

ARTÍCULOS ORIGINALES

PRESENCIA DE ESPECIES DE *LEGIONELLA* EN RESERVORIOS DOMICILIARIOS DE AGUA DE RESISTENCIA CHACO, ARGENTINA*Presence of Legionella Species in Residential Water Reservoirs of Resistencia Chaco, Argentina*Liliana Silvina Lösch¹, Gerardo Daniel Deluca¹, Marcelo Gabriel Medina¹, Agustina Yarros², Micaela Weber², Luis A. Merino¹

RESUMEN. INTRODUCCIÓN: El género *Legionella* comprende especies que se encuentran en ambientes acuáticos, pero se deben incorporar a aerosoles e inhalar para producir enfermedad. Si bien la mayoría de los casos de neumonía son causados por *L. pneumophila*, de las 58 especies que constituyen este género, 24 se relacionaron a enfermedad humana. El objetivo del trabajo fue evaluar la presencia de especies de *Legionella* en reservorios domiciliarios de agua potable de Resistencia, Chaco. **MÉTODOS:** Se estudiaron 46 muestras de agua tomadas en diferentes puntos de la ciudad. La detección de *Legionella* se realizó por cultivo según lo establecido en la norma ISO 11731:1998. La técnica molecular de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real con colorante intercalante (*Syber Green*) se aplicó a los aislamientos obtenidos por cultivo e identificados como *Legionella spp.* Las secuencias diana utilizadas correspondieron a fragmentos conservados del gen *23S rRNA* para la confirmación del género y el gen *mip* específico para la especie *L. pneumophila*. **RESULTADOS:** En 16 (34,9%) de las 46 muestras estudiadas se recuperaron cepas de *Legionella spp.* Por la técnica molecular se confirmó la presencia de *Legionella pneumophila* en 15 de las muestras positivas por cultivo. Además, 3 de estas muestras (6,5%) también resultaron positivas para otras especies del género *Legionella*. **CONCLUSIONES:** Este trabajo demostró la presencia de *L. pneumophila* y otras especies en los reservorios domiciliarios de agua potable en Resistencia.

ABSTRACT. INTRODUCTION: *Legionella* genus includes species that are found in a variety of aquatic environments, but must be incorporated into aerosols and inhaled to produce disease. Although most cases of pneumonia are caused by *L. pneumophila*, of the 58 species that constitute this genus, 24 were related to human disease. The aim of this study was to evaluate the presence of *Legionella* species in residential reservoirs of drinking water of Resistencia, Chaco. **METHODS:** Forty six water samples taken from different points in the city were studied. *Legionella* detection in the samples was performed by culture as set out in the ISO standard 11731:1998. Real-time polymerase chain reaction (qPCR) assays were applied to isolates obtained by culture and identified as *Legionella spp.* according to the ISO standard. The target sequences used corresponded to 23S rRNA gene, for the confirmation of the genus, and *mip* gene specific for the species *L. pneumophila*. **RESULTS:** In 16 (34.8%) of the 46 samples studied *Legionella spp.* was recovered. Molecular technique confirmed the presence of *Legionella pneumophila* in 15 samples. In addition, 3 of these samples (6.5%) were also positive for another species of the genus *Legionella*. **CONCLUSIONS:** This study demonstrated the presence of *L. pneumophila* and other species in residential drinking water reservoirs in Resistencia.

PALABRAS CLAVE: *Legionella pneumophila*; Cultivo; Depósitos de Agua Potable

KEY WORDS: *Legionella pneumophila*; Culture Method; Drinking Water Storage Tanks

¹ Instituto de Medicina Regional. Universidad Nacional del Nordeste, Resistencia, Chaco, Argentina.

² Facultad de Medicina, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina.

FUENTE DE FINANCIAMIENTO: Beca "Ramón Carrillo-Arturo Oñativia", categoría individual, otorgada por el Ministerio de Salud de la Nación, Argentina, a través de la Comisión Nacional Salud Investiga, y por la Secretaría General de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional del Nordeste, PI16/L004.

FECHA DE RECEPCION: 1 de marzo de 2019

FECHA DE ACEPTACION: 2 de agosto de 2019

CORRESPONDENCIA A: Liliana Silvina Lösch
Correo electrónico: silvinalosch@gmail.com

Registro RENIS N°: IS000912

INTRODUCCIÓN

Las bacterias del género *Legionella* son integrantes naturales de la comunidad microbiana de agua dulce. Son microorganismos heterótrofos, que se encuentran en una gran variedad de ambientes acuáticos y en biofilms relacionados a ellos. Pueden sobrevivir en un amplio intervalo de condiciones físico-químicas, se multiplican entre 20 y 45°C y se destruyen a 70°C. Los productos utilizados en la etapa de desinfección de agua, como cloro, hipoclorito y dióxido de cloro, son efectivos para la remoción de estos microorganismos, que poseen la capacidad de sobrevivir como parásito intracelular de amebas y ciliados, en ambientes con bajas condiciones de nutrientes y como células viables no cultivables (VNC)¹⁻⁵.

