

Actuaciones inspectoras relacionadas con el control y prevención de la legionelosis: análisis de muestras (2006)

J. Castro Urda¹, J. A. Galán Torres², M. R. Calonge Jiménez³, H. Aguinaga Zapata⁴, M. E. Boluda Garrido⁵, A. Villamanta del Viso⁶

San Mil (Esp) 2007; 63 (1): 52-5

Los casos diagnosticados en la Residencia Militar «Castillejos» de Zaragoza durante el año 1986, dieron lugar a uno de los primeros brotes de legionelosis estudiados en España. Desde entonces ha existido siempre una especial sensibilización en las Fuerzas Armadas frente a esta enfermedad. La gran cantidad de instalaciones de que dispone el Ministerio de Defensa y el elevado número de personas que las frecuenta, ha requerido la instauración y el cumplimiento de una serie de normas para la prevención y control de la legionelosis, así como la vigilancia de las mismas (fig. 1).

El Real Decreto 865/2003 de 4 de julio, por el que se establecen los criterios higiénico-sanitarios para la prevención y el control de la legionelosis, como ya hacía el anterior Real Decreto de 2001, señala en una disposición adicional única, que en las Unidades, Centros u Organismos Militares, las labores de inspección sanitaria se realicen por los órganos competentes del Ministerio de Defensa.

Como consecuencia de este último Real Decreto y los cambios normativos que en el mismo aparecen, se publicó la Orden Ministerial 87/2004 de 31 de marzo (BOD núm. 82) sobre la inspección de instalaciones para la prevención y control de la legionelosis en el Ministerio de Defensa. Al igual que la norma que le precedía, indica que el órgano al que corresponde la preparación, planeamiento y desarrollo de la política sanitaria es la Inspección General de Sanidad y por lo tanto responsable de la inspección sanitaria de las instalaciones de riesgo enumeradas en el Real Decreto anteriormente citado.

La Inspección General de Sanidad de la Defensa aprobó la Instrucción Técnico Sanitaria 12/04 «Guía de inspección de instalaciones para el control y prevención de la legionelosis en el ámbito del Ministerio de Defensa» en la que se establecían los protocolos de inspección para los equipos inspectores del Cuerpo Militar de Sanidad.

La Inspección General de Sanidad designa en cada campaña los equipos de inspectores integrados por Oficiales del Cuerpo Militar de Sanidad. La designación de los equipos y la programación de las inspecciones en el Ejército de Tierra, Armada y Ejército del Aire, se desarrolla mediante sus respectivas Direcciones de Sanidad.

La realización de inspecciones periódicas en todas las instalaciones de riesgo dependientes del Ministerio de Defensa, incluidas aquellas existentes en los Buques de la Armada, llevada a cabo por Oficiales del Cuerpo Militar de Sanidad, garantiza que los progra-



Fig. 1. Capitán Veterinario realizando una inspección de torres de refrigeración

mas de mantenimiento se cumplen, disminuyendo así la posibilidad de proliferación de la bacteria y por lo tanto, la aparición de casos.

La inspección de las instalaciones tiene periodicidad anual excepto en situaciones especiales que requieran un mayor seguimiento. Consta de dos partes fundamentales, la revisión documental y la visita o inspección visual de las instalaciones.

La revisión documental es la comprobación de que existen evidencias documentales de que se están realizando las actuaciones que exige la legislación. Las instalaciones deben estar sometidas a actuaciones de acuerdo con un programa de mantenimiento en el que debe figurar las operaciones a realizar y la periodicidad de las mismas. Se comprueba la existencia de protocolos de limpieza y desinfección, programas de tratamiento del agua, y programas de toma de muestras para su análisis en laboratorio. Todas las operaciones realizadas deben anotarse en un libro registro en el que figurará la fecha y la firma del responsable de la actuación. Los inspectores solicitan los certificados de los tratamientos de limpieza y desinfección que se han efectuado en las instalaciones, los informes de los resultados analíticos de las muestras de agua, la documentación de la empresa responsable del mantenimiento y del personal que realiza las actuaciones.

La segunda parte de la inspección consiste en una visita de las instalaciones de riesgo y la toma de muestras, si los inspectores consideran oportuno (figs. 2 y 3). Se observa el estado de conservación y limpieza de las instalaciones, la ubicación y el diseño de las mismas, y la existencia de equipos de aplicación de biocidas.

