en determinados ambientes e instalaciones de conducción hídrica, prevaleciendo a temperaturas tibias y condiciones ambientales de difícil acceso (Razón Behar, Tamargo Martínez, De Armas Morales, & Cantillo Games, 2002). Dicha afirmación, les aporta resistencia en su hábitat natural, donde estas se logran multiplicar en el interior de diversos protozoos de vida libre, así como también en complejas biocapas microbianas que se encuentran en el medio (Martín Redondo, 2016).

Es importante mencionar, que la posibilidad de que esta especie se pueda multiplicar intracelularmente, logra en ella una forma de protección contra la acción y efecto que los antibióticos y/o desinfectantes puedan desarrollar; de forma que solo pueda responder a antibióticos capaces de penetrar en sus membranas celulares (Martín Redondo, 2016).

Las especies pertenecientes al género *Legionella* son quimiorganotróficas, es decir, utilizan compuestos orgánicos como fuente de carbono y energía, no poseen sistema de transporte de glucosa y se cree que no producen la fermentación de ningún otro tipo de hidrato de carbono (Moreno Camacho, 2002). Estas utilizan los aminoácidos como fuente primaria de

energía, y la mayoría de las especies necesitan para su crecimiento sales férricas y L-cisteína, razón por la cual, son incapaces de crecer en medios de cultivo empleados habitualmente (Salvador García, 2011).

En la actualidad se plantea que en la infección por *Legionella pneumophila* desempeña un papel significativo la activación de los macrófagos alveolares por citoquinas, que produce inhibición de la multiplicación de la bacteria, pues es capaz de regular los receptores de superficie celular para la transferrina, de forma tal que disminuye la cantidad de hierro transportado dentro de la célula, constituyendo así un nutriente esencial para el crecimiento y multiplicación intracelular de la bacteria (Byrd & Horwitz, 1989).

3.3 Enfermedades Producidas por *Legionella pneumophila*

Existen dos formas clínicas de infección originadas por la presencia de *Legionella pneumophila*, cada una con características diferentes que serán descritas a continuación:

3.3.1 Fiebre de Pontiac.

Es un proceso epidémico de gravedad leve y autolimitado, con síntomas muy similares a una gripe convencional, como fiebre alta, artromialgias y afectación general del organismo (Vaqué Rafart & Martínez Gomez, 2002). Esta se trata de una infección donde sus secuelas no afectan significativamente al sistema pulmonar humano, y se podría relacionar más como una reacción al antígeno inhalado que como una intrusión bacteriana (Cuaspud Baño, 2018).

Esta infección también se denomina como la forma no neumónica del contagio por *Legionella pneumophila*, a pesar de presentar síntomas como tos, dolor torácico, diarrea y en algunas ocasiones confusión y desequilibrio mental (Salvador García, 2011).

El periodo de incubación normalmente puede oscilar entre 2 y 5 días, pero se puede presentar manifestación de síntomas a las 24 horas, esta no requiere tratamiento alguno y desaparece espontáneamente al paso de algunos días (Vilaseca i Vallvé, 2004). Su incidencia en edades tempranas es notable, presentando brotes de infección en ambientes laborales de oficina, industrias y usuarios de jacuzzis e instalaciones de hidromasajes (Martín Redondo, 2016).

3.3.2 Legionelosis.

También denominada “Enfermedad del Legionario”, es una afectación bacteriana de origen ambiental causada por la presencia de *Legionella pneumophila*. Esta consiste en un síndrome de neumonía grave, que puede ir desde presentar síntomas leves hasta presentar insuficiencia respiratoria y muerte (Vilaseca i Vallvé, 2004).

La legionelosis o enfermedad del legionario, se describió por primera vez en el año de 1977 a raíz de un brote de neumonía epidémico, el cual se registró un año antes durante la Convención de Veteranos de la Legión Americana en un hotel de Filadelfia, Estados Unidos; durante esta se produjo una infección a nivel pulmonar en la comunidad asistente, la cual presentaba síntomas graves como tos aguda, trastornos respiratorios y fiebres altas (“Legionelosis,” 2018)

Durante la epidemia se presentaron más de 200 casos catalogados como neumonía atípica, descubriéndose que esta había sido causada por la presencia de la bacteria *Legionella pneumophila*. Esta bacteria se encontraba presente en los circuitos de agua y había sido transmitida al ambiente en forma de aerosol a través del sistema de refrigeración del edificio donde se llevaba a cabo dicha convención (“Legionelosis,” 2018).

El personal médico encargado utilizó como parte del tratamiento, la penicilina, la cual no fue efectiva, y se presentaron 34 muertes de los 221 afectados en total (“Legionelosis,” 2018).

Los brotes de legionelosis pueden ser adquiridos generalmente en dos grandes ámbitos: el comunitario y el hospitalario (neumonía nosocomial). Los factores de riesgo asociados a la neumonía nosocomial van desde la susceptibilidad que presente el paciente por intervenciones quirúrgicas recientes, intubaciones, ventilación mecánica, presencia de sondas nasogástricas y/o uso de equipos de terapia respiratoria (Jiménez Zabala et al., 2013).

Los casos de aparición esporádica constituyen la presentación más frecuente de esta enfermedad, siguiéndole en orden de frecuencia aquellos casos que se catalogan como brotes comunitarios y por último los casos de origen nosocomial. La transmisión de persona a persona es muy improbable (Vaqué Rafart & Martínez Gomez, 2002).

La legionelosis no se transmite al beber agua, al ingerir alimentos de persona a persona, ni de animales a personas (Vilaseca i Vallvé, 2004).

Los sistemas de supervivencia y/o reservorios juegan un papel fundamental dentro del ciclo de vida de la *Legionella pneumophila*, ya que estos permiten que el microorganismo se relacione e interactúe en diferentes condiciones y ambientes propicios para su proliferación. El periodo de incubación para la legionelosis es de 2 a 10 días aproximadamente ("Legionelosis," 2018).

Para que se produzcan casos de neumonía atípica es necesario que la bacteria sea virulenta, es decir, que tenga la capacidad de causar enfermedad, estar presente en cantidades suficientes, ser dispersada desde sus reservorios y alcanzar el fondo del órgano hospedero, en este caso, el pulmón. Una vez allí, la bacteria puede evadir las defensas del huésped parasitando las células fagocitarias (Gea Izquierdo, 2007).

La relevancia de diagnosticar esta enfermedad, desde el punto de vista de la salud pública, está dada por su frecuente e imprevista presentación en forma de brotes esporádicos y atípicos, originados ya sea por medios nosocomiales o comunitarios; desencadenando condiciones de mortalidad especialmente en personas de edad avanzada o con enfermedades subyacentes; y su impacto en la economía del turismo, teniendo en cuenta que dicho microorganismo se transmite por instalaciones que hacen uso y operación de instalaciones que utilizan sistemas de agua (hidromasajes, jacuzzis, duchas y aires acondicionados) (Jiménez Zabala et al., 2013).

3.4 Epidemiología o Cadena Epidemiológica

3.4.1 Ecología y fuentes de infección de la bacteria.

Legionella pneumophila se encuentra ampliamente distribuida en diferentes hábitats acuáticos naturales y su nicho ecológico lo constituyen las aguas superficiales de ríos, lagos, estanques, arroyos, aguas termales, esto quiere decir que podemos encontrar a este microorganismo en cualquier cuerpo de agua a excepción de estuarios y cuerpos de agua salina. De igual manera, esta bacteria puede llegar a encontrarse en el suelo y su difusión podría verse beneficiada por el polvo generado al remover tierra en actividades de excavación (García Núñez, 2009).

Esta bacteria es capaz de sobrevivir en un amplio rango de condiciones fisicoquímicas y biológicas ya que es termotolerante; esta tiene la capacidad de reproducirse en

temperaturas desde los 20°C, con un óptimo crecimiento en 35°C – 37°C pero que se inactiva cuando la temperatura supera los 70°C (Vargas, Martín, Boix, & Pelaz, 1999).

La presencia de *L. pneumophila* en hábitats artificiales como torres de refrigeración, sistemas de distribución-suministro de agua y/o condensadores de evaporación, se ve altamente favorecida por la formación de biofilms, los cuales son ecosistemas microbianos, formados por uno o varios microorganismos asociados a una superficie viva o inerte, con características funcionales y estructuras complejas, que permiten que el microorganismo huésped soporte condiciones adversas (nutrientes limitados y/o temperaturas extremas) a su metabolismo habitual (Blanco Palencia, 2010).

Por otra parte, la existencia de aguas estancadas o con baja velocidad de circulación, presencia de nutrientes, depósito de sólidos en suspensión, superficies rugosas con depósitos cálcicos y corrosión, formación de biofilms con presencia de protozoos, bacterias y algas, son algunas de las condiciones adecuadas para el crecimiento de nichos ecológicos que sustenten generación y multiplicación de la bacteria (Varó Galvañ, Yáñez Amorós, & Cadenas Jiménez, 2013).

Los cuerpos de agua naturales contienen mínimas cantidades de *Legionella pneumophila*, esta especie tolera el cloro y sobrevive al tratamiento del agua.

Este microorganismo coloniza los sistemas de refrigeración, ya que el proceso de evaporación transmite el calor a la atmósfera mediante el contacto con el agua; la corriente de agua sale de la torre o del condensador en forma de partículas aerolizadas y la contaminación producida por estas, son el vector responsable de la transmisión del microorganismo a personas vulnerables (Blanco Palencia, 2010).

En la Figura 2, se detallan brevemente las condiciones que favorecen la multiplicación de *Legionella pneumophila*.

Temperaturas	<ul style="list-style-type: none"> •Rango promedio entre 25°C y 45°C. •Crecimiento óptimo entre 35°C y 37°C.
Disponibilidad de agua	<ul style="list-style-type: none"> •Agua estancada - baja velocidad de circulación •Presencia de zonas muertas.
Tipo de superficie en contacto con agua	<ul style="list-style-type: none"> •Tipo de material como maderas y celulosa. •Superficies rugosas, cálcicas, corrosivas.
Calidad del agua	<ul style="list-style-type: none"> •Depósito de sólidos en suspensión. •Conductividad, turbiedad y presencia de nutrientes.
Formaciones biológicas (biofilms)	<ul style="list-style-type: none"> •Presencia de protozoos, algas y bacterias.

Figura 2. Condiciones favorables para la multiplicación de *Legionella pneumophila*

Fuente. Adaptado de (Martín Redondo, 2016)

3.4.1.1 Fuentes comunitarias.

Las instalaciones que han sido identificadas como fuentes de infección comunitaria con mayor frecuencia para la colonización por *Legionella pneumophila* son las torres de refrigeración y los condensadores de evaporación. De igual manera, las instalaciones y dispositivos que utilizan agua para su operación y funcionamiento producen aerosoles, ya sea por su localización interior como exterior de las construcciones (edificios), tales como: fuentes ornamentales, sistemas de riego por aspersión, piscinas, bañeras de hidromasaje, entre otras (Vaqué Rafart & Martínez Gomez, 2002).

A continuación, se describen los factores que determinan el riesgo de transmisión por fuentes comunitarias:

- **Circuitos de agua cerrados en la red de agua sanitaria caliente:** los circuitos primarios cerrados, son utilizados en la mayoría de edificios de afluencia pública para la producción de agua sanitaria caliente, mediante el uso de acumuladores o

intercambiadores de calor. Por consiguiente, los elementos que conforman las instalaciones del circuito de agua caliente son los que tienen mayor vulnerabilidad y riesgo a ser colonizados por *Legionella pneumophila* (Vaqué Rafart & Martínez Gomez, 2002).

Algunos de los elementos instalados dentro de los circuitos cerrados son los denominados serpentines de calefacción (tubos de enfriamiento) y acumuladores de calor; estos sufren algunos deterioros por uso y operación, y fácilmente pueden recubrirse de incrustaciones que con el pasar del tiempo se logran desprender y sedimentar junto con otras partículas que se encuentran en suspensión dentro del agua. El sedimento formado allí logra disminuir el rendimiento térmico del sistema y por ende el descenso de la temperatura es notable (Vaqué Rafart & Martínez Gomez, 2002).

El papel que desempeñan los sedimentos y las incrustaciones formadas por el deterioro de los circuitos de agua, es fundamental para la localización y proliferación de la bacteria recreando un hábitat ideal para su crecimiento, al igual que inhiben la eficiencia del proceso de desinfección ya que la acción del cloro es casi nula ante el agente patógeno (Vaqué Rafart & Martínez Gomez, 2002).

- **Desinfección del agua:** los procesos de desinfección son necesarios siempre que existan depósitos de agua, tanto en los casos en el que el abastecimiento se realice mediante captación propia, como aquellos en los que el agua proviene de la red de abastecimiento público. A pesar de que en los anteriores se usa una concentración adecuada de cloro, es posible que durante el almacenamiento el cloro residual dosificado se evapore, requiriendo que se realice una nueva cloración con el fin de mantener y conservar concentraciones óptimas del desinfectante, que garanticen condiciones microbiológicas apropiadas (Vaqué Rafart & Martínez Gomez, 2002).

3.4.1.2 Fuentes hospitalarias.

En las instalaciones hospitalarias el reservorio óptimo para el crecimiento de *Legionella pneumophila* se encuentra en el sistema de distribución de agua sanitaria caliente, al igual

que también se puede llegar a encontrar microorganismos dentro del circuito de agua sanitaria fría (Vaqué Rafart & Martínez Gomez, 2002).

Dentro de un hospital o institución médica las fuentes de exposición son múltiples, ya sea por la presencia de aerosoles generados a partir del uso de duchas que incrementan los casos esporádicos de legionelosis nosocomial o por la colonización orofaríngea y la aspiración de agua sanitaria (Vaqué Rafart & Martínez Gomez, 2002). El uso de nebulizadores, material para terapias respiratorias, material de irrigación, piscinas para hidroterapia, equipos de extinción de incendios utilizados recientemente y cubos de hielo producidos por maquinas situadas en las plantas de hospitalización, constituyen puntos de transmisión de *Legionella pneumophila* que deben ser considerados a la hora de realizar un reconocimiento epidemiológico (Vaqué Rafart & Martínez Gomez, 2002).

A continuación, se describen los factores que determinan el riesgo de transmisión por fuentes hospitalarias:

- **Temperatura del agua:** El efecto térmico sobre las tuberías produce un aumento en la formación de ciertos depósitos calcáreos y de materia orgánica que contribuyen con la generación de biocapas, zona de supervivencia de *Legionella pneumophila*. Además, la acción desinfectante del cloro es mínima en el agua caliente, ya que esta sustancia se evapora e impide mantener las concentraciones mínimas adecuadas en los últimos tramos de la red de distribución (Vaqué Rafart & Martínez Gomez, 2002).
- **Colonización de las aguas:** Los factores que condicionan la contaminación de las aguas en los hospitales se hallan estrechamente relacionados con la estructura de soporte hidromecánico de la institución; dentro de los cuales podemos destacar el diseño del sistema distribución de agua sanitaria, la temperatura, su antigüedad constructiva, composición iónica, pH, conductividad y todos los materiales utilizados en la fabricación de tuberías, válvulas y sistemas de presión (Kuchta, States, McNamara, Wadowsky, & Yee, 1983).

Igualmente, la dimensión de una institución hospitalaria determina la complejidad de los sistemas de distribución de agua, ya que la existencia de “recovecos” y ramales ciegos de tubería facilitan de manera significativa la existencia y multiplicación de la

bacteria en aquellos puntos ciegos presentes en el sistema (Vaqué Rafart & Martínez Gomez, 2002).

3.4.2 Mecanismo de transmisión.

La cadena epidemiológica de *Legionella pneumophila* al hombre incluye un reservorio primario formado por el medio acuático natural y un reservorio secundario que comprende los sistemas hídricos artificiales; a partir de los cuales el microorganismo puede llegar al organismo humano mediante varios mecanismos de transmisión (Salvador García, 2011).

La neumonía atípica es el cuadro de presentación clínico que muestran la mayoría de pacientes con legionelosis. La inhalación de partículas contaminadas con la bacteria y el impacto generado a nivel del alveolo pulmonar, indica el desencadenamiento de la infección. Dichas partículas ingresan al sistema humano mediante el tracto respiratorio (Blanco Palencia, 2010).

