

Legionelosis.

Pasado, presente y futuro

Miguel Sabria

Profesor Titular de Medicina

Universidad Autónoma de Barcelona

Director del Grupo de Estudio de la Legionelosis (GELeg - Investigación)

Hospital Universitario Germanos Trias i Pujol. Badalona

msabria@ns.hugtip.scs.es / 9429msl@comb.es Miguel Sabria

En 1976 se produce el brote que dio a conocer al mundo científico *Legionella pneumophila* (1). Previamente, en 1968 se había producido un brote de infección respiratoria, sin neumonía ni fallecimientos, en un edificio del Oakland County Health Department de Pontiac (Michigan) que afectó al 95% de las personas que trabajan en el mismo (2). El impacto mediático y el tiempo que los Centers for Disease Control dedicaron a su estudio fueron mucho menores. En 1976 la enfermedad incide en ex-combatientes legionarios alojados en el hotel Bellevue-Stratford de Filadelfia, afectó aproximadamente a 221 individuos y fallecieron 34 de ellos (3). Los primeros estudios realizados aplicando tinciones diversas en los tejidos de pacientes fallecidos, utilizando 14 medios bacteriológicos y micológicos distintos, y pruebas serológicas frente a 77 agentes infecciosos conocidos fracasaron (3). McDade, mediante la tinción de Gimenez de frotis del bazo de embriones de cobayos cuyos huevos fueron previamente inoculados con extracto de tejido pulmonar de pacientes fallecidos, observó por primera vez la presencia de bacilos gramnegativos. Mediante inmunofluorescencia indirecta demostró, asimismo, que el 90% de los pacientes del brote de Filadelfia habían desarrollado anticuerpos frente a estos microorganismos (4). James Feeley (5) desarrolla posteriormente un medio de crecimiento óptimo para *Legionella*, medio (BCYE) cuya base sigue siendo utilizada en nuestros días. Roger McKinney and William Cherry (3), usando cultivo bacteriano de muestras de pacientes fallecidos en el brote desarrollaron el primer antisuero marcado con fluoresceína para la visualización directa de la bacteria (inmunofluorescencia directa). En honor a los pacientes afectados y al tropismo de este microorganismo por el pulmón (*pneumophila*: "amante del pulmón") recibió el nombre *Legionella pneumophila*. Posteriormente, se reconoció que el brote de Pontiac estuvo causado por una especie distinta del mismo género *Legionella* (*Legionella micdadei*) (2).

Desde el brote de Filadelfia hasta mediados de los años 90 la enfermedad del legionario ha sido causa relativamente frecuente de **brotes** de neumonía en la comunidad, en hoteles y en hospitales. Se alerta sobre la existencia de casos esporádicos - no vinculados a ningún brote - pero su frecuencia es muy variable según el método de estudio y, en todo caso, el impacto

mediático es pequeño. En la mentalidad de la mayoría de profesionales de la salud *Legionella* se asocia a brotes. Durante este período se dispone de medios de cultivos para *Legionella* (alfa BCYE), y técnicas de inmunofluorescencia directa e indirecta. Métodos todos ellos con sensibilidad variable, no incorporados dentro de la metodología diagnóstica de muchas de las series sobre neumonías de la comunidad o hospitalarias, y no siempre disponibles en los laboratorios de muchos centros hospitalarios.

Durante este periodo se describen brotes comunitarios asociados a fuentes ornamentales (6), a aparatos de nebulización (7), a excavaciones (8) y muy especialmente a torres de refrigeración (9, 10,11). Los hoteles, especialmente los de la costa mediterránea, se implican con mucha frecuencia (12) hasta el punto de que se crea una comisión para el estudio de la legionelosis relacionada con los viajes (1987) dentro del recién estrenado *European Working Group for Legionella Infection* (EWGLI 1986)(13). Este hecho, así como el impacto mediático que genera la legionelosis en hoteles hace que dicha enfermedad se asocie fundamentalmente a zonas costeras y climas templados. Brotes como el de Alcalá de Henares (14) o, el más reciente, de Noruega (15), nos conciencian de que la dimensión de la enfermedad del legionario es probablemente mas amplia y no exclusivamente ceñida a la costa y al calor. En hospitales se describen asimismo brotes en enfermos de alto riesgo (especialmente trasplantados) y relacionados, fundamentalmente, con la exposición a agua sanitaria caliente (16,17). Las torres de refrigeración van perdiendo protagonismo con respecto a estos brotes. La mayor incidencia de legionelosis en pacientes sometidos a cirugía de cáncer de cabeza o cuello (18) u observaciones puntuales, como por ejemplo la transmisión de *Legionella* a través de cubitos de hielo (fabricados con agua contaminada con *Legionella*) (19), abren un debate no cerrado en la actualidad sobre la posibilidad de que la aspiración juegue un papel muy importante en la patogenia de la enfermedad (20).

