



Castilla-La Mancha

Consejería de Sanidad
Dirección General de Salud Pública y Consumo
Avenida de Francia, 4 - 45071 Toledo

Brote de legionelosis en Manzanares (Ciudad Real)

Informe de la Dirección General de Salud Pública y Consumo

21-Octubre- 2016



Brote de legionelosis en Manzanares (Ciudad Real) Informe de la Dirección General de Salud Pública y Consumo

Contenido:

1. **Resumen de Actuaciones Realizadas**
2. **Informe Medioambiental**
3. **Informe Microbiológico**
4. **Informe Epidemiológico**
5. **Referencias Bibliográficas**
6. **Anexos:**
 - **Anexo I: Protocolo de Actuaciones en Instalaciones de Riesgo frente a Legionella**
 - **Anexo II: Protocolo de Vigilancia de Legionelosis**
 - **Anexo III: Cuestionario Epidemiológico de Legionelosis**
 - **Anexo IV: Protocolo de Actuaciones en Brotes Comunitarios de Legionella**



Castilla-La Mancha

Consejería de Sanidad
Dirección General de Salud Pública y Consumo
Avenida de Francia, 4 - 45071 Toledo

Brote de legionelosis en Manzanares (Ciudad Real)

Resumen de Actuaciones Realizadas

Brote de Legionelosis en Manzanares (Ciudad Real) Actuaciones Realizadas

Declaración del Brote

A las 14 horas del día 11 de diciembre de 2015 la Sección de Epidemiología de Ciudad Real comunica al Servicio de Epidemiología (correo electrónico) dos casos de legionelosis:

- Ambos residentes en Manzanares y, en principio sin ninguna vinculación entre sí.
- Uno de ellos es un distribuidor de productos electrónicos que se mueve bastante por el Polígono Industrial de Manzanares.

A las 16 horas de ese mismo día, la Sección de Epidemiología de Ciudad Real comunica dos casos más:

- Uno de ellos con residencia en Manzanares.
- Otro que trabaja en el Polígono Industrial de Manzanares y reside en Alcazar de San Juan.

Del análisis inicial de los cuestionarios epidemiológicos parece desprenderse una posible asociación con alguna instalación de riesgo ubicada en el Polígono Industrial de Manzanares ya que:

- Uno de los casos, el residente en Alcazar de San Juan, trabaja en el Polígono Industrial de Manzanares y
- Otro, residente en Manzanares, trabaja como distribuidor de productos electrónicos que reparte fundamentalmente en el Polígono Industrial.

Dada la asociación espacial (los cuatro casos tenían alguna relación con Manzanares, dos de ellos con el Polígono) y temporal (tres de ellos inician síntomas dentro de un periodo de 4 días), El Jefe de Servicio de Epidemiología comunica inmediatamente al Director General de Salud Pública:

- La existencia de un posible brote de legionelosis en Manzanares
- Probablemente relacionado con alguna instalación de riesgo del Polígono Industrial de Manzanares

Con la información existente, el Director General de Salud Pública ordena la puesta en marcha con carácter de urgencia del protocolo de actuaciones ante brotes comunitarios de legionelosis.

El Jefe de Servicio de Epidemiología contacta telefónicamente con el Jefe de Servicio de Sanidad Ambiental para informarle de la situación, así como de las instrucciones del Director General de Salud Pública y, por lo tanto, la necesidad de adecuar el protocolo general de actuaciones frente a brotes comunitarios de legionelosis a las circunstancias y características de la situación actual.

Actuaciones Inmediatas

El Jefe de Servicio de Epidemiología propone al Director General de Salud Pública la adopción inmediata de las siguientes medidas

- 1) Obtener la relación de torres de refrigeración y otras instalaciones de riesgo ubicadas en el municipio de Manzanares. Examinar rigurosamente las revisiones e inspecciones realizadas en el último año.
- 2) Los Inspectores de Distrito pedirán a las empresas que paren las instalaciones de riesgo, al menos de aquellas cuyo funcionamiento no sea absolutamente imprescindible, hasta que se proceda a la toma de muestras y se obtengan los primeros resultados.
- 3) Se tomarán muestras lo antes posible de todas y cada una de las instalaciones de riesgo ubicadas en Manzanares, priorizando las existentes en el Polígono Industrial.
- 4) Informar al Servicio de Urgencias del Hospital de Manzanares para que se descarte legionelosis (prueba de antígeno en orina) a cualquier paciente que ingrese en urgencias por neumonía o infección respiratoria grave.
- 5) Indicar que cualquier caso de legionelosis que se pudiera diagnosticar en el Hospital se declare con carácter de urgencia a la Guardia de Epidemiología.
- 6) Intentar obtener cultivo de esputo o de broncoaspirado de los casos que se pudieran confirmar por antígeno.
- 7) Informar a los Servicios de Urgencias de los Centros de Salud de Manzanares y Membrilla para que deriven al Hospital de Manzanares todos los casos de neumonía que atiendan.

A las 17 horas del día 11 de diciembre de 2015, el Director General de Salud Pública aprueba la propuesta de actuaciones.

El Jefe de Servicio de Epidemiología contacta con la Jefa de Sección de Epidemiología y la Jefa de Salud Pública de la Dirección Provincial de Sanidad de Ciudad Real a las que remite inmediatamente por correo electrónico las instrucciones de actuación aprobadas por el Director General de Salud Pública

- La Sección de Epidemiología de Ciudad Real informa telefónicamente al Servicio de Urgencias del Hospital de Manzanares y a los Centros de Salud de Manzanares y Membrilla.
- El Director General de Salud Pública, informa asimismo al Consejero de Sanidad y a la Directora Gerente del SESCAM que aprueban las decisiones tomadas y piden estar informados puntualmente de todas las incidencias que pudieran ocurrir y las decisiones que hubieran de adoptarse en función de la marcha de los acontecimientos.

Esa misma tarde, el Jefe de Servicio de Sanidad Ambiental coordina con la Jefa de Servicio de Salud Pública de Ciudad Real y con los Inspectores del Distrito de Salud Pública de Manzanares la inspección y toma de muestras de las instalaciones de riesgo.

- Durante el fin de semana (días 12 y 13 de diciembre) los inspectores de distrito llevan a cabo la inspección y toma de muestras de las instalaciones de riesgo ubicadas en el polígono industrial de Manzanares.

Asimismo, el Jefe de Servicio de Sanidad Ambiental coordina con la Jefa de Servicio de Salud Pública de Ciudad Real el envío y recepción de muestras al Laboratorio de Salud Pública del Instituto de Ciencias de la Salud de Talavera de la Reina que comienza ese mismo fin de semana el procesamiento y análisis de las muestras ambientales.

Durante el fin de semana, la Sección de Epidemiología de Ciudad Real se mantiene en contacto permanente con la Gerencia de Atención Integrada de Manzanares que declara dos nuevos casos de legionelosis, uno de ellos derivado al Hospital General de Ciudad Real.

El sábado día 12 de diciembre se declara un nuevo caso confirmado que corresponde a una mujer con residencia en Membrilla que trabaja en el Polígono Industrial de Manzanares, lo que refuerza aun más la hipótesis inicial de asociación de los casos con una instalación de riesgo ubicada en el Polígono.

Durante todo el fin de semana, el Director General de Salud Pública mantiene un contacto permanente con los Jefes de Servicio de Sanidad Ambiental y Epidemiología, coordinándose estos últimos con los respectivos servicios periféricos.

El domingo 13 de diciembre de 2015, el Director General de Salud Pública convoca a los Jefes de Servicio de Sanidad Ambiental y Epidemiología para celebrar una reunión el lunes 14 de diciembre en la sede de la Consejería de Sanidad para analizar la información existente, evaluar la adopción de medidas adicionales y proponer la constitución de la Comisión de Seguimiento del Brote al objeto de coordinar las actuaciones y dirigir el estudio del brote en sus vertientes epidemiológica, ambiental y microbiológica.

Administración y Gestión del Brote

A primera hora de la mañana del lunes 14 de diciembre se reúne el Consejo de Dirección de la Consejería de Sanidad que toma las siguientes decisiones:

- a) Nombrar como portavoz único ante los medios de comunicación y la población al Director General de Salud Pública.
- b) Emitir una nota de prensa informando a la población de la declaración de un brote de legionelosis en el municipio de Manzanares.
- c) El Director General de Salud Pública, a través de los medios de comunicación, informará diariamente a la población de la marcha del brote así como de las recomendaciones y medidas que se vayan adoptando
- d) Aprobar la constitución de la **Comisión Técnica del Brote** cuya función esencial es llevar a cabo un seguimiento detallado del curso del brote, coordinando la adopción de

las medidas necesarias para controlar el brote lo antes posible. Dicha Comisión se compone de las siguientes personas:

- Director General de Salud Pública
- Director Provincial de Sanidad de Ciudad Real
- Jefe de Servicio de Sanidad Ambiental
- Jefa de Servicio de Salud Pública de Ciudad Real
- Jefe de Servicio de Epidemiología
- Jefas de Sección de Sanidad Ambiental y Epidemiología de Ciudad Real
- Técnicos de Epidemiología y Sanidad Ambiental (Servicios Centrales y Periféricos)

Comisión de Seguimiento del Brote

Desde el primer momento, el Servicio de Epidemiología y la Sección de Epidemiología de Ciudad Real llevan a cabo un seguimiento y análisis detallado de todos y cada uno de los casos declarados, informando puntualmente al Director General de Salud Pública que informa a su vez al Consejero de Sanidad y a la Dirección Gerencia del Servicio de Salud de Castilla-La Mancha.

Desde el día 11 de diciembre de 2015 hasta el día 16 de diciembre, la declaración diaria y acumulada de casos fue la siguiente:

Fecha	Diario	Acumulado
11/12/2015	4	4
12/12/2015	1	5
13/12/2015	1	6
14/12/2015	7	13
15/12/2015	1	14
16/12/2015	5	19

A la luz de estos datos y teniendo en cuenta que las instalaciones identificadas como posibles causas del brote se habían cerrado entre los días 14 y 15 de diciembre, la Comisión Técnica del Brote consideró que en los próximos 6-8 días podrían aparecer un número importante de casos por lo que sería necesaria una coordinación estrecha entre los servicios de salud pública y los servicios asistenciales, trasladando esta consideración al Consejero de Sanidad que, a la vista de los informes, dio instrucciones para que se constituyera de forma inmediata la **Comisión de Seguimiento del Brote de Legionelosis en Manzanares**.

De acuerdo con sus instrucciones, dicha Comisión debería estar compuesta por las siguientes personas:

- 1.- Director General de Salud Pública.

- 2.- Director General de Asistencia Sanitaria del Servicio de Salud de Castilla-La Mancha.
- 3.- Director de Hospitales de la Dirección General de Asistencia Sanitaria del Servicio de Salud de Castilla-La Mancha.
- 4.- Director de Atención Primaria de la Dirección General de Asistencia Sanitaria del Servicio de Salud de Castilla-La Mancha.
- 5.- Director de la Gerencia de Atención Integrada de Manzanares
- 6.- Director Provincial de Sanidad de Ciudad Real
- 7.- Jefe de Servicio de Salud Ambiental de la Dirección General de Salud Pública
- 8.- Jefe de Servicio de Epidemiología de la Dirección General de Salud Pública.

Inicialmente, se encomendaron a la Comisión de Seguimiento del Brote las siguientes funciones:

- a) Conocimiento puntual y permanente de la aparición de nuevos casos.
- b) Seguimiento de la situación clínica de los casos declarados.
- c) Coordinar la toma, envío y análisis de muestras clínicas y ambientales
- d) Controlar la situación y funcionamiento de las instalaciones de riesgo
- e) Coordinarse con las instituciones y autoridades sanitarias nacionales
- f) Programación de las actuaciones a realizar hasta la remisión del brote.
- g) Informar puntualmente al Consejero de Sanidad de todas las incidencias y medidas adoptadas.

Los miembros de la Comisión deberán estar en contacto permanente, reuniéndose, bien con presencia personal de sus miembros o por videoconferencia, de manera inmediata cuando las circunstancias así lo requieran.

La Comisión de Seguimiento del Brote celebra su reunión constitutiva el día 17 de diciembre de 2015 en la sede de la Consejería de Sanidad.

En la reunión constitutiva, el Consejero de Sanidad dio instrucciones para que, a través de la Comisión Técnica del Brote, se canalizara y fomentara la participación de todos los profesionales sanitarios implicados en el brote.

Siguiendo las instrucciones del Consejero de Sanidad, el viernes 18 de diciembre se convocó una **videoconferencia** en los Servicios Centrales del Servicio de Salud de Castilla-La Mancha con la participación de los siguientes profesionales:

- Director General de Salud Pública.
- Director de la Gerencia de Atención Integrada de Manzanares
- Director Provincial de Sanidad de Ciudad Real
- Personal técnico de la Dirección de Asistencia Sanitaria del Servicio de Salud de Castilla-La Mancha.
- Jefe de Servicio de Sanidad Ambiental de la Dirección General de Salud Pública
- Jefa de Servicio de Salud Pública de la Dirección Provincial de Sanidad de Ciudad Real.
- Jefe de Servicio de Epidemiología de la Dirección General de Salud Pública
- Jefas de Sección de Epidemiología y Sanidad Ambiental de la Dirección Provincial de Sanidad de Ciudad Real.
- Profesionales sanitarios de las Gerencias de Atención Integrada de Manzanares y de Ciudad Real, correspondientes a las siguientes unidades y servicios:
 - Urgencias Hospitalarias
 - Medicina Interna
 - Unidad de Cuidados Intensivos
 - Microbiología
 - Enfermería
 - Coordinadoras de los Centros de Salud de Manzanares.