La inhalación de aerosoles (dispersión de gotas de agua en el aire) formados a partir de depósitos de agua contaminada se considera la vía de transmisión con mayor importancia (Salvador García, 2011). La formación de aerosoles también se puede dar cuando el flujo de agua se rompe o se fragmenta al impactar sobre una superficie dura, de esta manera dispositivos como nebulizadores y bañeras de hidromasajes se convierten en posibles puntos de infección de *L. pneumophila* (Salvador García, 2011).

Las instalaciones que más frecuentemente se encuentran contaminadas con *Legionella pneumophila* y que han sido identificadas como fuentes de infección, son los sistemas de agua sanitaria, caliente y fría, y equipos de enfriamiento de agua evaporativos, como torres de refrigeración y condensadores evaporativos, tanto en hospitales como en hoteles u otro tipo de edificios (Otero Martino, 2013).

Por otra parte, las duchas y grifos con agua caliente representan igualmente un foco de infección, ya que pueden aerolizar pequeñas cantidades de la bacteria durante su operación rutinaria y así llegar a formar partículas lo suficientemente pequeñas que logren ingresar en el sistema respiratorio del ser humano (Varó Galvañ et al., 2013).

En la Figura 3, se muestra un esquema general de la cadena epidemiológica que realiza la bacteria.

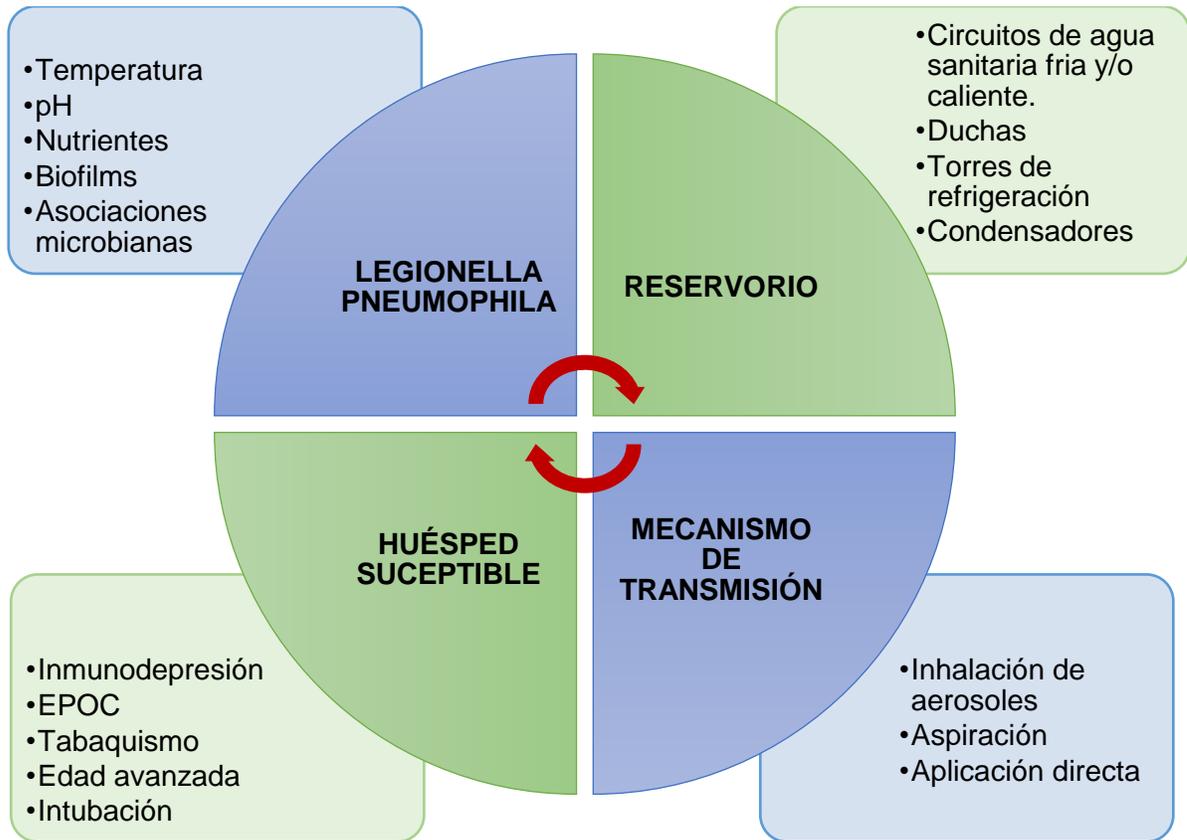


Figura 3. Esquema de la cadena epidemiológica de *Legionella pneumophila*

Fuente. Adaptado de (González de Chávez Ledesma, 2017)

Es importante mencionar que a pesar de los diferentes focos de infección, este microorganismo es un patógeno oportunista, que afecta de manera puntual a personas en condiciones inmunológicas débiles o que quizás en ese momento padecen patologías que se puedan ver comprometidas con esta infección (Alonso Fustel, Artieda Arandia, García Calabuig, & González Carril, 2008).

3.5 Diagnóstico

La incapacidad y dificultad para detectar *Legionella pneumophila* mediante el uso de cultivos convencionales y técnicas de tinción tradicionales, es considerado un problema

actualmente, dado que esto imposibilita y retarda procesos de investigación que tengan como fin indagar un poco más sobre el comportamiento del microorganismo. Para ello, se debe considerar la implementación de nuevos protocolos en los cuales se empleen cultivos especiales que permitan la detección de esta bacteria, conservando sus condiciones vitales y características propias (Gea-Izquierdo, Mezones-Holguín, & Haro-García, 2012).

El diagnóstico de neumonía nosocomial resulta bastante complejo, al igual que el de la Legionelosis nosocomial. En la mayor parte de los casos, los conceptos de estas dos patologías se ven distorsionados, dado que sus puntos de estudio han sido desarrollados en situaciones muy similares, algunos como unidades de críticos, áreas bien delimitadas y con un pequeño número de pacientes (Gea-Izquierdo et al., 2012).

Las especies de *Legionella pneumophila* pueden identificarse por distintos métodos. A continuación, se describen las principales técnicas que pueden ser utilizadas en el diagnóstico de este microorganismo:

3.5.1 Aislamiento de la bacteria mediante el uso de cultivos.

Este método proporciona un diagnóstico de confirmación de la infección causada por *Legionella pneumophila*. De igual forma, es el único método disponible que permite detectar infecciones causadas por cualquiera de las especies y serogrupos pertenecientes a la *Legionella pneumophila*. (Ausina, Catalán, Cercenado, & Pelaz Antolín, 2005).

Sin embargo, este método presenta una serie de inconvenientes como el largo tiempo de incubación el cual es de 3 a 12 días, la imposibilidad de detección de bacterias viables no cultivables, las complejas precauciones que se han de tener con la muestra para asegurar la viabilidad de los microorganismos y la compilación del aislamiento de la bacteria en muestras con elevada contaminación microbiana (Varó Galvañ et al., 2013).

Esta técnica se realiza a partir de muestras respiratorias tales como, secreciones respiratorias contaminadas (esputo y muestras del tracto respiratorio superior), secreciones respiratorias no contaminadas (muestras del tracto respiratorio inferior no contaminadas), tejido pulmonar obtenido por biopsia o necropsia, líquido pleural y otras muestras como el líquido cefalorraquídeo (Blanco Palencia, 2010).

Para muestras clínicas y ambientales, se utiliza el medio de cultivo BCYE α (*Buffered Charcoal Yeast Extract suplementado con α -cetoglutarato*), que contiene extracto de levadura, L-cisteína, pirofosfato férrico, carbón activo para neutralizar los compuestos tóxicos y tampón ACES (ácido N-2-acetamido-2-aminoetanosulfónico) que dota al medio de un pH óptimo para el crecimiento de *Legionella pneumophila*. (Varó Galvañ et al., 2013).

El nivel de sensibilidad del cultivo en muestras respiratorias oscila entre un 20% y un 80%, dicha variación está en función del tipo de muestra. La baja sensibilidad se debe a factores como la naturaleza de la bacteria que se ve limitada en su crecimiento por algunos medios de cultivo, la limitada supervivencia de la bacteria en muestras clínicas, la aplicación de tratamientos antibióticos previo a la toma de muestra y la experiencia microbiológica requerida para su aislamiento (Ausina et al., 2005).

3.5.2 Inmunofluorescencia directa (IFD).

Es un procedimiento de tinción que permite detectar con rapidez la presencia de cualquier serogrupo de *Legionella pneumophila* en muestras clínicas. El nivel de sensibilidad del método oscila entre el 25% y 75%, con una especificidad del 95% (Varó Galvañ et al., 2013).

Esta técnica se lleva a cabo mediante el uso de reactivos que contienen un anticuerpo monoclonal capaz de reconocer todos los serogrupos de la bacteria. Los anticuerpos son marcados por medio de fluorescencia, estos se unen a los antígenos de la pared del microorganismo, y luego se realiza un proceso de lavado con el fin de eliminar los anticuerpos no fijados en la pared. Posteriormente, se realiza una inspección utilizando el microscopio para examinar la extensión de fluorescencia de estas bacterias (Ausina et al., 2005).

El procedimiento de este método es sencillo, pero presenta un grado de dificultad a la hora de llevar a cabo la interpretación de los resultados obtenidos, ya que se deben descartar falsos positivos que se dan debido a reacciones cruzadas con otros microorganismos, entonces la existencia de un resultado negativo no excluye la posibilidad de que el paciente este infectado por *Legionella pneumophila* y un resultado positivo deberá interpretarse como un diagnostico presuntivo (Moreno Camacho, 2002).

3.5.3 Serología de inmunofluorescencia indirecta (IFI).

Esta técnica se realiza utilizando un sustrato antigénico de *Legionella pneumophila* serogrupo 1, inactivado con calor. Estos antígenos están comercializados, estandarizados y prefijados en los portaobjetos sobre los que se añaden las distintas diluciones seriadas del suero del paciente (Ausina et al., 2005).

La detección de anticuerpos en el suero tomado del paciente se realiza mediante una reacción antígeno-anticuerpo que es revelado con una antiglobulina humana marcada con fluoresceína, la cual permite visualizar los microorganismos con un microscopio de fluorescencia. El nivel de sensibilidad de este método oscila entre 78% y 91%, con una especificidad del 99% (Wilkinson, Cruce, & Broome, 1981).

A la hora de interpretar los resultados obtenidos, un resultado negativo no descarta la existencia de la enfermedad, ya que en algunos casos se han detectado errores en la producción de anticuerpos, sin embargo, su aplicación es de gran utilidad para realizar diagnósticos retrospectivos y en investigaciones epidemiológicas (Ausina et al., 2005).

3.5.4 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Es un método diagnóstico basado en la detección del ADN de *Legionella pneumophila* en muestras ambientales o clínicas, el cual consiste en la amplificación in vitro del ADN o ARN mediante la acción de una ADN polimerasa termorresistente, es decir, que esta permite obtener un gran número de copias de fragmentos específicos de ADN, basándose en mecanismos similares a los utilizados por la propia célula en el proceso de replicación del ADN durante la división celular (Varó Galvañ et al., 2013).

El resultado de la amplificación se detecta fácilmente mediante tinción de los productos de la reacción con bromuro de etidio en electroforesis con geles de agarosa; igualmente pueden ser detectados mediante hibridación con una sonda de ADN, por técnicas de cromatografía líquida o por electroforesis capilar (Varó Galvañ et al., 2013).

La PCR tiene la gran ventaja de ser un método de detección rápido en comparación con las técnicas de aislamiento en cultivo, pero simultáneamente presenta dos inconvenientes significativos: ser una técnica cualitativa que no permite la cuantificación del

microorganismo en la muestra y la inhibición de la reacción por compuestos orgánicos y metales que predominan especialmente en muestras ambientales (Wilkinson et al., 1981).

3.6 Prevención y Control

3.6.1 Medidas generales de prevención y control.

Conocer e identificar los factores que favorecen la transmisión de *Legionella pneumophila* y su medio y/o entorno de crecimiento, proporciona información veraz a la hora de establecer e implementar medidas preventivas que permitan abordar la problemática adecuadamente.

El progreso de la enfermedad depende principalmente del grado de intensidad a la cual el ser humano se ve expuesto ante los aerosoles, la cual es medida por el tiempo de exposición y por la concentración de la bacteria presente en dicho aerosol, de igual manera que la susceptibilidad que presente el paciente ante el agente patógeno (Ausina et al., 2005).

La vigilancia continuada, la definición de estrategias y su puesta en práctica, pueden mostrar resultados positivos para la prevención de la legionelosis (Kelly, Danko, Kralovic, Simbartl, & Roselle, 2003), es decir, que los reportes de mantenimiento de equipos, al igual que las condiciones atmosféricas existentes juegan un papel relevante en el progreso de la enfermedad; sin embargo, a nivel urbano la incidencia de la infección se asocia usualmente con diseños deficientes en los edificios; construcciones inapropiadas, y negligencia en el control de la calidad del agua en las instalaciones (Gea-Izquierdo et al., 2012).

A nivel de salud pública, es necesario conocer e identificar en qué nivel de riesgo se encuentran los distintos sistemas o dispositivos utilizados en actividades donde el uso del agua es frecuente, con el fin de establecer prioridades a la hora de implementar medidas preventivas y correctivas.

En la Tabla 2, se califican algunos sistemas o dispositivos en función del riesgo de *Legionella pneumophila*.

Tabla 2. Clasificación de sistemas/dispositivos en función del riesgo de *Legionella pneumophila*.

ALTO RIESGO	BAJO RIESGO
Torres de refrigeración, condensadores evaporativos y sistemas adiabáticos.	Agua fría sanitaria
Agua caliente sanitaria.	Sistemas de agua contra incendios
Agua en recirculación y agitación permanente (con posible inyección de aire): piscinas de recreo, spas, ciertos acuarios, etc.	Equipos de humectación y aerosolización, sistemas de enfriamiento evaporativo doméstico.
Sistemas de lavado de automóviles mediante pulverización, túneles de autolavado.	Fuentes ornamentales, riego por aspersión.
Equipos de terapia respiratoria.	Unidades de dentistas.
Recintos de concurrencia pública, climatizados y sometidos a aerosoles (estaciones, parques, etc.)	Sistemas físicos de conducción de aire tratado.
Locales, terrazas en los que se usan aerosoles para “enfriar” el ambiente (toldos y ventiladores con aerosoles)	Camiones cisterna para riego de vías públicas.
Procesos humificadores usados en industria (pescaderías).	Sistemas de distribución, bombas de agua y otros dispositivos.
Instalaciones termales	Circuitos de aire acondicionado con pérdidas de condensado.
Sistemas de calentadores eléctricos y aerosoles de agua.	Bandejas de condensado (baterías de unidades de tratamiento de aire)

Fuente. Adaptado de (Gea-Izquierdo et al., 2012).

En general, las medidas de prevención y control de la legionelosis que se proponen van dirigidas en dos direcciones, de un lado se plantea evitar las condiciones que favorezcan la supervivencia y proliferación de la bacteria, y por otro lado se intenta controlar la eliminación de aerosoles, procurando que esta se realice en zonas muy transitadas, lugares cercanos a ventanas o tomas de aire de otros sistemas, o en lugares donde las personas expuestas se consideren vulnerables al contagio de la enfermedad (Ausina et al., 2005).

Las siguientes actividades son consideradas medidas preventivas contra la transmisión de *Legionella pneumophila*:

- Limpiezas físicas de choque de los sistemas utilizando desinfectantes para eliminar la materia biológica, presencia de suciedad y acumulación de sustratos (Vilaseca i Vallvé, 2004).
- Evita temperaturas de almacenamiento o distribución de agua comprendidas entre 25°C y 45°C (Ausina et al., 2005).
- Tratamiento con productos específicos tanto microbiológicos como químicos para evitar procesos de corrosión e incrustación y ensuciamientos orgánicos (Vilaseca i Vallvé, 2004).
- Mantenimiento de los sistemas a través de equipos de regulación y control de purgas, dosificadores de productos, etc. (Vilaseca i Vallvé, 2004).
- Evitar el uso de materiales constructivos que favorezcan el crecimiento de microorganismos, o que estén sometidos a procesos de degradación por efecto del cloro, altas temperaturas, y donde las actividades de mantenimiento se vean limitados por su acceso (Ausina et al., 2005).
- Análisis periódico del agua, desde el punto de vista físico-químico como microbiológico (Vilaseca i Vallvé, 2004).
- Instalación e implementación de difusores de gota gruesa (Vilaseca i Vallvé, 2004).
- No utilizar filtros pulverizadores en los grifos (Vilaseca i Vallvé, 2004).
- Limpieza y mantenimiento periódico de los depósitos de agua, lugares donde hay escasez de agua, instalaciones con funcionamiento intermitente (bajas temporadas) (Ausina et al., 2005).

