

# Prevalència de legionel·la en els hotels de la costa catalana

Dellundé, J.<sup>1</sup>; Esgleas, R.<sup>1</sup> i Altimir, X.<sup>1</sup>

Laboratoris Clínics Altimir S.L. Carrer Fornaca, nº8. 17300 Blanes  
jdellunde@altimir.com

*Per tal de realitzar una primera aproximació de la presència del bacteri Legionella en les instal·lacions d'aigua sanitària calenta (ACS) i aigua freda de consum humà (AFCH) dels hotels de la costa catalana, es va realitzar un seguiment trimestral de 46 establiments al llarg de l'any 2003. Dels 46 hotels objecte d'estudi, en 20 d'ells es va detectar Legionella en les seves instal·lacions d'aigua sanitària (43,47%). En la seva majoria, s'apreciava una manca de manteniment preventiu i deficiències en el control de les temperatures i biocida residual lliure. Aquestes dades posen en manifest la necessitat de realitzar un major controls d'aquests tipus d'instal·lacions amb la realització periòdica de revisions de les instal·lacions i controls analítics dels punts de control crítics tant de la instal·lació de l'aigua calenta sanitària com de la instal·lació de l'aigua freda de consum humà.*

## INTRODUCCIÓ

*Legionella* és un bacteri ambiental amb capacitat de sobreviure en un ampli interval de condicions físico-químiques. El seu nínxol ecològic natural són les aigües superficials de llacs, rius, estancs. Des d'aquests reservoris naturals el bacteri colonitza els sistemes d'abastament d'aigua potable i s'incorpora a altres sistemes o instal·lacions que necessiten aigua pel seu funcionament, com ara les instal·lacions de l'aigua sanitària freda i calenta.

La colonització de *Legionella* a aquest tipus d'instal·lacions sol produir-se per un incorrecte manteniment o bé perquè han estat mal dissenyades. L'incorrecte manteniment o disseny de la instal·lació afavoreix l'estancament de l'aigua, la formació de dipòsits de productes "nutrients" com llots, matèria orgànica, incrustacions i productes de corrosió formen la base d'una futura biocapa. La presència d'aquesta biocapa, juntament amb una temperatura propícia afavoriria la multiplicació de *Legionella* fins a concentracions infeccioses per a l'home.

La major part dels estudis realitzats per determinar la prevalència de *Legionella* en aquest tipus d'instal·lacions ha sigut en torres de refrigeració i condensadors evaporadors. Per contra els sistemes d'aigua sanitària freda i calenta que estan presents a la gran majoria d'edificis com ara instal·lacions esportives, hotels, presons, etc. han quedat en un segon terme d'estudi, tal vegada degut a la gran dificultat per accedir-hi a prendre mostres.

Catalunya, àrea turística per excel·lència, disposa d'un elevat número d'hotels per els quals al llarg de l'any hi passen un elevat número de persones. Aquest establiments disposen de sistemes

d'aigua sanitària susceptibles a ser colonitzats per *Legionella* i per tant de ser focus d'infecció. Si bé en alguns països europeus es disposa d'informació sobre la prevalència de *Legionella* en aquest tipus d'establiments, a Espanya i més concretament a Catalunya no se'n disposa de cap mena d'informació.

L'objectiu d'aquest estudi ha estat realitzar una primera valoració de la presència de *Legionella* en aquest tipus d'establiments i alhora valorar el compliment de les normatives vigents (Reial Decret 865/2003). Per a dur-lo a terme, al llarg del 2003 s'ha realitzat trimestralment un control de 46 hotels repartits aleatòriament al llarg de la costa catalana (Llança, Pals, S'Agaró, Tossa de Mar, Lloret de Mar, Malgrat de Mar, Santa Susanna, Pineda de Mar, Calella, Barcelona, Tarragona, Salou i Cambrils), recollint mostres dels punts de control crítics de les seves instal·lacions.

