

Legionella spp., A HAZARD TO HUMAN HEALTH

Legionella spp., UN PELIGRO PARA LA SALUD HUMANA

Cortés-Sánchez A. De J.^{1*}; Espinosa-Chaurand, L.D.¹; Díaz-Ramírez, M.²

¹Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT). Unidad Nayarit del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (UNCIBNOR+). Calle Dos No. 23. Cd. Del Conocimiento. Av. Emilio M. González, Cd. Industrial. C.P. 63173, Tepic, Nayarit. México. ²Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Lerma Departamento de Ciencias de la Alimentación. Av. de las Garzas 10, El panteón, 52005 Lerma de Villada, Estado de México.

*Autor de correspondencia: alecortes_1@hotmail.com

ABSTRACT

Objective: The aim of this study was to provide a review that gives a general perspective of legionellosis and the different factors associated with this disease, such as the incidence, causal agents, treatment, control and prevention methods used globally in order to safeguard public health.

Methodology: To develop this document, the search and analysis of pertinent information was carried out in different scientific and academic databases such as Scielo, Scopus, Latindex, Redalyc, Google Scholar, among others.

Results: Legionellosis is caused by species of the genus *Legionella* spp., with *L. pneumophila* being commonly associated to clinical cases. Analytical methods have been developed for their detection, as well as sanitary regulations for water and hydraulic facilities for human use, in order to mitigate their impact on the population.

Implications in the study: The causal agents of legionellosis inhabit aquatic ecosystems, and are capable of resisting diverse physicochemical conditions; therefore, they have been detected in hydraulic systems and equipment for human use, thus generating their dispersion and potential infection when inhaled through small drops of water (sprays).

Conclusions: *Legionella* spp. is an emerging pathogen of importance in public health mainly in developed countries, due to its incidence, complications and mortality. It has been established that the prevention and control of legionellosis require joint actions in the microbiological control of water, development, dissemination, implementation and monitoring of the application of regular cleaning and disinfection programs by governmental entities, international health organizations, academia, industry and the general population.

Keywords: Legionellosis, water, hydraulic facilities, public health.

RESUMEN

Objetivo: Brindar una revisión que aporte una perspectiva general de la legionelosis y de los diferentes factores asociados a esta enfermedad tales como la incidencia, agentes causales, terapéutica, métodos de control y prevención utilizados a nivel global a fin de salvaguardar la salud pública.

Metodología: Para el desarrollo del presente documento se realizó la búsqueda y análisis de información pertinente en diferentes bases de datos científicas y académicas como Scielo, Scopus, Latindex, Redalyc, Google Académico entre otras.

Resultados: La legionelosis es causada por especies del género *Legionella* spp., siendo *L. pneumophila* comúnmente asociada a casos clínicos. Se han desarrollado métodos analíticos para su detección, así como regulaciones sanitarias al agua e instalaciones hidráulicas para uso humano, a fin de mitigar su incidencia en la población.

Implicaciones en el estudio: Los agentes causales de legionelosis habitan los ecosistemas acuáticos, y son capaces de resistir diversas condiciones fisicoquímicas por ende se han detectado en sistemas y equipos hidráulicos de uso humano, generando así su dispersión y potencial infección al ser inhaladas a través de pequeñas gotas de agua (aerosoles).

Agroproductividad: Vol. 11, Núm. 11, noviembre. 2018. pp: 53-58.

Recibido: julio, 2018. **Aceptado:** octubre, 2018.

Conclusiones: *Legionella* spp., es un patógeno emergente de importancia en salud pública principalmente en países desarrollados, debido a su incidencia, complicaciones y mortalidad. Se ha establecido que la prevención y control de legionelosis requieren de acciones conjuntas en el control microbiológico del agua, desarrollo, difusión, implementación y vigilancia en la aplicación de programas regulares de limpieza y desinfección por parte de entidades gubernamentales, organizaciones internacionales de salud, academia, industria y población general.

Palabras clave: Legionelosis, agua, instalaciones hidráulicas, salud pública.

