

Trabajo Fin de Máster

DISPOSITIVO PARA LA PREVENCIÓN DE *LEGIONELLA* EN INSTALACIONES DE AGUA SANITARIA

José Luis Sancho Pastor

Directora

Marta M^a Pérez Rontomé

Escuela de Ingeniería y Arquitectura
Máster en Ingeniería Biomédica
Departamento de Anatomía, Embriología y Genética
Zaragoza, Febrero 2015



DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

(Este documento debe acompañar al Trabajo Fin de Grado (TFG)/Trabajo Fin de Máster (TFM) cuando sea depositado para su evaluación).

D./D^a. José Luis Sancho Pastor

con nº de DNI 73260200W en aplicación de lo dispuesto en el art.

14 (Derechos de autor) del Acuerdo de 11 de septiembre de 2014, del Consejo de Gobierno, por el que se aprueba el Reglamento de los TFG y TFM de la Universidad de Zaragoza,

Declaro que el presente Trabajo de Fin de (Grado/Máster)
Máster Universitario de Ingeniería Biomédica, (Título del Trabajo)
Dispositivo para la prevención de Legionella en instalaciones de agua sanitaria.

es de mi autoría y es original, no habiéndose utilizado fuente sin ser citada debidamente.

Zaragoza, a 12 de Febrero de 2015

Fdo: José Luis Sancho Pastor

*A mi mujer y mi futura hija
por su paciencia y apoyo*

*A mis padres y hermano, por
toda su colaboración desde
el nacimiento de esta idea*

Agradecimientos

Una vez finalizado el presente trabajo, necesito mirar hacia los lados para ver a todas las diferentes personas y empresas que han estado andando junto a mi en el largo camino de este proyecto; aportándome ideas, materiales, trabajos y por supuesto, colaborando con lo que mejor sabía hacer cada uno para que todo esto haya podido salir adelante.

Imprescindible es reconocer la gran ayuda que ha supuesto contar con el apoyo de una entidad de prestigio en el campo de la prevención de *Legionella* como lo es Laboratorios Nilsson y toda su plantilla directiva y técnica.

También forma parte de los primeros pilares de este trabajo, la empresa Instalaciones Alfredo Sanjuan y su gerencia, la cual puso a nuestra disposición las herramientas y materiales necesarios para poder completar la instalación del prototipo.

Y por supuesto, quisiera agradecer de la manera más amplia y sincera posible, la labor de mi directora Marta M^a Pérez por su inestimable colaboración, apoyo y paciencia en la realización de este trabajo. Remarcar su magnífica virtud de poder compaginar su enorme calidad técnica y humana, aportándome los matices necesarios para completar este trabajo con una gran responsabilidad y seriedad. Igualmente deseo agradecer a Juan Pablo Martinez su comprensión e interés durante todo este tiempo y al cual le estoy enormemente agradecido.

Finalizar estas líneas con la siempre y necesaria línea de agradecimientos a mi familia, que siempre he tenido junto a mi tanto en los mejores momentos como en los más difíciles.

Gracias a todos vosotros, este trabajo ha sido posible.

Gracias a todos vosotros, algo nuevo tras este trabajo, será posible.

Gracias

José Luis Sancho



DISPOSITIVO PARA LA PREVENCIÓN DE *LEGIONELLA* EN INSTALACIONES DE AGUA SANITARIA

Resumen

El presente trabajo fin de máster es el resultado de años vinculado a instalaciones con riesgo de *Legionella*. En base a esto y a los estudios existentes sobre la materia, nos hemos enfocado en la búsqueda de una solución para prevenir la proliferación de *Legionella* en un campo nuevo. En la actualidad existen diferentes tratamientos del agua, pero principalmente se aplican en el punto de almacenaje, y no en el punto de suministro. Es ahí donde hemos decidido estudiar el problema y ver una posible solución.

Pese a todos los avances científicos, nuevos productos y tratamientos para realizar en instalaciones, para aplicar al agua, etc. la enfermedad sigue presente en la sociedad generando todos los años numerosos afectados e incluso en algunos casos, la muerte de los infectados.

Por todo ello, basándonos en la normativa existente, la literatura sobre la bacteria y la experiencia propia en estas instalaciones, nuestro TFM es el diseño, prototipo y ensayos de un dispositivo que previene la proliferación de la *Legionella* instalado en el punto final de la instalación.

Realizados los diferentes ensayos, hemos podido comprobar que el funcionamiento del dispositivo en las pruebas realizadas permite conseguir unos resultados muy buenos.



ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	2
1.1. Motivación	2
1.2. Estudio del arte	2
1.3. Objetivos marcados	3
1.4. Conceptos básicos sobre <i>Legionella</i>	3
1.5. Ecología, etiología y biología de la bacteria	5
1.6. Desarrollo y proliferación de <i>Legionella</i>	6
1.7. Mecanismos de transmisión	7
1.8. Sintomatología en el ser humano	8
1.9. Instalaciones y zonas de riesgo ante <i>Legionella</i>	10
2. PROBLEMÁTICA EXISTENTE EN EDIFICIOS DE PÚBLICA CONCURRENCIA COMO HOSPITALES Y NORMATIVA VIGENTE APLICADA	12
2.1. Aspectos básicos de <i>Legionella</i>	12
2.2. Instalaciones de riesgo en hospitales	12
2.3. Descripción de instalaciones de agua sanitaria hospitalaria	13
2.4. Prevención y corrección de <i>Legionella</i> en agua sanitaria de hospitales	14
2.5. Costes directos e indirectos de <i>Legionella</i> en hospitales	16
2.6. Problemática de aplicación de normativa en Hospitales	17
3. MATERIALES Y MÉTODOS: DISPOSITIVO PARA PREVENIR LA PROLIFERACIÓN DE <i>LEGIONELLA</i> EN INSTALACIONES DE PUNTO TERMINAL	18
3.1. Detalle instalaciones hospitalarias estándar	18
3.2. Problemática generada por retornos	19
3.3. Justificación Tª de AFS-ACS en Tª de reproducción <i>Legionella</i>	20
3.4. Principio fundamental de trabajo con el dispositivo	21
3.5. Fundamentos de la propuesta	22
3.6. Diseño y caracterización del dispositivo	24
3.7. Bases de funcionamiento y detalle del dispositivo	26
3.8. Protocolos establecidos para ensayo	27
3.8.1. Simulación jornada diaria. Ensayo tipo A	27
3.8.2. Simulación jornada fin de semana. Ensayo tipo B	28
3.9. Detalle de componentes del dispositivo en la instalación	29
3.10. Procedimiento detallado de uso del dispositivo	31

4. RESULTADOS, CONCLUSIONES Y DISCUSIÓN	36
4.1. Ensayos y analíticas realizadas	36
4.1.1. Resultados ensayo tipo A:	36
4.1.2. Resultados ensayo tipo B:	37
4.2. Evaluación de los resultados obtenidos	37
4.3. Conclusiones	40
4.4. Retos y desarrollo futuro	41
4.5. Valoración personal	42
5. BIBLIOGRAFÍA	43
 ANEXOS.....	 45
ANEXO I Certificado, informe, hoja seguridad cepa <i>Legionella</i> para ensayos y analíticas	46
ANEXO II Métodos preventivos actuales	64
ANEXO III Esquemas y patente del dispositivo tfm	69
ANEXO IV Normativa básica principal rd 865/2003	112
ANEXO V Recopilación de noticias de casos de <i>Legionella</i>	127

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Tráfico intracelular de <i>Legionella</i> en una célula eucariota	6
Figura 2.	Nº casos <i>Legionella</i> declarados en España. Fuente: EDO CNE Carlos III	8
Figura 3.	Desarrollo de <i>Legionella</i> en función de la temperatura	11
Figura 4.	Plano distribución de agua fría en hospital de 70.000 m2 hasta grifo	14
Figura 5.	Central producción térmica ACS común.Fuente: Hospital	19
Figura 6.	Plano distancia final tubería ACS con retorno hasta el punto terminal	20
Figura 7.	Gráfico tendencia representativa de Tª del agua a Tª ambiente (20ºC)	20
Figura 8.	Triángulo de la vida de la <i>Legionella</i>	22
Figura 9.	Plano modelo tipo de consultas actuales. Ej. Zona consultas	22
Figura 10.	Plano modelo propuesto como mejora. Ej. Zona consultas	23
Figura 11.	Detalle del prototipo y de dispositivo en patente	24
Figura 12.	Diseño de prototipo e instalación para simulación real	25
Figura 13.	Detalle de diseño y prototipo TFM	26
Figura 14.	Esquema de patente adjunta en anexo y boceto inicial	26
Figura 15.	Relación horas con agua y horas con la tubería vacía. Tipo A	27
Figura 16.	Relación horas con agua y horas con la tubería vacía. Tipo B	28
Figura 17.	Prototipo: Tubería principal y depósitos de aporte de agua	29
Figura 18.	Simulación funciones principales dispositivo.	30
Figura 19.	Tramo de tubería hasta punto terminal	30
Figura 20.	Llenado de agua con <i>Legionella</i> al depósito de recirculación	31
Figura 21.	Recirculación continua de ACL por instalación	31
Figura 22.	Comprobación purga, llave d1 (Fig.18) posición cerrada C.	32
Figura 23.	Comprobación agua limpia, llave d2 (Fig.18) posición cerrada C	32
Figura 24.	Comprobación agua contaminada.Llave d3 (Fig.18) posición abierta A	32
Figura 25.	Fin recirculación ACL instalación. Llave d3 (Fig.18) posición cerrada C	33
Figura 26.	Inicio purga instalación, llave d1 (Fig.18) posición abierta A	33
Figura 27.	Cerrar purga, llave d1 (Fig.18) posición cerrada C	33
Figura 28.	Inicio muestra agua potable, llave d2 (Fig.18) posición abierta A	34
Figura 29.	Toma de muestras en punto terminal	34
Figura 30.	Muestreo interior de punto terminal con torunda estéril	34
Figura 31.	Preparación en laboratorio para cultivo	35
Figura 32.	Cultivo de <i>Legionella</i> . Tiempo en izq. tras siembra; dcha. tras 11 días.	35
Figura 33.	Representación de ufc/L antes y después del ensayo tipo A	38
Figura 34.	Representación de ufc/L antes y después del ensayo tipo B	39
Figura 35.	Certificado de colaboración años 2013-2015	46
Figura 36.	Informe de análisis muestras controladas de <i>Legionella</i>	47
Figura 37-40.	Hoja datos seguridad muestras de <i>Legionella</i> utilizadas muestreo	48-51
Figura 41-45.	Analítica de <i>Legionella</i> tras ensayo tipo A	52-57
Figura 46-50.	Analítica de <i>Legionella</i> tras ensayo tipo B	59-63
Figura 51.	Sistema de cloración en continuo	64

Figura 52.	Sistema de ozonización del agua	65
Figura 53.	Sistema de vaporizadores de H ₂ O ₂	65
Figura 54.	Sistema de corriente continua entre electrodos cobre plata	66
Figura 55.	Sistema de ultrapasteurización del agua	67
Figura 56.	Sistema de purificación por lámpara ultravioleta	67
Figura 57.	Sistema de purificación en punto terminal mediante filtro	68
Figura 58-59.	Bocetos iniciales del dispositivo	69-70
Figura 60.	Patente del dispositivo	71-111
Figura 61.	Normativa básica de prevención de <i>Legionella</i> según RD 865/2003	112-126

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Condiciones favorables para la proliferación de <i>Legionella</i>	7
Tabla 2.	Características de Neumonía por <i>Legionella</i> y Fiebre de Pontiac.	9
Tabla 3.	Tipos de instalaciones según probabilidad dispersión de <i>Legionella</i>	11
Tabla 4.	Descripción del diferente funcionamiento de circuitos AFS y ACS	13
Tabla 5.	Medidas preventivas para instalaciones de AS según RD 865/2003	15
Tabla 6.	Medidas correctivas para instalaciones de AFS según RD 865/2003	15
Tabla 7.	Medidas correctivas para instalaciones de ACS según RD 865/2003	16
Tabla 8.	Mejoras principales de aplicación del dispositivo a las instalaciones	23
Tabla 9.	Resumen analíticas ensayo Tipo A	36
Tabla 10.	Resumen analíticas ensayo Tipo B	37

ABREVIATURAS

ACL – agua con *Legionella*
ACS – agua caliente sanitaria
AEIH – asociación española de ingeniería hospitalaria
AFS – agua fría sanitaria
AS – agua sanitaria (fría y caliente)
BOE – boletín oficial del estado
CNE – centro nacional de epidemiología
CTE – código técnico de la edificación
Cu⁺ - ion cobre
e⁻ - electrones
EDO – enfermedad de declaración obligatoria
EPOC – enfermedad pulmonar obstructiva crónica
H₂O₂ – peróxido de hidrógeno
H₂SO₄ – ácido sulfúrico
HxH – horas por hombre
IFD – inmunofluorescencia directa
IP – intercambiador de placas para producción de ACS
IUMC – Indiana University Medical Center
KHOLER – procedimientos de Kohler en IUMC para detección antígeno *Legionella* en orina
L – *Legionella*
mg/L – miligramos por litro
NaClO – hipoclorito de sodio ó lejía
NTP – normas técnicas de prevención
O₃ - ozono
OH⁻ - iones hidroxilo
PCR – reacción en cadena de la polimerasa
pH – acidez o alcalinidad de disolución
RD – real decreto
RE – retículo endoplasmático
RER – retículo endoplasmático rugoso
RITE – reglamento de instalaciones térmicas en edificios
ROESB – registro oficial de establecimientos y servicios biocidas
T^a – temperatura
TFM – trabajo fin de máster
ufc/L – unidades formadoras de colonias por litro
UHT – ultrapasteurización del agua
UV – radiación ultravioleta en agua
°C – grado centígrado



Universidad
Zaragoza

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Motivación

Este proyecto viene siendo un reto que tenemos desde hace muchos años. Todo empezó en alguno de los numerosos congresos nacionales de Ingeniería Hospitalaria que la AEIH¹ organizaba por diferentes lugares del territorio nacional. En ellos, se exponían muchas ponencias de propuestas para la erradicación de *Legionella* de las instalaciones de agua.

En todos los casos se proponían diferentes productos, procedimientos aplicados a las instalaciones, etc. pero en ningún caso se observaba algo que fuera sencillo y eficaz. Es en uno de esos momentos cuando nos planteamos que debía existir otro camino con el que poder conseguir lo mismo o mejorarlo.

Desde ese momento, todos nuestros objetivos comenzaron a enfocarse en la búsqueda de una solución apropiada y viable tanto económicamente como técnicamente.

1.2. Estudio del arte

Son muchos los sistemas que se pueden utilizar para la prevención de *Legionella* en las instalaciones de agua sanitaria, pero también siguen siendo muchos los casos de infecciones por esta bacteria. Con esto hemos querido representar que es un tema en evolución constante al cual todavía le queda mucho por avanzar.

Los diferentes métodos que existen actualmente tienen, generalmente, un denominador común que es su aplicación en el inicio de las instalaciones, en el almacenaje del agua antes de su distribución. Con este principio y viendo los resultados que anualmente presenta el Ministerio a través del Instituto de Salud Carlos III², los casos informados de Legionelosis no tienen una tendencia clara a su eliminación.

Por lo tanto, el mercado no dispone todavía de un elemento, producto o tratamiento que pueda prevenir de legionelosis a las personas. Es ahí donde hemos enfocado todos nuestros esfuerzos, de forma que vamos a trabajar en un campo con muy poca investigación: la prevención en el punto final de suministro de agua.

¹ AEIH Asociación Española de Ingeniería Hospitalaria <http://www.aeih.org/>

² Más información en http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-enfermedades/Legionelosis_informe_brotes_RENAVE.pdf

1.3. Objetivos marcados

Para conseguir una prevención en un punto terminal de suministro nos hemos marcado varios objetivos:

- Evaluar diferentes métodos que nos permitan actuar contra la *Legionella* en los puntos de suministro.
- Diseñar un dispositivo con el que podamos aplicar este método investigado en el punto de estudio para poder hacer ensayos.
- Realizar pruebas y analíticas en el elemento terminal para comprobar si la teoría se cumple en la realidad, de forma que entre ambos se ratifiquen.

1.4. Conceptos básicos sobre *Legionella*

La legionelosis es una enfermedad relativamente nueva. Solamente desde hace un poco más de una década se le está prestando una mayor atención a la problemática de la *Legionella*. Este seguimiento y aumento en el control de la bacteria se debe a la mejora en los sistemas de detección, confirmándose que son muchos los casos detectados de patologías leves, graves, incluso muertes, generadas por legionelosis.

A pesar de todos los esfuerzos en la prevención de la enfermedad, el hecho de que la legionelosis se asocie habitualmente a brotes comunitarios; frecuentemente relacionados con torres de refrigeración, agua caliente sanitaria, jacuzzis, fuentes ornamentales, nebulizaciones, etc., ha proporcionado a esta enfermedad una elevada repercusión mediática, lo cual ha generado en determinados casos publicados, una gran alarma social.