Delante de todos estos hechos las autoridades sanitarias de distintos países sacan a la luz guías, normativas o decretos aplicables a las instalaciones de riesgo con el fin de controlar los brotes e intentar prevenir la aparición de nuevos (21, 22, 23,24). En Cataluña la enfermedad del legionario se incluye en el año 1987 dentro de las Enfermedades de Declaración obligatoria y aparece la primera Guía para la prevención de la enfermedad (25). En Estados Unidos se abre una polémica entre los *Center for Diseases Control and Prevention* (24) y el Departamento de Sanidad de l Condado de Allegheny (Pittsburg, Pensilvania) (26) con respecto a la necesidad de realizar estudios ambientales de *Legionella* en los hospitales. Mientras que los primeros señalan que hasta la aparición de un caso no deben hacerse investigaciones ambientales, los segundos defienden la investigación ambiental previa a la aparición de casos. Apostillan estos últimos que dicha enfermedad está infradiagnosticada (dificultad para llegar al diagnóstico) en muchos hospitales y que raramente es comunicada (temor al impacto mediático). De ahí que el conocimiento previo

de la contaminación ambiental conduciría a una mayor concienciación sobre la misma y repercutiría favorablemente sobre sus aspectos preventivos, diagnósticos y terapéuticos.

A partir de la segunda mitad de los años 90 se dispone de un nuevo test para el diagnóstico de la enfermedad del legionario. Se trata de una prueba que detecta el antígeno soluble de *Legionella* (AUL) en orina. Es una prueba simple, con muy buena sensibilidad (fundamentalmente para *Legionella pneumophila* serogrupo 1) y especificidad (27). La progresiva incorporación de esta técnica a los laboratorios de microbiología convierte la enfermedad de legionario en una infección mucho más frecuente de lo que realmente se suponía. En Europa, según datos del EWGLI, en 1999 se comunicaron 2136 casos, mientras que en 1998 y 1997 el número de casos comunicados fue de 1442 y 1360 (28). En Cataluña la incidencia de la enfermedad del legionario fue del 3.5/1000000 en 1999 (223 casos declarados), mientras que en 1990 se habían declarado solamente 15 casos (incidencia inferior al 0.1/100.000). Esta incidencia (en España 1.09 por 100.000 habitantes en 1999; 400 casos declarados aproximadamente, de los cuales más de la mitad corresponden a la comunidad catalana) es la más alta declarada en Europa (29). Cabe decir que esta comunidad fue de las pioneras en incluir la enfermedad del legionario dentro de las enfermedades de declaración obligatoria, que el test del AUL empezó a utilizarse en el año 1995, y que la mayoría de hospitales de Cataluña disponen y aplican este test a los casos de neumonía de la comunidad - y en menor frecuencia a las nosocomiales -diagnosticadas en ellos. En Inglaterra, donde la enfermedad no es de declaración obligatoria - no disponemos de datos sobre concienciación sobre la enfermedad y disponibilidad del test del AUL en los hospitales - se comunicaron 210 casos en 1999, de los cuales 70 se relacionaron con viajes al extranjero (30). Si hiciéramos caso de estos datos ello significaría que cada vez que en Inglaterra y Gales se diagnostica un caso de legionelosis, en Cataluña se diagnostican, aproximadamente, 12.