A partir del ambiente *Legionella* puede pasar a colonizar los sistemas de abastecimiento de las ciudades. A

través de la red de distribución llega a los hogares y se incorpora a la instalación domiciliar y a los tanques de almacenamiento de agua potable u otros sistemas que requieren agua para su funcionamiento, como las torres de refrigeración. El estancamiento del agua y la presencia de lodos y materia orgánica construyen una biocapa, que permite la multiplicación de la bacteria. La transmisión de este microorganismo se produce por la inhalación de aerosoles generados por fuentes contaminadas^{2,5,6}.

El género *Legionella* pertenece a la familia *Legionellaceae*, conformada por 54 especies, de las cuales 25 están relacionadas a enfermedad humana⁵. Más de la mitad de las especies causan patología en el hombre, pero *L. pneumophila* origina más del 90% de las infecciones y fue relacionada por primera vez a cuadros de neumonía en 1977. Dentro de esta especie el serogrupo 1 es el agente etiológico del 80% de los casos de legionelosis. En Australia, Nueva Zelanda y Japón los casos de infección reportados por *L. longbeachae* ocurren con la misma frecuencia que los de *L. pneumophila*⁷. Las infecciones por *Legionella* pueden presentarse como casos esporádicos o bien como brotes, pero en ambas circunstancias resulta difícil determinar la fuente de infección^{8,9}.

La legionelosis afecta particularmente a personas con el sistema inmune debilitado o de edad avanzada. Se reconocen dos formas clínicas diferenciadas: la infección pulmonar o “enfermedad del legionario” y la forma no neumónica o “fiebre de Pontiac”. La infección por este microorganismo puede originarse en el ámbito hospitalario o en el comunitario^{2,10}.

Las infecciones por este microorganismo son un importante problema de salud pública en Estados Unidos y Europa. Registran un aumento de casos en los últimos años y han originado brotes tanto en la comunidad como asociados a hospitales y hoteles. En 2014 se reportaron 4486 casos de legionelosis en Estados Unidos y en 2015 se notificaron 7034 en el sistema europeo¹¹⁻¹³. Las posibles razones de este aumento de casos se atribuyen a: 1) un aumento continuo en los sistemas de ingeniería de agua adecuados para el desarrollo de *Legionella*, como las instalaciones de refrigeración; 2) el envejecimiento de la sociedad en los países desarrollados; y 3) un mejor diagnóstico y reporte³. En Latinoamérica, en general, y en Argentina, en particular, existe poca información de la incidencia de *Legionella* spp., situación posiblemente atribuible a la presentación en forma de casos esporádicos y no de brotes. En Argentina se reporta una incidencia del 2% de todas las neumonías¹⁴⁻¹⁷.

Los estándares de calidad del agua destinada al consumo humano no consideran la potencial presencia de *Legionella*. En Argentina los requisitos de aptitud microbiológica están establecidos por su Código Alimentario, pero los análisis de *Escherichiacoli* o de coliformes evalúan la contaminación fecal y no constituyen indicadores adecuados de la presencia o ausencia de este patógeno, cuya vía de infección es respiratoria^{2,18}.

El aislamiento de *Legionella* en cultivo es la técnica de referencia, para la cual existen varios ensayos, como las normas de la Organización Internacional de Normalización ISO 11731/2017 y de la Organización Francesa de Normalización AFNOR 431/2017. Es el único método que permite detectar cualquier especie y serogrupo y la realización de estudios posteriores como inmunofluorescencia, aglutinación o amplificación específica mediante técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR)^{9,19}.

El estudio del nicho ecológico de *Legionella* es el primer paso para abordar el control de sudiseminación y la prevención de legionelosis en Argentina, lo cual requiere implementar la normativa internacional en relación con este tema^{19,20}.

La provincia del Chaco se encuentra ubicada en el noreste de la República Argentina. Su clima es subtropical, con estación seca al oeste y sin ella al este. Resistencia es la capital y cabecera del departamento San Fernando, cuenta con 110 180 hogares, de los cuales 95 548 (86,7%) están conectados a la red pública de agua potable. La ciudad está ubicada al sudeste de la provincia (Figura 1: <http://rasp.msal.gov.ar/rasp/articulos/Volumen40/Losch-Figura-1.jpg>) y es la más poblada, según el último registro de 2010 del Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INDEC)²¹ cuenta con 290 723 habitantes. La ciudad capital se abastece de agua a partir de una fuente superficial denominada Riacho Barranqueras, brazo del río Paraná. Antes de ser distribuida por la red pública el agua de la fuente superficial se somete a un tratamiento convencional, que consiste en coagulación, floculación, sedimentación, filtración y desinfección²².

La hipótesis formulada consideró que existen especies del género *Legionella* en los sistemas de almacenamiento domiciliario de agua potable de la ciudad de Resistencia.

El objetivo del trabajo fue evaluar la presencia de especies de *Legionella* en reservorios domiciliarios de agua potable de la capital chaqueña.

