

ARTÍCULOS ORIGINALES

Centro de Investigaciones Científicas de la Defensa Civil

Aislamiento de *Legionella bozemanii*. Primer reporte en Cuba

Dr. Lázaro Regalado Alfonso,¹ Dra. Martha Julia Alfonso González,¹ Dra. Julia Verdera Hernández,² Dr. Eugenio Selman-Houssein Sosa³ y Dr. Severino Hernández Hernández⁴

¹ Especialista de I Grado en Microbiología. Centro de Investigaciones Científicas de la Defensa Civil.

² Especialista de I Grado en Microbiología. Hospital Pediátrico Docente "William Soler".

³ Especialista de I Grado en Cirugía Cardiovascular. Hospital Pediátrico Docente "William Soler".

⁴ Especialista de I Grado en Pediatría. Hospital Pediátrico Docente "William Soler".

RESUMEN

Se estudiaron 11 muestras clínicas y 5 ambientales en busca de microorganismos del género *Legionella* en el curso de una investigación realizada para esclarecer las causas de sepsis respiratorias en un servicio de cirugía cardiovascular pediátrica. Dos de las últimas resultaron positivas, en 1 de las cuales se aisló *Legionella bozemanii*, éste constituye el primer reporte en nuestro país. Aunque no se pudo demostrar relación entre los cuadros respiratorios y el hallazgo, fue importante conocer la existencia de este germen pues es frecuente en el medio hospitalario y es causante de un número importante de infecciones nosocomiales con un alto costo de vidas y recursos.

Descriptor DeCS: LEGIONELLA/aislamiento & purificación; LEGIONELLA/clasificación; SERVICIO DE CIRUGIA EN HOSPITAL; CIRUGÍA CARDIACA; TRASTORNOS RESPIRATORIOS/microbiología; CUBA.

Los microorganismos del género *Legionella* son responsables de diferentes cuadros clínicos que reciben el nombre de legionelosis, el que produce la enfermedad de los legionarios (EL) es el más estudiado y conocido, que pueden ir desde un episodio leve hasta una neumonía que evoluciona con complicaciones.¹⁻⁴

Otras formas de presentación lo constituyen la fiebre de Pontiac, la neumonía de Pittsburg, sinusitis, infecciones de heridas, de válvulas cardíacas, pericarditis, peritonitis y Guillain- Barré.^{1-3,5} La especie más frecuentemente relacionada con estos cuadros es *Legionella pneumophila* serogrupo 1,^{2,6-9} pero otras especies y serogrupos también se aíslan, como *Legionella bozemanii*, objeto de esta investigación y primer reporte en nuestro medio.¹⁻⁴

Legionella se encuentra normalmente en ambientes acuáticos naturales y desde ellos accede a instalaciones construidas por el hombre, y a través de la red de distribución se

incorpora a los sistemas que utilizan agua para su funcionamiento (sistemas de climatización, de abastecimiento de agua, etcétera). En algunas partes de estos sistemas se acumula y encuentra condiciones propicias para su multiplicación, y puede alcanzar puntos en los que existan mecanismos productores de aerosoles (duchas, llaves, torres de enfriamiento y otros) que la dispersen en forma de aerosoles y a través de ellos se transmita al hombre.^{1,2,4,10}

La legionelosis ha sido poco estudiada en los países no industrializados.¹ En Cuba se aisló por primera vez *Legionella spp* en 1987¹¹ y se diagnosticó el primer caso de EL en 1988, en un paciente con SIDA.¹²

Desde entonces se aislaron repetidamente de varias fuentes ambientales, incluyendo las hospitalarias, *Legionella* de diferentes especies y serogrupos,^{13,14} y se han demostrado títulos de anticuerpos a *Legionella pneumophila* en varios grupos de riesgo.^{14,15}

FIGURA 1. Esquema diagnóstico.

Este agente de difícil aislamiento produce una enfermedad que no manifiesta signos patognomónicos y la neumonía no responde al tratamiento habitual con penicilina. Aun empleando una terapéutica de elección con eritromicina, durante al menos 3 semanas, el cuadro radiológico demora en mostrar mejoría,^{1,2} y existen reportes que entre el 10 y el 30 % de las neumonías nosocomiales son producidas por estos microorganismos.^{6,7,16} Conociendo así la exacta dimensión del problema, cabe señalar que la estrategia para el estudio, control y prevención es posible pero algo compleja y costosa; no obstante, los esfuerzos por lograrla se compensan con creces.

Por todas estas razones se decidió incluir dentro de un estudio microbiológico, efectuado a pacientes de un servicio de cirugía cardiovascular pediátrica que presentaron complicaciones respiratorias, técnicas para aislar e identificar *Legionella* y determinar su posible relación con los hallazgos clínicos.