## **MATERIAL I MÈTODES**

**Presa de mostra.** Mitjançant flascons esterils d'un litre amb tiosulfat sòdic es varen prendre mostres de 2 litres dels punts terminals de la xarxa d'aigua sanitària calenta (ACS), freda (AFCH), dipòsits d'aigua calenta (Acumuladors) i dipòsits d'aigua freda (en cas que en disposessin) de cada una de les instal·lacions dels diferents hotels. En la presa de mostra es comprovava "in situ", la temperatura de l'aigua i la concentració de clor lliure. Aquest control analític es va realitzar trimestralment a cada establiment.

**Transport de la mostra.** El transport fins al laboratori es realitzava a temperatura ambient sempre que no es superés els 20°C. En cas de no ser possible es realitzava mitjançant neveres, mantenint la temperatura de les mostres entre els 6 i 20 °C.

**Metodologia.** L'anàlisi de les mostres es va realitzar seguint la norma ISO 11731:1998. Breument, a cada anàlisi es va realitzar:

1. Filtració d'un litre d'aigua amb l'ajut d'una bomba de buit a través d'una membrana de nylon de 0,4 µm de por nominal i es dipositava en una placa de GVPC
2. Concentració 1 litre d'aigua amb l'ajut d'una bomba de buit a través d'un filtre de nylon de 0,4 µm de por nominal. Elució del filtre en 10 ml d'aigua destil·lada estèril i sembra de 0,2 ml en una placa de GVPC.

En cas de presència de flora acompanyant que interferia la lectura de les plaques sembrades, es realitzava un xoc àcid de la mostra a partir de l'eluit tal i com marca la norma ISO 11731: 1998 mitjançant una solució tamponada àcida de pH 2.0 i es sembraven dues plaques de GVPC amb 0,2 ml de mostra cadascuna.

La lectura de les plaques es realitzava cada 2-3 dies. Aquesta lectura es realitzava observant les diferents morfologies colonials amb una lupa binocular. Les colònies amb morfologia presumptiva a ser *Legionella* es confirmaven repicant-se en agar BCYE (amb L-Cisteïna i Ferro) i en agar CYE (agar base, sense cisteïna i ferro). Les colònies que creixien en agar BCYE però no en CYE eren considerades del gènere *Legionella*. La determinació de *Legionella pneumophila* es realitzava mitjançant serotipatge amb els tests de làtex comercialitzats per OXOID, que permeten determinar *Legionella pneumophila* serogrup 1 i *Legionella pneumophila* serogrup 2-14.

## RESULTATS I DISCUSSIÓ

Del total dels 46 establiments estudiats, en 20 d'ells (43,47%) es va detectar la presència de *Legionella* en les seves instal·lacions d'aigua sanitària. La presència de *Legionella* es va detectar només en la instal·lació d'aigua calenta sanitària en el 45% dels hotels, en la instal·lació de l'aigua freda de consum humà en 20% d'hotels i el 35% restant d'hotels tant en l'aigua calenta sanitària com aigua freda de consum humà. És difícil contrastar aquest percentatge de positius donat que existeixen pocs estudis d'aquest tipus. Habicht and Muller (1988) tasen en un estudi dels hotels de la Baixa Saxonia un percentatge de positius del 18 % mentre que altres estudis com el realitzar per Public Health Society (PHLS) en hotels del Regne Unit el situen a un 54%. Malgrat aquesta manca de dades el que si es confirma és que les instal·lacions d'aigua sanitària d'aquests tipus d'establiment han sigut i són en l'actualitat focus de brots de legionel·losi (Gotz et al. 2001; Joseph et al. 1996; Castellani Pastoris et al. 1992; Alexiou et al. 1989; Rosmini et al. 1984).

Tant en la instal·lació d'aigua sanitària calenta (ACS) i freda de consum humà (AFCH), el bacteri *Legionella* es va detectar preferentment en els extrems terminals de la xarxa. En la instal·lació ACS el en 65% dels establiments es va detectar *Legionella* únicament en els extrems terminals de la xarxa, el en 15% en el dipòsit acumulador d'aigua calenta i en el 20 % tant en els extrems terminals de la xarxa com en el dipòsit acumulador. En el 76% de les determinacions positives en mostres d'extrems terminals de la xarxa, la temperatura de l'aigua era inferior als 50°C i en el 100% de les determinacions positives en mostres d'aigua dels dipòsits acumuladors, la temperatura no superava els 57 °C (Taula 1), temperatures de "prevenció" que estipula el R.D. 865/2003.