Se recoge aproximadamente un litro de agua en recipientes estériles que contengan un neutralizante del biocida empleado en la instalación. Se utilizan envases comerciales que llevan tiosulfato

¹ Capitán Veterinario Jefe de Sección Higiene y Sanidad Ambiental. Servicio de Microbiología, Higiene y Sanidad Ambiental.

² Teniente Coronel Veterinario Jefe del Servicio de Microbiología, Higiene y Sanidad Ambiental.

³ Capitán Veterinario. Unidad de Apoyo Logístico Veterinario.

⁴ Licenciada en Farmacia. Servicio de Microbiología, Higiene y Sanidad Ambiental.

⁵ Técnico Analista. Servicio de Microbiología, Higiene y Sanidad Ambiental.

⁶ Brigada EQSUB/VAV. Servicio de Microbiología, Higiene y Sanidad Ambiental. Centro Militar de Veterinaria de la Defensa.



Fig. 2. Medición de temperatura y nivel de biocida.



Fig. 3. Apertura de una torre de refrigeración para su inspección.

dico incorporado para neutralizar el cloro, biocida más comúnmente utilizado.

El Real Decreto 865/2003, en la tabla 3 del anexo 4, establece que los análisis deberán ser realizados en laboratorios acreditados para aislamiento de *Legionella* en agua o laboratorios que tengan implantado un sistema de control de calidad para este tipo de ensayos. Además, en la tabla 2 del mismo anexo se determina que el análisis debe realizarse según la norma ISO 11731:1998. *Calidad del agua. Detección y enumeración de Legionella.*

Mediante Resolución 320/38186/2004, de 30 de Julio, de la Dirección General de Armamento y Material, se acreditó al Laboratorio de Ensayos del Centro Militar de Veterinaria de la Defensa para el ensayo «Detección y recuento de *Legionella* en muestras de agua» (fig. 4), y se publicó en el BOE. núm. 200, de 19 de agosto de 2004 y en el BOD. núm. 165, de 23 de agosto.

El Servicio de Microbiología ya había implantado desde enero de 2004 el sistema de control de calidad para la determinación de *Legionella* en muestras de agua según la norma ISO 11731:1998 anteriormente citada, mediante el procedimiento específico de trabajo PTA-MH/001 «Detección y recuento de *Legionella* en muestras de agua».

En el Laboratorio de Legionella del Centro Militar de Veterinaria de la Defensa, se ha realizado investigación de Legionella en muestras procedentes de instalaciones de riesgo pertenecientes al Ministerio de Defensa desde el año 2002 mediante diferentes procedimientos analíticos: Aislamiento en medio de cultivo tras concentración por centrifugación, aislamiento en medio de cultivo tras concentración por filtración, mediante bomba peristáltica y rampas de filtración, y detección de *Legionella* mediante PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa). Se realizaron estudios comparativos de las diferentes técnicas, que fueron presentados en las Jornadas Científicas de Veterinaria Militar celebradas en Mayo de 2003.

Desde el año 2002 hasta hoy, se ha producido un continuo incremento en el número de muestras analizadas. Conforme las Unidades se han ido sumando a la implantación de medidas de prevención y control, se ha multiplicado la demanda de análisis de las muestras de agua (cuadro 1)

Como puede observarse en la gráfica, el número de muestras analizadas en el laboratorio aumento en un 123% durante el ejercicio 2004 respecto al año anterior, siendo ese incremento todavía mayor durante el periodo correspondiente a 2005, en que el número de



Fig. 4. Laboratorio de Legionella.

muestras creció un 164% respecto al periodo precedente. En este último ejercicio se han analizado 527 muestras más, lo que representa un incremento de un 64% con relación al año pasado. Una vez implantado el aislamiento en medio de cultivo sólido como método de



Cuadro 1. Evolución en el número de muestras analizadas por ejercicio



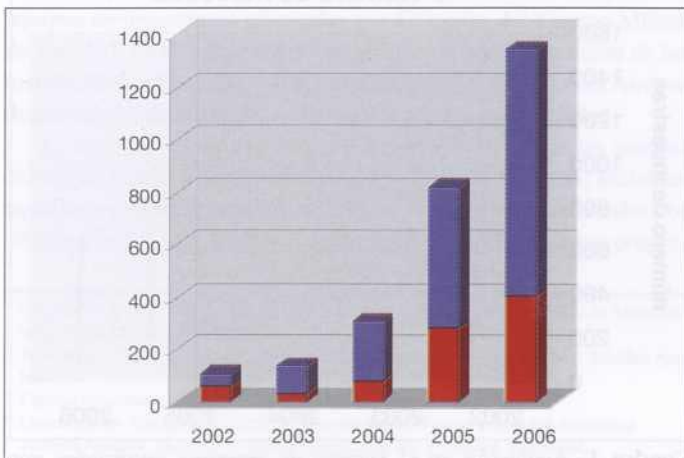
Fig. 5. Colonias de *Legionella pneumophila* serogrupo 1 en medio de cultivo

análisis a finales de 2002, se ha producido un continuo ascenso en el volumen de muestras procesadas durante los sucesivos ejercicios.