MÉTODOS

El diseño planteado para el trabajo fue observacional y descriptivo, con recolección prospectiva de datos. La variable seleccionada fue *Legionella*, para la cual se definieron dos categorías: presencia o ausencia del microorganismo.

El muestreo fue no probabilístico por conveniencia, tratando de incluir diferentes barrios de la ciudad. Para ello se trazó una cuadrícula establecida por la plaza principal y las cuatro avenidas que nacen de ella (ver Figura 2). Se analizó el agua potable procedente de los depósitos domiciliarios de la ciudad de Resistencia, donde el 86,7% de las viviendas reciben el suministro por la red pública.

La unidad de análisis fue la muestra de 1 litro procedente de los reservorios domiciliarios de agua potable. Se incluyeron las muestras provenientes de tanques de almacenamiento de agua alimentados por la red pública y tomadas de grifos no utilizados durante las 12-24 horas previas al muestreo. Se excluyeron las muestras procedentes de grifos conectados directamente a la red pública.

El muestreo se realizó entre los meses de abril de 2015 y diciembre de 2016. La detección de *Legionella* en las muestras de agua se efectuó por cultivo según lo establecido en la norma ISO 11731:1998. En cada vivienda se seleccionó el grifo conectado directamente al tanque de almacenamiento que no hubiera sido utilizado durante las 12-24 horas previas. En cada punto se tomó el primer litro de agua en recipiente estéril; este fue transportado a temperatura ambiente al laboratorio, donde se inició el procesamiento de manera inmediata.

Las muestras se concentraron por filtración, usando membranas de 0,45µm. Posteriormente las membranas se transfirieron a 10 ml de *buffer* Ringer 1:40 y se agitaron durante 2 minutos convórtex. Se sembraron alícuotas de 0,5 ml en placas del medio selectivo preparado, adicionando cisteína, glicina, vancomicina, polimixina B y cicloheximida (suplementos SR0110A y SR0152E Oxoid) al agar *Buffered Charcoal Yeast Extract* (BCYE, Oxoid). Paralelamente, otra alícuota de 0,5 ml se sometió a tratamiento térmico (50°C durante 30 minutos) y se sembró en el mismo medio. Se utilizó como control positivo una muestra de agua inoculada con la cepa *Legionella pneumophila* subsp. *pneumophila* (*American Type Culture Collection*, ATCC® 33152™). Las placas se incubaron durante 7 días a 36°C. En aquellos casos en los que se evidenció desarrollo bacteriano, se seleccionaron colonias características que fueron subcultivadas a 36°C durante 2 días, en agar BCYE con y sin cisteína (suplementos SR0110A y SR0175A Oxoid)^{1,9,23,24}.

Se definió como muestra positiva aquella en la cual se recuperaron cepas que en el subcultivo desarrollaron en el agar BCYE con cisteína y no desarrollaron en el medio sin cisteína, las que se identificaron como *Legionella* spp. acorde a la normativa internacional. Estas fueron sometidas

da a estudios moleculares, PCR en tiempo real, para su confirmación de género y especie.

La técnica molecular de PCR en tiempo real con colorante intercalante (*Syber Green*), qPCR, se aplicó a los aislamientos identificados como *Legionella* spp. La preparación de los templados para el estudio molecular se realizó a partir de las cepas recuperadas de cultivo mediante el calentamiento a 100°C durante 15 minutos (técnica de *boiling*) en *buffer* Ringer 1:40. La suspensión obtenida se centrifugó a fin de eliminar los detritos celulares, y el sobrenadante se almacenó a -20°C hasta su estudio. Las secuencias diana utilizadas para la identificación de *Legionella* correspondieron a fragmentos conservados del gen *23S rRNA*, para la confirmación del género, y el gen *mip* específico para la especie *L. pneumophila*. Los cebadores utilizados fueron los descriptos por Nazarian¹². Se utilizó la cepa *L. pneumophila* subsp. *pneumophila* (ATCC® 33152™) como control positivo^{8,12}.

RESULTADOS

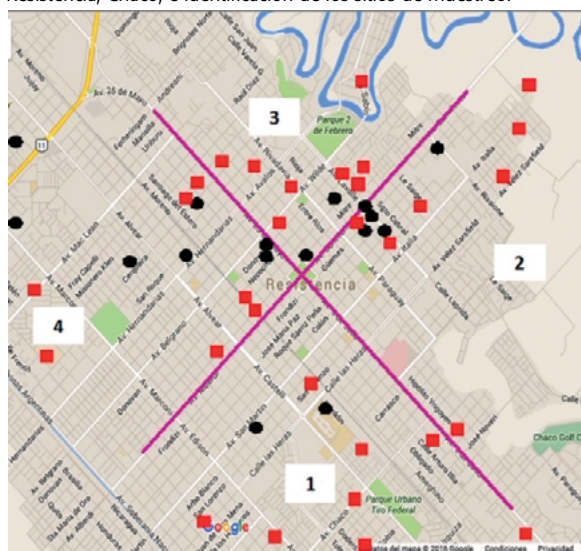
Se analizaron 46 muestras de los depósitos domiciliarios de agua potable de Resistencia. Este número representó el 0,03% de los hogares conectados a la red pública de la ciudad. En 16 (34,8%) de las muestras se aislaron colonias de *Legionella* spp. (ver Figura 2). El rango de concentraciones encontradas en ellas, expresadas en unidades formadoras de colonias por litro (UFC/L), fue de 40 UFC/L a 1,4x10³UFC/L. En todos los cuadrantes en los que se dividió la ciudad se aislaron cepas de *Legionella* spp. En la Tabla 1 se muestran los resultados obtenidos en los cuadrantes de la ciudad de Resistencia.

