



«LEGIONELLA EN LOS SISTEMAS DE AGUA».

TRABAJO DE FIN DE GRADO
FARMACIA.

Alumna: Rocío Abrante Alonso

Tutora: Dra. M^a Ángeles Arias Rodríguez

Área de Medicina Preventiva y Salud Pública

CONVOCATORIA DE JUNIO

2019-2020



ÍNDICE.

1. RESUMEN.....	2
2. INTRODUCCIÓN.....	4
3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.....	8
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	9
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	10
5.1 EPIDEMIOLOGÍA.....	11
5.1.1 RESERVORIO	
5.2 MECANISMO DE TRANSMISIÓN Y SUJETO	
SUSCEPTIBLE.....	14
5.3 LEGIONELOSIS EN ESPAÑA Y EUROPA.....	16
5.4 PREVENCIÓN Y CONTROL.....	19
6. CONCLUSIONES.....	22
7. BIBLIOGRAFÍA.....	24

1. RESUMEN.

Introducción y objetivos: *Legionella* spp. son bacterias cuyo reservorio principal son los sistemas artificiales de agua. Producen la enfermedad denominada legionelosis, que es de transmisión respiratoria y de declaración obligatoria semanal. *Legionella pneumophila* es la especie causante de la mayor parte de los casos de esta enfermedad. El objetivo del trabajo fue profundizar en el estudio de la legionelosis y su relación con los reservorios acuáticos.

Resultados y discusión: la capacidad de supervivencia y multiplicación de esta bacteria en los reservorios acuáticos depende de la temperatura del agua, la limpieza de los dispositivos, la parasitación de diversos protozoos y su capacidad de formar biofilms. La legionelosis se produce cuando esta bacteria desde el reservorio se propaga en forma de aerosoles pudiendo penetrar en los pulmones de personas susceptibles y ser causante de casos esporádicos y brotes de neumonía comunitaria y hospitalaria. España es uno de los países europeos con más casos reportados. Esta enfermedad predomina en varones, grupos de mayor edad y en los meses finales de verano o principio de otoño. Es esencial la limpieza y mantenimiento de los dispositivos, junto a medidas como la hipercloración y el choque térmico del agua, para reducir el riesgo de transmisión de esta enfermedad.

Conclusión: la vigilancia y control de los reservorios acuáticos de esta bacteria es una actividad esencial de salud pública para poder disminuir la incidencia de legionelosis.

Palabras clave: *Legionella* spp., reservorio acuático, vigilancia y control, salud pública

SUMMARY.

Introduction and objectives: *Legionella spp.* are bacterias whose main reservoir is artificial water systems. They produce the disease called legionellosis, which is a weekly-reported respiratory transmitted disease. *Legionella pneumophila* is the species that causes most of the cases of this disease. The objective of this work was to delve into the study of legionellosis and its relationship with aquatic reservoirs.

Results and discussion: the survival and multiplication capacity of this bacteria in aquatic reservoirs depends on water temperature, the cleanliness of devices, parasitization of various protozoa and their ability to form biofilms. Legionellosis occurs when this bacteria spreads from the reservoir in the form of aerosols and penetrates the lungs of susceptible people causing sporadic cases and outbreaks pneumonia in communities and hospitals. Spain is one of the European countries with the most reported cases, and the disease is predominantly in males, in older age groups, and in the late summer or early fall months. Cleaning and maintenance of devices is essential, along with measures such as hyperchlorination and thermal shock, to reduce the risk of transmission of this disease.

Conclusion: the surveillance and control of the aquatic reservoirs containing this bacteria is essential in order to reduce outbreaks of legionellosis and protect public health.

Key words: Legionella, aquatic reservoir, surveillance and control, public health

2. INTRODUCCIÓN.

El término de legionelosis hace referencia a un conjunto de enfermedades infecciosas causadas por bacterias del género *Legionella*, que se encuentran ampliamente distribuida en los ecosistemas acuáticos de todo el mundo (ríos, lagos, fuentes termales, tierra húmeda y lodos, agua de lluvia, etc), donde es capaz de sobrevivir en un amplio intervalo de condiciones físico-químicas^{1,2}. La mayor parte de los casos de legionelosis se asocian con ambientes acuáticos creados o manipulados por el hombre, especialmente en aquellos en los que se producen aerosoles, por tanto, esta bacteria puede transmitirse vía aérea al penetrar en el organismo humano a través del sistema respiratorio, principalmente en personas susceptibles por edad o patologías previas^{1,3,4}.

El género *Legionella* incluye 53 especies y 3 subespecies. Son bacilos gramnegativos finos y pleomorfos que tienen un tamaño de entre 0,3 y 0,9×2 μm. Los microorganismos aparecen generalmente como cocobacilos cortos en los tejidos. Aproximadamente la mitad de estas especies se han implicado en la enfermedad humana, mientras que las restantes se encuentran en el medio ambiente. *L. pneumophila* es responsable del 90% de todas las infecciones^{4,5}.

Las bacterias del género *Legionella* pueden producir infecciones asintomáticas, las cuales son relativamente frecuentes e infecciones sintomáticas que afectan principalmente a los pulmones. Estas infecciones sintomáticas se relacionan con dos formas clínicamente diferenciadas de la enfermedad: la fiebre de Pontiac y la enfermedad del legionario⁶, cuyas características más importantes se muestran en la [tabla 1](#).

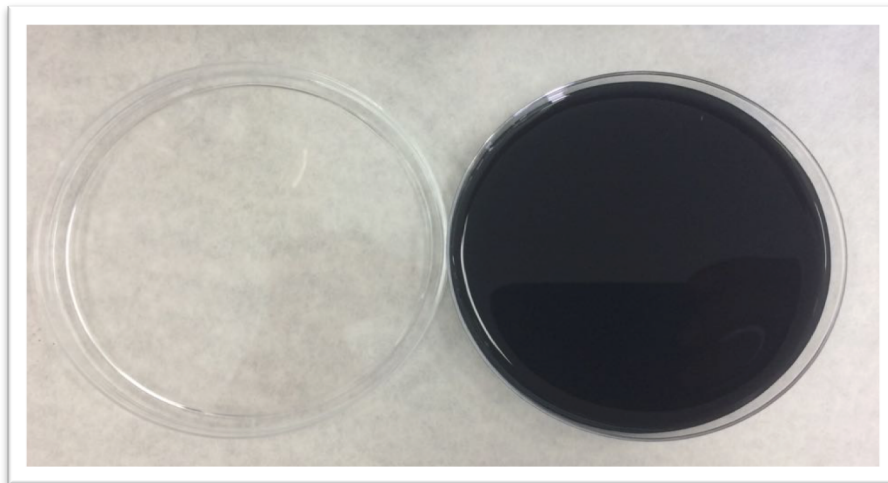
Tabla 1. Características de la fiebre de Pontiac y enfermedad del legionario.

Características	Fiebre de Pontiac	Enfermedad del legionario
Período de incubación	5h – 3 días (más comúnmente entre 24-48h)	2-10 días, raramente hasta 20 días
Duración	2-5 días	Semanas
Tasa de letalidad	Nula	Variable dependiendo de la susceptibilidad (15-30%); en pacientes hospitalarios puede alcanzar el 40-80%
Tasa de ataque	Hasta el 95%	0,1-5% de la población general 0,4-14% en hospitales
Síntomas y signos	<ul style="list-style-type: none"> - Enfermedad parecida a la gripe (de gripe moderada a grave) - Pérdida de fuerza (astenia), cansancio o fatiga - Fiebre (≈85% de los casos) y escalofríos - Dolor de cabeza (≈90% de los casos) - Tos seca (≈45% de los casos) - Dolor muscular (mialgias) (≈95% de los casos) - Dolor articular (artralgia) - Diarrea (≈20% de los casos) - Náuseas, vómitos (≈10% de los casos) - Dificultad respiratoria (disnea) - Manifestaciones del sistema nervioso central, tales como confusión (≈20% de los casos) 	<ul style="list-style-type: none"> - A menudo inespecíficos - Astenia - Tos seca no productiva (≈75%) - Fiebre alta (≈70% de los casos) y escalofríos. - Dificultad para respirar (disnea) (≈50%), dolor torácico - Manifestaciones del sistema nervioso central (confusión, delirios) (≈45%) - Bradicardia relativa (≈40%) - Dolor muscular (mialgias) (≈40%) - Dolor de cabeza (≈30%) - Diarrea (25-50%) - Náuseas, vómitos (10-30%) - Expectoraciones con trazas de sangra (hemoptisis) (≈20%) - Fallo renal - Hiponatremia (sodio sérico < 131 mmol/L) - Niveles de lactato deshidrogenasa > 700 unidades/ml - Fallo de respuesta a antibióticos betalactámicos o aminoglucósidos

Fuente: A.M Torres Cantero, F.J Campayo Rojas, J. Mendiola Olivares. Legionelosis. En: Elsevier Masson. Medicina Preventiva y Salud Pública. 12ª ed. Ámsterdam [etc.]: Elsevier Masson;2015. p.647-659⁶.

