

Buscando la sospecha epidemiológica y/o la confirmación microbiológica de la fuente de infección de la Legionella

Dr. Juan Ángel Ferrer Azcona. Área de Control y Prevención de Legionella. MICROSERVICES.

Jornada Técnica ANECPLA

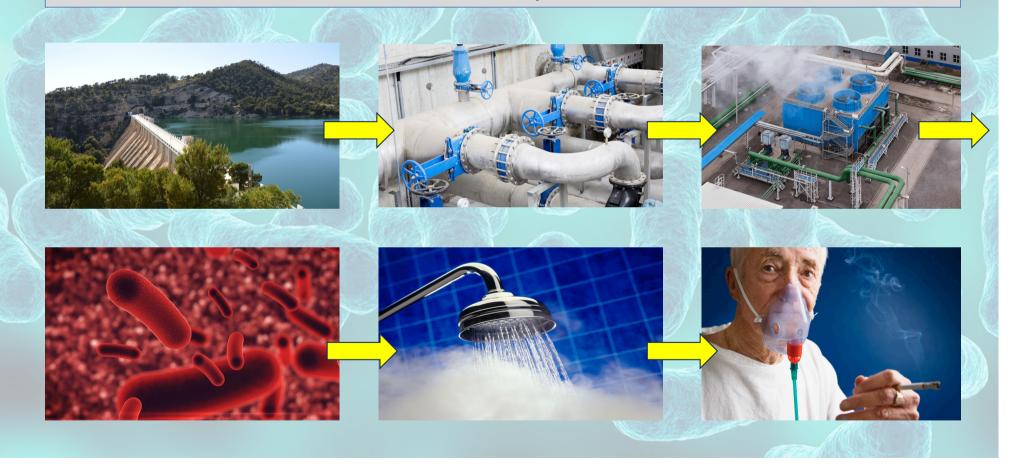
Legionella, gestión y responsabilidad en la realidad actual

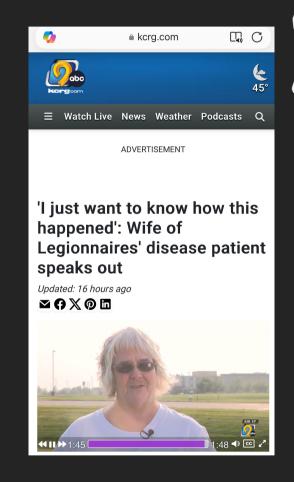
Madrid, 26 de septiembre de 2025





Viaje de ida de la Legionella: Desde la naturaleza hasta el pulmón





"Solo quiero saber cómo sucedió esto": habla la esposa de un paciente con Enfermedad del Legionario. Brote Marshalltown (USA) 2025

Además de lo que sienta el paciente o su familia, la sociedad y la ciencia también reclama conocer "qué ha pasado"

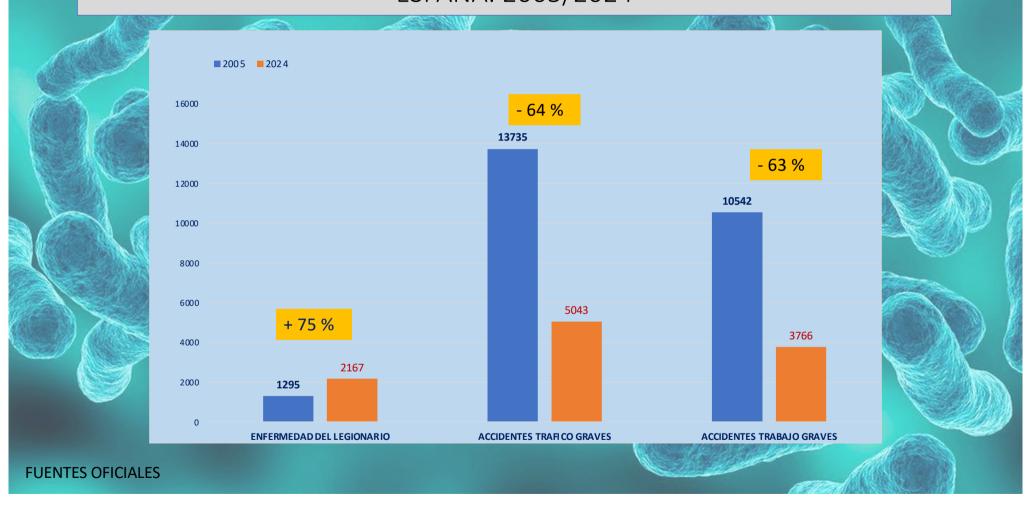
Para dirimir las responsabilidades, es
necesario determinar científicamente
qué instalación ha causado la infección y
qué incumplimientos legales y/o de buenas
prácticas se han cometido

