

P-11

Análisis de una instalación tras 20 años de legionelosis ¿Qué hemos aprendido?

Fernando González-Camacho¹, Juana María González-Rubio¹, Irving Cancino-Muñoz², Mireia Coscollá²

¹Laboratorio de Referencia e Investigación en Enfermedades Bacterianas transmitidas por agua y alimentos, Unidad de Legionella, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III. Ctra Majadahonda-Pozuelo km 2,2, Majadahonda, Madrid

²Instituto de Biología Integrativa de Sistemas, Universidad de Valencia-CSIC. Parc Científic, Campus Burjassot-Paterna, Valencia

Autor para correspondencia: Fernando González Camacho, fgonzalezc@isciii.es

MODO DE VIDA DE LEGIONELLA

Legionella es una bacteria ambiental que habita en el medio acuático, se encuentra presente en las aguas superficiales de ríos, lagos, embalses. Forma parte de la comunidad que vive en las biopelículas formadas por estos microorganismos sobre las superficies sumergidas, tales como raíces y hojas de plantas, piedras o cualquier otra superficie sumergida; estas biopelículas son conocidas con el nombre de *biofilms*. Estos *biofilms* son comunidades complejas de microorganismos en los que se establecen sus propias interacciones¹. Por otra parte, también se pueden encontrar estos microorganismos en la masa de agua, pero si tenemos en cuenta la relación volumen/número de microorganismos, podemos decir que la mayor abundancia de microorganismos se encuentra en los *biofilms* frente a la masa de agua.

Estos *biofilms* proporcionan un ambiente propicio para la interacción entre sus componentes, se tratan de estructuras formadas por la biomasa de los microorganismos y de una matriz extracelular compuesta principalmente por exopolisacáridos y proteínas. Están estructurados de tal manera que forman una serie de canales que permiten la entrada de nutrientes y oxígeno hasta el interior del mismo. Por otro lado, la matriz extracelular proporciona una defensa frente a estrés ambiental.

Legionella es una bacteria de crecimiento lento, por lo que, en estudios realizados sobre la composición y diversidad de los *biofilms* ambientales, *Legionella* es tan minoritaria que puede llegar a ser indetectable mediante las técnicas de análisis generalmente empleadas (metagenómica).

Legionella puede llegar a las instalaciones relacionadas con el agua construidas por el hombre a través de los puntos de captación de agua. Estas instalaciones tienen sus propias características en cuanto a condiciones ambientales que favorece la presencia de *Legionella* frente a otros microorganismos que formaban parte de sus comunidades naturales. Se trata de un proceso de selección en el que *Legionella* pasa de ser casi indetectable

en su medio natural, a encontrar las condiciones más favorables para ella frente a otros microorganismos. En estas instalaciones también se forman *biofilms* que *Legionella* puede colonizar, e incluso, en determinadas circunstancias, algunas cepas de *Legionella* tienen la capacidad de iniciar la formación del mismo pudiéndose tratar de cepas pioneras, colonizadoras.

Cuando una instalación es tratada, por ejemplo, con biocida o con choque térmico, las comunidades microbianas se ven reducidas, pero no eliminadas. *Legionella* posee tres características que le permiten, en parte, sobrevivir. Por un lado, el hecho de vivir en los *biofilms*, que le proporcionan una estructura protectora frente a condiciones ambientales adversas. Por otro lado, su propio ciclo de vida; *Legionella* es un parásito intracelular de amebas, estos protozoos, frente a condiciones ambientales desfavorables pasan de un estado de trofozoito (forma en la que vive para alimentarse y multiplicarse) a una forma de quiste, una estructura de resistencia en la que puede permanecer largos periodos de tiempo. Si este protozoo estaba previamente infectado con *Legionella*, esta puede sobrevivir en este quiste y resistir así las condiciones ambientales adversas. Por último, las formas de vida libre de *Legionella*, frente a estrés ambiental, puede disminuir al mínimo su metabolismo, pasar a un estado de quiescencia, lo que se conoce como bacteria viable pero no cultivable.

Así, cuando se muestrea una instalación de manera rutinaria podemos encontrar aislados de *Legionella* muy persistentes que aparecen de manera sistemática durante largos periodos de tiempo; además, teniendo en cuenta que una instalación puede ser recolonizada a través de los puntos de captación, también podemos encontrar aislados que aparecen de manera puntual y desaparecen después de un nuevo tratamiento.

LA UNIDAD DE LEGIONELLA DEL CENTRO NACIONAL DE MICROBIOLOGÍA-ISCIII

La Unidad de *Legionella* puede recibir muestras a nivel Nacional para su caracterización, a nivel fenotípico

y a nivel genotípico. Se reciben tres tipos de muestras, aislados de origen ambiental, aislados de origen humano y muestras clínicas procedentes de pacientes con legionelosis.

A su vez, los aislados ambientales pueden proceder a través del Programa de Vigilancia o pueden proceder de estudios ambientales asociados a casos esporádicos o brotes. En función de esto, se les realiza una caracterización general o una más detallada en el caso de estar asociada a estudios de casos.