Los medios acuáticos artificiales son el principal reservorio de la bacteria, por ello, es de gran interés su detección en el agua. Los métodos disponibles de detección de *Legionella* en aguas incluyen el cultivo e identificación de la bacteria, el enzimoimmunoensayo (EIA) y la amplificación de un fragmento específico del genoma de la bacteria mediante técnicas de PCR. El aislamiento de la bacteria en cultivo es el método de referencia y se basa en la norma ISO 11731/98. Es el único método disponible que permite detectar cualquier especie y serogrupo de *Legionella*. El cultivo permite la realización de estudios posteriores, como las investigaciones epidemiológicas dirigidas a detectar las fuentes de infección causantes de los casos⁵. Son bacterias aerobias obligadas y presentan unas necesidades nutricionales exigentes. Requieren medios de cultivo suplementados con L-cisteína y su crecimiento se estimula por el hierro. En la *imagen 1* se observa el medio utilizado para el aislamiento de estas bacterias.

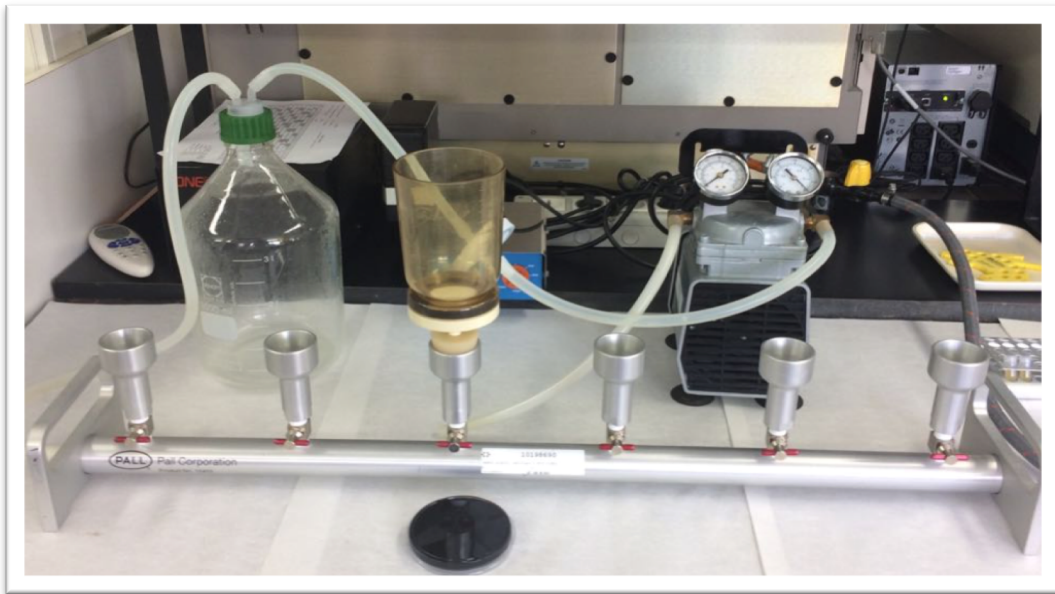
Imagen 1. Medio de cultivo BCYE α .



Fuente: Área de Medicina Preventiva y Salud Pública. ULL.

Previamente, es necesario filtrar 1 litro de las muestras de agua (*imagen 2*), quedando las bacterias retenidas en los filtros, que son cultivados en el medio de cultivo mencionado.

Imagen 2. Equipo de filtración por membrana para muestras de aguas.



Fuente: Área de Medicina Preventiva y Salud Pública. ULL.

Esta bacteria es una importante causa de casos esporádicos de neumonía comunitaria, a la vez que causa brotes en la comunidad y en establecimientos sanitarios relacionados con los sistemas acuáticos artificiales^{1,7,8}.

En España, la legionelosis es una enfermedad de declaración obligatoria desde 1995 (Real Decreto 2210/1995 de 28 de diciembre). Los casos y los brotes de legionelosis identificados en el Estado español se declaran desde los Servicios de Vigilancia Epidemiológica de las Comunidades Autónomas al Centro Nacional de Epidemiología, a través de la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica⁹.

3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.

La relevancia de esta enfermedad, desde el punto de vista de la salud pública, viene dada por su frecuente presentación en forma de brotes, tanto comunitarios como nosocomiales, su letalidad, especialmente en personas de edad avanzada o con otras patologías, su impacto en la economía, especialmente, en las comunidades autónomas con turismo y la posibilidad de prevención mediante el control de las instalaciones acuáticas artificiales que constituyen el principal reservorio de esta bacteria. En la actualidad es uno de los principales agentes patógenos en seguimiento y control de los servicios de sanidad ambiental de las comunidades autónomas y por los servicios de medicina preventiva hospitalaria.

Objetivo general:

- Profundizar en la relación de la legionelosis con los reservorios acuáticos y su importancia en salud pública

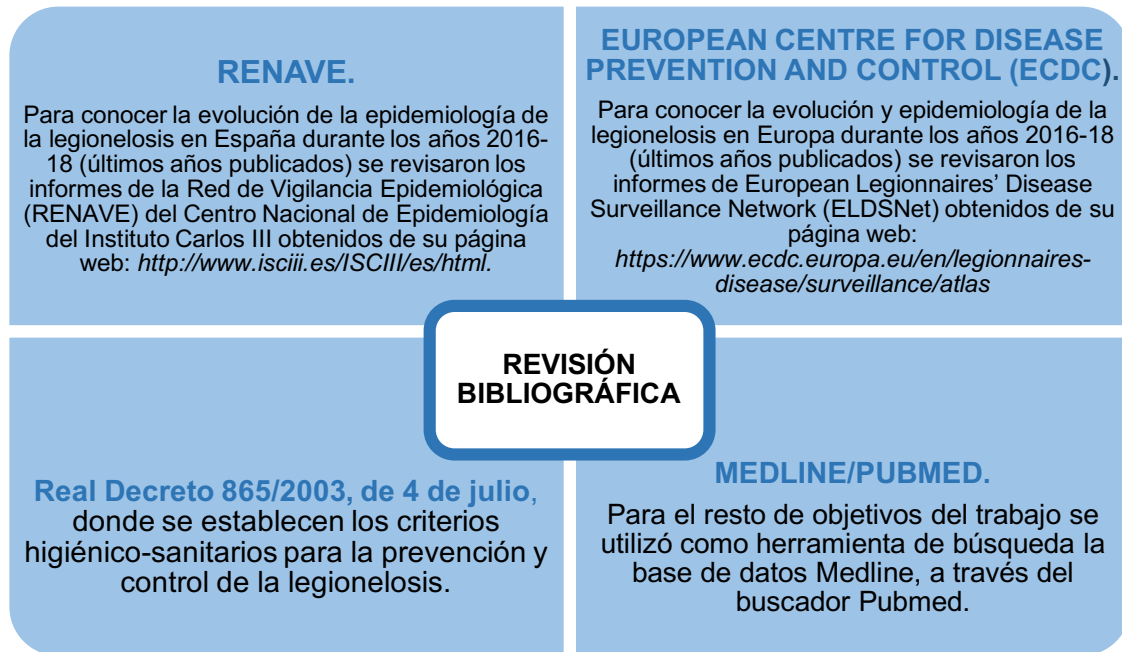
Objetivos específicos:

- Conocer el reservorio de este microorganismo en los sistemas de abastecimiento de aguas y otros medios acuáticos artificiales.
- Estudiar el mecanismo de transmisión y los factores de riesgo que favorecen la enfermedad en la población a partir de estos reservorios acuáticos.
- Conocer la evolución de los casos de esta enfermedad en España y en Europa, en el período 2016-2018.
- Conocer las medidas de prevención y control de esta enfermedad.