En dicha videoconferencia se revisó la situación del brote así como las actuaciones llevadas a cabo hasta esa fecha tanto por los servicios de salud pública como por los clínicos de las gerencias de Manzanares y Ciudad Real.

Las conclusiones y actuaciones más relevantes de la videoconferencia fueron las siguientes:

- a) El brote estaba adquiriendo una magnitud importante por lo que era necesario aunar y coordinar aún más los esfuerzos y actuaciones de todos los implicados.
- b) No obstante, teniendo en cuenta el control llevado a cabo sobre las instalaciones de riesgo y la curva epidémica, se estimó que en los próximos días habría un incremento considerable de los casos aunque previsiblemente, como así ocurrió, a partir de los días 24-25 de diciembre se observaría un acusado descenso.
- c) Era previsible que después de los días 24-25 de diciembre se siguieran observando algunos casos aislados, bien por ser pacientes que acuden con retraso a los

servicios sanitarios asistenciales o bien, como ocurre en la mayoría de los brotes, por tratarse de casos atípicos.

- d) Se revisó y actualizó el protocolo de actuaciones clínicas elaborado por la Gerencia de Atención Integrada de Manzanares.
- e) El Servicio de Epidemiología se comprometió a difundir los dos informes de situación que se elaboraban diariamente a todos los profesionales sanitarios implicados en el brote.

Reunión de la Comisión de Seguimiento del Brote (Martes 22 de Diciembre de 2015)

- La reunión se celebra en la sede de los Servicios Centrales del Servicio de Salud de Castilla-La Mancha.
- Se revisan las actuaciones llevadas a cabo hasta el momento.
- Con la información disponible, se constata que está descendiendo de manera importante el número de urgencias atendidas en el Hospital de Manzanares.
- Se evalúan la eficacia de las medidas adoptadas y la plausibilidad de las hipótesis causales barajadas hasta ese momento.
- A pesar de que el brote parece ir atenuándose, se plantean y formulan hipótesis alternativas ante la posibilidad de que la instalación o instalaciones de riesgo no estuvieran controladas.
- Se baraja que una de las posibles causas de persistencia del brote, si así ocurriera, estuviera en la existencia de una instalación de riesgo no identificada por lo que se decide que un helicóptero de la Gerencia de Urgencias y Emergencias del Servicio de Salud de Castilla-La Mancha inspeccione el municipio en busca de instalaciones de riesgo no controladas.
- El día 23 de diciembre, el helicóptero sobrevuela el municipio de Manzanares sin encontrar ninguna instalación de riesgo no controlada.

Reunión de la Comisión de Seguimiento del Brote (Lunes 4 de Enero de 2016)

- La reunión se celebra en la sede de la Consejería de Sanidad de Castilla-La Mancha.
- Se constata que desde el día 25 de diciembre tan sólo se ha declarado algún caso atípico, coincidiendo con las previsiones efectuadas en la primera semana del brote.
- Se revisan las actuaciones llevadas a cabo hasta el momento, especialmente las inspecciones, toma de muestras y resultados analíticos de las instalaciones consideradas de riesgo.

- Se decide llevar a cabo controles analíticos tanto en las instalaciones que hubieran dado resultado positivo como en las que no lo hubieran dado hasta ese momento.
- De acuerdo con esa decisión se ordena que los inspectores de salud pública procedan a la toma de muestras ambientales en todas las instalaciones de riesgo a partir del día 5 de enero de 2016.

Reuniones Celebradas en Manzanares

1) Lunes 21 de Diciembre de 2105

- a) **Rueda de Prensa**, abierta al público, en el Salón de Actos del Hospital de Manzanares con la intervención del Director General de Salud Pública, el Alcalde de Manzanares y el Director de la Gerencia de Atención Integrada de Manzanares.
- b) **Reunión** en la Sala de Juntas de la Dirección del Hospital de Manzanares con participación del Director General de Salud Pública, Concejales del Ayuntamiento de Manzanares, Director Provincial de Sanidad de Ciudad Real y Jefes de Servicio de Epidemiología y Sanidad Ambiental.
 - Se acuerda que al día siguiente los inspectores de distrito mantendrán una reunión con técnicos del Ayuntamiento de Manzanares para contrastar las instalaciones de riesgo inspeccionadas hasta el momento por Salud Pública con las identificadas por el Ayuntamiento.
- c) **Reunión de Coordinación** en la Sala de Juntas de la Dirección del Hospital de Manzanares con participación del Director General de Salud Pública, Director de la Gerencia de Atención Integrada de Manzanares, Director Provincial de Sanidad de Ciudad Real, profesionales sanitarios de la Gerencia de Atención Integrada de Manzanares y los Jefes de Servicio de Epidemiología y Sanidad Ambiental.

2) Martes 5 de Enero de 2016

- a) **Reunión de Coordinación** en la Sala de Juntas de la Dirección del Hospital de Manzanares con participación del Director General de Salud Pública, Director de la Gerencia de Atención Integrada de Manzanares, Director Provincial de Sanidad de Ciudad Real, profesionales sanitarios de la Gerencia de Atención Integrada de Manzanares, Jefe de Servicio de Epidemiología y técnicos de la Dirección Provincial de Sanidad de Ciudad Real (Jefa de Servicio de Salud Pública, Jefas de Sección de Epidemiología y Sanidad Ambiental).

3) Martes 9 de Febrero de 2016

- a) **Reunión** en las dependencias del Ayuntamiento de Manzanares con el Alcalde y empresarios con instalaciones de riesgo para informarles de la justificación de las medidas adoptadas y la necesidad de mantener rigurosamente los programas de control de legionelosis en sus instalaciones.

- b) **Reunión** en el Centro Social anexo al Ayuntamiento de Manzanares con asociaciones y entidades ciudadanas para presentar las actuaciones llevadas a cabo y las conclusiones provisionales hasta ese momento y responder a las dudas que pudieran tener los asistentes.

4) **Lunes 15 de Febrero de 2016**

- a) **Sesión Clínica** en el Salón de Actos del Hospital de Manzanares para presentar a los profesionales sanitarios y resto de trabajadores del hospital el informe provisional del brote.

5) **Jueves 18 de Febrero de 2016**

- a) **Sesión Clínica** en la Sala de Reuniones del Centro de Salud I de Manzanares para presentar a los profesionales sanitarios de Atención Primaria el informe provisional del brote.

Coordinación con Autoridades e Instituciones Sanitarias Nacionales

- 1) El Director General de Salud Pública de Castilla-La Mancha mantuvo informada de la situación (teléfono y correo electrónico) a la Directora General de Salud Pública del Ministerio de Sanidad y Asuntos Sociales.
- 2) El Servicio de Epidemiología informó puntualmente y facilitó los correspondientes informes de situación a:
 - a) Director del Centro Coordinador de Alertas y Emergencias Sanitarias (CCAES) del Ministerio de Sanidad y Asuntos Sociales.
 - b) Jefa de Área de Vigilancia Epidemiológica del Centro Nacional de Epidemiología.
 - c) Directora del Centro Nacional de Epidemiología.
- 3) **Reunión de Expertos Nacionales**
 - El Jueves 14 de Enero de 2016 se celebra en la Sede de la Consejería de Sanidad una Reunión con un Grupo de Expertos en brotes de legionelosis.
 - En dicha reunión participan profesionales de salud pública de diferentes instituciones:
 - Centro Coordinador de Alertas y Emergencias Sanitarias (CCAES) del Ministerio de Sanidad y Asuntos Sociales.
 - Centro Nacional de Epidemiología
 - Comunidad Autónoma de Madrid

- Comunidad Valenciana
- Comunidad Autónoma de Murcia
- Comunidad Autónoma de Andalucía
- El Jefe de Servicio de Epidemiología llevó a cabo una exposición detallada del brote procediéndose a continuación a un análisis de las actuaciones y posibles causas del mismo.
- Las conclusiones más relevantes de la discusión fueron:
 - Todos los expertos valoran positivamente las medidas adoptadas así como la rapidez con la que se han tomado.
 - Todos coinciden en que la curva epidémica parece corresponderse con un brote ocasionado por una exposición puntual de una fuente común aunque no descartan la posibilidad de que algunos casos procedan de otras fuentes.
 - Consideran que el brote está finalizado.
 - Proponen que se lleven a cabo más estudios epidemiológicos para identificar con mayor precisión el origen del brote.

Finalización del Brote

- El lunes 3 de Febrero de 2016, una vez que han transcurrido 28 días (el doble del máximo periodo de incubación en brotes) desde la declaración del último caso, el brote se puede dar por finalizado desde el punto de vista de la transmisión comunitaria.



Castilla-La Mancha

Consejería de Sanidad
Dirección General de Salud Pública y Consumo
Avenida de Francia, 4 - 45071 Toledo

Brote de legionelosis en Manzanares (Ciudad Real)
Informe Medioambiental

Brote de Legionelosis en Manzanares

Investigación Ambiental

INTRODUCCIÓN

La legionelosis es una enfermedad de origen ambiental causada por la bacteria *Legionella*. El término legionelosis se utiliza para describir las distintas formas de presentación de la enfermedad: la infección pulmonar denominada “enfermedad del legionario” que se caracteriza por neumonía con fiebre alta, y la forma no neumónica conocida como “fiebre de Pontiac”, que se manifiesta como un síndrome febril agudo y de pronóstico leve.

La enfermedad puede ser adquirida en el ámbito comunitario y en el hospitalario (nosocomial), presentándose como casos aislados o esporádicos o como brotes.

La *Legionella* es una bacteria ambiental capaz de sobrevivir en un amplio intervalo de condiciones físico-químicas, multiplicándose entre los 20°C y 45°C. Desde su nicho ecológico natural, principalmente aguas superficiales, coloniza los sistemas de abastecimiento de las poblaciones, incorporándose a las instalaciones de riesgo que requieren agua para su funcionamiento. Las instalaciones que han sido identificados con mayor frecuencia como focos de infección son los sistemas de distribución de agua sanitaria (caliente y fría) y los sistemas de refrigeración (las torres de refrigeración y condensadores evaporativos).

El mal estado de las instalaciones, su inapropiado diseño y la ausencia o incorrecto mantenimiento, pueden originar un estancamiento de agua y acumulación de lodos, materia orgánica, materiales de corrosión y protozoos, formando una biocapa.

La presencia de esta biocapa y temperaturas propicias, favorecen la multiplicación de *Legionella* en estas instalaciones de riesgo hasta concentraciones infectantes para el ser humano.

El 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, determina las medidas que deben adoptarse en aquellas instalaciones de riesgo, donde la *Legionella* es capaz de proliferar y diseminarse.

- En la citada normativa, se confiere la responsabilidad a los titulares de las instalaciones para el cumplimiento de lo dispuesto en el Real Decreto y de que se lleven a cabo los obligados programas de mantenimiento periódico, las mejoras estructurales y funcionales de las instalaciones, así como del control de la calidad microbiológica y físico-química del agua, con el fin de que no representen un riesgo para la salud pública. La contratación de un servicio externo no exime al titular de la instalación de su responsabilidad.



ANTECEDENTES CRONOLÓGICOS

El día 11 de diciembre, tras la declaración inicial del brote, el Jefe de Servicio de Sanidad Ambiental, realiza las siguientes comunicaciones:

- ✓ Con la Jefa de Servicio de Salud Pública de la Dirección Provincial de Sanidad de Ciudad Real, estableciendo la necesidad de realizar inspección y toma de muestras de las diferentes instalaciones de riesgo del polígono industrial de Manzanares.

Debido a que los Inspectores del Distrito de Salud Pública informan de la imposibilidad de la toma de muestras, por problemas de oscuridad y ausencia de luminosidad para la realización de la toma, se decide realizar la programación, iniciando la toma de muestras a primeras horas del día siguiente. Las muestras se tomarán en diferentes puntos de la instalación de riesgo por duplicado: una de ellas para el análisis mediante técnica rápida con el método de separación inmunomagnética (SIM) y la otra para cultivo.

- ✓ Con el Jefe de Sección de Microbiología Ambiental del Laboratorio de Salud Pública del Instituto de Ciencias de la Salud de Talavera de la Reina, indicándole que, debido a la declaración de brote, se remitirán muestras a ese Laboratorio.

El Jefe de Servicio de Sanidad Ambiental informa de estas actuaciones al Director General de Salud Pública y al Jefe de Servicio de Epidemiología.