En la comunidad continúan describiéndose brotes, con mayor número de casos si cabe, gracias a la disponibilidad de la prueba del AUL. De todos ellos el reciente brote de Murcia ha sido el brote con mayor número de afectados y, probablemente, con menor morbilidad de todos los hasta ahora descritos (comunicación personal). En hoteles continúan denunciándose casos, no solo en la cuenca mediterránea, sino en hoteles de Alemania (31), Austria (32) Suecia (33), entre otros muchos. Igual ocurre en los hospitales (34, 35,36).

Sin embargo este periodo viene marcado por la toma de conciencia de que la forma **esporádica** de la enfermedad es más frecuente que la asociada a brotes. Así, de 655 casos declarados a la *Direcció General de Salut Pública* de la Generalitat de Catalunya entre 1992 y 1999, el 79.9% correspondían a casos esporádicos y el 16% a brotes. Los casos relacionados con hoteles fueron muy pocos (29).

La mayoría de series sitúan actualmente *Legionella* spp entre las 3 primeras causas de neumonías de la comunidad de origen bacteriano. Así Vergis, en una serie de 145 neumonías de la comunidad, donde aplicaron, sistemáticamente, cultivo en BCYE, serología y test del AUL, observaron una prevalencia de 13.7 % (37). Sopena en una serie de 392 enfermos adultos con neumonía de la comunidad atendidos en un hospital universitario encontró una prevalencia del 12.5%, siendo la enfermedad del legionario la segunda causa de neumonía (38)). En otras series de nuestro medio las frecuencias observadas oscilaron entre el 4.3% y el 12.5% (39, 40,41)

En los hospitales continúan asimismo describiéndose brotes. Sin embargo, recientemente, la existencia de casos esporádicos ha sido puesta en evidencia por estudios epidemiológicos, microbiológicos y de vigilancia clínica. Estudios retrospectivos realizados en varios hospitales de EEUU tras la aparición de brotes intrahospitalarios de la enfermedad del legionario (42, 43,44) demostraron la existencia previa de casos y alertaron sobre la posibilidad de infradiagnóstico - e infradeclaración - de esta enfermedad. Everts, tras un año de vigilancia activa de la neumonía nosocomial por *Legionella* en el Christchurch Hospital identifica 16 casos de legionelosis, siendo la causa mas frecuente de neumonía nosocomial diagnosticada en este centro (45). En un estudio de vigilancia activa de la neumonía nosocomial en el enfermo no ventilado (vigilancia activa de 7 días seguidos; 6 cortes al año durante dos años) realizado en 12 hospitales de España (con determinación del AUL en todos los casos) se detectaron 7 casos de neumonía nosocomial por *Legionella* en 5 hospitales (46)

La red de agua sanitaria de la mayoría de hospitales está contaminada por *Legionella*. Varios estudios así lo demuestran (47, 48, 49,50). En Cataluña, 17 de 20 hospitales estudiados entre 1995 y 1996 tenían *Legionella* en sus aguas (51). La presencia de *Legionella* en las aguas de los hospitales se asocia invariablemente a la aparición de casos con el tiempo (52). En 1999, de los 17 hospitales de Cataluña con cultivos ambientales positivos, 10 habían tenido casos de legionelosis. En el año 1996, solamente 2 reconocían haber tenido casos (53). La neumonía por *Legionella* en los hospitales incide fundamentalmente en el paciente no ventilado (excepto en aquellos casos en que se utilice agua contaminada para los equipos de terapia respiratoria), expuesto al agua sanitaria del hospital, bien a través de su ingesta, lavados de boca o sondas nasogástricas, o aerosolización de la misma. En el marco enorme del área de hospitalización general, con muchos servicios y facultativos implicados, las neumonías nosocomiales raramente son filiadas etimológicamente y excepcionalmente se solicitan pruebas diagnósticas para *Legionella* (la realización de pruebas invasivas es, asimismo, en este contexto excepcional). En EEUU, el 81% of 253 hospitals participantes en el *National Nosocomial Infections Surveillance System* reconocían no practicar rutinariamente pruebas para el diagnóstico de *Legionella* entre los pacientes con *alto riesgo* para desarrollar la enfermedad (54). Todavía más impactante: tan solo el 21 % de los hospitales que habían tenido previamente casos de legionelosis nosocomial estudiaban esta posibilidad de forma habitual en las muestras respiratorias