3.6.2 Prevención y control en ambientes hospitalarios.

En las instituciones hospitalarias se agrupan gran variedad de factores que favorecen la incidencia y riesgo de contraer la legionelosis. La mayoría de brotes epidémicos han sido de gran prolongación, atribuidos a la contaminación de los sistemas de abastecimiento de agua y siendo catalogados como casos de legionelosis nosocomial (Ausina et al., 2005).

En los hospitales hay pacientes con diferentes patologías que los hacen directamente vulnerables ante un posible contagio de legionelosis. Los casos de legionelosis diagnosticados por contagio nosocomial presentan costos de tratamiento e índices de mortalidad más altos en comparación con los adquiridos por contagio a nivel comunitario.

Las actividades de prevención ante posibles brotes de legionelosis nosocomial, se deben iniciar por saber si existe o no colonización de *Legionella pneumophila* en el agua sanitaria del sistema, de esta manera se podrá establecer un régimen de vigilancia para evitar que se propague la neumonía nosocomial a personas que se encuentren en estado de vulnerabilidad por padecer otro tipo de patologías; y que de ser positivo el resultado de presencia de la bacteria se adopten de forma inmediata acciones correctivas que permitan minimizar su presencia en el sistema de agua (Sabria, 2000).

La colonización de *Legionella pneumophila* no podrá ser erradicada mediante un proceso de cloración, sino que simplemente podrá ser reducida o minimizada del circuito de agua fría; todo esto si se mantienen temperaturas superiores a los 60°C en acumuladores y de 50°C en puntos periféricos de la red de agua sanitaria caliente (Sabria, 2000).

No obstante, y pese a todas las medidas de prevención y control que se adopten ante la problemática, muchas veces estas no resultan muy efectivas ante los brotes de neumonía nosocomial originados por el microorganismo. Para ello, es necesario que se implementen medidas de desinfección complementarias.

3.6.3 Medidas de desinfección complementarias.

Actualmente para lograr una desinfección selectiva de *Legionella pneumophila*, se emplean una serie de medidas adicionales a la hipercloración y al choque térmico, ya que en la mayoría de veces luego de realizar un proceso de desinfección convencional (cloración) su

resultado es favorable ante la ausencia de la bacteria en el sistema, lo que concluiría que el procedimiento fue exitoso. Sin embargo, esta bacteria tiene la capacidad de resurgir y de que sus cepas sean colonizadas nuevamente (Salvador García, 2011).

Por tal razón, se crea la necesidad de implementar otro tipo de métodos que permitan llevar a cabo un proceso de desinfección eficaz y óptimo a la hora de repercutir sobre los efectos de esta bacteria; los cuales son clasificados en dos tipos según sea su escenario de aplicación, ya sea desinfección local o desinfección general de los sistemas de agua sanitaria caliente (Blanco Palencia, 2010).

En la Tabla 3, se encuentran algunos de los métodos de desinfección utilizados como medidas complementarias, los cuales ofrecen mayor resistencia a la erradicación por la composición química de su membrana, las diferentes instalaciones y los mecanismos de transporte intracelular, entre otros.

Tabla 3. Métodos de desinfección complementarias

DESINFECCION LOCAL	DESINFECCIÓN GENERAL
Sistema de hipercalentamiento instantáneo	Cloración continua
Luz ultravioleta	Cloración discontinua
Filtros bacterianos (salidas de grifos)	Ionización cobre/plata

Fuente. Adaptado de (Blanco Palencia, 2010).

3.7 Normas

3.7.1 Normas internacionales

A nivel internacional podemos destacar el marco normativo Europeo, el cual considera a la legionelosis o enfermedad del Legionario asociada a viajes y destinos internaciones y deja una gran inquietud el impacto que pueda generar a nivel de salud pública; por tal razón se creó en el año de 1986 el *European Working Group for Legionella Infections* EWGLI (Grupo Europeo de Trabajo para Infecciones por Legionella), el cual se encuentra conformado por

un grupo de científicos que con gran interés busca mejorar el conocimiento e información sobre aspectos clínicos y medioambientales asociados a esta enfermedad, todo esto a través de pruebas que permitan diagnosticar, manejar y tratar los efectos producidos por la enfermedad (Rodríguez Juárez, 2005).

Es así como, en 1987 surge un sistema de vigilancia el cual fue denominado como EWGLINET desde el año 2002; mediante el cual se busca la protección y bienestar de los ciudadanos por el riesgo de contraer la legionelosis como resultado de viajes dentro y fuera del país.

- **España**

La alarma social generada en España durante los últimos años, a raíz de los brotes de legionelosis que han venido afectando a cientos de personas, propicio la elaboración y publicación del Real Decreto 909/2001, el cual se vio modificado posteriormente por el Decreto 865/2003, emitido el 4 de Julio y en el cual se establecieron los criterios higiénico-sanitarios para la prevención y control de la legionelosis (Rodríguez Juárez, 2005).

De igual forma se crea la Norma UNE 100030 IN, “Guía para la prevención y control de la proliferación y diseminación de la Legionella en instalaciones”, la cual tiene por objeto proporcionar criterios para la prevención de la contaminación de instalaciones y equipos por la bacteria *Legionella pneumophila* y para el control de su multiplicación ambiental con el fin de limitar el riesgo de exposición a este agente. Este documento forma parte de la Instrucción Técnica Complementaria ITE 01 “Generalidades” del Real Decreto 1751/1998, de 31 de julio, por el que se aprueba el Reglamento de Instalaciones Térmicas en los Edificios (RITE) y sus Instrucciones Técnicas Complementarias (ITE) (Rodríguez Juárez, 2005).

Real Decreto 140/2003, de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano, y con carácter complementario se tendrá en cuenta lo establecido en la norma UNE 100030 IN “Guía para la prevención y control de la proliferación y diseminación de la Legionella en instalaciones” (Rodríguez Juárez, 2005).

Real Decreto 3099/1977, de 8 de septiembre, por el que se aprueba el Reglamento de Seguridad para Plantas e Instalaciones Frigoríficas (Rodríguez Juárez, 2005).

Real Decreto 1751/1998, de 31 de julio, por el que se aprueba el Reglamento de Instalaciones Térmicas en los Edificios (RITE) y sus Instrucciones Técnicas Complementarias, modificado por el Real Decreto 1218/2002, de 22 de noviembre (Rodríguez Juárez, 2005).

Por otra parte, en algunas Comunidades Autónomas se han establecido normativas de cumplimiento de carácter específico, dentro de las cuales podemos destacar:

- **Junta de Andalucía:** Decreto 287/2002, de 26 de noviembre, por el que se establecen medidas para el control y la vigilancia higiénico-sanitarias de instalaciones de riesgo en la transmisión de la legionelosis y se crea el Registro Oficial de Establecimientos y Servicios Biocidas en Andalucía (Rodríguez Juárez, 2005).
- **Principado de Asturias:** Decreto 90/2002, de 4 de julio, sobre medidas complementarias relativas a las instalaciones de riesgo y empresas de mantenimiento en relación con la prevención de la legionelosis (Rodríguez Juárez, 2005).
- **Cantabria:** Decreto 122/2002, de 10 de octubre, por el que se regulan los criterios higiénico-sanitarios que deben reunir los equipos de transferencia de masa de agua en corriente de aire con producción de aerosoles y aparatos de humectación para la prevención de la legionelosis (Rodríguez Juárez, 2005).
- **Cataluña:** Decreto 352/2004, de 27 de julio, por el que se establecen las condiciones higiénico-sanitarias para la prevención y control de la legionelosis (Rodríguez Juárez, 2005).
- **Galicia:** Decreto 9/2001, de 11 de enero, por el que se regulan los criterios sanitarios para la prevención de la contaminación por Legionella en las instalaciones térmicas (Rodríguez Juárez, 2005).

- **Navarra:** Decreto foral 298/2001, de 15 de octubre, por el que se dictan normas para la aplicación en Navarra del Real Decreto 909/2001, de 27 de julio, por el que se establecen los criterios higiénico-sanitarios para la prevención y control de la legionelosis (Rodríguez Juárez, 2005).
- **Valencia:** Decreto 173/2000 de 5 de diciembre, del Gobierno Valenciano, por el que se establecen las condiciones higiénico-sanitarias que deben reunir los equipos de transferencia de masa de agua en corriente de aire con producción de aerosoles para la prevención de la legionelosis; Decreto 201/2002, de 10 de diciembre, del Consell de la Generalitat, por el que se establecen medidas especiales ante la aparición de brotes comunitarios de legionelosis de origen ambiental (Rodríguez Juárez, 2005).

3.7.2 Normas nacionales

En Colombia el panorama normativo respecto a la legionelosis no es muy claro y detallado aun, ya que no existe una normatividad específica referente a las medidas higiénicas, sanitarias y de calidad del agua en donde se contemple la *Legionella pneumophila* como agente patógeno causante de la enfermedad del legionario, y por ende un control y/o límite de crecimiento bacteriano según se requiera.

Sin embargo, podemos destacar la Guía Técnica Colombiana GTC 257 (Guía para la prevención y control de la proliferación y diseminación de *Legionella* en instalaciones), la cual corresponde a una adopción modificada de la guía UNE 100030 IN: 2005. La GTC 257, tiene por objeto proporcionar diversos criterios y acciones necesarias para la prevención y el control de la multiplicación y/o proliferación de *Legionella pneumophila*, teniendo en cuenta ciertas instalaciones y equipos, evitando en su mayor medida que la enfermedad producida por el microorganismo se extienda de manera epidémica dentro de una comunidad.

Es importante aclarar, que dentro de los lineamientos establecidos en la GTC 257, no se encuentran determinados límites de crecimiento bacteriano respecto a *Legionella pneumophila*, por el contrario, la norma solo dictamina y estipula algunas medidas preventivas, dependiendo el tipo de instalación y/o sistema de agua.

Cabe mencionar, que dentro de la GTC 257, no se establecen las acciones que se deben tomar cuando se declaren casos de legionelosis, ya que estas competencias incumben estrictamente a las autoridades sanitarias y estas serán las encargadas de definir el rumbo del caso.

4 Antecedentes: Casos de Detección e Identificación de *Legionella pneumophila*

La aparición de diversos casos de Legionelosis asociados con la transmisión de *Legionella pneumophila*, debe hacer sospechar que estos tienen un origen ambiental común, ya sea por la proliferación y/o colonización del microorganismo en puntos de un sistema previamente contaminado por agentes patógenos que puedan suponer algún riesgo de infección biológica.

Esto representa una problemática de salud pública, teniendo en cuenta que sus implicaciones pueden desencadenar graves afectaciones a nivel comunitario, para lo cual es necesario tomar medidas que establezcan la importancia en detectar de forma temprana los alcances y consecuencias biológicas de esta enfermedad, mediante estudios y diagnósticos que permitan determinar acciones correctivas ante resultados positivos de presencia ausencia del microorganismo.

A continuación, se describen brevemente algunos casos de legionelosis esporádicos, ocurridos en algunas regiones del mundo.

4.1 Brote Epidémico de Neumonías por *Legionella pneumophila* en Niños Cubanos

Este caso se originó con un estudio realizado a un grupo de 13 niños mayores de 5 años procedentes de La Habana, Cuba. Estos niños tenían un antecedente en común, haberse bañado en la misma piscina durante el periodo comprendido entre el 29 de abril y el 6 de mayo de 1996. El brote epidémico al parecer se originó por aspiración de agua de la piscina, la cual estaba contaminada (Razón Behar et al., 2002).

Inicialmente, se les tomo muestra de suero y orina a todos los pacientes en búsqueda de antígenos para *Haemophilus influenzae* tipo B y *Streptococcus pneumoniae* mediante la utilización del kit comercial Directigen (Becton Dickinson). De igual forma, se realizaron pruebas de aglutinación en frío para la detección de *Mycoplasma pneumoniae* en suero y la prueba de hemaglutinación pasiva para la detección de anticuerpos I_gM para *Leptospira*; todo esto con el fin de descartar cualquier otra patología (Razón Behar et al., 2002).

El diagnóstico inicial mostró que 9 de los 13 niños estaban posiblemente contagiados por *Legionella pneumophila*, por lo cual a estos pacientes se les garantizo atención hospitalaria y seguimiento constante desde el punto de vista microbiológico (Razón Behar et al., 2002).

Algunos de los síntomas presentados por los pacientes fueron: tos seca de inicio y después húmeda, dolor torácico, malestar general, hipertermia de 39° a 40°C, anorexia, astenia, mialgias, vómitos, diarreas, dolor abdominal y cefaleas. El periodo de incubación transcurrió de 3 a 7 días, pero la estadía hospitalaria fue de 6 a 13 días (Razón Behar et al., 2002).

Durante la etapa de seguimiento se encontró que 5 de los 9 pacientes, cumplieron con los criterios requeridos para demostrar positividad ante la presencia de *Legionella*, luego de esto se les realizo de forma inmediata un estudio clínico, humoral y radiográfico, con el fin de que estos revelaran resultados de mayor confiabilidad. Dentro de los 5 pacientes positivos 2 padecían de asma bronquial, lo que de alguna manera los hacia susceptibles ante cualquier patología de tipo respiratorio (Razón Behar et al., 2002).

Por otro lado, se realizaron visitas a las instalaciones de la piscina para poder inspeccionar las condiciones higiénicas y epidemiológicas, con el fin de verificar si dichas condiciones fueron determinantes en el contagio de la enfermedad (Razón Behar et al., 2002).

Luego de la inspección se comprobó que las instalaciones no eran las adecuadas ya que carecían de sistemas de circulación del agua y procesos de cloración y/o desinfección, lo que permitió establecer que estas condiciones facilitaron la contaminación del agua y por ende la adquisición mediante microaspiración de la misma (Razón Behar et al., 2002).

El tratamiento a esta enfermedad, inició con el suministro de forma empírica de antibióticos como eritromicina y claritromicina en 4 pacientes, en primera instancia por vía endovenosa y luego vía oral; en el quinto paciente se utilizó penicilina y cloranfenicol. La evolución de todos los pacientes fue satisfactoria (Razón Behar et al., 2002).

4.2 Brote de Legionelosis en un Restaurante de Madrid, España

El 27 de junio de 2012 se notificó ante el Servicio de Salud Pública del Área 8 de la Comunidad de Madrid, un brote de legionelosis en 7 posibles casos, los cuales fueron considerados como positivos mientras se realizaban las respectivas pruebas de diagnóstico final (Abad Sanz et al., 2014).

Los pacientes asociados al brote fueron todas aquellas personas que presentaron síntomas clínicos de legionelosis y que dentro del periodo de incubación de la enfermedad el cual fue de 2 a 14 días, hubiesen visitado el restaurante situado en Móstoles, detectado como posible fuente común de los casos presentados (Abad Sanz et al., 2014).

Como parte del proceso de investigación, se realizaron una serie de encuestas epidemiológicas y ambientales, se inspeccionó el restaurante y se clausuraron algunos de los elementos considerados como riesgosos por contagio de *Legionella pneumophila*. Igualmente, se estudiaron las variables demográficas de los pacientes, antecedentes patológicos, síntomas, evolución clínica y pruebas diagnósticas al agua del restaurante. Finalmente, se encontraron 46 casos de legionelosis, 42 con neumonía por *Legionella pneumophila* y 4 con Fiebre de Pontiac (Abad Sanz et al., 2014).

Los puntos seleccionados en el restaurante para realizar el muestreo fueron: dos fuentes ornamentales exteriores de lámina de agua a la entrada del recinto, donde circulaba agua procedente del sistema de depuración, una fuente interior en uno de los comedores con dos bombas impulsoras que movían el agua de la balsa, un sistema de refrigeración

evaporativa instalado con tres ventiladores que pulverizaban agua alta presión con el fin de bajar la temperatura ambiental, un sistema de agua caliente sanitaria con acumulador y retorno que tenía como función mantener la temperatura del depósito (Abad Sanz et al., 2014).

La identificación de *Legionella pneumophila* se realizó mediante PCR, la cual fue hecha por el Centro Superior de Investigación en Salud Pública de la Generalitat Valenciana. Los pacientes afectados se encontraban en un rango de edad de los 35 y 87 años (Abad Sanz et al., 2014).