2. Con fecha 12 de diciembre de 2015, se declara un nuevo caso (trabajadora en una empresa del Polígono Industrial de Manzanares) lo que refuerza la sospecha de que alguna instalación de riesgo podría estar provocando casos:

Los Inspectores de distrito proceden a la toma de muestras de las siguientes instalaciones de riesgo:

Establecimiento	Tipo de instalación (nº)	Nº de muestras
Empresa Aluminios Cortizo	Torres de refrigeración (1)	4
Empresa Exide Technologie	Torres de refrigeración (7)	14
Empresa Lácteos Cuquerella – Quesos El Hidalgo	Condensador evaporativo (1)	4

Asimismo, comunica que no se ha realizado la toma de muestras en las siguientes instalaciones de riesgo:



- Las 3 torres de refrigeración del Hospital de Manzanares, debido a que desde el 1 de noviembre de 2015 estaban paradas y por lo tanto, actualmente, vacías.
- Los 25 equipos de enfriamiento evaporativo de la empresa SMS (System Manufacturing Spain), al no funcionar estos equipos desde el mes de octubre de 2015.
- La torre de refrigeración del hotel El Cruce, al no funcionar desde el año 2013 y los 3 equipos de enfriamiento evaporativo del mismo hotel que no han funcionado en el año 2015.

De forma general, se informa a los establecimientos de la obligación de parar el funcionamiento de las instalaciones hasta la obtención de resultados analíticos. En caso de resultado negativo, pueden volver a su funcionamiento, previo tratamiento.

3. Con fecha 13 de diciembre de 2015, se empiezan a procesar las muestras en el Laboratorio de Salud Pública del Instituto de Ciencias de la Salud de Talavera de la Reina.

A las 20:30 horas el Jefe de Sección de Microbiología Ambiental del citado Laboratorio, informa al Jefe de Servicio de Sanidad Ambiental que las muestras analizadas por la técnica rápida (SIM) han sido negativas.

Esta información es trasladada por éste último al Director General de Salud Pública, al Jefe de Servicio de Epidemiología y a la Jefa de Servicio de Salud Pública de la Dirección Provincial de Sanidad de Ciudad Real.

4. 14-15 de diciembre de 2015

Asimismo, los días 14 y 15 de diciembre de 2015, se continúa con la toma de muestras de instalaciones de riesgo con emisiones exteriores. La sistemática es equivalente a la anterior toma de muestras, es decir, muestras por duplicado de diferentes puntos de la instalación de riesgo; si es posible: una para análisis mediante técnica rápida (SIM) y la otra para cultivo.

Asimismo, se comunica a los establecimientos, la paralización de las instalaciones hasta conocer los resultados analíticos.

Los muestreos de las instalaciones y establecimientos son los siguientes:

Establecimiento	Tipo de instalación (nº)	Nº de muestras
Campo de fútbol	Riego por aspersión (1)	2
Fuentes ornamentales municipales		
- Estación de autobuses	Chorro y depósito (1)	4
- Piedra junto al teatro	Fuente (1)	2
- Parque municipal	Estanque (1)	2
Hospital Virgen de Altagracia	Riego por aspersión (1)	2
Empresa Talleres Alcántara	Lavadero de coches (1)	2
Empresa Lavandería Manzanares	Torre de refrigeración (1)	2
Empresa Telefónica España	Torre de refrigeración (1)	2
Empresa Tostados y Fritos (TOSFRIT)	Torre de refrigeración (2)	4

Como datos adicionales, los Servicios Oficiales de Salud Pública informan lo siguiente:

- La torre de Telefónica de España funciona 2 horas al mes, recirculando diariamente el biocida por todo el circuito.

Las últimas puestas en marcha fueron el 4 de octubre y 4 de diciembre de 2015.

- El agua de riego del Hospital se acumula en un depósito donde se clora.
- Sobre las fuentes municipales:
 - Según información municipal, el agua de la fuente ornamental de la estación de autobuses se clora una vez a la semana.
 - En el estanque de la fuente ornamental del parque municipal, el agua está estancada sin cambiar. En el centro del estanque hay un geiser.
- La torre de la empresa Lavandería Manzanares en el momento de la inspección está parada, ya que están reparando un motor, indicando la empresa que lleva 17 días sin funcionar (posteriormente se tuvo conocimiento que la avería no era de la torre sino de un sistema de cogeneración al cual enfría la torre).
- El agua de riego del campo de fútbol procede de un pozo y no se clora. Se riega de manera alterna cada dos días.

- La empresa Tostados y Fritos (TOSFRIT) tiene 2 torres de refrigeración no censadas, al no haber presentado el titular su solicitud, tal como establece la normativa vigente.

Las citadas torres están en mal estado de conservación.

Asimismo, la Inspección de Salud Pública informa que no se toma muestras de las siguientes instalaciones por las causas que se indican:

- La torre de refrigeración de la empresa Yuntero, que no estaba censada, debido a que únicamente ha funcionado en el mes de septiembre, para realizar pruebas hidráulicas.
- El humectador y equipo de enfriamiento evaporativo de la empresa Bodegas Isidro Milagro, debido a que los aerosoles no salen al exterior.
- El equipo de enfriamiento evaporativo de la empresa JVS Passion Fruit, al estar cerrada.

Los resultados analíticos de las muestras tomadas en los días 14-15 de diciembre son negativos a excepción de las siguientes:

Establecimiento	Instalación	(*)	Técnica	Resultado
Fuente municipal de la estación de autobuses	Fuente (chorro)	0.6	SIM	7.200 ufc/l
	Depósito	0.16	SIM	3.300 ufc/l
Empresa Lavandería Manzanares	Torre de refrigeración	-	SIM	210 ufc/l

(*) nivel de desinfectante clorado en ppm

Sobre estos resultados hay que especificar que:

- En el caso de la fuente de la estación de autobuses (chorro y depósito):
 - Son significativos los resultados cuantitativos de presencia *Legionella* teniendo en cuenta el nivel de desinfectante.
 - Posterior a los análisis por técnica rápida se procedió a realizar cultivos para intentar aislar la bacteria. El resultado del cultivo fue negativo.
- En el caso de la torre de la empresa Lavandería Manzanares:

Como en el caso anterior, se procedió a realizar cultivo de para intentar aislar la bacteria observándose, asimismo, un crecimiento excesivo de microorganismos acompañantes.

Después de varios tratamientos se consiguió aislar dos cepas:

- El día 23/12/2015 se aísla una colonia cuya morfología es compatible con *Legionella*. Tras realizar pruebas de identificación se confirma como *Legionella pneumophila* serogrupo 3.

- El día 28/12/2015 se aísla una colonia cuya morfología es compatible con *Legionella*. Tras realizar pruebas de identificación se confirma como *Legionella pneumophila* serogrupo 1.

Ambas cepas se remitieron al Centro Nacional de Microbiología (CNM) para su tipificación por secuenciación genética, con objeto de su posible comparación con los aislamientos obtenidos de las muestras clínicas de los enfermos.

5. Con fecha 16 y 17 de diciembre de 2015, se comunica al Ayuntamiento que, debido al resultado positivo, la fuente de la estación de autobuses deberá continuar con la parada de su funcionamiento de la instalación, vaciar el sistema y realizar limpieza y desinfección, indicándose el procedimiento.

Esta parada de funcionamiento se extiende al resto de las fuentes ornamentales municipales.

En el caso de la empresa Lavandería Manzanares, se procede a informar del resultado ordenando parar el funcionamiento de la instalación, vaciar el sistema, limpiar y realizar un tratamiento de choque.

Por otro lado, el 16 de diciembre de 2015 el Distrito de Salud Pública informa que se han visitado 82 establecimientos para la comprobación de la existencia de instalaciones de riesgo, ampliándose en 21 establecimientos, con fecha 17 de diciembre de 2015.

6. Con fecha 21 de diciembre de 2015, el Distrito de Salud Pública informa de 13 nuevas actuaciones realizadas en distintos establecimientos.

El Servicio de Epidemiología comunica la posibilidad de remisión de muestras al Laboratorio de Secuenciación Genética de la Unidad Mixta de Infección y Salud Pública de la Universidad de Valencia. Se estudia esta posibilidad y, entendiendo que puede ayudar a la investigación, se seleccionan las muestras para su remisión.

7. Con fecha 22 y 23 diciembre de 2015, se procede a realizar las siguientes actuaciones:

a) Remisión de las siguientes muestras al Laboratorio de la Universidad de Valencia:

- ✓ 10 muestras ambientales:
 - 2 muestras de la torre de la empresa Lavandería Manzanares.
 - 8 muestras de las fuentes municipales:
 - 2 muestras de raspado de los chorros de la fuente ornamental de la estación de autobuses.

- 2 muestras del depósito de la fuente ornamental de la estación de autobuses.
- 2 muestras de la fuente ornamental de piedra junto al teatro.
- 2 muestras de la fuente ornamental del estanque

b) Por otro lado, se programa y toman muestras de nuevas instalaciones que se describen a continuación, para su análisis en el Laboratorio de Salud Pública de Talavera de la Reina.

Se toman las muestras que se describen:

Establecimiento	Tipo de instalación (nº)	Nº de muestras
Camión lavadora (baldeo calles)	Depósito (1)	2
Camión limpieza de contenedores de basuras	Depósito, grifo y pistola (1)	6
Finca Cinco puentes	Riego por aspersión (1)	2
Empresa Cooperativa Yuntero	Agua de depuradora (1)	4
EDAR Manzanares	Agua EDAR (1)	4

Los resultados analíticos de estas muestras y remitidas al Laboratorio de Talavera de la Reina, son los siguientes:

Establecimiento	Instalación	Técnica	Resultado
Finca Cinco Puentes	Riego por aspersión	SIM	Dudoso (*)
EDAR Manzanares	Agua EDAR	SIM	Presencia

Sobre estos resultados hay que especificar lo siguiente:

- En el caso de la Finca de Cinco Puentes, inicialmente existe un resultado dudoso de la presencia/ausencia de *Legionella* en los análisis realizados a través de la técnica rápida de detección (SIM), por lo que el resultado debe ser observado en cultivo, para verificar un posible crecimiento.
- En la EDAR de Manzanares, se detecta presencia a un nivel < de 100 ufc/L de *Legionella pneumophila* serogrupos 8-10.
- El resto de análisis son negativos a la presencia de Legionella.

8.- Por otro lado, el 22 de diciembre de 2015, se reúne la Comisión de Seguimiento del Brote en la sede de los Servicios Centrales del SESCAM, donde se revisan las actuaciones llevadas hasta el momento. Se constata que está descendiendo el número de urgencias atendidas en el Hospital de Manzanares. No obstante, ante la



posibilidad de que la persistencia del brote estuviera ocasionada por alguna instalación de riesgo no identificada, se decide solicitar apoyo a la Gerencia de Urgencias y Emergencias del SESCAM. Con fecha 23 de diciembre de 2015, la citada Gerencia de Urgencias facilita un helicóptero para realizar un chequeo/reconocimiento aéreo, con objeto de divisar posibles instalaciones no censadas o desconocidas. Realizada la visita aérea de comprobación, no se detectaron instalaciones que no hayan sido identificadas anteriormente.

9.- Asimismo, con fecha 29 de diciembre de 2015, según comunica el Servicio de Epidemiología, el Laboratorio del Centro Nacional de Microbiología emite informe de los resultados de la caracterización de, al menos, 15 muestras clínicas humanas:

Identificación: especie/serogrupo	<i>Legionella pneumophila</i> SG1
Subgrupo de <i>Legionella</i>	Pontiac Philadelphia
SBT (tipificación secuencia 7 genes)	ST 899 (6,10,14,10,39,3,20)

10. Con fecha 4 de enero de 2016, se procede a seleccionar, nuevamente, instalaciones de riesgo para realizar toma de muestras con dos destinos diferentes:

a) Para el Laboratorio de Talavera de la Reina, las siguientes muestras:

Establecimiento	Tipo de instalación	Nº de muestras
Campo de fútbol	Aljibe y aspersores	7
Fuentes ornamentales municipales:		
✓ de piedra junto al teatro	Fuente	6
✓ de la estación de autobuses	Fuente	5
✓ del parque municipal	Fuente/estanque	5
Empresa TOSFRIT	Torres de refrigeración	5

Todos los resultados analíticos fueron negativos, a excepción de la siguiente muestra:

Establecimiento	Instalación	Técnica	Resultado
TOSFRIT	Torre 2	Cultivo	<i>Legionella No pneumophila</i> (presencia pero < 100 ufc/l)



Aunque el resultado positivo es de *Legionella no pneumophila* con una presencia baja, se comunica el cierre de la instalación. Hay que significar que se trata de una decisión tomada como medida preventiva teniendo en cuenta el contexto del brote.

b) Para el Laboratorio de la Universidad de Valencia, se remite las siguientes muestras:

Establecimiento	Tipo de instalación	Nº de muestras
Campo de fútbol	Aljibe y aspersores	3
Fuentes ornamentales municipales:		
✓ de piedra junto al teatro	Fuente	2
✓ de la estación de autobuses	Fuente	2
✓ del parque municipal	Fuente	2
Empresa TOSFRIT	Torres de refrigeración	2
Camión lavadora (baldeo)	Raspado	2

En espera de resultados analíticos, el Jefe de Servicio de Epidemiología comunica que, según le han informado desde el Laboratorio de la Universidad de Valencia, se estima posible detección de *Legionella* en las muestras del riego del campo de fútbol y del camión lavadora.