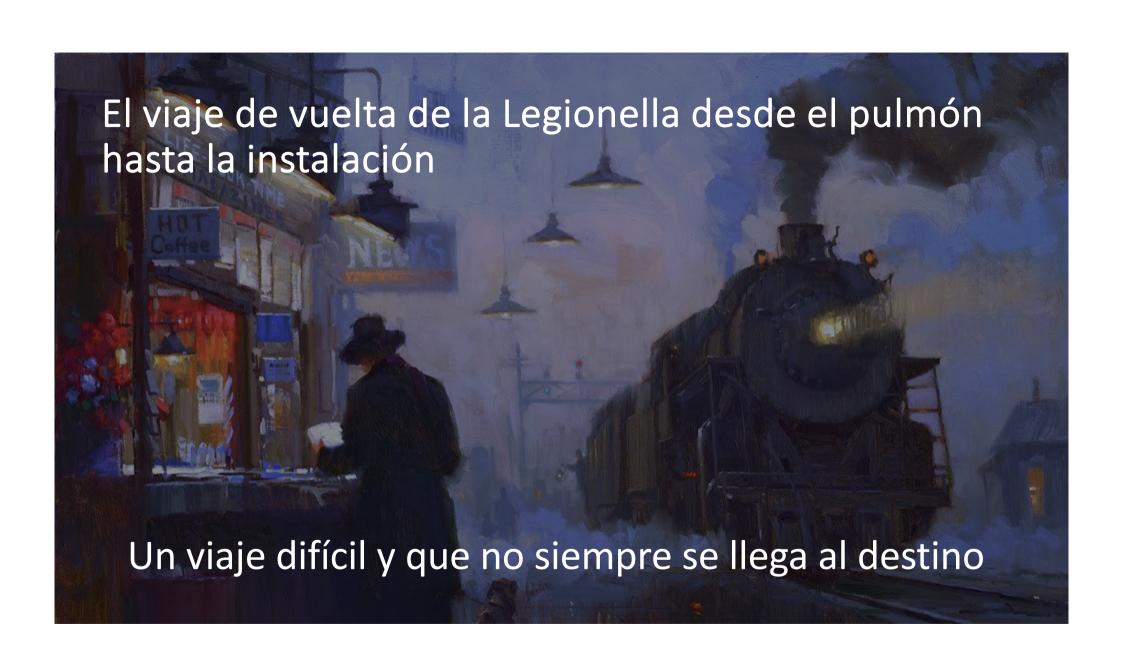
• Objetivos:

• recompensar los daños a los enfermos o fallecidos

• evitar que se repitan los casos o brotes







R.D 487/2022 Artículo 15.

Actuaciones ante casos o brotes de legionelosis.



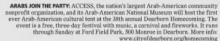
La autoridad sanitaria coordinará las actuaciones de todos los profesionales, empresas, entidades o administraciones que intervengan en la investigación.

También el titular o cualquier otra entidad implicada en la instalación puede llevar a cabo sus propias investigaciones (análisis, auditorias, informes técnicos, ...) pero siempre respetando las decisiones de la autoridad sanitaria y no entorpeciendo en ningún momento la investigación oficial

Los resultados de las investigaciones de parte podrían servir de elementos de prueba de defensa en caso de un proceso administrativo y/o judicial para oponerse a una acusación o demostrar su inocencia









Cases of Legionnaires' spike 143%

search for cause

PRONTO HABRÁ

Diario de Mallorca

DONDE HAYA UNA LEGIONELLA,

Rivera acusa los colegios le Balears de doctrinar a alumnos

ΑΜΑ ΙΙΝΑ ΑGENCIA DE CIÓN ESTATAL QUE ASUM NES AUTONÓMICAS



Cosp

de Diputación, precintada

Ha dado positivo el primer análisis de legionela efectuado por Sanidad, por lo que en

ella podría estar el foco de la bacteria que afectó a cuatro personas a finales de agosto





incierto para bajar sueldos o echar

los trabajadores municipales ex La torre de refrigeración del PalaTécnicos de Sanidad realizaron un resultados de un segundo y más "controlado", aunque señalan que presen su voluntad sobre cómo cio de la Diputación se encuentra primer análisis de la torre a través complejo análisis. Desde que se todavia no está "exactamente loca-afrontar el recorte del 5 por cien clausurada desde el pasado 2 de del denominado PCR (Reacción procedió al precintado de esta y de lizado" el foco. Una representante lo en el gasto de Personal ante la investigue si en ella hay un foco técnica de biologia molecular que de legionelosis en la capital. Diputación explicaciones y Huete ha palmente del mayoritario, CSF, a de legionela, bacteria que afectó permite detectar restos genéticos Fuentes del Sescam reconocen, en convocado este viernes el Comité aceptar una bajada de la paga ex-

