

## Experiencias de las nuevas técnicas analíticas en el control de brotes

Juan Carlos Montero Rubio

Laboratorio de Salud Pública del Instituto de Ciencias de la Salud.  
Consejería de Sanidad de la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha  
jcmontero@jccm.es

La legionelosis es una enfermedad cuyas implicaciones superan el ámbito sanitario y su importancia abarca otras áreas como las económicas o sociales. A nadie se le escapa que un brote ambiental genera una gran alarma social o, que si está implicada una actividad hostelera, el brote puede tener una notable influencia sobre el turismo de la zona. Sin duda, son estos motivos los que justifican que haya una legislación específica, el Real Decreto 865/2003, que recoja las directrices técnicas y administrativas para la prevención y control de la enfermedad.

Un elemento fundamental en el abordaje de un brote epidemiológico es la determinación o recuento en el laboratorio de alguna de las especies de *Legionella* spp en instalaciones donde esta pueda proliferar y dispersarse provocando la enfermedad. La información obtenida en el laboratorio nos debe servir para decidir las acciones oportunas sobre dichas instalaciones (limpieza y desinfección, reforma estructural, paralización temporal, etc.), pero también nos debe permitir seguir profundizando en la identificación de la *Legionella* spp detectada, incluso más allá de especie, tipificando la posible variedad serológica o genética y así poder comparar la cepa ambiental con la aislada en los enfermos, intentando localizar la fuente o fuentes de infección<sup>1</sup>. De todas formas, debemos ser conscientes de que la mayoría de los brotes ambientales tienen un origen desconocido o dudoso<sup>2</sup>.

El citado Real Decreto 865/2003, para la investigación y recuento de *Legionella* spp en el laboratorio nos remite a la ISO 11731, 1998 (revisada en el 2007), al menos para torres de refrigeración y condensadores evaporativos. Este procedimiento ha sido el usado durante muchos años y sigue siendo el método de referencia, pero es evidente que presenta algunas debilidades fundamentales, sobre todo si debe dar respuesta a las necesidades de un brote epidemiológico.

En primer lugar, al ser la *Legionella* una bacteria de crecimiento lento, no permite dar resultados definitivos hasta pasados 10 o 12 días y, en general, su aislamiento está siempre en torno a una semana<sup>3</sup>, periodo de tiempo inaceptable en un brote, donde la rapidez de acción es fundamental. Además, el aislamiento de colonias en algunas ocasiones es imposible por la acción inhibitoria de otros microorganismos<sup>4,5</sup>, por el crecimiento invasivo o confluyente en los primeros días de cultivo de microbiota

acompañante<sup>6,7</sup> o sencillamente porque las bacterias de *Legionella* spp no son cultivables, pero sin embargo sí son viables<sup>8,9</sup>.

En la actualidad, hay otros procedimientos que han sido validados con éxito y vienen a superar las debilidades del cultivo. Son fundamentalmente más rápidos, dando resultados en 24 – 48 h y, al no ser técnicas de cultivo, son más independientes de la presencia de otros microorganismos en la muestra y del estado metabólico en el que se encuentre la *Legionella*.

En Castilla-La Mancha desde el año 2007 se viene trabajando con otras técnicas alternativas, estando en la actualidad operativas la reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real (qPCR)<sup>10</sup> y la separación inmunomagnética (SIM)<sup>11</sup>. Durante estos años de experiencia hemos verificado la equivalencia de resultados de ambas técnicas con el cultivo<sup>12</sup> y su implantación ha demostrado su utilidad, tanto en el control oficial como en el caso de brotes epidémicos,

Si nos centramos en las ventajas que han aportado estas técnicas rápidas en brote, la más evidente es que permiten el cierre preventivo de instalaciones, que son focos positivos, en los primeros momentos de un brote de *Legionella*, lo que contribuye a disminuir su impacto sobre la salud pública, al reducir drásticamente el tiempo de exposición de la población.

También se ha demostrado que estos métodos permiten detectar instalaciones positivas que sería imposible con el recuento en placa, debido a las dificultades de crecimiento de la bacteria en un medio artificial en laboratorio anteriormente descritas, sobre todo en muestras sucias y por tanto potencialmente peligrosas.

Bien es cierto que actualmente estas dos técnicas, qPCR y SIM, no permiten posteriores detecciones genéticas y serológicas más completas, pues ambos métodos lisan las células bacterianas. Pero también en este sentido, los métodos rápidos se han mostrado útiles, pues, ante muestras difíciles y falsos negativos por cultivo, permiten focalizar los esfuerzos del laboratorio en aislar las colonias de *Legionella* spp sobre unas pocas instalaciones. Hecho este importante cuando se trata de grandes brotes ambientales, donde el número de

muestras a tratar es muy grande y en muy poco tiempo.

Por tanto, como conclusión final, se puede decir que los métodos rápidos ante un brote epidemiológico permiten una intervención sobre las instalaciones de riesgo mucho más amplia, rápida y económica.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Pelaz C, Baladrón B. Aportación del laboratorio de microbiología al abordaje de brotes de legionelosis. En XIX Reunión científica de la SEE Murcia, 17-19 de octubre de 2001. GacSanit 15 (Supl 2):31-130.
2. Centro Nacional de Epidemiología. Instituto de Salud Carlos III. Brotes de legionelosis notificados a la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Años 1999 - 2011.
3. UNE-ISO 11731:2007. Calidad del agua. Detección y recuento de Legionella. (ISO 11731:1998).
4. Gião MS, Azevedo NF, Wilks SA, et al. Interaction of Legionella pneumophila and helicobacter pylori with bacterial species isolated from drinking water biofilms. BMC Microbiology. 2011; 11:57.
5. Al-Sulami AA, Al-Taei AMR, Yehyazarian AA. The Effect of Aeromonas spp. on the Growth of Legionella pneumophila in vitro. AirWater Borne Diseases. 2013; 2:108. doi:10.4172/2167-7719.1000108.
6. Yu VL. Legionella pneumophila (Legionnaires' disease). En: Principles and Practice of Infectious Disease 1990; 1764-74.
7. Prats Pastor G, Domínguez García A. Legionella: el microorganismo. Medicina clínica 2002; 119(2):9-13.
8. Alleron L, Merlet N, Lacombe C, et al. Long term survival of Legionella pneumophila in the viable but non culturable state after monochloramine treatment. Curr. Microbiol. 2008; 57:497-502.
9. García MT, Jones S, Pelaz C, et al. Acanthamoeba polyphaga resuscitates viable non-culturable Legionella pneumophila after disinfection. Environmental Microbiology. 2007; 9(5):1267-77.
10. ISO/TS 12869:2012. Water quality — Detection and quantification of Legionella spp. and/or Legionella pneumophila by concentration and genic amplification by quantitative polymerase chain reaction (qPCR).
11. Albalat G, Broch B, Bono M. Method Modification of the Legipid® Legionella Fast Detection Test Kit. Journal of AOAC International. 2014; 97(5):1403-9.
12. Díaz-Flores Á, Montero JC, Castro FJ, et al. Comparing methods of determining Legionella spp. in complex water matrices. Díaz-Flores et al. BMC Microbiology. 2015; 15:91. DOI 10.1186/s12866-015-0423-7.