INTRODUCCIÓN

El agua es un componente esencial para la vida, y constituye un elemento clave para el desarrollo humano en materia de seguridad e inocuidad alimentaria, nutrición, economía y por ende de la salud de la población (Pulido *et al.*, 2015; CSA, 2015). Por lo tanto, es indispensable disponer de agua en calidad y cantidad adecuada ya sea para beber, actividades de saneamiento, producción alimentaria (pesca, acuicultura, agricultura y ganadería), procesamiento, preparación de los alimentos, por lo cual es primordial evaluar si es o no fuente de microorganismos patógenos para el ser humano (bacterias, virus, parásitos y hongos) como *Salmonella* spp., *E. coli*, *Vibrio* spp., *Aeromonas* spp., *Legionella* spp., entre otros (Romero, 2007; Pulido *et al.*, 2015; CSA, 2015; CDC, 2018).

Legionella spp.

La familia *Legionellaceae* se encuentra constituida por tres géneros que son el *Legionella*, *Tatlockia* y *Fluoribacter*. Las especies del género *Legionella* spp., son microorganismos Gram negativos, de forma bacilar, móviles, aerobios, termotolerantes (20 °C-60 °C) que se inactivan por arriba de 70 °C, se localizan en medio ambiente acuático como lagos, ríos, arroyos, lodos, aguas termales además de los sistemas de agua artificiales, colonizando instalaciones de suministro de agua y de la red de distribución y otros sistemas que requieren del agua para su funcionamiento, tales como torres de refrigeración, condensadores adiabáticos y evaporativos, instalaciones termales, piscinas, fuentes ornamentales entre otros (Ausina, 2005; Romero, 2007; Duran y Valero, 2010; Gea *et al.*, 2012; CDC, 2018; WHO, 2016; Lösch y Merino,

2016). El género *Legionella*, está integrado por más de 50 especies, y al momento hay 71 serotipos provenientes de muestras humanas y ambientales (Duran y Valero, 2010; Borges *et al.*, 2012; Lösch y Merino, 2016). Varias de ellas son patógenas como *L. micdadei*, *L. dumoffii*, *L. longbeachae*, *L. bozemanni* y *L. pneumophila*, siendo esta última la de mayor importancia desde el punto de vista clínico (Sandrea *et al.*, 2015; Lösch y Merino, 2016; Galindo *et al.*, 2017), ésta es un bacilo facultativo de 0.3 a 0.9 μm de ancho y 1.5 a 15 μm de largo, localizado en ecosistemas acuáticos estando como formas planctónicas de vida libre, parásitos intracelulares de protozoos (*Tetrahymena*) y amebas (*Acanthamoeba*, *Hartmannella*, *Naegleria*, *Vahlkampfia* y *Echinamoeba*) que actúan como amplificadores naturales o como habitantes de biopelículas de población mixta. Esta bacteria presenta al menos 15 serogrupos diferentes, y es responsable con mayor frecuencia en las infecciones por legionelosis en el ser humano, resaltando los grupos 1, 4 y 6 por estar mayormente implicados (Ausina, 2005; Romero, 2007; Borges *et al.*, 2012; Ulloa, 2008; Duran y Valero, 2010; Sandrea *et al.*, 2015; Galindo *et al.*, 2017).

Legionelosis. Es una enfermedad producida principalmente por *L. pneumophila*; la infección puede ocurrir a nivel hospitalario o comunitario como brotes o casos aislados originada por la inhalación de aerosoles (dispersión de gotas de agua en el aire), producidos en conjunto con pulverizaciones, chorros o nebulizaciones de agua con bacterias; presenta un periodo de incubación de dos a 10 días, o hasta por tres semanas; su tasa de mortalidad es desde 5% a 30%, los brotes son más frecuentes en la temporada de verano e inicio del otoño, pero los casos aislados pueden ocurrir en cualquier época del año (Ausina, 2005; Duran y Valero, 2010; Diaz *et al.*, 2011; Borges *et al.*, 2012; Gea *et al.*, 2012; Manzanares *et al.*, 2014; Sandrea *et al.*, 2015; WHO, 2016; Lösch y Merino, 2016; Galindo *et al.*, 2017; CDC, 2018). La enfermedad presenta dos formas clínicas; la primera o enfermedad del legionario (neumónica) cuyos síntomas son fiebre, malestar general, debilidad, dolor de cabeza, tos, diarrea, dolor pleural y muscular, y la segunda como fiebre de Pontiac (no neumónica autolimitada). También se ha asociado a otros cuadros clínicos, tales como neumonía de Pittsburg, sinusitis, pericarditis, peritonitis e infecciones de heridas. Existen grupos vulnerables de adquirir esta enfermedad como pacientes hospitalizados, inmunodeprimidos, bajo tratamiento quimioterapéutico, adultos mayores de 50 años, diabéticos, alcoholismo, y recién nacidos durante los partos en el agua y personas que tra-

