

Evaluación del desarrollo de *Legionella pneumophila* mediante el análisis de materiales de sistemas de distribución de agua

Enrique Gea Izquierdo^{1,*}

El estudio analiza la capacidad de desarrollo de *Legionella pneumophila* en diferentes materiales, correspondientes a sistemas de distribución de agua de bañeras y piscinas de hidromasaje de uso colectivo. Las instalaciones se distribuyen en poblaciones de interior y costeras de España (Málaga). Atendiendo a los criterios sanitarios de control, facilidad de colonización y resultados obtenidos, se sugiere que existe una relación entre los diferentes materiales de las conducciones y el riesgo de desarrollo de la bacteria.

Palabras clave: *Legionella pneumophila*, Enfermedad de los Legionarios, Prevención de Enfermedades.

En España la prevención de la legionelosis es un tema de especial interés sanitario, siendo una de las enfermedades bacterianas que presenta un seguimiento específico por parte de la Administración Central. La vigilancia epidemiológica de la legionelosis se basa preferentemente en la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica. A partir de la creación de la Red, la legionelosis se incluyó en 1996 entre las enfermedades de declaración obligatoria. La incidencia de la enfermedad ha presentado una tendencia creciente (1997- 2002), con una tasa de crecimiento anual en ese período del 52,5%. Este aumento en el número de casos declarados está relacionado con la amplia difusión del uso del antígeno en orina (en España se aceptó como diagnóstico de caso confirmado en 1999) como técnica diagnóstica y la progresiva sensibilización en toda la comunidad científica por un mejor diagnóstico, control y prevención de la enfermedad. Este interés contrasta con la existencia de pocos casos documentados de neumonía causada por *Legionella* en otros países, como Chile (Cabello *et al.*, 2002, *Rev. Méd. Chile*, **130**: 309- 313) o Puerto Rico (Príncipe & Rodríguez, 2001, *P. R. Health. Sci. J.* **20**: 251- 53). La familia Legionellaceae comprende un género, *Legionella*, con un total de 40 especies y más de 50 serogrupos;

mientras que para la especie *Legionella pneumophila* se han descrito 14 serogrupos (Benson *et al.*, 1988, *J. Clin. Microbiol.*, **26**: 382). La *Legionella* es una bacteria que tiene forma de bacilo con dimensiones que oscilan entre 1,5- 5 µm de ancho y presenta uno o más flagelos polares o subpolares. Más de la mitad de las especies han estado implicadas en infección humana (Lo Presti *et al.*, 1997, *J. Clin. Microbiol.*, **35**: 1706-1709), siendo la causa más común de legionelosis por *Legionella pneumophila* (90% de los casos) y especialmente el serogrupo 1 (Reingold *et al.*, 1984, *J. Infect. Dis.*, **149**: 819; Marston *et al.*, 1994, *Arch. Intern. Med.*, **154**: 2417- 2422) que es el más frecuente en el ambiente (Bartlett *et al.*, 1983, *Lancet*, **2**: 1315). En la legionelosis existe un periodo de incubación hasta la aparición de los primeros síntomas que suele ser de 2-10 días (5 a 6 días es más frecuente), aunque en algunos casos es variable pudiéndose describir periodos de hasta 3 semanas. Presenta una mortalidad de 10 – 15%. La bacteria es capaz de sobrevivir en un amplio intervalo de temperaturas (20- 60° C), con temperatura óptima de crecimiento entre 35- 37° C y aunque es termotolerante muere a los 70° C. En España alrededor de un 50% de los hoteles están colonizados por *Legionella* sp. en alguna parte de su red hídrica. Estas cifras son similares a las detectadas en otras partes de Europa (Gran Bretaña) y del mundo, y denotan que se trata de una bacteria mundialmente distribuida y extraordinariamente ubicua (Lawrence *et*

¹ Universidad de Málaga, Campus Universitario El Ejido, 29071, Málaga, España.

*Autor de correspondencia: enriquegea@telefonica.net

al. 1999. *J. Clin. Microbiol.* **37**: 2652-2655) en medios naturales y antrópicos. La presencia en estos medios de otros microorganismos (bacterias, protozoos, algas) favorece su desarrollo por colonización, así como el hierro que actúa como potenciador de desarrollo en algunos sistemas e instalaciones.