de enfermos con neumonías intrahospitalarias (55). En este contexto, diagnosticar una neumonía por *Legionella* en un hospital suele ser la excepción más que la regla. Solo la aparición de un brote con la positividad puntual del cultivo de una muestra de esputo (si se ha tenido la consideración de sembrarla en medios adecuados) alerta sobre esta problemática, que es muy probable que haya estado presente en dicho hospital durante varios años (en mayor o menor cuantía). Los hospitales deben conocer cual es su situación respecto a la colonización de las aguas por *Legionella* y en base a ello establecer medidas de prevención primaria, que si no erradican totalmente los casos, evitaren brotes y, lo más importante, servirán para diagnosticar y tratar correctamente a los enfermos.

Este mejor conocimiento de la enfermedad ha llevado también a una adecuación de las normativas. Así la Orden 1187/1998 de la Consejería de la Comunidad de Madrid, a raíz del brote de Alcalá de Henares, o el Decret de la Generalitat de Catalunya (a raíz del brote de la Barceloneta) regulan las condiciones higiénico sanitarias que deben reunir los aparatos de transferencia de aire y de humectación (56,57). Las recomendaciones de la Generalitat de Catalunya (1998) (58) o del Ministerio de Sanidad (1999) (59) son claros ejemplos de la preocupación de las autoridades sanitarias sobre este tema, que culminan, en el Estado español, con el Real Decreto 865/2003, de 4 de julio de 2003, por el que se establecen los criterios higiénicos sanitarios para la prevención y control e la legionelosis (60). Previamente se había editado la Guía *pel control i prevenció de la legionel.losis a Catalunya*, que constituye uno de los textos mas amplios e innovadores que sobre este tema existen en España. En Estados Unidos cabe señalar la excelente revisión de la *American Society of Heating, Refrigerating and Air Conditioning Engineers (ASHRAE): "Minimizing the risk of Legionellosis associated with Building System"* (61). Con respecto a los hospitales, el estado de *Maryland* (62) se suma a la iniciativa del *Allegheny County Health Department*. Los *Center for Disease Control and Prevention* reconocen que en unidades de trasplantados es recomendable hacer cultivos ambientales previa a la aparición de casos (63), y los países europeos se van sumando poco a poco a esta iniciativa (64,65). En nuestro país mientras que el Real Decreto no se pronuncia al respecto, *la Guía pel control i la prevenció de la Legionellosis a Catalunya* apuesta claramente por la prevención primaria en los centros hospitalarios y socio sanitarios (29).

El **futuro** de la enfermedad del legionario, como todos los futuros es imprevisible. Pero creemos que la convivencia con este problema va a ser muy prolongada. La irrupción en el mercado de nuevas pruebas de laboratorio se acompañará de un mayor número de diagnósticos. Se ampliará el espectro clínico de la enfermedad, mejorando nuestro conocimiento sobre la fiebre de Pontiac; *Legionellase* ira implicando en otros problemas respiratorios, como las exacerbaciones de enfermedades pulmonares crónicas (66), y se definirá mejor el alcance real de la infección neumónica. Nuevas especies de *Legionella* cobrarán mayor protagonismo y nuevos habitats y mecanismos de transmisión retarán nuestra capacidad para ser sorprendidos.

Al mismo tiempo, se modificarán y mejorarán las recomendaciones, normativas y decretos. Los nuevos diseños industriales tendrán en cuenta esta problemática y cualquier centro sanitario deberá contar con sistemas de desinfección de sus aguas más eficaces que los actualmente vigentes.

Pero los casos esporádicos de legionelosis continuarán. Los médicos pensarán más en *Legionella* y aplicarán técnicas diagnósticas sistemáticamente en todos los casos de neumonía; los tratamientos se instaurarán precozmente y el pronóstico de la enfermedad mejorará. Asistiremos a un progresivo descenso de los brotes y el impacto mediático de la enfermedad se reducirá.