Pel que fa a les instal·lacions d'AFCH dels 20 establiments positius per *Legionella*, en el 90.6% dels establiments es va detectar únicament en els extrems terminals de la xarxa, el 4,7 % dels establiments el dipòsit d'aigua freda i el 4,7 % restant tant en els dipòsits d'aigua freda com en els extrems terminals. A diferència de la instal·lació ACS, les deficiències detectades en el manteniment (temperatura i clor lliure) eren inferiors. Del conjunt de determinacions positives, la temperatura de l'aigua superava els 20 °C en un 47,05% dels punts de presa de mostra i es detectava una manca de clor en un 28,5% dels casos si bé en un 23,8% de les vegades el clor residual lliure determinat no superava els 0,2 ppm. (Taula 2).

Del total dels hotels en que es va realitzar el seguiment, un 67,39% (inclou a 19 dels hotels positius per *Legionella*) mostraven evidències de l'existència de biocapa en les seves instal·lacions. Els recomptes de bacteris que s'obtenien en l'anàlisi d'1ml d'aigua eren superiors a 10000 ufc en medi GVPC, havent-se detectat números molt superiors si s'hagués realitzat un recompte d'aerobis totals tal i com estipula la norma ISO 6222. En aquest grup d'hotels, no es realitzava un correcte manteniment de les instal·lacions, ni les neteges i desinfeccions anuals segons el protocol i periodicitat que marca el R.D. 865/2003 o posterior R.D. 909/2001 quan estava en vigència. Totes aquestes circumstàncies afavorien la deposició de materials orgànics i inorgànics en els punts terminals de la xarxa i dipòsits. Aquests dipòsits de materials serien els nutrients bàsics perquè els microorganismes colonitzadors primaris s'establissin i posteriorment s'acabés formant la biocapa. L'existència d'aquesta biocapa proporcionaria un nínxol ecològic propici per a que *Legionella* la colonitzés i s'hi multipliqués activament sobretot si els rangs de temperatura o clor lliure no fossin

els de prevenció estipulats pel R.D. 865/2003 (Barry et al. 2002; Murga et al. 2001). Aquest fet quedava patent en els resultats obtinguts. Els establiments amb un manteniment deficient de les seves instal·lacions però que complien amb els rangs de temperatura o nivells de clor lliure residual, si bé es detectava *Legionella*, aquesta no es multiplica tant activament i els nivells en que es trobaven en contades ocasions sobrepassaven les 1000 ufc/L.

Els establiments que mostraven una major contaminació per *Legionella* en les seves instal·lacions eren aquells que no realitzaven cap mena de manteniment preventiu, neteja i desinfecció i que les mesures el rangs de temperatures de prevenció i nivell de biocida de les aigües de les seves instal·lacions no era l'adequat. En aquests establiments, els nivells de contaminació habitualment superaven les 1000 ufc/L.

En l'aigua sanitària calenta, el 82.9 % dels aïllaments varen ser des *Legionella pneumophila* serogrup 2 - 14 (29 dels 35), 11,4% dels aïllaments de *Legionella pneumophila* serogrup 1 (4 dels 35) i 5,7% dels aïllaments de *Legionella* spp (2 de 35). Aquests percentatges varen variar radicalment en els aïllaments de soques de *Legionella* realitzat en mostres procedents de instal·lacions d'AFCH. Així, *Legionella pneumophila* serogrup 2-14 es va detectar tant sols en un 28,6% dels aïllaments (6 de 21), *Legionella pneumophila* serogrup 1 en un 14,3% dels aïllaments (3 de 21) mantenint-se en valors similars als trobats en l'ACS i *Legionella* spp incrementava considerablement representant el 57.1% de les soques aïllades (12 de 21).