Si echamos la vista atrás y buscamos su origen, la *Legionella* fue descubierta hace tan sólo 39 años. Esta denominación, *Legionella pneumophila*, fue dada en honor al primer caso documentado por un brote de esta bacteria. En julio de 1976, en el Hotel Bellevue-Srtatford de Filadelfia, se detectó un contagio por neumonía severa de etiología desconocida. Los 221 afectados eran asistentes a una convención de veteranos excombatientes norteamericanos (American Legion Convention). Un 85% de ellos se recuperó y 34 legionarios fallecieron a lo 4 días del contagio. (Fraser et al., 1977).

La enfermedad se denominó legionelosis y fueron los investigadores del Center for Disease Control (CDC) de Atlanta quienes la definieron completamente, caracterizando al agente infeccioso como una bacteria Gram negativa aeróbica que denominaron *Legionella pneumophila* (Feeley et al., 1979).

En la época actual, la modernización de las instalaciones de climatización y agua caliente en los edificios en busca de un mayor confort los ha convertido en focos amplificadores de la bacteria acercándola todavía más a la sociedad. Esto se contrarresta con los sistemas existentes para la prevención y control de *Legionella*, así como la mejora en medios para su detección; buscando minimizar en lo posible estos riesgos. Iniciada en 1976, poco a poco fueron aumentando los estudios y los diferentes métodos para controlarla, constatado el riesgo patente que tiene en el día a día de la sociedad.

Debido a esto, en España se incluyó a la infección causada por *Legionella* dentro de las enfermedades de declaración obligatoria (EDO)³ en 1996, añadiéndola al registro de éstas que se creó con el Real Decreto 2210/95 de 28 Diciembre (BOE de 24 de Enero). En julio de 2001 aparece el Real Decreto 909/2001 por el que se establecen los primeros criterios higiénico-sanitarios para la prevención y control de la legionelosis. Seguidamente, se fue legislando cada vez con mayor especificidad sobre el tratamiento del agua potable (R.D. 140/2003 de 07 de Febrero (BOE 45 de 21 de Febrero) y posteriormente una normativa revisada, específica y exclusiva para establecer los criterios higienico-sanitarios en la prevención y el control de la legionelosis (R.D. 865/003 de 4 de Julio (BOE 171 de 18 de Julio). En éste último, se aprecia que los esfuerzos donde mayor hincapié se hace para el control de esta bacteria, se basan en la adopción de medidas preventivas y correctivas basadas en tratamientos a aplicar en las instalaciones de distribución de agua.

Siguiendo con esta inquietud documentada en el R.D. 865/2003, así como por la criticidad del problema que genera tanto a responsables de edificios con instalaciones de riesgo como a usuarios, este tema nos ha llevado a indagar en uno de los campos de la vida de la bacteria para buscar un sistema que permita eliminarla o al menos, evitar su proliferación disponiendo de instalaciones más seguras.

Por lo tanto, este trabajo fin de máster (TFM) tiene como principal propósito de estudio investigar en una de las instalaciones donde la proliferación de la *Legionella* está catalogada como instalaciones de alto riesgo durante todo el año; la instalación de agua de consumo a punto terminal.

“Las fuentes de infección que con mayor frecuencia se han relacionado con brotes de legionelosis han sido los sistemas de refrigeración hídrica, los circuitos de agua caliente sanitaria y las bañeras de agua agitada por aire.” (Jimenez, A. et al., 2013)

Para ello, se ha realizado un prototipo con el que hemos estudiado cómo se comporta la bacteria cuando le alteramos uno de sus puntos principales de vida y reproducción: el agua.

Este trabajo se ha dividido en varios capítulos que van desde la investigación acerca de la bacteria y su reproducción en el Capítulo I; a su desarrollo en un contexto determinado como son las instalaciones de agua de consumo en centros hospitalarios y su normativa aplicada, en el Capítulo II. Se ha elegido el estudio en este tipo de instalaciones porque la tienen la mayoría de centros de uso público, y en concreto los sanitarios, cuya importancia y peligrosidad es mayor por la gran afluencia de usuarios con cuadros médicos críticos y con bajas defensas en gran parte de los casos.

Comentados estos puntos, en el Capítulo III presentaremos la propuesta, y prototipo realizado de TFM. En éste explicaremos con detalle la problemática que tienen determinados tramos de tuberías pudiendo albergar cantidades de agua con *Legionella*; así como las posibilidades que tenemos de prevenirlo con el dispositivo que hemos desarrollado.

³ Información disponible en la web del Ministerio de Salud. VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE LA LEGIONELOSIS EN ESPAÑA, capítulo 3.

https://www.msssi.gob.es/ciudadanos/saludAmbLaboral/docs/vigilancia_Legionella.pdf

Para validar este proyecto definiremos una serie de ensayos los cuales se realizarán en un laboratorio⁴ especializado y certificado en la detección de *Legionella*. Finalizando así con el Capítulo IV, donde reflexionaremos sobre los resultados obtenidos, y con la información de capítulos anteriores, mostraremos nuestras conclusiones de este trabajo de investigación así como las posibles líneas futuras de valor añadido, buscando sin duda, una continuidad a esta iniciativa de investigación.

1.5. Ecología, etiología y biología de la bacteria

Se describe a la *Legionella* como un microorganismo que puede sobrevivir en agua y barro (Krech et al., 1980) siendo una bacteria muy ubicua. Su nicho natural son las aguas superficiales de lagos, ríos, estanques, etc. pudiéndola encontrar de forma natural formando parte de su flora bacteriana.

Desde estos reservorios naturales, y por sus características, esta bacteria ambiental puede colonizar los sistemas de abastecimiento de agua de las ciudades, y a través de la red de distribución de tuberías y otros conductos por los que circule agua, incorporarse a los sistemas de agua sanitaria (fría o caliente) u otros sistemas que requieren de agua para su funcionamiento, como torres de refrigeración, condensadores evaporativos, fuentes ornamentales, etc. siendo así fuente de contagio. (Ausina et al., 2006)

Pertenece a la familia *Legionellaceae* y está constituida por un único género bacteriano, *Legionella*, de la que se conocen 53 especies y 70 serogrupos (Jamilloux et al., 2012). De entre ellas, las que generan infecciones respiratorias en los seres humanos son principalmente la *L. pneumophila* con 15 serogrupos, *L. mirdadei*, *L. bozemanii* con 2 serogrupos, *L. dumoffii* y *L. longbeachae* también con 2 serogrupos; siendo la *L. pneumophila* la de mayor amplitud. La *L. pneumophila* está presente en el 90% de los casos detectados y, siendo los serogrupos más activos, principalmente el 1, 4 y 6, seguida de lejos por la *L. mirdadei*. Su denominación “*pneumophila*” proviene del vocablo griego pneumo (pulmón) y philos (amante), aludiendo a las enfermedades respiratorias en las que deriva esta bacteria “amante del pulmón”. (García-Núñez et al., 2007)

Microbiológicamente hablando, es una bacteria aeróbica Gram negativa no esporulada, generalmente con forma de bacilo que oscila entre 0,3 y 0,9 μm de ancho, y de 1,5 a 5 μm de longitud (Wong et al., 1979). Sus colonias se tiñen tenuemente con la coloración de Gram y son móviles por la presencia de uno o más flagelos polares o subpolares. Una característica biológica de esta bacteria es su capacidad de crecer intracelularmente en protozoos y en macrófagos humanos sin ser reconocida como agente extraño ya que se rodea de orgánulos propios de la célula, en cuyo interior se multiplica, y no es atacada por la misma (Fig.1). La posibilidad de multiplicación intracelular la protege contra la acción de los antibióticos y desinfectantes, de forma que sólo responde a antibióticos capaces de penetrar en las células (Allen S., 2008).

⁴ Nilsson Laboratorios. Polígono Centrovía, C/Uruguay. La Muela (Zaragoza)
<http://www.nilssonlaboratorios.com>

Su proliferación masiva aumenta el riesgo de infección, persistencia en la red, en la biocapa y la propagación de la infección. Esta particularidad les confiere una gran resistencia en su hábitat natural, se multiplican en el interior de diversos protozoos de vida libre (5 géneros de amebas) y en el medio libre se encuentran formando parte de complejas biocapas o biofilms microbianos. La presencia de amebas en determinados ambientes e instalaciones es un mecanismo de supervivencia de la *Legionella* en condiciones ambientales desfavorables, lo que hace más difícil su eliminación.

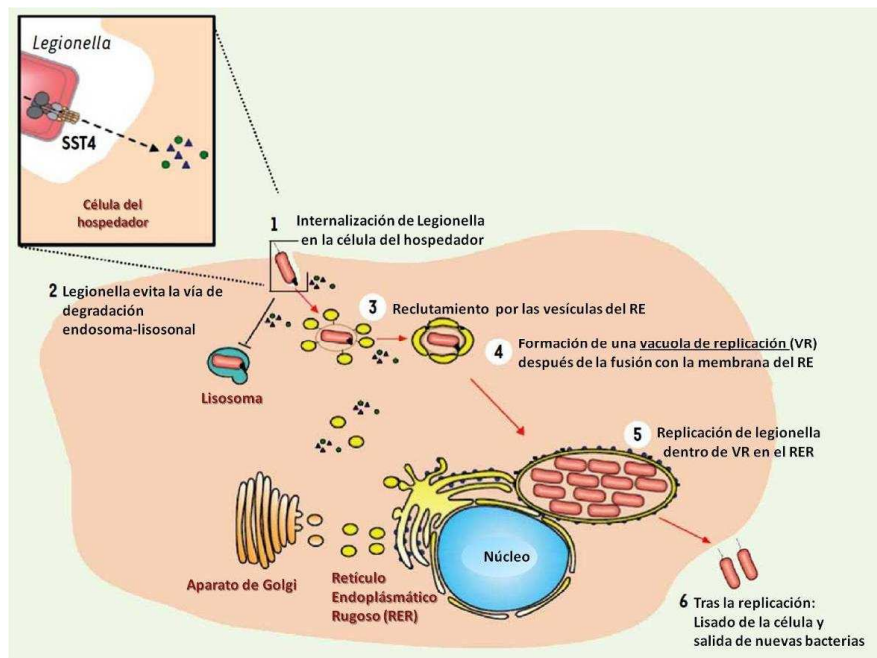


Figura 1. Tráfico intracelular de *Legionella* en una célula eucariota. (1) Después de ser fagocitada; (2) *Legionella* escapa a la unión endosoma-lisosoma; (3 y 4) reclutamiento de vesículas del retículo endoplásmico (RE); (5) inicio de una fase de multiplicación autónoma en el interior de una vacuola de replicación que crea la propia *Legionella* ayudada por el RE rugoso (RER); (6) se induce la lisis de la célula huésped para infectar células vecinas. (Hubbert et al., 2010)

Conocida su morfología vamos a continuar analizando las características del entorno en el que se va a reproducir.

1.6. Desarrollo y proliferación de *Legionella*

En general, en su medio natural, la bacteria se encuentra en bajas concentraciones, pero en número suficiente para contaminar circuitos de agua artificiales, en los cuales encuentra condiciones favorables para su multiplicación y diseminación. *Legionella* es un microorganismo aeróbico estricto, necesita oxígeno para su supervivencia (concentración mayor a 2,2 mg/L) y en general es poco activo. Como se detalla en la Tabla 1 es una bacteria capaz de sobrevivir en un amplio intervalo de condiciones físico-químicas, multiplicándose entre 20 °C y 50 °C, a partir de 50 °C sobrevive sin multiplicarse y con 70°C se elimina y desinfecta la instalación; siendo su temperatura óptima de crecimiento de 35 °C a 46 °C. (Seguí et al., 2010)

Tabla 1. Condiciones favorables para la proliferación de *Legionella*

Temperatura	Rango generalmente entre 25 y 45°C Mayor proliferación entre 35 y 46°C
Estancamiento de agua	Existencia zonas muertas, baja velocidad de circulación
Calidad del agua	Presencia de nutrientes, turbidez, depósito de sólidos en suspensión, conductividad, , etc.
Tipo de superficie en contacto con agua	Tipo de material (celulosa, madera, etc.), rugosidad, depósitos cálcicos, corrosión.
Depósitos biológicos (biocapa)	Protozoos, algas, bacterias

En la actualidad todavía no existe un conocimiento completo de la patogenia de esta bacteria y de cómo causa exactamente la enfermedad; de ahí que su erradicación es todavía muy difícil a pesar de las medidas de prevención y control normalizadas. (Gómez-Lus et al., 2013)

Una vez llegado a este punto, nos preguntamos ¿cómo se transmite la bacteria hasta el interior del organismo desde donde causa la enfermedad?

1.7. Mecanismos de transmisión

La transmisión de la infección se realiza por vía aérea mediante inhalación de aerosoles o gotitas respirables (<5µm) que contengan *Legionella*, así como por microaspiración de agua, contaminada entrando en ambos casos por vías del aparato respiratorio. La virulencia de la cepa, la cantidad de bacilos inoculados o microaspirados y las características del hospedador serán los factores principales para el desarrollo de la enfermedad. No se transmite con la ingesta de agua o alimentos ni por contacto persona a persona. (Benito et al., 2003)

La enfermedad no se produce cuando el inóculo es muy bajo y si el sistema inmune funciona de manera correcta. Por lo tanto para que se produzca la infección en el ser humano existen varios factores que son necesarios o, por lo menos aumentan la probabilidad de infección sintomática:

- presencia de cepas de *Legionella* virulentas en fuente ambiental
- entrada del microorganismo a la instalación generadora de aerosoles por cualquier medio.
- multiplicación del microorganismo en agua hasta alcanzar un número suficiente para considerarse riesgo
- mecanismo eficiente para diseminación de bacterias desde el medio acuoso en el que está hacia los seres humanos. Suele ser por dispersión al aire en forma de aerosol desde el sistema infectado.
- exposición de individuos con los mecanismos de defensa poco eficaces contra este microorganismo, siendo susceptibles a verse afectados por estos aerosoles que contienen cepas de *Legionella*.

En general, las personas que padecen legionelosis son de edad media 55 años o superior, aunque podría darse a cualquier edad (incluso en niños), dependiendo de las concentraciones, virulencia de la cepa, etc.

También se ha observado que en los pacientes inmunodeprimidos o en pacientes que han recibido trasplantes o en pacientes que requieren hemodiálisis, es una causa muy importante de mortalidad. (Allen S., 2008).

En la Figura 2 se resumen los casos de legionelosis⁵ en España declarados anualmente a través del procedimiento EDO.

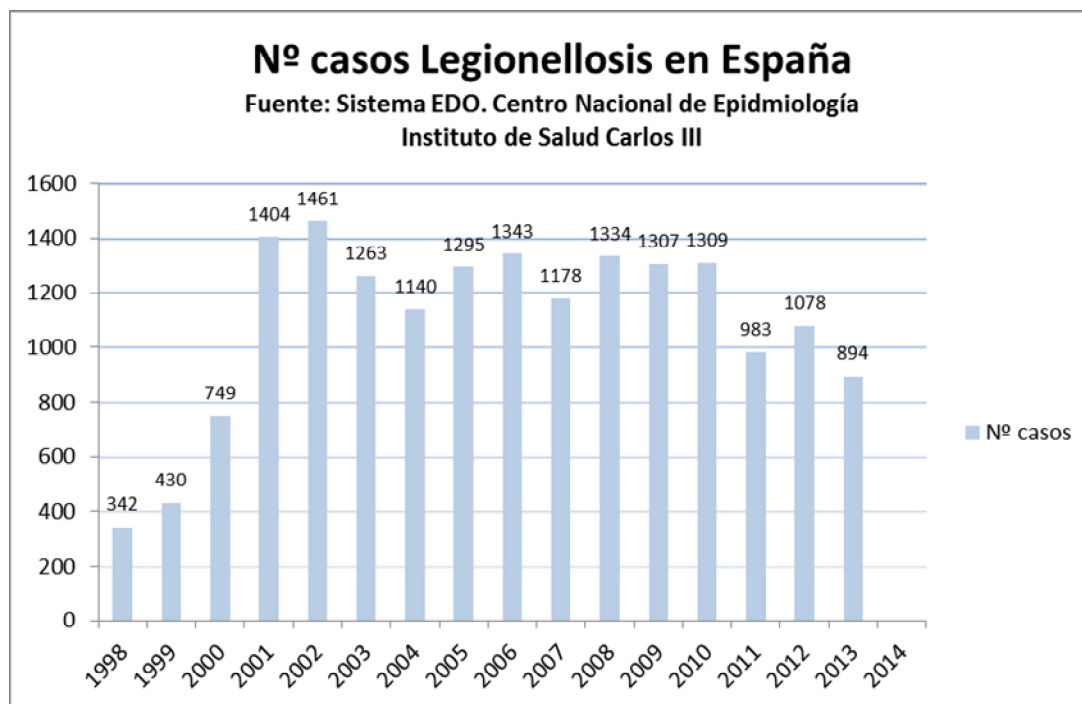


Figura 2. Nº casos *Legionella* declarados en España. Fuente: EDO CNE Carlos III

Como se ha indicado en los casos de pacientes con una salud comprometida, puede existir mayor riesgo de verse afectados. Este aumento tan importante en lo que a probabilidad de padecer la enfermedad se refiere, hace más significativo nuestro planteamiento del TFM respecto a investigar una forma que evite que la *Legionella* afecte a la salud de las personas. A continuación definiremos los síntomas que presenta el organismo infectado.