MÉTODOS

El estudio se realizó en una sala de cirugía cardiovascular pediátrica e incluyó 11 lavados bronquiales de niños recién intervenidos quirúrgicamente, que presentaron sintomatología respiratoria, y 5 muestras de agua (2 de los climatizadores de consolas, 2 de las duchas y 1 de la pila del lavamanos).

La toma de muestras y su posterior procesamiento fueron realizados según las técnicas descritas y de acuerdo con las características de cada una de ellas^{11,12,14} (figuras 1 y 2).

Después de la siembra de las muestras en los medios útiles para el crecimiento de *Legionella* y su posterior observación, se seleccionó la colonia sospechosa y se procedió a su caracterización. Se le realizó examen directo mediante coloración de Gram, Sdrovsky y otros estudios fisiológicos que incluyeron: pruebas de oxidasa y catalasa, análisis de fermentación de azúcares, utilización de urea, liquefacción de la gelatina (estos 3 últimos mediante el sistema API 20E) e hidrólisis del hipurato.^{11,12,14}

Para la clasificación inmunológica de la cepa aislada se empleó la aglutinación en lámina mediante el uso de antisueros de conejos para *Legionella pneumophila* serogrupos 1, 2, 3 y 6, *Legionella micdadei*, *Legionella dumoffi* y *Legionella bozemanii*; y conjugados fluorescentes contra *Legionella pneumophila* serogrupo 1 y *Legionella bozemanii*, para inmunofluorescencia directa (IFD) de DAVIH Laboratorios.^{17,18}

Se utilizaron paralelamente para los estudios fisiológicos e inmunoserológicos cepas controles: *Legionella pneumophila* (cepas Philadelphia y Togus), *Legionella bozemanii*, *Legionella micdadei* y *Legionella dumoffi* (ATCC).

RESULTADOS

No fue aislada *Legionella* de ninguna muestra clínica y sí de 2 ambientales: *Legionella pneumophila* serogrupo 1 del lavamanos (datos no mostrados) y *Legionella bozemanii* del agua del climatizador, primer aislamiento de ésta en nuestro país (tabla).

TABLA. Resultados de los estudios de clasificación del aislamiento

	<i>Legionella bozemanii</i>	Aislamiento
Pruebas (Cepa ATCC-control)		
Requerimiento de L. cysteína	+	+
Oxidasa	+	+
Catalasa	+	+
Fermentación de azúcares	-	-
Utilización de urea	-	-
Liquefacción de la gelatina	+	+
Hidrólisis del hipurato	-	-
Aglutinación en lámina	+	+
Inmunifluorescencia directa	+	+

DISCUSIÓN

Las técnicas utilizadas fueron útiles en el aislamiento y caracterización de este microorganismo (tabla). Éstas están integradas a un amplio trabajo que hemos perfeccionado durante años, que nos ha permitido familiarizarnos con ellas y aislar *Legionella* de diferentes fuentes.

Legionella bozemanii ha sido reportada como causa de legionelosis en grupos de riesgo,^{1,2,6} donde se incluyen pacientes con trasplantes, intervenidos quirúrgicamente y otros.

El hecho de no haberla aislado en las muestras de pacientes no asegura su no existencia en éstas, ya que es de difícil aislamiento, como tampoco podemos así asegurar la causa de las complicaciones respiratorias.

Estos datos demuestran una vez más la circulación de microorganismos de este género en áreas de atención a pacientes, el valor de una estrecha vigilancia epidemiológica y el control sobre todo sistema técnico de climatización, fundamentalmente donde existan torres de enfriamiento; no minimizar la importancia de su presencia y aumentar la sospecha de legionelosis en el medio hospitalario y en los grupos de riesgo.^{1,2,4,6,10,19}

Se puede concluir que:

1. Se aisló por primera vez en nuestro país *Legionella bozemanii* en ambiente hospitalario.
2. No fue demostrada su implicación directa en el cuadro respiratorio.
3. El hallazgo corrobora una vez más la existencia de microorganismos de este género en áreas de atención a pacientes y la importancia de una estrecha vigilancia epidemiológica y control.

SUMMARY

Eleven clinical samples and 5 environmental samples were studied looking for microorganisms of *Legionella* specie during a clinical research carried out to clear up the causes of respiratory sepsis in the service of pediatric cardiovascular surgery. Two of the environmental samples were found to be positive, in one of them *Legionella bozemanii* was isolated constituting the first report in our country. Although it was not possible to demonstrate a relationship between respiratory pictures and the finding, it was important to know the occurrence of this germ because it is very frequent in hospital environment and it is the cause of an important number of nosocomial infections with a high cost of lifes and resources.

