



Prevención de legionelosis en playas mediante la cuantificación rápida de *Legionella spp*

Ester Renau técnico de Servicios de Sitra

Cristina Ferrer técnico de Servicios de Sitra

Javier Donato director de Sitra

Inmaculada Solís jefa de Laboratorio de Microbiología de Iproma,

Carlos Ferrer gerente de Biótica - Bioquímica Analítica

Mireia Lázaro directora de Asistencia Técnica de Biótica - Bioquímica Analítica

Guillermo Rodríguez director científico de Biótica - Bioquímica Analítica

El cambio climático y el incremento del turismo senior en las playas de España, fundamentalmente en el litoral mediterráneo, dibuja un escenario que combina una población sensible a la legionelosis y unas condiciones ambientales que propician, durante más tiempo, la proliferación de *Legionella spp* en sus instalaciones. El mapeo de los puntos críticos y el muestreo y detección rápida de *Legionella spp* habilitan la acción oportuna y focalizada para garantizar un entorno saludable. Este estudio es el primero en el mundo que incorpora desinfección focalizada según la evidencia de la presencia de esta bacteria mediante una técnica de cuantificación rápida.

Palabras clave

Legionella spp, instalaciones de riesgo, playas, detección rápida, desinfección oportuna, turismo saludable.

Legionellosis prevention in beaches by rapid quantifying of *Legionella spp*

*Climatic change and increasing senior tourism in Spanish beaches, mainly Mediterranean coast, paint a scenario combining people sensitive to legionellosis and environmental conditions promoting, during more time, the proliferation of *Legionella spp* at installations. The mapping of critical points, and the sampling and fast detecting of *Legionella spp*, allow timely and focused steps to warranty a healthy environment. This is the first study in the world that implements focused disinfection based on the evidence of the bacterium presence by a fast quantification technique.*

Keywords

Legionella spp, risk installations, beaches, fast detection, timely disinfection, healthy tourism.



1. Introducción

Oropesa del Mar es un municipio con más de 10 km de playa a lo largo de la Costa de Azahar, situada a 22 km de la capital de provincia, Castellón de la Plana. Su inversión en infraestructura para el mantenimiento y recuperación de sus playas, todas banderas azules, ha hecho de Oropesa un referente mundial para el turismo, que es su principal fuente de ingresos (**Figura 1**). El Mediterráneo es actualmente el destino turístico del mundo más popular y de mayor éxito, con más 120 millones de visitantes cada año [1].

La evolución socio-demográfica de este sector ha añadido un fundamento más al interés de Oropesa por la higiene de sus playas, en un contexto de cambio climático. Y es que concurre un perfil de población sensible a la legionelosis con unas condiciones meteorológicas favorables durante más tiempo a la proliferación de *Legionella* en las instalaciones y servicios que dotan las playas. Este perfil es el de adultos mayores de 55 años, en su mayoría retirados, cuya disponibilidad para viajar durante todo el año extiende su demanda turística a buena parte del año, principalmente de marzo a octubre. Esta desestacionalización de la demanda es también consecuencia del cambio climático [2-5]. El perfil de temperaturas propicias abarca también un mayor número de meses al año, definiendo unas condiciones que son también propicias para la actividad de *Legionella*, el agente causal de la legionelosis y presente en el agua.

La legionelosis es una causa relativamente frecuente de neumonía comunitaria y nosocomial [6]. En el inicio del otoño se han producido brotes como el de Portugal, o el de Barcelona, el primero con 9 muertos y más de 300 hospitalizados, y el

segundo con 10 muertos y 41 afectados, o los brotes de Alcoy con 11 afectados y Lugo con 4 afectados, o la muerte de una turista británica de 59 años en Ibiza con el foco en un depósito de agua contaminado. Los brotes se asocian a dispositivos generadores de aerosoles (**Figura 2**), incluyendo duchas, nebulizadores, torres de refrigeración, spas, condensadores evaporativos, etc. [7-10].

Por las singularidades de su estilo de vida, la *Legionella* es un germen resistente, con aumentos impredecibles de su concentración en el agua, en ocasiones en muy poco tiempo, y con una persistencia alta en el agua. Puede resistir temperaturas entre 0-68 °C, un rango de pH entre 5 y

8,5 y, a menudo, resiste biocidas y el cloro.