bajan o viven cerca de torres de enfriamiento, piscinas, entre otros. Aún no se ha reportado una transmisión directa de persona a persona, ni la existencia hasta ahora de algún reservorio animal (Ausina, 2005; Duran y Valero, 2010; Díaz et al., 2011; Borges et al., 2012; Gea et al., 2012; Manzanares et al., 2014; Sandrea et al., 2015; WHO, 2016; Lösch y Merino, 2016; CDC, 2018). El tratamiento aplicado con mayor eficacia es usando macrólidos, quinolonas o rifampicina (Romero, 2007; Ulloa, 2008; Ausina, 2005), pero algunas investigaciones han reportado, el aislamiento en casos clínicos, ecosistemas acuáticos y artificiales de cepas de *Legionella* spp., resistentes a antibióticos, tales como la ciprofloxacina y eritromicina (Bruin et al., 2014). Además se han sugerido mecanismos de resistencia contra quinolonas (Almahmoud et al., 2009), por ello, este microorganismo tiene la atención en materia de salud pública por las complicaciones que se pueden presentar en el tratamiento de la enfermedad.

Legionelosis en el mundo. La legionelosis es considerada una enfermedad de baja ocurrencia y distribución mundial, pero en países como Inglaterra, Holanda, España, Japón, Portugal, EUA, Australia entre otros, es tema de relevancia epidemiológica y salud pública como resultado del número de brotes implicados en la comunidad, hospitales y hoteles (Rojas y Figueras, 2006; Gea et al., 2012; Sandrea et al., 2015; Lösch y Merino, 2016). *L. pneumophila* es considerada responsable del 1 al 15% de los casos de neumonías adquiridas en la comunidad, del 5 al 10% de neumonías del adulto y del 1% en menores de 15 años (Duran y Valero, 2010). Tan solo en EUA se estiman de

8,000 a 18,000 hospitalizaciones al año por legionelosis, además entre el año 2000 al 2011 el CDC reportó un aumento del 279% pasando de 1100 casos en el año 2000 a 4202 en el 2011 (Sandrea et al., 2015). *L. pneumophila* serogrupo 1 es responsable de más del 90% de legionelosis en Norteamérica y Europa donde la tasa de mortalidad es aproximadamente de 26% (Bruin et al., 2014; Galindo et al., 2017). Países como España destacan por ser más afectados por la enfermedad, ya que durante el periodo 1999 a 2009 se declararon 501 brotes de legionelosis de los cuales 340 fueron en el ámbito comunitario, 32 nosocomiales, y 129 se asociaron a viajes, de estos 55 fueron declarados por la red europea de vigilancia de legionelosis asociadas por de viajar. Siendo finalmente 3,402 personas afectadas de las que 2,918 requirieron hospitalización y 138 fueron decesos (Cano, 2010). Se estima que en este país el 50% de los hoteles están colonizados por *Legionella* spp., en alguna parte de la red de agua esto es similar en proporciones detectadas en otras partes del mundo, reflejando la distribución del microorganismo en ambientes naturales (Sandrea et al., 2015). Esta enfermedad se considera de declaración obligatoria y una prioridad en aspectos de salud pública desde 1995 en el Real Decreto de vigilancia epidemiológica (2210/1995). Se establece además en la legislación española el Real Decreto 865/2003 y norma UNE 100030 IN 2001, esta última anulada y actualizada por norma UNE 100030 IN 2005, que establece los criterios higiénico-sanitarios para la prevención y control microbiológico de la legionelosis en instalaciones de riesgo como torres de refrigeración, condensadores