A partir de los cultivos positivos, se prepararon templados de ADN de diferentes aislamientos, que luego se identificaron por qPCR. El análisis de estos templados confirmó la presencia de *Legionella pneumophila* en 15 (93,75%) de las 16 muestras positivas por cultivo, y 2 (12,5%) también resultaron positivas para otras especies del género *Legionella*. En 1 muestra (6,25%) sólo se confirmó el género de los aislamientos.

DISCUSIÓN

La presencia de *L. pneumophila* y otras especies de *Legionella* en muestras ambientales se reporta en diferentes países. Entre las fuentes estudiadas se encuentran los sistemas de distribución y almacenamiento de agua potable

FIGURA 2. Sectorización del área de estudio de la ciudad de Resistencia, Chaco, e identificación de los sitios de muestreo.



Muestras positivas ● Muestras negativas ■

Fuente: Adaptación de Google Maps.

TABLA 1. Distribución y frecuencia de las muestras de depósitos domiciliarios positivas para *Legionella* spp. en la ciudad de Resistencia, Chaco.

Cuadrante	Nº de muestras estudiadas	Nº de muestras positivas	Muestras positivas en relación con el total (%)
1	10	2	12,5
2	12	5	31,3
3	10	2	12,5
4	14	7	43,7
Total	46	16	100

y los de distribución de agua caliente^{1,3,5}. En este estudio, que se llevó a cabo en Resistencia, se determinó un 34,8% de muestras positivas para *L. pneumophila* y se confirmó a esta especie como la más frecuente en los reservorios domiciliarios analizados. Valores próximos al encontrado reporta Kruse²⁵, que determina 32,7% de muestras positivas para *Legionella* spp en diferentes puntos del sistema de distribución de agua de edificios de Colonia, Alemania. En cambio, Wang²⁶ consigna 2% de muestras positivas para *Legionella* spp en la evaluación de dos sistemas de distribución de agua potable en Estados Unidos. En Israel, Rodríguez-Martínez⁴ detecta 71% de muestras positivas en el sistema de distribución de agua de KiryatTivon. En los estudios sobre otra clase de muestras ambientales, sistemas de distribución de agua caliente, también se reporta la presencia de este patógeno. Serrano-Suárez¹ consigna 27% de muestras positivas para *L. pneumophila* en el sistema de agua caliente de hoteles de Cataluña, España. Mientras tanto, en Italia, Bonetta¹¹ encuentra 42% de muestras positivas para la especie pneumophila en hoteles y Borella²⁷, un 22,6% de positividad para *Legionella* spp en sistemas domiciliarios de distribución de agua caliente. En Alemania, Dilger²⁰ reporta 20,7% en los sistemas de agua caliente domiciliaria de diferentes distritos de ese país. Los datos hallados en este trabajo y en los citados previamente demuestran la capacidad de este patógeno de colonizar y desarrollarse en diversos sistemas de conducción y almacenamiento de agua.

En diferentes países de Latinoamérica se investigó y se reportaron casos de neumonía por *Legionella*. En Argentina existe controversia en relación con la circulación de este microorganismo. Trabajos publicados sobre agentes etiológicos de neumonía adquirida en la comunidad describen pocos casos producidos por este patógeno, con una incidencia del 2%. Sin embargo, un brote nosocomial de infección respiratoria por *Legionella* ocurrido en un hospital de la provincia de Buenos Aires en 2013 pone en alerta ante la posibilidad de emergencia de este patógeno^{15-17,28}. La baja incidencia de casos podría ser la causa de la falta de estudios de los reservorios ambientales de *Legionella* en el país. En un trabajo previo, este grupo de investigación detectó la presencia de bacterias pertenecientes al género *Legionella* en muestras ambientales sin lograr la identificación de especies²⁹. En las bases de datos consultadas no se encontraron otros trabajos publicados relacionados con la presencia o ausencia de esta bacteria en sistemas de distribución y almacenamiento de agua o en sistemas de refrigeración en el país. A nivel regional, sólo se conoce el estudio realizado sobre este microorganismo en muestras ambientales en Brasil. En la ciudad de Río de Janeiro, Ferreira³⁰ determinó la presencia de *L. pneumophila* en el sistema de agua de 5 de los 16 hospitales estudiados y en San Pablo Carvalho³¹ también detectó este patógeno en tanques de las torres de refrigeración.