Igualmente, se obtuvieron resultados positivos del microorganismo en el cultivo del agua tomado del filtro de arena de la depuradora de la fuente ornamental, la cual se encontraba localizada en las afueras del restaurante, con una concentración entre 100 y 1000 UFC/L; además producto de 4 muestreos realizados en las biopelículas de la champanera, se detectó la presencia de *Legionella pneumophila*, analizadas previamente mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) (Abad Sanz et al., 2014).

Es importante mencionar que los Sistemas de Vigilancia Epidemiológica y Ambiental, permitieron detectar de forma temprana este brote, lo cual garantizó que la inspección y clausura de las instalaciones de riesgo se realizara oportunamente; asimismo una vez terminado el periodo máximo de incubación de la enfermedad, no aparecieron nuevos casos de legionelosis asociados al restaurante (Abad Sanz et al., 2014).

4.3 Detección de Infección Aguda por *Legionella pneumophila* en Pacientes con Neumonía Adquirida en Buenos Aires

En la ciudad de Buenos Aires, Argentina se realizó un estudio de detección epidemiológica en 2 instituciones clínicas y un centro ambulatorio especializado en realizar estudios y tratamientos de enfermedades infecciosas (Lopardo et al., 2002).

Este estudio consistió en realizar un seguimiento exhaustivo a los pacientes mayores de 18 años diagnosticados con Neumonía Adquirida en la Comunidad (NAC), durante el periodo comprendido entre septiembre de 1992 y mayo de 1995. La edad media de los pacientes era de 56 años (Lopardo et al., 2002).

Los pacientes seleccionados para desarrollar el estudio, manifestaron que en días pasados se habían hospedado en hoteles, afirmando que el sistema de refrigeración de estas instalaciones se encontraba funcionando con total normalidad; sin embargo, fueron desalojados repentinamente del hotel sin explicación alguna. Días después, la aparición de algunos síntomas como tos, fiebre y quebrantamiento del estado general, mostraron señales de alarma ante el posible contagio de un virus (Lopardo et al., 2002).

Para poder emitir un diagnóstico pertinente, se tomaron muestras de sangre a todos los pacientes, con el fin de realizar estudios serológicos durante la segunda y cuarta semana, las cuales fueron consideradas como etapa aguda y etapa convaleciente, respectivamente dentro del estudio (Lopardo et al., 2002).

La determinación de anticuerpos en los pacientes seleccionados, se realizó mediante la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), la cual fue aplicada en 117 pacientes, de los cuales 92 fueron evaluables mediante diagnóstico serológico de infección aguda por *Legionella pneumophila*. Los pacientes restantes fueron considerados no evaluables por deficiencia de suero en la toma de muestra (Lopardo et al., 2002).

Los resultados del estudio mostraron que 3 casos de NAC fueron asociados a diagnóstico serológico, revelando infección aguda por *Legionella pneumophila*. De igual manera, se informó la existencia de falsos resultados positivos, como resultado de reacciones cruzadas con anticuerpos para otros bacilos gran negativos (Lopardo et al., 2002).

Los tratamientos se manejaron de diferentes formas, unos fueron internados clínicamente (48 pacientes), otros se trataron ambulatoriamente (39 pacientes) y los demás fueron internados en unidad de cuidados intensivos (5 pacientes), todos ellos determinados a partir de los criterios emitidos por el médico tratante. El esquema de antibióticos suministrado fue de betalactámicos para 34 pacientes, macrólidos para 27 pacientes, combinación de betalactámicos con macrólidos en 24 pacientes, y otros antibióticos en 7 pacientes (Lopardo et al., 2002).

4.4 Presencia de *Legionella pneumophila* en Condensadores Evaporativos

En el año 2006 fue realizado un estudio que tenía como objetivo principal evaluar la presencia de *Legionella pneumophila*, al igual que determinar las características físicas y químicas más relevantes del agua utilizada en el funcionamiento de condensadores (Castillo Villar, 2012).

Durante el desarrollo del estudio se muestrearon y caracterizaron 10 instalaciones de condensadores que prestaban servicios de frío industrial a empresas pertenecientes al sector agroalimentario, localizadas en la región de Murcia, España. El proceso de muestreo tuvo una duración de 5 meses (Castillo Villar, 2012).

Los muestreos fueron realizados con una frecuencia de 1 análisis cada 15 o 20 días, todo esto en función de las actividades de limpieza y mantenimiento programados para cada condensador, asimismo de los resultados analíticos realizados a cada muestra (Castillo Villar, 2012).

En los muestreos de tipo microbiológico, la mitad de las instalaciones muestreadas nunca presentaron conteos significativos de microorganismos totales a lo largo de todo el estudio, a pesar de que el 61% de los análisis realizados superaron el nivel máximo sugerido, el cual correspondía a 104 UFC/ml (Castillo Villar, 2012).

Como parte de las actividades rutinarias en el mantenimiento de los condensadores, se llevaron a cabo limpiezas a cada uno de los equipos; sin embargo, estas no favorecieron la eliminación de microorganismos, ya que los recuentos obtenidos mostraron un aumento significativo después de las actividades de limpieza y desinfección (Castillo Villar, 2012).

Los resultados mostraron la detección positiva de algunas colonias de *Legionella pneumophila* en algunas de las instalaciones, estas fueron asociadas a la presencia de amebas o de otros protozoos en el sistema, ya que estos contribuyen en el crecimiento del microorganismo. La detección de la bacteria se realizó mediante la técnica de cultivo en placas con medios selectivos GVPC (Castillo Villar, 2012).

Por otro lado, las características físicas y químicas del agua sobrepasaron los niveles recomendados, lo que demuestra que el agua utilizada en los condensadores evaporativos es de calidad baja, representando un alto riesgo de colonización de *Legionella pneumophila* en las instalaciones de los equipos (Castillo Villar, 2012).

4.5 Estudio de la Presencia de Legionella en Hospitales de la Ciudad de Barcelona

En el año 2010 se realizó un estudio con el objetivo de determinar la presencia y concentración de *Legionella pneumophila* en 5 hospitales de tercer nivel de atención, localizados en la provincia de Barcelona, España (Bonet Ivars, 2011).

Los puntos seleccionados para realizar los muestreos fueron: circuito de retorno, aljibes de agua fría y red de abastecimiento general, de igual forma los volúmenes de muestra tomados en cada hospital fue de 1 litro de agua como mínimo; recogiendo en total 368 muestras de agua correspondientes a 28 periodos de muestreo (Bonet Ivars, 2011).

El proceso de siembra de las muestras se llevó a cabo mediante filtración utilizando filtros de polietileno y una bomba de vacío; de cada muestra se sembraron 4 placas de agar GVPC (Bonet Ivars, 2011).

La caracterización de *Legionella pneumophila* se realizó inicialmente con observación de autofluorescencia, luego se identificó al microorganismo mediante el test de aglutinación en látex (OXOID), posteriormente se caracterizaron las demás especies de *Legionella pneumophila* mediante la secuenciación del gen *macrophage infectivity potentiator* (mip) y luego se obtuvo el porcentaje de similitud con las otras especies de Legionella (Bonet Ivars, 2011).

Los resultados del estudio mostraron que la variabilidad de presencia por parte de microorganismo es alta, teniendo en cuenta el número total de muestras tomadas en cada hospital. El porcentaje de muestras con resultados positivos oscila entre el 5% y el 75% de probabilidad. Los porcentajes de detección más elevados fueron los encontrados en el hospital N°1, coincidiendo con que allí el tamaño muestral fue mayor en comparación con los demás hospitales (Bonet Ivars, 2011).

Es importante mencionar que, durante el desarrollo de dicho estudio los inóculos de *Legionella pneumophila* mostraron gran variabilidad de concentración entre los diferentes puntos de muestreo seleccionados para la investigación. Dicha variabilidad observada, indica que las concentraciones reflejadas en cada uno de los puntos de muestreo no representan un nivel de confiabilidad óptimo, impidiendo que las conclusiones arrojadas por

el estudio determinen en su totalidad la presencia y/o ausencia del microorganismo (Bonet Ivars, 2011).

4.6 Caso de Legionella pneumophila detectado en Bogotá en el año 2015

En el año 2015 en la ciudad de Bogotá, se detectó un caso de contagio de *Legionella pneumophila* en un paciente masculino mayor de 50 años, el cual ingresó al servicio de urgencias por presentar síntomas como odinofagia, dolor en tórax anterior, tos seca sin esputo, disnea de moderados esfuerzos y escalofrío general, entre otros. Sin embargo, al no presentar fiebres altas, dificultad respiratoria, elevada frecuencia cardiaca y respiratoria, se consideró que el paciente mostraba estabilidad de signos vitales (Arias Guzmán, 2016).

El paciente afectado negó haber presentado síntomas gripales en días pasados, pero manifestó ser procedente de la ciudad de New York, Estados Unidos, lugar de residencia de la madre (Arias Guzmán, 2016).

Durante la etapa de tratamiento, al paciente se le inicio el cubrimiento antibiótico de amplio espectro, ya que dadas las características radiológicas presentadas fue necesario realizar un tamizaje, con el fin de detectar los agentes productores de la neumonía atípica. Los resultados arrojados por el tamizaje fueron positivos tanto para las muestras serológicas como para las muestras de Influenza B, lo que llevo a ampliar el historial clínico del paciente y que luego de una investigación preliminar se encontró que la madre había padecido un cuadro clínico de neumonía atípico, 6 meses antes de lo ocurrido con su hijo (Arias Guzmán, 2016).

El antibiótico suministrado fue Moxifloxacino por vía endovenosa, siendo complementado con varias sesiones de terapia switch oral. El paciente presento avances significativos en su recuperación luego de 48 horas de haber iniciado los tratamientos, por lo cual el cuerpo médico decidió que el tiempo restante del tratamiento se llevara a cabo de manera ambulatoria, siempre y cuando el control y monitoreo de los síntomas fuera permanente (Arias Guzmán, 2016).

4.7 Brote de Legionelosis en Murcia, España

En la ciudad de Murcia, España durante los días 7 y 8 de Julio del año 2001, se presentó un colapso de los servicios de urgencias en dos instituciones de salud, Hospital Morales Meseguer y Virgen de la Arrixaca, debido a la gran afluencia de pacientes enfermos con neumonía, siendo esta una señal de alerta notificada ante la Consejería de Sanidad y Consumo. Algunas de las primeras medidas sanitarias tomadas ante la situación, fueron la coordinación asistencial, investigación del brote, vinculación de profesionales expertos y coordinación de actuaciones medioambientales oportunas (Molina et al., 2002).

Durante la etapa de diagnóstico, se determinó que la zona de la ciudad donde se dio el brote con mayor intensidad y número de personas afectadas hace referencia a una estructura del centro urbano cuyas edificaciones en su mayoría son de baja altura, aunque también existen edificaciones de gran altura, pero en menor proporción. Esta zona pertenece a un sector de viviendas, donde su principal actividad económica corresponde a la prestación de servicios (Molina et al., 2002).

El mecanismo de transmisión de la enfermedad se realizó desde el ambiente hasta cada una de las personas involucradas en el brote, mediante la inhalación de microorganismos aerosolizados en el aire atmosférico, provenientes de fuentes emisoras ambientales; sin embargo, la aspiración también fue considerado un mecanismo de transmisión de *Legionella pneumophila* (Molina et al., 2002).

Ante el inesperado brote de legionelosis, se supuso que las principales fuentes emisoras de aerosoles fueron: torres de refrigeración, condensadores evaporativos, fuentes ornamentales, obras con movimiento de tierra, es decir, que la emisión masiva de agentes patógenos se dio hacia la atmosfera y no hacia el interior de las edificaciones (Molina et al., 2002).

El Instituto Nacional de Meteorología, estableció que, las temperaturas elevadas junto a la humedad relativa provocan una sensación de sofoco entre la población, es decir que, posiblemente una elevación de ambas provocó la operación y funcionamiento de torres de refrigeración y/o similares, que probablemente se encontraban fuera de uso o sin reportes de mantenimiento preventivo actualizados. Por otra parte, fenómenos de inversión térmica pudieron llegar a favorecer la persistencia de agentes patógenos en las capas bajas de la atmósfera (Molina et al., 2002).

Igualmente, se consideró necesario que la Compañía de suministro eléctrico emitiera un reporte de las posibles interrupciones del servicio efectuadas en el municipio de Murcia, durante el tiempo de transmisión de la enfermedad; con esto se buscaban averías de duración superior a tres horas que pudieran justificar un desarrollo masivo de la *Legionella pneumophila* en alguna instalación. Ante esto, el reporte indico que no hubo cortes de energía (Molina et al., 2002).

Durante el brote de legionelosis, se tomaron muestras puntuales en diferentes puntos tales como: depósitos de abastecimiento en grifo o en el propio deposito cuando no existe grifo, fuentes ornamentales, torres de refrigeración, sistemas de abastecimiento abiertos y cerrados, entre otras. A todas las muestras se les realizo un duplicado, fueron conservadas entre 2°C y 6°C aproximadamente, en condiciones de oscuridad, mientras eran transportadas al Laboratorio Regional de Salud Pública, para su respectivo procesamiento y análisis de muestras (Molina et al., 2002).

Algunas de las técnicas utilizadas para llevar a cabo el análisis de muestras, fueron: Cultivo microbiológico, Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), Serotipado por Inmunofluorescencia, Polimorfismos de la Longitud de los Fragmentos Amplificados (AFLP) y PCR con oligonucleótidos arbitrarios (Molina et al., 2002).

En termino generales, las instalaciones con mayor porcentaje de positividad fueron: torres de refrigeración (38.98%), agua caliente sanitaria (24.81%), contrastando con condensadores evaporativos (0%). El porcentaje nulo correspondiente a condensadores, es producto del bajo número de condensadores muestreados (Molina et al., 2002) .

Es importante mencionar que la ciudad adopto medidas de desinfección con el fin de erradicar de manera pertinente el brote de legionelosis, la primera desinfección no erradicó la contaminación en su totalidad, ya que un 31.25% de las instalaciones permanecían contaminadas. Luego de la segunda desinfección se mantenía aún la contaminación en un 20%, no realizándose más intervenciones de comprobación en algunas de ellas por clausura de las instalaciones debido al cambio de climatología (Molina et al., 2002).

5 Metodología

Los tres puntos de muestreo de agua potable seleccionados para realizar la evaluación de la presencia y/o ausencia de *Legionella pneumophila*, fueron escogidos por los siguientes factores:

- Mayor probabilidad de exposición a infecciones y/o enfermedades respiratorias, teniendo en cuenta la literatura revisada previamente.
- Facilidad de acceso para la toma de muestras, evitando incomodar en el funcionamiento habitual de la institución.

5.1 Muestreo

Se realizaron en total 30 muestreos puntuales, 10 para cada uno de los 3 puntos definidos en la institución hospitalaria, los cuales fueron: urgencias, terapias respiratorias y duchas. Las muestras fueron tomadas durante los días 19 de octubre, 14 de noviembre, 22 de noviembre del año 2018 y 26 de febrero del año 2019.

Para la toma de muestras de agua se dispuso de botellas de vidrio de 250 mL previamente esterilizadas. La muestra de agua fue tomada del grifo para el caso del punto de muestreo de urgencias y terapias respiratorias, y de las duchas de baño utilizadas por los pacientes para el caso del punto de muestreo restante. Se realizó la medición de parámetros *in situ*: temperatura, pH, oxígeno disuelto y cloro residual mediante el uso del multiparámetro marca HACH y el kit de cloro *Test 5-15 Visocolor Eco Chlor 2*.

En la Figura 4, Figura 5 y Figura 6 respectivamente, se observa el momento en el que fueron tomadas las muestras de los puntos seleccionados.



Figura 4. Punto de ducha de pacientes



Figura 5. Punto de terapia respiratoria



Figura 6. Punto de lavado en el servicio de urgencias

Las muestras tomadas fueron debidamente etiquetadas y refrigeradas con hielo en una nevera de icopor durante su transporte al laboratorio de Microbiología de la Escuela Colombiana de Ingeniería. El proceso de análisis en el laboratorio se realizó en un período menor a 12 horas luego de haber sido recolectadas las muestras.

Los análisis de laboratorio se realizaron cada 8 días durante tres semanas, es decir, que cada semana se realizaban 10 tomas de muestra, con el fin de que, al culminar los muestreos se tuviesen un total de 30 muestras, donde cada punto de muestreo tenía 10 muestras, respectivamente.