4. MATERIAL Y MÉTODOS.

Para la elaboración de este trabajo realizamos una revisión bibliográfica, dividida en cuatro apartados descritos en la siguiente figura 1:

Figura 1. Revisión bibliográfica.



Los **criterios de inclusión** fueron los siguientes:

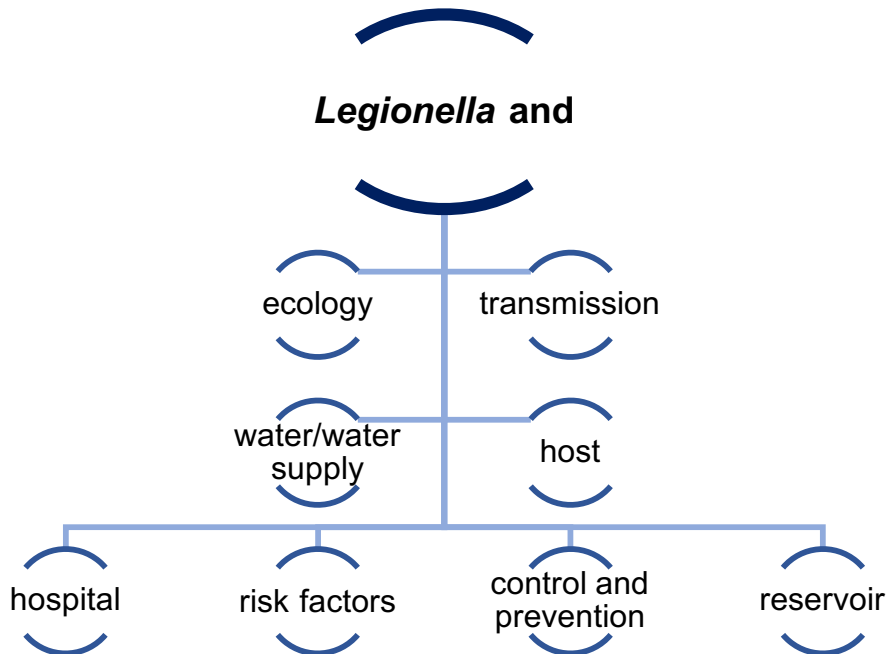
- ✓ Artículos en la base de datos indicada con anterioridad
- ✓ Publicados entre 2010 y la fecha actual
- ✓ En inglés y español
- ✓ Disponer del artículo completo, tanto originales como de revisión
- ✓ Estudios realizados en humanos

Los **criterios de exclusión** fueron:

- χ No disponer del artículo completo
- χ Artículos que no consideramos de interés para nuestro trabajo, una vez revisado el resumen

Se utilizaron los términos del Medical Subject Headings (MeSH), realizando las siguientes búsquedas, con las siguientes **palabras claves** de la figura 2:

Figura 2. Palabras claves utilizadas.



5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Los resultados de la búsqueda bibliográfica se observan en la siguiente figura 3 en la que se muestra como finalmente incluimos artículos de un total de 174 encontrados.

Figura 3. Resultados de la búsqueda de información.



5.1. EPIDEMIOLOGÍA:

5.1.1 RESERVORIO:

Legionella spp. son bacterias ubicuas y se encuentran naturalmente en lagos, ríos, arroyos y aguas termales^{10,11} y en sistemas artificiales acuáticos como piscinas, tanques y tuberías de agua, torres de enfriamiento y sistemas de aire acondicionado de edificios de viviendas, oficinas y en centros hospitalarios¹²⁻¹⁴.

Son capaces de sobrevivir en un pH neutro, ligeramente ácido y a una temperatura en un rango entre 25°C a 42°C, siendo su temperatura óptima de crecimiento entre 35-45°C¹⁵⁻¹⁷. *Legionella* spp. presentan la capacidad de vivir y proliferar en biofilms, especialmente en aguas estancadas al ponerse en contacto con la superficie de los sistemas artificiales de distribución y almacenamiento de aguas. Esta asociación presenta muchas ventajas para la bacteria, ya que le aporta más persistencia, diseminación, resistencia a los tratamientos de desinfección y un aumento de su virulencia, por lo que se ha relacionado con muchos brotes de legionelosis¹⁸⁻²⁰.

Así mismo, los protozoos funcionan como reservorios naturales de *Legionella* spp., ejerciendo de protección en las situaciones adversas, además de proporcionarle un nicho replicativo rico en nutrientes. Muchos patógenos se vuelven especializados en huéspedes concretos, sin embargo, esta bacteria se replica dentro de una gran gama de hospedadores, como por ejemplo, en los filos Amoebozoa, Percolozoa y Ciliophora. La asociación de bacteria con el protozoo provoca una mayor persistencia de esta a los reservorios ambientales y artificiales, por su mayor resistencia a la limpieza y desinfección de los sistemas acuáticos indican que la asociación establecida entre *L. pneumophila* y amebas en los sistemas de agua proporciona un mayor riesgo para la salud en áreas proximales del sistema (cerca del grifo) donde comúnmente se observan concentraciones más bajas de cloro libre y temperaturas más bajas^{15,19,21-23}.

Legionella se encuentra con frecuencia en instalaciones comunitarias de diferentes países y en distintas prevalencias. En la [tabla 2](#) se muestra la

prevalencia de *Legionella* spp. en instalaciones y sistemas acuáticos, según distintos estudios.

Tabla 2. Prevalencia de Legionella spp. en sistemas acuáticos artificiales.

Autor y año, país	Prevalencia (%)	Lugar de aislamiento
Napoli et al. 2010, Italia	44,7	Sistemas de aguas de consumo
Barna et al. 2016, Hungría	46,0	Agua caliente viviendas
Llewellyn et al. 2017, USA	47,0	Torres de refrigeración
Kuroki et al. 2017, Japón	6,5	Sistema de aguas de consumo
De Filippis et al. 2017; Italia	25,6 57,1 41,2	Duchas en piscinas - Hoteles - Centros deportivos
Collins et al. 2017; UK	31,0	Duchas viviendas
Kyritsi et al. 2018, Grecia	75,0	Agua caliente de hoteles
Dilger et al. 2018, Alemania	20,7	Sistemas de agua caliente
Valciņa et al. 2019; Letonia	12,0 54,0	En aguas frías de viviendas En aguas calientes
Paniagua et al. 2020, Canadá	11,0	Torres de refrigeración
Rhoads et al. 2020	6,7% antes de limpiar 3,3 después de limpiar	Grifos agua caliente viviendas

Esta bacteria se puede encontrar en sistemas de duchas, calderas, torres de refrigeración en hospitales, etc. Lo que la hace muy peligrosa por el tipo de pacientes ingresados y por la posible aparición de enfermedades relacionadas con la atención sanitaria.

En la tabla 3 se observa la prevalencia y tipo de instalación donde aparece *Legionella* en los hospitales.

Tabla 3. Prevalencia de *Legionella* spp. en hospitales.