Países de la Comunidad Económica Europea, Estados Unidos, Canadá y otros cuentan con normativa destinada

a la investigación sistemática de *Legionella* spp en el agua potable. En ella se contempla el valor umbral de UFC/L a partir del cual las autoridades de salud deben iniciar medidas de descontaminación del sistema de agua^{19,20,32}. Incluso la colonización y persistencia de bajas concentraciones de *Legionella* en los sistemas de agua se relacionaron a brotes de legionelosis en Estados Unidos³³. Argentina carece de tal normativa, pero las concentraciones determinadas en este trabajo, del orden de 40 UFC/L a $1,4 \times 10^3$ UFC/L, son similares a las reportadas por otros autores y revelan el riesgo para la salud de la población expuesta a estas fuentes ambientales^{4,19,20}. Los recuentos determinados podrían ser aún mayores, dado que los agentes químicos utilizados en el proceso de desinfección del agua pueden inducir el paso de la célula bacteriana al estado de VNC, con lo cual ya no se detectan por cultivo³⁴. Lo antes expuesto y los hallazgos de Juárez³⁵ vinculados a patógenos parasitarios y virales en agua de consumo en la provincia de Salta coinciden en la necesidad de actualizar la normativa de calidad de agua vigente en Argentina.

Como en otras partes del mundo, no se logró relacionar los resultados de este trabajo con los cuadros clínicos producidos por el patógeno³. La incidencia de *Legionella* spp. como causal de neumonía en la población de la ciudad de Resistencia se desconoce, situación que se podría atribuir a que no se realiza la búsqueda sistemática de este patógeno en muestras clínicas, y coincide con lo reportado en el país por otros autores^{16,17}.

La presencia simultánea de *L. pneumophila* y otras especies no pneumophila en una muestra de agua, que en este trabajo representa un 6,5%, también fue reportada por Buse⁵ y Dilger²⁰. No es un evento habitual, pero contribuye al incremento de la concentración bacteriana de este género en el sistema de agua y no debe ser ignorado. Los sistemas de agua se colonizan por una misma especie, y la presencia de otras denota las complejas interacciones entre microbioma, desinfectantes, temperatura, flujo del agua y composición de los biofilms, entre otros factores^{5,20}. La detección de *Legionella* en todos los cuadrantes de la ciudad justifica incluir en futuras líneas de investigación el estudio de la fuente del agua del sistema de distribución, considerando el tipo de desinfección que se realiza y la existencia de puntos de redosificación que aseguren un efecto residual hasta el extremo de la red y de los respectivos biofilms. Paralelamente se debería incluir la determinación de cloro libre residual al momento del muestreo y encuestas a los dueños sobre frecuencia y modo de la limpieza de los reservorios domiciliarios de agua, e incorporar otros genes para la identificación de las especies no pneumophila por la técnica molecular.

Los aspectos previamente considerados —concentración de *Legionella* en los sistemas domiciliarios y presencia de especies no pneumophila— no deben ser desatendidos ante el incremento de casos de legionelosis reportados en la bibliografía, que se producen en la comunidad, están asociados a los sistemas de agua fría y caliente, y son causados

por especies diferentes a *L. pneumophila*. Además de esta última, también fueron implicadas las especies *L. anisa*, *L. dumoffii*, *L. micdalei*, *L. bozemani* y *L. longbeachae*, entre otras, como agentes etiológicos de enfermedad humana y recuperadas de sistemas de agua^{5,7,20,25}.

El cultivo es la técnica de referencia para la identificación de *Legionella*, permite detectar cualquier especie y realizar estudios posteriores. No obstante, posee una serie de limitaciones dadas por la naturaleza fastidiosa de este microorganismo (que requiere períodos prolongados de incubación), la presencia de biota acompañante (que dificulta su aislamiento) y la secuencia de preparación de la muestra ambiental (que puede disminuir su concentración inicial). Tampoco permite la detección de VNC, que según la bibliografía mantienen su capacidad infectiva^{3,13,23}.

El desarrollo de métodos más rápidos y sensibles, como las técnicas moleculares, permite la detección de *Legionella* a muy bajas concentraciones, la de material genético proveniente de células muertas, viables no cultivables, o de *Legionella* presentes en amebas, por lo que un resultado positivo por esta técnica debe ser interpretado críticamente. Una de las limitaciones más importantes es la presencia de inhibidores en la muestra ambiental, que pueden llevar a un resultado falso negativo^{12,36,37}.

La combinación del cultivo con técnicas moleculares optimiza la detección e identificación de cepas viables de este patógeno en las muestras de agua^{8,12,23,38}. Así, a través de la secuencia metodológica adoptada para el presente trabajo, cultivo y posterior qPCR, se confirmó la presencia de *L. pneumophila* en el 100% de las muestras positivas por cultivo y también la presencia de otras especies no *pneumophila* en tres de ellas. La combinación de ambas metodologías podría instrumentarse de manera sistemática para una vigilancia más eficaz de esta bacteria en muestras de agua y como alternativa de métodos confirmatorios como los serológicos. Sin embargo, según el objetivo de la investigación, al momento de evaluar una fuente ambiental no se debe desconocer el riesgo potencial de presencia de VNC, que requiere adoptar otra metodología validada^{3,19,34}.