Cuando el aislado recibido es de origen ambiental y no está asociado a ningún caso solo se realiza una caracterización fenotípica para conocer si se trata de *Legionella pneumophila* SG1, *L. pneumophila* SG 2-14 o si se trata de otra especie no-*pneumophila*. Si se trata de *L. pneumophila* SG1 se realiza una caracterización con AcMo para saber si se trata de Pontiac, Olda o Bellingham. Si se trata del *L. pneumophila* SG2-14 se realiza una caracterización que permite conocer el SG concreto y si se trata de una especie diferente, se secuencian genéticamente para conocer de cuál se trata.

Cuando el aislado ambiental recibido está asociado a algún caso de legionelosis, el interés clínico y epidemiológico es muy alto por lo que se realiza una caracterización fenotípica completa y una caracterización genotípica para conocer el secuenciotipo (ST) específico del aislado. Los resultados posibles en la caracterización de *L. pneumophila* SG1 empleando el panel de anticuerpos monoclonales de Dresde² son los contemplados en la tabla 1.

Tabla 1. Clasificación fenotípica de *L. pneumophila* SG1 según el panel de AcMo de Dresde

Grupo	Subgrupo
Pontiac	Philadelphia
	Allentown/France
	Benidorm
	Knoxville
Olda	OLDA
	Oxford
	Heysham
	Camperdown
Bellingham	

EL CASO PARTICULAR DE UNA INSTALACIÓN

La instalación estudiada se trata de un edificio de titularidad estatal donde se alojan hombres mayores de edad.

CRONOLOGÍA DE LOS HECHOS

En el verano de 2022 se recibe una muestra de origen clínico asociado a un brote (2 pacientes) y tres muestras de origen ambiental asociadas a la investigación del brote. Los resultados microbiológicos fueron:

Aislado clínico	Aislado ambiental
<i>L. pneumophila</i> SG1 Pontiac Allentown / France ST3043	<i>L. pneumophila</i> SG1 Pontiac Allentown / France ST3043
	<i>L. taurinensis</i>
	<i>L. pneumophila</i> SG6

Para la emisión del informe por parte de la Unidad de *Legionella* se realiza una búsqueda de la información disponible para esa instalación en nuestra base de datos y se encuentra que existía un caso esporádico del 2019 (fallecido), que unos meses después se declaró como brote, y tanto el aislado de origen humano como el ambiental fueron *L. pneumophila* SG1 Pontiac Allentown/France ST3043. No se disponía de ningún otro caso clínico previo asociado a esta instalación. Sin embargo, sí se disponía de 26 aislados ambientales procedentes de esa instalación que llegaron por el Programa de Vigilancia Microbiológica en el periodo 2004-2013. En la caracterización que se realizó en el año de la llegada se obtuvieron 21 aislados correspondientes con *L.*

pneumophila SG1 Pontiac, 4 *L. pneumiphila* no tipables, 1 *L. pneumophila* SG6.

Una vez conocido estos antecedentes se realizó, a posteriori, una caracterización completa de todos los aislados: los aislados identificados como *L. pneumophila* no tipables dieron ST87; de las *L. pneumophila* SG1 Pontiac fueron Allentown/France de las que 17 de ellas, fueron ST3043 y las otras 4 se identificaron como ST44.

Posteriormente se realizó un estudio de secuenciación masiva de todos los aislados caracterizados como *L. pneumophila* SG1 Pontiac Allentown/France ST3043, tanto de los ambientales (periodo 2005-2022) como de

los dos disponibles de origen clínico (2019 y 2022). Todos ellos resultaron ser la misma cepa.

Por último, se contactó con los responsables de Salud a los que les compete la instalación y nos informan que, desde la fecha de entrada en funcionamiento de esta instalación, se han producido 34 casos de legionelosis y 5 brotes.

Por otro lado, se han llevado a cabo cambios y remodelación del sistema de agua corriente sanitaria, pero los casos de legionelosis continúan sucediéndose.

¿QUÉ HEMOS APRENDIDO?

Existen aislados de *Legionella* que pueden ser muy persistentes en una instalación, lo que les convierte en un riesgo potencial para la salud. El conocimiento de los casos de legionelosis, su notificación y la disponibilidad de los aislados ambientales y clínicos contribuye a un mayor conocimiento de lo que está sucediendo, a nivel clínico, ambiental y epidemiológico.

La prevención y el control de la enfermedad se debe realizar desde un abordaje multidisciplinar, donde la información disponible debería de ser compartida por todos los implicados en el estudio. En este contexto, se está haciendo un esfuerzo por parte del ECDC para disponer de una base de datos a nivel europeo (EpiPulse) donde se vaya incorporando los datos epidemiológicos y microbiológicos de los casos ocurridos y estudiados.

Por otro lado, el compromiso de depositar en repositorios los datos obtenidos mediante secuenciación masiva ayudará a estudiar y comprender mejor a este microorganismo.

REFERENCIAS

1. Donlan RM. Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerging infectious diseases*. 2002;8(9):881-90.
2. Helbig JH, Bernander S, Castellani Pastoris M, Etienne J, Gaia V, Lauwers S, et al. Pan-European study on culture-proven Legionnaires' disease: distribution of *Legionella pneumophila* serogroups and monoclonal subgroups. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology*. 2002;21(10):710-6.