evaporativos entre otros (Ausina, 2005; Rojas y Figueras, 2006; Pelaz, 2006; Gea et al., 2012). A pesar del diagnóstico de casos y brotes de legionelosis acaecidos, tanto en España como en el resto del mundo, un factor que se considera vital en la disminución de casos de mortalidad por legionelosis continúa siendo actividades enfocadas al diagnóstico y pruebas de detección (Ausina, 2005). Por otra parte en países como México la legionelosis no es una enfermedad de declaración obligatoria (Hampton et al., 2016). Hasta el 2005 un reporte del sistema de vigilancia epidemiológica sólo había reportado dos casos con diagnóstico clínico de neumonía por *Legionella* spp., sin pruebas de laboratorio confirmatorias y ninguno por aislamiento del agente causal, estos fueron del Estado de México, Guerrero y Quintana Roo. Tampoco se había notificado brote de legionelosis en México, ni la bacteria se había aislado de ningún caso de neumonía. Sin embargo, debido a la globalización y desarrollo de la tecnología en el manejo y uso de agua se hace cada vez más necesario investigar su presencia en el país a fin de iniciar las medidas de vigilancia y control de su aparición y posibles infecciones (Díaz et al., 2011; Manzanares et al., 2014). Los últimos casos reportados de legionelosis en México con la confirmación de laboratorio fue de nueve viajeros al realizar una estancia de dos semanas en una cadena de hoteles en Cozumel, México entre mayo del 2008 y abril del 2010, los cuales enfermaron de legionelosis, determinándose a través de diferentes investigaciones que la fuente de infección común fue el sistema de agua potable del complejo hotelero (Hampton et al., 2016). Parecen ser pocos los estudios sobre

el control y vigilancia de riesgos sanitarios en el agua, equipos y sistemas relacionados como fuentes de riesgo de legionelosis, por la poca o nula disposición en la vigilancia, detección y prevención de manera habitual en laboratorios microbiológicos o por la baja incidencia de casos. Se requiere además replantear en el sistema de información para la vigilancia regular y certificación de la calidad microbiológica del agua, sistemas y equipos hídricos en sus diferentes normas regulatorias oficiales enfocadas al uso y consumo humano como la NOM-127-SSA1-1994, NOM-179-SSA1-1998, NOM-230-SSA1-2002, NOM-245-SSA1-2010, NOM-201-SSA1-2015, NOM-210-SSA1-2014 (Haro *et al.*, 2012; SE, 2018), a fin de generar actualizaciones en acciones preventivas, y no pos reactivas, correctivas y punitivas ante posibles brotes de legionelosis en México.

Análisis en el laboratorio para la detección, control y prevención de legionelosis

Se han reportado diferentes métodos para la detección e identificación de *Legionella* spp., los cuales involucran el cultivo e identificación por metodologías tradicionales y normalizadas que permiten estudios posteriores de tipificación y epidemiología para identificar fuentes de infección causantes de los casos, ensayos de sensibilidad a antimicrobianos y análisis moleculares (Ausina *et al.*, 2005; Pelaz, 2006; Borges *et al.*, 2012; Lösch y Merino, 2016).

L. pneumophila presenta diferentes características fenotípicas para su identificación, por ejemplo, ser un bacilo móvil, catalasa positivo que emplea los aminoácidos como principal fuente de energía, licuefacción de gelatina positivo además de