Legionella se detectó en todas las estaciones del año en los depósitos domiciliarios, pero con mayores recuentos en los meses de verano, en coincidencia con otras publicaciones^{4,39}. Sin embargo, al evaluar agua procedente de diferentes reservorios puede haber —además de los climáticos— otros factores responsables en la diferencia de recuentos. La temperatura promedio anual de 21°C del clima subtropical de la ciudad de Resistencia y la legislación vigente, que establece que en el agua de los reservorios domiciliarios no es obligatoria la presencia de cloro activo, agente desinfectante utilizado en el proceso de potabilización, podrían explicaren parte los hallazgos de este trabajo. Estos resultados y el de los autores citados sugieren que la detección de *Legionella* en agua puede estar influenciada por la fuente analizada, la metodología empleada, el área geográfica y la diversidad ecológica que se da en diferentes partes del mundo^{10,40}. La extensión

geográfica y la diversidad climática de Argentina exponen la necesidad de realizar estudios de muestras ambientales en diferentes regiones, que permitan esclarecer la distribución y frecuencia de este patógeno en el país.

RELEVANCIA PARA POLÍTICAS E INTERVENCIONES SANITARIAS

Este trabajo es el primer aporte que demuestra la presencia de *L. pneumophila* como microorganismo más frecuente y otras especies no *pneumophila* en los depósitos domiciliarios de agua potable en una ciudad del noreste de Argentina.

La falta de normativa nacional destinada a la investigación sistemática de *Legionella* spp. en el agua potable determinó la adopción de la norma internacional ISO 11731:1998 y, como método confirmatorio, la técnica molecular de qPCR. Esta secuencia metodológica confirmó la presencia de cepas viables de *L. pneumophila* en el 100% de las muestras positivas por cultivo, así como la presencia de otras especies en tres de ellas.

Los resultados encontrados, que confirman a *Legionella* como patógeno oportunista con capacidad de desarrollar en el agua tratada, dejan en claro la necesidad de abordar líneas de investigación en otros sistemas de distribución de agua.

El presente trabajo demostró la presencia de *L. pneumophila* y otras especies de *Legionella* en los reservorios domiciliarios de agua potable, confirmando de esta manera la hipótesis planteada. Los resultados obtenidos ratifican que el patógeno se encuentra en el medio estudiado, a pesar de ser escasos o nulos los informes sobre casos de infecciones por esta bacteria. La presencia de *Legionella* es condición necesaria pero no suficiente para el desarrollo de la enfermedad.

Estos hallazgos deben alertar a las autoridades sanitarias y a los profesionales de la salud sobre el riesgo potencial existente, a fin de maximizar los esfuerzos por mejorar el diagnóstico de las infecciones respiratorias agudas para las cuales no se detecta un agente etiológico frecuente. Se debe transmitir a la comunidad la importancia de limpiar y desinfectar los tanques domiciliarios como mínimo dos veces al año para disminuir la carga bacteriana en los hogares.

RELEVANCIA PARA LA FORMACIÓN DE RECURSOS HUMANOS EN SALUD

En cuanto a la salud pública, es necesario conformar grupos de trabajo que desarrollen guías consensuadas para la toma de muestras de pacientes y ambientales, así como de saneamiento de instalaciones ante posibles brotes. La vigilancia de este microorganismo en el agua de consumo humano representa el primer paso en pos de abordar el control de su diseminación hacia huéspedes susceptibles.

RELEVANCIA PARA LA INVESTIGACIÓN EN SALUD

Los resultados encontrados, que confirman a *Legionella*

como patógeno oportunista con capacidad de desarrollar en el agua tratada, y el brote de enfermedad respiratoria aguda producido en un hospital en enero de 2013 delinear la necesidad de fijar nuevas líneas de investigación en muestras ambientales, que deberán evaluar los sistemas de circulación de agua fría/caliente y los sistemas de re-

frigeración de edificios y establecimientos de salud como reservorios de *Legionella*. Paralelamente, los nuevos estudios deberán contemplar las condiciones que favorecen el desarrollo y diseminación de diferentes especies de este género en pos de abordar el control de su propagación hacia huéspedes susceptibles.

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES: No hubo conflicto de intereses durante la realización del estudio.

Cómo citar este artículo: Losch L, Deluca G, Medina M, Yarros A, Weber M, Merino L. Presencia de especies de legionella en reservorios domiciliarios de agua de Resistencia Chaco, Argentina. *Rev Argent Salud Pública*, 2019; 10(40): 19-25