1.8. Sintomatología en el ser humano

En el organismo de un individuo, la *Legionella* en vez de ser destruida por los macrófagos, se reproduce en ellos en el interior de vacuolas fagocíticas, creciendo hasta romper el macrófago y liberarse al exterior para repetir el ciclo (Fig.1).

Por tanto, el cuadro clínico puede ser variado, desde formas asintomáticas (coincidiendo con los primeros estadios de multiplicación) hasta una neumonía grave con fallo multiorgánico, cuando la proliferación de la bacteria es masiva. Aun así, dentro de todas las afecciones, las dos más comunes son las referidas en la Tabla 2 (Bartram 2007).

⁵ Información disponible en la web

<http://www.spmcontroler.es/03002063/Prevencion-y-Control-Legionella.htm>

Tabla 2. Principales características de Neumonía por *Legionella* y Fiebre de Pontiac.

Características	Neumonía por <i>Legionella</i>	Fiebre de Pontiac
Periodo de incubación	2-10 días, nunca más de 20 días	5h-3 días (24-48h normalmente)
Duración	varias semanas	2-5 días
Mortalidad	Variable según estado de salud En pacientes de hospital puede alcanzar hasta 40-80%	No genera mortalidad
Ratio de afecciones	0.1% – 5% población general 0.4% - 14% en hospitales	Superior al 95%
Síntomas	<ul style="list-style-type: none"> - Pérdida de fuerza - Astenia - Tos seca - Fiebre alta - Escalofríos - Expectoraciones con sangre - Dolor muscular - Dolor pectoral - Dificultad para respirar - Diarrea (25-50% casos) - Náuseas y vómitos (10-30%) - Fallo renal - Delirio y alteraciones en sistema nervioso 	<ul style="list-style-type: none"> - Afección gripal (moderada a severa) - Pérdida de fuerza - Cansancio - Astenia - Fiebre alta - Escalofríos - Dolor de cabeza - Dolor muscular - Dolor en articulaciones - Diarrea - Náuseas y vómitos - Dificultad para respirar - Tos seca

La enfermedad más letal producida por la *Legionella* es un cuadro clínico de neumonía, el cual puede ir desde una neumonía clásica hasta una atípica con múltiples afecciones. Afecta a órganos como riñón, hígado, tracto gastrointestinal y sistema nervioso y presenta síntomas principales como elevada fiebre, tos, dolor muscular, escalofríos, cefaleas, dolor torácico, esputos, diarrea y alteración del estado de conciencia. Su período de incubación es de 2 a 15 días y su gravedad clínica es muy variable, presentando una incidencia del 1-5% y estando su letalidad media entre el 40-80% en condiciones de salud desfavorables.

Por otro lado la Fiebre de Pontiac (o síndrome global agudo autolimitado) se muestra como un cuadro clínico febril, con dolores articulares y musculares, afección del estado general, tos, dolor torácico, diarrea y confusión. Su período de incubación es de 2 a 5 días, presentando una incidencia del 95%.

La población en general, ante infecciones por *Legionella*, suele verse afectada por una sintomatología de fiebre de Pontiac, quedando la afección de Neumonía por *Legionella* mayoritariamente para personas que cumplen los siguientes factores de riesgo elevado:

- Estar bajo tratamiento inmunodepresor (Bennett et al., 2014:368)
- Estar en terapia anti-rechazo en casos de trasplante de órganos como riñón, corazón, hígado o pulmón (Gudiol et al., 2009)
- Presentar una patología de base como: diabetes, quimioterapia, neoplasias, insuficiencia renal terminal (Dominguez et al., 2009; Berrington and Hawn, 2013).

Además de estos factores, existen otros que son considerados como riesgo moderado, algunos de los cuales son por desarrollo natural y otros serían opcionales según lo cumplan o no los pacientes (Berrington and Hawn, 2013):

- Ser mayor de 65 años
- Ser fumador
- Padecer enfermedad pulmonar destructiva crónica (EPOC)
- Padecer insuficiencia cardíaca
- Alcoholismo
- Ser varón

Debido al amplio espectro clínico y a la morbimortalidad grave de la enfermedad de los legionarios, cuando se presentan los síntomas indicados, se requieren técnicas de diagnóstico de laboratorio rápido y preciso. En caso de sospecha clínica de legionelosis, hay que realizar toma de muestras de las vías aéreas bajas (esputo por expectoración, material orgánico mediante broncoscopio, aspirado transtraqueal, aspirados con aguja de líquido pleural, etc.), a continuación se realizarán una serie de pruebas diagnósticas que permitan aislar y detectar la bacteria *Legionella* por diferentes métodos (Allen, 2008) como:

- Aislamiento de la bacteria por cultivo
- Serología (por inmunofluorescencia directa (IFD) o por detección del antígeno específico en orina (KHOLER)
- Técnicas moleculares como PCR

Realizados los análisis y siendo positiva la infección, se diagnosticará el tipo de naturaleza intracelular del patógeno; así conocida la bacteria y el serogrupo, se diagnosticará el tratamiento antibiótico más eficaz y rápido.

Una vez diagnosticado y tipificado el microorganismo hay que prevenir que se extienda y siga infectando, para ello lo principal es la prevención y uno de estos factores para poder llegar a controlar esta bacteria, es conocer el origen de la fuente de contagio. Para ello habrá que muestrear los lugares donde se puede reproducir con mayor facilidad la bacteria y así poder limitarlos.

1.9.Instalaciones y zonas de riesgo ante *Legionella*

Todas las instalaciones con agua son una fuente de nutrientes para la *Legionella*, por lo que cuando esta bacteria coloniza una instalación pueden desarrollarse de manera muy rápida en su interior; sobre todo en aquellas zonas donde se encuentre una mayor acumulación de sedimentos. Las zonas de estancamiento, dentro de estas instalaciones, son donde se depositan con más facilidad lodos, materia orgánica, material de corrosión y amebas, favoreciendo la formación de una biocapa. (Forbes, 2009)

Esta biocapa, junto con una temperatura propicia, explica la multiplicación de *Legionella* hasta concentraciones infecciosas para el ser humano.

Generalmente, la *Legionella* se encuentra en estado latente a temperaturas inferiores a 20 °C; de 20 °C a 50 °C se multiplica activamente, y a partir de 50 °C aunque permanece viva no se multiplica; por encima de 70 °C muere (Seguí R., et al, 2010).

Por tanto, las diferentes instalaciones con paso de agua se pueden catalogar en varios grupos atendiendo a las características propias de temperatura (T°) de trabajo o tipo de subproducto para el que se utiliza esta agua. Dependiendo de estas condiciones encontraremos mayor o menor probabilidad de proliferación así como de dispersión de *Legionella* por aerosol (Fig.3).

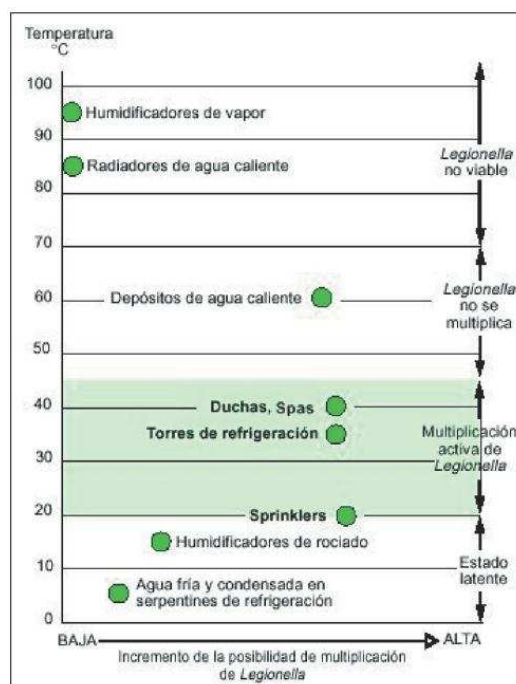


Figura 3. Desarrollo de *Legionella* en función de la temperatura

Debido a esto, la reglamentación vigente en la actualidad hace una distinción del riesgo de proliferación atendiendo al tipo de instalación de agua. De esta forma, las instalaciones catalogadas en el grupo correspondiente ya son conocedoras del tipo de tratamientos, controles y desinfecciones que tienen que realizarse en ellas. A continuación, en la tabla 2.3, se detalla la clasificación de instalaciones por su mayor o menor riesgo a albergar, multiplicar y dispersar la bacteria. (R.D. 865/2003:2) (BOE num 171:28056-28057)

Tabla 3. Tipos de instalaciones según la probabilidad de dispersión de *Legionella*

Instalaciones con mayor probabilidad de proliferación y dispersión de <i>Legionella</i>	Instalaciones con menor probabilidad de proliferación y dispersión de <i>Legionella</i>
<ul style="list-style-type: none"> - Torres de refrigeración - Condensadores evaporativos - Sistemas ACS con acumulador y retorno - Sistemas de agua climatizada con agitación constante y recirculación a través de chorros de alta velocidad o a la inyección del aire - Centrales humidificadoras industriales - Instalaciones de riesgo en terapia respiratoria como respiradores y nebulizadores. 	<ul style="list-style-type: none"> - Sistemas de instalación interior de AFS (tuberías, depósitos aljibes) cisternas o depósitos móviles y ACS sin retorno. - Equipos de enfriamiento evaporativo que pulvericen agua - Humectadores - Fuentes ornamentales - Riego por aspersión - Sistemas de agua contra incendios - Elementos refrigeración por aerosolización al aire libre - Otros aparatos que acumulen agua y puedan producir aerosoles

Vista la clasificación de las instalaciones, vamos a profundizar en una de las catalogadas como de alto riesgo, y que además, como se ha indicado en la Tabla 2, genera el mayor número de fallecimientos en centros hospitalarios.

2. PROBLEMÁTICA EXISTENTE EN EDIFICIOS DE PÚBLICA CONCURRENCIA COMO HOSPITALES Y NORMATIVA VIGENTE APLICADA

2.1. Aspectos básicos de *Legionella*

Para focalizar el trabajo a realizar y poder investigar en uno de los puntos más críticos y comunes que tienen todas las instalaciones de alto riesgo basadas en recirculación de agua caliente, se ha trabajado sobre el modelo de un Hospital. De esta forma, hemos resumido la problemática existente en estos centros así como las posibles soluciones correctivas y preventivas que se pueden aplicar.

“La fuente habitual de Legionella en los pacientes hospitalizados es el agua (principalmente el sistema de agua caliente), sobre todo en duchas o baños.” (Allen S.,2008)

En los apartados anteriores hemos indicado las características principales de la bacteria *Legionella* así como sus rangos de crecimiento, multiplicación exponencial, estado latente o extinción; información importante para comprender la situación que se da en los hospitales a la hora de valorar este tipo de instalaciones.

2.2. Instalaciones de riesgo en hospitales

Todos los hospitales, al igual que cualquier otro edificio de pública concurrencia con instalaciones de riesgo, están condicionados a cumplir la normativa vigente de criterios higiénico-sanitarios para la prevención y control de la legionelosis. Esta normativa se adjunta a este TFM en el Anexo I

De entre todas las instalaciones de agua susceptibles de ser colonizadas por *Legionella* en un Hospital y, basándonos en la normativa que aplica (R.D. 865/2003), son consideradas como instalaciones potenciales de riesgo de infección (ver Anexo IV):

- Torres de refrigeración con enfriamiento por evaporación (en extinción)
- Instalación de Agua Caliente Sanitaria (ACS)
- Instalación de Agua Fría Sanitaria (AFS)
- Humectadores y Pulverizadores
- Otros: fuentes ornamentales, riego por aspersión, agua contra incendios, etc.

Las torres de refrigeración y las instalaciones de agua sanitaria son los sistemas que mayor riesgo presentan. Debido a la gran cantidad de positivos en *Legionella* que generan, las torres de refrigeración evaporativas se están sustituyendo progresivamente por condensadores de evaporación pasando a ser un riesgo ya en vías de solución. Del resto de instalaciones que pueden tener los hospitales (humectadores, pulverizadores, fuentes ornamentales, riego por aspersión, etc.) al estar catalogados dentro de instalaciones de bajo riesgo, no vamos a adentrarnos más y únicamente vamos a continuar con la instalación de agua sanitaria (fría y caliente).

Aunque la normativa cada vez es más exigente en cuanto a los medios de prevención y control de la legionelosis, ninguno de los sistemas que dispone actualmente el mercado puede considerarse como efectivo al 100%, y no se consigue erradicar por completo este tipo de bacteria, ya que para poder serlo el método de erradicación, debería de aplicarse en el punto terminal.

Vamos a ver detalladamente este tipo de instalación para poder enumerar los puntos débiles que tiene ante los tratamientos preventivos actuales.

2.3. Descripción de instalaciones de agua sanitaria hospitalaria

En la mayoría de centros de pública concurrencia como hoteles, residencias, universidades, gimnasios, cárceles, y sobre todo en hospitales, se suele disponer de unas instalaciones de distribución de agua sanitaria (caliente y fría) con una disposición similar.

Por nuestra amplia experiencia en centros hospitalarios, conocemos las instalaciones de muchos centros y en todos ellos el funcionamiento general que se dispone en estas instalaciones para conseguir el agua deseada lo resumimos en la Tabla 4.

Tabla 4. Descripción del diferente funcionamiento de circuitos AFS y ACS

Tipo de agua	Funcionamiento general de estas instalaciones
Circuito AFS	<ul style="list-style-type: none"> - Recepción de agua de red pública - Tratamiento por filtrado: filtro de gravas, descalcificación, reducción del pH con H_2SO_4 y posterior cloración con NaClO - Almacenamiento en aljibe hasta necesidad. - Control en continuo de concentración de cloro libre en aljibe para garantizar su potabilidad y poder desinfectante. - Suministro de agua al centro, directamente del aljibe. - Renovación por llenado del agua del aljibe según consumo. - No dispone de recirculación en tuberías del edificio. - Estancamiento del agua en cañerías si no hay consumo.
Circuito ACS	<ul style="list-style-type: none"> - Aporte desde aljibe AFS ya tratada al circuito de ACS - Mezcla con ACS actual al entrar en circuito de ACS - Adición de producto pasivante que evita daño a tuberías por disociación del cloro por altas T°. - Recircular ACS por instalación principal constantemente a T° determinada. ($>50^\circ C$) - Almacenamiento en serie en acumuladores dispuestos en serie en circuito de ACS. - Permite disponer grandes cantidades de ACS a T° elevada en caso de gran demanda. - Si no hay consumo funciona como circuito cerrado, manteniendo agua de tuberías principales en movimiento a una elevada T° donde <i>Legionella</i> no se reproduzca.

Principalmente en los hospitales, el control de los parámetros del agua almacenada y distribuida es muy exigente debido a que los usuarios de estas instalaciones generalmente suelen tener una salud débil o tratamientos que debilitan mucho su sistema inmunológico. Es por ello que ambos circuitos, el de agua fría y el de caliente son considerados con la misma importancia ante posibles focos de proliferación y distribución de *Legionella* (Fig. 4).