Rally against Bruner detention

center BY JAIME WILLIAMS



Disease kills seven Bronxites

CLASSIFIEDS

BY JANE WILLIAMS
The largest outbreak of Legionnaires' Disease in the city's
history has hit the south Bronx.
There were 86 reported cases
of the form of pneumonia in
the area and seven dead as of a
truesday press conference with
Mayor de Blasto and Depart
ment of Health commissioner
Mary Bassett at Lincoh Hospital. An eighth was reported

Fatal Legionnaires' Disease Cluster Hits

Outbreak Legionnaires' Disease Infectious Diseases Public Health

PUBLISHED

JUL 31, 2025 AT 11:12 AM EDT

New York

Tarancón aguarda a que su mercado sea rehabilitado

rapida intervención de Saluc

sa de ataque

La torre de refrigeración

Referéndum a interinos

el lunes una votación para que

UN TITULAR DE PRENSA

e inusual' aquona una limpieza más

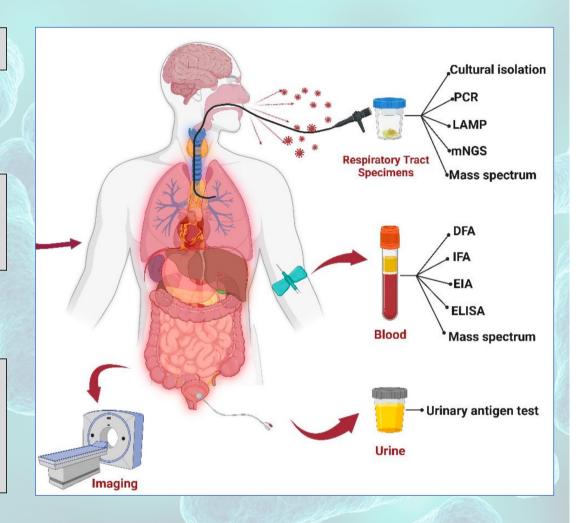
Fases de la investigación de casos y brotes

- 1. Diagnóstico médico y declaración de la enfermedad (descubrimiento)
- 2. Investigación epidemiológica (hipótesis)
- 3. Investigación ambiental (búsqueda)
- 4. Investigación microbiológica (confirmación)
- 5. Informe de conclusiones (responsabilidad)
- 1. Expediente administrativo, infracciones y sanciones
- 2. Fase judicial a instancias de parte o de fiscalía
- 3. Sentencias con penas e indemnizaciones

1. EL DESCUBRIMIENTO

DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD DE LEGIONARIO

El cultivo es el mejor método para **conocer la identidad** de la Legionella que causa la enfermedad



Bai, L.; Yang, W.; Li, Y. Clinical and Laboratory Diagnosis of Legionella Pneumonia. Diagnostics 2023,13,280.

PORCENTAJE DE MÉTODOS UTILIZADOS EN EL DIAGNÓSTICO DE LEGIONELOSIS. (UNIÓN EUROPEA - NEW YORK CITY)

MÉTODO	UNIÓN EUROPEA 2021 ¹	NEW YORK CITY 2022 ²
Cultivo de esputo o secreción bronquial	11	8,9
P.C.R. de esputo o secreción bronquial	12	9,5
Antígeno urinario (LP Sg. 1)	89	94,1

Porcentajes (%) no excluyentes

^{1.} European Centre for Disease Prevention and Control. Legionnaires' disease. In: ECDC. Annual Epidemiological Report for 2021. Stockholm: ECDC; 2023.

^{2.} Legionnaires' Disease in New York City: 2019-2022 Surveillance Report. NYC Health. 2023.

Diagnóstico de la Enfermedad del Legionario

RAZONES DE LA ESCASA UTILIZACIÓN DEL CULTIVO DE SECRECIONES BRONQUIALES

- Los médicos creen que no es necesario hacer más análisis si ya tienen un Antígeno urinario positivo (sólo para LP Serogrupo 1)
- Muchos pacientes no pueden expectorar y la muestra recogida no es representativa del tracto respiratorio inferior
- La aspiración forzada puede ser molesta y en ocasiones perjudicial para el paciente
- El resultado puede estar enmascarado por toma previa de antibióticos

Real Decreto 2210/1995, por el que se crea la red nacional de vigilancia epidemiológica

DECLARACIÓN



- La LEGIONELOSIS está incluida en la Lista de Enfermedades de Declaración Obligatoria (declaración semanal).
- La declaración corresponde realizarla a los médicos y a los centros sanitarios, tanto del sector público como privado.
- Cuando haya un brote epidémico, la declaración es obligatoria y urgente.
- El infradiagnóstico y la infradeclaración son frecuentes y, obviamente, no cuantificables.
- La incidencia de casos (sobre todo esporádicos y pequeños brotes) debe ser mucho mayor.