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Serrano-Suárez A, Dellundé J, Salvadó H, Cervero-Aragó S, Méndez J, Canals O, et al. Microbial and Physicochemical Parameters Associated with Legionella Contamination in Hot Water Recirculation Systems. *Environ Sci Pollut Res*. 2013;20:5534-5544.
- Organización Mundial de la Salud. *Guías para la calidad del agua potable*. Tercera edición. Ginebra: OMS; 2008. [Disponible en: https://www.who.int/water_sanitation_health/dwa/gdwq3rev/es/] [Último acceso: 17/04/2019]
- Kirschner AKT. Determination of Viable *Legionella* in Engineered Water Systems: Do We Find What We Are Looking For? *Water Res*. 2016;93:276-88.
- Rodríguez-Martínez S, Sharaby Y, Pecellín M, Brettar I, Höfle M, Halpern M. Spatial Distribution of *Legionella pneumophila* MLVA-Genotypes in a Drinking Water System. *Water Res*. 2015;77:119-132.
- Buse HY, Schoen ME, Ashbolt NJ. *Legionellae* in Engineered Systems and Use of Quantitative Microbial Risk Assessment to Predict Exposure. *Water Res*. 2012;46:921-933.
- Lau HY, Ashbolt NJ. The Role of Biofilms and Protozoa in Legionella Pathogenesis: Implications for Drinking Water. *J Appl Microbiol*. 2009;107:368-378. [Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2672.2009.04208.x>] [Último acceso: 17/04/2019]
- Whiley H, Bentham R. *Legionella longbeachae* and Legionellosis. *Emerg Infect Dis*. 2011;17:579-583. [Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3377390/pdf/10-0446_finalS.pdf] [Último acceso: 03/04/2019]
- Morio F, Corvec S, Caroff N, Le Gallou F, Drugeon H, Reynaud A. Real-Time PCR Assay for the Detection and Quantification of *Legionella pneumophila* in Environmental Water Samples: Utility for Daily Practice. *Int J Hyg Environ Health*. 2008;211:403-11.
- Ausina V, Vicente C, Cercenado E, Antolín CP. *Diagnóstico microbiológico y control de Legionelosis*. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2005.
- Gea-Izquierdo E, Mezones-Holguín E, Haro-García L. Acciones de prevención y control de la legionelosis: un reto para la salud pública española. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2012;29:272-276. [Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rms/v29n2/a18v29n2.pdf>] [Último acceso: 17/04/2019]
- Bonetta S, Bonetta S, Ferretti E, Balocco F, Carraro E. Evaluation of *Legionella pneumophila* Contamination in Italian Hotel Water Systems by Quantitative Real-Time PCR and Culture Methods. *J Appl Microbiol*. 2010;108:1576-1583.
- Nazarian EJ, Bopp DJ, Saylor A, Limberger RJ, Musser KA. Design and Implementation of a Protocol for the Detection of *Legionella* in Clinical and Environmental Samples. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2008;62:125-132.
- Dietersdorfer E, Kirschner A, Schrammel B, Ohradnova-Repic A, Stockinger H, Sommer R, et al. Starved Viable But Non-Culturable (VBNC) *Legionella* Strains Can Infect and Replicate in Amoebae and Human Macrophages. *Water Res*. 2018;141:428-438.
- Luchsinger V, Ruiz M, Zunino E, Martínez MA, Machado C, Piedra PA, et al. Community-Acquired Pneumonia in Chile: The clinical Relevance in the Detection of Viruses and Atypical Bacteria. *Thorax*. 2013;68:1000-1006.
- Arancibia F, Cortes CP, Valdés M, Cerda J, Hernández A, Soto L, et al. Importance of *Legionella pneumophila* in the Etiology of Severe Community-Acquired Pneumonia in Santiago, Chile. *Chest*. 2014;145:290-296.
- Lopardo G, Basombrio A, Clara L, Desse J, De Vedia L, Di Libero E, et al. Neumonía adquirida de la comunidad en adultos. Recomendaciones sobre su atención. *Med (Buenos Aires)*. 2015;75:245-257. [Disponible en: http://www.afam.org.ar/textos/nac_recomendaciones_sadi_2015.pdf] [Último acceso: 27/03/2019]
- Luna C, Brea Folco J, Aruj P, Reborá K, Balsebre C, Absi R, et al. Neumonía por *Legionella pneumophila*. Experiencia en un hospital universitario de Buenos Aires. *Med (Buenos Aires)*. 2004;64:97-102.
- Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT). Bebidas hídricas, agua y agua gasificada. En: *Código Alimentario Argentino*. CABA. 2012. [Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/CAPITULO_XII.pdf] [Último acceso: 27/03/2019]
- Prussian AJ, Schwake DO, Marr LC. Ten Questions Concerning the Aerosolization and Transmission of *Legionella* in the Built Environment. *Build Environ*. 2017;123:684-695.
- Dilger T, Melzl H, Gessner A. *Legionella* Contamination in Warm Water Systems: A Species-Level Survey. *Int J Hyg Environ Health*. 2018;221:199-210.
- Instituto Nacional de Estadística y Censos (INDEC). Censo Nacional de Población, Hogares y Viviendas 2010. CABA. 2010. [Disponible en: https://sitioanterior.indec.gov.ar/ftp/censos/2010/CuadrosDefinitivos/H2-D_22_140.pdf] [Último acceso: 27/03/2019]
- Ente Nacional de Obras Hídricas de Saneamiento (ENHOSA). *Sistemas Tratamiento Potabilización de Agua*. CABA. 2001.
- Ditommaso S, Gentile M, Giacomuzzi M, Zotti CM. Recovery of *Legionella* Species from Water Samples Using an Internal Method Based on ISO 11731: Suggestions for Revision and Implementation. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2011;70:200-206.
- International Organization for Standardization. *Water Quality Detection and Enumeration of Legionella*. ISO 11731:1998. 1998.
- Kruse EB, Wehner A, Wisplinghoff H. Prevalence and Distribution of *Legionella* spp. in Potable Water Systems in Germany, Risk Factors Associated with Contamination, and Effectiveness of Thermal Disinfection. *Am J Infect Control*. 2015;44:470-474.
- Wang H, Edwards M, Falkingham JO, Pruden A. Molecular Survey of the Occurrence of *Legionella* spp., *Mycobacterium* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, and *Amoeba* Hosts in Two Chloraminated Drinking Water Distribution Systems. *Appl Environ Microbiol*. 2012;78:6285-6294.
- Borella P, Montagna MT, Romano-Spica V, Stampi S, Stancanelli G, Triassi M, et al. *Legionella* Infection Risk from Domestic Hot Water. *Emerg Infect Dis*. 2004;10:457-464. [Disponible en: <http://europecmc.org/backend/ptpmrc-render.fcgi?accid=PMC3322798&blobtype=pdf>] [Último acceso: 11/03/2019]
- Levin A, Mazieri N, Carvalho N, Meireles L, Andrade D, Barone A. Five Cases of Nosocomial and Community-Acquired Legionnaires' Disease in Sao Paulo, Brazil. *Rev do Inst Med Trop Sao Paulo*. 1993;35:103-106.
- Lösch LS, Merino A. Presencia de *Legionella* spp. en depósitos domiciliarios. *Rev Argent Microbiol*. 2016;48:329-332.
- Ferreira AP. Risk and Management in Hospital Water Systems for *Legionella pneumophila*: A Case Study in Rio de Janeiro - Brazil. *Int J Environ Health Res*.