Durante el año 2002 se realizaron en el Servicio de Microbiología del Centro Militar de Veterinaria de la Defensa un total de 107 determinaciones de presencia de *Legionella* en muestras de agua mediante técnica de PCR, de las cuales 59 fueron positivas (55,1%). Se identificó también por PCR la especie *pneumophila* en 19 de las muestras positivas. Los resultados perdían importancia significativa al no discriminar bacterias viables, obteniendo un alto porcentaje de resultados positivos. No se consideró como el método más idóneo para el control de las instalaciones. Por ello se planteó la necesidad de adoptar un sistema de análisis bacteriológico tradicional por inoculación en medios de cultivo apropiados previo tratamiento de las muestras; dejando el método anterior para chequeos internos, pases ciegos, etc.

Durante el último trimestre de 2002 y a lo largo de 2003 se analizaron un total de 138 muestras de agua por técnica bacteriológica convencional, de las cuales 104 fueron negativas y 34 positivas (24.63%). De estas últimas, 19 tenían la especie *pneumophila* y 11 de ellas correspondían a *L. pneumophila* serogrupo 1.

En el ejercicio 2004 (hasta el 20 de Octubre) se analizaron por el procedimiento PTA-MH/001 de acuerdo con la norma ISO



Cuadro 2.

11731: 1998 y amparado por un sistema de calidad implantado y acreditado, un total de 309 muestras de las cuales 81 resultaron positivas (26,21%). En 58 muestras se identificaron cepas de la especie *pneumophila* y en 35 de ellas bacterias del serogrupo 1 (fig. 5).

En el ejercicio 2005 (hasta el 22 de Septiembre) se analizaron mediante el procedimiento implantado un total de 818 muestras, de las cuales 280 resultaron positivas (34,22%). En 171 de las muestras positivas se identificó la especie *Legionella pneumophila*, y en 93 de ellas el serogrupo 1.

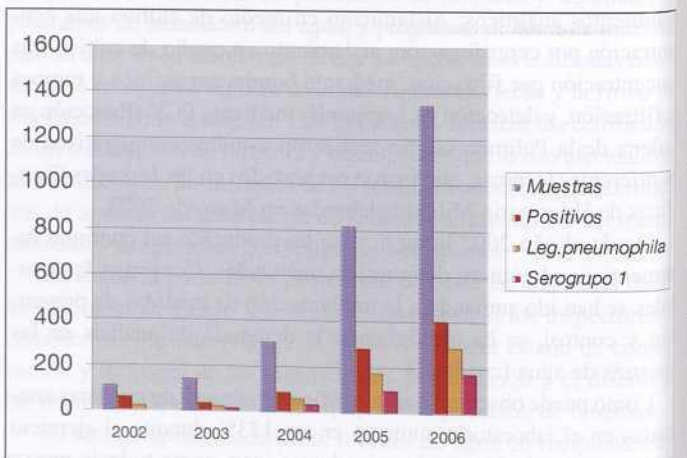
En el ejercicio 2006 (hasta el 22 de Septiembre) se han analizado siguiendo el mismo procedimiento un total de 1345 muestras, de las cuales 402 han resultado positivas (29,88%). En 290 de las muestras positivas se identificó la especie *Legionella pneumophila*, y en 174 de ellas el serogrupo 1.

Las barras de la gráfica (cuadro 2) representan la totalidad de muestras analizadas en el laboratorio. La porción de color rojo en cada una de las barras representa el número de muestras que resultaron positivas en la detección de bacterias pertenecientes al género *Legionella*.

En la gran mayoría de los brotes de legionelosis estudiados en todo el mundo se identificó como responsable de los mismos, a cepas pertenecientes al serogrupo 1 de la especie *pneumophila*. Es necesario conocer por tanto, el número de muestras que han resultado positivas para la especie *Legionella pneumophila* y para el serogrupo 1, y evaluar de esta manera el posible riesgo de aparición de brotes.