2. La hipótesis

La investigación epidemiológica

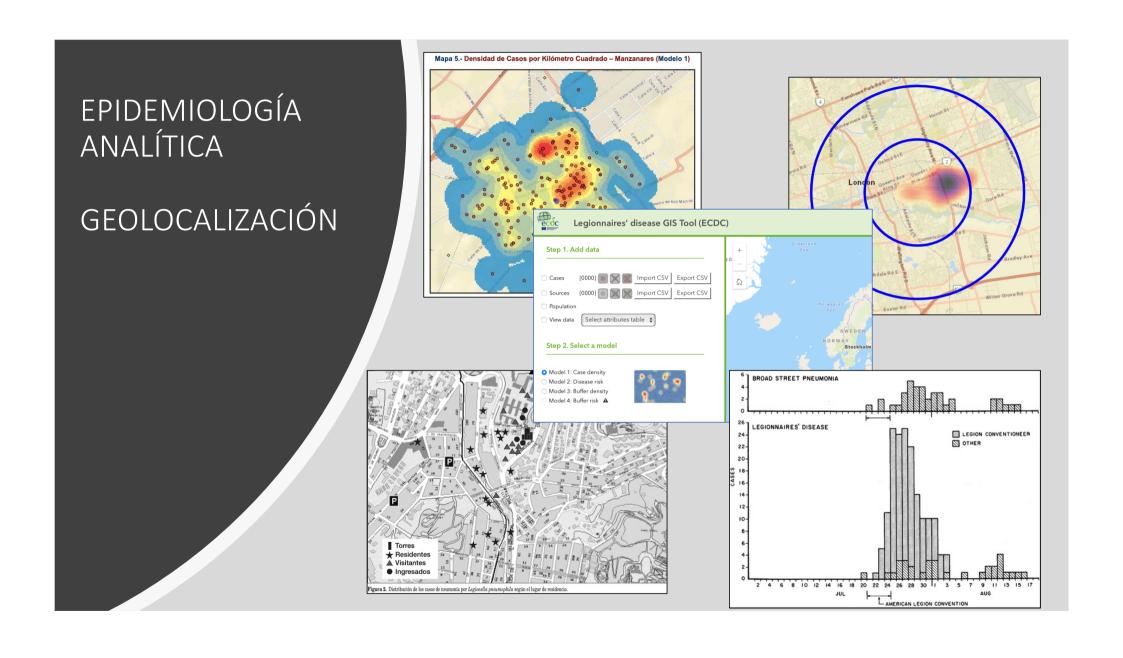
Fase descriptiva: para observar y analizar la distribución de la enfermedad por tiempo, lugar y persona

Fase analítica: para formular y verificar hipótesis que permitan identificar las causas y factores de riesgo

ENCUESTA EPIDEMIOLÓGICA

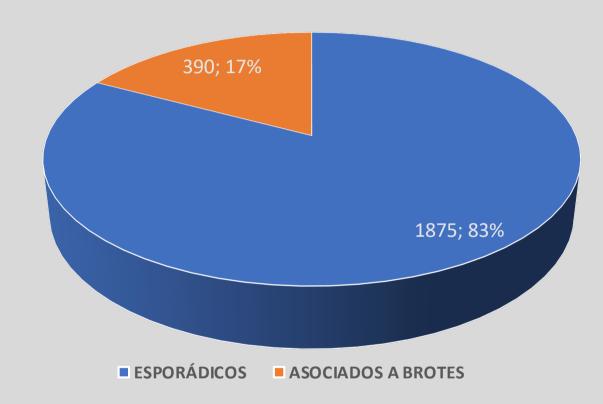


- Permite obtener información rápida, uniforme y sencilla, para plantear una hipótesis de partida.
- Debe ser protocolizada pero también flexible, para obtener información relevante de cada caso
- En ocasiones, es muy difícil obtener datos fiables porque el enfermo está en estado crítico, con facultades intelectuales mermadas por su edad o situación,...
- Es complejo que el enfermo o su familia recuerde las posibles exposiciones en los últimos 10 días respecto a edificios, desplazamientos, instalaciones,...