5.1.1 Materiales y equipos

<p>Botella para toma de muestras</p>	<p>Kit de medición <i>in situ</i> de Cloro</p>
	
<p>Multiparámetro HACH</p>	<p>Nevera de icopor</p>
	
<p>Sellador para Quanti-Tray Sealer PLUS</p>	<p>Incubadora</p>

	
<p>Bandeja de incubación Quanti-tray</p>	<p>Reactivo Legiolert</p>
	

Igualmente, el montaje experimental utilizado para llevar a cabo el procedimiento fue conformado por otros materiales como: recipientes transparentes y estériles de 100 ml para dispensar las muestras, pretratamiento Legiolert, cronómetro, tubos de ensayo estériles, diluyente estéril (agua destilada), molde de goma y rotulador permanente (Ver Figura 7).



Figura 7. Montaje experimental

5.2 Método de Análisis

5.2.1 Técnica de sustrato definido.

La técnica de Sustrato Definido se basa en la tecnología de detección enzimática de bacterias, la cual indica la presencia del microorganismo en la muestra, mediante el uso de un sustrato presente en un reactivo, para este caso el reactivo Legiolert. El fundamento de este método, se basa en que las células del microorganismo, *Legionella pneumophila*, crecen de forma rápida y su reproducción se ve beneficiada gracias al abundante aporte de aminoácidos, vitaminas y otros nutrientes proporcionados todos por el reactivo Legiolert, para este caso en particular. Las cepas de *Legionella pneumophila* en crecimiento activo utilizan el sustrato añadido para producir un indicador de color marrón (“Legiolert, para la detección de *Legionella pneumophila*,” 2018).

La prueba Legiolert puede ser utilizada en dos tipos de agua, potable y no potable. Para ello se ha diseñado un protocolo específico, aprobado por la AFNOR (Association française de Normalisation), para cada tipo de muestra, el cual tiene como fin que el reactivo Legiolert funcione de manera óptima e inequívoca en cada tipo de agua (“Legiolert, para la detección de *Legionella pneumophila*,” 2018).

Para muestras de agua no potable se requiere de un tratamiento previo Legiolert, el cual tiene como objetivo impedir que microorganismos diferentes a *Legionella pneumophila*

interfieran con el resultado de la prueba, ya que es posible que estas muestras de agua contengan concentraciones elevadas de otras bacterias (“Legiolert, para la detección de *Legionella pneumophila*,” 2018).

Cabe aclarar que si se analiza una muestra de agua no potable con el protocolo para agua potable se pueden obtener resultados positivos falsos, debido a la presencia de otras bacterias diferentes a *Legionella pneumophila*. Igualmente, analizar una muestra de agua potable con el protocolo para agua no potable puede reducir la detección del NMP de *Legionella pneumophila*, ya que el volumen de muestra analizado es menor y el tratamiento previo realizado a la muestra resultaría innecesario (“Legiolert, para la detección de *Legionella pneumophila*,” 2018).

Para este caso en particular, se implementó el protocolo para muestras de agua no potable, teniendo en cuenta que en el protocolo Legiolert se le denomina agua no potable a aquella agua que proviene de grifos, duchas, o sistemas de agua que previamente han pasado por procesos previos de calentamiento y/o enfriamiento, y que a pesar de que esta agua sea potable no se utiliza directamente para consumo humano. En pocas palabras, mencionar agua no potable a las muestras de agua tomadas para esta investigación, corresponde simplemente a una condición para aplicación del protocolo Legiolert.

5.2.2 Procedimiento para muestras de agua potable

1). Añada el contenido del reactivo Legiolert al recipiente que contenga la muestra de agua potable de 100 ml. Agite suavemente hasta que el contenido se disuelva totalmente. La muestra puede presentar condiciones de turbiedad.



2). Luego de disolver el reactivo Legiolert, vierta el contenido del recipiente que contiene la mezcla en la bandeja Quanti-Tray, evitando el contacto de la mano con el interior de la bandeja. Golpéela suavemente para eliminar cualquier burbuja de aire.



3). Coloque la bandeja Quanti-Tray sobre el molde de goma, y ubíquelo sobre la ranura del sellador. Empuje suavemente mientras la bandeja ingresa al sellador.



4). El sellador distribuye la mezcla de la muestra en los pocillos Legiolert Quanti-Tray, los sella y expulsa la bandeja sellada de forma parcial. Extraiga del sellador el molde de goma junto con la bandeja.



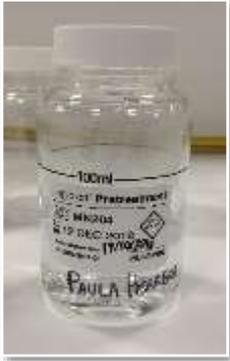
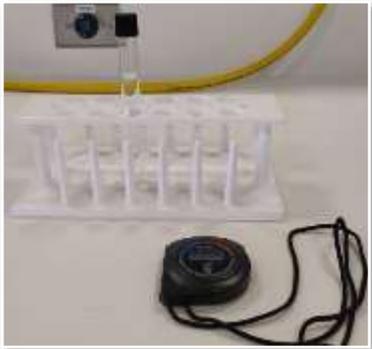
5). Incube la bandeja sellada durante 7 días a $39^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$, garantizando que la posición de los pocillos sea hacia arriba. Para evitar que las bandejas se sequen se deben garantizar condiciones de humedad dentro de la incubadora. Las bandejas pueden ser apiladas unas sobre otras, siempre y cuando se alterne la dirección de los pocillos. Apile máximo 10 bandejas.



6). Trascurrido el período de incubación, se deben leer los resultados, utilizando la tabla del NMP. Todos los pocillos (divisiones plásticas) marrones o turbios son positivos para *Legionella pneumophila*.



5.2.3 Procedimiento para muestras de agua no potable

<p>1) Reconstituir el pretratamiento Legiolert, añadiendo 100 ml de agua destilada al recipiente que contiene el pretratamiento en estado deshidratado, el cual hace parte del kit de detección de <i>Legionella pneumophila</i>.</p>	
<p>2) Añadir 100 ml de agua destilada en el recipiente transparente y estéril, luego vierta el contenido de 1 reactivo Legiolert en él, cierre el frasco y agite suavemente hasta que el contenido se disuelva.</p>	
<p>3) Adicionar 0,2 ml del pretratamiento Legiolert reconstituido a un tubo estéril; igualmente añada 0,2 ml de la muestra de agua no potable en el mismo tubo estéril, agite durante 1 minuto hasta mezclar completamente.</p>	

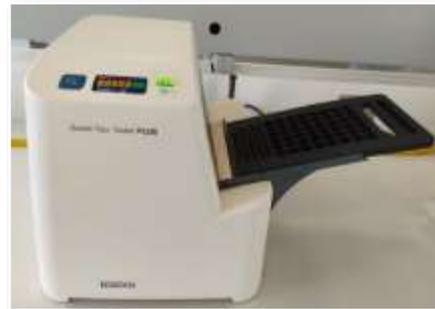
4) Luego del minuto de mezcla, transfiera inmediatamente 0,2 ml del tubo de la muestra tratada al recipiente que contiene el reactivo Legiolert disuelto, cierre y agite para mezclar la muestra con el reactivo.



5) Vierta el contenido del recipiente que contiene la mezcla del reactivo con la muestra de agua en la bandeja Quanti-Tray, evitando el contacto de la mano con el interior de la bandeja. Golpear suave para evitar burbujas.



6) Coloque la bandeja Quanti-Tray sobre el molde de goma, luego ubique el molde de goma con su respectiva bandeja sobre la ranura del sellador, esta se deslizará suavemente mientras va ingresando al equipo.



7) La expulsión del molde de goma se realiza automáticamente por parte del sellador, solo es necesario recibirla en la ranura de salida.



8) Las bandejas deben ser ubicadas en la incubadora durante 7 días, de modo que la posición de los pocillos sea hacia arriba. Para evitar que las bandejas se sequen se deben garantizar condiciones de humedad dentro de la incubadora. Se pueden apilar hasta 10 bandejas máximo. Las condiciones de temperatura de la incubadora deberán ser de $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.



9) Trascurrido el período de incubación, se deben leer los resultados, utilizando la tabla del NMP. Todos los pocillos (divisiones plásticas) marrones o turbios son positivos para *Legionella pneumophila*.



6 Resultados

A continuación, se presentan los resultados obtenidos a partir de cada una de las experiencias realizadas durante la investigación, específicamente se estudió la relación de los parámetros físico-químicos (conductividad, pH, oxígeno disuelto, temperatura y cloro residual) con la presencia y cuantificación de *Legionella pneumophila* en tres puntos diferentes de una institución hospitalaria.

Los ensayos realizados en este trabajo de grado no tuvieron replicas, debido a que la accesibilidad a la institución hospitalaria fue limitada, teniendo en cuenta que estas manejan políticas de privacidad y seguridad en cuanto al acceso de personal ajeno.

6.1 Resultados de parámetros físico-químicos en cada punto de muestreo

En la Tabla 4, se muestran los resultados de la medición de conductividad realizada en tres puntos de muestreo durante tres fechas diferentes.

Tabla 4. Resultados medición in situ de Conductividad

Conductividad ($\mu\text{s}/\text{cm}$)			
Fecha de muestreo	Urgencias	Terapia respiratoria	Duchas
19/10/2018	441	422	450
14/11/2018	115.1	114.8	112.7
22/11/2018	122.3	139.3	133.4

Fuente. Elaboración propia

En la Tabla 5, se muestran los resultados de la medición de oxígeno disuelto realizado en tres puntos de muestreo durante tres fechas diferentes.

Tabla 5. Resultados medición in situ de Oxígeno disuelto

Oxígeno Disuelto (mg/L)			
Fecha de muestreo	Urgencias	Terapia respiratoria	Duchas
19/10/2018	7.01	7.03	7.12
14/11/2018	7.2	7.21	7.25
22/11/2018	7.09	7.2	7.06

Fuente. Elaboración propia

En la Tabla 6, se muestran los resultados de la medición de pH realizado en tres puntos de muestreo durante tres fechas diferentes.

Tabla 6. Resultados medición in situ de pH

pH			
Fecha de muestreo	Urgencias	Terapia respiratoria	Duchas
19/10/2018	7.02	7.02	7.04
14/11/2018	7.02	7.17	7.4
22/11/2018	7.5	6.93	7.29

Fuente. Elaboración propia

La medición de cloro residual se realizó en cada punto de muestreo inmediatamente se tomaba la muestra en el recipiente de conservación, esto con el fin de que las características propias del punto no se vieran modificadas por agentes ambientales externos. Los resultados obtenidos de la medición se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7. Resultados medición de cloro libre, cloro total y cloro combinado

Fecha	Punto de muestreo	Cloro libre (mg/L)	Cloro total (mg/L)	Cloro combinado (mg/L)
19/10/2018	Urgencias	0.6	0.9	0.3
	Duchas	0.4	0.8	0.4
	Terapia respiratoria	0.5	0.7	0.2
14/11/2018	Urgencias	0.4	0.8	0.4
	Duchas	0.7	1.1	0.4
	Terapia respiratoria	0.6	1	0.4
22/11/2018	Urgencias	0.7	1.1	0.4
	Duchas	0.6	0.9	0.3
	Terapia respiratoria	0.4	0.7	0.3

Fuente. Elaboración propia

El proceso de detección de *Legionella pneumophila*, consistió en establecer a partir de la presencia/ausencia de color marrón o turbidez de cualquier intensidad observada en las bandejas de incubación (pocillos pequeños y pocillos grandes) para cada punto de muestreo, respectivamente.

Los resultados se expresan en Número más Probable por unidad de volumen, el cual se define como la densidad más probable de producir un resultado particular, en este caso el volumen fue de 100 ml, por tanto, los resultados serán expresados como NMP/100 ml.

6.2 Análisis de parámetros físico-químicos en cada punto de muestreo

6.2.1 Conductividad.

En la Figura 8, se observan los resultados de conductividad obtenidos en cada uno de los tres puntos de muestreo.

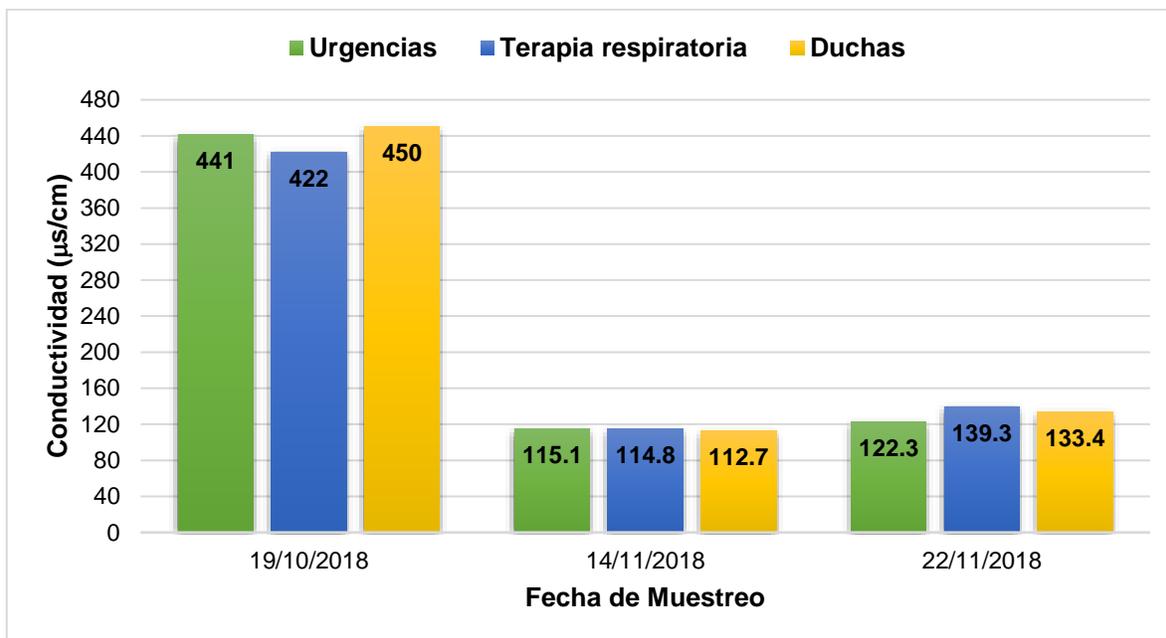


Figura 8. Comportamiento de la conductividad en puntos de muestreo

Los resultados de conductividad obtenidos presentan un comportamiento heterogéneo, ya que los valores presentados en los tres puntos de muestreo no son similares entre sí. Durante el primer muestreo se obtuvieron valores de conductividad entre 440 $\mu\text{S/cm}$ y 450 $\mu\text{S/cm}$, a diferencia del segundo y tercer muestreo donde sus valores de conductividad se encuentran dentro de un intervalo de 115 $\mu\text{S/cm}$ y 140 $\mu\text{S/cm}$.

Los valores de conductividad expresan la habilidad que tiene el agua para transportar corriente eléctrica, además mantiene una relación directa con los niveles de temperatura y la concentración de sólidos disueltos en el agua. Dicho esto, es posible afirmar que las variaciones de conductividad en los puntos de muestreo se atribuyen a que la concentración de sólidos disueltos es mayor en las muestras de agua pertenecientes al primer muestreo; teniendo en cuenta que estos sólidos se ionizan y producen el aumento de conductividad eléctrica en el agua.

6.2.2 pH.

En la Figura 9, se observan los resultados de pH obtenidos en cada punto de muestreo.