2004;14:453-459.

- ³¹ Carvalho FRS, Foronda AS, Pellizari VH. Detection of *Legionella pneumophila* in Water and Biofilm Samples by Culture and Molecular Methods from Man-Made Systems in Sao Paulo - Brazil. *Brazilian J Microbiol.* 2007;38:743-751.
- ³² Peter A, Thompson KC, Routledge EJ. Barriers to Effective Legionella Control in a Changing World: A Practitioner's View. *Environ Technol Rev.* 2017;6:145-155.
- ³³ Mercante JW, Winchell JM. Current and Emerging *Legionella* Diagnostics for Laboratory and Outbreak Investigations. *Clin Microbiol Rev.* 2015;28:95-133.
- ³⁴ Ducret A, Chabaliere M, Dukan S. Characterization and Resuscitation of 'Non-Culturable' Cells of *Legionella pneumophila*. *BMC Microbiol.* 2014;14:1-10.[Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3882098/pdf/1471-2180-14-3.pdf>][Último acceso: 20/04/2019]
- ³⁵ Juárez M, Poma H, Rajal V. ¿Cumplir con la legislación nos garantiza consumir agua segura? *RIBAGUA - Rev Iberoam del Agua.* 2015;2: 71-79.
- ³⁶ Diaz-Flores Á, Montero JC, Castro FJ, Alejandres EM, Bayón C, Solís I, et al.

- Comparing Methods of Determining *Legionella* spp. in Complex Water Matrices. *BMC Microbiol.* 2015;15:91.[Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4436101/pdf/12866_2015_Article_423.pdf][Último acceso: 20/04/2019]
- ³⁷ Whiley H, Taylor M. *Legionella* Detection by Culture and qPCR: Comparing Apples and Oranges. *Crit Rev Microbiol.* 2014;7828:1-10.
- ³⁸ Pelaz Antolin C. Métodos analíticos para el estudio de *Legionella*. *Rev Salud Ambient.* 2006;6:80-84.
- ³⁹ Kao P-M, Hsu B-M, Chang T-Y, Hsu T-K, Tzeng K-J, Huang Y-L. Seasonal Variation of *Legionella* in Taiwan's Reservoir and its Relationships with Environmental Factors. *Environ Sci Pollut Res.* 2015;22:6104-6111.
- ⁴⁰ Kao P, Hsu B, Hsu T, Ji W, Huang P, Hsueh C. Application of TaqMan Fluorescent Probe-Based Quantitative Real-Time PCR Assay for the Environmental Survey of *Legionella* spp. and *Legionella pneumophila* in Drinking Water Reservoirs in Taiwan. *Sci Total Environ.* 2014;490:416-421.



Esta obra está bajo una licencia de *Creative Commons* Atribución-No Comercial-Compartir Igual 4.0 Internacional. Reconocimiento – Permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra. A cambio se debe reconocer y citar al autor original. No comercial – esta obra no puede ser utilizada con finalidades comerciales, a menos que se obtenga el permiso. Compartir igual – Si se realizan obras derivadas deben distribuirse bajo la misma licencia del original.