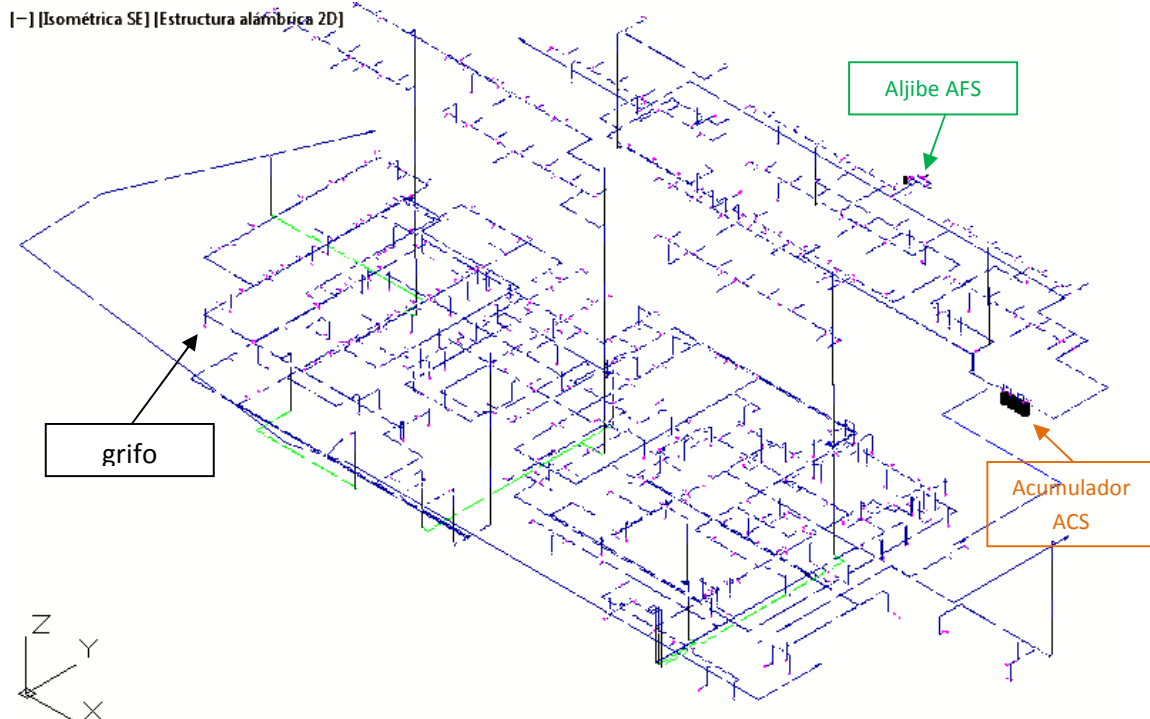


Figura 4. Plano isométrico distribución de agua fría en hospital de 70.000 m² hasta grifo

Es por ello que estas instalaciones están sometidas mensualmente a analíticas de obligatorio cumplimiento por parte de los titulares de la instalación. Deben ser realizados por laboratorios y/o servicios propios autorizados en el ROESB; así como disponer de mecanismos de autoevaluación y autocomparación con otros laboratorios autorizados.

Conocidas ya las instalaciones que vamos a evaluar, veremos a continuación el procedimiento que se realiza en el agua sanitaria de hospitales. Estos trabajos de mantenimiento son necesarios para garantizar la calidad del agua suministrada.

2.4. Prevención y corrección de *Legionella* en agua sanitaria de hospitales

En las instalaciones de agua sanitaria de los hospitales puede encontrarse la bacteria de *Legionella*. En estos casos, dependiendo de dónde se encuentre la colonia de la bacteria, podrá desarrollarse y reproducirse mejor o peor según los nutrientes y la temperatura de las diferentes zonas en que esté alojada.

Para evitarlo, existen multitud de sistemas de prevención que, hasta ahora, no han podido garantizar su efectividad completa. En gran parte, el problema reside en que el tratamiento preventivo se realiza en el inicio o primeras fases de la distribución de agua, pudiendo contaminarse posteriormente en su recorrido de distribución hasta el punto terminal (grifo o ducha).

Dentro de las medidas preventivas, el RD 865/2003 solicita unas características principales, parámetros y procedimientos a cumplir para toda instalación de AS con el fin de prevenir la proliferación de *Legionella* (Tabla 5).

Tabla 5. Medidas preventivas para instalaciones de AS según RD 865/2003

Medidas preventivas
<ul style="list-style-type: none"> - Evitar estancamiento agua - Garantizar circulación agua - Disponer puntos suficientes para vaciado completo - Existir sistemas filtración según UNE-EN 13443-1 para 80µm-150µm. - Tª agua ACF lo más baja posible (<20°C) - Tª agua ACS por encima de 50°C en punto más lejano - Instalación permitirá trabajar a Tª>70°C. - Asegurar Tª homogénea ACS en acumuladores - Disponer válvulas antirretorno según UNE-EN 1717 - Programa mantenimiento higiénico-sanitario personalizado con: planos, componentes, registro modificaciones, puntos críticos, etc. - Realizar tratamiento agua (productos, dosis, procedimientos, controles físicos, químicos, biológicos, métodos medición, etc.) - Realizar programas limpieza y desinfección en instalación anual (Anexo 3.B.a,b,c) - Libro de vida de instalación AS con incidencias, acciones y resultados

Como sistemas disponibles en la actualidad para prevenir la *Legionella* en los sistemas de distribución de agua potable, encontramos:

- Cloración
- Ozonización
- Peróxido de hidrógeno
- Iones cobre o plata
- Ultrapasteurización del agua (UHT)
- Radiaciones Ultravioletas (UV)
- Filtros en puntos terminales (para tratamientos específicos; puntuales y caros)

En el Anexo II se adjuntan detalle del procedimiento de cada uno de estos sistemas.

En el mismo RD 865/2003 se recogen los procedimientos a realizar ante detección de *Legionella* en instalaciones. Dependiendo del número de unidades formadoras de colonias (ufc)/L que se obtengan, se aplicarán diferentes procesos con el fin de corregir y eliminar esta presencia. Suelen elegirse estos dos métodos para la desinfección, dependiendo si es agua fría o caliente. (Tablas 6 y 7)

Tabla 6. Medidas correctivas para instalaciones de AFS según RD 865/2003 (Ver Anexo IV)

Medidas correctivas - AFS
<p>Ante brote de legionelosis en AFS con tratamiento por hipercloración</p> <p>Realizar limpieza y desinfección en instalación según anexo 3.C.a.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Desinfectar red con cloro concentraciones de 15 mg/L de cloro libre - Tª <30°C y pH entre 7-8. - Realizar desinfección por 4 horas en aljibe y puntos terminales. - Finalizada desinfección neutralizar, vaciar, limpiar aljibes, aclarar y llenar con agua limpia. - Reclorar con 4-5 mg/L de cloro residual libre y mantener 12h. - Pasadas 12h, extraer agua por todos grifos y duchas por 5 minutos - Comprobar que sale en ellos 1-2 mg/L cloro. Mantener por 3 meses - Libro de vida de instalación AS con incidencias, acciones y resultados

Tabla 7. Medidas correctivas para instalaciones de ACS según RD 865/2003 (Ver Anexo IV)

Medidas correctivas - ACS
Ante brote de legionelosis en ACS con tratamiento por hipercloración
Realizar limpieza y desinfección en instalación según anexo 3.C.b.
- Vaciar acumuladores de ACS
- Limpiar a fondo paredes acumuladores y zonas críticas instalación
- Llenar y elevar Tª agua acumulador a 70°C o más durante 4h.
- Pasadas 4h, extraer agua por todos los grifos y duchas durante 10 minutos, secuencialmente.
- Comprobar que sale por ellos agua a Tª mínima de 60°C.
- Mantener por 3 meses Tª en grifos 55-60°C

Todos estos procesos y materiales tienen un elevado coste, que según se comporte la instalación, pueden suponer enormes importes y molestias.

2.5. Costes directos e indirectos de la *Legionella* en hospitales

Diariamente las instalaciones de agua requieren una serie de procedimientos para mantener la calidad del agua suministrada, los cuales implican tratamientos de filtrado, descalcificado, clorado, regulación de pH, adición de pasivantes, etc.

Las cantidades diarias de sal, cloro, ácido sulfúrico, aditivos, etc. que son necesarias para los tratamientos del agua, así como la utilización de recursos energéticos (gas, gasoil, electricidad...) y de mano de obra cualificada para todas las tareas implicadas, suponen un elevado gasto económico dentro del mantenimiento de las instalaciones.

Además de los costes periódicos en el mantenimiento normal de la instalación para poder suministrar un agua con los requisitos de calidad necesarios, y aunque se esté haciendo todo correctamente, puede ocurrir que se detecte un brote de *Legionella* en la instalación, en un punto terminal, etc.

Es ahí, donde siguiendo la normativa vigente, se requieren una serie de acciones que implican aumentar el consumo de agua cerca de un 200% del gasto diario de ese centro, un aumento considerable en la demanda energética en caso de realizarse sanitización por hipertermia, un aumento de la dosis de cloración en el aljibe tanto para hipercloración del circuito como para mantenimiento de la concentración de Cl⁻ con un máximo de 1'20 mg/L durante 3 meses.

Además de estos procesos, con cualquiera de los procedimientos realizados para la desinfección, el RD 865/2003 requiere la apertura de todos los puntos terminales de la instalación garantizando que sale por ellos el agua tratada y en la concentración/Tª indicada durante el tiempo previsto.

Esta cantidad de recursos materiales va de la mano de una cantidad considerable de horas de mano de obra del personal que requiere hacer todas esas tareas diarias, de contratos con laboratorios para realizar muestreos de la instalación y empresas que realizan las limpiezas y sanitizaciones en la instalación.

Si evaluamos que todo esto se realiza en un centro hospitalario con actividades clínicas, usuarios y pacientes que requieren del uso de las instalaciones durante las 24h del día, todos los días del año, se puede comenzar a vislumbrar la problemática añadida a sufrir un brote de *Legionella* (aunque no afecte directamente a personas).

2.6. Problemática de aplicación de normativa en Hospitales

Con la aplicación de la normativa en vigor respecto a la prevención y control de la *Legionella*, ya hemos comentado las actividades principales que requieren las instalaciones en caso de un brote. Además de esto, aunque no exista ningún problema en la instalación, anualmente es obligatorio realizar los tratamientos de desinfección. Dicho proceso debe realizarse en el 100% de puntos terminales de la instalación, afectando a zonas con actividad clínica 24h y otros servicios; lo cual genera grandes inconvenientes y altera el ritmo normal de un hospital.

Como hemos comentado en el apartado anterior, existen unos costes:

- Fijos: destinados a vigilancia, control, y tratamiento del agua e instalaciones para prevenir la *Legionella*:
 - H_2SO_4
 - NaClO
 - Pasivantes
 - Electricidad (bombas, sondas, etc.)
 - Gasoil (calderas)
 - Analíticas de cloro en puntos terminales (diario)
 - Agua
 - Mano de obra
 - Limpieza y sanitización completa de instalación (anual)
- Variables: según resultados de analíticas por recuento de unidades formadoras de colonias (ufc/L) de *Legionella*. En caso de que este dato, basándonos en la normativa, supere los valores máximos indicados se requerirá realizar la limpieza y desinfección de la instalación en cada una de las ocasiones que ocurra.
- Personales: los trabajos de limpieza y desinfección de las instalaciones de agua requieren de mucha coordinación con los servicios médicos; puesto que tanto las Tª de trabajo de la instalación como las concentraciones de cloro en el agua pueden alterar e incluso producir daños técnicos y personales.
 - Altas concentraciones de cloro en red afectarán a:
 - Radiología, en revelado de placas
 - Laboratorios, en muestreos y producción de sueros técnicos
 - Central de cocina, máquinas de café, etc.
 - Quirófanos, en lavado médico
 - Esterilización, de material clínico
 - Lavabos y duchas de pacientes y baños públicos
 - Lavandería
 - Elevadas Tª de ACS afectarán, principalmente por quemaduras, a:
 - Quirófanos, en lavado médico
 - Lavabos y duchas de pacientes y baños públicos
- Mediático: Además de las molestias y problemáticas que una limpieza y desinfección por brote de *Legionella* genera a los diferentes servicios médicos, usuarios, etc. se le añade la repercusión mediática de esta noticia tanto en lo social como en lo político, especialmente en la época de verano.

Todo lo anterior es motivo suficiente para seguir aplicando los tratamientos de agua actuales, pues aunque sepamos que su efectividad no es 100%, sí está contrastado que minimiza los casos. A día de hoy todavía existen muchas dudas sobre el comportamiento real de la bacteria por lo que la mortalidad sólo está controlada, pero no erradicada.

Después de 10 años de experiencias en hospitales: con positivos de *Legionella*., con brotes detectados., con productos y tratamientos de las instalaciones de todo tipo., y con muchas desinfecciones realizadas., nuestra mirada en este TFM enfoca la *Legionella* desde otro punto de vista.

Nuestro propósito con este trabajo es encontrar un nuevo sistema que disminuya el número de casos positivos de *Legionella*, reduzca las molestias a los usuarios y además facilite el control y la gestión de protocolos en el plan de mantenimiento higiénico-sanitario de las instalaciones. Su buen funcionamiento también permitirá reducir los brotes de *Legionella* y con ello los costes de limpiezas, productos, energía y mano de obra en limpiezas y desinfecciones; minimizando el desgaste y daño que sufren las instalaciones por el uso de elevadas concentraciones de cloro o por un exceso de calor.

El dispositivo que se presenta a continuación está enfocado a prevenir la proliferación de *Legionella* en puntos terminales y, por lo tanto, a disminuir estas molestias y problemas ante cada limpieza y desinfección. Con él también se pretende agilizar los tratamientos de desinfección en caso de que sea necesario, reduciendo las molestias y evitando sobrecostes de personal, además de un mayor control en todas las acciones realizadas.

3. MATERIALES Y MÉTODOS: DISPOSITIVO PARA PREVENIR LA PROLIFERACIÓN DE *LEGIONELLA* EN INSTALACIONES DE PUNTO TERMINAL

3.1. Detalle instalaciones hospitalarias estándar

Las instalaciones de distribución de agua de consumo humano en edificios de gran tamaño como hospitales siguen la misma línea de diseño que las de hoteles, balnearios, residencias de ancianos, polideportivos, etc. los cuales tienen en común el recurso de usar un circuito de retorno para el ACS y estar diseñadas como estructuras de distribución repetitivas.

Con el circuito de retorno se consigue el movimiento del agua dentro de la instalación central durante las 24h del día. Esto permite mejorar los niveles de confort de los usuarios para que al abrir los elementos terminales, rápidamente tengan agua caliente. También asegura que el agua de la instalación no se quede estancada y que la T^a de la red no descienda ante un periodo de tiempo sin demanda de ACS (ej. horario nocturno).

Este circuito de retorno debe estar dimensionado para que la T^a del agua que llega tras su recirculación no descienda de 50°C. Para ello, se requiere una producción térmica centralizada con circuito primario y circuito secundario (ACS), generalmente interconectados por un intercambiador de placas (IP) para la transferencia de energía térmica entre ambos fluidos (Fig.5).

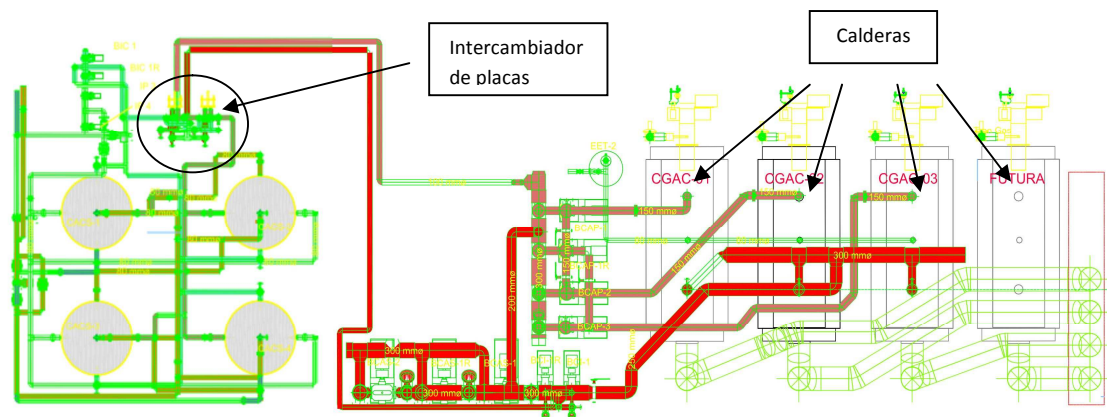


Figura 5. Central de producción térmica de ACS común. Fuente: Hospital El Carmen (Santiago de Chile)

Estos IP tienen como limitación técnica la T^a de ACS producida y el caudal de consumo que se demanda en cada instante. Esto hace que cuando la demanda es grande, la T^a de ACS baje. Para amortiguar este problema, se instalan los depósitos acumuladores de agua caliente, disponiendo de un reservorio suficiente para compensar estas situaciones.

Con el circuito de retorno se crea un volumen de agua que si no es mantenido a una temperatura y con una higiene adecuada, puede permitir la proliferación de bacterias como la *Legionella*.

Aun sabiendo que la *Legionella* muere por alta T^a , no es posible combatirla únicamente elevando la T^a del agua debido a que puede producir daños técnicos (precipitaciones de sales disueltas y corrosión en tuberías, calderas, etc. reduciendo la vida útil de las instalaciones); así como daños personales a usuarios (quemaduras principalmente).

Del mismo modo, el uso de productos químicos como el Cloro u otros desinfectantes, no pueden exceder de una concentración máxima para evitar efectos en la salud de los usuarios. Los materiales de fabricación de las instalaciones deben ser adecuados para el contacto continuo con estos productos, siendo capaces de resistir desinfecciones por hipertratamientos con estos productos y T^a .

Para hacernos más a la idea, veremos tanto la disposición como la problemática en un ejemplo real de un hospital de la Comunidad de Aragón.

