

Presencia de *Legionella* en los reservorios acuáticos: Importancia para la salud pública

Trabajo de Fin de Grado de Farmacia

Alumna: Patricia González de Chávez Ledesma

Tutora: Dra. Ángeles Arias Rodríguez

Área de Medicina Preventiva y Salud Pública.

2016-2017

INDICE

1. RESUMEN	3
2. INTRODUCCIÓN	5
3. OBJETIVOS	10
4. MATERIAL Y MÉTODOS	11
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	12
5.1 EVOLUCIÓN DE LA LEGIONELOSIS EN ESPAÑA	12
5.2 RESERVORIO Y FUENTE DE INFECCIÓN	23
5.3 MECANISMO DE TRANSMISIÓN Y PATOGENIA	25
5.4 SUJETO SUSCEPTIBLE	26
5.5 ESTRATEGIAS DE PREVENCIÓN Y CONTROL	26
6. CONCLUSIONES	28
7. BIBLIOGRAFÍA	29

1. RESUMEN

Introducción y objetivos: El término legionelosis hace referencia a un conjunto de enfermedades infecciosas causadas por bacterias del género *Legionella*, siendo *Legionella pneumophila* la que adquiere mayor importancia. La Legionelosis aparece tanto de forma esporádica como epidémica, pudiendo ocasionar una enfermedad grave. Se encuentra incluida en las Enfermedades de Declaración Obligatorio (EDO) de transmisión respiratoria.

El objetivo del trabajo fue profundizar en el estudio de la legionelosis, su relación con los reservorios acuáticos y la implicación en salud pública.

Material y métodos: Para la revisión de casos en España durante los años 2013-2016 se revisaron los Boletines Epidemiológicos Semanales correspondientes a ese período. Para el resto de objetivos se realizó una revisión bibliográfica utilizando la base de datos Medline a través del Pubmed.

Resultados y discusión: La prevalencia de casos en España se ha mantenido constante en el período de estudio, con ligeras oscilaciones, destacando un predominio en hombres, en grupos de mayor edad y personas inmunocomprometidas. *Legionella* presenta un reservorio acuático, especialmente artificial. Su capacidad de supervivencia y multiplicación depende de la temperatura (óptima entre 25-42°C), de la parasitación de amebas y protozoos ciliados, y de la formación de biofilms. Los dispositivos generadores de aerosoles son fuentes potenciales de la enfermedad, y se han vinculado con la aparición de casos y brotes en la sociedad. La limpieza y el mantenimiento continuo de los dispositivos responsables de la propagación de la bacteria, junto con la hipercloración y choque térmico nos permite reducir el riesgo de infección en la población.

Conclusiones: La legionelosis es una enfermedad emergente de gran importancia en salud pública, cuyo reservorio es ambiental, y debe ser controlado mediante una correcta higiene de las instalaciones, con el cumplimiento riguroso de la normativa existente.

Palabras clave: *Legionella*, reservorio acuático, epidemiología, prevención y control.

ABSTRACT

Introduction and objectives: The term legionellosis refers to a set of infectious diseases caused by bacteria of the genus *Legionella*, being *Legionella pneumophila* the one that acquires greater importance. Legionellosis can appear sporadically or as an epidemic, causing severe illness. It is included in the Mandatory Declaration Diseases (ODE) of respiratory transmission.

The objective of this study was to study the legionellosis, its relation with aquatic reservoirs and the implication in public health.

Material and methods: The review of cases in Spain during the years 2013-2016, there were reviewed the Weekly Epidemiological Bulletins corresponding to that period. The rest of the objectives were obtained by a bibliographic review using Medline database through Pubmed.

Results and discussion: The prevalence of cases in Spain has remained constantly during the study period, with slight oscillations, with a predominance in men, in older age groups and in immunocompromised individuals. *Legionella* presents a water reservoir, especially artificial reservoir. Its ability to survive and multiply depends on temperature (between 25-42°C optimal), on the parasitism of amoebae and cilium protozoan, and the formation of biofilms. Aerosol generating devices are potential sources of the disease that are linked to the emergence of cases and outbreaks in society. The cleaning and the continuous maintenance of the devices responsible of the bacteria propagation, this together with the hyperchlorination and the thermal shock allows to reduce the risk of infection through population.

Conclusions: Legionellosis is an emerging disease of great importance in public health, whose reservoir is environmental, and must be controlled by a correct hygiene of the facilities, with rigorous compliance with the existing regulations.

Key words: *Legionella*, aquatic reservoir, epidemiology, prevention and control.

2. INTRODUCCIÓN

El término legionelosis hace referencia a un conjunto de enfermedades infecciosas causadas por bacterias del género *Legionella*, desconocido hasta el siglo XX, e identificado como microorganismo patógeno tras el brote epidémico causado por éstas en 1976, que produjo afecciones pulmonares graves e incluso muertes, en un grupo de personas que asistieron a una convención de la Legión Americana en el estado de Pensilvania, hecho que dio lugar a su nombre¹.

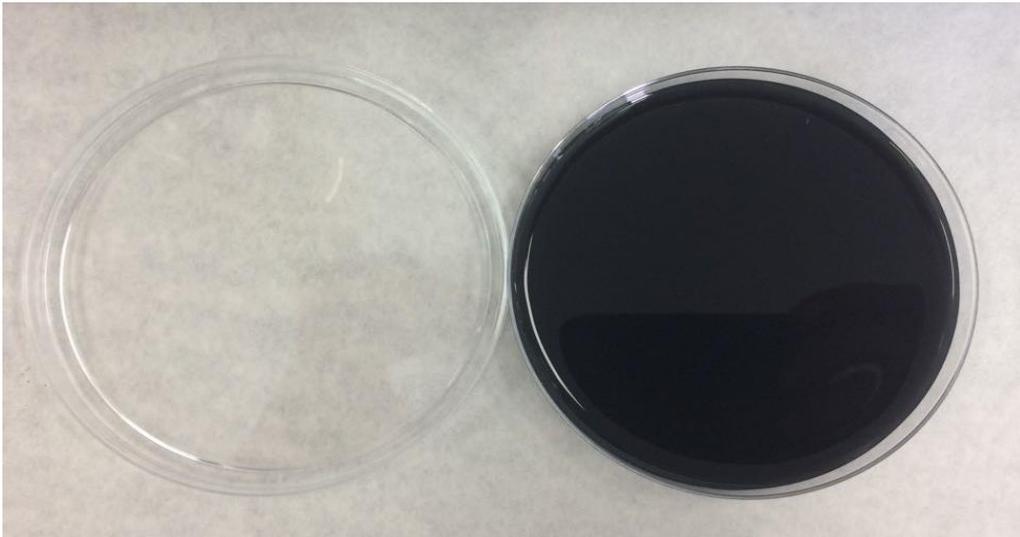
Hasta la actualidad se han identificado más de 58 especies de *Legionella* y más de 70 serogrupos, donde los serotipos del 1 al 6 de la *Legionella pneumophila* adquieren la mayor responsabilidad de las infecciones causadas por este género, siendo el serogrupo 1 la que produjo la epidemia en 1976, y la causante del 65-90% de todos los casos de legionelosis donde ha existido aislamiento microbiológico¹⁻².

Morfológicamente el género *Legionella* engloba a bacilos gramnegativos aerobios estrictos, miden de 2 a 20 µm, y cuentan con la presencia de un flagelo polar que les va a permitir su movimiento, además constituyen un género que carece de estructuras de resistencia, es decir, no son formadores de esporas¹.

Las especies de *Legionella* pueden identificarse por una variedad de métodos, estos incluyen la inmunofluorescencia (IF), aglutinación, ensayos con anticuerpos generoespecíficos, amplificación específica del ADN, entre otros. Pero va a ser el aislamiento de la bacteria en cultivo el método de referencia.

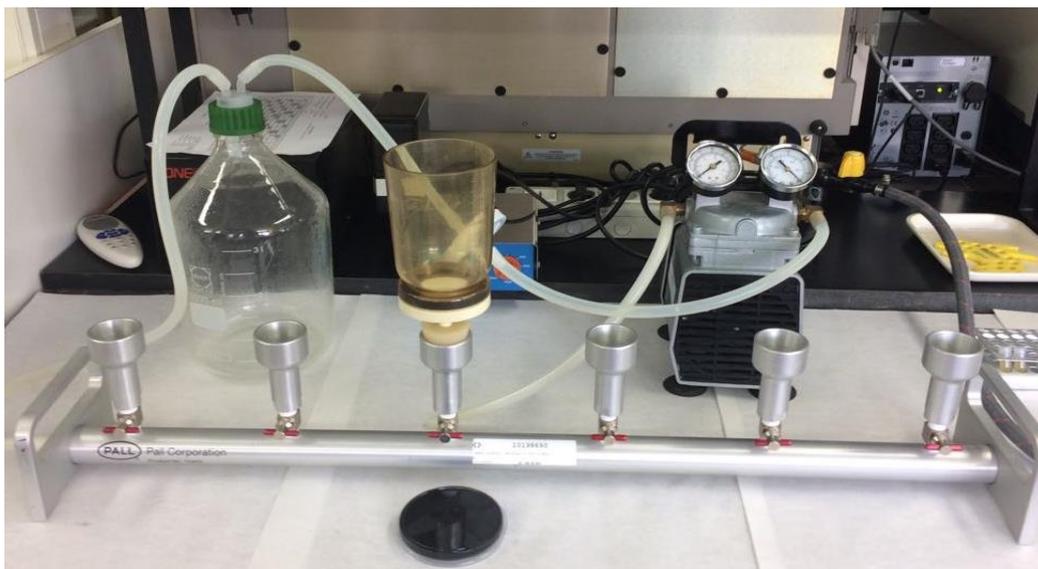
Para el cultivo de *Legionella* se utiliza un medio específico, BCYE α (buffered charcoal yeast extract suplementado con α -cetoglutarato; BioMerieux ®, France)³ (Imagen 1). En la Imagen 2, se observa el equipo de filtración por membranas que se utiliza para muestras de aguas.

Imagen 1. Medio de cultivo BCYE α .



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

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



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

Dentro del término legionelosis se engloban todas las enfermedades causadas por las bacterias del género *Legionella*, que adquieren tres formas clínicas: la fiebre de Pontiac, la enfermedad del Legionario y los síndromes extrapulmonares². En la Imagen 3 podemos observar las características que diferencian las dos formas clínicas más frecuentes.