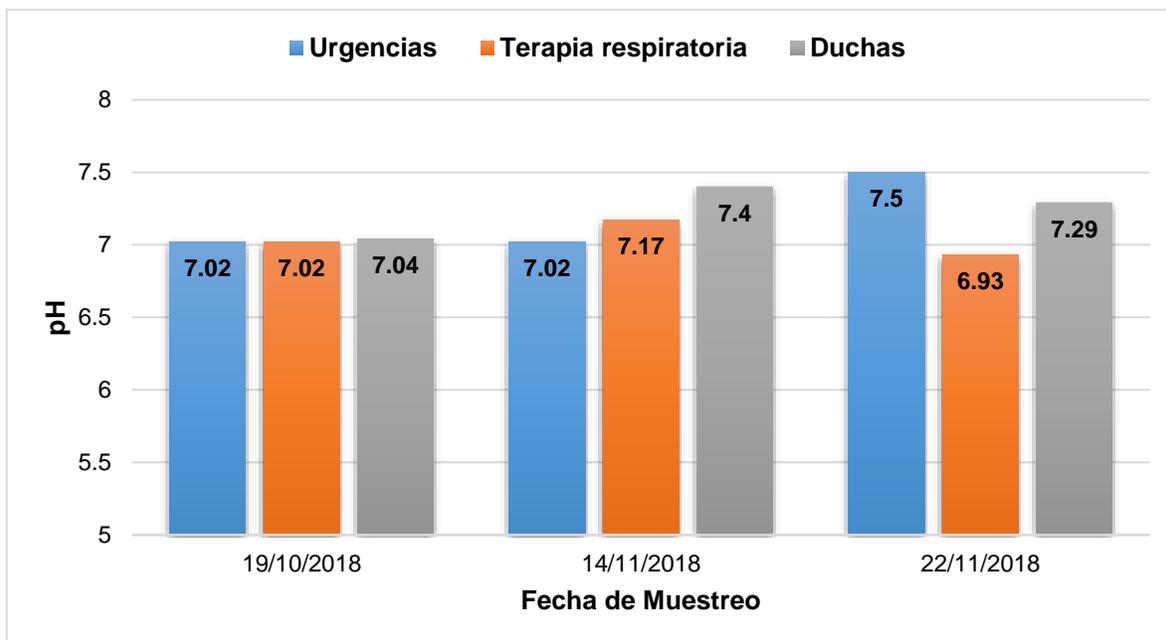


Figura 9. Comportamiento del pH en puntos de muestreo

El crecimiento y supervivencia de *Legionella pneumophila* se ve favorecido en ambientes donde su pH tiene un rango entre 5 y 8,5, sin embargo, condiciones de adaptabilidad propias del microorganismo le confiere la capacidad incluso de sobrevivir en un rango de pH de 2 y 9,5, considerados valores extremos para su supervivencia.

Los valores de pH obtenidos presentan variaciones poco significativas, teniendo en cuenta una desviación estándar de 0,2, favoreciendo que la supervivencia del microorganismo se mantenga, ya que los cambios bruscos en el pH provocan la muerte de los mismos. El valor promedio de pH medido en los puntos de muestreo corresponde a 7,2, lo cual permite determinar que el crecimiento de *Legionella pneumophila* en los tres puntos de muestreo presenta condiciones de favorabilidad.

6.2.3 Oxígeno disuelto.

En la Figura 10, se observan las concentraciones de oxígeno disuelto presente en los puntos de muestreo.

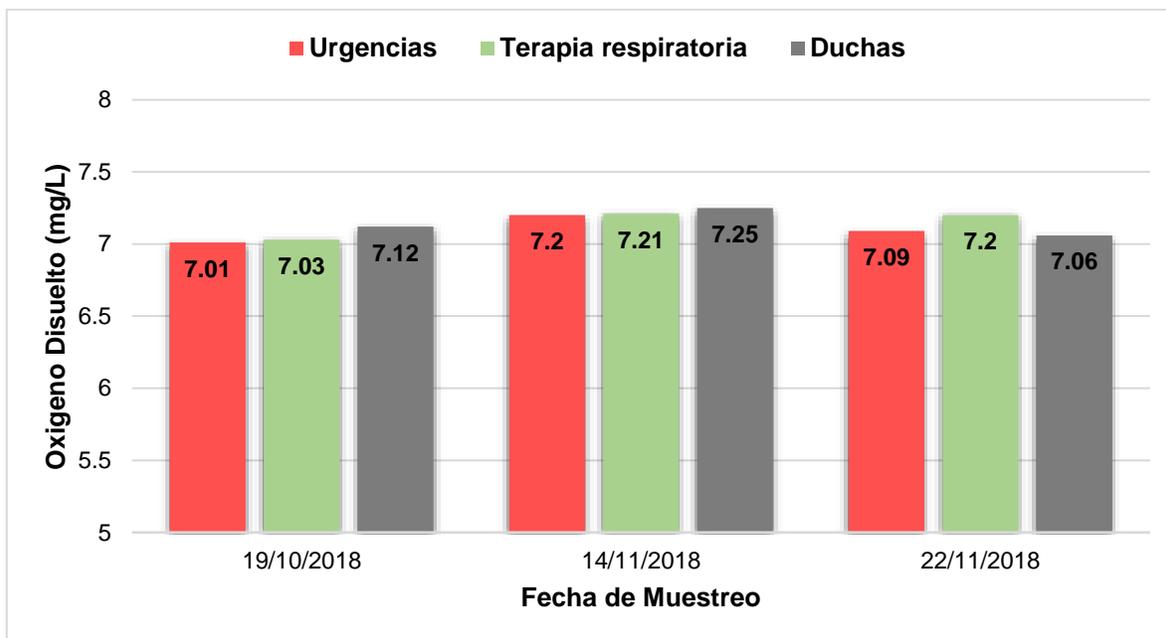


Figura 10. Comportamiento del oxígeno disuelto en puntos de muestreo

La presencia de oxígeno en el desarrollo y crecimiento de *Legionella pneumophila* juega un papel importante, ya que la concentración de oxígeno ideal para este proceso debe encontrarse dentro de un intervalo de 0,2 y 15 mg/L; de lo contrario puede ocurrir que sea vea inhibido el crecimiento de la bacteria.

Las concentraciones de oxígeno disuelto presentan valores muy similares todos dentro de un rango de 7 mg/L y 7,3 mg/L, con una desviación estándar de 0,1mg/L y un promedio de 7,1 mg/L.

Cabe destacar que los valores de oxígeno disuelto medidos en los tres de puntos de muestreo, presentan un valor medio dentro del rango favorable, lo cual se le atribuye a la relación existente con la temperatura del agua, ya que a menor grado de temperatura las concentraciones de oxígeno disuelto en el agua aumentarían considerablemente.

6.2.4 Temperatura.

Los valores de temperatura obtenidos durante los diferentes muestreos no presentan fluctuaciones considerables, ya que los resultados se encuentran dentro del rango de 17°C

y 22°C, obteniéndose un valor promedio de 20,4°C con una desviación estándar de 1,1°C, tal como se observa en la Figura 11.

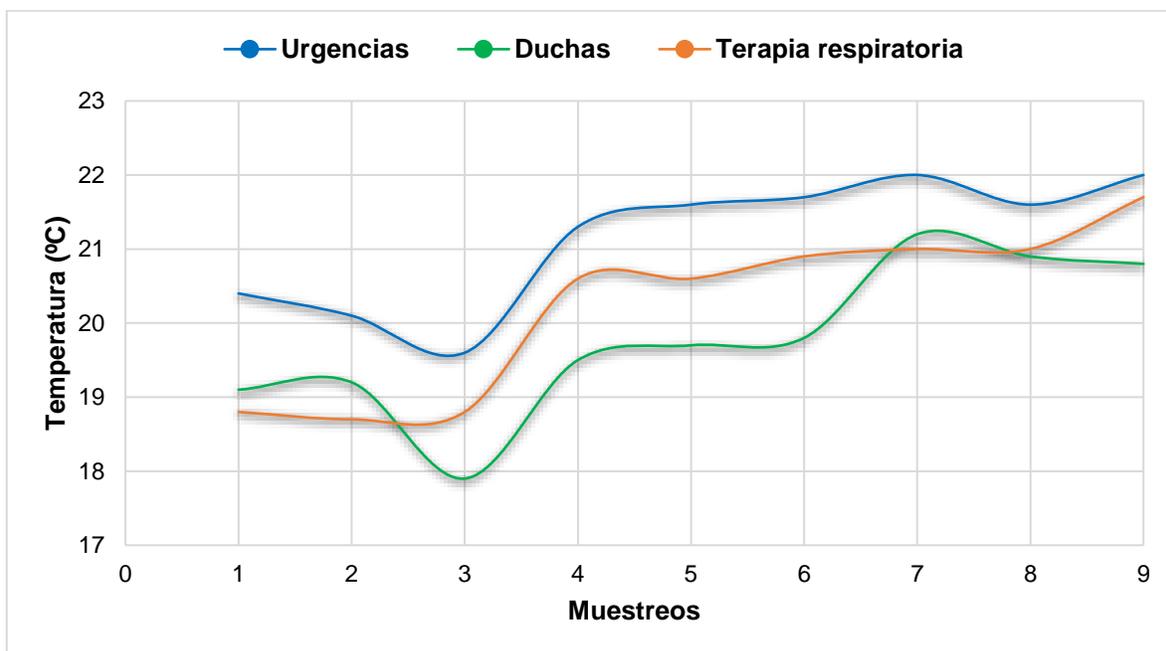


Figura 11. Comportamiento de la temperatura

La temperatura es considerada por varios autores como el factor más importante para el crecimiento, multiplicación y supervivencia de *Legionella pneumophila*. Los rangos de temperatura que más favorecen la proliferación del microorganismo son aquellas que se encuentran dentro del rango de los 20°C y 45°C.

En este orden de ideas, los resultados de temperatura obtenidos en cada punto de muestreo, corroboran que en los tres puntos se evidencia la presencia de *Legionella pneumophila*. Es importante mencionar que, los resultados de temperatura oscilan dentro de un rango donde el microorganismo tiene la capacidad de crecer, pero que de alguna manera su proliferación no puede llegar a ser exitosa en su totalidad, ya que el valor máximo de temperatura obtenido es de 22°C y la temperatura requerida para su optima multiplicación debe oscilar dentro de un rango de 35°C y 46°C.

6.3 Cuantificación del NMP/100 ml de las bandejas de incubación

A continuación, se presentan las bandejas Quanti-Tray para cada punto de muestreo luego del periodo de incubación, organizadas de manera cronológica con su fecha de toma de muestra. Igualmente, se muestra el NMP/100 mL respectivamente para cada punto de muestreo, durante las 3 fechas seleccionadas para la toma de muestras.

Tabla 8. Conteo general del NMP/100 mL de microorganismos

CUANTIFICACIÓN DEL NMP/100 mL			
Fecha	Puntos de Muestreo		
	Urgencias	Terapia respiratoria	Ducha de pacientes
19/10/2018	19.4	16.9	21.9
	10.6	22.3	13.8
	12.3	26.4	16.8
	*	*	19.4
14/11/2018	26.4	31	26.4
	31	26.4	36.1
	26.4	36.1	31
	36.1	*	*
22/11/2018	41.6	26.4	23.8
	30.5	24.6	31
	36.1	21.9	36.1
	*	26.4	*