3.2. Problemática generada por retornos

La distribución de ACS con circuito de retorno en edificios como hoteles, hospitales, residencias, etc. suele presentarse de tal forma que desde el punto terminal hasta la tubería principal que tiene T^a constante, existe una cantidad de agua estancada que sin consumo, queda inmóvil y se va enfriando con el tiempo hasta una T^a próxima a la ambiente (20-28°C según épocas). Esto provoca que durante un período de tiempo esté en la T^a de máxima reproducción de la bacteria (20-45°C) (Fig.6).

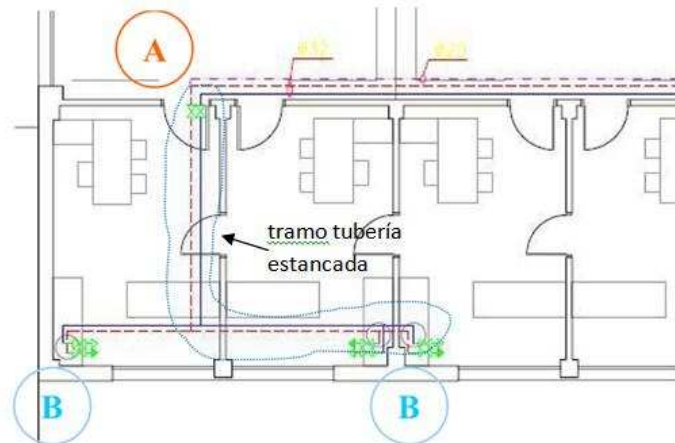


Figura 6. Distancia con agua desde final tubería ACS con retorno hasta el punto terminal.

Igualmente ocurre con la T^a del AFS la cual, aunque por el circuito esté circulando a 10°C , al estancarse ocurre lo mismo y se eleva la temperatura hasta estabilizarse en la T^a ambiente de la zona ($20\text{-}28^{\circ}\text{C}$ según épocas).

Este punto lo vamos a justificar termodinámicamente en el apartado siguiente.

3.3. Justificación T^a de AFS-ACS en T^a de reproducción *Legionella*

Basándonos en la ley de enfriamiento de Newton, cuando la diferencia de temperaturas entre un cuerpo y su medio ambiente no es demasiado grande, el calor transferido por unidad de tiempo, hacia el cuerpo o desde el cuerpo (por conducción, convección y radiación) es aproximadamente proporcional a la diferencia de temperatura entre el cuerpo y el medio externo. (Panatoyova, 1987)

Como podemos ver en la gráfica de la Fig. 7, una masa de agua estancada realiza intercambio de energía con el entorno próximo, tendiendo a igualarse a la T^a ambiente tras un tiempo determinado⁶.

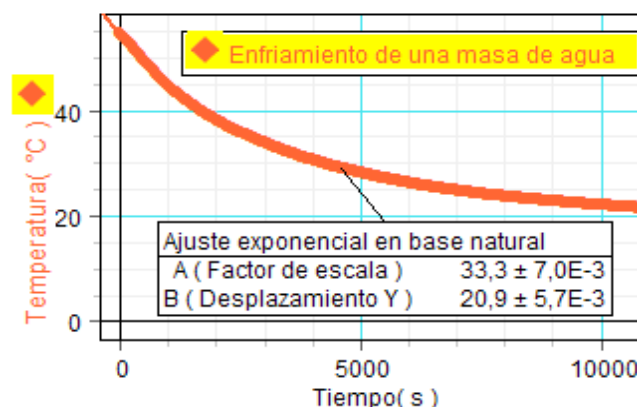


Figura 7. Gráfico de tendencia representativa de T^a del agua a T^a ambiente (20°C)

⁶ Más información en la página web

<http://www.iesleonardoalacant.es/Departamento-fisica/Experimentos-Modellus/Enfriamiento/Enfriamiento.html>

En este ejemplo se ha supuesto que el calor específico no cambia con la temperatura, manteniéndose aproximadamente constante en el intervalo de temperaturas en la que se realiza el experimento.

Siguiendo el modelo cinético-corpúscular de la materia, la temperatura de un cuerpo es proporcional a la energía cinética media de sus partículas.

Una consecuencia de esto es la evolución de la temperatura en los sistemas hacia un equilibrio térmico con los que les rodean, de tal forma que en los procesos de enfriamiento, se produce un intercambio de energía entre el ambiente y el agua que se enfría.

Por consiguiente la disminución de temperatura durante el proceso de enfriamiento no es lineal, puesto que su ritmo depende en cada instante de la diferencia entre la temperatura del objeto en ese instante y la final en el equilibrio. (Panatoyova, 1987)

Como resumen de este punto, podemos decir que cada punto terminal sin uso, sin aperturas periódicas, etc. es un tramo de agua en el que se aplica la teoría anterior, tendiendo a alcanzarse la temperatura de equilibrio en la T^a ambiente.

3.4. Principio fundamental de trabajo con el dispositivo

Llegados a este punto, y habiendo sido detalladas las características tanto de la *Legionella* como de las instalaciones en las que suele ser frecuente, hemos destinado la investigación de este TFM a un campo en el que existe escasa literatura, pero que con este estudio se pretende abrir una nueva línea de trabajo, la vida de la *Legionella* fuera de su medio de vida y reproducción.

Intentando obtener el mejor funcionamiento de la propuesta de mejora, hemos rediseñado ligeramente los sistemas de distribución de agua de consumo humano en edificios con producción de AS centralizada, acercando la tubería con circulación al punto terminal.

Para ello nos hemos basado en una de las claves que se indica en el capítulo de “Acciones en el diseño y montaje de las instalaciones” de la NTP 538 y cumpliendo siempre las normativas vigentes aplicables a este campo (RITE, RD865/03 y CTE)

“Con carácter general, las medidas preventivas irán encaminadas a impedir el desarrollo de la bacteria, modificando las condiciones de vida que le son favorables (nutrientes, agua, temperatura, etc.), y a reducir la exposición minimizando la generación de aerosoles” (NTP 538)

Es por ello que si deseamos modificar las condiciones de vida de la *Legionella* podemos actuar sobre:

- Nutrientes
- Temperatura
- Agua

De estos tres puntos, se considera muy difícil/imposible erradicar, en una instalación de agua de consumo humano, lo referente a:

- eliminar los nutrientes del agua
- mantener constante la T^a agua en puntos terminales por extrema dificultad-coste

Por el contrario, sí que es posible actuar sobre el tercer elemento; eliminando el agua de los tramos de tubería sin uso.

Si usamos un triángulo y en sus vértices marcamos los tres elementos básicos para la vida y reproducción de esta bacteria, nos dará el camino de trabajo del TFM:

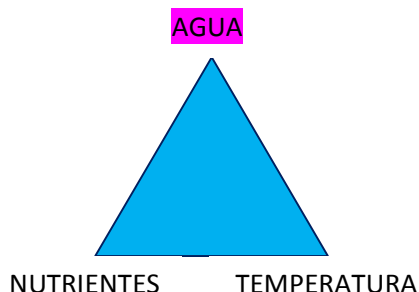


Figura 8. Triángulo de la vida de la *Legionella*

Basándonos en este vértice para el estudio del dispositivo de este TFM, hemos diseñado el prototipo y realizado simulaciones de funcionamiento con sus analíticas de contraste; siempre con el objetivo de solucionar el problema en el punto de servicio, en el punto terminal. Además el dispositivo y su sistema de software aportan nuevas aplicaciones y ventajas en cuanto a las posibilidades de la instalación, a su mantenimiento y a su control mediante aplicación de software personalizado.

3.5. Fundamentos de la propuesta

Nuestro principal objetivo de este TFM ha sido buscar cómo quitarle el agua a la instalación de tuberías finales de forma que, sin agua, no pueda existir *Legionella*. Este objetivo nos ha permitido enfocarnos en la instalación revisando el esquema general de las instalaciones actuales de cualquier centro de grandes dimensiones y uso público. En la mayoría de hospitales, hoteles, residencias, universidades, cárceles, etc. existen coincidencias en las instalaciones principales:

- Tramos desde la tubería de ACS (A) al punto terminal (B) >15mts sin recirculación
- Tramos finales de tubería ACS y tubería en general de AFS con agua acumulada sin movimiento si no hay consumo.
- Enfriamiento del ACS y calentamiento del AFS en zonas estancadas.

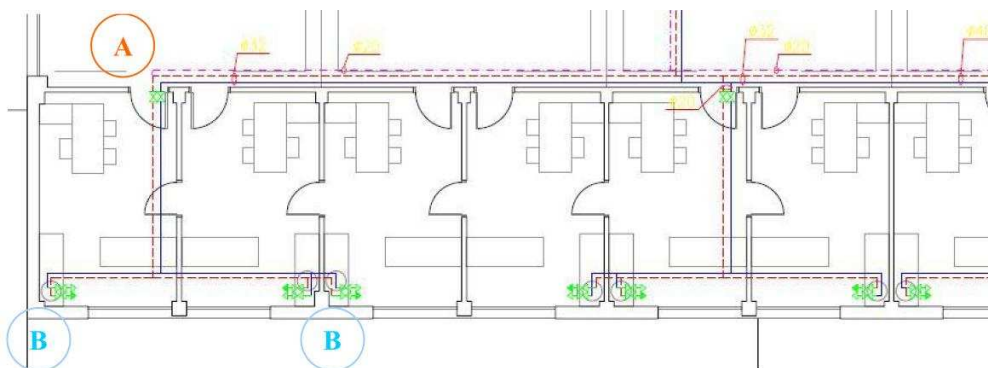


Figura 9. Modelo tipo de consultas actuales. Ej. Zona de consultas de un centro sanitario de Aragón

La Figura 9 muestra cómo desde el punto (A) hasta el (B) existe un tramo de tuberías que se queda con agua estancada mientras no tenga consumo. Esto es la disposición actual de la mayoría de centros, y como hemos explicado anteriormente (3.3.), uno de los motivos por los que el agua se encuentra a Tª de proliferación.

Evitar esto ha sido lo que nos hemos propuesto con este objetivo, basando nuestra investigación y su resultado de tal forma que el dispositivo diseñado consiga eliminar el agua del tramo de tubería final hasta el punto terminal.

Este fundamento que proponemos también lo anunció D. Iñaki Morcillo (ex presidente de la Asociación Técnica Española de Climatización y Refrigeración, ATECYR; y actualmente Director de Industria del Gobierno de Navarra) en un artículo en el Diario de Navarra en 2006 en el cual indicaba “..que si no hay agua no hay *Legionella*”. (Ver Anexo V)

Para ello usaremos un dispositivo de prevención de *Legionella* que realizará el control de apertura de punto terminal y una vez finalizado el consumo, facilitará el vaciado del agua de su tubería. Como mejora para una mayor eficacia del sistema en conjunto, se propone un ligero rediseño de la tubería de aporte para hacerla pasar lo más próximo a los puntos terminales.

Esto además de favorecer la eficacia del dispositivo, en cálculos globales reduce las distancias del agua sin movimiento hasta el punto terminal y elimina el agua de estas zonas estancadas. En todo momento se mantiene la misma configuración funcional de las consultas y en metros lineales de instalaciones, acaba siendo incluso más económico.

A continuación presentamos la misma configuración con la variante propuesta para las mismas instalaciones, pero con los dispositivos lo más próximos al punto terminal y la tubería con recirculación en la zona de conexión de este dispositivo (Fig. 10).

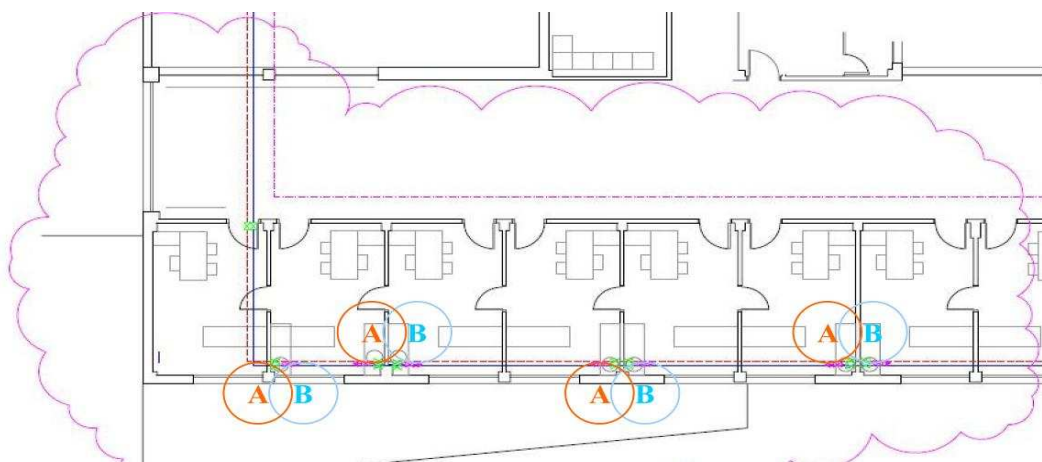


Figura 10. Modelo propuesto como mejora. Ej. Zona de consultas de un centro sanitario de Aragón

En los puntos indicados como (A) y (B) se colocará el dispositivo de regulación de apertura y purgado de agua de la tubería. Con este dispositivo, además de mejorar la prevención de *Legionella* esperamos se aporten acciones de valor añadido al control y gestión de las instalaciones (Tabla 8).

Tabla 8. Mejoras principales que aporta la aplicación del dispositivo a las instalaciones

Mejoras que aporta este dispositivo de prevención de <i>Legionella</i>
<ul style="list-style-type: none"> - Reduce la longitud de tramos de tubería sin recirculación - Vacía tramos de tubería sin recirculación - Elimina agua estancada desde la salida de la tubería principal hasta el punto terminal. - Mejora la circulación de agua - Mueve la mayoría del volumen de agua circulante en la instalación.
<ul style="list-style-type: none"> - Permite registro, control y automatización de aperturas y bloqueos en puntos terminales mediante software. - Dota de mayor control de tratamientos de agua preventivos y correctivos; son más eficaces y seguros; reduce costes. - Reduce cantidad de HxH en realización tratamientos de limpieza y desinfección, HxH en aperturas de puntos terminales; además de reducir el nº de tratamientos en sí.
<ul style="list-style-type: none"> - Evita quemaduras por aperturas de usuarios en hipertermias, o intoxicaciones por hipercloraciones, ya que se podrá bloquear el funcionamiento de este dispositivo, dotando de una seguridad extra a la instalación - Permite una gestión completa de información al controlarse todo por software

Una vez detalladas las bases desde las que se ha partido con el dispositivo, se desconoce el destino final al que podemos llegar con este elemento, pero sí sabemos que el camino por el que vamos puede llevarnos a una buena línea de trabajo. Veamos en qué consiste el dispositivo.

3.6. Diseño y caracterización del dispositivo

El dispositivo en estudio (Fig. 10, derecha), se ha diseñado para ser montado en una instalación como la representada anteriormente (Fig.10), dotándole con la máxima eficacia para eliminar el agua de las tuberías cuando no tienen uso; aunque podría colocarse en cualquiera de las instalaciones convencionales. Su función prioritaria es vaciar la instalación de agua desde el propio dispositivo hasta su punto terminal, quedando la tubería completamente vacía.

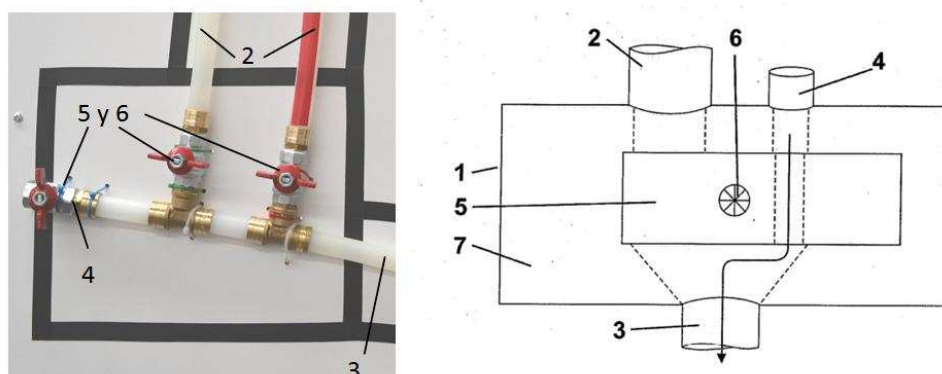


Figura 11. Detalle del prototipo y del boceto del dispositivo. (1) Carcasa exterior; (2) Tubería de entrada de agua; (3) salida de agua al punto terminal; (4) entrada de aire para purga de tubería; (5) elemento regulador de apertura y cierre de aire-agua; (6) motor accionador y (7) interior del dispositivo.

El prototipo del dispositivo (Fig. 11), que se ha diseñado exclusivamente para uso mecánico, se utilizará en una instalación de punto terminal con grifo. Su configuración se ha implementado con accionamiento manual 100%, pero con las mismas funciones principales que se requieren para hacer las pruebas de este TFM.