Autor y año, país	Prevalencia (%)	Lugar de aislamiento
Fragou et al. 2012, Grecia	25,0	Torres de refrigeración
	48,0	Duchas de agua caliente
	21,0	Grifos de agua caliente
	33,0	Sistemas de agua caliente
	19,6	Puntos de agua fría
	49,0	Puntos de agua caliente
Velonakis et al. 2012, Grecia	70,6	Torres de refrigeración
	27,3	Sistemas de agua caliente
	8,2	Sistemas de agua fría
Yiallourous et al. 2013, Grecia	28,0	Humificadores
Laganá et al. 2014, Italia	33,0	Grifos de agua caliente
Garner et. Al. 2016, Estados Unidos	58,0	Grifos de agua corriente
Yoshida et al. 2018, Japón	-	Lavaplatos
Bédard et al. 2019, Canadá	32,0	Puntos de agua caliente
Vicenti et al. 2019, Italia	8,4	Puntos de agua caliente

Podemos observar que en la mayoría de los casos el aislamiento se produce en los sistemas de agua caliente. En el crecimiento y sobre todo en la persistencia de *Legionella* spp. en entornos sanitarios, pueden influir varios factores, como son: una temperatura óptima, el estancamiento de las aguas, la formación de biofilm, material contaminado, eficacia de desinfectantes y la calidad del agua^{2,12,40,41}.

5.2 MECANISMO DE TRANSMISIÓN Y SUJETO SUSCEPTIBLE.

En esta enfermedad no se han informado casos de transmisión interhumana y el medio ambiente puede representar la única fuente de infección⁵⁰. *Legionella* spp. tiene una ruta de transmisión del agua al aire, ya que por lo general la bacteria reside y crece en los sistema de agua, sin embargo, esta debe aerosolizarse, ya que la infección se transmite por vía aérea a través de la inhalación de aerosoles o gotitas respirables que contienen *Legionella* o bien por microaspiración de agua contaminada⁴². Las fuentes de aerosoles más comunes son: torres de enfriamiento, aire acondicionado, sistemas de agua fría y caliente, humidificadores e instalaciones de hidromasajes^{24,25,31}.

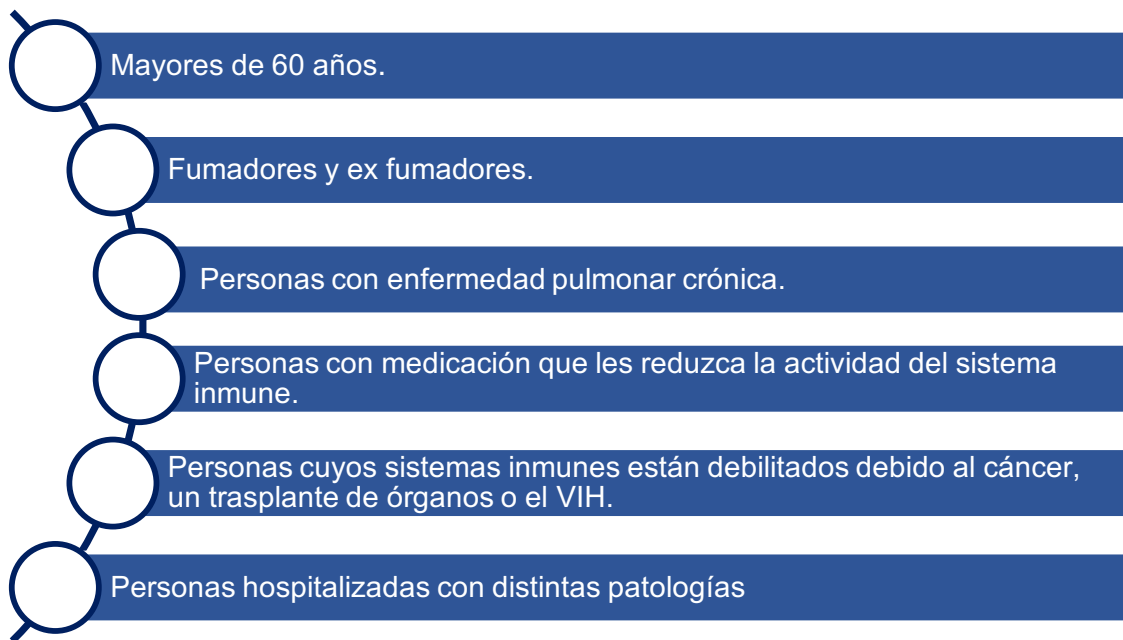
La mayoría de los casos nosocomiales están ligados a la inhalación o aspiración de los pacientes de agua potable contaminada, normalmente en las duchas de agua caliente, aunque también se ha relacionado estas infecciones con fuentes decorativas, humidificadores y torres de enfriamiento^{39,43,44}.

En el cuerpo humano, una vez que se haya dado este proceso de inhalación o aspiración de aerosoles con *Legionella* spp., estas bacterias llegan a los pulmones y son fagocitados por los macrófagos alveolares, originando la destrucción y necrosis de los mismos, pudiendo producir distintas patologías, especialmente neumonías graves⁴.

SUJETO SUSCEPTIBLE:

Legionella spp. es un patógeno oportunista⁴. Se reconoce como la causante de importantes neumonías adquiridas en la comunidad, esporádicas, epidémicas y que afectan a todos los grupos de edad, en huéspedes sanos e inmunodeprimidos. Los grupos de mayor vulnerabilidad y por tanto, con mayor probabilidad de contraer la enfermedad se observan en el gráfico 1⁴⁵.

Gráfico 1. Grupos de mayor vulnerabilidad.



Además la neumonía causada por *Legionella* spp. es muy frecuente en el fracaso temprano causado por un tratamiento inadecuado, por lo que muchos pacientes pueden requerir ingresos en la unidad de cuidados intensivos (UCI)^{46,47}.

En las infecciones relacionadas con la atención sanitaria agravan el proceso de los pacientes ingresados e incrementa su mortalidad y complica y encarece su asistencia sanitaria^{2,48}.

5.3 LEGIONELOSIS EN ESPAÑA Y EN EUROPA.

En la tabla 4 se pueden observar los datos de España y de las Comunidades Autónomas.

Tabla 4. Casos notificados por comunidades autónomas y tasa por 100.000 habitantes por Legionelosis. España 2016 -2018.

Comunidades	2016		2017		2018	
	Casos	Tasas	Casos	Tasas	Casos	Tasas
Andalucía	127	1,51	141	1,68	143	1,70
Aragón	35	2,66	55	4,18	74	5,62
Asturias	25	2,41	35	3,40	42	4,10
Baleares	53	4,63	36	3,11	52	4,42
Canarias	16	0,75	7	0,32	20	0,91
Cantabria	25	4,30	19	3,27	30	5,16
Castilla y León	21	0,86	51	2,10	51	2,12
Castilla La Mancha	41	2,01	41	2,02	50	2,46
Cataluña	279	3,76	337	4,52	421	5,60
Comunidad Valenciana	129	2,61	207	4,20	216	4,37
Extremadura	21	1,94	14	1,30	10	0,94
Galicia	61	2,25	83	3,07	79	2,93
Madrid	52	0,81	90	1,38	116	1,76
Murcia	19	1,29	31	2,10	31	2,10
Navarra	13	2,04	21	3,28	31	4,80
País Vasco	72	3,32	102	4,71	118	5,43
Rioja (La)	4	1,28	10	3,20	22	7,04
Ceuta	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Melilla	0	0,00	1	1,18	0	0,00
Extracomunitarios	27	-	57	-	27	-
SUBTOTAL	1.020	2,20	1.338	2,88	1.533	3,28
Importados	14	-	31	-	24	-
Residentes en el extranjero			155	-	74	-
TOTAL	1.034	-	1.524	-	1.631	-

Fuente: Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE)⁴⁹.