<b>AIGUA CALENTA SANITÀRIA</b>				
<b>Codi Establiment</b>	<b>(vegades) Punt</b>	<b>Rang Temp. (°C)</b>	<b>Manteniment</b>	<b>Soca Legionella Màx-Min (ufc/L)</b>
1	Extrem terminal	42	Deficient	<i>Legionella</i> spp. 600 ufc/L
2	(3) Extrems terminals (2) Acumulador	39 - 42 °C 45 - 50 °C	Correcta	<i>Leg. pneumophila</i> serogrup 2-14 52050 - 100 ufc/L
3	Extrem terminal	50 °C	Suficient	<i>Leg. pneumophila</i> serogrup 2-14 500 ufc/L
4				
5				
6	(2) Acumulador	56 - 57 °C	Deficient	<i>Leg. pneumophila</i> serogrup 2-14 22000 - 3 ufc /L
7	(3) Extrems terminals	38 - 47 °C	Deficient	<i>Leg. pneumophila</i> serogrup 1 100 ufc /L <i>Leg. pneumophila</i> serogrup 2-14 6300 - 3000 ufc /L
8	Extrem terminal	46 °C	Suficient	<i>Leg. pneumophila</i> serogrup 2-14 730 ufc /L
9				
10	(3) Extrem terminal	40 - 54 °C	Deficient	<i>Leg. pneumophila</i> serogrup 2-14 3500 - 250 ufc /L
11	(6) Extrems terminals (2) Acumulador	45 - 52 °C 45 - 48 °C	Deficient	<i>Leg. pneumophila</i> serogrup 2-14 111000 - 400 ufc /L
12				
13	Extrem terminal	43 °C	Deficient	<i>Leg. pneumophila</i> serogrup 2-14 110 ufc /L
14	Extrem terminal Acumulador	42 °C 45 °C	Deficient	<i>Leg. pneumophila</i> serogrup 1 350 - 67 ufc /L
15	Extrem terminal	45 °C	Suficient	<i>Legionella</i> spp. 23053 ufc /L
16	(2) Extrem terminal Acumulador	50 - 52 °C 54 °C	Deficient	<i>Leg. pneumophila</i> serogrup 2-14 30 - 5 ufc /L
17	Acumulador	45 °C	Deficient	<i>Leg. pneumophila</i> serogrup 1 900 ufc /L
18	Extrem terminal	57 °C	Deficient	<i>Leg. pneumophila</i> serogrup 2-14 50 ufc /L
19	Acumulador	50 °C	Deficient	<i>Leg. pneumophila</i> serogrup 2-14 3750 ufc /L
20	Extrem terminal	46 °C	Correcta	<i>Leg. pneumophila</i> serogrup 1 1400 ufc /L

Taula 1. Resum dels aïllaments realitzats en l'aigua calenta sanitària en els 20 establiments positius per Legionella. (Manteniment Deficient: no es realitzen les revisions ni les neteges i desinfeccions)

que marca el R.D. 865/2003; Manteniment Suficient: es realitzen revisions, neteges i desinfeccions de la instal·lació però de forma incompleta o no seguint els protocols establerts per Sanitat; Manteniment Correcta: compleixen el R.D. 865/2003)

AIGUA FREDA DE CONSUM HUMA					
Codi Establiment	(vegades) Punt	Rang Temp. (°C)	Rang Cl <sub>LL</sub> (ppm)	Manteniment	Soca Legionella Màx-Mín (ufc/L)
1					
2	Extrem terminal	23 °C	0,3 ppm	Deficient	<i>Leg. pneumophila</i> serogrup 2-14 200 ufc/L
3					
4	Extrem terminal	15 °C	1 ppm	Correcta	<i>Legionella</i> spp. 650 ufc/L
5	Extrem terminal	23 °C	0 ppm	Deficient	<i>Leg. pneumophila</i> serogrup 2-14 1750 ufc/L
6					
7	(3) Extrems terminals	11 - 24 °C	0,1- 0,6 ppm	Deficient	<i>Leg. pneumophila</i> serogrup 1 12700 - 350 ufc /L <i>Leg. pneumophila</i> serogrup 2-14 2700 ufc /L
8	Extrem terminal	29 °C	0,3 ppm	Suficient	<i>Leg. pneumophila</i> serogrup 2-14 12 ufc /L
9	Dipòsit	22 °C	0,6 ppm	Suficient	<i>Legionella</i> spp. 5160 ufc /L
10	Extrem terminal	15 °C	1 ppm	Deficient	<i>Legionella</i> spp. 21100 ufc /L
11	(7) Extrems terminals (2) Dipòsits	17 - 25 °C 18 - 22 °C	0 - 0,6 ppm 0,2 ppm	Deficient	<i>Legionella</i> spp. 950 - 350 ufc / L <i>Leg. pneumophila</i> serogrup 1 11650 ufc /L <i>Leg. pneumophila</i> serogrup 2-14 5300 - 6 ufc / L
12	Extrem terminal	15 °C	0,4 ppm	Deficient	<i>Legionella</i> spp. 50 ufc /L
13					
14					
15	Extrem terminal	19 °C	0, 3 ppm	Suficient	<i>Legionella</i> spp. 500 ufc /L
16					
17					
18	Extrem terminal	15 °C	0 ppm	Deficient	<i>Legionella</i> spp. 27 ufc /L
19					
20					