Sin embargo, la desaparición de la enfermedad de legionario es tan utópica - en estos momentos - como intentar erradicar "definitivamente" *Legionella* de las bandejas de las torres de refrigeración o de los circuitos de agua sanitaria de grandes edificios. Por el contrario la erradicación o franca disminución de los brotes - en la comunidad y en los grandes edificios - es deseable, posible y debe ser nuestro objetivo. Para ello hay que ser consciente de que **los brotes siguen en el tiempo a casos esporádicos de enfermedad del legionario no diagnosticados o no estudiados epidemiológicamente**. Es fundamental diagnosticar la enfermedad; hay que declararla sistemáticamente a las autoridades sanitarias y deben estudiarse epidemiológicamente todos los casos con el fin de descubrir reservorios potenciales. Estos reservorios, en base a la legislación actual, deberían reducirse con el tiempo en número y potencial contaminante.

El miedo al impacto mediático debe perderse. Hay que hacer comprender a los medios de comunicación que convivir con casos esporádicos de *Legionella* será por el momento inevitable y que la lucha de todos, sanitarios y administración, se centrará fundamentalmente en evitar la aparición de brotes. Insistir en el diagnóstico de la enfermedad del legionario sólo comporta mejorar el acto terapéutico y estimular la vigilancia epidemiológica. Y esto es bueno para los enfermos y para la comunidad.

Bibliografía:

1. Fraser DW, Tsai TR, Orenstein W, Parkin WE, Beecham HJ, Sharrar RG, et al. Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia. *N Engl J Med* 1977; 297:1189-1197.
2. Gregg MB, Berman B, Mallison W, Rhodes WW, Kassanoff I. An epidemic of unknown etiology in a health department. I. Clinical and epidemiologic aspects. *Am J Epidemiol* 1978; 107:149-160
3. MacDade JE. Legionnaires' disease 25 years later: lessons learned. En *Legionella*, Marre R, Kwaik YA, Bartlett C, Cianciotto N, Fields BS, Frosh M, Hacker J, Lück PC eds. ASM Press Washington DC 2002:1-10
4. McDade JE, Shepard CC, Fraser DW, Tsai TR, Redus MA, Dowdle WR. Legionnaires' disease: isolation of a bacterium and demonstration of its role in other respiratory disease. *N Engl J Med* 1977; 297: 1197-1203.
5. Feeley JC, Gibson RJ, Gorman GW, Langford NC, Rasheed JK, Mackel DC, et al. Charcoal-yeast extract agar: primary isolation medium for *Legionella pneumophila*. *J Clin Microbiol* 1979; 10:437-441.
6. Hlady WG, Mullen RC, Mintz CS, Shelton BG, Hopkins RS, Daikos GL. Outbreak of Legionnaires' disease linked to a decorative fountain by molecular epidemiology. *Am J Epidemiology* 1993;138:555-562
7. Mahoney FJ, Hoge CW, Farley TA, Barbaree JM, Breiman RF, Benson RF, MacFarland LM. Communitywide outbreak of Legionnaires' disease associated with a grocery store mist machine. *J Infect Dis* 1992;165:736-739.
8. Caylà JA, Sala MR, Plasencia A, Beneyto V, Sureda V, Llorens M, Batalla J. Brote comunitario de enfermedad de los legionarios en Barcelona: investigación epidemiológica y medioambiental. *Med Clin (Barc)* 1989;93: 526-530.
9. Keller DW, Hajjeh R, DeMaria A, Fields BS, Pruckler JM, Benson RS, Kludt PE, Lett SM, Mermel LA, Giorgio C, Breiman RF. Community outbreak of Legionnaires' disease: an investigation confirming the potential for cooling towers to transmit *Legionella* species. *CID* 1996;22:257-261.
10. Addiss DG, Davis JP, LaVenture M, Wand PJ, Hutchinson MA, McKinney RM. Community-acquired Legionnaires' disease associated with a cooling tower: evidence for longer-distance transport of *Legionella pneumophila*. *Am J Epidemiol*. 1989;130:557-568.
11. Garbe PL, Davis BJ, Weisfeld JS, Markowitz L, Miner P, Garrity F, et al. Nosocomial Legionnaires' disease. Epidemiological demonstration of cooling towers as a source. *JAMA* 1985;254:521-524
12. An international investigation of an outbreak of legionnaires' disease among UK and french tourists. *Eur J Epidemiol* 1996;12:215-219
13. Anonymus. Epidemiology, prevention and control of legionellosis. Memorandum from a WHO meeting. *Bull WHO* 1990;68:155-164