En espera de mayor información, se procede como medida preventiva a ordenar la paralización del funcionamiento de ambas instalaciones.

12. Con fecha 7 de enero de 2016, se detecta crecimiento de *Legionella pneumophila* serogrupo 1, *Pontiac Philadelphia*, de la muestra del riesgo por aspersión de la finca Cinco Puentes, tomada el 22 de diciembre de 2015, y cuyo resultado fue dudoso con la técnica rápida. Asimismo, se remite para su caracterización al Centro Nacional de Microbiología (CNM).

13. Con fecha 8 de enero de 2016, a pesar de no tener constancia de anomalías en los niveles de desinfectante en la red de distribución de aguas, se decide incrementar los niveles de desinfectante residual en cabecera de la red a valores entre 0,8 y 0,9 ppm, con objeto de elevar el nivel de protección en la citada red de abastecimiento. Esta decisión se comunica al gestor y al Ayuntamiento.

14. Con fechas 11, 12 y 13 de enero de 2016, se realizan las siguientes actuaciones:

a) el día 11 de enero, se toman nuevas muestras de instalaciones de los establecimientos que se especifican:

Establecimiento	Instalación	Nº de muestras
Empresa Aluminios Cortizo	Torre de refrigeración	4
Empresa Talleres Alcántara	Lavadero	4
Empresa Lavadero Campsa	Lavadero	4
Empresa Lavadero API2	Lavadero	6
Empresa Lavadero Peñarroya	Lavadero	6
Riego Cinco Puentes	Riego	8
Empresa Telefónica España	Torre	2
Residencia 3ª Edad Los Jardines	Habitaciones y acumulador	10
Residencia 3ª Edad La Milagrosa	Habitaciones y acumulador	12

Se obtienen resultados analíticos de las muestras negativos a excepción de:

Establecimiento	Instalación	Técnica	Resultado
Empresa Aluminios Cortizo	Torre de refrigeración	SIM	640 ufc/l
Empresa Talleres Alcántara ^(*)	Lavadero	-	-
Empresa Lavadero API 2	Lavadero	SIM	1.100 ufc/l
		SIM	200 ufc/l
Residencia La Milagrosa ^(**)	Acumulador	SIM	1.600 ufc/l
<p>(*) Inicialmente por técnica rápida, el resultado fue negativo pero, posteriormente, al realizar cultivo se detectó <i>Legionella no pneumophila</i> (presencia < 25 ufc/L)</p> <p>(**) Posteriormente, el cultivo detecto presencia 7.500 ufc/l de <i>Legionella pneumophila</i> serogrupo 8</p>			

b) El día 12 de enero, con objeto de tener constancia de haber revisado todas las instalaciones de riesgo se programó un rastreo de la localidad.

Para ello, se zonificó el municipio, dividiéndose la inspección en varios grupos de dos, contando para ello con el apoyo de Inspectores de otros distritos de Salud (Ciudad Real y de Alcázar de San Juan). No se encontraron instalaciones de riesgo de las que no se tuviera constancia.



c) El día 13 de enero, teniendo en cuenta el resultado positivo de la muestra tomada (con fecha 11 de enero de 2016) en la empresa Aluminios Cortizo, se traslada a la citada empresa el cierre de la torre de refrigeración, debiéndose proceder a la limpieza y desinfección y remuestreo a los 15 días.

15. Con fecha 14 de enero de 2016, tiene lugar una reunión en la que se cuenta con expertos de la Administración Sanitaria Central y de diferentes Autonomías.

16. Con fechas 15 de enero de 2016, el Centro Nacional de Microbiología informa al Servicio de Epidemiología sobre la secuenciación genética de las cepas de *Legionella pneumophila*, serogrupos 1 y 3, obtenidas de las torre de la empresa **Lavandería Manzanares** con el siguiente resultado:

Identificación: especie/serogrupo	<i>Legionella pneumophila</i> SG1
Subgrupo de <i>Legionella</i>	Pontiac Philadelphia
SBT (tipificación secuencia 7 genes)	ST- 899 (6,10,14,10,39,3,20)

Identificación: especie/serogrupo	<i>Legionella pneumophila</i> SG3
Subgrupo de <i>Legionella</i>	Pontiac Philadelphia
SBT (tipificación secuencia 7 genes)	ST-87 (2,10,3,28,9,4,13)

17. Con fechas 15 de enero de 2016, se realizan las siguientes actuaciones:

a) Lavadero API2: Debido al requerimiento de efectuar tratamiento en el citado lavadero, puesto que las muestras del día 11 de enero de 2016 fueron positivas, se procedió a la toma dos muestras.

Una de ellas sigue dando resultado positivo (200 ufc/L) por lo que la instalación permanece cerrada.

b) Aluminios Cortizo: Debido al requerimiento de la realización de tratamiento de limpieza y desinfección a la empresa Aluminios Cortizo, la mercantil nos comunica que se realizará el citado tratamiento el día 16 de enero de 2016. Debido a ello, se procede a tomar 4 muestras el día 15 de enero de 2016 y 2 muestras el 18 de enero de 2016 (anterior y posterior a la realización del tratamiento).

Los resultados son los siguientes:

Establecimiento	Fecha	Lugar de toma	Resultado
Empresa Aluminios Cortizo	15/01/2016	Raspado torre	1.735 ufc/l
	15/01/2016	Agua balsa	62.951 ufc/l
	18/01/2016	Raspado	210 ufc/l



Debido a los resultados obtenidos, el 19 de enero de 2016 se comunica a la empresa la continuación de la paralización de la torre de refrigeración, con la necesidad de realización de nuevo tratamiento de limpieza y desinfección.

18. Con fecha 19 de enero de 2016 se realiza toma de 12 muestras de la torre de la empresa Lavandería Manzanares, siendo negativas por técnica rápida (SIM).

19. Con fecha 21 de enero de 2016, se procede a realizar las siguientes actuaciones:

a) Inspección de la torre de Telefónica España, S.A., con los siguientes resultados:

- ✓ La torre de refrigeración es de funcionamiento intermitente.
- ✓ El agua es de la red pública sin depósitos previos post-red.
- ✓ El agua de la torre de refrigeración, se recircula todos los días, de 9:00 a 11:00 horas y de 21:00 a 23:00 horas, para que el biocida pase por todo el circuito.
- ✓ Diariamente se mide el biocida.
- ✓ La torre se pone en marcha con generación de aerosoles, únicamente cuando se realizan tratamientos preventivos (cada 4 meses, con un funcionamiento de 2 horas) o cuando hay caídas del servicio de red eléctrica (sin cortes en los últimos meses).
- ✓ La última prueba preventiva fue el 4/12/2015.
- ✓ La empresa de mantenimiento y el laboratorio de análisis son externos.
- ✓ En el mes de junio, realizaron tratamiento de choque por un positivo de *Legionella* en uno de los controles. El remuestreo posterior fue negativo.
- ✓ Presentan certificados de limpieza y desinfección de marzo, junio y septiembre.
- ✓ Aportan listado de 3 eventos del último trimestre de 2015:
 - Sustitución de bomba por avería eléctrica (arranque sin carga) el día 19/11/2015.
 - Prueba preventiva anual (arranque con carga) el día 4/12/2015.
 - Puesta temporal en manual (sin arranque) el 15/12/2015.

Se procede a la toma de 2 muestras por duplicado (agua torre y raspado) para su traslado al Laboratorio de Talavera de la Reina, cuyo resultado es negativo.

Asimismo, se toman muestras para su remisión al Laboratorio de la Universidad de Valencia.

b) Lavadero API2: Debido al requerimiento de efectuar tratamiento en el citado lavadero, al ser una muestra del día 15 de enero de 2016 positiva, se procedió a la toma dos muestras con resultado negativo.



20. Con fecha 22 y 25 de enero de 2016, se realizan las siguientes actuaciones:

a) El día 22 de enero de 2016, se inspecciona la industria Cuquerella–Quesos El Hidalgo, con objeto de la revisión del programa de mantenimiento del condensador evaporativo, registros, fichas técnicas, etc. El Distrito de Salud Pública no manifiesta nada relevante al respecto.

b) Se inspecciona la empresa Aluminios Cortizo: debido al requerimiento de tratamiento de limpieza y desinfección por presencia de Legionella en las muestras tomadas con fecha 18 de enero de 2016, la empresa comunica la realización del citado tratamiento.

En esta empresa, se procede a la toma de muestras, anterior y posterior al tratamiento (22 y 25 de enero de 2016, respectivamente), para su remisión al Laboratorio de Talavera de la Reina, obteniéndose resultados negativos.

c) El día 25 de enero de 2016, se remiten las siguientes muestras al Laboratorio de la Universidad de Valencia:

- De las 3 fuentes ornamentales.
- De la torre de Telefónica de España, S.A.
- De la torre de Aluminios Cortizo.

d) Desde el Servicio de Sanidad Ambiental se remite al Servicio de Salud Pública de la Dirección Provincial de Ciudad Real, el protocolo de seguimiento de instalaciones de riesgo frente a Legionella en el contexto del brote de Manzanares (ver anexo I).

21. Con fecha 26 de enero de 2016, se mantienen cerradas/paradas las siguientes instalaciones:

- ✓ Torre de la Lavandería Manzanares.
- ✓ Lavadero API2.
- ✓ Riego de Cinco Puentes.
- ✓ Torre de TOSFRIT.
- ✓ Torre de Aluminios Cortizo.
- ✓ Fuentes ornamentales municipales de la estación de autobuses, fuente de piedra y del estanque.
- ✓ Camión lavadora/barredora
- ✓ Riego del campo de fútbol.

22. Con fecha 28 de enero de 2016, el Centro Nacional de Microbiología informa sobre la secuenciación genética de las cepas de *Legionella pneumophila*, serogrupos 1 obtenida del **riego de Cinco Puentes**, con el siguiente resultado:



Identificación: especie/serogrupo	<i>Legionella pneumophila SG1</i>
Subgrupo de <i>Legionella</i>	Pontiac Philadelphia
SBT (tipificación secuencia 7 genes)	ST 899 (6,10,14,10,39,3,20)

23. Con fecha 1 de febrero de 2016, con motivo de los tratamientos de limpieza y desinfección realizados tanto en la residencia de la tercera edad La Milagrosa como en el lavadero de coches de Talleres Alcántara Alsanco, se tomaron muestras en ambos establecimientos, siendo los resultados negativos.

24. Con fecha 3 de febrero de 2016, una vez transcurridos 28 días (el doble del máximo periodo de incubación en brotes) desde la declaración del último caso, el brote se considera cerrado desde el punto de vista de la transmisión comunitaria.

RESUMEN ACTUACIONES

A. SISTEMA DE ABASTECIMIENTO DEL AGUA DE CONSUMO HUMANO

De manera resumida, los datos del abastecimiento, son los que se indican a continuación:

- ✚ El municipio pertenece a la zona de abastecimiento denominada “Manzanares-Membrilla”. Las infraestructuras son las siguientes:
 - ❖ El abastecimiento procede de una captación subterránea (captación “Los Romeros”). Disponen de otras 2 captaciones más pero están fuera de servicio.
 - ❖ Desde la captación, el agua es conducida y almacenada en un depósito de rebombeo, donde se impulsa hasta dos depósitos de distribución (circular y rectangular).
 - ❖ Previo a la entrada en estos depósitos, el agua se somete en conducción a un tratamiento de desinfección (hipoclorito). Desde estos depósitos, en una única conducción, el agua se dirige hasta la localidad.
 - ❖ En la red existen 21 puntos de control declarados, comprendiendo instalaciones interiores, que permiten controlar la calidad del agua suministrada al ciudadano.
- ✚ El agua suministrada a través de la red de distribución está calificada como apta para el consumo. Los niveles de desinfección son correctos (ver punto 7 del apartado de antecedentes cronológicos).
- ✚ La empresa que realiza la gestión indirecta es ACCIONA AGUA SERVICIOS S.L.U.

B. ACTUACIONES DE INSPECCIÓN REALIZADAS

B.1. DURANTE EL BROTE

Se han visitado un total de 116 establecimientos ¹, que disponían de 68 instalaciones de riesgo. De estas instalaciones, 30 se han inspeccionado activamente*.

Establecimientos visitados	116
Instalaciones visitadas	68
Instalaciones visitadas activamente*	30

(*) Inspección o toma de muestras

El resumen de instalaciones visitadas es el siguiente:

Instalación de riesgo	Visitadas	Visitadas activamente*
Torres de refrigeración	17	12
Condensador evaporativo	1	1
Fuentes Ornamentales	4	4
Sistemas de riego	3	3
Agua fría y caliente sanitaria	4	2
Equipo enfriamiento evaporativos	31	-
Lavado de vehículos	4	4
Otros		
Camión baldeo	1	1
Camión lavado de residuos	1	1
EDAR	2	2
	68	30

¹ Como establecimientos se incluyen todo tipo de actividades empresariales e industriales, edificios y espacios públicos y edificios de vivienda humana.



(*) con inspección o toma de muestras

Se han analizado 215 muestras en la Sección de Microbiología Ambiental del Laboratorio de Ciencias de la Salud de Talavera de la Reina. Asimismo, se han remitido 29 muestras al Laboratorio de Secuenciación Genética de la Unidad Mixta de Infección y Salud Pública de la Universidad de Valencia.