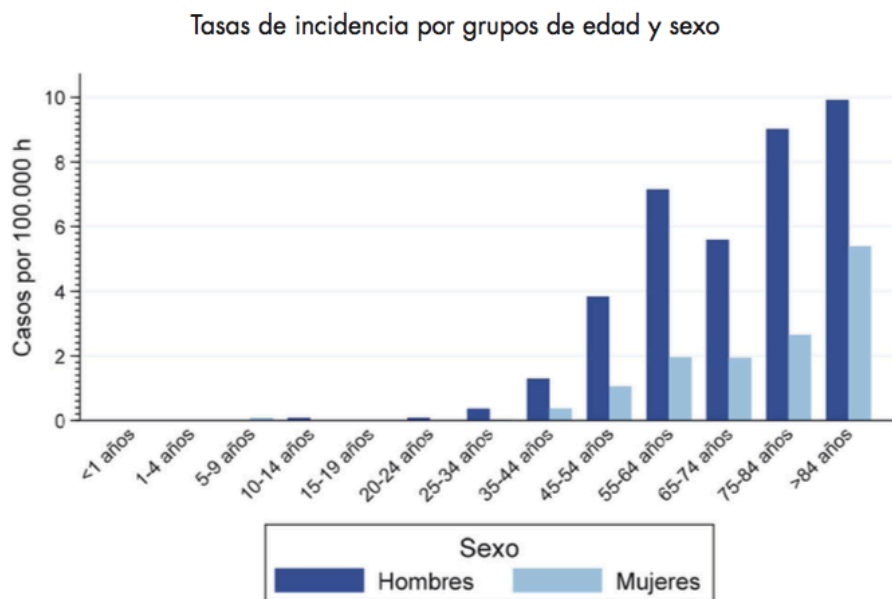
En cuanto a la epidemiología de la Legionelosis ha habido un claro aumento de casos desde el año 2016 con 1.034 casos hasta 2018 con 1.631. Las

comunidades autónomas más afectadas por esta enfermedad, en los años estudiados, fueron por orden descendente: Cataluña, Comunidad Valenciana, País Vasco y Madrid. Canarias, en el período de estudio presentó una incidencia de enfermedad baja con respecto al resto del territorio nacional.

El informe del año 2016 (más reciente publicado) destaca que la enfermedad claramente tiene una distribución estacional, ya que el 50% de los casos se notificaron en septiembre (161 casos) y octubre (141 casos). Aunque hay notificaciones de la enfermedad durante todo el año, la mayor parte de los casos esporádicos y brotes comunitarios se produce a finales del verano y el otoño, debido presumiblemente a que el microorganismo prolifera mejor en los reservorios acuáticos durante los meses de calor. Del total de 1.034, hubieron 945 casos autóctonos, 14 casos fueron importados y 75 casos se dieron en turistas. La incidencia fue superior en los hombres, ya que la enfermedad afectó a 684 hombres de los 945 casos y solo a 259 mujeres, cabe destacar que en dos casos no se dio el sexo de la persona⁴⁹.

En el informe también consta que la enfermedad predomina en las últimas décadas de la vida, como se muestra en esta figura 4:

Figura 4. Tasas de incidencia por grupos de edad y sexo (2016).



Fuente: Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE)⁴⁹.

Según el European Centre For Disease Prevention and Control ECDC el 68% de todos los casos notificados en 2016 lo hicieron por Italia, Francia, España y Alemania.

Los Países del Este y Sudeste de Europa los que menos casos notifican. Además, según el informe en 2017 del Centro Europeo para la Prevención y el Control de Enfermedades la tendencia en Europa es de un aumento de los casos, como se muestra en la tabla 5^{50,51}.

Tabla 5. Distribución de casos y tasas de Legionelosis por 100.000 habitantes por país y año, UE / EEE, 2016–2018.

País	2016		2017		2018	
	Casos	Tasas	Casos	Tasas	Casos	Tasas
Austria	161	1,85	219	2,50	237	2,70
Bélgica	157	1,39	235	2,07	270	2,38
Bulgaria	0	0,00	2	0,03	11	0,15
Croacia	31	0,74	33	0,79	43	1,04
Chipre	3	0,35	1	0,12	5	0,58
República Checa	147	1,39	217	2,05	231	2,18
Dinamarca	170	2,98	278	4,84	264	4,59
Estonia	14	1,06	16	1,22	18	1,37
Finlandia	15	0,27	27	0,49	24	0,44
Francia	1218	1,83	1630	2,43	2133	3,18
Alemania	973	1,18	1277	1,55	1442	1,75
Grecia	31	0,29	43	0,40	65	0,60
Hungría	66	0,67	62	0,63	74	0,76
Islandia	3	0,90	3	0,89	5	1,48
Irlanda	10	0,21	25	0,52	25	0,52
Italia	1733	2,86	2037	3,36	2962	4,89
Letonia	24	1,22	31	1,59	37	1,90
Lituania	11	0,38	14	0,49	21	0,74
Luxemburgo	3	0,52	9	1,52	10	1,69
Malta	8	1,78	11	2,39	13	2,82
Países bajos	454	2,67	561	3,28	584	3,42
Noruega	43	0,83	52	0,99	69	1,31
Polonia	24	0,06	38	0,10	70	0,18
Portugal	197	1,90	232	2,25	211	2,05
Rumanía	2	0,02	19	0,10	62	0,32
Eslovaquia	14	0,26	14	0,26	54	0,99
Eslovenia	93	4,51	117	5,66	160	7,74

España	951	2,05	1363	2,93	1513	3,25
Suecia	145	1,47	189	1,89	198	1,98
Reino Unido	383	0,59	504	0,77	532	0,81
TOTAL UNIÓN EUROPEA	7084	1,37	9259	1,79	11343	2,19

Fuente: Centro Europeo para la Prevención y el Control de Enfermedades (ECDC)^{50,51}

Hay una ligera discrepancia entre los datos que se muestran en el informe RENAVE y los que indican el Centro Europeo para la Prevención y el Control de Enfermedades, ya que en el informe RENAVE se contabilizaron más casos que en el informe Europeo. También en Europa los casos predominan en el género masculino y en las últimas décadas de la vida.

5.4 PREVENCIÓN Y CONTROL.

El desarrollo de la enfermedad depende principalmente de la intensidad de la exposición a los aerosoles y la de la susceptibilidad de las personas expuestas. Para reducir o eliminar el riesgo de adquirir la enfermedad o potenciar un brote de la misma, es necesario minimizar las concentraciones de *Legionella spp.* en los sistemas acuáticos y prevenir la transmisión de la bacteria a sujetos susceptibles. La cuestión más importante para prevenirla es el mantenimiento adecuado de los sistemas de agua, además de controlar e investigar los casos de neumonía nosocomial, para poder saber en qué situaciones se produce la transmisión^{7,52-54}.

Legionella spp. puede ser resistente a los tratamientos de agua convencionales como son algunos desinfectantes, biocidas, iones de cobre, etc. Además, la reproducción de *Legionella spp.* en el agua potable depende del mantenimiento del sistema, de si son o no huéspedes de amebas de vida libre, ya que dentro de ellas pueden proliferar y resistir la desinfección térmica y química⁵⁴⁻⁵⁶.

En general, los tratamientos térmicos y los tratamiento con cloro son los procedimientos más utilizados para controlar y prevenir la proliferación de *Legionella spp.* en los sistemas de agua potable^{23,52,55}.

En instalaciones que recolectan agua y pueden generar aerosoles es importante considerar los tratamiento que minimicen la supervivencia y la multiplicación de la bacteria^{52,57} (tabla 6).

Tabla 6. Principales tratamientos para minimizar la supervivencia y multiplicación de *Legionella* spp. en instalaciones que recolectan y distribuyen agua.

Control de la temperatura	Aumento de la temperatura 70°C-80°C asegurando que esta agua circulará en el sistema durante dos o tres días consecutivos, además, garantizar que la temperatura en los puntos más alejados no fuera menor de 60°C ^{48,52,54,58} .
Filtración (Point-of use) (POU)	Son dispositivos para tratar pequeñas cantidades de agua (grifos, duchas, fregaderos...). El sistema debe ser impulsado por vacío o presión ^{52,59} .
Dióxido de cloro	Desinfectar con este producto es altamente eficiente y no es costoso, aunque no erradica a <i>Legionella</i> spp. completamente del sistema. Es efectivo para controlar el sabor y el color del agua. Su única desventaja es que puede provocar corrosión en tuberías de hierro ^{41,52,54,58} .
Cloración	El cloro libre se utiliza principalmente a concentraciones bajas (0,2 mg/L) para el mantenimiento de los sistemas de agua, siempre teniendo una concentración de este continua. Sin embargo, también se puede usar a dosis altas en situaciones de emergencia, cuando existe un brote, que es lo que se conoce como la hipercloración ^{52,54,60} .
Cloraminación (monocloroamina)	La monocloroamina se forma al agregar amoníaco al agua que contiene cloro libre residual. En comparación con la cloración, este tratamiento es más estable y eficaz. La desventaja de utilizar este tratamiento es que puede provocar el crecimiento de mycobacterias, además, puede atacar a componentes de caucho y plástico ^{52,55,58} .
Ionización cobre-plata	Las cámaras de ionización se han utilizado con éxito para controlar el crecimiento de <i>Legionella</i> spp. Esta ionización no se ve afectada por las altas temperaturas, sin embargo, sí se ve afectada por la presencia de iones cloruro y por la presencia de productos químicos anticorrosivos (fosfatos), además también se ha notificado resistencia por parte de estas bacterias a los iones cobre-plata ^{52,60} .
Radiación de luz ultravioleta (UV)	Estos sistemas esterilizan y matan a la bacteria, es bastante eficaz y no tiene efectos adversos en el agua o en el sistema de tuberías. La desventaja es que no es eficaz con la eliminación del biofilm ^{52,58,60} .
Ozonización	La ozonización como tratamiento es más efectivo que los anteriormente nombrados, sin embargo, es muy difícil mantener niveles residuales significativos en todo el sistema, además puede dañar las tuberías ^{52,61} .