Extremadamente relevantes son los sistemas con elevada insolación donde el agua se encuentra con una alta concentración de oxígeno, nutrientes (óxidos y sales de hierro, sales cálcicas y magnésicas), temperaturas de 30- 60°C y pH entre 6-9. En este hábitat, de no haber una prevención eficaz frente a *L. pneumophila*, se pueden alcanzar concentraciones críticas (> 100 < 1.000 UFC/l- Torres de refrigeración y dispositivos análogos) para el desarrollo de la enfermedad por inhalación de aerosoles. La formación de biopelículas, materiales de corrosión e incrustaciones en las tuberías y conducciones, es esencial para que la bacteria encuentre nichos (Atlas, 1999, *Environ. Microbiol.*, **1**: 283-293) que le protejan frente a ciertas condiciones adversas en el medio acuoso.

En el presente trabajo se analizaron las bañeras y piscinas de hidromasaje de uso colectivo de 84 edificios públicos (hoteles) ubicados en poblaciones de interior y costeras españolas (Málaga), y se compararon los resultados con lo reglamentado en la normativa española (Real Decreto 865/2003, de 4 de julio del Ministerio de Sanidad y Consumo) por la que se establecen los criterios higiénico-sanitarios para la prevención y control de la legionelosis. Para el control del riesgo sanitario de desarrollo de la bacteria se seleccionaron 30 variables, existencia de: bañeras, piscinas, estacionalidad de las piscinas, saltos de agua o similar, instalaciones termales, agua de origen privado, control del agua, laboratorio homologado, biocidas, cloración, radiación ultravioleta, ozonización, bromación, desinfección cobre- plata, controles físico-químicos y microbiológicos del agua, periodicidad de los dos tipos de controles, programa y registro de mantenimiento higiénico- preventivo, control de la temperatura del agua, desinfección del agua, filtración del agua, polibutileno, polietileno, hierro, plomo, acero inoxidable, policloruro de vinilo y cobre.

Se trata de un estudio descriptivo realizado mediante un análisis de componentes principales, para la explicación de las *n* observaciones (niveles de cumplimiento preventivo- sanitario) y de las *p* variables originales (bañeras y piscinas) según un gráfico

biplot. Para ello se representa en los ejes coordenados de las dos primeras componentes principales sus puntuaciones y unos vectores que representan a las *p* variables. Las observaciones se ordenan según el tipo de cumplimiento: muy bajo (0- 10%), bajo (11- 40%), medio (41- 70%), alto (71- 90%) y muy alto (91- 100%). El análisis de las observaciones se realiza para los materiales de los diferentes sistemas: cobre (Cu), plomo (Pb), hierro (Fe), acero inoxidable (AI), polibutileno (PB), polietileno (PE) y policloruro de vinilo (PVC).

Asimismo, según las observaciones correspondientes al número de hoteles que incluyen las instalaciones de riesgo de la bacteria, se analiza la relación (correspondencia) entre las variables “materiales de los diferentes sistemas” y los intervalos de cumplimiento. Para ello se realiza un test de independencia de caracteres de la χ^2 en donde la hipótesis nula sea la independencia de ambas variables.

Los programas informáticos utilizados en la recopilación e interpretación de los datos son respectivamente: SPSS (Copyright SPSS Inc., 1989-2004. Windows. Version 13.0.1. 20 Nov 2004) y R Development Core Team (2007), R: A language and environment for statistical computing, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Los resultados se expresan en el gráfico *biplot* (Fig. 1) según los acrónimos correspondientes a los distintos materiales y variables originales.

El test de independencia de la χ^2 muestra un valor λ de Pearson de 81,3173 y p-valor 3,747⁻⁸. Mediante el análisis en dos coordenadas se obtienen las primeras correlaciones canónicas (0,8101591 y 0,5440333) y el gráfico de correspondencias (Fig. 2)

Respecto a las bañeras y piscinas de hidromasaje de uso colectivo, la varianza para ambas variables es muy similar ya que tienen asociadas vectores (Fig. 1) de longitud próxima. Igualmente existe correlación, ya que el ángulo que separa a los correspondientes vectores es pequeño. El sentido del eje correspondiente a la primera componente principal ordena los datos y se observa, por las puntuaciones obtenidas con las dos primeras componentes principales de las observaciones, que el mejor material de cumplimiento preventivo es el policloruro de vinilo (PVC, de coordenada próxima a 1 respecto a la primera

Fig. 1. Análisis de materiales y sistemas de riesgo.