Necesitábamos comprobar esta teoría con la realidad más próxima a una instalación, por lo que hemos realizado una instalación de tramo final para colocar el dispositivo diseñado para este TFM. Con el diseño que se observa en la Fig. 12 simulamos un aporte de agua desde la tubería principal proyectada por encima del falso techo a una altura de 2'80 metros y de grifo a 1'5 metros, respectivamente desde el suelo. Conectado a esta tubería principal tenemos el "dispositivo" (prototipo en interior del cuadrado de la Fig. 11), seguido del tramo de tubería y del grifo como punto terminal.

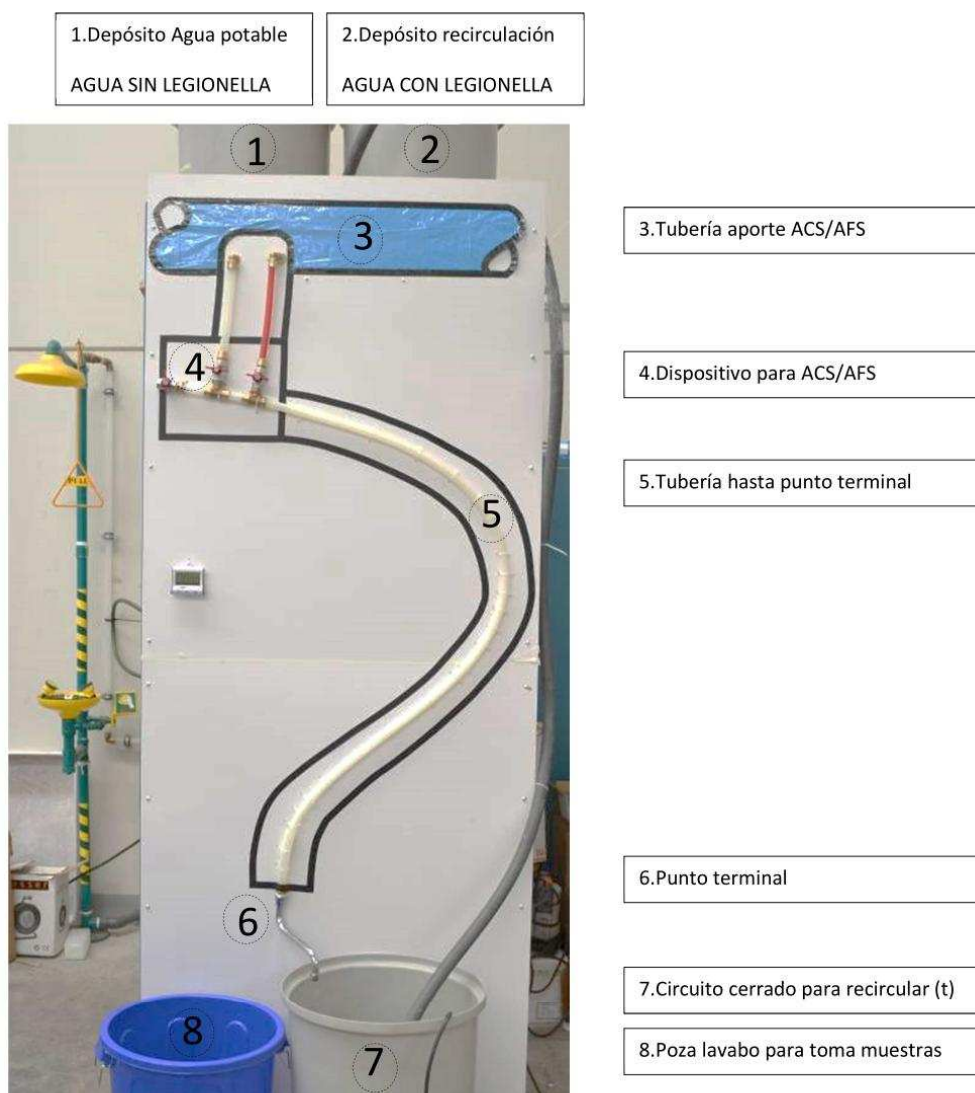


Figura 12. Diseño de prototipo e instalación para simulación real

Para la construcción de esta instalación se emplearon los mismos materiales que se colocan en una obra de este tipo en un hospital. Ahora, pasaremos a explicar cómo vamos a trabajar con ella.

3.7. Bases de funcionamiento y detalle del dispositivo

Como ya hemos indicado, este dispositivo permite cambiar la disposición constructiva de edificios con estructuras organizativas repetitivas, mejorando la calidad del agua suministrada, disminuyendo la probabilidad de proliferación de *Legionella*, así como ahorrando materiales al reducir metros de instalación total.

Este dispositivo consta de una entrada de AFS-ACS, una toma de aire unidireccional para purga del tramo final y un regulador de caudal en el equipo.

El equipo puede funcionar de forma autónoma, pero como valor añadido, hemos considerado su uso mediante electrónica por integración en una plataforma en red que comunicará con un servidor, transmitiendo los diferentes datos para análisis, alarmas, informaciones de rutina o nuevas programaciones de estos equipos (T^a , tiempo apertura, tiempo cierre, etc.)

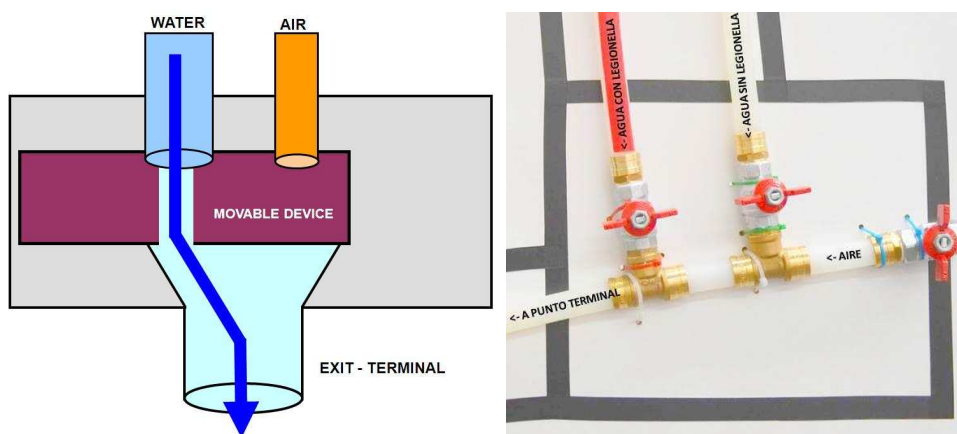


Figura 13. Detalle de diseño y prototipo.

Su funcionamiento principal se basa en aporte de agua únicamente en el momento de consumo del punto terminal. Una vez finalizada la demanda solicitada, se procede al cierre del aporte de agua y, a la apertura de aire para vaciado completo de la instalación hasta el punto terminal.

En la Figura 14 se observa que tanto el punto terminal, como la instalación de aporte, deben favorecer la evacuación del agua por gravedad, evitando disponer de reductos donde se pueda retener agua.

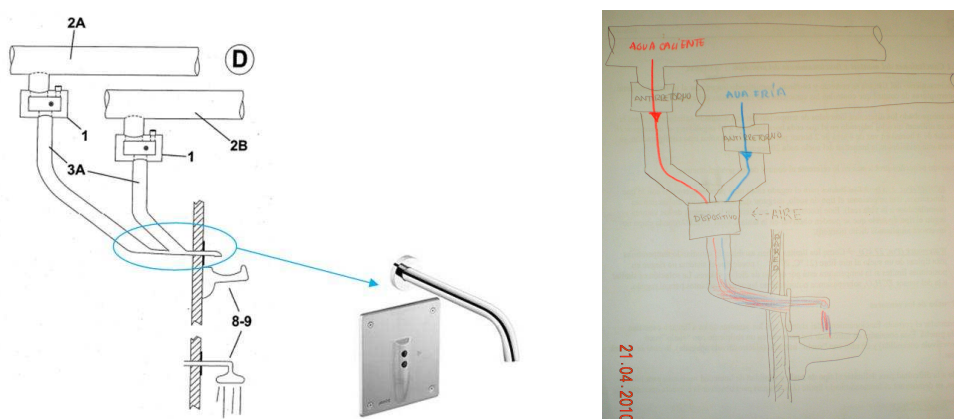


Figura 14 Esquema de patente adjunta en anexo y boceto inicial a punto terminal

Las líneas principales del dispositivo son dosificar agua cuando se solicite, detener el aporte cuando no se requiera más y, en ese momento por apertura de la entrada de aire purgar la tubería hasta su punto final evacuando toda el agua contenida en su interior. Las formas de las tuberías facilitando la descarga y evitando así reductos que puedan almacenar agua estancada completa las líneas de diseño del dispositivo.

El dispositivo, al estar conectado próximo a la tubería de aporte que siempre tiene movimiento de agua, tanto de ACS como de AFS, nos permite llevar agua tratada (bien con cloro para AFS o bien con alta Tª para ACS) hasta el último tramo donde existe agua acumulada. Además, posterior al dispositivo, sólo existe aire cuando no hay consumo. De esta forma la *Legionella* no tiene agua para multiplicarse, tendiendo a desaparecer con el agua que sale de la tubería.

Para poder comprobar todo esto en el dispositivo hemos establecido una serie de protocolos que simulan el funcionamiento normal de una zona de consultas habitual en cualquier centro sanitario. Explicamos a continuación cómo se realizará el proceso de simulación para el dispositivo así como los dos tiempos de ensayo establecidos.

Las pruebas se han llevado a cabo en su totalidad en las instalaciones de Laboratorios Nilsson, las cuales han estado siempre gestionadas por personal especializado así como utilizando los mismos medios de cultivo, conservación y control que usan en un caso real de estudio de esta bacteria.

3.8. Protocolos establecidos para ensayo

La realización de los ensayos se ha dividido en dos modelos que han sido parametrizados por la variable tiempo, de forma que podamos comprobar dos situaciones reales. Nuestro objetivo principal es ver la efectividad que tiene la aplicación de este sistema en dos plazos de tiempo distintos en la instalación. La distinción se basa en una jornada diaria y una de fin de semana. Como desconocemos los resultados, la idea es poder comparar en base a diferencias de resultados con el mismo tipo de agua contaminada, entre un plazo definido y otro tres veces superior.

Se han establecido unas normas básicas de trabajo de forma que garanticen siempre que las muestras son tomadas de acuerdo a la situación real que representan y en las mismas condiciones.

3.8.1. Simulación jornada diaria. Ensayo tipo A

La simulación de una jornada diaria de Consultas Externas de un Hospital se ha esquematizado con los siguientes parámetros:

Disponemos en el Hospital de un circuito de AS con *Legionella* ($19,1 \times 10^5$ ufc/L).

La tubería de la Consulta Externa está contaminada con *Legionella* porque ha pasado por ella. Finalizado el horario de uso de la Consulta (15:00), el dispositivo opera de forma programada y activa posición que vacía el tramo que no dispone de recirculación.

La tubería se queda sin agua durante el período en que no tiene actividad esa zona de consultas, marcado en coloración gris en la Fig. 15; quedando vacía hasta su próximo uso al día siguiente (08:00): 17h.

SIMULACIÓN CONSULTA EXTERNA - USO DIARIO																															
horario de consulta							horario de dispositivo en purga														horario de consulta										
8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15

Figura 15. Relación de horas con agua y horas con la tubería vacía, sólo aire. Tipo A

Para ello, se realizan las siguientes actuaciones:

- Disponer 25 L. de agua contaminada con *Legionella* (ACL) ($19,1 \times 10^5$ ufc/L).
- Verter al depósito de agua con *Legionella*
- Conectar bomba de nivel que mantendrá el ACL recirculando durante 4h para homogeneizar la instalación y contaminar todos sus elementos.
- Tomar muestra del agua finalizadas las 4h. para confirmar que tiene *Legionella*.
- Cerrar llave de recirculación del depósito de ACL y abrir la llave de aire.
- Vaciar la instalación desde el dispositivo hasta el grifo quedando únicamente aire en su interior.
- Dejar así 17 h, simulando el tiempo que estará la consulta sin uso. Desde las 15h que acaba su servicio hasta las 8h que comienza de nuevo.
- Cerrar llave de aire a las 8am del día siguiente.
- Abrir llave de AS limpia y dejar pasar por la instalación hasta el grifo.
- Dejar correr el agua por grifo durante 1 minuto y luego tomar muestra de agua sin *Legionella* para ver si se ha contaminado.

3.8.2. Simulación jornada fin de semana. Ensayo tipo B

La simulación de una jornada de fin de semana de Consultas Externas de un Hospital se ha esquematizado con los siguientes parámetros:

Disponemos en el Hospital de un circuito de AS con *Legionella* ($19,1 \times 10^5$ ufc/L).

La tubería de la Consulta Externa está contaminada con *Legionella* porque ha pasado por ella. Finalizado el horario de uso de la Consulta un viernes (15:00), el dispositivo opera de forma programada y activa posición que vacía el tramo que no dispone de recirculación.

La tubería se queda sin agua durante el período en que no tiene actividad esa zona de consultas, marcado en coloración gris en la Fig. 16, quedando vacía hasta su próximo uso pasado el tiempo simulado de un viernes (15:00) hasta su próximo uso el lunes (08:00): 65h.

SIMULACIÓN CONSULTA EXTERNA - USO FIN DE SEMANA																																		
horario de consulta							horario de dispositivo en purga														horario de consulta													
8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	24 hrs	24 hrs	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
							(viernes)							(sábado)							(domingo)							(lunes)						

Figura 16. Relación de horas con agua y horas con la tubería vacía, sólo aire. Tipo B

Para ello, se realizan las siguientes actuaciones:

- Disponer 25 L. de agua contaminada con *Legionella* (ACL) ($19,1 \times 10^5$ ufc/L).
- Verter al depósito de agua con *Legionella*
- Conectar bomba de nivel que mantendrá el ACL recirculando durante 4h para homogeneizar la instalación y contaminar todos sus elementos.
- Tomar muestra del agua finalizadas las 4h. para confirmar que tiene *Legionella*.
- Cerrar llave de recirculación del depósito de ACL y abrir la llave de aire.
- Vaciar la instalación desde el dispositivo hasta el grifo quedando únicamente aire en su interior.
- Dejar así 65 h, simulando el tiempo que estará la consulta sin uso. Desde las 15h que acaba su servicio el viernes hasta las 8h del lunes que comienza de nuevo.
- Cerrar llave de aire a las 8am del día que vuelve a estar en servicio.
- Abrir llave de AS limpia y dejar pasar por la instalación hasta el grifo.
- Dejar correr el agua por grifo durante 1 minuto y luego tomar muestra de agua sin *Legionella* para ver si se ha contaminado.

A continuación detallaremos con imágenes y unas pequeñas reseñas, el proceso descrito en los apartados 3.8.1. y 3.8.2. para su mejor comprensión.

3.9. Detalle de componentes del dispositivo en la instalación

Debido a las necesidades de tener una instalación controlada de agua contaminada con *Legionella* (ACL), hemos realizado un prototipo que nos permite almacenar cierta cantidad de ACL, y recircularla por la instalación, sabiendo qué concentración de bacterias contiene.

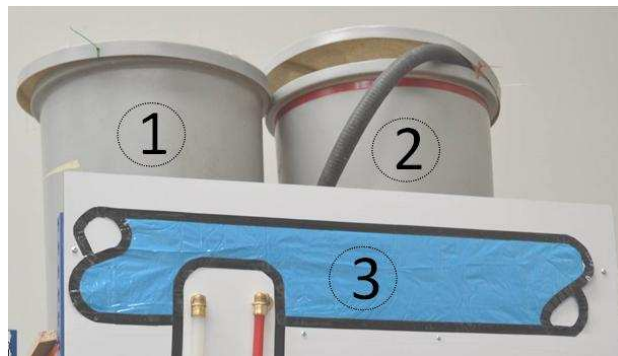


Figura 17. Tubería principal y depósitos de aporte de agua

Estos depósitos (Fig.17) tienen la función de suministrar el agua necesaria a la instalación, llenando la tubería principal. El depósito 2, rojo, recibe constantemente ACL recirculada, volviendo a verterla por gravedad a la tubería principal simulando una instalación con recirculación constante y agua contaminada.

La tubería 3 será el tramo de distribución del agua contaminada por todo el hospital. Antes de cada punto terminal, dispone de su picaje hasta el prototipo del dispositivo. El agua contaminada siempre circulará por la tubería roja.

El depósito 1, recibe el agua limpia y potable necesaria para hacer la toma de muestras una vez cumplido el tiempo de vaciado de la tubería.