requerir para su cultivo sales de hierro y L-cisteína (Romero, 2007; Ulloa, 2008). Para el aislamiento y detección de *Legionella* spp., se han desarrollado diferentes procedimientos de recolecta de muestras ambientales, los cuales involucran aspectos que van desde la fuente, puntos de muestreo, tipo y número de muestras recolectadas para el estudio regular, o de investigación de brotes y casos asociados (Ausina, 2005; U.S.D.H.H.S.2005; CDC, 2015). Entre los métodos normalizados para la detección de *Legionella* spp., en agua están los desarrollados por la Organización Internacional de Normalización (ISO) como el 11731:1998, ISO 11731-2:2004, y NF T 90-431/2003 de la asociación francesa de normalización (AFNOR) (Pelaz, 2006; Borges *et al.*, 2012; Lösch y Merino, 2016), además del protocolo de laboratorio para la toma y procesamiento de muestras ambientales para la recuperación de *Legionella* spp., desarrollado por los centros para el control y prevención de enfermedades de EUA (CDC) (U.S.D.H.H.S.2005). Aunque hay diferentes métodos de análisis de agua, éstos comparten algunas similitudes, y de manera general están constituidos en cinco fases: **Concentración de la muestra. Descontaminación y reducción de microbiota asociada por tratamiento térmico y tratamiento ácido. Siembra en los medios de cultivo selectivos. Incubación y recuento, confirmación y tipificación de colonias aisladas.** Sin embargo, estos métodos tradicionales presentan limitaciones, por ejemplo, largos tiempos de incubación, especificidad, y dependencia del estado fisiológico de las células ya que estas pueden estar en estado viable pero no cultivable (condición reversible que aparece y constituye un mecanismo de resistencia y sobrevivencia contra factores ambientales desfavorables). Estos inconvenientes hacen que estas metodologías enfocadas en acciones preventivas, control y de pronta respuesta en situaciones de emergencia sean inadecuadas (Pelaz, 2006; Borges *et al.*, 2012; Lösch y Merino, 2016). Por ello, se encuentran alternativas en la detección y análisis de *Legionella* spp., mediante técnicas de enzimo-inmunoanálisis en agua de características análogas a la usada en la detección de antígeno lipopolisacárido de pared celular de *L. pneumophila* serogrupo 1 en orina, y ensayos de genómica como la PCR convencional o tiempo real, tanto cualitativa como cuantitativa, basados en estudios de genes como el 16S rRNA, 5S rRNA, 23S rRNA, mip (gen potenciador de infectividad en macrófagos) y gen de infectividad dotA involucrando diferentes etapas de análisis como: la concentración por filtración o centrifugación; la lisis bacteriana, extracción y purificación de los ácidos nucleicos; la amplificación de una o varias secuencias específicas, y la visualización del producto amplificado (Ausina *et al.*, 2005; Pelaz, 2006; Borges *et al.*, 2012). Un aspecto importante enfocado a los métodos moleculares es en su carácter de estudio epidemiológico donde técnicas como el análisis de polimorfismos en la longitud de fragmentos amplificados (AFLP) y electroforesis en gel de campos pulsados (PFGE), son considerados comúnmente en la caracterización de cepas posiblemente responsables de brotes e identificación del origen de infección. Se ha propuesto también como técnica alternativa la tipificación multilocus de secuencias (MLST) donde la secuenciación de varios genes ha presentado mayor precisión y reproducibilidad (Ausina, 2005; Rojas y Figueras 2006). Además, desde hace ya algunos años se han diseñado y propuesto para la rápida obtención de información en el análisis y pronta acción para prevención y control de legionelosis, un método automatizado *in situ* independiente de cultivo para la cuantificación de este microorganismo

en agua, el cual combina las fases de preconcentración, inmunocaptura y separación magnética de las células con técnicas colorimétricas (Ripolles et al. 2015). Pero todas estas técnicas moleculares no deben sustituir los ensayos de cultivo sino ser complementarios. La detección de este patógeno es muy importante para la predicción de riesgos y la eliminación de legionelosis de posibles fuentes de infección (Pelaz, 2006; Borges et al., 2012). La obtención de información microbiológica y su representatividad a través de las diferentes metodologías acorde al entorno en que se presentan depende de lo oportuno y efectividad de acciones en materia de salud pública (Ripolles et al., 2015).