Subject headings: LEGIONELLA/isolation & purification; LEGIONELLA/classification; SURGERY DEPARTMENT, HOSPITAL; HEART SURGERY; RESPIRATION DISORDERS/microbiology; CUBA.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. OPS. El control de las enfermedades transmisibles en el hombre. 15 ed. Washington DC, 1992:319-22. (Publicación Científica No. 538).
2. Epidemiology, prevention and control of Legionellosis: Memorandum from a WHO meeting. Bull World Health Organ 1990;68(2):155-64.
3. Cordes LG, Fraser DW. Legionellosis: enfermedad de los legionarios, fiebre de Pontiac. Med Clin North Am 1980;3:389-411.
4. Edelstein PH. Control of *Legionella* in hospitals. J Hosp Infect 1986;8:109-15.
5. Best M, Stout J, Muder RR, Yu VL, Goetz A, Taylor F. Legionellaceas in the hospital water-supply. Lancet 1986;6:109-15.
6. Redón J, Pascual JM, Vila B, Borrás R, Ripollés F, Uriel B, et al. Estudio comparativo entre neumonía nosocomial por *Legionella* y otros microorganismos. Med Clin 1987;88:342-52.
7. Mazieri NA, Godoy CV de, Alves SF, Andrade DR de, Levin AS, Hablitzed AC, Legionnaires' disease in the renal transplant unit of hospitals and clinics, FMUSP "During a five year period" (1988-1993). Rev Inst Med Trop Sao Pablo 1994;36(3):231-6.
8. Darelid J, Bengtsoon L, Gastori B, Hallander H, Lofgren F, Malmvall BE, et al. An out break of Legionnaires disease in a Swedish hospital. Scand J Infect Dis 1994;26(4):417-25.
9. Ciscar MA, Barranco MJ, Peris R, Ramón M, Juan A. Epidemiologic outbreak of Legionnaires' disease in an open community: 10 years enter. Enferm Infecc Microbiol Clin 1994;12(7):325-31.
10. Muder RR, Yu VL, Wod AH. Mode of transmission of *Legionella pneumophila*. Arch Intern Med 1986;146:1607-12.
11. Regalado L, Martín RZ, Alfonso MJ, Llamas R, Tartakousky I, Barjatova OI, et al. Aislamiento de *Legionella spp* de una torre de enfriamiento. En: Libro resumen Congreso 50 Aniversario del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". La Habana, 1988:54.
12. Regalado L, Suárez JI, Alfonso MJ. Enfermedad de los legionarios en un paciente con SIDA. En: Libro resumen Congreso 50 Aniversario del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí", 1988:108.

13. Regalado L, Alfonso MJ, Rodríguez O, Martín RZ, González N. Legionellosis in cuba. Report of the 5th meeting European working group on Legionella infections. Moscow, May 26-18th, 1990; Moscow: Institute Gamaleya, 1990:30.
14. Regalado L, Martín RZ, Alfonso MJ, González N, Rolo F. *Legionella* en la infección nosocomial. Rev Cubana Med 1994;33(2):51-8.
15. Rodríguez O, Lubián AL, González N. Determinación de la presencia de anticuerpos de *Legionella pneumophila* (serogrupo 1-6) por inmunofluorescencia indirecta en pacientes con SIDA y portadores de anticuerpos. En: Libro resumen 3er. Congreso de Higiene y Epidemiología. La Habana, 1990:14.
16. Jamashiro Y, Higa F, Koide M, Gaja M, Owan I, Inadome J, et al. Serodiagnosis of *Legionella pneumoniae* data of our laboratory in the recent 3 years. Kansenshogakuzasshi 1994;68(10):1256-63.
17. DAVIH Laboratorios. Instrucciones para el uso de anticuerpos aglutinantes contra *Legionella pneumophila* serogrupos 1, 2, 3, 6; *Legionella micdadei*; *Legionella dumoffi*; *Legionella bozemanii*. La Habana, 1989.
18. DAVIH Laboratorios. Instrucciones para el uso de conjugados fluorescentes anti-*Legionella pneumophila* serogrupo 1 y *Legionella bozemanii*. La Habana, 1989.
19. Garbe PL, Davis BJ, Weisfeld JS, Markowitz L, Miner P, Garrity F, et al. Nosocomial Legionnaires' disease epidemiologic: demonstration of Cooling towers as source. JAMA 1985;254(4):521-4.

Recibido: 22 de diciembre de 1995. Aprobado: 30 de julio de 1997.

Dr. *Lázaro Regalado Alfonso*. Centro de Investigaciones Científicas de la Defensa Civil. Carretera de Tapaste y Ocho Vías, San José de las Lajas, provincia de La Habana, Cuba.