En el ejercicio 2003 se encuentra *Legionella pneumophila* serogrupo 1 en el 7,97% de las muestras analizadas. Este porcentaje se incrementa hasta llegar a 11,32% en el periodo correspondiente a 2004, se mantiene sin variación durante 2005 con 11,36% y aumenta ligeramente durante este ejercicio, en el que se ha identificado el serogrupo más importante desde el punto de vista epidemiológico en el 12,93% de las 1345 muestras procesadas (cuadro 3).

El número de muestras analizadas mediante el procedimiento de ensayo PTA-MH/001 (fig. 6) desde el día 22 de Septiembre de 2005 hasta el 21 de Septiembre de 2006 fue 1345. Se recibieron en el laboratorio durante este periodo un total de 1492 muestras, de las que 147 tuvieron que ser rechazadas por no cumplir con las exigencias de la norma ISO 11731. La totalidad de los rechazos se debió a que las muestras llegaron fuera del plazo máximo de 5 días que permite la norma para ser analizadas desde el momento en que fueron recogidas. La mayoría de muestras consideradas como rechazadas por



Cuadro 3.



Fig. 6. Equipo de filtración de muestras.



Fig. 7. Acumulador de agua caliente sanitaria.

el sistema de calidad se analizaron también en el Laboratorio y se informó a las Unidades de los resultados obtenidos.

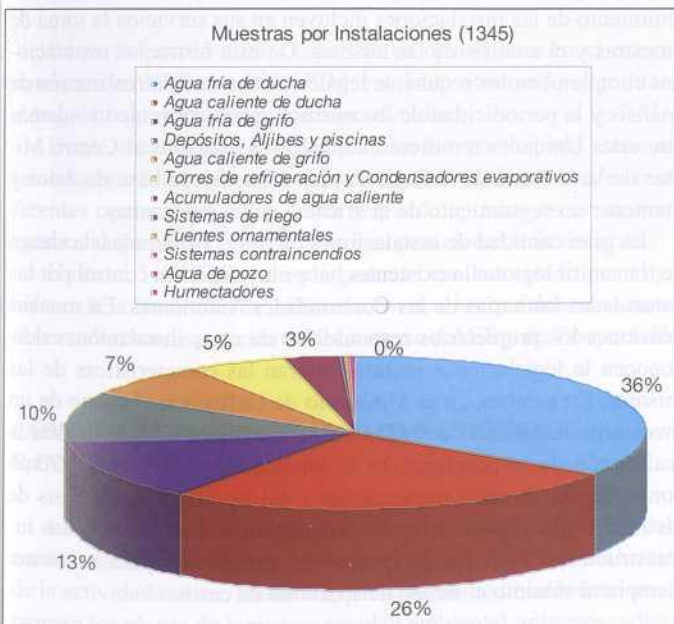
El Centro Militar de Veterinaria de la Defensa participó durante 2006 como en 2003, 2004 y 2005, en el circuito de intercomparación entre laboratorios de Calitax-Labaqua acreditado por ENAC para contrastar los resultados analíticos y la calidad de los mismos. Se asistió a todas las reuniones finales de los circuitos desarrolladas en Barcelona

para tratar los resultados del año, así como discutir e intercambiar conocimientos que ayuden a mejorar las técnicas de análisis.

Las instalaciones objeto de inspección y toma de muestras son muy variadas y se corresponden con la relación de instalaciones de riesgo que figura en el Real Decreto 865/2003 (fig. 7). Se observa en el siguiente gráfico (cuadro 4) los porcentajes correspondientes al número de muestras de cada uno de los tipos de instalaciones analizadas.