En el ámbito hospitalario para reducir este tipo de infecciones lo que se recomienda es mantener las temperaturas elevadas en todo el sistema de distribución de agua caliente y evitar o minimizar el estancamiento de ésta para que haya una circulación óptima². Sin embargo, en hospitales grandes o con sistemas antiguos de distribución de agua resulta difícil mantener estas condiciones. Además, es importante que estas instalaciones se usen a diario, ya que independientemente de que los otros dos puntos (mantenimiento de temperatura y circulación) se cumplan, se ha visto que la presencia de *Legionella* spp. es mayor en los puntos que no se usan a diario, por lo que sería relevante que se complementara con otros métodos de desinfección^{62,63}. Algunos autores indican la necesidad del uso de filtros en habitaciones de pacientes especialmente susceptibles y la utilización de agua estéril en las unidades de diálisis¹².

La vigilancia y control de estos sistema acuáticos es una medida fundamental para salvaguardar la salud pública. En el Real Decreto 865/2003, de 4 de julio, se establecen los criterios higiénico-sanitarios para la prevención y control de la legionelosis. En este se indica la clasificación de las instalaciones comprometidas con casos o brotes de esta enfermedad, en función de la probabilidad de desarrollo y diseminación. Además, se recoge la necesidad de comprender el funcionamiento de las instalaciones implicadas y su mantenimiento, la notificación de los casos, estudios epidemiológicos e inspecciones ambientales. También se incluye parámetros indicadores de la calidad de las aguas, medidas de prevención y actuación que se deberá realizar según los niveles de contaminación, e infracciones y sanciones cuando existen incumplimientos⁶⁴.

CONCLUSIONES.

1. El reservorio principal de las especies de *Legionella* son los sistemas acuáticos artificiales, donde sobreviven y se multiplican dependiendo de la temperatura del agua, parasitación de distintos protozoos y de la formación de biofilms.
2. *Legionella* spp. se aíslan con elevada frecuencia en los sistemas acuáticos artificiales a nivel mundial, principalmente en circuitos de agua caliente y torres de refrigeración, tanto a nivel comunitario como hospitalario.
3. La legionelosis se transmite por vía aérea a través de la inhalación de aerosoles o gotitas pequeñas respirables que contienen a la bacteria. Se presenta en forma de casos esporádicos y de brotes epidémicos.
4. La enfermedad puede ocurrir en individuos inmunocompetentes, pero aparece con mayor frecuencia en los que presentan determinados factores de riesgo como tabaquismo, edad avanzada, enfermedades crónicas y tratamiento inmunosupresor.
5. En los hospitales produce infecciones relacionadas con la atención sanitaria, lo que dificulta el tratamiento de los pacientes, empeora su pronóstico e incrementa los días de estancia y su mortalidad.
6. España es uno de los países europeos con mayor tasa de casos. En las Comunidades Autónomas existen variaciones de incidencia de la enfermedad según el año estudiado. Canarias, en el período de estudio presentó una incidencia de enfermedad baja con respecto al resto del territorio nacional.
7. La incidencia de esta enfermedad es mayor en hombres, aumenta con la edad y muestra un predominio estacional en verano y otoño, debido a que el microorganismo prolifera mejor en los reservorios acuáticos durante los meses de calor.
8. Para reducir o eliminar el riesgo de adquirir la enfermedad, es necesario minimizar las concentraciones de *Legionella* spp. en los sistemas acuáticos y prevenir la transmisión de la bacteria a sujetos susceptibles.
9. El control de los reservorios debe realizarse mediante una correcta higiene y desinfección de las instalaciones. Los métodos de hipercloración

y choque térmico son los más efectivos y los recogidos por la legislación española.

10. Las actividades de vigilancia y control de los reservorios acuáticos, realizadas por los servicios de salud pública comunitarios y hospitalarios, son esenciales para poder disminuir la incidencia de la legionelosis.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Rose JB and National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine; Health and Medicine Division; Division on Earth and Life Studies; Board on Population Health and Public Health Practice; Board on Life Sciences; Water Science and Technology Board; Committee on Management of Legionella in Water Systems. Management of Legionella in Water Systems. Washington (DC): National Academies Press (US); 2019.
2. Bédard E, Fey S, Charron D, Lalancette C, Cantin P, Dolcé P, Laferrière C, Déziel E, Prévost M. Temperature diagnostic to identify high risk areas and optimize Legionella pneumophila surveillance in hot water distribution systems. *Water Res.* 2015 Mar 15;71:244-56. doi: 10.1016/j.watres.2015.01.006.
3. Cercenado E, Cantón R. Procedimientos en Microbiología Clínica [Internet]. SEIMC. [2005] – citado 25 Marzo 2020. Disponible en: https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientos_microbiologia/seimc-procedimientomicrobiologia20.pdf. Acceso: 25/03/2020.
4. Nisar MA, Ross KE, Brown MH, Bentham R, Whiley H. Legionella pneumophila and Protozoan Hosts: Implications for the Control of Hospital and Potable Water Systems. *Pathogens.* 2020;9(4). pii: E286. doi: 10.3390/pathogens9040286.
5. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Legionella. En: Elsevier. *Microbiología médica*. 7ª edición. Barcelona: Elsevier España; 2014. p.317-321.
6. Torres Cantero A, Campayo Rojas F, Mediola Olivares J. Legionelosis. En: Piédrola Gil G, Fernández-Crehuet Navajas J, Gestal Otero J, Delgado Rodríguez M, Bolúmar Montrull F, Herruzo Cabrera R, et al. ed. *Medicina preventiva y salud pública*. 12th ed. Barcelona: Elsevier Masson; 2015. p. 647-660.
7. Cunha BA, Burillo A, Bouza E. Legionnaires' disease. *Lancet.* 2016 Jan 23;387(10016):376-385. doi: 10.1016/S0140-6736(15)60078-2.

8. Herwaldt LA, Marra AR. Legionella: a reemerging pathogen. *Curr Opin Infect Dis.* 2018 Aug;31(4):325-333. doi: 10.1097/QCO.0000000000000468.
9. Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE). Sistema EDO: Enfermedades de declaración obligatoria. Disponible en: <https://www.isciii.es/VigilanciaSaludPublicaRENAVE/EnfermedadesTransmisibles/Paginas/Legionelosis.aspx>. Acceso: 26/2/2020.
10. Bargellini A, Marchesi I, Righi E Parameters predictive of Legionella contamination in hot water systems: association with trace elements and heterotrophic plate counts. *Water Res.* 2011; 45(6):2315-2321. doi:10.1016/j.watres.2011.01.009.
11. Allegra S, Girardot F, Grattard F. Evaluation of an immunomagnetic separation assay in combination with cultivation to improve Legionella pneumophila serogroup 1 recovery from environmental samples. *J Appl Microbiol.* 2011;110(4):952-961. doi:10.1111/j.1365-2672.2011.04955.x
12. Borella P, Bargellini A, Marchegiano P, Vecchi E, Marchesi I. Hospital-acquired Legionella infections: an update on the procedures for controlling environmental contamination. *Ann Ig.* 2016;28(2):98-108. doi: 10.7416/ai.2016.2088.
13. Kao PM, Hsu BM, Chang TY, Hsu TK, Tzeng KJ, Huang YL. Seasonal variation of Legionella in Taiwan's reservoir and its relationships with environmental factors. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2015;22(8):6104-6111. doi:10.1007/s11356-014-3819-2.
14. Khaledi A, Bahrami A, Nabizadeh E, Amini Y, Esmaeili D. Prevalence of Legionella Species in Water Resources of Iran: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Iran J Med Sci.* 2018;43(6):571-580.
15. Hilbi H, Hoffmann C, Harrison CF. Legionella spp. outdoors: colonization, communication and persistence. *Environ Microbiol Rep.* 2011;3(3):286-96. doi: 10.1111/j.1758-2229.2011.00247.x.
16. Lesnik R, Brettar I, Höfle MG. Legionella species diversity and dynamics from surface reservoir to tap water: from cold adaptation to thermophily. *ISME J.* 2016;10(5):1064-1080. doi:10.1038/ismej.2015.199.