Imagen 3. Características de la fiebre de Pontiac y enfermedad del legionario

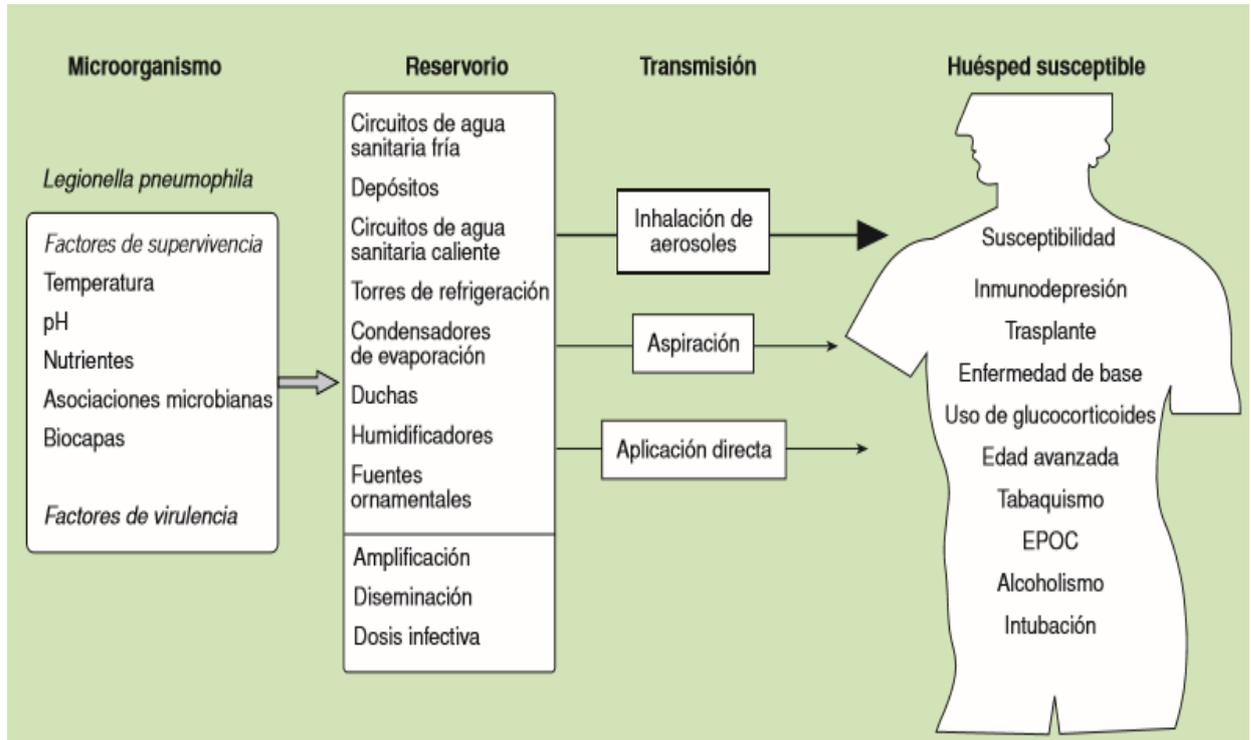
Características	Fiebre de Pontiac	Enfermedad del legionario
Período de incubación	5 h-3 días (más comúnmente entre 24-48 h)	2-10 días, raramente hasta 20 días
Duración	2-5 días	Semanas
Tasa de letalidad	Nula	Variable dependiendo de la susceptibilidad (15-30%); en pacientes hospitalarios puede alcanzar el 40-80%
Tasa de ataque	Hasta el 95%	0,1-5% en 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 sangre (hemoptisis) (≈20%) • Fallo renal • Hiponatremia (sodio sérico <131 mmol/litro) • Niveles de lactato deshidrogenasa >700 unidades/ml • Fallo de respuesta a antibióticos betalactámicos o aminoglucósidos

Fuente: Torres et al. 2015¹

Legionella spp. se encuentra en el medio acuático a temperaturas muy variables, pero son las aguas templadas (25-40 °C) las que posibilitan la mayor concentración de este microorganismo, convirtiéndose en el principal reservorio.

Desde el agua en forma de aerosoles llegan accidentalmente al ser humano, la mayor parte de las personas expuestas resultan ser asintomáticas, y sólo un breve porcentaje de las mismas desarrolla la patogenia. Los individuos afectados presentan factores de riesgo tales como infecciones respiratorias, cardiovasculares, edad avanzada, inmunosupresión, etc. Hoy en día no existe evidencia de contagio de persona a persona¹⁻².

Imagen 4. Cadena epidemiológica de la legionelosis: agente causal, mecanismos de transmisión, huésped susceptible y medio ambiente.



Fuente: Vaqué & Martínez, 2002⁴

La Legionelosis aparece tanto de forma esporádica como epidémica, pudiendo ocasionar una enfermedad grave si no se trata adecuadamente², debido a la capacidad patogénica del género *Legionella*, y en especial a los reservorios habituales de ésta y la cercanía de estos reservorios con la población.

En España, el Real Decreto 865/2003 del 4 de julio, establece los criterios higiénico-sanitarios para la prevención y el control de la legionelosis. Esta normativa afecta al conjunto de instalaciones susceptibles de generar aerosoles, y establece estrategias de mantenimiento y control físico-químico y microbiológico del agua para cada una de ellas⁵.

Tabla 1. Instalaciones que favorecen la proliferación y dispersión de *Legionella*.

<p>1. Instalaciones con mayor probabilidad</p> <ul style="list-style-type: none"> • Torres de refrigeración y condensadores evaporativos • Sistemas de agua caliente sanitaria con acumulador y circuito de retorno • Bañeras y piscinas de hidromasaje • Centrales humidificadoras industriales <p>2. Instalaciones con menor probabilidad</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sistemas de instalación interior de agua fría de consumo humano (tuberías, depósitos) y agua caliente sanitaria sin circuito de retorno • Equipos de enfriamiento evaporativo que pulvericen agua • Humectadores industriales • Fuentes ornamentales • Sistemas de riego por aspersión en el medio urbano • Sistemas de agua contra incendios • Elementos de refrigeración por aerosolización al aire libre • Otros aparatos que acumulen agua y puedan producir aerosoles <p>3. Instalaciones de riesgo en terapia respiratoria</p> <ul style="list-style-type: none"> • Equipos de terapia respiratoria • Respiradores • Humidificadores y nebulizadores • Otros

Fuente: Vaqué, 2008⁶

Dada la importancia de esta enfermedad en España, la vigilancia epidemiológica toma suma importancia, pues nos permitirá conocer la incidencia de los casos, identificar las fuentes de infección, y postular una serie de medidas para el control de la legionelosis. Desde 1996, está incluida en las Enfermedades de Declaración Obligatorio (EDO) de transmisión respiratoria, y ante la sospecha de un caso, los médicos tanto del sector público como privado, deben notificarlo a la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (semanalmente). Ante la aparición de un brote, se deberá notificar urgentemente y de forma obligatoria a la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica, y posteriormente tras la finalización y el control del mismo, la Comunidad Autónoma afectada deberá elaborar un informe final, que recoja la investigación pertinente, y remitirlo al Centro Nacional de Epidemiología. Por otro lado, los laboratorios de microbiología clínica de los hospitales deben notificar al Sistema de Información Microbiológica (SIM) los casos que identifiquen. España forma parte del Grupo Europeo para el estudio de infecciones por *Legionella* (EWGLI), esto nos permite conocer los casos de turistas que han contraído la enfermedad en nuestro país, y notificar los casos en españoles tras un viaje al extranjero⁷. Por todo ello, nos vamos a plantear conocer la epidemiología y ecología de estos microorganismos en los sistemas acuáticos, las posibles causas que favorecen la infección en el hombre, y proponer una serie de medidas de protección para la salud en la población.

3. OBJETIVOS

Objetivo general: Profundizar en el estudio de la legionelosis, su relación con los reservorios acuáticos y la implicación en salud pública.

Objetivos específicos:

- Conocer la evolución de los casos de esta enfermedad en España, en el período 2013-2016.
- 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.
- Postular una serie de medidas para la protección de la salud de la población.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

Para la elaboración de este trabajo realizamos una revisión bibliográfica, dividida en dos apartados:

- Los datos de incidencia de casos de *Legionella* en España, se obtuvieron mediante revisión de los Boletines Epidemiológicos Semanales (BES) correspondientes al período del 2013 al 2016. Por tanto, se revisaron un total de 48 BES⁸. Los casos publicados semanalmente fueron agrupados posteriormente según Comunidades Autónomas, y representados por año (2013, 2014, 2015, 2016). Para conocer la epidemiología de la legionelosis en España durante los años 2013- 2014 (últimos años publicados), se revisaron los informes de la Red de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE) del Centro Nacional de Epidemiología del Instituto Carlos III obtenidos de su página web: <http://www.isciii.es/ISCIII/es/html>⁹⁻¹⁰.
- Para el resto de objetivos del trabajo utilizamos como herramienta de búsqueda la base de datos Medline, a través del buscador Pubmed.

Los criterios de inclusión fueron: artículos en la base de datos indicada con anterioridad, publicados entre 2007 y la fecha actual, en español y en inglés, que pudiésemos disponer del artículo completo, artículos de revisión y originales. Los criterios de exclusión fueron: no disponer del artículo completo, artículos que no consideramos de interés, artículos repetidos.

Se utilizaron los términos del Medical Subject Headings (MeSH), empleando diferentes filtros de búsquedas:

1. Reservorio y fuente de infección

- Palabras claves: *Legionella*, water reservoir, ecology.

2. Mecanismo de transmisión y patogenicidad

- Palabras claves: *Legionella*, transmission, pathogenicity, humans.

3. Sujeto susceptible

- Palabras claves: *Legionella*, risk factors, host.

4. Estrategias de prevención y control

- Palabras claves: *Legionella*, prevention, control.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 EVOLUCIÓN DE LA LEGIONELOSIS EN ESPAÑA

En la Tabla 2 se recogen los casos semanales de legionelosis en España durante el período 2013-2016, donde podemos observar la aparición de casos a lo largo de todo el año, pero con un predominio en los meses de agosto y septiembre. Esta variación estacional se encuentra recogida en otros estudios¹¹⁻¹².

Podemos observar como a final del año 2015, en las semanas 51 y 52, existió una elevación en el número de casos, debido a la declaración de varios brotes en la Comunidad de Castilla la Mancha (Tabla 3 y Gráfica 1).