Laboratorio de Talavera de la Reina		215
	Método: SIM	95
	Método: Cultivo	120
Laboratorio de la Universidad de Valencia		29

El resumen detallado del número de análisis es el siguiente

Instalación	Laboratorio de Salud Pública		Universidad de Valencia
	Nº	Método SIM Cultivo	
Torres de refrigeración	80	36	7
		44	
Condensadores evaporativos	4	2	-
		2	
Fuentes ornamentales	38	11	13
		27	
Sistemas de riego	21	10	3
		11	
Agua fría y caliente sanitaria	28	14	-
		14	
Lavado de vehículos	28	14	-
		14	
Camión baldeo	2	1	2
		1	
Camión lavado de residuos	6	3	-
		3	
EDAR	8	4	-
		4	
TOTAL	215	95 120	29



El resumen del resultado de los análisis, realizados por el Laboratorio de Salud Pública de Talavera de la Reina, es el siguiente:

	Nº	SIM (95)		Cultivo (120)		Total (215)	
		+	-	+	-	+	-
Torres de refrigeración	80	5	31	2	42	7	73
Condensadores evaporativos	4	0	2	0	2	0	4
Fuentes ornamentales	38	2	9	0	27	2	36
Sistemas de riego	21	1	9	1	10	2	19
Agua fría y caliente sanitaria	28	1	13	1	13	2	26
Lavado de vehículos	28	3	11	1	13	4	24
Camión baldeo	2	0	1	0	1	0	2
Camión lavado de residuos	6	0	3	0	3	0	6
EDAR	8	1	3	1	3	2	6
TOTAL	215	13	82	6	114	19	196

B.2. POST-BROTE

Se han visitado 11 establecimientos, inspeccionándose activamente 17 instalaciones de riesgo.

Establecimientos visitados	11
Instalaciones visitadas	17
Instalaciones visitadas activamente*	17

(*) Inspección o toma de muestras



El resumen de instalaciones visitadas, de los 11 establecimientos, es el siguiente:

Instalación de riesgo	Visitadas	Visitadas activamente*
Torres de refrigeración	12	12
Condensador evaporativo	1	1
Lavado de vehículos	4	4
	17	17

(*) con inspección o toma de muestras

Se han analizado 105 muestras en el Laboratorio de Talavera de la Reina. Asimismo, se han remitido 10 muestras al Laboratorio de la Universidad de Valencia.

Laboratorio de Talavera de la Reina	92
Método: SIM	45
Método: Cultivo	47
Laboratorio de la Universidad de Valencia	10

El resumen del número de análisis es el siguiente:

Instalación	Laboratorio de Salud Pública		U. Valencia
	Nº	Método SIM Cultivo	
Torres de refrigeración	79	39	9
		40	
Condensadores evaporativos	5	3	1
		2	
Lavado de vehículos	8	3	-
		5	
TOTAL	92	45	10
		47	

El resumen del resultado de los análisis, realizados por el Laboratorio de Salud Pública de Talavera de la Reina, es el siguiente:

	Nº	SIM (54)		Cultivo (51)		Total (105)	
		+	-	+	-	+	-
Torres de refrigeración	79	3	36	1	39	4	75
Condensadores evaporativos	5	0	3	0	2	0	5
Lavado de vehículos	8	0	3	2	3	2	6
TOTAL	92	3	42	3	44	6	86

B.3. RESUMEN DE ACTUACIONES DE INSPECCIÓN

Se han visitado un total de 116 establecimientos, de los cuales 68 disponían de instalaciones de riesgo.

Durante el brote se han inspeccionado activamente 30 instalaciones y en la fase de post-brote 18.

Establecimientos visitados (durante el brote y post-brote)	116
Instalaciones observadas (durante el brote y post-brote)	68
Instalaciones visitadas activamente* (durante el brote)	30
Instalaciones visitadas activamente* (en el post-brote)	17

(*) Inspección o toma de muestras

El resumen de instalaciones visitadas es el siguiente:

Instalación de riesgo	Visitadas		Visitadas activamente*	
	(1)	(2)	(1)	(2)
Torres de refrigeración	17	12	12	12
Condensador evaporativo	1	1	1	1
Fuentes Ornamentales	4	-	4	-
Sistemas de riego	3	-	3	-
Agua fría y caliente sanitaria	4	-	2	-
Equipo enfriamiento evaporativos	31	-	-	-
Lavado de vehículos	4	4	4	4
Otros				
Camión baldeo	1	-	1	-
Camión lavado de residuos	1	-	1	-
EDAR	2	-	2	-
	68	17	30	17

(1) durante el brote

(2) post-brote

(*) inspección o toma de muestras

Se han analizado 307 muestras en el Laboratorio de Talavera de la Reina. Asimismo, se han remitido 39 muestras al Laboratorio de la Universidad de Valencia.

Laboratorio de Talavera de la Reina	307
Método: SIM	140
Método: Cultivo	167
Laboratorio de la Universidad de Valencia	39



El resumen del número de análisis es el siguiente:

Instalación	Laboratorio de Salud Pública		Universidad de Valencia
	Nº	Método SIM	
		Cultivo	
Torres de refrigeración	159	75 84	16
Condensadores evaporativos	9	5 4	1
Fuentes ornamentales	38	11 27	13
Sistemas de riego	21	10 11	3
Agua fría y caliente sanitaria	28	14 14	-
Lavado de vehículos	36	17 19	-
Camión baldeo	2	1 1	2
Camión lavado de residuos	6	3 3	-
EDAR	8	4 4	-
TOTAL	307	140 167	39



El resumen del resultado de los análisis, realizados por el Laboratorio de Salud Pública de Talavera de la Reina, es el siguiente:

	Nº	SIM (149)		Cultivo (171)		Total (320)	
		+	-	+	-	+	-
Torres de refrigeración	159	8	67	3	81	11	148
Condensadores evaporativos	0	0	5	0	4	0	9
Fuentes ornamentales	38	2	9	0	27	2	36
Sistemas de riego	21	1	9	1	10	2	19
Agua fría y caliente sanitaria	28	1	13	1	13	2	26
Lavado de vehículos	36	3	14	3	16	6	30
Camión baldeo	2	0	1	0	1	0	2
Camión lavado de residuos	6	0	3	0	3	0	6
EDAR	8	1	3	1	3	2	6
TOTAL	307	16	124	9	158	25	282



Castilla-La Mancha

Consejería de Sanidad
Dirección General de Salud Pública y Consumo
Avenida de Francia, 4 - 45071 Toledo

Brote de legionelosis en Manzanares (Ciudad Real)
Informe Microbiológico

Brote de Legionelosis en Manzanares Investigación Microbiológica

1.- Introducción

La prueba de oro en el diagnóstico de la legionelosis es el cultivo. Sin embargo, dadas las características de la bacteria, es un procedimiento complejo y con un rendimiento relativamente bajo, determinado en gran medida por el tipo y calidad de la muestra respiratoria. Con el aspirado broncoalveolar se suele obtener una muestra de mejor calidad y rendimiento, aunque la necesidad de aplicar procedimientos invasivos limita mucho la obtención y utilización de este tipo de muestra. De forma esquemática, el cultivo de *legionella* sigue los siguientes pasos:

- Aglutinación en porta (*Legionella pneumophila* SG 1 a14 y *Legionella* spp.).
- Inmunofluorescencia (IF) de identificación de *Legionella pneumophila* SG 1.
- Inmunofluorescencia (IF) tipificación de *Legionella pneumophila* SG 1 (AcMc).
- SBT (Sequence-Based Typing).

En el contexto de un brote de legionelosis, el objetivo del análisis microbiológico (muestras humanas y ambientales) es detectar la presencia de *Legionella pneumophila* en la muestra correspondiente y, en su caso, caracterizarla genéticamente, mediante secuenciación de siete regiones (**loci**) del genoma de la bacteria que permiten su clasificación en STs, tal como se detalla a continuación.

El análisis genético de muestras de *Legionella pneumophila* relacionadas con un brote se basa en la obtención de los perfiles alélicos (STs, o *Sequence Types*) de muestras procedentes de pacientes afectados en el mismo y de las posibles fuentes ambientales consideradas. Para ello, cada muestra recibida se somete a un procedimiento que consiste en la extracción del material hereditario de la misma (DNA).

Una vez extraído el DNA de cada muestra, se procede a detectar la presencia de DNA de *Legionella* en la misma mediante una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en la que se emplean cebadores específicos de la especie en cuestión. De esta manera, caso de haber DNA de *Legionella* en la muestra, incluso en cantidades mínimas, la PCR permite su amplificación y posterior detección mediante electroforesis en gel de agarosa y la reacción con un reactivo específico que permite revelar la presencia de DNA, así como el tamaño del mismo. La PCR tiene como objetivo amplificar una región concreta y de tamaño conocido del genoma de la bacteria, por lo que la detección de una banda con la intensidad (dependiente de la cantidad de DNA amplificado) y tamaño (conocido para cada gen) adecuados informa de la presencia de material hereditario del organismo en cuestión, *Legionella pneumophila*, en la muestra problema. Es necesario destacar que esta técnica no permite discriminar entre células vivas o muertas del organismo, pero en este análisis no se pretende establecer esa naturaleza sino simplemente poner de manifiesto la presencia de *Legionella* en la muestra problema, aunque sus células ya no sean capaces de replicarse.

Si la reacción de PCR es positiva para alguno de los genes ensayados, se pasa a la segunda fase del análisis. En ella, se toman los productos resultantes de la PCR específica de cada uno de los siete *loci* del esquema de tipado de *Legionella* adoptados por el ESGLI

(Grupo Europeo para el Estudio de Infecciones de *Legionella*, European Group for the Study of *Legionella* Infections) y se procede a su secuenciación mediante el método Sanger.

Idealmente, la secuenciación Sanger da como resultado una sucesión con los nucleótidos que conforman la secuencia del fragmento o gen estudiado que, al ser comparada con las secuencias homólogas depositadas en la base de datos del ESGLI, permiten identificar el alelo que corresponde a ese locus en esa muestra. La identificación del alelo se realiza mediante un número que no tiene más misión que permitir la diferenciación entre alelos cuando sus secuencias respectivas no coinciden, aunque sea por una única base o nucleótido. Cuando se obtienen los números identificadores de cada uno de los siete *loci* del esquema de tipado, se puede asignar, de nuevo con la ayuda de la información disponible en ESGLI, el *Sequence Type* correspondiente a la muestra, al que también se asigna un identificador numérico.

Así, por ejemplo, la combinación:

➤ **fliC_6, pilE_10, asd_14, mip_10, mompS_39, proA_3, neuA_20** recibe el identificador de **ST 899 (6, 10, 14, 10, 39, 3, 20)**.

Este resultado completo suele obtenerse sin problemas cuando se trata de muestras cultivadas, pero es mucho más difícil y menos frecuente en aquellas que, como esputos y biofilms, no lo son. En ocasiones, a pesar de hallarse *Legionella* en la muestra de partida, su cantidad es demasiado pequeña para poderse detectar en una única reacción de PCR y es necesario realizar otra que proporciona mayor sensibilidad (PCR secundaria).

En otras ocasiones, aunque se puede detectar la presencia de una banda del tamaño esperado para el locus concreto en una PCR primaria o secundaria, la reacción de secuenciación de ese locus, o de otros *loci*, no da un resultado positivo, bien porque el material es de calidad defectuosa y/o cantidad escasa, bien porque la amplificación no es de un único tipo de gen sino resultado de la mezcla de varios. Esta situación es especialmente frecuente en muestras no cultivadas, sobre todo en biofilms ambientales, en los que la detección de *Legionella* por amplificación de uno o varios *loci* no siempre puede completarse con la secuenciación eficiente de los mismos.

En resumen, la secuenciación genética consiste esencialmente en la identificación de 7 genes (fliC, pilE, asd, mip, mompS, proA, neuA). Para que una cepa de legionella pueda considerarse idéntica a otra han de coincidir los 7 genes de ambas en el mismo orden. Esta comparación se hace extensible a las muestras ambientales.