14. Anònim. Informe del brote de neumonía por *Legionella* de Alcalá de Henares, Madrid, Abril de 1997. Boletín Epidemiológico Semanal 1997 (1); 5(14): 133-44.
15. Update on norway outbreak. *Legionella* E-news 3 de Diciembre de 2001 <http://www.hcinfo.com>
16. Edelstein PH, Nakahama C, Tobin JO, Calarco K, Beer KB, Joly JR, Selander RK. Paleoepidemiologic investigation of Legionnaires' disease at Wadsworth veterans administration hospital by using three typing methods for comparison of *Legionellae* from clinical and environmental sources. J Clin Microbio 1986;23:1121-1216.
17. Helms CM, Massanari RM, Wenzel RP, Pfaller MA, Moyer NP, Hall N. Legionnaire's disease associated with a hospital water system. A five-year progress report on continuous hyperchlorination. JAMA1988;259: 2423-2427
18. Johnson J.T., Best M, Goetz, A, Wicker H, Yu VL, Vickers RM et al. Nosocomial legionellosis in surgical patients with head-and-neck cancer: implications for epidemiological reservoir and mode of transmission. Lancet 1985;2:298-300
19. Graman PS, Quinlan GA, Rank JA. Nosocomial legionellosis traced to a contaminated ice machine. Infect Control Hosp Epidemiol 1997;18:637-640.
20. M. Sabrià and V.L. Yu. Hospital-acquired legionellosis: solutions for a preventable infection. Lancet Infect Dis 2002;2(6):368-373.
21. Standards Australia AS3666. Air-handling and water systems of buildings, microbial control. Sydney. Australia 1989
22. Department of Health (UK). The control of *Legionella* in health care premises. A code of practice. London: HMSO, 1991
23. Mesures de control dels sistemes d'aire i aigua: prevenció de la legionel·losi als centres sanitaris. Servei Català de la Salut 1994
24. Issues on prevention of nosocomial pneumonia. Center Diseases Control. Atlanta. USA 1994
25. Ordre de 16 de desembre de 1987, per la qual s'amplia la llista de Malalties de Declaració Obligatòria. DOGC 1987;931:4514.
26. Allegheny County Health Department. Approaches to prevention and control of *Legionella* Infection in: Allegheny County Health Care Facilities. 2ª ed. Pittsburgh, PA: Allegheny County Health Department; 1997:1-15.
27. JA Dominguez, J.M. Manterola, R. Blavia, N. Sopena, F.J. Belda, E. Padilla, M. Giménez, M. Sabrià, J. Morera, V. Ausina. Título: Detection of *Legionella pneumophila* Serogroup 1 Antigen in Nonconcentrated Urine and Urine Concentrated by Selective Ultrafiltration *Journal of Clinical Microbiology* 1996;34:2334-2336
28. WHO. Legionnaires' disease, Europe 1999. Wkly Epidemiol Rec 2000;75:347-52
29. Guia pel control i prevenció de la legionel·losi a Catalunya. Direcció General de Salut Pública. 2001