Prevención y control de la legionelosis

Una parte fundamental en el proceso de control de la diseminación de la legionelosis es el conocimiento del nicho ecológico. Los microorganismos causales se localizan en ambientes acuáticos naturales y aquellos creados y manipulados por el hombre y pueden soportar un amplio rango de condiciones fisicoquímicas (incluyendo la temperatura) para su crecimiento y colonización. Diferentes instalaciones y equipos como por ejemplo: bañeras de hidromasaje, torres de refrigeración (unidades de aire acondicionado), sistemas hidráulicos, sistemas de agua potable, aguas termales, fuentes decorativas, máquinas productoras de hielo, unidades de trasplantes y unidades de odontología se han relacionado con la transmisión de *Legionella* spp., constituyendo una importante fuente de exposición y riesgo de infección (Ausina, 2005; Rojas y Figueras 2006; WHO, 2016; Lösch y Merino, 2016; CDC, 2018). Hay que considerar que el desarrollo de la enfermedad dependerá de diversos factores y no solo de la presencia de bacterias, tales como la intensidad de la exposición a aerosoles, tiempo de exposición, concentración de la bacteria, y susceptibilidad de las personas expuestas entre otras (Ausina, 2005). Hasta ahora no existen vacunas que puedan prevenir la legionelosis (WHO, 2016; CDC, 2018), por lo que su prevención se basa en el control y monitoreo regular de la calidad del agua, así como la aplicación de medidas de cumplimiento obligado enfocadas a minimizar o evitar condiciones de proliferación y sobrevivencia del agente causal (que favorecen el crecimiento y protección contra medidas de prevención aplicadas, tales como el hipercalentamiento, hipercloración y aplicación de biocidas), y por último, a través de acciones que incluyen el mantenimiento, limpieza, desinfección y buen funcionamiento de instalaciones de agua y aparatos, con aplicación de medidas físicas (térmicas) o químicas (biocidas)

para limitar al máximo la proliferación en los diferentes sistemas considerados de riesgo (Ausina, 2005; WHO, 2016; CDC, 2018).

CONCLUSIONES

Legionella spp., es un microorganismo considerado como patógeno emergente y de importancia en salud pública principalmente en países desarrollados, debido a su incidencia y mortalidad. Tiene como hábitat natural ecosistemas acuáticos y es resistente a diversas condiciones fisicoquímicas, siendo el agua su vehículo transmisor. Se ha establecido que la prevención y control de posibles casos o brotes de legionelosis requieren de acciones conjuntas en el control de la calidad microbiológica del agua y desarrollo, difusión, implementación y vigilancia en la aplicación de programas regulares de limpieza y desinfección por parte de entidades gubernamentales en materia de salud, organizaciones internacionales de salud, academia, sector industrial y población general.

LITERATURA CITADA

- Almahmoud I., Kay E., Schneider D., Maurin M. 2009. Mutational paths towards increased fluoroquinolone resistance in *Legionella pneumophila*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 64:284-293.
- Ausina V., Catalán V., Cercenado E., Pelaz A.C. 2005. Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 20. Diagnóstico microbiológico y control de la legionelosis. Ed: Emilia Cercenado y Rafael Cantón ISBN: 84-609-9044-3.
- Borges A., Simões M., Martínez Murcia A., Saavedra M. J. 2012. Detection of *Legionella* spp. in natural and man-made water systems using standard guidelines. *Journal of Microbiology Research* 2: 95-102.
- Bruin J.P., Koshkolda T., IJzerman EP., Luck C., Diederens Bram M., Den Boer J.W., Mouton J.W. 2014. Isolation of ciprofloxacin-resistant *Legionella pneumophila* in a patient with severe pneumonia. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 69:2869-2871.
- Cano P.R., Martín M.C., Pelaz A.C. 2010. Brotes de legionelosis notificados a la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Años 1999 a 2009. *Boletín epidemiológico semanal. Centro Nacional de Epidemiología. Ministerio de Ciencia e Innovación España. Semanas: 38-39 del 19/09 al 02/10 de 2010. 18:17/161-168. ISSN: 1135-6286.*
- CDC 2018. Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. HHS.Gov – Departamento de Salud y Servicios Humanos. GobiernoUSA.gov. Disponible en: <https://www.cdc.gov/legionella/about/causes-transmission-sp.html/20170902>
- CDC 2015. Centers for Disease Control and Prevention. Sampling Procedure and Potential Sampling Sites. Protocol for collecting environmental samples for *Legionella* culture during a cluster or outbreak investigation or when cases of disease may be associated with a facility. Disponible en: <https://www.cdc.gov/>