* Replica de muestra no realizada para la fecha establecida

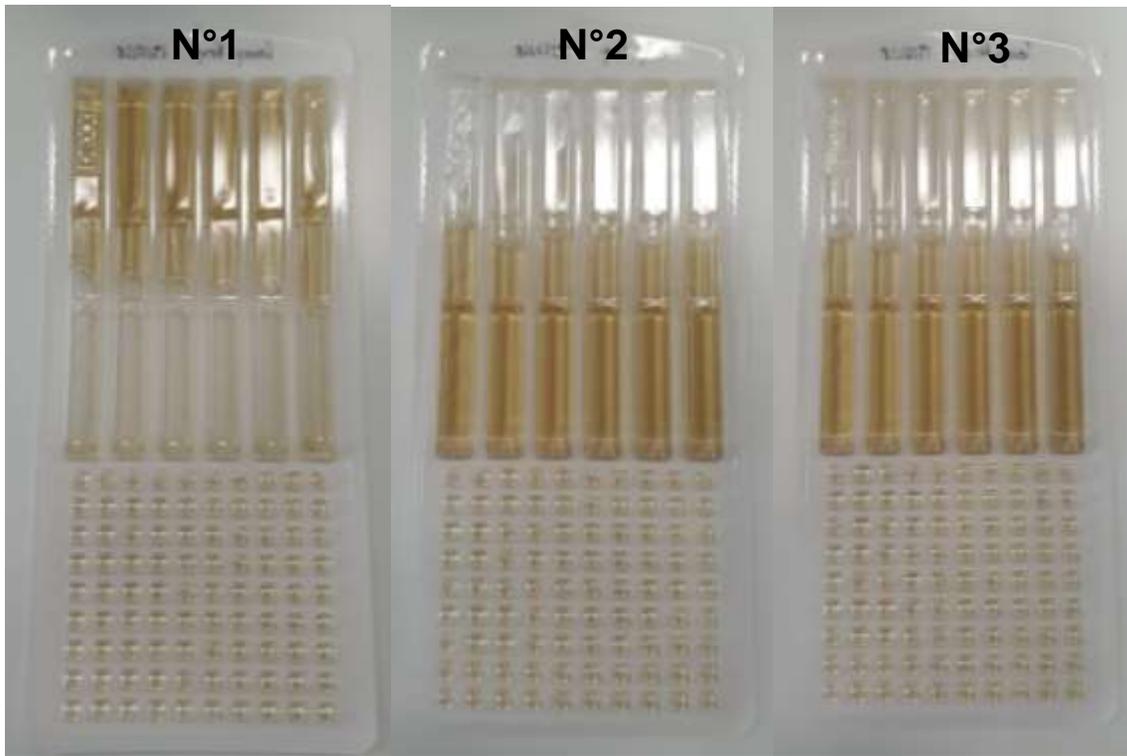


Figura 12. Resultados muestreo N.º 1 - Terapia respiratoria

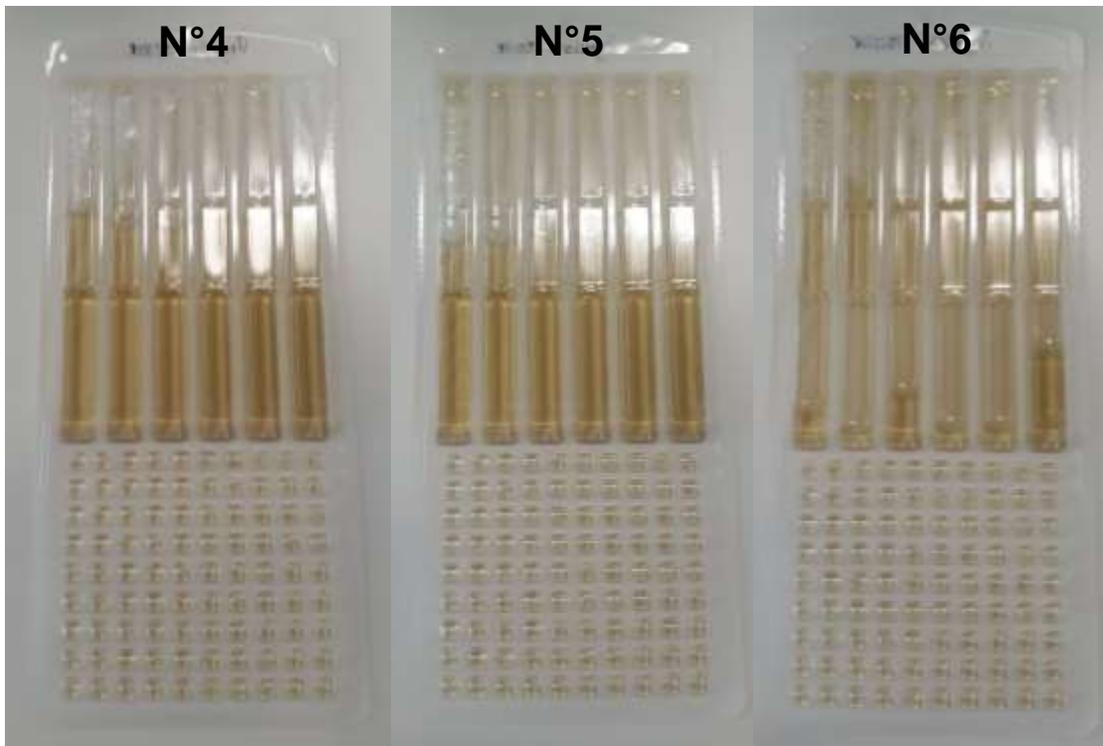


Figura 13. Resultados muestreo N. º1 – Urgencias

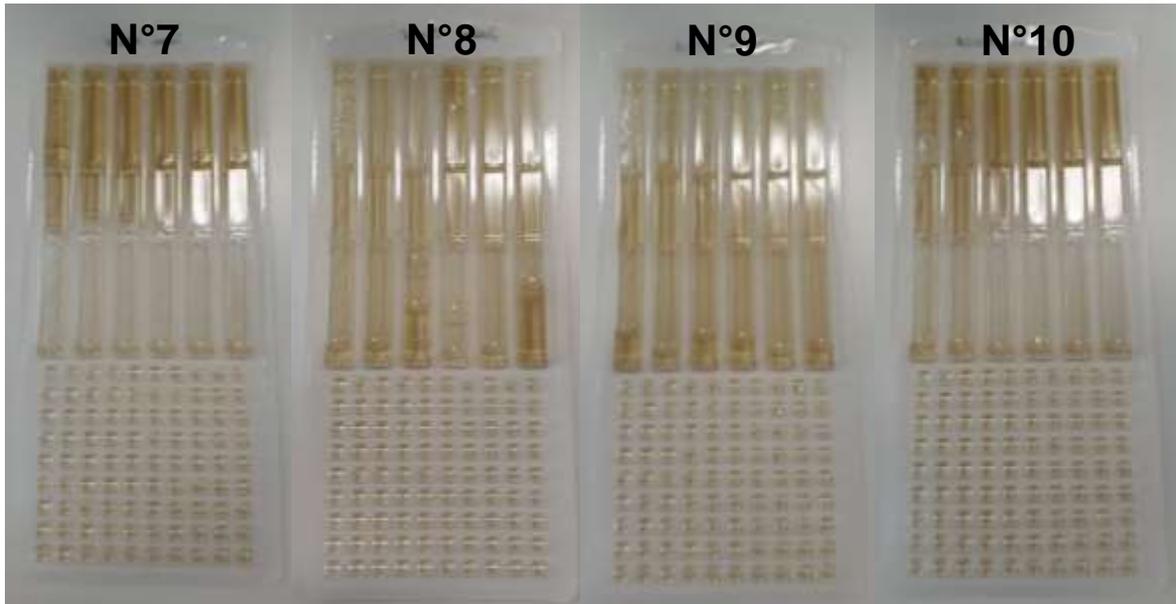


Figura 14. Resultados muestreo N. °1 - Ducha de pacientes

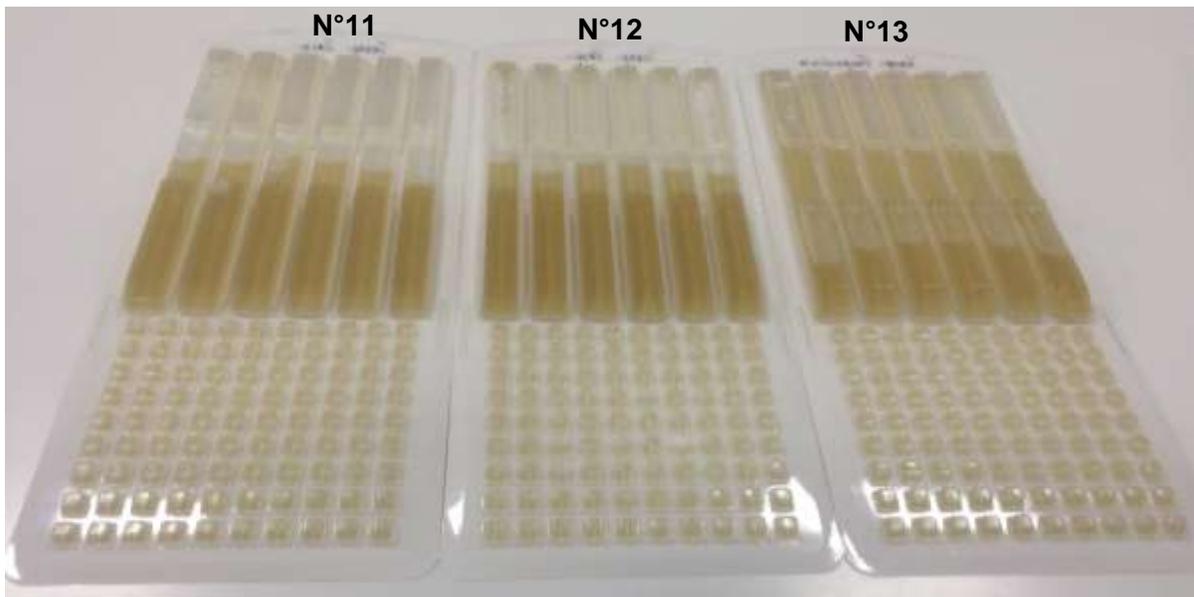


Figura 15. Resultados muestreo N. °2 - Terapia respiratoria

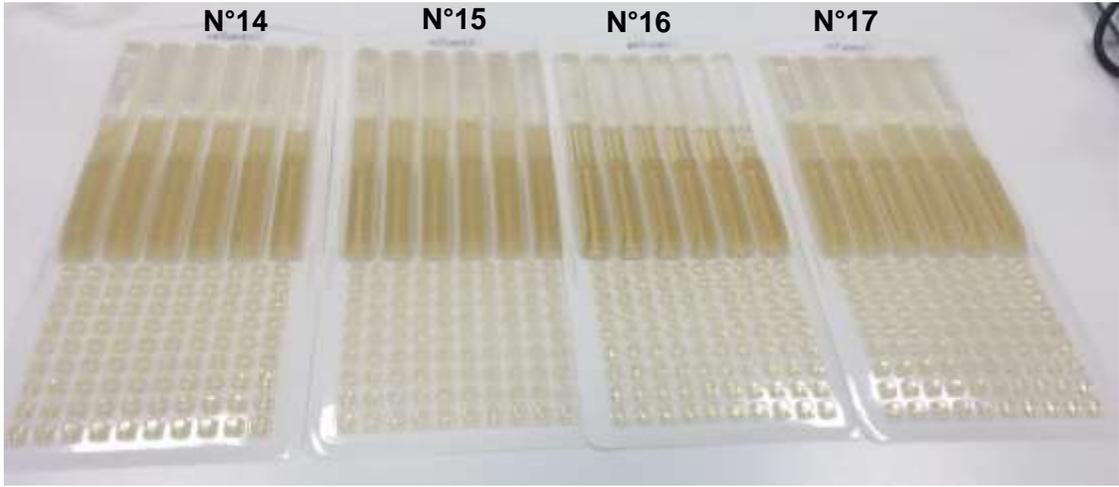


Figura 16. Resultados muestreo N. °2 - Urgencias

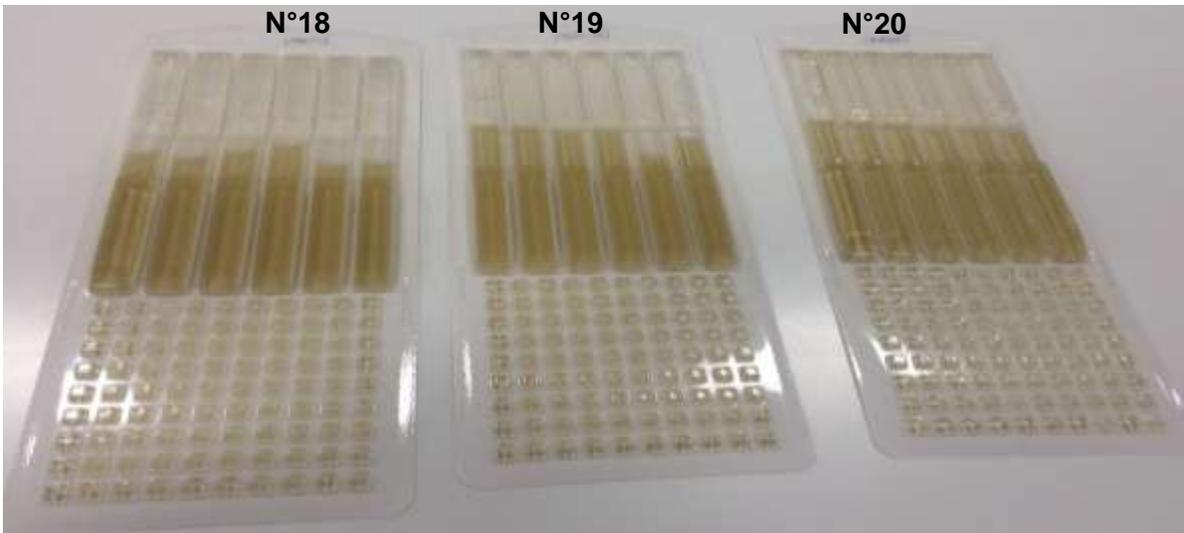


Figura 17. Resultados muestreo N. °2 - Duchas de pacientes

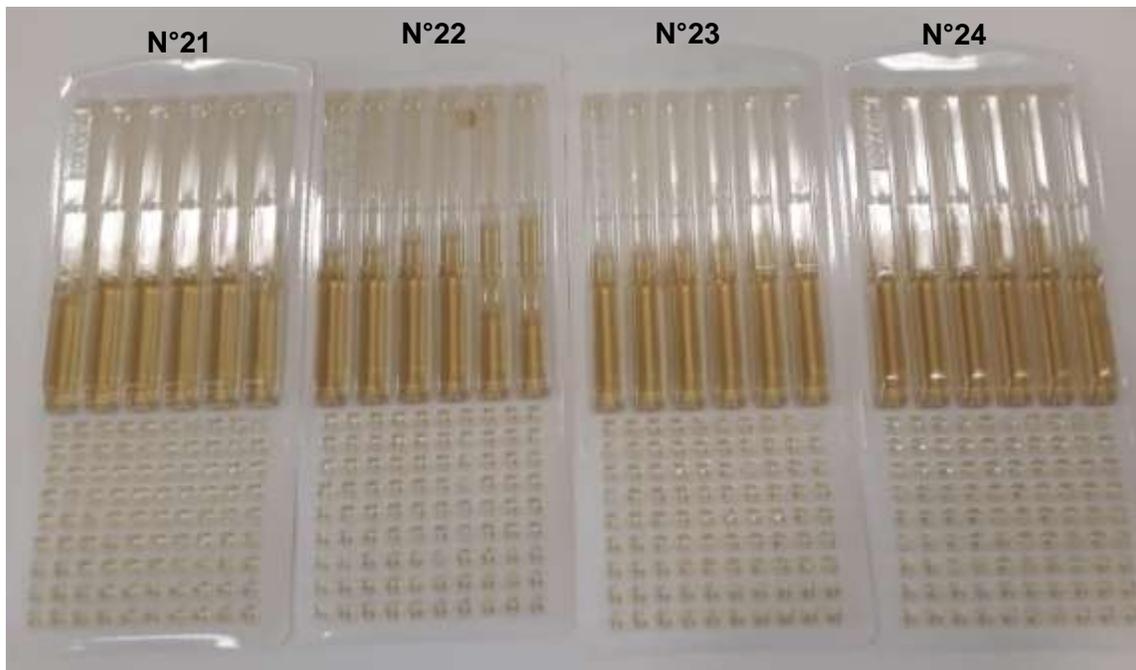


Figura 18. Resultados muestreo N. °3 - Terapia respiratoria

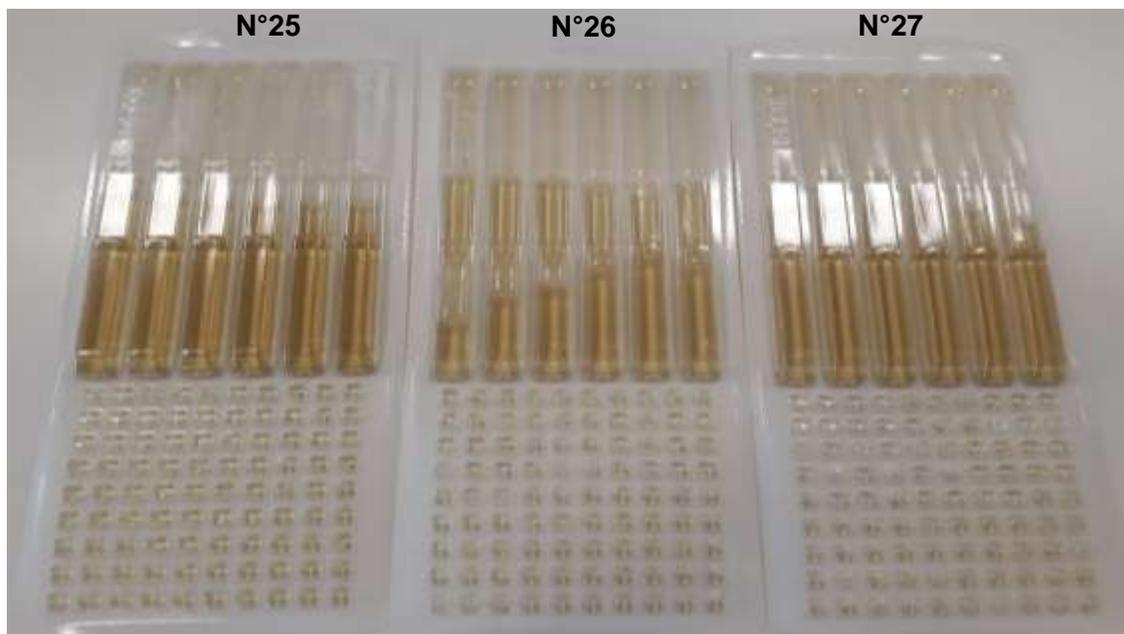


Figura 19. Resultados muestreo N. °3 - Urgencias

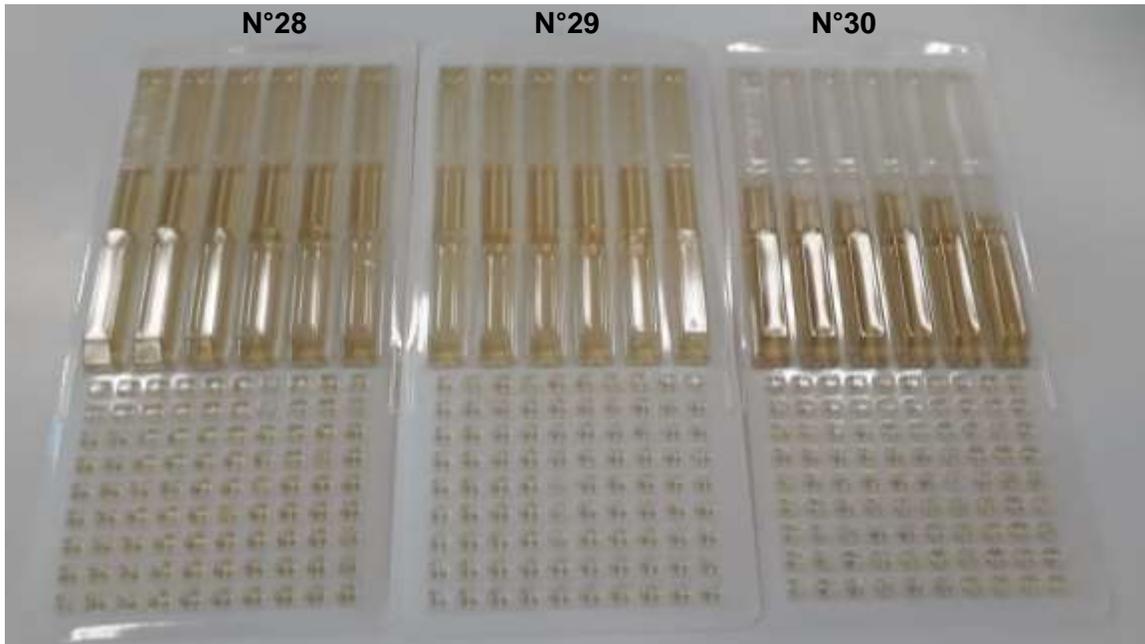


Figura 20. Resultados muestreo N. °3 - Ducha de pacientes

Evaluar la presencia y/o ausencia de un microorganismo como *Legionella pneumophila* en un determinado sistema de distribución hídrico resulta ser más complejo de lo que aparentemente la literatura lo establece, ya que de obtenerse un resultado negativo se consideraría como una ausencia de riesgo, pero si se confirma la presencia necesariamente deben tomarse medidas correctivas acertadas.

En nuestro estudio se logró determinar la presencia de *Legionella pneumophila* en los tres puntos de muestreo, servicio de urgencias, punto de terapia respiratoria y duchas de pacientes; en total se tomaron 30 muestras de agua, 10 en cada punto durante un periodo de tiempo de aproximadamente 2 meses. La cuantificación de *Legionella pneumophila* mediante el NMP/100 ml permitió obtener valores que oscilan dentro de un rango de 10.6 NMP/100 mL y 41.6 NMP/100 mL. En la Figura 21, se muestra un promedio de NMP/100 mL por cada punto de muestreo durante las tres fechas de muestreo realizadas.