INCIDENCIA DE CASOS SEGÚN APARICIÓN



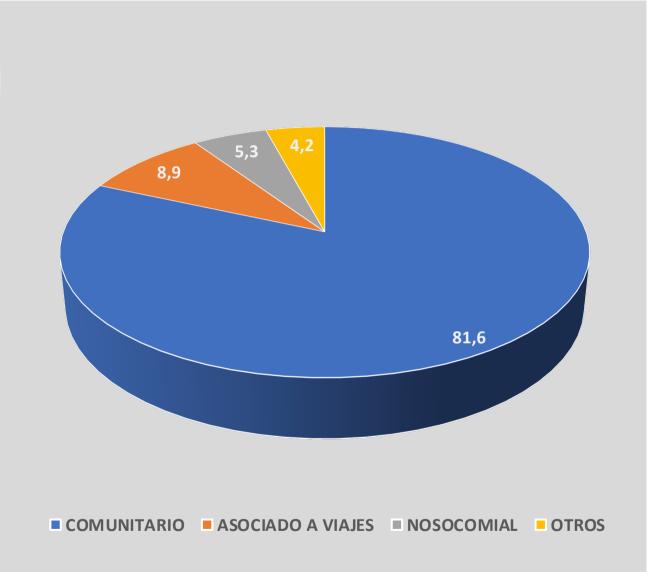


Cano Portero R, Martín-Mesonero C, Amillategui-Dos-Santos R. Estudio epidemiológico de la legionelosis en España. Año 2023. Boletín Epidemiológico Semanal. 2024;32(2):94-104

PORCENTAJE DE CASOS DE LEGIONELOSIS SEGÚN ÁMBITO DE APARICIÓN

Fuente: ECDC

ESPAÑA. 2024

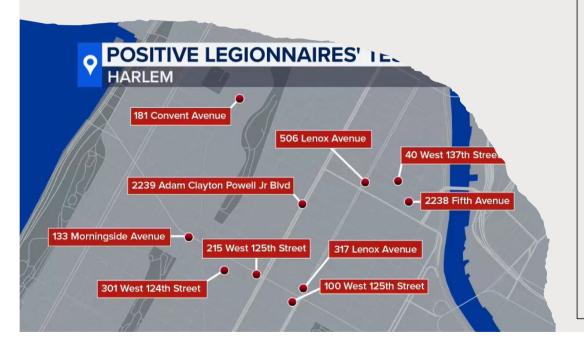


3. LA BÚSQUEDA

- Basada siempre en la información epidemiológica y datos históricos
- Actuación rápida por la alerta sanitaria y para evitar enmascaramientos y "desinfecciones previas"
- Inspección del ámbito geográfico y las instalaciones
- Toma de muestras y revisión del cumplimento de las normas
- Adoptar medidas urgentes de policía sanitaria (paralización, desinfección, reparación,...)
- Si se sospecha que una instalación pueda ser la fuente y el primer muestreo es negativo, hay que seguir muestreando porque la misma Legionella persistirá y podrá detectarse en un futuro

INVESTIGACIÓN AMBIENTAL

IMPORTANCIA DE LOS REGISTROS DE INSTALACIONES



Real Decreto 487/2022, por el que se establecen los requisitos sanitarios para la prevención y el control de la legionelosis.

- Las personas titulares de torres de refrigeración y condensadores evaporativos están obligadas a notificar su existencia a la autoridad sanitaria.
- Las empresas de servicios externos estarán obligadas a solicitar por escrito a la persona titular de la instalación la justificación de la notificación de la instalación y, en caso de no disponer de la misma, deberán proceder a informar por escrito a la persona titular de la citada instalación, con copia a la autoridad sanitaria.
- Las administraciones sanitarias, en el marco de sus competencias, podrán ampliar la obligatoriedad de notificación a otras instalaciones.