En total se contabilizaron en el período de estudio 3452 casos, donde Canarias representa un pequeño porcentaje de este valor, debido a que se registraron pocos casos de legionelosis durante estos años.

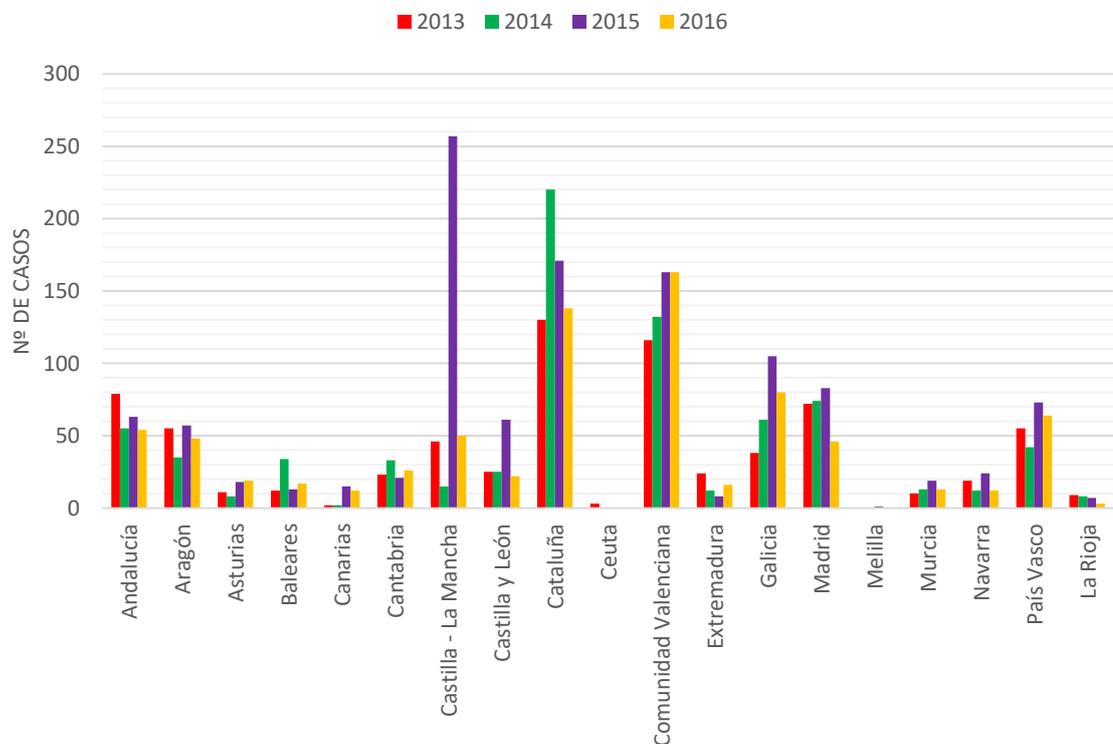
España es uno de los países europeos, junto con Francia e Italia, que notifica las tasas más elevadas de legionelosis⁹⁻¹⁰.

Tabla 2. Evolución de los casos semanales de legionelosis en España durante el período 2013-2016.

	2013	2014	2015	2016	Total
Semana 1	6	8	4	15	33
Semana 2	14	7	11	9	41
Semana 3	10	11	14	13	48
Semana 4	6	10	9	14	39
Semana 5	7	13	11	10	41
Semana 6	9	10	22	11	52
Semana 7	9	6	17	13	45
Semana 8	12	7	8	8	35
Semana 9	7	9	6	16	38
Semana 10	7	11	19	7	44
Semana 11	12	6	23	16	57
Semana 12	10	2	10	5	29
Semana 13	7	6	6	11	30
Semana 14	7	6	6	5	24
Semana 15	13	7	9	6	35
Semana 16	14	7	12	9	44
Semana 17	10	11	8	6	35
Semana 18	24	9	9	7	49
Semana 19	13	12	15	13	53
Semana 20	15	6	9	13	43
Semana 21	14	15	5	9	43
Semana 22	17	8	12	4	41
Semana 23	10	14	11	9	44
Semana 24	11	23	12	16	62
Semana 25	12	9	20	10	51
Semana 26	16	11	20	4	51
Semana 27	15	17	21	8	61
Semana 28	10	23	17	16	66
Semana 29	11	22	14	17	64
Semana 30	11	14	19	11	55
Semana 31	13	10	19	12	54
Semana 32	17	7	27	15	66
Semana 33	22	16	24	13	75
Semana 34	30	19	38	18	105
Semana 35	24	16	39	25	104
Semana 36	26	12	22	22	82
Semana 37	23	27	41	21	113
Semana 38	23	66	36	46	171
Semana 39	30	35	39	49	138
Semana 40	18	0	21	34	73
Semana 41	17	24	18	19	78
Semana 42	21	29	21	13	84
Semana 43	22	33	33	14	102
Semana 44	23	30	22	28	103
Semana 45	18	23	22	25	88
Semana 46	26	23	22	23	94
Semana 47	17	25	21	23	86
Semana 48	0	23	10	13	46
Semana 49	0	12	15	21	38
Semana 50	0	0	18	8	26
Semana 51	11	18	117	12	158
Semana 52	9	13	135	18	175
Semana 53	0	0	20	0	20
Total	729	781	1159	783	3452

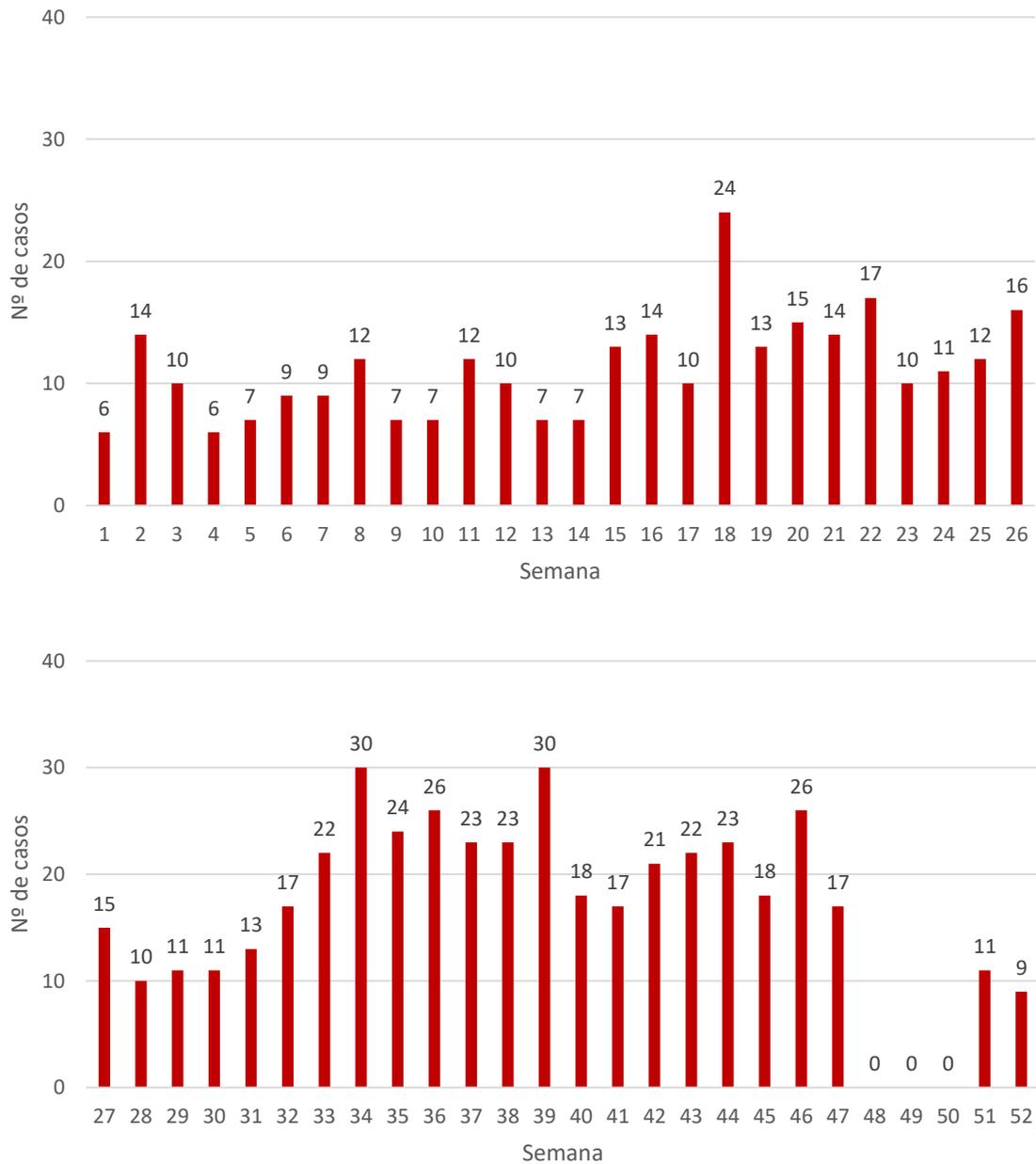
Tabla 3. Casos de legionelosis en España por Comunidad Autónoma

	2013	2014	2015	2016	TOTAL
Andalucía	79	55	63	54	251
Aragón	55	35	57	48	195
Asturias	11	8	18	19	56
Baleares	12	34	13	17	76
Canarias	2	2	15	12	31
Cantabria	23	33	21	26	103
Castilla - La Mancha	46	15	257	50	368
Castilla y León	25	25	61	22	133
Cataluña	130	220	171	138	659
Ceuta	3	0	0	0	3
Comunidad Valenciana	116	132	163	163	574
Extremadura	24	12	8	16	60
Galicia	38	61	105	80	284
Madrid	72	74	83	46	275
Melilla	0	0	1	0	1
Murcia	10	13	19	13	55
Navarra	19	12	24	12	67
País Vasco	55	42	73	64	234
La Rioja	9	8	7	3	27
TOTAL	729	781	1159	783	3452