2.- Procedimientos

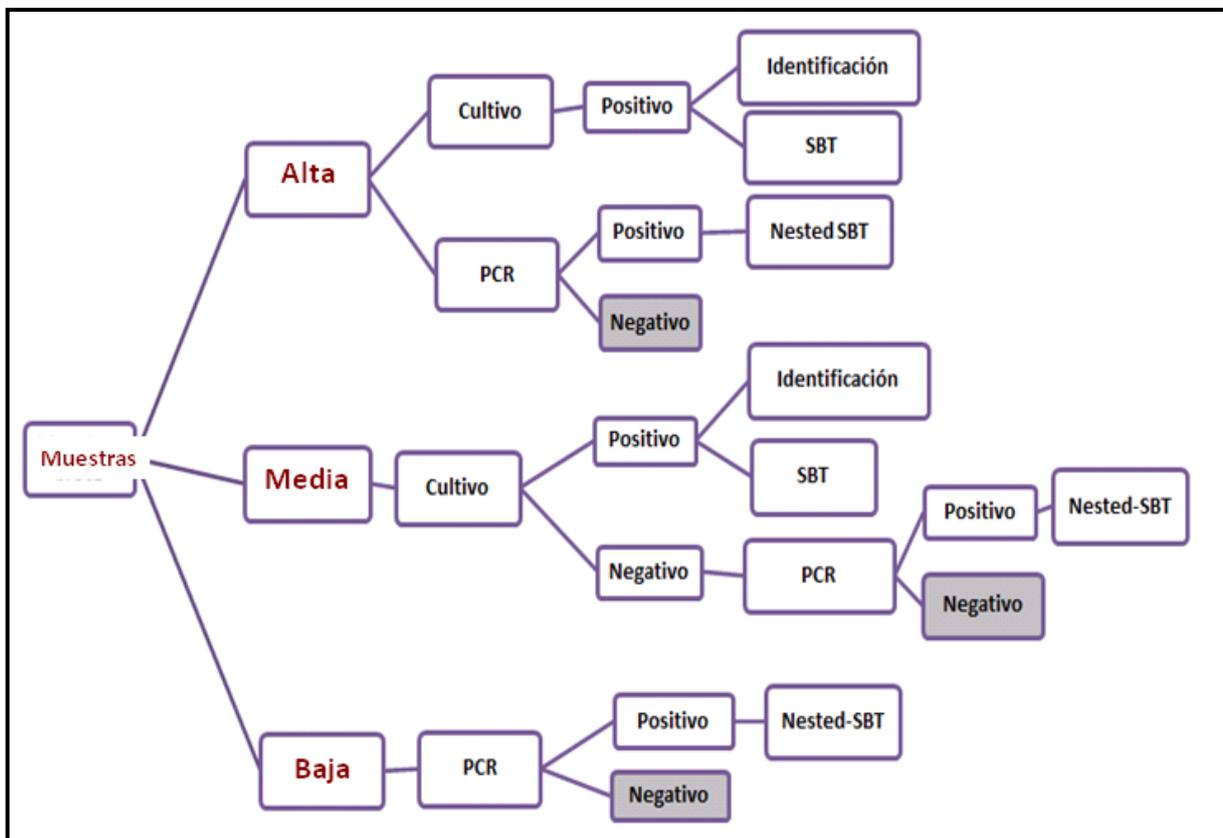
2.1.- Muestras Humanas

En la actualidad, el diagnóstico clínico de la legionelosis se basa fundamentalmente en la realización de la prueba de antígeno en orina (específico sólo para *Legionella pneumophila* Serogrupo 1) y en el cultivo de muestras de origen respiratorio, esputo y broncoaspirado sobre todo. Dado que no siempre es posible obtener muestras respiratorias de calidad suficiente y el proceso del cultivo es un tanto complejo, su rendimiento es relativamente bajo.

Los laboratorios de microbiología de los hospitales del SESCAM que han atendido pacientes relacionados con el brote de legionelosis en Manzanares realizaron la prueba de antígeno en orina a todos aquellos pacientes que eran sospechosos de padecer la enfermedad. Independientemente del resultado de la prueba del antígeno en orina, en la mayoría de los casos obtuvieron muestras respiratorias (esputo fundamentalmente) que remitieron al Centro Nacional de Microbiología (CNM) para su caracterización. Los cultivos que se obtuvieron en los laboratorios de microbiología del SESCAM también se enviaron al CNM.

Con las muestras recibidas el CNM procedió en primer lugar a la clasificación de las mismas según su calidad para, a continuación, llevar a cabo un procedimiento seriado de diagnóstico y secuenciación genética, tal como se refleja en el Gráfico 1

Gráfico 1.- Procedimiento de Análisis según Calidad de las Muestras Respiratorias Centro Nacional de Microbiología (Brote de Legionelosis en Manzanares)



Con las muestras consideradas de **calidad alta** se procedió a la realización simultánea de cultivo y PCR para detección de ADN de *Legionella pneumophila* (**gen mip**). Si el cultivo o la PCR, o ambos, fueron positivos se procedió a la realización de la prueba PCR-Nested SBT (*Sequence-Based Typing*) con el fin de conseguir la secuencia genética de la cepa.

Si las muestras eran de **calidad media** se procedió inicialmente a la realización de cultivo. Si este dio resultado positivo se procedió a la identificación de la cepa mediante SBT. Si el cultivo dio resultado negativo se realizó la prueba de PCR y si esta prueba resultó positiva se procedió a la realización de la prueba PCR-Nested SBT.

Si las muestras eran de **calidad baja** se procedió tan sólo a la realización de PCR para detección de ADN y, sólo si esta prueba fue positiva, se llevó a cabo la PCR-Nested SBT.

Además, se enviaron 24 muestras de esputo y una cepa procedente de cultivo al laboratorio de la Fundación para el Fomento de la Investigación Sanitaria y Biomédica de la Universidad de Valencia (Cátedra de Genética). El procedimiento utilizado ha sido descrito en el apartado de introducción.

2.2.- Muestras Ambientales

La toma de muestras ambientales ha sido realizada por los Inspectores Sanitarios del Distrito de Salud de Tomelloso-Manzanares apoyados puntualmente por inspectores de otros distritos de la provincia de Ciudad Real.

Las muestras fueron analizadas inicialmente en el Laboratorio Regional de Salud Pública de Talavera de la Reina dependiente de la Consejería de Sanidad. Las muestras enviadas consistían en agua con raspado obtenidas de las distintas instalaciones de riesgo. Se utilizaron dos métodos en paralelo:

- Detección de *legionella* (unidades formadoras de colonias o ufc) con un método cuantitativo basado en la separación inmunomagnética (método SIM). Este método tiene la particularidad de que sólo detecta bacterias vivas (capaces de reproducirse).
- Cultivo por métodos tradicionales de *Legionella pneumophila* SG 1 a14 y *Legionella spp.*

Si se obtenía un cultivo positivo la cepa se remitía al laboratorio del CNM para su identificación y secuenciación genética, utilizando los procedimientos descritos para cultivo y secuenciación de muestras humanas.

Además, se enviaron muestras de biofilms, obtenidas por raspado con bisturí en las instalaciones de riesgo, al laboratorio de la Universidad de Valencia. El procedimiento utilizado consiste básicamente en la extracción de material hereditario (DNA), detección de DNA de *Legionella*, amplificación del mismo y secuenciación genética (ver introducción).

3.- Resultados

3.1.- Muestras Humanas

En el contexto del brote de legionelosis en Manzanares se enviaron al CNM 323 muestras respiratorias (315 esputos, 6 broncoaspirados y dos cepas cultivadas de *Legionella pneumophila* SG 1). Además se procesó la petición de 32 muestras que no llegaron a recepcionarse en el CNM.

Las 323 muestras respiratorias corresponden a 311 pacientes (en algún caso se envió más de una muestra de un mismo paciente), de los cuales 149 eran casos confirmados, 33 probables, 120 sospechosos y 9 descartados.



Según los criterios de calidad aplicados por el CNM, las muestras respiratorias se clasificaron de la siguiente forma:

- Calidad Alta: 43 (13,3%)
- Calidad Media: 114 (35,3%)
- Calidad Baja: 166 (51,4%)
- **Total: 323 (100%)**

De acuerdo con el plan establecido por el CNM para la gestión de las muestras se procedió al cultivo de 157 muestras (43 de calidad alta y 114 de calidad media). Se obtuvieron 30 cultivos positivos (19,1%). En la tabla 1 se reflejan los resultados según la calidad de la muestra.

**Tabla 1.- Número y Porcentaje de Cultivos Positivos según Calidad de la Muestra
Centro Nacional de Microbiología**

Calidad de Muestra	Número de Muestras	Cultivo		Porcentaje Positivos
		Positivo	Negativo	
Calidad Alta	43	17	26	39,5%
Calidad Media	114	13	101	11,4%
Calidad Baja	NA	NA	NA	NA
Total	157	30	127	19,1%

En 303 muestras se procedió a la detección de ADN de Legionella mediante la PCR (mip). Las muestras de calidad alta y media tuvieron un rendimiento sensiblemente superior a las muestras de calidad baja (Tabla 2). La detección de ADN se llevó a cabo con todas las muestras de calidad baja que habían sido desestimadas para la realización del cultivo.

**Tabla 2.- Número y Porcentaje de PCR Positivas (mip) según Calidad de la Muestra
Centro Nacional de Microbiología**

Calidad de Muestra	Número de Muestras	PCR (mip)		Porcentaje Positivos
		Positivo	Negativo	
Calidad Alta	33	17	16	51,5%
Calidad Media	104	51	53	49,0%
Calidad Baja	166	44	122	26,5%
Total	303	112	191	37,0%

Con 109 muestras, bien procedentes de cultivo bien de PCR, se pudo intentar la secuencia genética mediante la prueba Nested-PCR SBT. El porcentaje de resultados positivos

(secuenciación) está muy relacionado con la calidad de la muestra, oscilando desde un 78,3% en las muestras de calidad alta hasta un 27,3% en las muestras de calidad baja (Tabla 3).

Tabla 3.- Nº y Porcentaje de Nested-PCR SBT Positivas según Calidad de la Muestra Centro Nacional de Microbiología

Calidad de Muestra	Número de Muestras	Nested-PCR SBT		Porcentaje Positivos
		Positivo	Negativo	
Calidad Alta	14	11	3	78,6%
Calidad Media	51	29	22	56,9%
Calidad Baja	44	12	32	27,3%
Total	109	52	57	47,7%

De las 323 muestras analizadas se han podido identificar 68 cepas (30 por cultivo y 38 por Nested-PCR SBT). De estas 68 cepas se han secuenciado completamente 57 cepas (con los 7 genes), habiéndose secuenciado de forma incompleta 11 cepas (falta en ellas al menos un gen por identificar). En las tablas 4 y 5 se indica con la letra "X" el gen que no se ha podido identificar, asignando a dichas cepas el prefijo "Inc" y un número de orden correlativo.

En sentido estricto (identidad absoluta en los 7 genes), se puede considerar que se han identificado 20 cepas distintas de *legionella*, de las cuales la más frecuente es la denominada ST 899 con 47 cepas lo que supone el 69,1% del total (Tabla 4). Por consiguiente, se puede considerar que esta es la cepa epidémica, aunque no sea la única que ha originado casos, y su nomenclatura completa es:

***Legionella pneumophila* Serogrupo 1, Pontiac Philadelphia ST 899 (6,10,14,10,39,3,20)**

Además, se han identificado **10 STs nuevos**, considerados así porque no se ha encontrado ninguna secuencia similar en los aislamientos de la base de datos de ESGLI. Provisionalmente se han nombrado con una letra mayúscula de la A a la J en espera de que ESGLI asigne el correspondiente ST.

En la tabla 5 se presentan los mismos datos que en la tabla 4 pero intentando agrupar las cepas por su similitud filogenética. Para ello hemos contado con el apoyo de la Cátedra de Genética de la Universidad de Valencia. En este caso las cepas compatibles con ST 899 son 54 (79,4% del total). Cuatro cepas (5,9%) son compatibles con ST_B_Nuevo (6, 4, 14, 12, 39, 3, 6) quedando además otros 10 tipos de cepas.

A la Cátedra de Genética de la Universidad de Valencia se enviaron 24 muestras de esputo y dos cepas cultivadas en el Hospital General de Ciudad Real.

En 13 de las 24 muestras de esputo se detectó la presencia de *legionella* (54,2%). En cuatro de las 13 positivas no se pudo identificar ningún *loci*. En una de las 9 restantes se confirmó



la presencia de ST 899; además, una muestra compartía tres *loci* y cuatro muestras compartían un *loci*, por lo que se puede aventurar que 6 de 9 podían corresponder a ST 899.

Las otras tres muestras positivas, aunque incompletas, tenían una secuencia diferente en los *loci* equivalentes lo que apoya la amplia diversidad de cepas identificadas en el brote.

En una de las dos cepas cultivadas, procedentes del Hospital General de Ciudad Real, se pudo secuenciar completamente y se identificó ST 899. En la otra cepa cultivada sólo se detectó la presencia de *legionella* pero sólo se pudo identificar el gen *proA* que coincide con el correspondiente gen de la otra cepa.