El gasto medio por turista y día en España es de 117 euros. El gasto medio en un día de 'sol y playa' por visitante se estima en unos 40 euros [11]. Puede así estimarse el impacto negativo que vendría por clausura de playas, y añadir el deterioro de imagen, las pérdidas en negocios locales, y los costes médicos de los enfermos. En este escenario, este municipio se preocupa aún más por el control de focos potenciales de legionelosis en las instalaciones de riesgo de sus playas, con el objetivo de procurar un turismo saludable en playas saludables y evitar el impacto económico negativo que podría derivarse si el riesgo es subestimado.

Figura 1. Litoral del municipio de Oropesa del Mar.



Figura 2. La inhalación de microgotas contaminadas permite la llegada de *Legionella* a los pulmones.



Por ello, el Ayuntamiento de Oropesa y la empresa de desinfección Sitra han impulsado un estudio pionero que pone de relieve el papel de la monitorización ambiental en la evaluación y seguimiento del riesgo de legionelosis en playas. Estas entidades vienen colaborando durante los últimos años para asegurar el cumplimiento de la legislación aplicable en materia de prevención de la legionelosis (RD 865/2003) [12] en todas sus instalaciones municipales.

Esta regulación pivota hasta hoy sobre la enumeración de *Legionella* mediante una técnica de cultivo y estableciendo unos intervalos de concentración con referencia a los cuáles se toman decisiones al respecto del mantenimiento, tratamiento y desinfección de las instalaciones, según el resultado obtenido para la muestra. Este proceso requiere del transcurso de 10-12 días, porque el crecimiento de la bacteria es lento y muy sensible a la presencia de otros microorganismos en la misma muestra. Puede por tanto darse una subestimación del riesgo porque el resultado obtenido subestime la concentración real del patógeno, o porque el resultado no recoja los cambios ocurridos en la concentración de éste en la instalación desde que se tomara la muestra días antes [13-20].

Por esta razón, este estudio incorporó como complemento un método no basado en el crecimiento de la bacteria que, teniendo correspondencia con el método clásico, proporcionara una información equivalente y rápida. De este modo, se identificarían tempranamente puntos potenciales de riesgo sobre un muestreo y análisis de todos los puntos terminales, focalizando de manera oportuna y proporcionada el tratamiento de desinfección, para que las playas no supongan un riesgo para sus visitantes.

2. Metodología

Antes de comenzar la campaña del verano de 2014, y en complemento a la desinfección anual indicada por la legislación vigente (RD 865/2003 y D 173/2000), el servicio se reforzó con una vigilancia en las playas para garantizar el estado óptimo de las instalaciones. La vigilancia consistió en un estudio exhaustivo de las mismas utilizando un test de detección y cuantificación rápida de *Legionella spp* (Legipid, Biótica).

El estudio desarrollado por Sitra comprendió el análisis de 140 muestras de 70 puntos terminales en distintos puntos de control de las playas, entre ellos duchas, lavapiés y nebulizadores, mediante esta técnica rápida, certificando la correcta y oportuna gestión de los tratamientos aplicados y el buen estado del agua de estas instalaciones.

El primer paso fue registrar la localización de cada una de los puntos terminales para su monitorización en todas las playas objeto del estudio: la playa de La Concha, la playa de Morro de Gos, la playa de Bellver y la playa de Les Amplaries (**Figura 3**). Este mapeo fue una etapa especialmente crítica porque la identificación de puntos positivos para *Legionella* fue un factor clave para desarrollar acciones correctivas.

En este registro fueron contemplados distintos tipos de puntos terminales: duchas, lavapiés, nebulizadores y un tipo particular de duchas en forma de escultura de elefante (**Figura 4**). El origen del agua (potable o agua de mar clorada) y la red a la cual pertenece fueron también consideradas. El tamaño de las microgotas de agua, que se definió por tipo de punto terminal, condiciona

Figura 3. Mapeo e identificación de la tipología y cantidad de instalaciones de riesgo en una de las playas (Amplaries) monitorizadas.



Figura 4. Técnico a pie de una ducha-elefante de Oropesa de Mar.



**Tabla 1.** Muestreo inicial e identificación de puntos potenciales de riesgo (P = agua potable; C = agua de mar clorada).