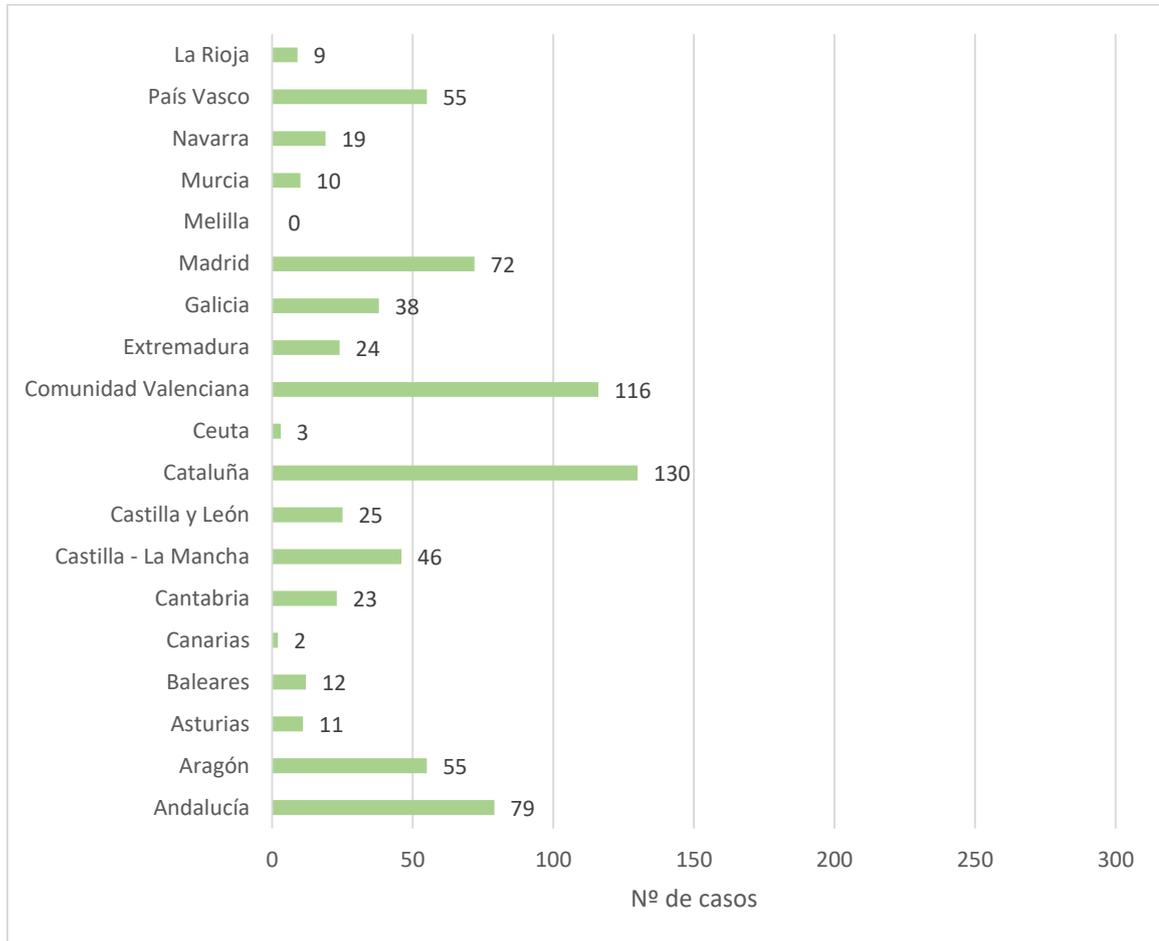
Gráfica 1. Casos de legionelosis en España en el intervalo de años 2013-2016 por Comunidad Autónoma.

En la Gráfica 2 se observa la evolución de los casos existentes de legionelosis por semana en el año 2013, mientras que en la Gráfica 3 podemos conocer el número de casos de cada Comunidad Autónoma durante este año.

Gráfica 2. Casos semanales de legionelosis en España en el año 2013



Gráfica 3. Casos de legionelosis en España en el año 2013 por Comunidad Autónoma.



De los casos informados en 2013, la mayoría fueron autóctonos (1,77 casos por 100.000 habitantes) y 13 casos fueron importados (3 de Italia, 2 de República Checa, 2 de Turquía y 1 en cada uno de los siguientes países: Argelia, Barbados, Bélgica, Emiratos Árabes, Irlanda y México).

Las tasas más elevadas las presentaron País Vasco, La Rioja y Navarra, mientras que Canarias presentó una de las tasas más bajas, junto con Ceuta y Melilla.

El mes con mayor número de casos declarados fue agosto. El 71,3% de los casos fueron hombres, y además la incidencia de la enfermedad aumentó con la edad.

De los 104 casos en los que se conoce dónde se produjo la exposición, 49 fue en el hospital (44,9%), 41 en un alojamiento turístico (37,6%), y 14 en otra institución sociosanitaria (12,8%). La evolución se conoce en el 59,2% de los casos.

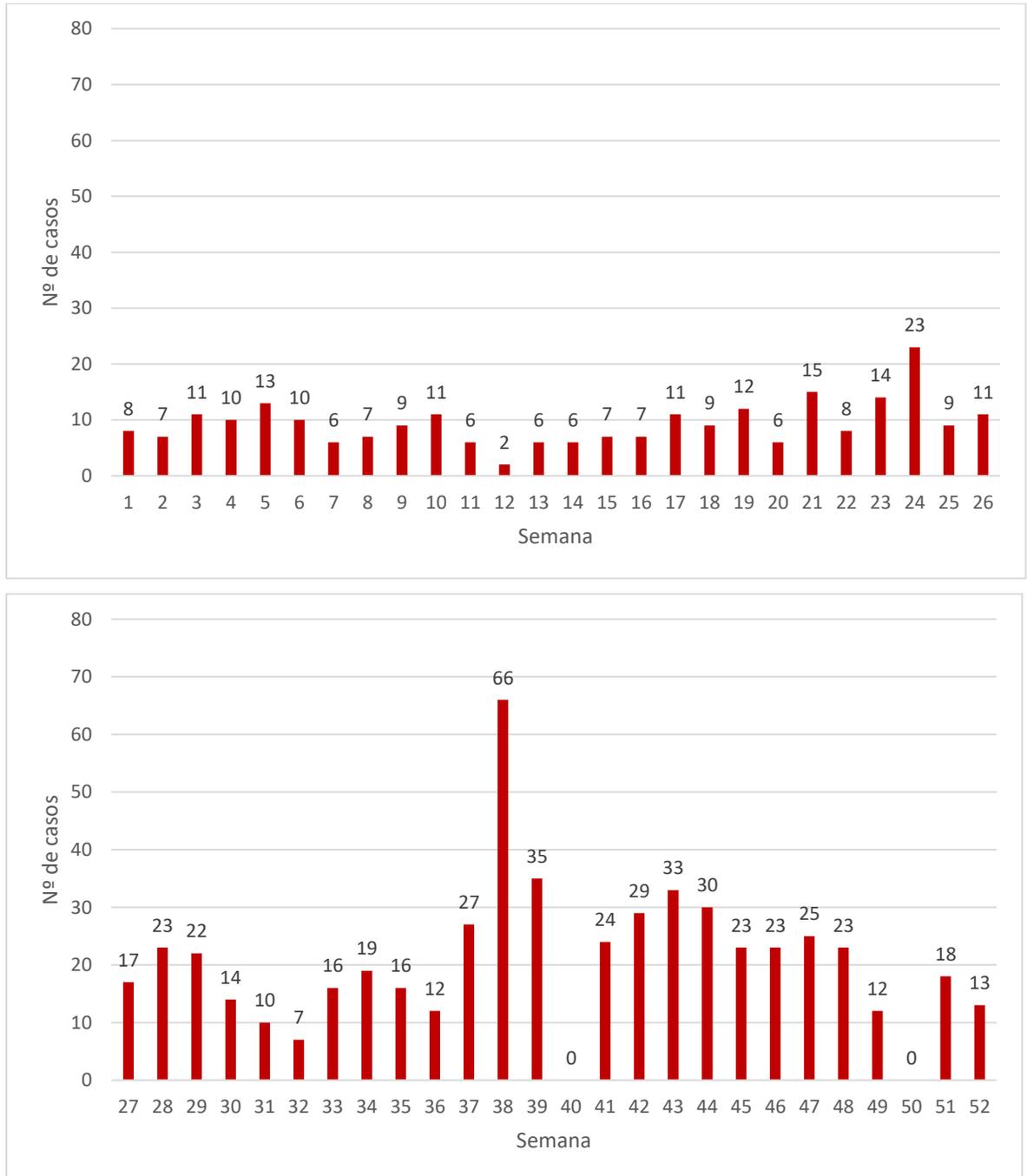
Se notificaron 47 defunciones, todas en casos autóctonos. Se ha calculado la letalidad para los 494 casos en los que se dispone de esta información. La letalidad global fue de 9,5% (47/494), 9,4% (33/352) en los hombres y 9,9% (14/142) en las mujeres.

La información sobre antecedentes de riesgo se conoce en el 35,3% de los pacientes. El 78% de los casos con algún factor de riesgo eran o habían sido fumadores, el 16,9% tenían antecedentes de haber padecido alguna enfermedad respiratoria crónica, el 5,6% tuvieron algún tipo de cáncer y, el 2,5% algún tratamiento inmunosupresor. Estos factores de riesgo concuerdan con los indicados en diversos estudios¹³⁻¹⁵.