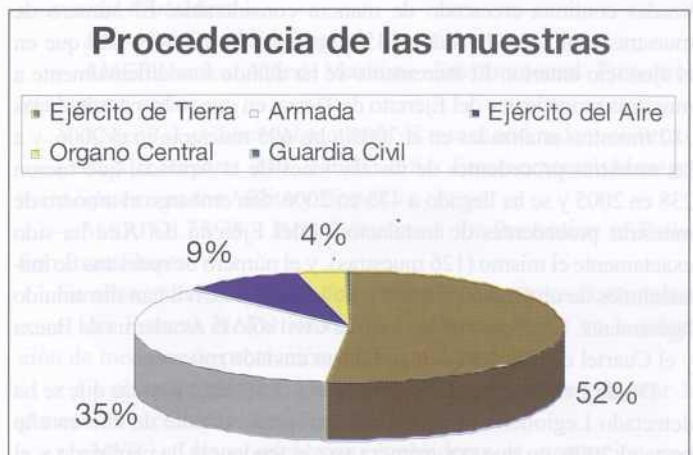
Durante el periodo 2006 se procesaron muestras procedentes de Unidades del Órgano Central del Ministerio de Defensa, del Ejército de Tierra, de la Armada, del Ejército de Aire y de la Guardia Civil. Fueron recogidas en 240 Unidades repartidas por todo el territorio nacional, y en dos zonas de operaciones: Bosnia y Kosovo. La distribución de las muestras recibidas y analizadas, según la dependencia orgánica de su Unidad de origen en el Ministerio de Defensa, puede observarse en el siguiente gráfico (cuadro 5):

Los resultados obtenidos en 2006 por el sistema de calidad acreditado se detallan a continuación. De las 1.345 muestras analizadas, 402 resultaron positivas. Es decir, se consiguió aislar la bacteria en



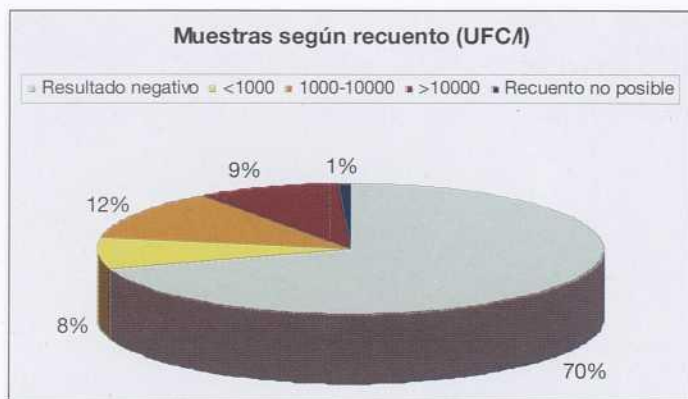
Cuadro 4.

Tipo de instalación	Número de muestras
Agua fría de consumo humano procedente de ducha	467
Agua caliente sanitaria procedente de ducha	344
Agua fría de consumo humano procedente de grifo	169
Depósitos, aljibes y piscina	141
Agua caliente sanitaria procedente de ducha	100
Torres de refrigeración y condensadores evaporativos	72
Acumuladores de agua caliente sanitaria	39
Sistemas de riego por aspersión	5
Fuentes ornamentales	3
Sistemas contra incendios	2
Agua de pozo	2
Humectadores	1



Cuadro 5.

Procedencia	Número de muestras
Ejército de Tierra	695
Armada	473
Ejército del aire	126
Órgano Central	48
Guardia Civil	3



Cuadro 6.

Recuento	Número de muestras
Resultado negativo	943
Recuento no posible	12
<1000 UFC/L	102
1000-10.000 UFC/L	165
>10.000 UFC/L	123

un medio de cultivo sólido y se estimó el correspondiente recuento en unidades formadoras de colonias por litro de agua. Una vez aisladas e identificadas las bacterias del género *Legionella*, se realizó una aglutinación en látex para discriminar especie y serogrupo, de acuerdo con el procedimiento PTA-MH/001.

De acuerdo con la Tabla 3 del Real Decreto 865/2003, en la que se proponen acciones en torres de refrigeración y condensadores evaporativos según los recuentos obtenidos en las muestras analizadas, se recoge en esta gráfica (cuadro 6) el número de muestras positivas con menos de 1000 Unidades Formadoras de Colonias por litro de agua, entre 1000 y 10.000 UFC/L y con más de 10.000 UFC/L. Se observa un considerable porcentaje (9,1%) de muestras con recuentos superiores a 10.000 UFC/L, aunque ha disminuido en más de un punto respecto a 2005 (10,3%).

Correspondiendo este ejercicio con el quinto año desde comenzaron a realizarse análisis de muestras para controlar y prevenir la aparición de casos de legionelosis, el número de muestras recibidas y analizadas continúa creciendo de manera considerable. El número de muestras analizadas ha sido 1345 representando un 64% más que en el ejercicio anterior. El incremento se ha debido fundamentalmente a muestras procedentes del Ejército de Tierra, en que se ha pasado de las 382 muestras analizadas en el 2005 a las 695 muestras en el 2006, y a las muestras procedentes de instalaciones de la Armada, que fueron 238 en 2005 y se ha llegado a 473 en 2006. Sin embargo el número de muestras procedentes de instalaciones del Ejército del Aire ha sido exactamente el mismo (126 muestras), y el número de muestras de instalaciones de un Órgano Central o de la Guardia Civil han disminuido ligeramente. En el caso de la Guardia Civil sólo la Academia de Baeza y el Cuartel de Casetas (Zaragoza) han enviado muestras.