Playa	Nº muestra	Terminal	Red nº	Tpo de agua	Resultado por test rápido	
Playetes	1	ducha 1	0	P	Negativo	
	2	ducha 2	0	P	Negativo	
	3	ducha 3	0	P	Negativo	
Cala Rector	4	ducha 1	1	P	Negativo	
La Concha	5	ducha 1	2	P	Negativo	
	6	ducha 1	3	P	Negativo	
	7	ducha 2	3	P	Negativo	
	8	ducha 3	3	P	Negativo	
	9	ducha 1	5	P	Negativo	
	10	ducha 2	5	P	Negativo	
	11	ducha 3	5	P	Negativo	
	12	ducha 4	5	P	Negativo	
	13	ducha 5	5	P	Negativo	
	14	ducha 6	5	P	Negativo	
	15	ducha 7	5	P	Negativo	
	16	lavapiés 1	depósito 1	C	Positivo	
	17	lavapiés 2	depósito 1	C	Negativo	
	18	lavapiés 3	depósito 1	C	Negativo	
	19	lavapiés 4	depósito 1	C	Negativo	
	20	lavapiés 5	depósito 1	C	Negativo	
	21	lavapiés 6	depósito 1	C	Negativo	
	22	lavapiés 7	depósito 1	C	Negativo	
	23	lavapiés 8	depósito 1	C	Negativo	
	24	lavapiés 9	depósito 1	C	Negativo	
	25	lavapiés 10	depósito 1	C	Negativo	
	26	lavapiés 15	depósito 1	C	Negativo	
	27	nebulizer	4	P	Negativo	
	Morro de Gos	28	ducha 1	6	P	Negativo
		29	lavapiés 1	depósito 2	C	Negativo
		30	ducha 2	depósito 2	P	Negativo
		31	lavapiés 2	depósito 2	C	Negativo
32		ducha 3	depósito 2	P	Negativo	
33		lavapiés 3	depósito 2	C	Negativo	
34		ducha 4	depósito 2	P	Negativo	
35		lavapiés 5	depósito 2	C	Negativo	
36		lavapiés 7	depósito 2	C	Negativo	
37		ducha 5	depósito 2	P	Negativo	
38		lavapiés 9	depósito 2	C	Negativo	

Tabla 1. Muestreo inicial e identificación de puntos potenciales de riesgo (P = agua potable; C = agua de mar clorada).
continuación

Playa	Nº muestra	Terminal	Red nº	Tpo de agua	Resultado por test rápido
Morro de Gos	39	lavapiés 11	depósito 2	C	Negativo
	40	ducha 1	7	P	Negativo
	41	lavapiés 12	depósito 2	C	Negativo
	42	ducha 2	7	P	Negativo
	43	lavapiés 15	depósito 2	C	Negativo
	44	ducha 3	7	P	Negativo
	45	lavapiés 17	depósito 2	C	Negativo
	46	ducha 4	7	P	Negativo
	47	lavapiés 19	depósito 2	C	Negativo
	48	ducha 1	8	P	Negativo
	49	ducha 1	9	P	Negativo
	50	lavapiés 21	depósito 2	C	Negativo
	Amplaries	51	elefante 1	depósito 3	P
52		elefante 2	depósito 3	P	Negativo
53		elefante 3	depósito 3	P	Negativo
54		elefante 4	depósito 3	P	Negativo
55		lavapiés 11	depósito 3	C	Positivo
56		lavapiés 9	depósito 3	C	Negativo
57		lavapiés 7	depósito 3	C	Negativo
58		lavapiés 4	depósito 3	C	Positivo
59		lavapiés 1	depósito 3	C	Negativo
60		ducha 1	11	P	Negativo
61		ducha 10	10	P	Negativo
62		ducha 9	10	P	Negativo
63		ducha 8	10	P	Negativo
64		ducha 7	10	P	Negativo
65		ducha 6	10	P	Negativo
66		ducha 5	10	P	Negativo
67		ducha 4	10	P	Negativo
68		ducha 3	10	P	Negativo
69		ducha 2	10	P	Negativo
70		ducha 1	10	P	Negativo

la probabilidad de inhalación, vía de contagio de *Legionella*. Según este criterio los puntos terminales se ordenaron de menor a mayor tamaño de gota: nebulizadores, elefantes, duchas y lavapiés.