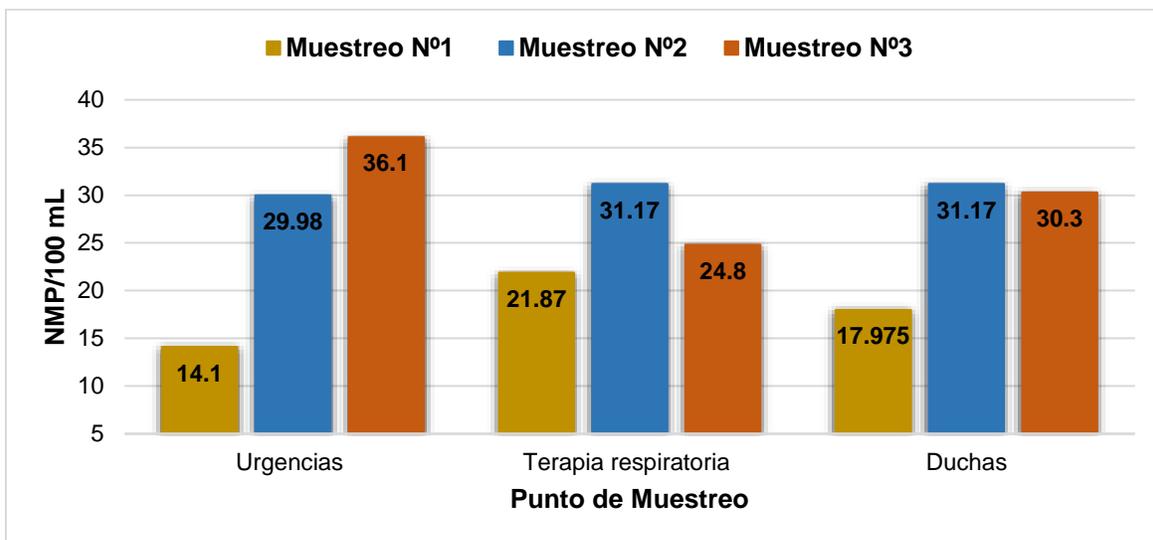


Figura 21. Promedio del NMP/100 mL en cada punto de muestreo

En el servicio de urgencias, punto de muestreo N°1, hemos encontrado que la presencia de *Legionella pneumophila* es mayor durante el segundo y tercer día de muestreo, atribuyéndole esta tendencia principalmente a la temperatura presentada, ya que se encontraba dentro de un rango de 21°C y 23°C, que, aunque no son temperaturas óptimas de crecimiento de *Legionella pneumophila*, si permiten que el crecimiento del microorganismo se establezca.

En el servicio de terapia respiratoria, punto de muestreo N°2, se evidenció concentraciones de *Legionella pneumophila* similares a las encontradas en el punto de muestreo N°1. en este punto, los valores de temperatura se comportan de manera estable a lo largo de los días, manejando unos rangos de temperatura de 20°C y 22°C, valores muy estables que favorecen la aparición de *Legionella pneumophila*.

Es importante mencionar, que, aunque los resultados de conductividad en el punto de muestreo N°1 y N°2 no son altos, la presencia de *Legionella pneumophila* se da gracias a los beneficios que otorga un aumento de temperatura y concentraciones constantes de oxígeno disuelto.

En el punto de muestreo N°3 el cual corresponde al punto de duchas utilizado por los pacientes para actividades de higiene personal, se encontró mayor presencia de *Legionella pneumophila*. Es importante mencionar, que en este punto se cuenta con un sistema de

duchas que garantizan niveles de temperatura por encima de los 20°C, lo que permite que esta zona sea un medio ideal para el crecimiento y supervivencia del microorganismo.

El hecho de que se confirme la presencia de *Legionella pneumophila* mediante el NMP/100 mL, ya sea en baja o mayor proporción, según aplique para los puntos de muestreo, indica posiblemente que a través de la red de tuberías de distribución el proceso de colonización del microorganismo es latente.

En cuanto a cumplimiento normativo, no se pudo determinar el cumplimiento o no del mismo, ya que actualmente en Colombia no se cuenta con un régimen normativo que estipule límites de crecimiento para *Legionella pneumophila*, siendo así muy difícil determinar si la presencia de este microorganismo este o no generando problemas de salubridad en las diferentes instalaciones muestreadas. Sin embargo, no se debe desconocer que la presencia de *Legionella pneumophila* en cualquier sistema hídrico representa una amenaza de las condiciones microbiológicas óptimas que se deben garantizar en el agua. De igual forma, es pertinente mencionar que, pese a que en Colombia si existe normativa para el cumplimiento de parámetros de agua potable, la cual es la Resolución 2115 de 2007, esta no contempla dentro de sus parámetros de cumplimiento los referentes a *Legionella pneumophila*, lo que impide que su caracterización sea evidente.

Las medidas de desinfección en los sistemas de abastecimiento hídrico son necesarios e indispensables para lograr erradicar cualquier cepa que pudiese llegar a originar un crecimiento patógeno. Los valores de cloro residual medidos “*in situ*” se encuentran dentro de los rangos que favorecen que durante la conducción se mantenga un remanente o residual de cloro, permitiendo erradicar microorganismos presentes en los sistemas de distribución de agua en la institución hospitalaria. Igualmente, los resultados de cloro residual revelan cumplimiento a los valores permitidos en la Resolución 2115 de 2007.

No obstante, la presencia de *Legionella pneumophila* en el sistema es evidente, lo que hace indispensable realizar estudios que permitan establecer cuál es la MID (Mínima Dosis Infecciosa) de *Legionella pneumophila* en Colombia, ya que de esta forma se pueden llegar a establecer los límites permisibles para que dentro de la normatividad colombiana se ejerza su cumplimiento. Además, es importante determinar que las medidas de desinfección adoptadas están siendo toleradas por el microorganismo invasor.

7 Conclusiones

- *Legionella pneumophila*, es capaz de sobrevivir en ambientes extremos, lugares con déficit de limpieza, presencia de materia orgánica, altas temperaturas, zonas con incrustaciones de características corrosivas, presencia de otros microorganismos como barrera de protección y aporte de nutrientes necesarios en su crecimiento.
- La fácil contaminación de una instalación hídrica por *Legionella pneumophila* puede obedecer a que este microorganismo es un patógeno oportunista, el cual perturba y se posiciona de manera puntual en hábitats donde esta compruebe una mínima probabilidad de generar vida, sin importar que las condiciones no sean del todo favorables.
- A manera de hipótesis, se puede establecer que la deficiencia de materiales en la red de distribución hídrica, ya sea por antigüedad constructiva o por falta de mantenimientos preventivos, contribuyen en la formación de biofilms en las paredes de las tuberías, considerados como puntos donde los microorganismos se adhieren y crean condiciones de vida.
- La legionelosis es una enfermedad emergente que representa gran importancia en cuanto a salud pública, por lo cual debe ser controlada y monitoreada mediante medidas preventivas que favorezcan el cumplimiento de acciones de higiene en las instalaciones y sistemas de distribución hídrica.
- La transmisión de *Legionella pneumophila* se realiza principalmente por inhalación de aerosoles o dispersión de gotas de agua en el aire, que se encuentren contaminadas por estancamiento hídrico o por contacto con agentes patógenos que contribuyen en su proceso de crecimiento.

- La implementación de la técnica de sustrato definido como método de detección de *Legionella pneumophila* aporta ventajas significativas en procesos de investigación y/o aprendizaje, ya que resulta ser fácil, exacta y rápida, proporcionando resultados efectivos y sin pasos de confirmación adicional.
- Acorde a los resultados hallados del conteo de *Legionella pneumophila*, se obtuvo un promedio de 26 NMP/100mL para el punto de muestreo de Urgencias, en Terapia respiratoria se obtuvo un promedio de 25 NMP/100mL y para el punto de Duchas se obtuvo un promedio de 27 NMP/100mL; determinando así que la variación de estos valores no es significativa, dado que no se observa mayor variación en el comportamiento de los parámetros *in situ* durante las tres fechas de muestreo.
- Los resultados obtenidos de cloro libre residual mostraron como a pesar de que todos los puntos de muestreo estaban sometidas a un tratamiento preventivo de desinfección y limpieza contra agentes patógenos, aparecieron casos de presencia de *Legionella pneumophila*; lo que permite determinar que es necesaria la implementación de métodos de hipercloración y choque térmico, que permitan reducir el riesgo de infección en la población.
- La implementación de medidas de prevención tales como limpieza y mantenimiento periódico de depósitos de agua, revisión de las instalaciones con funcionamiento hídrico intermitente, análisis periódico de la calidad fisicoquímica del agua y mantenimiento de los sistemas de dispersión y dosificación de agua, de alguna manera constituyen acciones de vital importancia en el control y disminución de los efectos producidos por *Legionella pneumophila*.

8 Referencias

- Abad Sanz, I., Velasco Rodríguez, M. J., Marín Riaño, M. E., Pérez Alonso, J., Muñoz Guadalajara, M. D. C., & Jodra Trillo, E. (2014). Brote de legionelosis en un restaurante de la Comunidad de Madrid. *Revista Española de Salud Pública*, 88(5), 661–669. <https://doi.org/10.4321/S1135-57272014000500010>
- Alonso Fustel, E., Artieda Arandia, J., García Calabuig, M. A., & González Carril, F. (2008). *Protocolos de actuación frente a enfermedades infecciosas (V) Legionelosis* (1 de Julio; E. Jaurilaritza, Ed.).
- Arias Guzmán, J. A. (2016). *Neumonía atípica, importancia de la detección oportuna de legionella pneumophila en Colombia. a propósito de un caso importado detectado en Bogotá en el año 2015*. Fundación Universitaria del Área Andina.
- Ausina, V., Catalán, V., Cercenado, E., & Pelaz Antolín, C. (2005). Diagnóstico microbiológico y control de la legionelosis. *Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*.
- Blanco Palencia, S. (2010). *Desarrollo, optimización y evaluación de nuevos métodos inmunológicos y moleculares en el diagnóstico de las infecciones causadas por Legionella pneumophila*. Universidad Autónoma de Barcelona.
- Bonet Ivars, V. (2011). *Estudio sobre la presencia de Legionella en agua sanitaria*. Retrieved from <http://www.recercat.net/handle/2072/179775>
- Byrd, T. F., & Horwitz, M. A. (1989). Interferon gamma-activated human monocytes downregulate transferrin receptors and inhibit the intracellular multiplication of Legionella pneumophila by limiting the availability of iron. *The Journal of Clinical Investigation*, 83(5), 1457–1465.
- Castillo Villar, A. M. (2012). *Presencia de Legionella pneumophila en condensadores evaporativos y su relación con las características del agua*. Universidad Politécnica de Cartagena.
- Cuaspud Baño, L. E. (2018). *Detección de Legionella pneumophila en los sistemas de aerosoles producidos por las piezas ultrasónicas en la Clínica Integral de la Facultad de Odontología de la Universidad Central del Ecuador*. Universidad Central del Ecuador.
- García Núñez, M. (2009). *Colonización, citopatogenicidad y persistencia de Legionella spp. en agua sanitaria hospitalaria* (Universidad Autónoma de Barcelona). Retrieved from <http://www.tdx.cat/handle/10803/4544>
- Gea-Izquierdo, E., Mezones-Holguín, E., & Haro-García, L. (2012). Acciones de prevención y control de la legionelosis: un reto para la salud pública española. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 29, 272–276.
- Gea Izquierdo, E. (2007). *Influencia del mantenimiento higiénico-preventivo de las*

instalaciones con riesgo de desarrollo de Legionella pneumophila de Málaga. Universidad de Málaga.

González de Chávez Ledesma, P. (2017). *Presencia de Legionella en los reservorios acuáticos: Importancia para la salud pública.* Universidad de La Laguna.

Horwitz, M. A., & Silverstein, S. C. (1980). Legionnaires' disease bacterium (*Legionella pneumophila*) multiplies intracellularly in human monocytes. *The Journal of Clinical Investigation*, 66(3), 441–450.

Jiménez Zabala, A., Santa Marina Rodríguez, L., Otazua Font, M., Cuetos, Y., Etxeberria Aguirresarobe, M., & De la Fuente Campos, K. (2013). Legionelosis esporádica: un problema sin resolver. *Revista de Salud Ambiental*, 13(1), 73–79.

Kelly, A. A., Danko, L. H., Kralovic, S. M., Simbartl, L. A., & Roselle, G. A. (2003). Legionella in the veterans healthcare system: Report of an eight-year survey. *Epidemiology and Infection*, 131(2), 835–839.

Kuchta, J. M., States, S. J., McNamara, A. M., Wadowsky, R. M., & Yee, R. B. (1983). Susceptibility of *Legionella pneumophila* to chlorine in Tap Water. *Applied and Environmental Microbiology*, 46(5), 1134–1139.

Legiolert, para la detección de *Legionella pneumophila*. (2018). Retrieved September 9, 2019, from IDEXX Laboratories website: <https://www.idexx.es/es/water/water-products-services/legiolert/>

Legionelosis. (2018). Retrieved September 9, 2019, from Organización Mundial de la Salud website: https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/legionellosis?fbclid=IwAR2ZFbObIF26icPkkoAX9p1PQ-nfzeU7Hk49AtLXzGsg2srUmr_BvRTBGK0

Lopardo, G., Sturba, E., Martínez, M. L., Roel, J. E., Gamba, A., Biondi, H., & Stamboulian, D. (2002). Detección de infección aguda por *Legionella pneumophila* en pacientes con neumonía adquirida en la comunidad en la ciudad de Buenos Aires. *Medicina (Buenos Aires)*, 62, 145–148.

Martín Redondo, Á. (2016). *Prevención y control de legionelosis en instalaciones de riesgo* (Universidad de Alcalá). Retrieved from <http://hdl.handle.net/10017/26518>

Molina, C. G., Casares, R. L., Campoy, M. G., Martínez, F. C., Lozano, F. S., & Navarro, J. S. (2002). Brote de Legionelosis en Murcia en Julio de 2001. La óptica de Sanidad Ambiental. *Revista de Salud Ambiental*, 2(1), 22–31.

Moreno Camacho, C. (2002). *Evaluación de nuevos métodos de detección, subtipificación y erradicación de Legionella pneumophila.* Universidad de Alicante.

Otero Martino, M. J. (2013). *Diseño de un sistema rápido de detección de Legionella pneumophila mediante biosensores electroquímicos.* Universidad de Oviedo.

Razón Behar, R., Tamargo Martínez, I., De Armas Morales, I., & Cantillo Games, H. (2002). Brote epidémico de neumonías por *Legionella pneumophila* en niños cubanos. *Revista*

Cubana de Pediatría, 74(3), 203–207.

- Rodríguez Juárez, J. M. (2005). *Prevención y control de legionelosis. Normativas de aplicación*.
- Sabria, M. (2000). Legionelosis nosocomial. *Un Problema Bastante Generalizado. Enfermedades Emergentes*, 2, 203–205.
- Salvador García, C. (2011). *Legionella en redes de distribución de agua potable y torres de refrigeración en España*. Universidad de Murcia.
- Vaqué Rafart, J., & Martínez Gomez, X. (2002). Salud pública: Epidemiología de la legionelosis. *Medicina Integral: Medicina Preventiva y Asistencial En Atención Primaria de La Salud*, 40(6), 271–281.
- Vargas, F., Martín, C., Boix, R., & Pelaz, C. (1999). Recomendaciones para la prevención y control de la legionelosis. *Ministerio de Sanidad y Consumo*.
- Varó Galvañ, P. J., Yáñez Amorós, A., & Cadenas Jiménez, M. (2013). *Validación de un nuevo método molecular para el estudio de la viabilidad celular de Legionella pneumophila en muestras ambientales*. Universidad de Alicante.
- Vilaseca i Vallvé, M. M. M. M. (2004). La calidad del agua en el espacio público. Legionelosis. *Boletín Intexter Del Instituto de Investigación Textil y de Cooperación Industrial*, (126), 55–60. Retrieved from www.raco.cat/index.php/Intexter/article/view/85596
- Wilkinson, H. W., Cruce, D. D., & Broome, C. V. (1981). Validation of Legionella pneumophila indirect immunofluorescence assay with epidemic sera. *Journal of Clinical Microbiology*, 13(1), 139–146.