Taula 2. Resum dels aïllaments realitzats en l'aigua freda de consum humà en els 20 establiments positius per Legionella. (Manteniment Deficient: no es realitzen les revisions ni les neteges i desinfeccions que marca el R.D. 865/2003; Manteniment Suficient: es realitzen revisions, neteges i desinfeccions de la instal·lació però de forma incompleta o no seguint els protocols establerts per Sanitat; Manteniment Correcta: compleixen el R.D. 865/2003)

Si bé estadísticament existeix una correlació positiva (Test ANOVA, p-level <0.05) pel que fa a l'aïllament de soques de *Legionella* spp en mostra procedents d'instal·lacions d'AFCH i soques de *Legionella pneumophila* serogrup 2-14 en mostres procedents d'instal·lacions d'ACS, el número d'aïllaments en que s'ha realitzat l'anàlisi estadístic és molt baix i caldria realitzar amb un major nombre de soques abans de extreure'n conclusions en ferm.

Finalment comentar que els períodes que foren més propicis en la detecció de *Legionella* varen ser els mesos d'abril i maig (primavera) en els que es realitzaren el 40% del total dels aïllaments i a la finals de l'estació d'estiu i inici de tardor (agost-setembre) amb el 34,54% del total dels aïllaments. Aquests resultats concorden amb el període de màxima incidència de legionel·losi a Catalunya que es produeix a finals de l'estiu i principis de tardor (Carmona et al. 2002). El pic d'aïllaments en els mesos d'abril i maig coincidien amb la detecció de *Legionella* en un elevat número d'establiments. Aquestes dades concorden amb l'inici d'activitat de molts d'aquests establiments, després d'un llarg període en que l'aigua de les instal·lacions ACS i AFCH ha estat estancada juntament amb un conjunt de situacions que afavoreixen el creixement i multiplicació de *Legionella*. Aquest resultats, posen en evidència la gran importància de realitzar una bona neteja i desinfecció de les instal·lacions d'ACS i AFCH abans de l'inici de l'obertura al públic (figura 1).

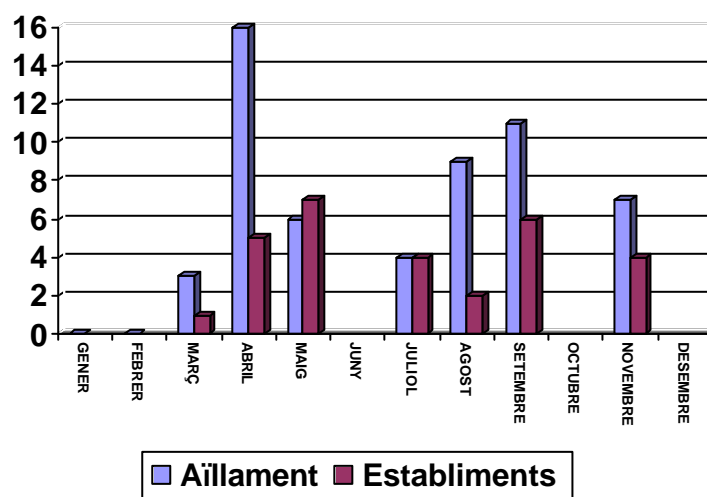


Figura 1. Número d'aïllaments de *Legionella* i establiments positius al llarg dels diferents mesos de l'any 2003. Al llarg de l'any, diferents establiments varen donar positius diversos cops.