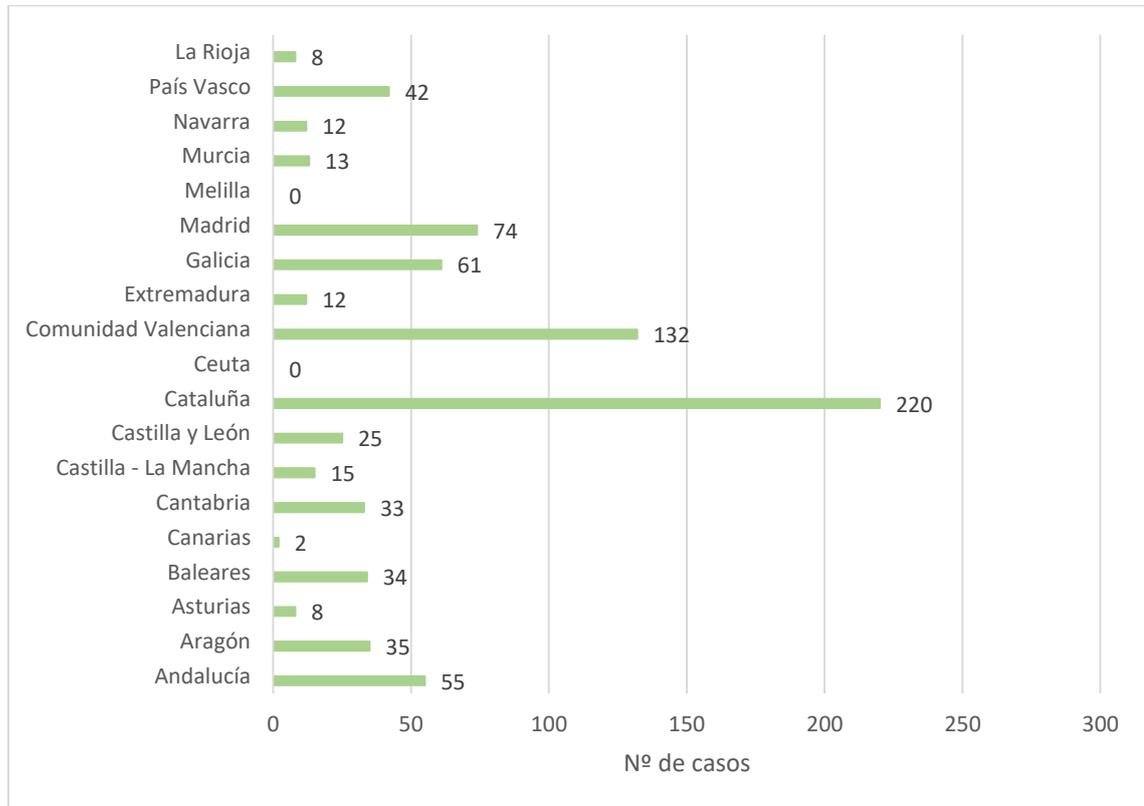
En 2013 se notificaron 9 brotes de legionelosis en cinco CC. AA. Castilla-La Mancha notificó 4 brotes, Andalucía dos brotes y Aragón, Galicia y País Vasco un brote cada una. Resultaron afectadas 66 personas y no se produjeron defunciones. Todos los brotes fueron comunitarios, dos se asociaron a torres de refrigeración, uno a un sistema de nebulización en un centro comercial, y otro a una bañera de hidromasaje⁹.

En la Gráfica 4 se observa la evolución de los casos existentes de legionelosis por semana en el año 2014, mientras que en la Gráfica 5 podemos conocer el número de casos de cada Comunidad Autónoma durante este año.

Gráfica 4. Casos de legionelosis en España en el año 2014.



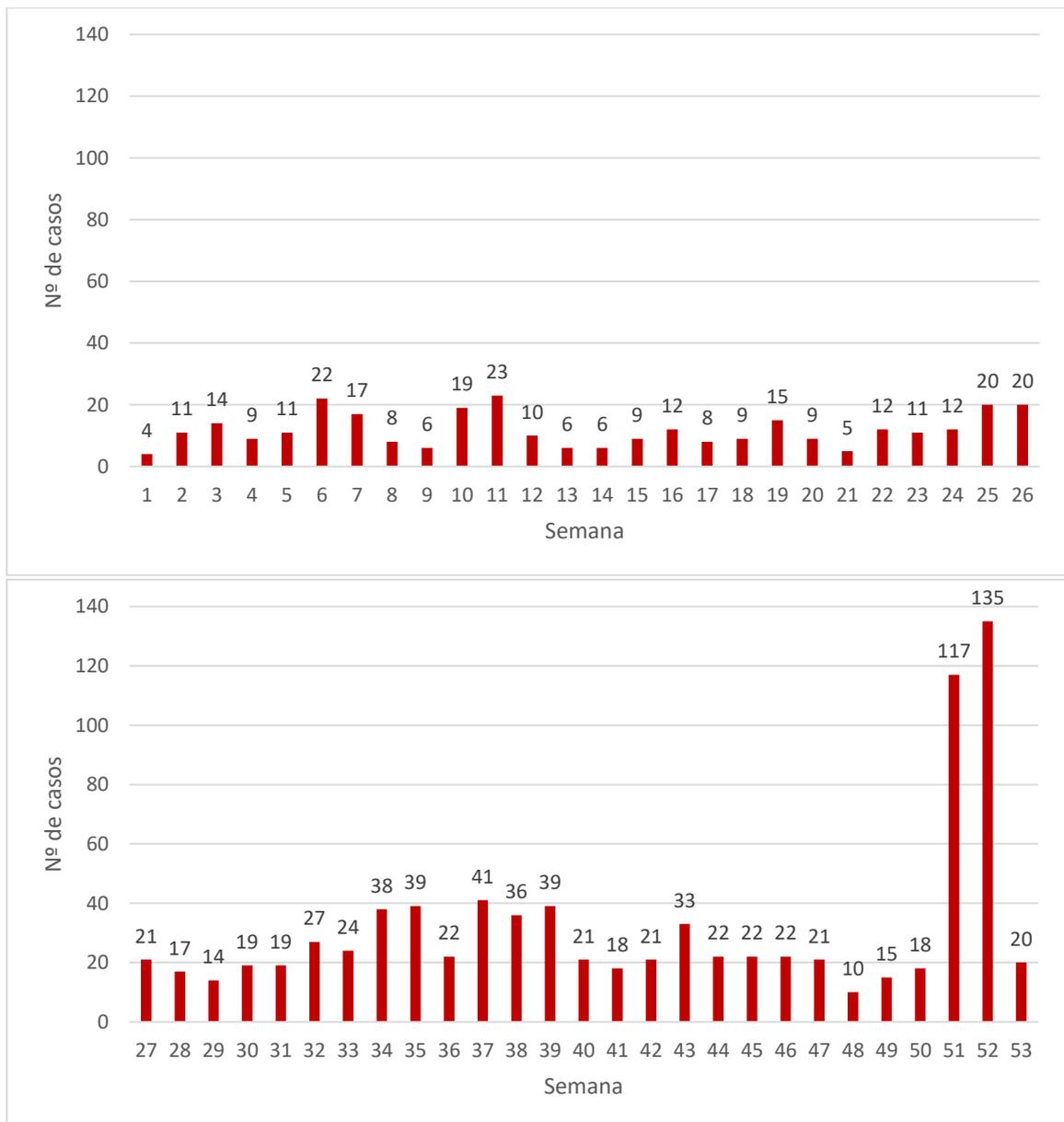
Gráfica 5. Casos de legionelosis en España en el año 2014, por Comunidad Autónoma.

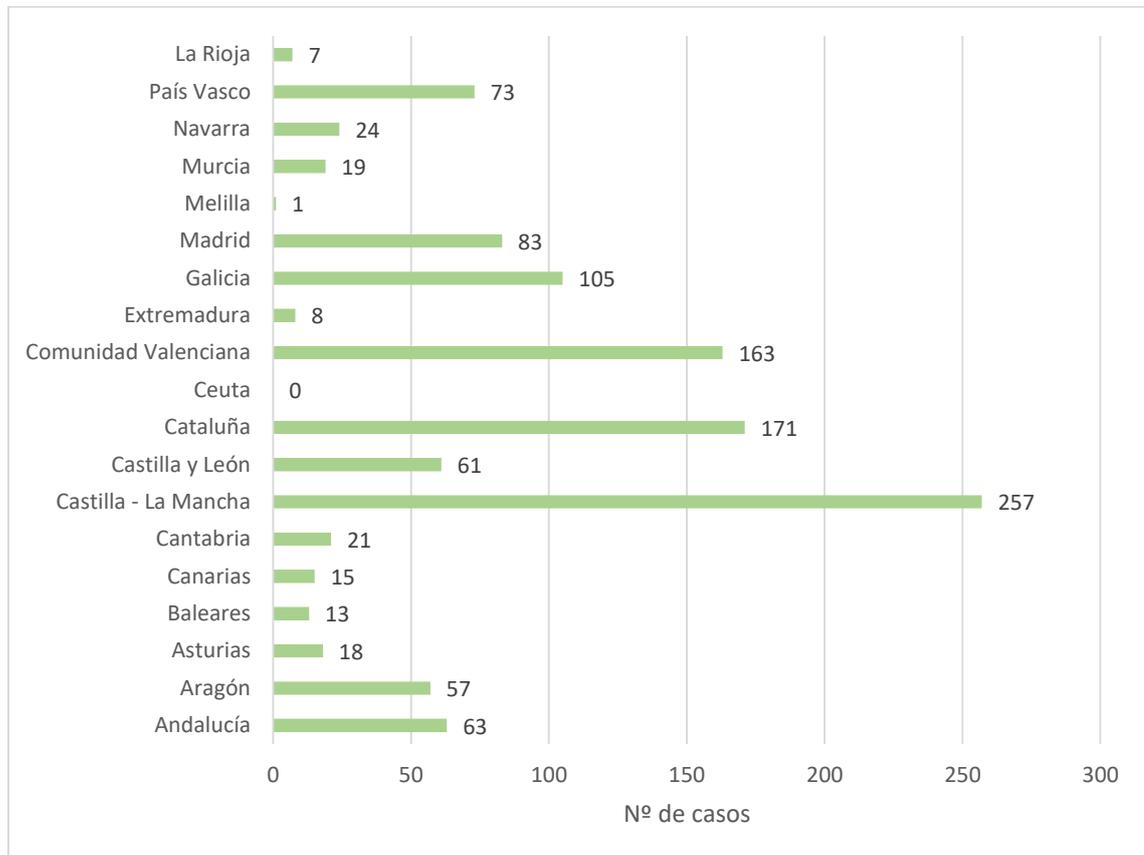


De los casos informados en el año 2014, la mayoría fueron casos autóctonos (1,98 casos por 100.000 habitantes), 11 casos fueron importados y 53 casos esporádicos en turistas. Canarias, al igual que en el año 2013 presentó una baja incidencia. El mes con mayor número de casos declarados fue septiembre. La incidencia fue superior en hombres y en personas de mayor edad. De los 213 casos en los que se pudo investigar dónde se produjo la exposición, 134 fueron en un alojamiento turístico, 49 en un hospital y 29 en residencias de la tercera edad. El 70% de los casos con algún factor de riesgo eran o habían sido fumadores, el 23,3% tenían antecedentes de haber padecido alguna enfermedad respiratoria crónica, el 14,2% tenían algún tratamiento inmunosupresor, y el 7,6% tuvieron algún tipo de cáncer. Estos factores de riesgo concuerdan con los indicados en diversos estudios¹³⁻¹⁵. En 2014 se notificaron 11 brotes de legionelosis en siete CCAA. Cataluña y Galicia notificaron tres brotes cada una, mientras que Andalucía, Baleares, Castilla La Mancha, Comunidad Valenciana y La Rioja notificaron un brote cada una. Diez fueron comunitarios con 87 casos, y uno nosocomial con 3 casos. Se produjeron 9 defunciones¹⁰.