Todas las muestras presentaron el nivel mínimo de cloro requerido por la legislación (0,4-1,0 ppm), tanto el agua potable de red como el agua de mar clorada en tanques. Las instalaciones se distribuyen en va-

rias redes independientes y cada una cuenta con una vía de entrada para la hipercloración de la misma.

También se realizó un primer muestreo sobre la práctica totalidad de los puntos terminales existen-

**Tabla 2.** Remuestreo (P = agua potable; C = agua de mar clorada).

Playa	Nº muestra	Terminal	Red nº	Tpo de agua	Resultado por test rápido
La Concha	16	lavapiés 1	depósito	C	Negativo
Amplaries	71	lavapiés 4	depósito	C	Negativo
	72	lavapiés 11	depósito	C	Negativo

tes, justo antes de que se iniciase el período de máxima afluencia en las playas, en el mes de junio. Este muestreo tuvo lugar el 2 de junio, con 70 muestras, y se llevaron a cabo los pertinentes ensayos por la técnica Legipid. Entre el día 4 y el día 6 de junio se aplicaron las medidas correctoras, y el 9 de junio se volvieron a tomar y analizar muestras de aquellos puntos que hubiesen resultado positivos.

Un segundo muestreo de mantenimiento se llevó a cabo durante los meses de verano (junio, julio y agosto), con una cadencia de 7-8 muestras semanales hasta completar la totalidad de los puntos terminales. Las temperaturas ambientales fueron registradas en el período del estudio.

Las muestras fueron tomadas y analizadas siempre en un laborato-

rio acreditado ISO17025 (Iproma). El test aplicado comprende la concentración de la muestra por filtración de membrana, y la captura específica y separación del microorganismo presente en el concentrado. En el paso último se genera un color proporcional a la cantidad de *Legionella spp* en la muestra analizada. La rapidez del ensayo, que tiene lugar aproximadamente en 1 hora para tandas de hasta 20 ensayos, incorporando siempre el ensayo de un control negativo por tanda, aceleró el proceso de toma de decisiones, contribuyendo a reducir la relación coste/servicio. El test, certificado por AOAC, tiene una relación de equivalencia con la técnica convencional de cultivo.

3. Resultados y discusión

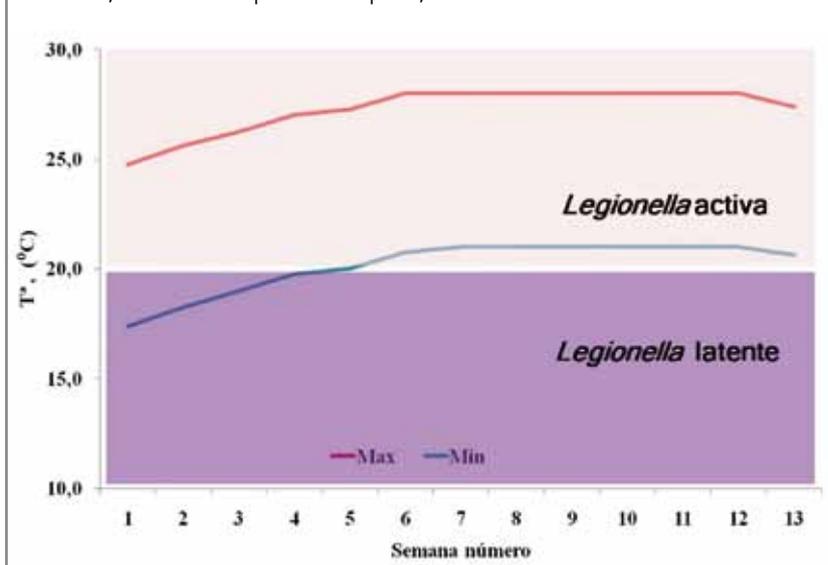
En el primer muestreo, 67 de los 70

puntos terminales fueron negativos por Legipid y 3 resultaron positivos, todos ellos lavapiés, dos de ellos en la playa Les Amplaries y el tercero en la playa de La Concha (**Tabla 1**). Estos puntos fueron rápidamente identificados y en consecuencia rápidamente desinfectados. Tres días después de la desinfección, se aplicó de nuevo el test, comprobando que los resultados fueron negativos, alcanzando así una tasa de positividad 0 (**Tabla 2**).