17. Cebrián F, Juan C. Montero, Pedro J. Fernández. New approach to environmental investigation of an explosive legionnaires' disease outbreak in Spain: early identification of potential risk sources by rapid *Legionella* spp immunosensing technique. *BMC Infect Dis.* 2018;18(1): 696. doi: 10.1186/s12879-018-3605-8.
18. Abu Khweek A, Amer AO. Factors Mediating Environmental Biofilm Formation by *Legionella pneumophila*. *Front Cell Infect Microbiol.* 2018;8:38. doi: 10.3389/fcimb.2018.00038.
19. Shaheen M, Scott C, Ashbolt NL. Long-term persistence of infectious *Legionella* with free-living amoebae in drinking water biofilms. *Int J Hyg Environ Health.* 2019;222(4):678-686. doi: 10.1016/j.ijheh.2019.04.007.
20. Buse HY, J Morris B, Struewing IT, Szabo JG. Chlorine and Monochloramine Disinfection of *Legionella pneumophila* Colonizing Copper and Polyvinyl Chloride Drinking Water Biofilms. *Appl Environ Microbiol.* 2019 Mar 22;85(7): e02956-18. doi: 10.1128/AEM.02956-18.
21. Boamah DK, Zhou G, Ensminger AW, O'Connor TJ. From Many Hosts, One Accidental Pathogen: The Diverse Protozoan Hosts of *Legionella*. *Front Cell Infect Microbiol.* 2017;7:477. doi: 10.3389/fcimb.2017.00477.
22. Dupuy M, Mazoua S, Berne F, Bodet C, Garrec N, Herbelin P, Ménard-Szczebara F, Oberti S, Rodier MH, Soreau S, Wallet F, Héchard Y. Efficiency of water disinfectants against *Legionella pneumophila* and *Acanthamoeba*. *Water Res.* 2011;45(3):1087-94. doi: 10.1016/j.watres.2010.10.025.
23. Cervero-Aragó S, Rodríguez-Martínez S, Puertas-Bennasar A, Araujo RM. Effect of Common Drinking Water Disinfectants, Chlorine and Heat, on Free *Legionella* and Amoebae-Associated *Legionella*. *PLoS One.* 2015;10(8):e0134726. doi: 10.1371/journal.pone.0134726.
24. Napoli C, Fasano F, Iatta R, Barbuti G, Cuna T, Montagna MT. *Legionella* spp. and legionellosis in southeastern Italy: disease epidemiology and environmental surveillance in community and health care facilities. *BMC Public Health.* 2010;10:660.2010. doi:10.1186/1471-2458-10-660.

25. Barna Z, Kádár M, Kálmán E, Scheirich Szax A, Vargha M. Prevalence of *Legionella* in premise plumbing in Hungary. *Water Res.* 2016;90:71-78. doi: 10.1016/j.watres.2015.12.004.
26. Llewellyn AC, Lucas CE, Roberts SE, et al. Distribution of *Legionella* and bacterial community composition among regionally diverse US cooling towers. *PLoS One.* 2017;12(12):e0189937. doi:10.1371/journal.pone.
27. Kuroki T, Watanabe Y, Teranishi H, Izumiyama S, Amemura-Maekawa J, Kura F. *Legionella* prevalence and risk of legionellosis in Japanese households. *Epidemiol Infect.* 2017;145(7):1398-1408. doi: 10.1017/S0950268817000036.
28. De Filippis P, Mozzetti C, Amicosante M, D'Alò GL, Messina A, Varrenti D. Occurrence of *Legionella* in showers at recreational facilities. *J Water Health.* 2017;15(3):402-409. doi: 10.2166/wh.2017.296.
29. Collins S, Stevenson D, Walker J. Occurrence of *Legionella* in UK household showers. *Int J Hyg Environ Health.* 2017;220(2 Pt B):401-406. doi: 10.1016/j.ijheh.2016.12.001.
30. Kyritsi MA, Mouchtouri VA, Katsioulis A. *Legionella* Colonization of Hotel Water Systems in Touristic Places of Greece: Association with System Characteristics and Physicochemical Parameters. *Int J Environ Res Public Health.* 2018;15(12):2707.. doi:10.3390/ijerph15122707.
31. Dilger T, Melzl H, Gessner A. *Legionella* contamination in warm water systems: A species-level survey. *Int J Hyg Environ Health.* 2018;221(2):199-210. doi: 10.1016/j.ijheh.2017.10.011.
32. Valciņa O, Pūle D, Mališevs A, Trofimova J, Makarova S, Konvisers G, Bērziņš A, Krūmiņa A. Co-Occurrence of Free-Living Amoeba and *Legionella* in Drinking Water Supply Systems. *Medicina (Kaunas).* 2019;55 (8). doi: 10.3390/medicina55080492.
33. Paniagua AT, Paranjape K, Hu M, Bédard E, Faucher SP. Impact of temperature on *Legionella pneumophila*, its protozoan host cells, and the microbial diversity of the biofilm community of a pilot cooling tower. *Sci Total Environ.* 2020;712:136131. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.136131.
34. Rhoads WJ, Bradley TN, Mantha A, Buttlung L, Keane T, Pruden A, Edwards MA. Residential water heater cleaning and occurrence of

- Legionella in Flint, MI. Water Res. 2020;171:115439. doi: 10.1016/j.watres.2019.115439.
35. Fragou K, Kokkinos P, Gogos C, Alamanos Y, Vantarakis A. Prevalence of Legionella spp. in water systems of hospitals and hotels in South Western Greece. Int J Environ Health Res. 2012;22 (4):340-54. doi: 10.1080/09603123.2011.643229.
36. Velonakis E, Karanika M, Mouchtouri V, Thanasias E, Katsiaflaka A, Vatopoulos A, Hadjichristodoulou C. Decreasing trend of Legionella isolation in a long-term microbial monitoring program in Greek hospitals. Int J Environ Health Res. 2012;22(3): 197-209. doi: 10.1080/09603123.2011.628644.
37. Yiallourous PK, Papadouri T, Karaoli C, Papamichael E, Zeniou M, Pieridou-Bagatzouni D, Papageorgiou GT, Pissarides N, Harrison TG, Hadjidemetriou A. First Outbreak of Nosocomial *Legionella* Infection in Term Neonates Caused by a Cold Mist Ultrasonic Humidifier. Clin Infect Dis. 2013;57(1):48-56. doi: 10.1093/cid/cit176.
38. Garner E, Brown CL, Schwake DO, Rhoads WJ, Arango-Argoty G, Zhang L, Jospin G, Coil DA, Eisen JA, Edwards MA, Pruden A. Comparison of Whole-Genome Sequences of *Legionella pneumophila* in Tap Water and in Clinical Strains, Flint, Michigan, USA, 2016. Emerg Infect Dis. 2019;25 (11):2013-2020. doi: 10.3201/eid2511.181032.
39. Yoshida M, Furuya N, Hosokawa N, et al. Legionella pneumophila contamination of hospital dishwashers. Am J Infect Control. 2018;46(8):943-945. doi:10.1016/j.ajic.2018.01.024
40. Bédard E, Paranjape K, Lalancette C, et al. Legionella pneumophila levels and sequence-type distribution in hospital hot water samples from faucets to connecting pipes. Water Res. 2019;156:277-286. doi:10.1016/j.watres.2019.03.019
41. Vincenti S, de Waure C, Raponi M, et al. Environmental surveillance of Legionella spp. colonization in the water system of a large academic hospital: Analysis of the four-year results on the effectiveness of the chlorine dioxide disinfection method. Sci Total Environ. 2019;657:248-253. doi:10.1016/j.scitotenv.2018.12.03