En la Gráfica 6 se observa la evolución de los casos existentes de legionelosis por semana en el año 2015, mientras que en la Gráfica 7 podemos conocer el número de casos de cada Comunidad Autónoma durante este año. Destaca el gran aumento de casos declarados en el último mes del año (semanas 51 y 52), esto se debe a la aparición de un brote de legionelosis en la Comunidad de Castilla la Mancha.

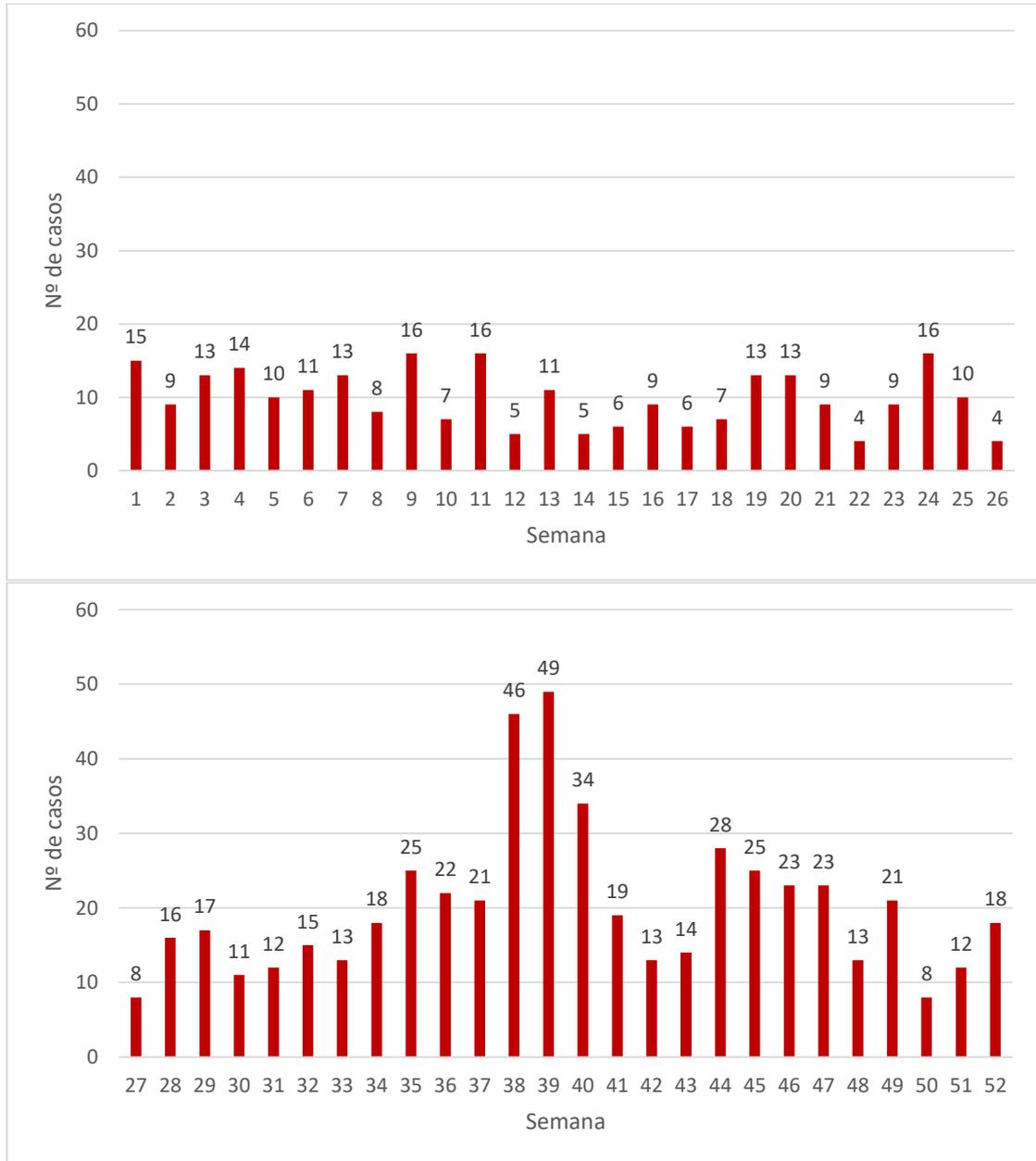
Gráfica 6. Casos de legionelosis en España en el año 2015.



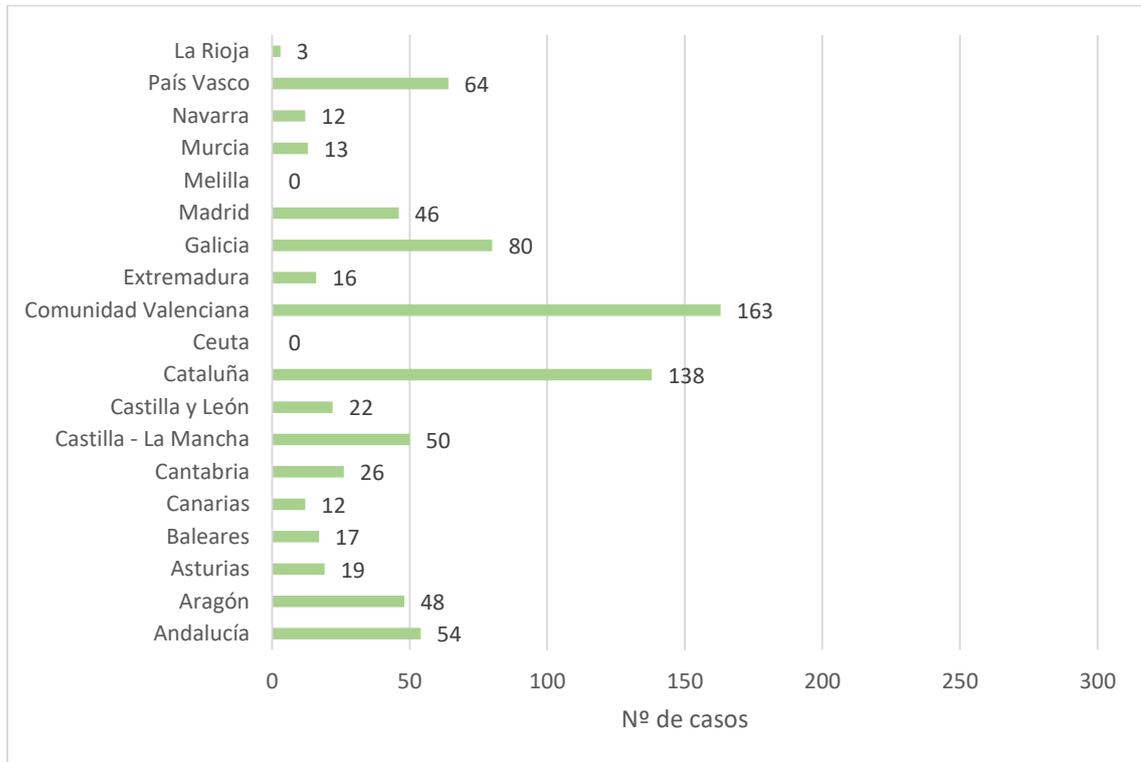
Gráfica 7. Casos de legionelosis en España en el año 2015 por Comunidad Autónoma.

En la Gráfica 8 se observa la evolución de los casos existentes de legionelosis por semana, en el año 2016, y en la Gráfica 9 podemos conocer el número de casos de cada Comunidad Autónoma durante este año.

Gráfica 8. Casos de legionelosis en España en el año 2016.



Gráfica 9. Casos de legionelosis en España en el año 2016 por Comunidad Autónoma.



5.2 RESERVORIO Y FUENTE DE INFECCIÓN

Legionella spp. son bacterias ubicuas en hábitats acuáticos y sistemas de distribución de agua ¹⁶⁻²⁰. Se encuentran en el medio acuático a temperaturas muy variables, pero son las aguas templadas (25-42 °C) las que posibilitan la mayor concentración de este microorganismo. *L. pneumophila* soporta temperaturas de 50 ° C durante varias horas, pero no son capaces de multiplicarse a temperaturas inferiores a 20°C ^{19,21-23}.

Estos patógenos, con frecuencia, sobreviven como parásitos intracelulares de amebas y protozoos ciliados. Las amebas de vida libre (*Hartmenellae* y *Acanthamoeba*), y especies de protozoos ciliados que habitan en los mismos reservorios acuáticos, permiten el crecimiento intracelular y la supervivencia de la *Legionella*. Cuando la temperatura en el medio acuático aumenta, las bacterias ya fagocitadas, se multiplican con rapidez, aumentando en número y, por tanto, la proliferación en el interior del protozoo aumenta las posibilidades de infección y transmisión de la enfermedad. Al disminuir la temperatura, o tras un estrés ambiental, como puede ser la presencia de cloro en el medio,

las amebas pueden diferenciarse de su forma trofozoítica a su estructura quística, englobando en el interior a las bacterias. Este hecho contribuye a la supervivencia de la *Legionella* intracelular, cuando las condiciones no son las más favorables²⁴⁻²⁵.

Existen indicios de que las bacterias liberadas de las amebas muestran una mayor resistencia a las condiciones adversas y potencial patógeno, en comparación con las cultivadas *in vitro*, debido a cambios bioquímicos y fisiológicos que les confieren mayor resistencia a productos químicos y antibióticos, cambios de tamaño y motilidad, mayor capacidad de infección a otras amebas y células de mamíferos (macrófagos)²⁴. Se ha demostrado que *L. pneumophila*, en ocasiones, no se puede cultivar *in vitro* utilizando métodos clásicos, pero si pueden proliferar si son co-cultivados junto a la presencia de amebas²⁶.

Otro aspecto a considerar, es la capacidad que presentan de vivir y proliferar en biofilms, formados principalmente por mohos y otras bacterias. Estos predominan en los fangos que se forman en los sistemas artificiales de distribución de agua, cuando existe un mal mantenimiento, y que una vez establecidos son muy difíciles de eliminar²⁷⁻²⁸. Dentro de los factores que aumentan el riesgo de formación de biofilms incluyen: la presencia de nutrientes (tanto en el agua como en materiales que componen el sistema), la corrosión, temperatura del agua caliente y estancamiento o bajo flujo de agua²⁹. En ambientes de bajos nutrientes, *Legionella* spp. se encuentra en un estado ralentizado de replicación metabólica³⁰.