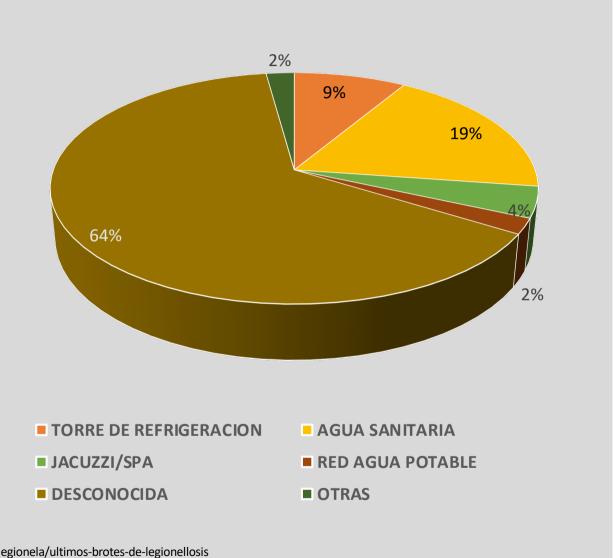
ALGUNOS NÚMEROS SOBRE INSTALACIONES DE RIESGO EN ESPAÑA

TIPO INSTALACIÓN/ EDIFICIO	NÚMERO APROXIMADO
Hoteles	11.323
Campings	580
Alojamientos rurales	15.750
Hospitales	850
Residencias geriátricas	5.567
Centros educativos	28.816
Gimnasios	3.939
Piscinas Hidromasajes (según SILOE)	1.607
Torres de refrigeración y condensadores evaporativos	15.590
Clínicas dentales	24.000
Fuentes ornamentales (en ciudades de Madrid y Barcelona)	920
Instalaciones deportivas	79.500
Gasolineras con autolavado	2.540
Estaciones depuradoras aguas residuales	2.232
Otras instalaciones	???

Fuentes oficiales diversas

INSTALACION
ASOCIADA/CONFIRMADA
DE BROTES CONOCIDOS
DE LEGIONELOSIS.

2019-2024 N=231



Fuente: Elaboración propia. https://microservices.es/legionela/ultimos-brotes-de-legionellosis



MATCHING o EMPAREJAMIENTO

Coincidencia de la Legionella de los enfermos y la de una instalación contaminada sospechosa de ser fuente del caso o del brote.

Aporta pruebas sólidas que permite identificar la fuente de la infección, adoptar medidas de control y establecer las responsabilidades.

Las técnicas más habituales son:

- 1. cultivo con determinación de especie y serogrupo
- 2. subtipo monoclonal
- 3. electroforesis de gel en campo pulsante (PFGE)
- 4. tipificación basada en secuencias (SBT)
- 5. secuenciación del genoma completo (WGS)

CULTIVO EN PLACA CON DETERMINACIÓN DE ESPECIE Y SEROGRUPO

- El método de cultivo será el método de referencia para Legionella (UNE-EN ISO 11731:2017)
- Detectar solo *Legionella spp o LP Sg. 1* no aporta conclusiones, sino que debe ser el principio de una investigación microbiológica
- Hay un total de 68 especies del género Legionella.
- 31 detectadas a partir de muestras de enfermos y, por tanto, capaces de causar enfermedad.
- 37 especies detectadas sólo en muestras ambientales y, por tanto, se desconoce si pueden causar enfermedad.

Especies de Legionella por cultivo causantes de enfermedad. España. 2012-2022. n= 1.133

ALTERNATION PROPERTY (A)		
Especie	Nº casos	Porcentaje
L. pneumophila	1087	95,94
L. longbeacheae	22	1,94
L. bozemanii	4	0,35
L. micdadei	3	0,26
L. anisa	2	0,18
L. cincinnatiensis	1	0,09
Especie desconocida	14	1,24



González-Rubio, J.M.; Cascajero, A.; Baladrón, B.; González-Camacho, F. Characterisation of *Legionella* Clinical Isolates in Spain from 2012 to 2022. *Microorganisms* **2024**, *12*,1253

SEROGRUPO LP	Nº casos	Porcentaje sobre total de los casos
1	890	78,55
3	46	4,06
2	14	1,24
6	10	0,88
7	6	0,53
5	5	0,44
	5	0,44
10		
4	3	0,26
8	2	0,18
9	1	0,09
12	1	0,09
13	1	0,09
14	1	0,09
11	0	-
15	0	-
16	0	-
Serogrupo desconocido	99	8,74
Serogrupo mixto	3	0,26

SUBTIPADO CON ANTICUERPOS MONOCLONALES.

PANEL INTERNACIONAL DE DRESDEN Detecta las **diferencias antigénicas** menores en la superficie celular bacteriana para *Legionella pneumophila serogrupo* 1

Es una técnica no genética relativamente simple que clasifica en dos subtipos:

- MAb 3/1 positivo: PONTIAC (Philadelphia, Knoxville, Benidorm, Allentown/France)
- MAb 3/1 negativo: OLDA (Olda, Bellingham, Camperdown, Heysam,...)

El **subtipo PONTIAC** tiene mayor patogenicidad (antígeno de virulencia lag-1)

La mayoría de los casos y brotes son PONTIAC mientras que la mayoría de los aislados ambientales son OLDA.