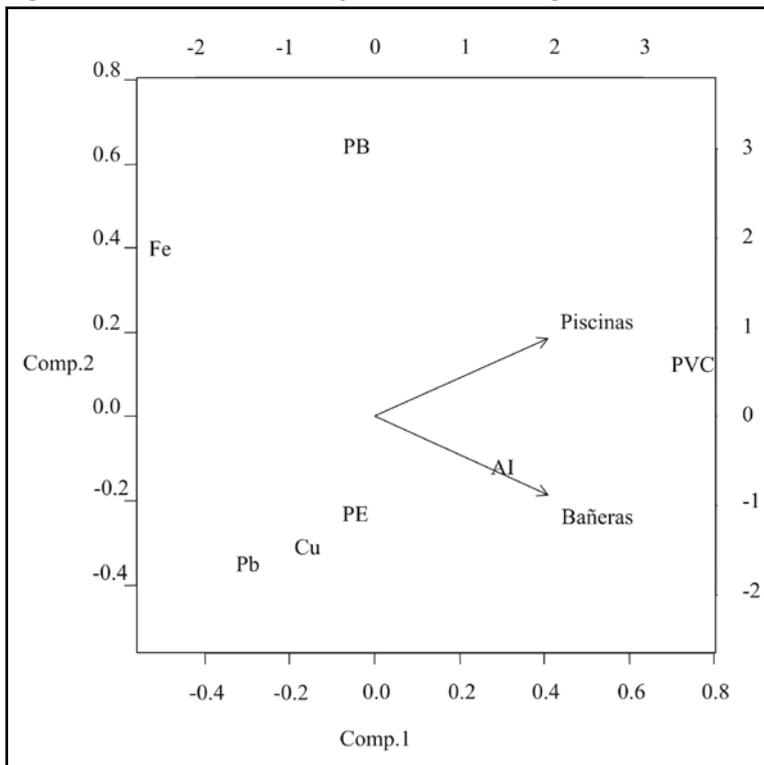
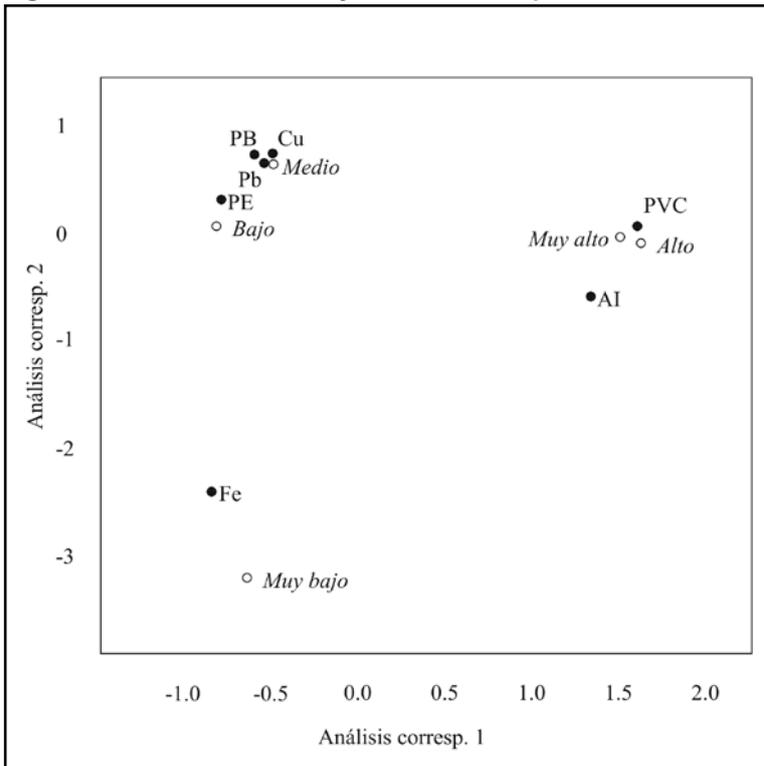


Fig. 2. Análisis de materiales y niveles de cumplimiento sanitario.



componente principal). Contrariamente a lo anterior, el peor material en cuanto a los criterios higiénico-preventivos es el hierro (Fe), siempre respecto a lo que representa la primera componente principal que será la más importante y recogerá la mayor variabilidad de la matriz de datos.