30. Anónimo. Public Health Laboratory Service. Legionnaires' disease cases. England and Wales residents, nosocomial, travel and community acquired 1980-1999. <http://www.phls.co.uk/facts/Legionella/leginNosTravCom.htm>
31. Muhlenberg W. Fatal travel-associated *Legionella* infection caused by shower aerosols in a German hotel. *Gesundheitswesen* 1993;55:653-656
32. Anonimo. *Legionella* from guests of Wels hotel indistinguishable from humidifier isolates. *Commun Dis Rep CDR Wkly* 2000;10:141
33. A whirlpool associated outbreak of Pontiac fever at a hotel in Northern Sweden *Epidemiol Infect* 2001;126:241-247
34. Breiman RF, Fields BS, Sanden GN, Volmer L, Spika JS. Association of shower use with Legionnaires' disease. Possible role of amoebae. *JAMA* 1990;263:2924-2926
35. Carratala J, Gudiol F, Pallares R, Dorca J, Verdaguer R, Ariza J et al. Risk factors for nosocomial *Legionella pneumophila* pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149:625-629
36. Center for Disease Control and Prevention. Sustained transmission of nosocomial Legionnaires disease-Arizona and Ohio. *MMWR* 1997;46:416-421
37. Vergis EN, Indorf A, File TM, Phillips J, Bates J, Tan J, Sarosi GA, Grayston T, Summersgill J, Yu VL. Azithromycin vs Cefuroxime plus erythromycin for empirical treatment of community-acquired pneumonia in hospitalized patients. *Arch Intern med.* 2000;160:1294-1300.
38. Sopena N, Sabrià M, Pedro-Botet ML et al. Prospective study of community-acquired pneumonia of bacterial etiology in adults. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999; 18:852-8
39. Ruiz M, Ewing S, Marcios MA, Martinez J, Aranciia F, Mensa J, Torres A. Etiology of community-acquired pneumonia. Impact of age, comorbidity and severity. *Am J Respiratory and Critical Care Med* 1999;160:397-405
40. Roson B, Carratalà J, Verdaguer R, Dorca J, Manresa F, Gudiol F. Prospective study of the usefulness of sputum gram stain in the initial approach to community-acquired pneumonia requiring hospitalization. *CID* 2000;31:869-874.
41. González MJ, Sesma P, García JF, Agulla A, Rodríguez M, Cacabelos F, Saavedra MP, Alvarez H y Pia G. Etiología de las neumonías comunitarias en Ferriol. IX Congreso de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). Santiago de Compostela. 2000.
42. Kool JL, Fiore AE, Kioski CM, Brown EW, Benson RF, Pruckler JM, Glasby C, Butler JC, Cage GC, Carpenter JC, Mandel RM, England B, Breimean RF. More than 10 years of unrecognized nosocomial transmission of Legionnaires' disease among transplant patients. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1998;19:898-904
43. Kool JL, Bergmire- Sweat D, Butler JC, Brown EW, Peabody DJ, Massi DS, Carpenter JC, Pruckel JM, Benson RF, Fields BS. Hospital characteristics associated with colonization of

- wate systems by *Legionella* and risk of nosocomial legionnaires' disease: a cohort study of 15 hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999 Dec; 20 (12) 798-805
44. Lepine LA, Jernigan DB, Butler JC, Pruckler JM, Benson RF, Kim G, Hadler JL, Cartter ML, Fields BS. A recurrent outbreak of nosocomial Legionnaires' disease detected by urinary antigen testing: evidence for long-term colonization of a hospital plumbing system. *Infect Control Epidemiol* 1998 Dec; 19 (12) 893-7
 45. Everts RJ, Murdoch DR, Chambers ST, Town GI, Withington SG, Martin IR et al. *NZ Med J* 2000; 113: 221- 224
 46. N. Sopena y NEUNOS 2000. Multicenter study on hospital acquired pneumonia in non ICU patients. Presented at the 41th Interscience Conference on Antimicrobial Agents Chemotherapy; December 2001; Chicago, Illinois Abstract K-1127
 47. Second Report of the Committee of Inquiry into the outbreak of Legionnaires' disease in Stafford in April 1985, London, England. Her Majesty's Stationery Office (HMSO); 1987.
 48. Alary M, Joly JR. Factors contributing to the contamination of hospital water distribution systems by *Legionellae*. *J Infect Dis* 1992; 165: 565-9
 49. Vickers RM, Yu VL, Hanna SS, Muraca P, Diven W, Carmen N et al. Determinants of *Legionella pneumophila* contamination of water distribution systems: 15 hospitals prospective study. *Infect Control* 1987;8:357-363
 50. Marrie T, Green P, Burbridge S, Bezanson G, Meale S, Hoffman PS, Haldane D. Legionellaceae in the potable water of Nova Scotia hospitals and Halifax residences. *Epidemiol Infect* (England) 1994;112: 50
 51. M. Sabriá, M. Garcia-Núñez, ML Pedro-Botet, N. Sopena, J. Gimeno, E. Reynaga, J. Morera and C. Rey-Joly. Presence and chromosomal subtyping of *Legionella* species in potable water systems in 20 Hospitals. [Infection Control and Hospital Epidemiology 2001;22:673-676](#)
 52. Yu VL. Resolving the controversy on environmental cultures for *Legionella*: A modest proposal. *Infect. Control Hosp. Epidemiol* 1998;19:893-897.
 53. Sabria M, Pedro-Botet ML, Modol JM, Sopena N, Reynaga E, Garcia-Núñez M, Rey-Joly C. Environmental legionellosis and Hospital acquired *Legionella* infection: a four year prospective study in twenty hospitals in Catalonia. Spain. Presented at the 41th Interscience Conference on Antimicrobial Agents Chemotherapy; December 2001; Chicago, Illinois Abstract K-1438
 54. Fiore AE, Butler JC. Detecting Nosocomial Legionnaires' disease. *Infect Med* 1998; 15:625-630,633-635.
 55. Muder Robert R, M.D, Janet E. Stout, PhD, Victor L. Yu, MD. Nosocomial *Legionella micdadei* infection in transplant patients: fortune favors the prepared mind. *Am J Med.* 2000 Mar;108(4):346-8.