Tabla 4- Número y Porcentaje de Cepas Humanas de *Legionella pneumophila* según Genotipo - Brote de Manzanares

Número de Cepa	Genotipo	Número de Cepas	Porcentaje	
			Simple	Acumulado
Secuenciación Completa				
1	ST 899 (6,10,14,10,39,3,20)	47	69,1%	69,1%
2	ST_A Nuevo (6,4,9,10,39,14,6)	1	1,5%	70,6%
3	ST_B Nuevo (6,4,14,12,39,3,6)	1	1,5%	72,1%
4	ST_C Nuevo (6,3,14,10,1,14,6)	1	1,5%	73,5%
5	ST_D Nuevo (3,4,9,10,2,1,6)	1	1,5%	75,0%
6	ST_E Nuevo (2,6,11,27,6,4,1)	1	1,5%	76,5%
7	ST_F Nuevo (2,10,14,10,39,3,6)	1	1,5%	77,9%
8	ST_G Nuevo (2,10,14,10,39,3,20)	1	1,5%	79,4%
9	ST_H Nuevo (1,3,9,1,2,1,1,1)	1	1,5%	80,9%
10	ST_I Nuevo (6,3,14,10,39,3,20)	1	1,5%	82,4%
11	ST_J Nuevo (12,10,3,10,9,4,20)	1	1,5%	83,8%
Secuenciación Incompleta				
12	ST_Inc_10 XX (X,10,14,10,39,3,20)	2	2,9%	86,8%
13	ST_Inc_11 XX (X,10, X,10,39,3,20)	2	2,9%	89,7%
14	ST_Inc_12 XX (6,10,X,X,39,3,X)	1	1,5%	91,2%
15	ST_Inc_13 XX (6,10,14,1, X,3,20)	1	1,5%	92,6%
16	ST_Inc_14 XX (6,X,14,10,X,X,20)	1	1,5%	94,1%
17	ST_Inc_15 XX (6,X,X,10,39,3,6)	1	1,5%	95,6%
18	ST_Inc_16 XX (6,4,14,10,39,3,X)	1	1,5%	97,1%
19	ST_Inc_17 XX (2,3,X,10,2,41,6)	1	1,5%	98,5%
20	ST_Inc_18 XX (2,10,X,10,39,X,X)	1	1,5%	100,0%
Total		68	100,0%	-



Tabla 5.- Número y Porcentaje de Cepas Humanas según Genotipo (Agrupadas por Filogenia) – Brote de Manzanares

Nº de Cepa Agrupada	Genotipo	Número de Cepas	Porcentaje	
			Simple	Acumulado
1	ST 899 (6,10,14,10,39,3,20)	47	69,1%	69,1%
1	ST_Inc_10 XX (X,10,14,10,39,3,20)	2	2,9%	72,1%
1	ST_Inc_11 XX (X,10, X,10,39,3,20)	2	2,9%	75,0%
1	ST_F Nuevo (2,10,14,10,39,3,6)	1	1,5%	76,5%
1	ST_G Nuevo (2,10,14,10,39,3,20)	1	1,5%	77,9%
1	ST_I Nuevo (6,3,14,10,39,3,20)	1	1,5%	79,4%
1	Compatibles ST 899 (6,10,14,10,39,3,20)	54	79,4%	79,4%
2	ST_A Nuevo (6,4,9,10,39,14,6)	1	1,5%	80,9%
2	ST_B Nuevo (6,4,14,12,39,3,6)	1	1,5%	82,4%
2	ST_Inc_15 XX (6,X,X,10,39,3,6)	1	1,5%	83,8%
2	ST_Inc_16 XX (6,4,14,10,39,3,X)	1	1,5%	85,3%
2	Compatibles ST_B Nuevo (6,4,14,12,39,3,6)	4	5,9%	85,3%
3	ST_D Nuevo (3,4,9,10,2,1,6)	1	1,5%	86,8%
4	ST_Inc_17 XX (2,3,X,10,2,41,6)	1	1,5%	88,2%
5	ST_C Nuevo (6,3,14,10,1,14,6)	1	1,5%	89,7%
6	ST_H Nuevo (1,3,9,1,2,1,1,1)	1	1,5%	91,2%
7	ST_E Nuevo (2,6,11,27,6,4,1)	1	1,5%	92,6%
8	ST_Inc_13 XX (6,10,14,1, X,3,20)	1	1,5%	94,1%
9	ST_Inc_14 XX (6,X,14,10,X,X,20)	1	1,5%	95,6%
10	ST_Inc_12 XX (6,10,X,X,39,3,X)	1	1,5%	97,1%
11	ST_Inc_18 XX (2,10,X,10,39,X,X)	1	1,5%	98,5%
12	ST_J Nuevo (12,10,3,10,9,4,20)	1	1,5%	100,0%
Total		68	100,0%	-

3.3.- Muestras Ambientales

Desde la declaración del brote de legionelosis el 11 de diciembre de 2015 hasta la finalización del mismo el día 3 de febrero de 2016 (una vez transcurridos 28 días desde la aparición del último caso) se inspeccionaron un total de 67 instalaciones de riesgo. Se procedió a la toma de muestras en 31 de estas instalaciones y se inspeccionaron, sin toma de muestras, otras 36 ya que, en este caso, la instalación no estaba en funcionamiento o había sido dada de baja con anterioridad. Además, se visitaron 49 establecimientos en los que se comprobó que no tenían ninguna instalación de riesgo.

Tal como se describió en el apartado de procedimientos, las muestras ambientales se procesaron en tres laboratorios diferentes:

- a) Instituto de Ciencias de la Salud (ICS) de Talavera de la Reina
- b) Centro Nacional de Microbiología (secuenciación de cultivos obtenidos en el ICS).
- c) Laboratorio de Genética de la Universidad de Valencia.

a) Instituto de Ciencias de la Salud (ICS) de Talavera de la Reina

Se tomaron 211 muestras que fueron procesadas en el ICS de Talavera de la Reina. De las 211 muestras analizadas en el ICS, en 92 se utilizó el método de separación inmunomagnética (SIM), obteniéndose 11 resultados positivos (12,0%). Las 119 muestras restantes se procesaron para cultivo, obteniéndose 9 resultados positivos (7,6%). Se obtuvieron por tanto 20 resultados positivos, lo que supone un 9,5% respecto del total de muestras tomadas.

➤ Las instalaciones con **resultado positivo por el método SIM** fueron las siguientes según la fecha de toma de muestras:

– Día 14/12/2015

- Torre de refrigeración de la Lavandería de Manzanares (210 ufc/l)
- Chorro de la Fuente de la Estación de Autobuses (7.200 ufc/l)

– Día 15/12/2016

- Depósito de la Fuente de la Estación de Autobuses (3.300 ufc/l)

– Día 23/12/2015

- Estación Depuradora de Aguas Residuales – EDAR (101 ufc/l)

– Día 5/01/2016

- Torre de refrigeración de Tosfrit (< 100 ufc/l)

– **Día 11/01/2016**

- Agua de la balsa de la torre de refrigeración de Aluminios Cortizo (640 ufc/l).
- Acumulador de agua caliente de Residencia la Milagrosa (> 7.500 ufc/l).
- Raspado de pistola de Lavaderos API 2 (1.100 ufc/l)
- Raspado chorro túnel de lavado de Lavaderos API 2 (200 ufc/l)

– **Día 15/01/2016**

- Agua de la balsa de la torre de refrigeración de Aluminios Cortizo (62.951 ufc/l).
- Raspado de la torre de refrigeración de Aluminios Cortizo (1.735 ufc/l).
- Agua de depósitos de Lavaderos API 2 (196 ufc/l)
- Agua de depósitos de Lavaderos API 2 (200 ufc/l)

– **Día 18/01/2016**

- Raspado con agua destilada de la torre de refrigeración de Aluminios Cortizo (210 ufc/l).

➤ Las instalaciones con **resultado positivos por cultivo**, según la fecha de toma de muestras, fueron las siguientes:

– **Día 14/12/2015**

- Torre de refrigeración de la Lavandería de Manzanares (*Legionella pneumophila* Serogrupo 1)
- Torre de refrigeración de la Lavandería de Manzanares (*Legionella pneumophila* Serogrupo 3-8)
- Torre de refrigeración de la Lavandería de Manzanares (*Legionella pneumophila* Serogrupo 3-8)

– **Día 22/12/2015**

- Riego por aspersión Cinco Puentes (*Legionella pneumophila* Serogrupo 1)

– **Día 23/12/2015**

- Agua tratada de la Estación Depuradora de Aguas Residuales - EDAR (*Legionella* **No pneumophila**)

– **Día 05/01/2016**

- Agua del depósito de la torre de refrigeración de Tosfrit (*Legionella No pneumophila*)

– **Día 11/01/2016**

- Raspado de boquillas de las pistolas de Lavaderos Alcantara (*Legionella No pneumophila*).
- Acumulador de agua caliente de Residencia la Milagrosa (*Legionella pneumophila* Serogrupo 3-8).
- Ducha de agua caliente de Residencia la Milagrosa (*Legionella pneumophila* Serogrupo 3-8).

En la tabla 6 se presenta un resumen de las muestras analizadas en el ICS según el método utilizado y el resultado obtenido.

Tabla 6.- Número de Muestras Analizadas según Método Utilizado y Tipo de Instalación (Resumen) – Brote de Manzanares

Tipo de Instalación	SIM		Cultivo		Total	
	Número	Positivas	Número	Positivas	Número	Positivas
Torres de Refrigeración	34	5	44	4	78	9
Condensadores Evaporativos	2	0	2	0	4	0
Fuentes Ornamentales	11	2	25	0	36	2
Sistemas de Riego por Aspersión	10	0	11	1	21	1
Lavadero de Coches	14	2	14	1	28	3
Camión Lavadora (Baldeo Calles)	1	0	1	0	2	0
Camión Limpieza Contenedores de Basuras	3	0	3	0	6	0
Estación Depuradora Aguas Residuales	4	1	4	1	8	2
Agua Fría y Caliente Sanitaria	13	1	15	2	28	3
Total	92	11	119	9	211	20

Como se comentó antes, no se observan grandes diferencias en el rendimiento de un método y otro (12,0% el método SIM y 7,6% el cultivo). El porcentaje de positivos por cultivo se reduce sustancialmente si se excluyen del cálculo las *Legionellas No pneumophilas*, quedando en este caso con un 5,9% de resultados positivos.

Es llamativo el elevado porcentaje de muestras positivas en la Estación de Depuración de Aguas Residuales (algo esperable y sin excesiva relevancia para el brote).

b) Centro Nacional de Microbiología

Las cepas de *Legionella pneumophila* obtenidas por cultivo en el ICS se enviaron al Centro nacional de Microbiología para proceder a su secuencia genética con los métodos descritos en el apartado de procedimientos. Además, se envió una cepa aislada por el laboratorio de la empresa de mantenimiento de las fuentes ornamentales del Ayuntamiento de

Manzanares. En concreto se remitió una cepa procedente de una muestra tomada el día 18/12/2015 en la Fuente de la Estación de Autobuses.

En la tabla 7 se reflejan las muestras ambientales que se han podido secuenciar hasta el momento.

Tabla 7.- Muestras Ambientales Secuenciadas en el Centro Nacional de Microbiología Brote de Manzanares

Procedencia	Fec. Recep. CNM	Agente Causal	Serogrupo	Subgrupo	ST
Balsa Torre Lavandería	29/12/2015	<i>L. pneumophila</i>	SG 3		ST 87
Balsa Torre Lavandería	08/01/2016	<i>L. pneumophila</i>	SG 3		ST 87
Balsa Torre Lavandería	08/01/2016	<i>L. pneumophila</i>	SG 3		ST 87
Balsa Torre Lavandería	08/01/2016	<i>L. pneumophila</i>	SG 1	Pontiac Philadelphia	ST 899
Cinco Puentes (Riego)	12/01/2016	<i>L. pneumophila</i>	SG 1	Pontiac Philadelphia	ST 899
EDAR*	12/01/2016	Contaminada	-	-	-
EDAR*	12/01/2016	Contaminada	-	-	-
Estación Autob/ Fuente	27/01/2016	<i>L. No pneumophila</i>	-	Anisa	-
Residencia Milagrosa	27/01/2016	<i>L. pneumophila</i>	SG 8	-	-
Residencia Milagrosa	27/01/2016	<i>L. pneumophila</i>	SG 8	-	ST 1324
EDAR*	25/02/2016	<i>L. pneumophila</i>	SG 8	-	ST 1324

*EDAR: Estación Depuración Aguas Residuales

La secuencia de los genes de cada uno de los ST identificados es la siguiente:

- **ST 87:** (2, 10, 3, 28, 9, 4, 13)
- **ST 899:** (6, 10, 14, 10, 39, 3, 20)
- **ST 1324:** (5, 1, 22, 30, 6, 10, 203)

En una primera aproximación se observan algunas particularidades:

- El número y diversidad de las muestras ambientales es mucho menor que en el caso de las humanas, quizá como consecuencia de la mayor dificultad en la realización de análisis microbiológicos con muestras ambientales.
- Aún con la escasa diversidad de cepas ambientales, llama la atención que en las identificadas como ST 87 y ST 1324 no se han identificado cepas humanas idénticas o similares.
- La cepa epidémica (ST 899) se ha identificado en dos instalaciones, una con escasa relevancia en el brote (riego por aspersión) y otra de dudosa implicación en el mismo aunque en absoluto descartable.

c) Laboratorio de Genética de la Universidad de Valencia

Al laboratorio de Genética de la Universidad de Valencia se remitieron un total de 42 muestras ambientales. El envío se llevó a cabo en dos fases con una importante diferencia de rendimiento entre ambas.

El primer envío incluía 10 muestras ambientales tomadas el día 21 de diciembre y recepcionadas en el laboratorio de Valencia el día 22 de diciembre. Las muestras correspondían a 4 instalaciones:

- Fuente de la Estación de Autobuses
- Fuente del Gran Teatro o Fuente de Piedra
- Fuente del Estanque del Parque
- Torre de Refrigeración de la Lavandería.

En 7 de las 10 muestras se pudo detectar la presencia de *Legionella* lo que supone un rendimiento del 70%. En dos de ellas (Fuente de Piedra y Fuente del Estanque del Parque) se pudo detectar por primera vez ya que los análisis realizados hasta esa fecha habían dado resultado negativo.