42. Prussin AJ 2nd, Schwake DO, Marr LC. Ten questions concerning the aerosolization and transmission of *Legionella* in the built environment. *Build Environ.* 2017;123:684-695. doi: 10.1016/j.buildenv.2017.06.024.
43. David S, Afshar B, Mentasti M, Ginevra C, Podglajen I, Harris SR, Chalker VJ, Jarraud S, Harrison TG, Parkhill J. Seeding and Establishment of *Legionella pneumophila* in Hospitals: Implications for Genomic Investigations of Nosocomial Legionnaires' Disease. *Clin Infect Dis.* 2017;64 (9):1251-1259. doi: 10.1093/cid/cix153.
44. Ehret KM, Chamberlain AT, Berkelman RL, Fridkin SK. Preventing hospital-acquired Legionnaires' disease: A snapshot of clinical practices and water management approaches in US acute-care hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2018;39 (12):1470-1472.
45. Borton D. Managing and preventing Legionella infections. *Nursing.* 2020 Mar;50 (3):54-57. doi: 10.1097/01.NURSE.0000651660.70883.b4.
46. Garcia-Vidal C, Labori M, Viasus D, Simonetti A, Garcia-Somoza D, Dorca J, Gudiol F, Carratalà J. Rainfall Is a Risk Factor for Sporadic Cases of *Legionella pneumophila* Pneumonia. *PLoS ONE.* 2013;8(4): e61036. doi: 10.1371/journal.pone.0061036
47. Chahin A, Opal SM. Severe Pneumonia Caused by *Legionella pneumophila*: Differential Diagnosis and Therapeutic Considerations. *Infect Dis Clin North Am.* 2017;31 (1):111-121. doi: 10.1016/j.idc.2016.10.009.
48. Montagna MT, De Giglio O, Napoli C, Diella G, Rutigliano S, Agodi A, Auxilia F, Baldovin T, Bisetto F, Arnoldo L, Brusaferrò S, Busetto M, Calagreti G, Casini B, Cristina ML, Di Luzio R, Fiorio M, Formoso M, Liguori G, Martini E, Molino A, Mondello P, Mura I, Novati R, Orsi GB, Patroni A, Poli A, Privitera G, Ripabelli G, Rocchetti A, Rose F, Sarti M, Savini S, Silvestri A, Sodano L, Spagnolo AM, Tardivo S, Teti V, Torregrossa MV, Torri E, Veronesi L, Zarrilli R, Pacifico C, Goglio A, Moro M; Pasquarella C. Control and prevention measures for legionellosis in hospitals: A cross-sectional survey in Italy. *Environ Res.* 2018;166: 55-60. doi: 10.1016/j.envres.2018.05.030.

49. Centro Nacional de Epidemiología. Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica Instituto de Salud Carlos III. Enfermedades de Declaración Obligatoria. Casos notificados por Comunidades Autónomas y tasas por 100.000 habitantes. España 2016, 2017, 2018. Disponible: <https://www.isciii.es/QueHacemos/Servicios/VigilanciaSaludPublicaREN/AVE/EnfermedadesTransmisibles/Paginas/Informes.-Casos-y-tasas-por-CCAA.aspx>. Acceso: 26/4/2020.
50. European Centre for Disease Prevention and Control [Internet]. 2017. Legionare's disease. Annual Epidemiological report for 2017. Disponible en: https://www.ecdc.europa.eu/sites/portal/files/documents/AER_for_2017-Legionnaires-disease_1.pdf. Acceso: 27/04/2020.
51. European Centre for Disease Prevention and Control [Internet]. 2016, 2017 y 2018. Surveillance Atlas of Infectious Diseases. Disponible en: <https://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx?Dataset=27&HealthTopic=30>. Acceso: 29/04/2020.
52. Springston JP, Yocavitch L. Existence and control of *Legionella* bacteria in building water systems: A review. *J Occup Environ Hyg.* 2017;14 (2):124-134. doi: 10.1080/15459624.2016.1229481.
53. Asghari FB, Nikaeen M, Hatamzadeh M, Hassanzadeh A. Surveillance of *Legionella* species in hospital water systems: the significance of detection method for environmental surveillance data. *J Water Health.* 2013;11 (4):713-9. doi: 10.2166/wh.2013.064.
54. Cristino S, Legnani PP, Leoni E. Plan for the control of *Legionella* infections in long-term care facilities: Role of environmental monitoring. *Int J Hyg Environ Health.* 2012;215 (3):279-85. doi: 10.1016/j.ijheh.2011.08.007.
55. Rhoads WJ, Pruden A, Edwards MA. Interactive Effects of Corrosion, Copper, and Chloramines on *Legionella* and *Mycobacteria* in Hot Water Plumbing. *Environ Sci Technol.* 2017;51(12):7065-7075. doi: 10.1021/acs.est.6b05616.
56. Mouchtouri VA, Rudge JW. Legionnaires' Disease in Hotels and Passenger Ships: A Systematic Review of Evidence, Sources, and Contributing Factors. *J Travel Med.* 2015;22 (5):325-37. doi: 10.1111/jtm.12225.

57. Hayes-Phillips D, Bentham R, Ross K, Whiley H. Factors Influencing *Legionella* Contamination of Domestic Household Showers. *Pathogens*. 2019;8(1). doi: 10.3390/pathogens8010027.
58. Marchesi I, Marchegiano P, Bargellini A, Cencetti S, Frezza G, Miselli M, Borella P. Effectiveness of different methods to control legionella in the water supply: ten-year experience in an Italian university hospital. *J Hosp Infect*. 2011;77 (1):47-5. doi: 10.1016/j.jhin.2010.09.012.
59. Parkinson J, Baron JL, Hall B, Bos H, Racine P, Wagener MM, Stout JE. Point-of-use filters for prevention of health care-acquired Legionnaires' disease: Field evaluation of a new filter product and literature review. *Am J Infect Control*. 2020;48 (2):132-138. doi: 10.1016/j.ajic.2019.09.006.
60. Kanamori H, Weber DJ, Rutala WA. Healthcare Outbreaks Associated With a Water Reservoir and Infection Prevention Strategies. *Clin Infect Dis*. 2016;62 (11):1423-35. doi: 10.1093/cid/ciw122.
61. Gerrity D, Arnold M, Dickenson E, Moser D, Sackett JD, Wert EC. Microbial community characterization of ozone-biofiltration systems in drinking water and potable reuse applications. *Water Res*. 2018;135:207-219. doi: 10.1016/j.watres.2018.02.023.
62. Orsi GB, Vitali M, Marinelli L, Ciorba V, Tufi D, Del Cimmuto A, Ursillo P, Fabiani M, De Santis S, Protano C, Marzuillo C, De Giusti M. Legionella control in the water system of antiquated hospital buildings by shock and continuous hyperchlorination: 5 years experience. *BMC Infect Dis*. 2014;14: 394. doi: 10.1186/1471-2334-14-394.
63. Gavaldà L, Garcia-Nuñez M, Quero S, Gutierrez-Milla C, Sabrià M. Role of hot water temperature and water system use on Legionella control in a tertiary hospital: An 8-year longitudinal study. *Water Res*. 2019; 149:460-466. doi: 10.1016/j.watres.2018.11.032.
64. Real Decreto 865/2003, 4 de julio por el que se establecen los criterios higiénicos sanitarios para la prevención y control de la legionelosis. Boletín Oficial del Estado nº 171, de 18 de julio de 2003. [Internet]. Boe.es. [citado 8 Mayo 2020]. Disponible en: <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-2003-14408>. Acceso: 13/05/20).