56. Orden 1187/1998 de 11 de Junio, de la Consejería de Sanidad y Servicios Sociales de la Comunidad de Madrid, por la que se regulan los criterios higiénico- sanitarios que deben reunir los aparatos de transferencia de masa de agua en corriente de aire y aparatos de humectación para la prevención de la Legionelosis. Boletín Oficial Comunidad Autónoma de Madrid 19/6/1998 (nº: 144)
57. Decret 417/2000 de 27 de desembre pel qual s'estableixen amb caràcter d'urgència les condicions tecnicosanitàries aplicables als aparells i equips de transferència de massa d'aigua en corrent d'aire amb producció d'aerosols per a la prevenció de la legionel·losi. Diari Oficial de la Generalitat de Catalunya 12.01.2001 (nº 3304)
58. Departament de Sanitat i Seguretat Social. Protocol d'investigació i control de la legionel·losi. Barcelona: Generalitat de Catalunya, 1999.
59. Recomendaciones para la prevención y control de la Legionelosis. Ministerio de Sanidad y Consumo. 1999.
60. REAL DECRETO 865/2003, de 4 de julio, por el que se establecen los criterios higiénico-sanitarios para la prevención y control de la legionelosis. Boletín Oficial del Estado núm. 171 18 julio 2003
61. ASHRAE Standard. Minimizing the risk of Legionellosis associated with building water systems. Atlanta: Society of Heating, Refrigerating and Air-Conditioning Engineers, Inc. Guideline 12; 2000
62. State of Maryland. Department of Health and Mental Hygiene. Report of the Maryland Scientific Working Group to Study *Legionella* in Water Systems in Health care Institutions. June 14, 2000. <http://www.dhmd.state.md.us/html/legionella.htm>
63. Draft guideline for environmental infection control in healthcare facilities 2001. Centres for disease control and prevention. Healthcare infection control practices advisory committee (HICPAC). <http://www.heaton.org/CDCDraft.pdf>
64. Circulaire nº DGS/VS4/98/771 du 31 desembre 1998. Ministère de l'emploi et de la solidarité. France. Prévention de la contamination par *Legionella* dans les établissements de santé. <http://www.sante.gouv.fr/index.htm>
65. *Legionella* guidelines. Statens Serum Institut. The National Centre of Hospital Hygiene. Copenhagen. Denmark. 1998
66. Lieberman D, Lieberman D, Ben-Yaakob M, Lazarovich Z, Hoffman S, Ohana B et al. Infectious etiologies in acute exacerbation of COPD. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2001;40:95-102.