Desde ese momento, se llevó a cabo un muestreo de mantenimiento semanal hasta la conclusión del estudio con la totalidad de los 70 puntos terminales analizados por el test rápido, a razón de tandas semanales de 7-8 muestras. El nivel de *Legionella spp* se mantuvo por debajo de 10^3 CFU·L⁻¹.

Las temperaturas ambientales registradas en el período del estudio permitieron determinar que la media de la temperatura media máxima diaria fue de 27 °C, con picos de hasta 32 y 34 °C. Teniendo en cuenta que las temperaturas en el agua de entre 20 y 50 °C promueven el crecimiento de *Legionella*, las condiciones ambientales podrían favorecer su presencia en un número significativo de instalaciones en la costa (**Figura 5**).

El primer muestreo se realizó habiendo sido ya aplicada la desinfección programada de acuerdo con la aplicación del RD865/2003. Posiblemente esto explica una tasa de positividad, del 4,3%, significativamente menor que la obtenida en las playas

Figura 5. Registro semanal de las temperaturas medias, máxima y mínima, en el municipio de Oropesa, durante la duración del estudio.

Las playas públicas y privadas deben sumarse a la lista de posibles fuentes de infección de *Legionella*. En el caso de Oropesa, la vigilancia consistió en el uso del sistema Legipid de detección y cuantificación rápida

de otras regiones del Mediterráneo, de hasta un 24%. En cualquier caso, la positividad detectada en este primer muestreo sugiere que la evaluación y seguimiento del riesgo en las instalaciones de playas, sobre la base de una medida rápida del nivel de *Legionella*, es necesaria. Esto es particularmente relevante si se tiene en cuenta el uso comunitario de esta infraestructura de costa en los meses de verano por parte de una categoría creciente de usuario, el turista senior, que tiene una mayor probabilidad de desarrollar la enfermedad una vez ha sido infectado. Las estrategias, como la aquí presentada, basadas en la detección rápida de *Legionella* podrían ayudar a reducir la frecuencia de exposición a este riesgo.

4. Conclusiones

El impacto de cambio climático, con temperaturas mayores durante más tiempo en el año, y la concentración de gran número de personas mayores, más sensibles al contagio de *Legionella* y a desarrollar la enfermedad, debe tenerse en cuenta en la industria del turismo. Estos factores tienden a alargar la temporada turística, produciendo su alargamiento y aplanamiento en el año. El atractivo de la zona costera mediterránea en primavera y otoño ahora está aumentando especialmente para la tercera edad, alejando el turismo en su conjunto de la estacionalidad.

La monitorización ambiental de las instalaciones de riesgo y los tratamientos de agua deberían extenderse de igual forma, desde la primavera (marzo-abril) a otoño (oc-

tubre-noviembre), adaptándose al comportamiento socio-demográfico de las poblaciones de mayor riesgo.

Por estas razones, se propone complementar el cumplimiento de la legislación vigente con una estrategia basada en la asignación de los puntos críticos para controlar el nivel de *Legionella* por esta prueba rápida en las campañas de muestreo para los próximos años, con el fin de adoptar oportunamente las acciones correctivas y el mantenimiento regular.

Este estudio confirmó la presencia de *Legionella* en focos potenciales de riesgo de las playas. Por lo tanto, la lista de las posibles fuentes de infección debe incluir las playas públicas y privadas entre los sitios potencialmente contaminados. La estrategia adoptada en este estudio ha permitido mantener el nivel de *Legionella spp* por debajo de 10^3 CFU·L⁻¹. La calidad higiénica de las instalaciones monitoreadas se mantuvo como excelente.

5. Agradecimientos

Los autores agradecen la cooperación de Rafael H. Albert Roca, alcalde del Ayuntamiento de Oropesa, y el interés de sus técnicos. Igualmente, reconocen el compromiso y profesionalidad de los técnicos de Sitra participantes en el estudio, Irene Ortells, María Luna, Teo Viñado y Guillermo Miralles.

Bibliografía

[1] Perry, A. (2000). Impacts of climate change on tourism in the Mediterranean: adaptive responses. Fondazione Eni Enrico Mattei, Milano (Italia).

[2] Perry, A. (2006). Will predicted climate change compromise the sustainability of Mediterranean tourism? *Journal of Sustainable Tourism*, núm. 14 (4), págs. 367-375.