BROTES DE LEGIONELLOSIS CON MÁS DE 30 CASOS EN ESPAÑA

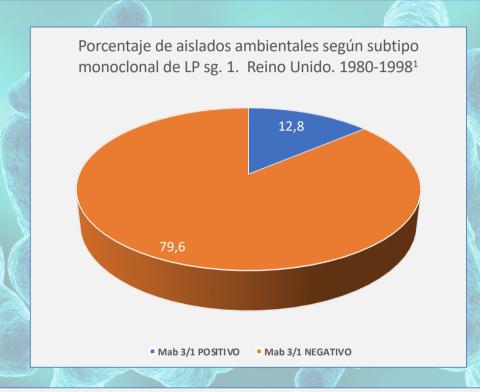
Localidad	Año	Nº Casos	Сера	Subtipo Monoclonal
Luchente	1983	35	LP1	No publicado
Castillejos	1983	81	LP1	No publicado
Calella	1984	32	LP1	No publicado
Barcelona	1988	56	LP1	No publicado
Almuñecar	1991	91	LP1 PONTIAC	Philadelphia
Alcalá Henares	1996	224	LP1 PONTIAC	Knoxville
Cestona	1999	43	LP1	No publicado
Alcoy	1999	180	LP1 PONTIAC	Knoxville
Barceloneta	2000	54	LP1 PONTIAC	Philadelphia
Vigo	2000	35	No publicado	No publicado
Murcia	2001	449	LP1 PONTIAC	Philadelphia
Mataró	2002	113	LP1 PONTIAC	Philadelphia
Zaragoza	2004	32	LP1 PONTIAC	No publicado
Vallcarca	2004	30	LP1 PONTIAC	No publicado
Vich-Gurb	2005	55	LP1 PONTIAC	Philadelphia
Pamplona	2006	146	LP1 PONTIAC	Allentown/France
Calpe	2012	43	LP1 PONTIAC	Allentown/France
Mostoles	2014	46	LP1 PONTIAC	Allentown/France
Sabadell	2014	48	LP1 PONTIAC	Knoxville
Manzanares	2015	593	LP1 PONTIAC	Philadelphia

Porcentaje de enfermos por *Legionella pneumophila* sg. 1 según subtipo monoclonal. España. 2012-2020

ANTICUERPO MONOCLONAL	SUBTIPO MONOCLONAL	% DE CASOS QUE HA CAUSADO
MAb 3/1 Positivo	Allentown/France	15,9
Grupo Pontiac	Benidorm	14,5
	Knoxville	25,8
	Philadelphia	28,8
	Total	85,0
MAb 3/1 Negativo	Bellingham	2,5
Grupo	Camperdown	0,0
Olda/Bellingham	Heysham	0,5
	OLDA	11,0
	OLDA/Oxford	1,1
	Total	15,0

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA/ISCIII

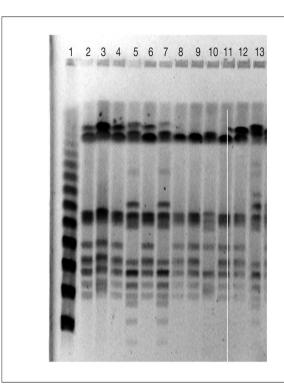
CONTRADICCIÓN DEL SUBTIPO MONOCLONAL ENTRE MUESTRAS AMBIENTALES Y CLÍNICAS





EN CUALQUIER MUESTRA POSITIVA DE LP SG. 1, SIEMPRE ES CONVENIENTE REALIZAR EL SUBTIPO MONOCLONAL, PORQUE NOS DETERMINA LA MAYOR PATOGENICIDAD DE LA BACTERIA Y EL MAYOR RIESGO DE UNA INSTALACIÓN

1. T.G. Harrison, N. Doshi, N.K. Fry, C.A. Joseph, Comparison of clinical and environmental isolates of Legionella pneumophila obtained in the UK over 19 years, Clinical Microbiology and Infection, Volume 13, Issue 1,2007.