En conclusió, els resultats obtinguts en aquest estudi corroboren les observacions realitzades per altres investigadors, que col·loquen aquests tipus d'establiments com a potencials fonts de contagi de legionel·la. Per tant, existeix la necessitat de que aquests tipus d'establiments compleixin la normativa vigent sobre la prevenció i control de la legionel·la i legionel·losi (R.D. 865/2003 i Decret 152/2002) i així, evitin que es donin les condicions òptimes en les seves instal·lacions d'ACS i AFCH perquè *Legionella* les colonitzi i s'hi multipliqui activament. La realització de controls analítics dirigits als punt crítics de les instal·lacions de l'aigua freda de consum humà i de l'aigua calenta sanitària i distribuïts al llarg de l'any, preferentment durant l'estació de la primavera i finals d'estiu - inici de tardor, seria una manera efectiva de dur un bon control de l'estat d'aquestes i en cas de detectar-se la presència de legionel·la poder actuar conseqüentment, minimitzant els riscos que en poden derivar de la seva presència a la instal·lació.



## REFERÈNCIES BIBLIOGRÀFIQUES

- Alexiou S.D., Antoniadis, A., Ppapaganagiotou, J., Stefanou, T. 1989. Isolation of *Legionella pneumophila* from hotels of Greece. *Eur. J. Epidemiol.* Vol **5(1)** p. 47-50
- Barry S. Fields, Robert F. Benson and Richard E. Besser (2002). *Legionella* and Legionnaires' Disease: 25 years of investigation. *Clin. Microbiol Rev.* Vol. **15 (3)**. p. 506-526
- Castellani P., Benedetti, P., Greco, D., Volpi, E., Billo, N., Fehrenbach F.J., Hohl P, Horbach, I., Wewalka, G. 1992. Six cases of travel-associated Legionnaires' disease in Ischia involving four countries. *Infection.* 1992 Vol. **20 (2)** p. 73-77
- Gloria Carmona, Neus Cardenoso i Àngela Domínguez (2002). Epidemiología descriptiva de la legionelosis. Catalunya 1997-2000. *Med. Clin (Barc)* 2002. **119 (Supl 2)**: 25-28
- Gotz, H.M., Tegnell, A., De Jong, b., Broholm, K.A., Kuusi, M., Kallings, I. and Ekdahl, K. (2001) A whirlpool associated outbreak of Pontiac fever at a hotel in Northern Sweeden. *Epidemiol. Infect.* Vol. **126(2)** p. 241-247
- Habicht, W. And Muller H.E. 1988. Occurrence and parameters of frequency of *Legionella* in warm water systems of hospitals and hotels in Lower Saxony. *Zentralbl. Bakteriol. Mikrobiol Hyg.* Vol **186(1)**: 79-88
- ISO 11731:1998 (F). Water Quality. Detection and enumeration of Legionella
- ISO 6222:1999. Water Quality. Enumeration of culturable micro-organisms. Colony count by inoculation in a nutrient agar culture medium
- Joseph, C., Morgan, D. Birtles R., Pelaz, C., Martin-bourgon C., Black, M., Gacia-Sanchez, I., Griffin M., Bornstein N. and Bartlett C. 1996. *Eur. J. Epidemiolo.* Vol. **12(3)** p. 215-219
- Real Decreto 865/2003, de 4 de Julio por el que se establecen los criterios higiénico-sanitarios para la prevenció y control de la legionelosis. BOE núm. 171. 18/07/2003
- Ricardo Murga; Terri Forster, Ellen Brown, Janet Pruckler, Barry Fields and Rodney Donlan (2001). Role of biofilm in the survival of *Legionella pneumophila* in a model potable water system. *Microb.* Vol. **147** p. 3121-3126
- Rosmini, F., Castellani, M., Mazotti, M.F., Forastiere, F., Gavaz, A., Greco, D., Ruckdeschel, G., Tartagni, E., Zampieri, A. and Baine, W.B. 1984. Febrile illness in successive cohorts of tourists at a hotelon the Italian Adriatic coast: evidence ofr a persistent focus of *Legionella* infection. *Am. J. Epidemiol.* Vol **119(1)** p. 124-34