- legionella/downloads/cdc-sampling-procedure.pdf
- CSA 2015. Comité de seguridad alimentaria mundial. Contribución del agua a la seguridad alimentaria y la nutrición. Un informe del Grupo de alto nivel de expertos en seguridad alimentaria y nutrición. Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura (FAO). Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-av045s.pdf>
- Díaz D.G.C., Carrasco I.R.Z., Lozano J.C., Cahuich J.I.A. 2011. Legionelosis, una enfermedad olvidada en México. *Revista de Enfermedades Infecciosas en Pediatría*, 24: 42.
- Durán M.A., Valero C.N. 2010. *Legionella pneumophila*: An Emergent Pathogen in Zulia State, Venezuela Mini-review. *Kasmera* 38:168-171.
- Galindo S., Aramburú A., Condori F. J., Gutierrez E.L. Hajar G. 2017. Usefulness of urinary antigen detection tests for a rapid diagnosis of legionellosis. *Acta Médica Peruana* 34:333-334.
- Gea I.E., Haro G.L., Mezones H.E. 2012. Acciones de prevención y control de la legionelosis: un reto para la salud pública española. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública* 29:272-276.
- Hampton L.M., Brown E., Garrison L., Lucas C., Kattan J., Kozak M.N.A., Waterman S. 2016. Legionnaires' disease outbreak at a resort in Cozumel, Mexico. In *Open Forum Infectious Diseases*, 3(3), ofw170. 1-6.doi: 10.1093/ofid/ofw170
- Haro A.J., Calderon O.J.R. Nubes G. 2012. Riesgos sanitarios en calidad microbiológica del agua. Una evaluación en 10 estados de la república mexicana. *Región y sociedad*, 24:257-288.
- ISO. 1998. International Organization for Standardization. ISO 11731:1998 Water quality-Detection and enumeration of *Legionella*.
- ISO. 2004. International Organization for Standardization ISO 11731-2:2004 Water quality-Detection and enumeration of *Legionella*-Part 2: Direct membrane filtration method for waters with low bacterial counts.
- Lösch L.S., Merino L.A. 2016. Presencia de *Legionella* spp. en depósitos domiciliarios de agua potable en Resistencia, Chaco, Argentina. Informe preliminar. *Revista Argentina de Microbiología* 48:329-332.
- Manzanares L.G.L., Del Real S.S.G.M.E., Flores Chávez R.I., Montiel B.N.M. 2014. Detection of *Legionella pneumophila* in the water supply systems at the Autonomous University of the State of Mexico's (UAEM) Faculty of Dentistry. *Revista ADM* 71: 216-220.
- Pelaz A.C. 2006. Methods for legionella detection. *Revista de salud ambiental* 6(1-2), 80-84.
- Pulido M.D.P.A., Ávila de N.S.L., Estupiñán T.S.M., Prieto A. C. G. 2005. Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua. *NOVA Publicación en Ciencias Biomédicas*, 3: 69-79.
- 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, 171 de 18 de julio. Gobierno de España. Ministerio de Sanidad y Consumo. Disponible en: <http://www.boe.es/buscar/act.php?id=BOE-A-2003-14408>
- Ripollés A.A., Ferrer C., Jiménez M., Rodríguez G., Solís I. 2015. On-site monitoring and detection system for *Legionella* in waters. *Tecnoaqua*, 11, 76-81. Disponible en: www.tecnoaqua.es/20170903
- Rojas I.I., Figueras S.M.J. 2006. Microbiological and sampling criteria established in the present spanish legislation for the control of legionella. *Revista de Salud Ambiental* 6(1-2), 89-91.
- Romero C.R. 2007. Microbiología y parasitología humana. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias. (3ra edición), México D.F. Editorial Medica Panamericana.
- Sandrea T.L., Paz A.R.Y., Fuenmayor B.A., Montes A., Piña R.E., Nava D.M. 2015. *Legionella* spp. as causal agent of pneumonia. *Kasmera* 43:130-138.
- SE. 2018. Secretaria de Economía. Normas oficiales mexicanas. Gobierno de los Estados Unidos Mexicanos. Disponible en: <http://www.economia-noms.gob.mx/noms/inicio.do>
- U.S.D.H.H.S. 2005. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Respiratory Disease Laboratory Section. Procedures for the Recovery of *Legionella* from the Environment. disponible en: http://www.flenviro.com/CDC_legionella_method.pdf
- Ulloa M.T. 2008. *Legionella pneumophila*. *Revista chilena de infectología*, 25:208-208.
- WHO. 2016. World Health Organization. Legionelosis. Nota descriptiva. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs285/es/> 20170824