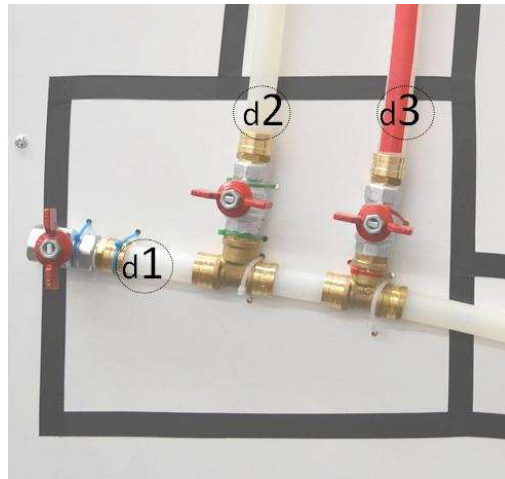


Figura 18. Simulación funciones principales dispositivo.

El prototipo realizado para simular las funciones principales del dispositivo (Fig.18) consta de recepción de agua de la instalación y un punto de purga para su vaciado.

La llave d1 es la llave de purga de la tubería. Se usará para vaciar la instalación durante el periodo de purgado.

La llave d2 es la llave de entrada de agua limpia. Se usará para, una vez cumplido el tiempo de purga necesario, realizar la toma de muestras para comprobar si todavía tiene *Legionella* o no.

La llave d3 es la llave es la entrada de agua contaminada con *Legionella*. Estará abierta durante todo el proceso de contaminación de la instalación, para garantizar su homogeneización en todos los elementos del circuito.



Figura 19. Tramo de tubería hasta punto terminal y grifo.

Se ha simulado la longitud estándar que tendría la tubería desde el dispositivo hasta la altura del grifo en la pared. En todo momento se ha mantenido la inclinación necesaria para garantizar que el agua sale de este circuito, pudiendo comprobar la resistencia de *Legionella* en una instalación sin su medio de vida, el agua.

3.10. Procedimiento detallado de uso del dispositivo

Siguiendo los pasos indicados, comenzaríamos vertiendo el agua ya contaminada al depósito de agua (Fig. 20) que gracias a la bomba de nivel que tiene en su interior (Fig. 17) y a la manguera que conecta ésta con el depósito superior, permitirán realizar la recirculación continuamente en este tramo de tubería, homogeneizando el agua contaminada con *Legionella* y todos los elementos por los que circula.



Figura 20. Llenado de agua con *Legionella* al depósito de recirculación



Figura 21. Recirculación continua de ACL por instalación



Figura 22. Comprobación purga, llave d1 (Fig.18) posición cerrada C.



Figura 23. Comprobación agua limpia, llave d2 (Fig.18) posición cerrada C.

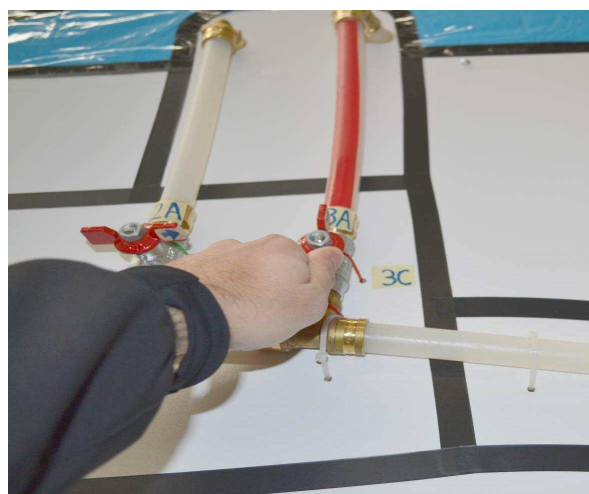


Figura 24. Comprobación agua contaminada, llave d3 (Fig.18) posición abierta A.

Finalizadas las revisiones de posición de las llaves de corte, procedemos a iniciar el contaminado de la instalación abriendo la llave que da paso al ACL. Ésta bajará por la tubería, saldrá por el grifo, caerá al depósito y la bomba de nivel la remontará de nuevo al depósito 2 (Fig.17).

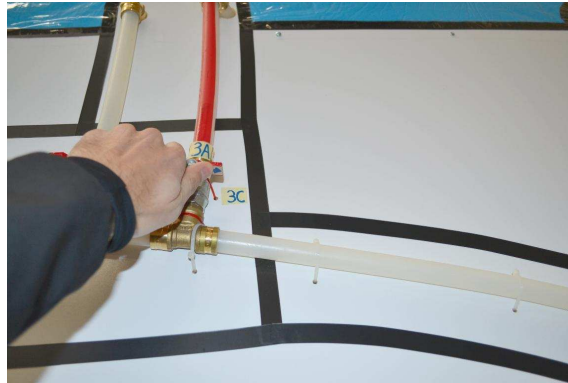


Figura 25. Fin recirculación ACL por instalación, llave d3 (Fig.18) posición cerrada C



Figura 26. Inicio purga instalación, llave d1 (Fig.18) posición abierta A

Esta posición se mantendrá durante el tiempo de purga establecido en cada uno de los ensayos (Fig.15 y 16). Una vez finalizado el plazo, se comenzará el proceso para el paso de AS con la que comprobaremos si al pasar por los elementos de la instalación se contamina o no, dependiendo de que todavía quede *Legionella* o no.

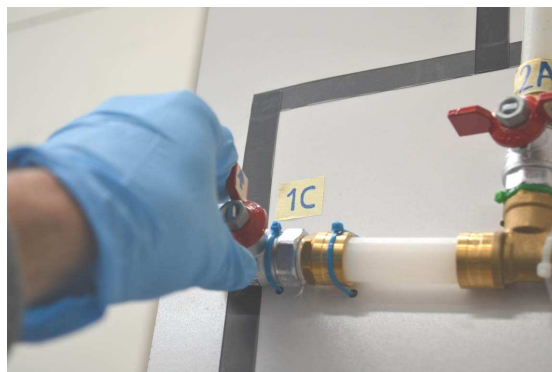


Figura 27. Cerrar purga, llave d1 (Fig.18) posición cerrada C.

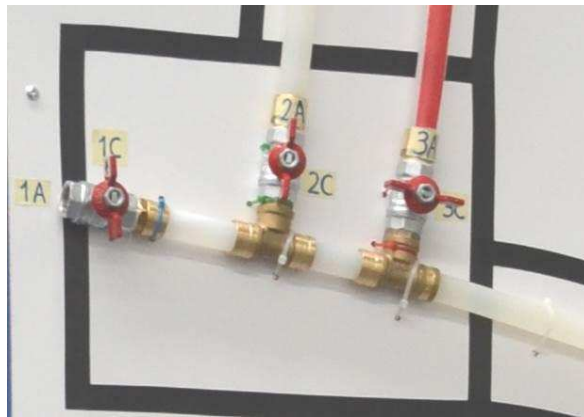


Figura 28. Inicio muestra agua potable, llave d2 (Fig.18) posición abierta A



Figura 29. Toma de muestras en punto terminal



Figura 30. Muestreo interior de punto terminal con torunda estéril

Realizada la toma de muestras en la que además de tomar 1 L de agua, se utiliza una torunda para el raspado interior del elemento de punto terminal y se añade al interior del bote; se llevará al laboratorio donde se preparará para sembrar en el medio de cultivo.



Figura 31. Preparación en laboratorio para cultivo

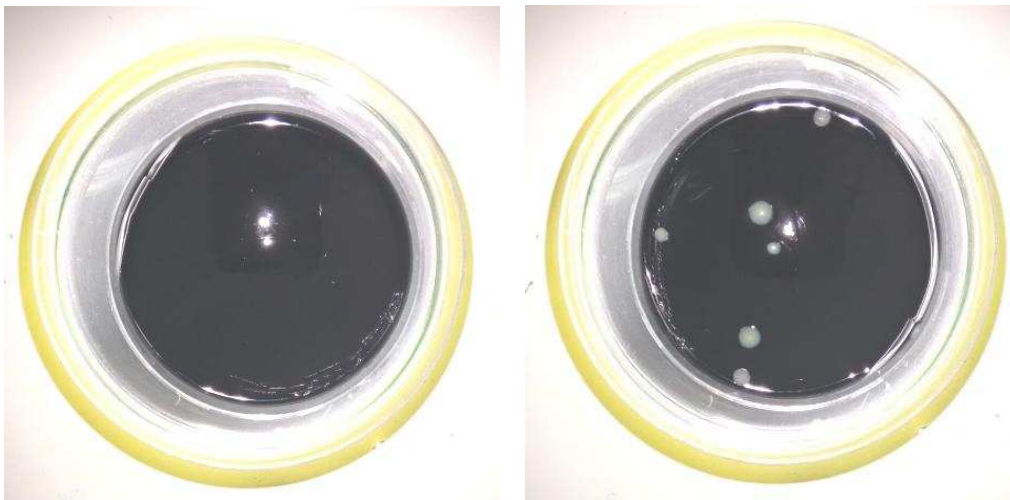


Figura 32. Cultivo de *Legionella*. Izda.: recién sembrado. Dcha.: crecimiento tras 11 días de incubación.

Los ensayos consistieron en analizar el crecimiento de las posibles cepas tras su toma de muestra en medio de cultivo líquido primero, y posteriormente en un medio sólido selectivo en placa de Petri para el aislamiento y cultivo de la *Legionella*.

4. RESULTADOS, CONCLUSIONES Y DISCUSIÓN

En este capítulo se presentarán las conclusiones principales extraídas del trabajo realizado, así como nuevas vías a seguir y retos que todavía están pendientes por alcanzar. Por último, se expondrá la valoración personal.

4.1. Ensayos y analíticas realizadas

Finalizados los diferentes ensayos, hemos resumido en una tabla la información más relevante, por tipo de ensayo, de las analíticas obtenidas (las cuales se pueden comprobar en el Anexo I). Además hemos sintetizado en una gráfica a modo de resumen los resultados comparativos entre el agua inicial (agua contaminada por *Legionella*) y el agua final tras hacerse pasar por la tubería y elementos de la instalación contaminados con ACL. Los resultados se muestran en dos barras contiguas (ufc/L de *Legionella*).

4.1.1. Resultados ensayo tipo A:

Se detalla el resumen de los resultados tras la simulación de funcionamiento en un día normal entre semana según Fig. 15. con un tiempo de purga de 17 h.

Para una homogeneización de resultados y poder realizar comparaciones entre los diferentes ensayos se realizaron con muestras de *Legionella* certificada con una concentración conocida ($19,1 \times 10^5$ ufc/L). Tras el proceso de reconstitución de las pastillas de concentración estandarizada (Anexo I), se realizaron los pasos descritos en los apartados 3.8.1. y 3.8.2.

Tabla 9. Resumen analíticas ensayo Tipo A.

17 H	Analítica Nº	Fecha Muestra	Hora Muestra	Punto muestra	Resultado	Observaciones	Estado
A1	Muestra reconstituida 20130737	14/03/13	15:45	agua recirculada grifo	$19,1 \times 10^5$ ufc/L No detectada	agua muestra agua tras 17h	OK
A2	Muestra reconstituida 20131005	09/04/13	17:45	agua recirculada grifo	$19,1 \times 10^5$ ufc/L $4,4 \times 10^2$ ufc/L	agua muestra agua tras 17h	No OK
A3	Muestra reconstituida 20131011	10/04/13	10:50	agua recirculada grifo	$19,1 \times 10^5$ ufc/L No detectada	agua muestra agua tras 17h	OK
A4	Muestra reconstituida 20144412	30/10/14	15:30	agua recirculada grifo	$19,1 \times 10^5$ ufc/L $1,0 \times 10^2$ ufc/L	agua muestra agua tras 17h	No OK
A5	Muestra reconstituida 20150195	19/01/15	14:00	agua recirculada grifo	$19,1 \times 10^5$ ufc/L No detectada	agua muestra agua tras 17h	OK

4.1.2. Resultados ensayo tipo B:

Se detalla el resumen de los resultados tras la simulación de funcionamiento en un día normal entre semana según Fig. 16. con un tiempo de purga de 65 h.

Para una homogeneización de resultados y poder realizar comparaciones entre los diferentes ensayos se realizaron con muestras de *Legionella* certificada con una concentración conocida ($19,1 \times 10^5$ ufc/L). Tras el proceso de reconstitución de las pastillas de concentración estandarizada (Anexo I), se realizaron los pasos descritos en los apartados 3.8.1. y 3.8.2.

Tabla 10. Resumen analíticas ensayo Tipo B.

65 H	Analítica Nº	Fecha Muestra	Hora Muestra	Punto muestra	Resultado	Observaciones	Estado
B1	Muestra reconstituída			agua recirculada	$19,1 \times 10^5$ ufc/L	agua muestra	OK
	20144413	03/11/14	11:30	grifo	No detectada	agua tras 65h	
B2	Muestra reconstituída			agua recirculada	$19,1 \times 10^5$ ufc/L	agua muestra	OK
	20144757	24/11/14	10:30	grifo	No detectada	agua tras 65h	
B3	Muestra reconstituída			agua recirculada	$19,1 \times 10^5$ ufc/L	agua muestra	OK
	20150155	15/01/15	13:00	grifo	No detectada	agua tras 65h	
B4	Muestra reconstituída			agua recirculada	$19,1 \times 10^5$ ufc/L	agua muestra	OK
	20150196	19/01/15	9:00	grifo	No detectada	agua tras 65h	
B5	Muestra reconstituída			agua recirculada	$19,1 \times 10^5$ ufc/L	agua muestra	OK
	20150362	23/01/15	14:00	grifo	No detectada	agua tras 65h	

4.2. Evaluación de los resultados obtenidos

Concluidos los ensayos y visto cómo ha funcionado el dispositivo según nuestras experiencias, resumimos a continuación lo más significativo. En el comienzo de nuestros ensayos tuvimos algunos problemas con la Tª de la sala donde teníamos el prototipo, ya que era invierno y no estaba climatizada, llegando a Tª de 4-6°C. Las bajas Tª hacían que la bacteria no se reprodujera al ritmo que necesitábamos para poder hacer analíticas con agua contaminada. Analizada la situación se cambió de sala y método para el ensayo, de forma que teníamos la Tª más controlada y la multiplicación era más factible. Solucionados los problemas de Tª en las épocas invernales procedimos a realizar los ensayos con las dos modalidades de tiempo de purga (Fig.15 y 16).

En los ensayos realizados con pastillas de concentración estandarizada de *Legionella* (ver hoja especificaciones en Anexo I), observamos que en todas las pruebas existe un comportamiento común con tendencia a la reducción máxima o no detección de la bacteria.

El número de experimentos realizados se considera representativo y deja preparado el terreno para seguir investigando en este tipo de sistemas.

En el ensayo tipo A (Fig.33) se observa que en todas las pruebas realizadas hemos obtenido una disminución y/o eliminación⁷ de la *Legionella* en la analítica de comprobación; finalizado el tiempo de purga del dispositivo.

Han existido dos ensayos (2 y 4) en los que la eliminación no ha sido del 100%; aunque sí su reducción ha sido casi hasta los mínimos detectables (<20 ufc/L).

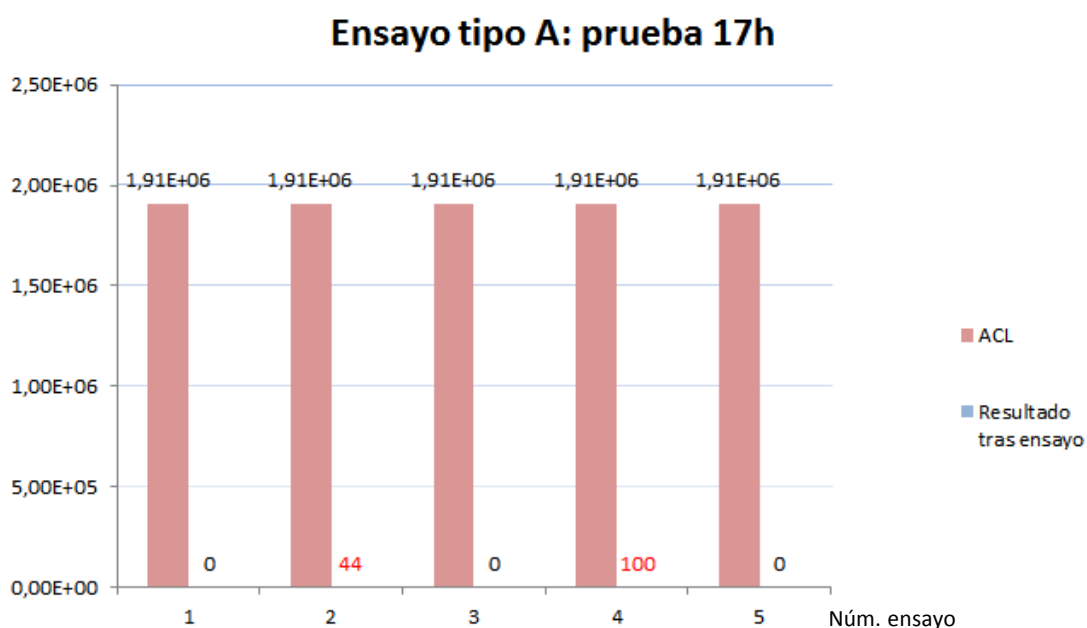


Figura 33. Representación de ufc/L antes y después del uso del dispositivo Ensayo tipo A

⁷ el límite de detección de *Legionella* en el laboratorio es hasta 20 ufc/L. En la gráfica, esta “No detección” lo hemos representado como 0.