[3] Ruttva, M.; Scotta, D. (2010). Will the Mediterranean become 'too hot' for tourism? A Reassessment. *Tourism and Hospitality Planning & Development*, núm. 7 (3), págs. 267-281.

[4] Amelung, B.; Viner D. (2006). Mediterranean tourism: exploring the future with the tourism climatic. *Journal of Sustainable Tourism*, núm. 14 (4), págs. 349-366.

[5] Mirski, T.; Bartoszcze, M.; Bielawska-Drozd, A. (2012). Impact of climate change on infectious diseases. *Pol. J. Environ. Stud.*, núm. 3, págs. 525-532.

[6] Hanrahan, J.P.; Morse, D.L.; Scharf, V.B. (1987). A community hospital outbreak of Legionellosis: transmission by potable hot water. *Am. J. Epidemiol.*, núm. 125, págs. 639-649.

[7] Delia S, Lagana P, Minutoli E: Occurrence of legionella in beach shower facilities 2007, *J Prev Med Hyg*, 48:114-117.

[8] Mahoney, F.J.; Hoge, C.W.; Farley, T.A. (1992). Community-wide outbreak of Legionnaires' disease associated with a grocery store mist machine. *J. Infect. Dis.*, núm. 165, págs. 736-739.

[9] Dondero, T.J.; Rendtorff, R.C.; Mallison, G.F. (1980). An outbreak of Legionnaires' disease associated with a contaminated air-conditioning cooling tower. *N. Engl. J. Med.*, núm. 302, págs. 365-370.

[10] Borgen, K.; Aaberge, I.; Werner-Johansen O. (2008). A cluster of Legionnaire disease linked to an industrial plant in southeast, Norway. *Euro Surveill*, 13.

[11] Ministerio de Industria, Energía y Turismo (2014). Encuesta de gasto turístico. <http://www.iet.tourspain.es>.

[12] Ministerio de Sanidad y Consumo. Real Decreto 865/2003, de 4 de julio, por el que se establecen los criterios higiénico-sanitarios para la prevención y control de la legionelosis. BOE, núm. 171, págs. 28.055-28.069.

[13] Borges, A.; Simões, M.; Martínez-Murcia, A.; Saavedra, M.J. (2012). Detection of *Legionella spp.* in natural and man-made water systems using standard guidelines. *J. Microbiol. Res.*, núm. 2 (4), págs. 95-102.

[14] Maria, S.G.; Nuno, F.A.; Sandra, A.W.; Maria, J.V.; Charles, W.K. (2011). Interaction of *Legionella pneumophila* and *Helicobacter pylori* with bacterial species isolated from drinking water biofilms. *BMC Microbiol*, núm. 11, pág. 57.

[15] Akira, O.; Naoyuki, K.; Koji, Y.; Keizo, Y. (2003). Factors influencing survival of *Legionella pneumophila* Serotype 1 in hot spring water and tap water. *Appl. and Environ. Microbiol.*, núm. 69 (5), págs. 2.540-2.547.

[16] Al-Sulami, A.A.; Al-Tae, A.M.R.; Yehyazarian, A.A. (2013). The effect of *Aeromonas spp* on the growth of *Legionella pneumophila* in vitro. *Air Water Borne Diseases*, núm. 2, pág. 108.

[17] Lee, T.C.; Vickers, R.M.; Yu, V.L.; Wagener, M.M. (1993). Growth of 28 *Legionella* species on selective culture media: a comparative study. *J. Clin. Microbiol.*, núm. 31 (10), págs. 2.764-2.768.

[18] Hussong, D.; Colwell, R.R.; O'Brien, M.; Weiss, E.; Pearson, A.D.; Weiner, R.M.; Burge, W.D. (1987). Viable *Legionella pneumophila* not detectable by culture on agar media. *Biotechnol.*, núm. 5, págs. 947-950.

[19] Cotuk, A.; Dogruoz, N.; Zeybek, Z.; Kimiran-Erdem, A.; Ilhan-Sungur, E. (2005). The effects of *Pseudomonas* and *Aeromonas* strains on *Legionella pneumophila* growth. *An. of Microbiol.*, núm. 55 (3), págs. 219-224.

[20] Chenga, Y.W.; Raphael, C.Y.C.; Wong, P.K. (2007). Disinfection of *Legionella pneumophila* by photocatalytic oxidation. *Water Res.*, núm. 41, págs. 842-852.