Con la prueba χ^2 se estudia si los “materiales” afectan a los intervalos preventivos. Según el valor para el estadístico λ de Pearson y por ser el p-valor del test muy pequeño, se rechaza la hipótesis nula de independencia entre el material y el nivel de cumplimiento higiénico- preventivo. Igualmente, se puede deducir (Fig. 2) que un determinado material tiene más posibilidad de un bajo cumplimiento o como puede afectar estos planteamientos al crecimiento y desarrollo de la bacteria. De la Fig. 2 se obtienen las principales conclusiones por la proximidad o no de la representación de las variables. Cabe destacar como las instalaciones de hierro disponen de un nivel muy bajo de cumplimiento, siendo este material un nutriente favorecedor de desarrollo de la bacteria. De hecho, la prevalencia de *L. pneumophila* en líneas de agua caliente y fría sanitaria de hierro sobre otros materiales es un tema crítico (Pongratz *et al.*, 1994, *Zentralbl. Hyg. Umweltmed.*, **195**: 483-488), por el enorme riesgo que entraña para la salud humana. Los materiales de polietileno presentan un riesgo alto (nivel bajo de cumplimiento) así como los de cobre, polibutileno y plomo (nivel medio). El polietileno es un sustrato fácilmente colonizable por la bacteria aunque en menor medida que el hierro. Para el acero inoxidable el riesgo es menor y prácticamente inexistente en el caso del policloruro de vinilo.

Para los ensayos realizados para la supervivencia y el crecimiento de *L. pneumophila* en las fases planctónicas y en biopelícula a 20°C, la bacteria aparece con una baja proporción en la flora de la biopelícula del polibutileno y en el cloruro de polivinilo clorado, pero está ausente en las superficies de cobre. El patógeno es más abundante en las biopelículas en plásticos a 40° C, donde representa el 50% de la flora total. Las superficies de cobre se presentan como inhibitorias a la contaminación biológica e incluyen únicamente un bajo número de microorganismos. El patógeno es capaz de sobrevivir en biopelículas en la superficie de materiales plásticos a 50° C, pero está ausente de las superficies de cobre a la misma temperatura. En presencia de superficies

de cobre, las biopelículas formadas en superficies de control de vidrio (adyacentes) son capaces de “incorporar” iones de cobre, que subsecuentemente inhiben la colonización en sus superficies (Rogers *et al.*, 1994, *Appl. Environ. Microbiol.*, **60**: 1585- 1592). Se sugiere que el uso de la tubería de cobre en los sistemas de agua puede ayudar a limitar la colonización de los mismos por parte de *L. pneumophila*. En muchos casos resulta difícil detectar la presencia de *L. pneumophila* en sistemas con temperatura del agua por encima de 60°C.

Existen diferentes tipos de biopelículas y debido al desarrollo de fenotipos especiales los microorganismos de las biopelículas no son tan susceptibles a los biocidas como los planctónicos. Las biopelículas pueden prevenirse por desinfecciones regulares. Desde que los microorganismos se adhieren a las superficies y el desarrollo de los fenotipos en las biopelículas se produce rápidamente es, como casi siempre, casi imposible prevenir completamente la formación de la biopelícula. La eliminación y destrucción de biopelículas establecidas requiere tratamientos severos, mayormente usando biocidas oxidantes. Dependiendo de la naturaleza de las biopelículas, diferentes biocidas pueden ser útiles y el mejor para una biopelícula específica tiene que ser determinado bajo condiciones prácticas. Otro enfoque es la prevención de la formación de biopelículas mediante selección de materiales que no soportan el “acoplamiento” de microorganismos. Algunos materiales como el vidrio y el acero inoxidable muestran menos formación en biopelículas que otros. El abanico de materiales depende de las condiciones bajo las cuales están testados. Una aproximación novedosa es la inhibición de biopelículas mediante suplemento de sistemas con nutrientes que inhiben el “acoplamiento”. Así por ejemplo, existen resultados tangibles de inhibición de bioobstrucción en sistemas de ósmosis inversa (Meyer, 2003, *Intern. Biodeter. & Biodegrad.*, **51**: 249- 53).

Existe una relación entre ciertos materiales críticos (Fe, PE) y niveles de criterios higiénicos deficientes en sistemas de uso público antiguos, de baja categoría y en zonas rurales. Se puede concluir sobre la presencia de materiales fácilmente colonizables por *L. pneumophila*, que no disponen del mantenimiento higiénico- preventivo adecuado y que pueden ser fuentes potenciales de desarrollo y proliferación de la bacteria.

Assessment of the development of *Legionella pneumophila* through materials analysis of the water distribution systems

SUMMARY

The study analyzes the potential development of *Legionella pneumophila* in different materials, installed in water distribution systems of public use bathtubs and hydromassage pools. The facilities

are divided into interior and coastal populations of Spain (Málaga). Based on the health control criteria, colonization facility and the results obtained, a relationship between the different materials of the pipes and the risk of development of the bacteria is suggested.

Key words: *Legionella pneumophila*, Legionnaires' Disease, prevention & control.

Recibido el 05/05/2009
Aceptado el 10/06/2009