Desde finales de 2002, el porcentaje de muestras en las que se ha detectado *Legionella* ha aumentado progresivamente de año en año hasta el 2006, en que por primera vez la tendencia ha cambiado y el número de muestras positivas ha disminuido desde un 34,22% del ejercicio anterior hasta un 29,88% de muestras con resultado positivo en el último periodo. Las Unidades que se han incorporado antes a los programas de control están poco a poco disminuyendo los resultados positivos, pero todavía siguen sumándose nuevas instalaciones que mantienen los porcentajes en cifras considerables.

En Septiembre de 2005, se comenzó a incorporar toda la información acompañante de las muestras a una base de datos. Esta herramienta no solo facilita la realización de informes de resultados, sino que aporta la capacidad para llevar a cabo un seguimiento de la eficacia de los programas de mantenimiento de las instalaciones y una evaluación de los tratamientos de limpieza y desinfección efectuados. Si se produce el relevo del personal responsable del control y prevención de la legionelosis en las diferentes Unidades, esto no supondrá la pérdida de esta importante información. Siempre se podrán consultar los muestreos realizados, los resultados obtenidos, los tratamientos efectuados, los biocidas empleados y en definitiva todos aquellos datos históricos útiles para disminuir al máximo el riesgo de aparición de la legionelosis en cualquiera de las instalaciones dependientes del Ministerio de Defensa.

Los resultados obtenidos en los análisis de muestras recogidas con motivo de una inspección son determinantes en el informe final de la misma y en las actuaciones que se deriven de ella. Por ello, se comunican a la Inspección General de Sanidad para que de acuerdo con la legislación se dictaminen las acciones a tomar.

Las deficiencias que puedan observarse en la revisión documental y en la inspección visual de las instalaciones dan lugar a que, de acuerdo con el criterio de los inspectores, se determine la obligación de realizar una serie de operaciones. Sin embargo, un resultado cuantitativo expresado en UFC/L determina una actuación concreta que puede llegar a ser el cierre o clausura de la instalación.

La mayoría de las empresas contratadas responsables del mantenimiento de las instalaciones incluyen en sus servicios la toma de muestras y el análisis de las mismas. De esta forma las instalaciones cumplen con los requisitos legales en cuanto a la realización de análisis y la periodicidad de los mismos. Sería conveniente además que estas Unidades remitieran también sus muestras al Centro Militar de Veterinaria de la Defensa para alimentar la base de datos y mantener un seguimiento de la eficacia de los programas.

La gran cantidad de instalaciones civiles consideradas de riesgo de transmitir legionella existentes hace muy difícil su control por las autoridades sanitarias de las Comunidades Autónomas. En muchas ocasiones los propietarios responsables de estas instalaciones desconocen la legislación e incluso ignoran las características de las mismas. En cambio, en el Ministerio de Defensa se dispone de un inventario actualizado de todas las instalaciones, lo que facilita la realización de inspecciones en la totalidad de las mismas. Como consecuencia de estas inspecciones y del resultado del análisis de las muestras se están realizando continuamente cambios en las infraestructuras y en los programas de prevención para mantener siempre al mínimo el riesgo de aparición de casos.

BIBLIOGRAFÍA

- Norma ISO 11731: 1998(E).
- Real Decreto 865/2003, de 18 de julio de 2003 (BOE n.º 171).
- Orden Ministerial número 87/2004, de 31 de Marzo, sobre la inspección de instalaciones para la prevención y control de la legionelosis en el Ministerio de Defensa. (BOD. núm. 82).
- Instrucción Técnica Sanitaria n.º 12/04 «Guía de Inspección de Instalaciones para el control y prevención de la legionelosis en el ámbito del Ministerio de Defensa».
- Curso de Control y prevención de la Legionelosis a distancia. Escuela Militar de Sanidad. 2006.
- Access Legionella. Servicio de Microbiología, Higiene y Sanidad Ambiental. Centro Militar de Veterinaria de la Defensa.