Estas características confieren al género *Legionella* una protección frente a los enfoques tradicionales de control de patógenos, como los tratamientos de desinfección^{29, 31-33}.

La enfermedad de los legionarios adquirida en el hospital está ligada a la presencia de *Legionella* en el suministro de agua, especialmente en los sistemas de distribución de agua caliente. Diversos estudios indican una colonización de los sistemas de distribución de agua entre el 12-70% de los hospitales^{17-18, 34}. De hecho, el tamaño y la complejidad de los sistemas de agua de las instalaciones sanitarias podrían aumentar el riesgo de crecimiento de *Legionella*. Además, estos centros sanitarios proporcionan atención a las personas que son más susceptibles a la enfermedad de los legionarios, debido a sus factores de riesgo subyacentes^{20,35}.

5.3 MECANISMO DE TRANSMISIÓN Y PATOGENIA

Se han identificado diferentes métodos para la transmisión de *Legionella* a seres humanos. Hay evidencia de aerosolización, aspiración o incluso instilación en el pulmón durante la manipulación del tracto respiratorio. La aspiración de agua contaminada parece ser el principal modo de transmisión en el ambiente hospitalario. La colocación de tubos nasogástricos ha demostrado ser un factor de riesgo significativo para la legionelosis asociada a la asistencia sanitaria en pacientes intubados. A su vez, la *Legionella* es frecuente también en los sistemas de agua del hogar, cualquier ducha o grifo puede ser una fuente de infección³⁶. No existe evidencia de transmisión de persona a persona¹⁷.

Los dispositivos generadores de aerosoles son fuentes potenciales de la enfermedad, y se han vinculado con la aparición de casos y brotes en la sociedad; dentro de los dispositivos podemos incluir las torres de refrigeración, bañeras de hidromasaje, equipos industriales, dispositivos respiratorios y nebulizadores, etc. La probabilidad de que una fuente cause infección, no sólo va a depender de la concentración bacteriana, o la virulencia de ésta, sino también del tipo de aerosol implicado y su capacidad de diseminación^{17,37}.

Tras el primer brote documentado de la enfermedad de los legionarios en 1976, se han publicado las muestras de pacientes que murieron de neumonía por *Legionella pneumophila*, los cuales presentan una infiltración masiva de neutrófilos y macrófagos en los alveolos, desencadenando la destrucción y necrosis de los mismos³⁸.

LP1 es la especie de *Legionella* más virulenta, y la causa más común de la enfermedad. Estas bacterias son capaces de invadir los macrófagos alveolares humanos³⁸⁻⁴⁰. Cuando *L. pneumophila* se introduce en el macrófago, invade la vía de degradación endosomal-lisosómica, y remodela su fagosoma en una vacuola especializada derivada del retículo endoplasmático^{17,41}. Esto se logra mediante la translocación de aproximadamente 300 proteínas efectoras, a través del sistema de secreción Dot/Icm tipo IVB. Estos efectores modulan diversos procesos eucarióticos, incluyendo la señalización, tráfico vesicular, síntesis de proteínas, apoptosis, ubiquitinación y degradación proteosomal^{38,41-43}.

Un efector esencial para la replicación intracelular va a ser AnkB, el cuál funciona como un factor de virulencia nutricional, que promueve la degradación de las proteínas poliubiquitinas por acción de los protosomas, generando altos niveles de aminoácidos

como cisteína, que constituyen una fuente de energía y carbono, para la proliferación intracelular de la bacteria ^{40,43-44}.

Por tanto, *Legionella* spp. inhibe la actividad bactericida de los fagocitos, y es entonces cuando manipula los procesos propios de los macrófagos, para de esta manera desencadenar su reproducción exponencial. Tras la finalización de estos recursos, las bacterias rompen la vacuola pasando al citosol, donde maduran y se transforman en la forma infecciosa flagelada, destruyen los macrófagos para reinfectar otros nuevos, y así desencadenar una cascada inmunitaria, que desemboca en la consecuente patogenia¹⁷.

5.4 SUJETO SUSCEPTIBLE

Legionella es un género oportunista, que pueden ser accidentalmente un patógeno humano¹⁵. Aunque se encuentra muy extendida en ambientes acuáticos, la enfermedad del legionario no es común, y se presenta principalmente como infecciones respiratorias esporádicas con tasas de notificación bajas en la unión europea, teniendo una incidencia general de 1,1 por cada 100000 habitantes¹³.

La legionelosis puede ocurrir tanto en pacientes inmunocompetentes como inmunodeprimidos¹⁵, pero lo habitual es que los individuos afectados presenten determinados factores de riesgo como tabaquismo, sexo masculino, edad avanzada, diabetes mellitus, enfermedades crónicas cardiacas y pulmonares, cáncer, uso de esteroides o cualquier terapia inmunosupresora, etc ^{13-15,45}.

A pesar de su importancia epidemiológica, los factores inmunológicos y genéticos que se encuentran implicados en la susceptibilidad humana a sufrir la infección por *Legionella* spp., siguen siendo materia de investigación⁴⁶.

5.5 ESTRATEGIAS DE PREVENCIÓN Y CONTROL

La clave para la prevención de la legionelosis es el mantenimiento adecuado de los sistemas de agua en los que crece *Legionella* spp. El crecimiento de las bacterias oportunistas en los sistemas de distribución de aguas, es una amenaza creciente para la

salud pública, en particular, las condiciones cálidas y las aguas estancadas, crean las condiciones ideales para el crecimiento de *Legionella* y de amebas libres, y hacen ineficaces los tratamientos habituales en las aguas de abastecimiento^{29,47}. Por tanto, se necesitan nuevas estrategias para el control de la legionelosis, como son la hipercloración y los tratamientos térmicos^{29,33}.

El cloro se utiliza principalmente en concentraciones bajas (0,2 mg/L) como desinfectante para el mantenimiento de la calidad de agua en los sistemas de distribución. Sin embargo, para circunstancias de alto riesgo, se hace uso de concentraciones más altas, denominándose hipercloración³¹⁻³³. Con respecto a los tratamientos térmicos, como sugiere la OMS y se recomienda en las directrices españolas, la temperatura del flujo del agua se debe mantener a un mínimo de 60°C cuando sale de la unidad de calefacción, y al menos 50°C cuando alcanza el grifo^{22,33}.

Además de los tratamientos de hipercloración y choque térmico, podemos encontrar otros métodos, como la aplicación de ozono, luz UV, filtro de barreras bacteriológicas, adición de iones plata y cobre^{17,48}.

La formación de aerosoles, la aspiración y la instilación directa de las bacterias en los pulmones, son las vías de transmisión más frecuentes de la *Legionella* en los hospitales⁴⁸. La vigilancia ambiental de rutina con cultivos adquiere gran importancia en los ambientes sanitarios, debido a que se encuentran las personas más susceptibles a sufrir la enfermedad^{31-32,48}.

La legionelosis es una enfermedad emergente, y la mayoría de datos sobre la colonización de la *Legionella* en los sistemas hídricos procede de Europa, donde se ha establecido una red de vigilancia y directrices. El riesgo de legionelosis en otras regiones donde no existe un control del agua podría ser mucho mayor. Por ello, debido al incremento en el número de viajes internacionales en las últimas décadas, se deberían establecer mecanismos de coordinación a nivel nacional, regional, y mundial^{32,47}.

El plan de seguridad hídrica de la Organización Mundial de la Salud (OMS), está constituido por una base de directrices o reglamentos diseñados para controlar la infección por *Legionella*. Estos reglamentos cubren aspectos relacionados con la calidad del agua potable, ambientes seguros de agua recreativa y aspectos sanitarios del material que forma parte de la red de distribución¹⁷.

6. CONCLUSIONES

- La legionelosis en España es una enfermedad de transmisión aérea de declaración obligatoria semanal. Es uno de los países europeos con mayor tasa de casos, siendo la mayoría autóctonos.
- En las Comunidades Autónomas existen variaciones de incidencia de la enfermedad según el año estudiando. Canarias, en todos los años revisados, presentó una incidencia de enfermedad baja con respecto al resto del territorio nacional.
- La incidencia de esta enfermedad es mayor en hombres, aumenta con la edad y muestra un predominio estacional en verano y otoño, con excepción del año 2015, donde hubo un gran aumento de casos a finales de diciembre relacionado con la aparición de brotes en Castilla la Mancha.
- *Legionella* presenta un reservorio acuático, especialmente los sistemas artificiales de distribución de agua donde se generan aerosoles. Su capacidad de supervivencia y multiplicación depende de la temperatura (óptima entre 25-42°C), de la parasitación de amebas y protozoos ciliados, y de la formación de biofilms, que se ven favorecidos por la presencia de nutrientes, la corrosión, temperatura del agua caliente y estancamiento o bajo flujo de agua.
- Anualmente aparecen un número importante de casos de legionelosis adquiridos en los centros sanitarios, ligado a la presencia de *Legionella* en el suministro de agua, especialmente en los sistemas de distribución de agua caliente.
- La legionelosis puede ocurrir tanto en pacientes inmunocompetentes como inmunodeprimidos, pero lo habitual es que los individuos afectados presenten determinados factores de riesgo como son, el tabaquismo, sexo masculino, edad avanzada, diabetes mellitus, enfermedades crónicas cardíacas y pulmonares, cáncer, uso de esteroides o cualquier terapia inmunosupresora.
- Se trata de una enfermedad emergente de gran importancia en salud pública, que debe ser controlada mediante una correcta higiene de las instalaciones y con el cumplimiento riguroso de la normativa existente. Los métodos de hipercloración y choque térmico nos permite reducir el riesgo de infección en la población.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. 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, España: ELSEVIER MASSON; 2015. p. 647-660.
2. Edelstein P, Roy C. Enfermedad de los legionarios y fiebre de Pontiac. En: Mandell, Douglas, Bennett. Enfermedades infecciosas. Principios y prácticas. 8th ed. Barcelona, España: ELSEVIER ESPAÑA; 2015. p. 2776-2789.
3. Ausina V., Catalán V., Cernado E., Pelaz Antolín C. (2005). Diagnóstico microbiológico y control de la legionelosis. [ebook] Emilia Cercenado y Rafael Cantón, pp. 4-5. [citado 20 Abril 2017]. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia20.pdf>
4. Vaqué Rafart J, Martínez Gómez X. Epidemiología de la legionelosis. En: Medicina Integral. Barcelona, España: ELSEVIER MASSON; 2002. p.271-281
5. 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 5 Junio 2017]. Disponible en: <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-2003-14408>
6. Vaqué Rafart J, Sabrià Leal M, Campins Martí M, Armadans Gil L. Legionelosis. En: Piedrola Gil G, Sierra López A, Sáenz González M, Fernández-Crehuet Navajas J, Salleras Sanmartí L, et al, ed. Medicina preventiva y salud pública. 11th ed. Barcelona, España: ELSEVIER ESPAÑA. 2008. p. 613-630.
7. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Vigilancia Epidemiológica de la Legionelosis en España [Internet]. Msssi.gob.es [citado 30 Abril 2017]. Disponible en: <http://www.msssi.gob.es/salud/agenBiologicos/legionelosis.htm>.
8. Boletín Epidemiológico Semanal en Red [Internet]. Instituto de Salud Carlos III. [citado 20 Abril 2017]. Disponible en: http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-boletines/fd-boletin-epidemiologico-semanal-red/semanas_anteriores_2013.shtml
9. RENAVE. Centro Nacional de Epidemiología. 31/1/2015. Resultados de la vigilancia epidemiológica de las enfermedades transmisibles. Informe anual. Año