Carriles gel de PFGE:

- 1 Control de Pm
- 2 Cepa humana 1015/04 (tipo A)
- 3 Cepa humana 1016/04 (tipo A)
- 4 Cepa humana 1017/04 (tipo A)
- 5 Cepa ambiental 948/04 (tipo B)
- 6 Cepa ambiental 951/04 (tipo A)
- 7 Cepa ambiental 955/04 (tipo B)
- 8 Cepa ambiental 957/04 (tipo A)
- 9 Cepa ambiental 960/04 (tipo A)
- 10 Cepa ambiental 963/04 (tipo C)
- 11 Cepa ambiental 965/04 (tipo A)
- 12 Cepa ambiental 971/04 (tipo A)
- 13 Cepa ambiental 972/04 (tipo B)

ELECTROFORESIS DE GEL EN CAMPO PULSANTE (PFGE)

- Es un tipo especial de análisis que permite separar fragmentos de DNA extremadamente grandes.
- Los fragmentos de DNA se separan nítidamente en bandas de electroforesis.
- Tiene un elevado poder discriminatorio y reproducibilidad.
- Es un proceso largo y necesita un equipo especial y sólo algunos laboratorios la puedan realizar, por lo que cada vez se utiliza menos

Estudio de biología molecular: electroforesis en gel de campos pulsantes (PFGE) con cepas humanas y ambientales relacionadas con el brote de legionelosis de Vallcarca. Fuente: Dra. Carmen Pelaz, Centro Nacional de Microbiología.

- Es el método de tipado actual "estándar de oro" para la investigación de brotes causados por **Legionella** pneumophila.
- Consiste en analizar mediante PCR la secuencia de siete genes (flaA, pilE, asd, mip, mompS, proA y neuA).
- El Grupo Europeo de Estudio para Infecciones de Legionella (ESGLI) dispone de un listado de SBT con más de 3.000 tipos.
- La secuencia obtenida se compara con la base de datos SBT-ESGLI para obtener el tipo correspondiente y, si no coincide, se le asigna un nuevo número.
- Se puede aplicar a la bacteria aislada en cultivo y también desde la propia secreción bronquial.
- Baja resolución del SBT por la diversidad de tipos encontradas en las muestras ambientales

Tipificación basada en secuencias (SBT)



Sequence-Based Typing protocol for epidemiological typing of Legionella pneumophila

VERSION 5.0

SECUENCIACIÓN DEL GENOMA COMPLETO (WGS)

- WGS caracteriza mejor la cepa en comparación con la PFGE o SBT para determinar la fuente de las infecciones.
- La baja resolución del ST favorece el uso de la secuenciación del genoma completo (WGS) o tipificación de secuencia *multilocus* del genoma central (cgMLST) en las investigaciones de brotes.

Todavía hay inconvenientes para el uso rutinario del WGS:

- Imposibilidad de secuenciar directamente a partir de muestras clínicas
- Falta de bases de datos genómicas completas y de acceso libre con las que comparar
- Falta de software de interpretación de datos
- Relación coste-beneficio del WGS frente a los métodos de tipificación
- En un futuro, podría llegar a convertirse en el "gold standard"

¿CÚAL ES LA PRÁCTICA HABITUAL EN LA INVESTIGACIÓN MICROBIOLÓGICA?

 Cultivo para determinar especie y serogrupo

• SBT

Subtipo monoclonal

¿ POR QUÉ ES TAN DIFÍCIL CONFIRMAR LA FUENTE DE LOS CASOS O BROTES DE LEGIONELOSIS ?

- Los niveles de Legionella en los sistemas de agua pueden fluctuar con el tiempo dificultando la interpretación de los resultados
- Legionela puede residir dentro de los protozoos y los medios de cultivo estándar pueden producir resultados con falsos negativos.
- Dificultad para aislar Legionela si las muestras contienen altos niveles de flora contaminante por otros microorganismos.
- Bajo condiciones estresantes, Legionela puede entrar en un estado de Legionella viable pero no cultivable (VBNC) en el que los métodos de cultivo estándar no la detectarán.
- Algunas especies de Legionela capaces de causar enfermedades no crecen bien utilizando el método de cultivo tradicional de Legionella.

¿ POR QUÉ ES TAN DIFÍCIL CONFIRMAR LA FUENTE DE LOS CASOS O BROTES DE LEGIONELOSIS ?

- Muchas veces no se encuentra la posible fuente de exposición ambiental durante la investigación.
- Es posible que se hayan tomado muestras después de que se haya desinfectado la fuente ambiental.
- Sólo se dispone de un 10 % de cultivos procedentes de muestras de los pacientes.
- Más del 80 % de los enfermos, son casos esporádicos no incluidos dentro de un brote y muchos no se investigan.
- Más del 80 % de los casos se catalogan como comunitarios, porque no se encuadran en un ambiente o un edificio concreto.

• ...

ANTE UN CASO DE LEGIONELOSIS SIEMPRE HAY QUE SER:



CURIOSO ANTE CUALQUIER INCIDENCIA,



DESCONFIADO ANTE LA PRIMERA EVIDENCIA

...Y PENSAR QUE UN CASO PUEDE SER EL PRIMERO DE UN GRAN BROTE