En el ensayo tipo B (Fig.34) hemos obtenido un resultado de efectividad total. En todas las analíticas con este periodo de purga, el conteo final de ufc/L de *Legionella* no detecta presencia de la bacteria.

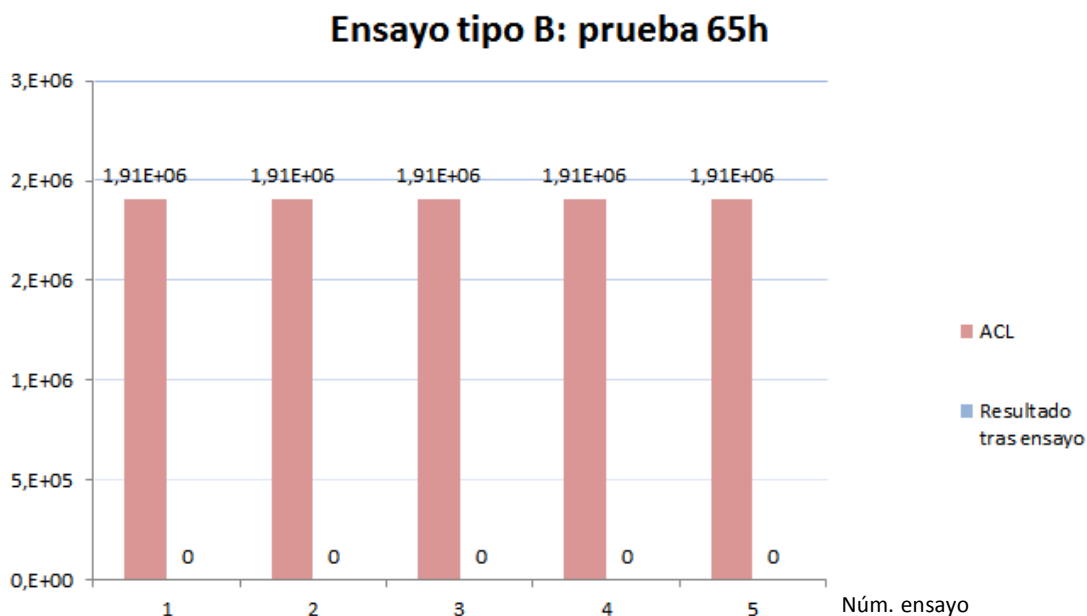


Figura 34. Representación de ufc/L antes y después del uso del dispositivo Ensayo tipo B

Con los resultados conseguidos podemos extraer como primera conclusión, que basándonos en el ensayo tipo A, este dispositivo mejora la calidad del agua en punto terminal reduciendo y/o eliminando la bacteria de *Legionella* que pueda estar contenida en el agua de aporte. Estos resultados se reforzarán con la aplicación de tratamientos preventivos en la zona de almacenamiento (como puede ser la cloración en aljibe).

Como segunda conclusión, analizados los 10 ensayos realizados en las dos modalidades de tiempo de purga, podemos confirmar que la efectividad de este dispositivo aumenta proporcionalmente con el tiempo de purga de la instalación; observándose que se alcanza una efectividad del 100% en los ensayos realizados con 65h de tiempo sin agua en el tramo de tubería estudiada (Fig.19).

4.3. Conclusiones

Como resultado del TFM realizado y sabiendo que la *Legionella* está presente en el agua y frecuentemente en sus sistemas de distribución, es posible concluir que aunque en la actualidad existen muchos estudios y normativa enfocados a la enfermedad en sí y a su tratamiento preventivo y correctivo, después de casi 40 años y viendo el número de brotes declarados cada año, no se observa un descenso progresivo en el número de casos.

La situación de la enfermedad en la actualidad y nuestra motivación para mejorarla, nos ha llevado a buscar nuevas respuestas a la problemática haciéndonos una pregunta diferente: “si los tratamientos preventivos actuales se aplican en la parte inicial del agua y siguen existiendo positivos de esta enfermedad, ¿será que se está combatiendo a la bacteria de *Legionella* en el punto equivocado?”

Es ahí cuando movidos por la curiosidad, la experiencia, la necesidad social y una enorme dosis de inquietud, comenzamos hace unos años a leer, a hacer bocetos, diseños, esquemas, etc. los cuales se han transformado en realidad con esta oportunidad de realizarlo como TFM.

Con todo lo explicado en capítulos anteriores y, una vez finalizado el estudio y ensayo de este dispositivo, podemos decir que hemos obtenido unos resultados destinados a ser un nuevo punto de referencia para próximas investigaciones. El nuevo enfoque que hemos dado a la forma de prevención de la bacteria con este dispositivo, nos permite solucionar el problema de las contaminaciones del agua en el último tramo de distribución de la instalación.

Nuestro dispositivo se diseñó para eliminar el agua del tramo final en tuberías sin recirculación; quitándole así su medio de vida y reproducción a la bacteria. De esta forma conseguimos que no pueda seguir reproduciéndose al no tener agua donde multiplicarse, simultáneamente aunque existiera alguna gota, en la próxima aplicación de purga sería barrida hacia el exterior, disminuyendo su concentración en cada una de los usos. Con los sistemas actuales del mercado, se realiza el tratamiento en el punto de almacenaje y/o en el punto de salida desde donde se distribuye el agua al resto de la instalación, pudiendo contaminarse posteriormente.

Consideramos que el **objetivo** propuesto con este TFM se ha cumplido satisfactoriamente. A pesar de existir aspectos a mejorar y automatizar, podemos afirmar que cumple perfectamente su función de reducir y/o eliminar la bacteria de *Legionella*. Además, tanto la realización del prototipo como la instalación de éste en un sistema de distribución de agua real es totalmente viable y asequible, no suponiendo un gran sobre coste en la instalación comparado con las ventajas tanto directas como indirectas que ofrece este dispositivo y que ampliaremos con nuevas líneas de futuro y mejoras de valor añadido que puede aportar en el apartado siguiente.

Como síntesis del proyecto finalizado, viendo los resultados obtenidos, podemos concluir diciendo que:

<<el primer paso para eliminar hasta la última gota de Legionella en el agua, ...lo tenemos en el aire.>>

4.4. Retos y desarrollo futuro

Basándonos en todo lo anterior, consideramos que este dispositivo puede ser de aplicación directa en instalaciones con características similares a las descritas, y posteriormente a cualquier instalación común en la que se le realicen pequeñas adaptaciones para que el funcionamiento en conjunto con éstas, permita obtener los resultados indicados.

Además de la prevención de *Legionella*, debido a su funcionamiento integrado con software, este dispositivo permite darle un valor añadido a la instalación.

Con todo ello, incluyendo este dispositivo a la instalación puede ayudar a:

- AFS: Controlar la concentración de Cloro libre en la tubería de AFS de una manera más real, al poder realizar lecturas instantáneas del agua que hay en la tubería, gracias a disponer de retorno continuo. Además esto facilitará que el agua en la tubería siempre mantenga una concentración adecuada dispuesta para su consumo en punto terminal.
- AFS: Permitirá hacer hipercloraciones de la instalación sin grandes molestias a los usuarios ni usando muchos recursos de personal; pudiéndose programar los bloqueos de apertura durante el tiempo de tratamiento y finalizado éste, las aperturas programadas por zonas.
- AFS y ACS: Permite registrar la Tª diaria, y la de punto terminal durante hipertermias, sin necesidad de desplazar personal a cada punto.
- RD865/03: Se puede gestionar informáticamente el registro de todos los puntos terminales con el sistema informático. Permitirá extraer informes por periodos, por puntos terminales, poner en observación algún grifo con analíticas positivas, avisos de fechas de tomas de muestra por laboratorios, envíos por mail de información seleccionada, SMS de alerta ante parámetros con consignas programables, etc.
- €: El ahorro económico se obtiene de varias mejoras como reducción de HxH necesarias para control diario de puntos terminales, reducción de limpiezas y desinfecciones de la instalación al eliminar focos de posibles contaminaciones, ahorro de productos de limpieza y desinfección, reducción de consumo energético al reducir hipertermias, menor gasto de agua por reducción de necesidades de limpiezas de aljibes y acumuladores, reducción de analíticas ante menos casos de *Legionella*, mayor agilidad en control de aperturas, facilidades de revisión ante inspecciones del Departamento de Salud, etc.
- Datos: proporciona una nueva herramienta para facilitar la gestión del control de *Legionella* según Normativa. Para ello, el sistema permite el control de las aperturas de los puntos terminales, registros de información, exportar y almacenar datos, posibilidad de programación en bloques, toma de parámetros como Tª Vs. tiempo, bloquear aperturas para hipertermias o hipercloraciones, gestionar aperturas según tratamientos realizados, etc.

4.5. Valoración personal

Como última reflexión a este trabajo queremos poner un punto y seguido al TFM, de forma que sigamos con esta nueva línea de investigación. El fin común que persigue, erradicar la *Legionella* de las instalaciones, es el mismo que busca el resto de elementos, tratamientos y equipamientos actuales. Con los datos anuales de hace más de una década podemos confirmar que todavía no se ha conseguido encontrar el método efectivo. De ahí que sigamos manteniendo el objetivo de todos los elementos actuales buscándolo a través de nuevas alternativas.

La idea de buscar la solución donde realmente consumimos el agua tiene una lógica aplastante. De ahí que consideramos relevante enfocar los esfuerzos como los realizados y las líneas de investigación futura en este tipo de puntos, sabiendo que con todos los métodos del mercado podemos conseguir una buena calidad de agua desde su distribución, manteniendo como objetivo, la prevención y eliminación de *Legionella* en el punto terminal de consumo.

*<<Si el plan no funciona, cambia de plan
pero no cambies de objetivo>>*

Nos gustaría concluir este trabajo con una breve reflexión: <<Lamentablemente, si las cosas no suceden de forma extrema, incluso llevándose muchas vidas (ébola, gripe A, etc.), el mecanismo humano (social y político) no reacciona, ralentizando así la búsqueda de alternativas para este y otros tipos de enfermedades. Aun así, como sabemos que todavía queda recorrido en este campo, con este TFM queremos subir un peldaño más en el camino de la prevención de la legionelosis. Con todo lo que hemos trabajado y lo que seguiremos trabajando en este tema, esperamos ver cada día desde más arriba la solución a esta problemática de gran repercusión. >>

5. BIBLIOGRAFÍA

- Allen, S. 2008. Koneman. Diagnostico Microbiologico/Microbiological Diagnosis. Ed. Médica Panamericana.
- Ausina, V., y Moreno, S., 2006. Tratado SEIMC de enfermedades infecciosas y microbiología clínica. P.p 419-420.
- Bartram J., Chartier Y., Lee J., Pond K., Surman S. 2007. Legionella and the Prevention of Legionellosis. World Health Organization. ISBN 92 4 156297 8.
- Berrington WR, Hawn TR. 2013. Human susceptibility to legionnaires' disease. Methods Mol Biol. 954:541-51.
- Dominguez A, Alvarez J, Sabria M, Carmona G, Torner N, Oviedo M, Cayla J, Minguell S, Barrabeig I, Sala M, Godoy P, Camps N. 2009. Factors influencing the case-fatality rate of Legionnaires' disease. Int J Tuberc Lung Dis. 13(3):407-12.
- Feeley JC, Gorman GW, Gibson RJ. 1979. Primary isolation media and methods. In G. L. Jones and G. A. Hebert (ed.), Legionnaires': the disease, the bacterium and methodology. p. 77-84. Center for Disease Control, Atlanta, Georgia.
- Forbes B. 2009. Diagnóstico Microbiológico. Panamericana. ISBN 9789500682435.
- Fraser DW, Tsai tr, Orenstein W, Parkin WE, Beecham HJ, Sharrar RG, Harris J, Mallison GF, Martin SM, Mcdade JE, Shepard CC, Brachman PS. 1977. Legionnaires disease: description of an epidemic of pneumonia. N Engl J Med. 297: 1189-97.
- Sopena N, Force L, Pedro-Botet ML, Barrufet P, Sauca G, García-Núñez M, Tolchinsky G, Capdevila JA, Sabrià M. 2007. Sporadic and epidemic community Legionellosis: two faces of the same illness. Eur Respir J 29:138-42
- Gudiol C, Garcia-Vidal C, Fernández-Sabé N, Verdaguer R, Lladó L, Roca J, Gil-Vernet S, Carratalà J. 2009. Clinical features and outcomes of Legionnaires' disease in solid organ transplant recipients. Transplan Infect Dis 11(1): 78-82.
- Hubbert A, Roy CR. 2010. Modulation of host cell function by Legionella pneumophila type IV effectors. Annu Rev Cell Dev Biol 26 : 261-83.
- Jamilloux Y, Jarraud S, Lina G, Etienne J, Ader F. 2012. Legionella, Legionnaires' diseases. Med Sciences 28: 639-45.
- Jimenez A., Santa Marina L., Otazua M, Cuetos Y., Etxebarria M., Fuente K. 2013. Legionellosis esporádica, un problema sin resolver. Rev salud ambient. 13(1):73-79.
- John E, Dolin, R. and Martín, J. 2014. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of infectious Diseases. Elsevier Health Sciences.

- Krech U, Pagon S, Sonnabend W. 1980. Microbiological aspects of Legionnaires' disease. Schweiz Med Wochenschr 110 (46): 1739-45.
- María Luisa Gómez-Lus, María Teresa Corcuera, Rafael Gómez-Lus, Claudia Sánchez-Serrano, Fernando Gómez-Aguado, María José Alonso, José Prieto. 2013. Dinámica estructural de colonias/biofilm de Legionella pneumophila y Legionella bozemanii. Rev Esp Quimioter 26(3):214-219.
- Seguí R., Segura M., Varó P. 2010. Evaluación de riesgos en instalaciones con probabilidad de proliferación y dispersión de Legionella. 20-21
- Panayotova S. 1987. An undergraduate experiment on thermal properties. 308-309.
- Wong KH, Schalla WO, Arko RJ, Bullard JC, Feeley JC. 1979. Immunochemical, Serologic, and Immunologic Properties of Major Antigens Isolated from the Legionnaires' Disease Bacterium: Observations Bearing on the Feasibility of a Vaccine. Ann Intern Med. 90(4):634-8.

NORMATIVA

- Boletín Oficial del Estado. 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, 18/7/2003.
- Real Decreto 2210/95, de 28 Diciembre. BOE núm 24/1/96. Aprobación del registro de enfermedades de declaración obligatoria (EDO).
- Real Decreto 909/2001 primeros criterios higiénico-sanitarios para la prevención y control de la Legionelosis.
- R.D. 140/2003 de 07 de Febrero (BOE 45 de 21 de Febrero) por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano.
- NTP 538. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. Legionelosis: medidas de prevención y control en instalaciones de suministro de agua
- NTP 691. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. Legionelosis: revisión de las normas reglamentarias.
- Código Técnico de la Edificación. Normas Básicas y Tecnológicas y Soluciones Homologadas de la Edificación con sus Documentos de Idoneidad Técnica. Ministerio de Fomento. Aprobado en el Real Decreto 314/2006, de 17 de marzo. BOE núm 74, 28/3/2006. (<http://www.codigotecnico.org/web/recursos/documentos/>)

- Rite. Reglamento de instalaciones térmicas en los edificios. Condiciones que deben cumplir las instalaciones de calefacción, climatización y agua caliente. Ministerio de Energía, Industria y Turismo. Aprobado en el Real Decreto 1027/2007, de 20 de julio. B.O.E. núm 207, 29/8/2007
(<http://www.idae.es/index.php/mod.pags/mem.detalle/relcategoria.1030/id.27/reلمenu.53>)
- Ministerio de Sanidad y Consumo. Guías técnicas para la prevención de la Legionelosis en instalaciones de riesgo: Sistemas de agua caliente Sanitaria. Agua fría de consumo Humano. Torres de refrigeración y condensadores evaporativos. Sistemas de agua climatizada con agitación constante y recirculación a través decoros de agua de alta velocidad o inyección de aire. (<http://www.insht.es>)

ANEXOS

ANEXO I – Certificado, informe análisis, hoja seguridad de cepa *Legionella* ensayos y analíticas

ANEXO II – Métodos preventivos actuales

ANEXO III – Esquemas y patente del dispositivo

ANEXO IV – Normativa básica principal RD 865/2003

ANEXO V – Noticias de casos de muertes por *Legionella*