2013. [citado 31 mayo 2017]. Disponible en: <http://gesdoc.isciii.es/gesdoccontroller?action=download&id=31/03/2016-fdfbfd303e>.
10. RENAVE. Centro Nacional de Epidemiología. 14/10/2016. Resultados de la vigilancia epidemiológica de las enfermedades transmisibles. Informe anual. Año 2014. [citado 31 mayo 2017]. Disponible en: <http://gesdoc.isciii.es/gesdoccontroller?action=download&id=14/10/20163a996e69f2>.
 11. 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):6104-11.
 12. Cilloniz C, Ewig S, Gabarrus, Ferrer M, Puig de la Bella Casa J, Mensa J, Torres A. Seasonality of pathogens causing community-acquired pneumonia. *Respirology*. 2017 May;22(4):778-785.
 13. Valciņa O, Pūle D, Lucenko I, Krastiņa D, Šteingolde Ž, Krūmiņa A, et al. *Legionella pneumophila* Seropositivity-Associated Factors in Latvian Blood Donors. *Int J Environ Res Public Health*. 2016; 13(1): 58.
 14. Cassier P, Campese C, Le Strat Y, Che D, Ginevra C, Etienne J, et al. Epidemiologic characteristics associated with ST23 clones compared to ST1 and ST47 clones of Legionnaires disease cases in France. *New Microbes New Infect*. 2015 Jan; 3: 29–33.
 15. Jacobson KL, Miceli MH, Tarrand JJ; Dimitrios P. Legionella Pneumonia in Cancer Patients. *Medicine*, 2008 May; 87(3):152-159.
 16. Litwin CM, Asebiomo B, Wilson K, Hafez M, Stevens V, Fliermans CB, Fields BS, Fisher JF. Recreational vehicle water tanks as a possible source for legionella infections. *Case Rep Infect Dis*. 2013;2013:286347
 17. Cunha BA, Burillo A, Bouza E. Legionnaires' disease. *Lancet*. 2016;387(10016):376-385.
 18. Burillo A, Pedro-Botet ML, Bouza E. Microbiology and Epidemiology of Legionnaire's Disease. *Infect Dis Clin North Am*. 2017 Mar;31(1):7-27
 19. De Filippis P, Mozzetti C, Amicosante M, D'Alò GL, Messina A, Varrenti D, Giammattei R, Di Giorgio F, Corradi S, D'Auria A, Fraietta R, Gabrieli R. Occurrence of *Legionella* in showers at recreational facilities. *J Water Health*. 2017;15(3):402-409.

20. Soda EA, Barskey AE, Shah PP, Schrag S, Whitney CG, Arduino MJ, et al. Vital Signs: Health Care-Associated Legionnaires' Disease Surveillance Data from 20 States and a Large Metropolitan Area - United States, 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2017; 66(22):584-589.
21. Bartram J, Chartier Y, Lee JV, Pond K, Surman-Lee S. *Legionella and the prevention of legionellosis.* Geneva, Switzerland: World Health Organization Press, 2007. [citado 10 junio de 2017]. Disponible en: http://www.who.int/water_sanitation_health/emerging/legionella.pdf
22. Rhoads WJ, Ji P, Pruden A, Edwards MA. Water heater temperature set point and water use patterns influence *Legionella pneumophila* and associated microorganisms at the tap. *Microbiome.* 2015;3:67
23. Garcia-Vidal C, Labori M, Viasus D, et al. Rainfall is a risk factor for sporadic cases of *Legionella pneumophila* pneumonia. *PLoS One* 2013; 8: e61036.
24. García MT, Jones S, Pelaz C, Millar RD, Abu Kwaik Y. *Acanthamoeba polyphaga* resuscitates viable non-culturable *Legionella pneumophila* after disinfection. *Environ Microbiol.* 2007;9(5):1267-77.
25. Dobrowsky PH, Khan S, Khan W. Resistance of *Legionella* and *Acanthamoeba mauritaniensis* to heat treatment as determined by relative and quantitative polymerase chain reactions. *Environ Res.* 2017; 10 (158):82-93.
26. Lu J, Struewing I, Vereen E, Kirby AE, Levy K, Moe C, Ashbolt N. Molecular Detection of *Legionella* spp. and their associations with *Mycobacterium* spp., *Pseudomonas aeruginosa* and amoeba hosts in a drinking water distribution system. *J Appl Microbiol.* 2016; 120(2):509-21.
27. Portier E, Bertaux J, Labanowski J, Hechard Y. Iron Availability Modulates the Persistence of *Legionella pneumophila* in Complex Biofilms. *Microbes Environ.* 2016;31(4):387-394.
28. Ji P, Rhoads WJ, Edwards MA, Pruden A. Impact of water heater temperature setting and water use frequency on the building plumbing microbiome. *ISME J.* 2017 Jun;11(6):1318-1330.
29. 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: 1.
30. Wang H, Masters S, Hong Y, Stallings J, Falkinham JO 3rd, Edwards MA, Pruden A. Effect of disinfectant, water age, and pipe material on occurrence and

- persistence of *Legionella*, mycobacteria, *Pseudomonas aeruginosa*, and two amoebas. *Environ Sci Technol*. 2012; 46(21):11566-74.
31. Iatta R, Cuna T, Napoli C, De Giglio O. Environmental surveillance and molecular investigation of *Legionella* spp. in Apulia, in the years 2008-2011. *Ann Ig* 2013; 25: 435-441.
 32. Quaranta G, Vincenti S, Ferriero AM, Boninti F, Sezzatini R, Turnaturi C, et al. *Legionella* on board trains: effectiveness of environmental surveillance and decontamination. *BMC Public Health*. 2012; 12: 618.
 33. 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.
 34. Ditommaso S, Giacomuzzi M, Rivera SR, Raso R, Ferrero P, Zotti CM. Virulence of *Legionella pneumophila* strains isolated from hospital water system and healthcare-associated Legionnaires' disease in Northern Italy between 2004 and 2009. *BMC Infect Dis*. 2014; 14:483. doi.
 35. Agarwal S, Abell V, File TM Jr. Nosocomial (Health Care-Associated) Legionnaire's Disease. *Infect Dis Clin North Am*. 2017;31(1):155-165. doi: 10.1016/j.idc.2016.10.011. Epub 2016 Dec 12.
 36. Falkinham JO, Hilborn ED, Arduino MJ, Pruden A, Edwards MA. Epidemiology and Ecology of Opportunistic Premise Plumbing Pathogens: *Legionella pneumophila*, *Mycobacterium avium*, and *Pseudomonas aeruginosa*. *Environ Health Perspect*. 2015 Aug; 123(8): 749–758.
 37. Söderberg M.A., Ph.D., Cianciotto N.P. Mediators of Lipid A Modification, RNA Degradation, and Central Intermediary Metabolism Facilitate the Growth of *Legionella pneumophila* at Low-Temperatures. *Curr Microbiol*. 2010; 60(1): 59–65.
 38. Jäger J, Marwitz S, Tiefenau J, Rasch J, Shevchuk O, Kugler C, Goldmann T, Steinert M. Human Lung Tissue Explants Reveal Novel Interactions during *Legionella pneumophila* Infections. *Infect Immun*. 2014 Jan; 82(1): 275–285.
 39. Khweek AA, Knneganti A, Guttridge D DC, Amer AO. The Sphingosine-1-Phosphate Lyase (LegS2) Contributes to the Restriction of *Legionella pneumophila* in Murine Macrophages. *PLoS One*. 2016 Jan 7;11(1):e0146410

40. Price CT, Kwaik YA. The Transcriptome of *Legionella pneumophila*-Infected Human Monocyte-Derived Macrophages. PLoS One. 2014; 9(12): e114914
41. Franco IS, Shohdy N, Shuman HA. The *Legionella pneumophila* effector VipA is an actin nucleator that alters host cell organelle trafficking. PLoS Pathog. 2012 Feb;8(2):e1002546
42. Harada T, Tanikawa T, Iwasaki Y, Yamada M, Imai Y, Miyake M. Phagocytic entry of *Legionella pneumophila* into macrophages through phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate-independent pathway. Biol Pharm Bull. 2012;35(9):1460-8.
43. Price CT, Richards AM, Von Dwingelo JE, Samara HA, Abu Kwaik Y. Amoeba host-*Legionella* synchronization of amino acid auxotrophy and its role in bacterial adaptation and pathogenic evolution. Environ Microbiol. 2014 Feb;16(2):350-8
44. Beauté J, Zucs P, de Jong B. Legionnaires' disease in Europe, 2009-2010. Euro Surveill. 2013;18(10): pii=20417.
45. McAdam PR, Vander Broek CW, Lindsay D, Ward MJ, Hanson MF, Gillies M, et al. Gene flow in environmental *Legionella pneumophila* leads to genetic and pathogenic heterogeneity within a Legionnaires' disease outbreak. Genome Biol. 2014; 15(11): 504.
46. Misch EA, Verbon A, Prins JM, Skerrett SJ, Hawn TR. A *TLR6* polymorphism is associated with increased risk of Legionnaires' Disease. Genes Immun. 2013 Oct; 14(7): 420–426.
47. 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): 325-337.
48. Sarjomaa M, Urdahl P, Ramsli E, Borchgrevink-Lund CF, Ask E. Prevention of Legionary Disease in Hospitals. Tidsskr Nor Legeforen 2011; 131:1554-7.