Sin embargo, la caracterización genética de las *Legionellas* detectadas en las 11 muestras positivas no resultó tan eficiente, pues fueron muchos los casos en que no se logró obtener la secuencia del locus correspondiente. Con todo, los resultados de las muestras ambientales indicaban la presencia de más de una variante de *Legionella pneumophila* en todas ellas, dada la detección de mezclas de alelos en uno o más loci de los que se pudo obtener una secuencia. Esta mezcla de alelos en un locus suele impedir la determinación de los mismos, aunque en el caso de la muestra de la torre de refrigeración de la Lavandería sí que se pudo determinar la secuencia del alelo mayoritario en los loci *fliC* y *pilE*. Gracias a ello, y a que la secuencia de los restantes loci fue lo bastante clara e inequívoca, se identificó como muy probable la presencia del ST87 en dicha muestra. En consecuencia, se pudo constatar que en las cuatro instalaciones de riesgo con muestras ambientales se detectó la presencia de *Legionella pneumophila* y que ésta no se encuentra en ellos como una única variante o ST, sino en mezcla de varios, quedando caracterizado el ST 87 como presente en la torre de refrigeración de la lavandería.

En la segunda fase (enero de 2016) se enviaron 32 muestras ambientales detectándose la presencia de *Legionellas* en 4 de ellas (12,5%). Las muestras correspondían a 12 instalaciones de riesgo: cuatro torres de refrigeración, cuatro fuentes ornamentales, tres sistemas de riego por aspersión y un condensador evaporativo.

Las cuatro muestras positivas correspondieron a las siguientes instalaciones:

- Filtro del Camión Grúa-Lavadora de contenedores [secuencia del loci *mip* (10)]
- Raspado del aspersor 3 en el Campo de Fútbol [locis *mip* (28-30) y *mompS* (6)]

- Dos muestras de raspado de la torre de refrigeración de Aluminios Cortizo, no pudiéndose secuenciar ningún *loci* en una de ellas y secuenciándose el *proA* (62) en la otra.

Parece llamativa la gran diferencia en el rendimiento de las muestras enviadas en la primera fase (70%) con las de la segunda fase. Esta diferencia puede deberse, sobre todo, a varias causas:

- 1) El primer envío fue más selectivo que el segundo, ya que en aquellas fechas la prioridad era identificar instalaciones de riesgo con potencial transmisor.
- 2) En la segunda fase el interés fundamental era constatar que las actuaciones de limpieza y desinfección llevadas a cabo en las diferentes instalaciones de riesgo habían sido eficaces. Independientemente de cualquier otra razón, la limpieza y desinfección de las instalaciones de riesgo obviamente contribuye a obtener un mayor porcentaje de resultados negativos.
- 3) Las condiciones de conservación, hasta la entrada en el laboratorio, de las muestras enviadas fueron mejores en la primera fase ya que el envío se produjo tan sólo con un día de retraso respecto a la toma de muestras. No ocurrió lo mismo con las enviadas en la segunda fase

Con estos resultados, no se pueden extraer demasiadas conclusiones y menos con un carácter muy definitivo. Sin embargo, con los resultados obtenidos, es posible afirmar, que hay una diversidad considerable de cepas de *Legionella pneumophila* en la zona muestreada, puesta de manifiesto por la variabilidad de alelos encontrados en los dos *loci* que han podido ser secuenciados en alguna de las muestras estudiadas. Además, esta variabilidad se extiende también a algunas muestras clínicas, que tienen mezcla de dos alelos diferentes en el *locus mompS*, a la vez que presenta un alelo identificado sólo en muestras ambientales en el *locus mip* (*mip_28*).

Tanto los análisis de las primeras muestras, recibidas y procesadas en diciembre de 2015, como de las recibidas posteriormente, ya en 2016, ponen de manifiesto una elevada complejidad genética en las cepas de *Legionella pneumophila* vinculadas con este brote.

Aunque esta complejidad no es completamente incompatible con la existencia de un único foco de infección, es probable que las infecciones producidas durante el brote no hayan sido causadas por una fuente única y que la investigación epidemiológica deba considerar la existencia de varias fuentes del mismo. Los resultados obtenidos señalan la posibilidad de que pudieran ser varias las instalaciones vinculadas al brote.



Castilla-La Mancha

Consejería de Sanidad
Dirección General de Salud Pública y Consumo
Avenida de Francia, 4 - 45071 Toledo

Brote de legionelosis en Manzanares (Ciudad Real)

Informe Epidemiológico

Brote de Legionelosis en Manzanares (Ciudad Real) **Investigación Epidemiológica**

Actuaciones Iniciales

Tras declararse el brote de legionelosis en Manzanares el día 11 de Diciembre de 2015, el Jefe de Servicio de Epidemiología contactó con la Jefa de Sección de Epidemiología de la Dirección Provincial de Sanidad de Ciudad Real para coordinar las actuaciones de ambas unidades en la investigación y control del brote.

En principio se acordó lo siguiente:

- 1.- Revisar el protocolo de la Consejería de Sanidad relativo a las actuaciones en brotes comunitarios de legionelosis y adaptarlo a la situación particular de Manzanares.
- 2.- Proceder a una detallada revisión bibliográfica de la enfermedad y de los brotes provocados por ella.
- 3.- Elaborar una definición de caso específica para este brote.
- 4.- Adaptar el cuestionario epidemiológico de legionelosis de la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica a las circunstancias particulares del brote. Este cuestionario se podría ir adaptando en función del desarrollo y evolución del brote.
- 5.- Elaborar una base de datos específica para proceder a la grabación de los casos y explotación de los datos.
- 6.- Obtener un listado con direcciones de las instalaciones de riesgo del municipio de Manzanares.
- 7.- Informar a las unidades clínicas implicadas en la atención sanitaria a los posibles casos de legionelosis.
- 8.- Establecer los cauces de comunicación de Epidemiología con el resto de unidades de Salud Pública, con los servicios clínico-asistenciales y con las autoridades sanitarias.

Definición de Caso

Se adaptó la definición de caso del Centro Europeo de Control de Enfermedades (ECDC) para brotes comunitarios de legionelosis. En concreto, la definición de caso utilizada en el brote ha sido la siguiente:

- a) **Criterio Epidemiológico:**
 - Residir en Manzanares
- o
- Haber visitado Manzanares en los 10 días anteriores a la Fecha de Inicio de Síntomas
- b) **Criterio Clínico:**
 - Neumonía confirmada por radiología
- c) **Criterio Microbiológico de Caso Confirmado:**
 - Cultivo positivo
 - Antígeno en orina positivo
 - PCR-Nested SBT
 - Seroconversión
- d) **Criterio Microbiológico de Caso Probable**
 - PCR positiva sin secuenciación

De acuerdo con estos criterios se establecieron cuatro categorías de caso:

1) **Caso Confirmado:**

Todo caso que reúna los criterios:

- a) Criterio Epidemiológico
- b) Criterio Clínico
- c) Criterio Microbiológico (confirmación por laboratorio)

2) **Caso Probable**

Todo caso que reúna los criterios:

- a) Criterio Epidemiológico
- b) Criterio Clínico
- c) Criterio Microbiológico (exclusivamente criterio de Caso Probable)

3) **Caso Sospechoso:**

Todo caso que reúna los criterios:

- a) Criterio Epidemiológico
- b) Criterio Clínico
- c) Sin Criterio Microbiológico de Caso Confirmado o Caso Probable

4) **Caso Descartado por:**

- a) No Cumplir Criterio Epidemiológico
- b) Diagnóstico Microbiológico de otro agente causal

Cuestionario Epidemiológico

El cuestionario epidemiológico incluía variables relativas a:

- a) Datos de identificación personal con especial énfasis en precisar la dirección postal del caso.
- b) Características clínicas del caso, entre otras:
 - Fecha de inicio de síntomas
 - Signos y síntomas del paciente
 - Ingreso hospitalario (Sí/No, fecha de ingreso, fecha de alta)
 - Evolución
- c) Factores de riesgo:
 - Factores de riesgo específicos de la enfermedad (hábito de fumar, diabetes, EPOC, ...)
 - Relación detallada de los lugares habituales de ocio y de las actividades sociales en el municipio de Manzanares en los 10 días anteriores a la fecha de inicio de síntomas.
- d) Datos de laboratorio:
 - Toma de muestras (Sí/No, tipo de muestra y fecha de toma)
 - Resultado de las pruebas realizadas, fecha de diagnóstico y laboratorio de realización
 - Envío de muestras al Centro Nacional de Microbiología

- Agente causal, serogrupo, subgrupo y resultados de secuenciación
- e) Clasificación del caso
- f) Datos relativos a la declaración del caso:
 - Fecha de declaración del caso
 - Centro sanitario de declaración del caso
 - Médico que declara el caso
- g) Observaciones:
 - Cualquier información de interés no recogida en los apartados anteriores.

Procedimientos

De acuerdo con el Real Decreto 2210/1995 de 28 de diciembre por el que se crea la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica y con el Decreto 51/1997 de 29 de abril por el que se crea la Red de Vigilancia Epidemiológica de Castilla-La Mancha, la legionelosis no es una enfermedad de declaración urgente. No obstante, en el contexto del brote, tal como prevé la legislación, se consideró que los casos de legionelosis presumiblemente relacionados con el brote pasaban a ser de declaración urgente.

En virtud de ello, los centros sanitarios de la Gerencia de Atención Integrada de Manzanares procedieron a la declaración urgente de todos los casos de legionelosis, sospechosos o confirmados, atendidos en el ámbito de su práctica clínica.

Una vez declarado el caso, la Sección de Epidemiología de la Dirección Provincial de Sanidad de Ciudad Real procedía a cumplimentar el cuestionario epidemiológico, encuestando directamente al paciente o a sus familiares sobre las características epidemiológicas previas a la aparición de la enfermedad. Además se contactaba con el médico responsable del caso y se consultaba la historia clínica electrónica.

El cuestionario cumplimentado se remitía al Servicio de Epidemiología donde se grababan todos los casos en una base de datos elaborada específicamente para el brote.

Diariamente, en el Servicio de Epidemiología se depuraban las posibles inconsistencias y se elaboraban uno o dos informes de situación que se difundían a las autoridades sanitarias y a las unidades clínicas implicadas en el brote.

Desde el principio del brote se geocodificaron (determinación de latitud y longitud) todas las posibles instalaciones de riesgo, representándose gráficamente sobre el mapa del municipio de Manzanares. Asimismo, y con carácter diario, todos los casos declarados se geocodificaban y representaban en mapas para comprobar la posible asociación entre los lugares de residencia, trabajo y ocio y la localización de las instalaciones de riesgo.

Para la geocodificación de instalaciones y casos así como para su representación geográfica se utilizaron diferentes herramientas GIS y métodos de análisis:

- Servicios web de geocodificación Google Maps, OSM y Bing Maps.
- Cartografía Instituto Geográfico Nacional.
- Cartografía del Instituto Nacional de Estadística
- QGIS 2.12: Sistema de Información Geográfica
- Programa GeoToMap (elaborada por el Servicio de Epidemiología de la Consejería de Sanidad) para codificar espacialmente los literales de las direcciones de casos y fuentes de riesgo.
- ECDC: Legionnaires' Disease GIS Tool (programa facilitado para el estudio específico del brote por el Centro Europeo de Control de Enfermedades).
- Lenguaje de programación R

Principios Metodológicos

- La mayor proximidad a la instalación/es que emite arerosoles contaminados por *legionella* es un factor de riesgo de enfermar de legionelosis.
- El lugar de residencia es un indicador cuantificable de proximidad a una instalación de riesgo y por tanto de riesgo.
- Existen otros indicadores de riesgo (actividad social, trabajo, ..)
- La expresión lineal de ese riesgo en relación a una instalación (incremento secuencial del riesgo en función de la proximidad a la instalación) apoyaría la hipótesis de causalidad (efecto dosis-respuesta)

Métodos

El estudio epidemiológico del brote de legionelosis en Manzanares incluye los siguientes apartados, elaborados de forma secuencial:

- 1.- Estudio epidemiológico descriptivo
- 2.- Análisis de tasas de incidencia según distrito y sección electoral
- 3.- Estimación de la densidad de casos por kilómetro cuadrado.
- 4.- Estudio casos-control apareado
- 5.- Estudio casos-control (método de Kernel)

1) Estudio Epidemiológico Descriptivo

- Descripción y representación tabular y gráfica de las variables epidemiológicas fundamentales (tiempo, lugar y persona).
- En este apartado se incluyeron todos los casos del brote (confirmados, sospechosos y probables).

2) Cálculo y Comparación de Tasas de Incidencia según Distrito y Sección Electoral

- Para este estudio se consideraron exclusivamente los casos confirmados con residencia en el municipio de Manzanares.
- De todos los casos incluidos en el análisis se obtuvo el código de distrito y sección electoral según su inscripción en el Censo Electoral de Diciembre de 2015.
- El número de habitantes por grupos de edad y sexo según distrito y sección electoral se obtuvo de la página web del INE (Padrón Municipal de Habitantes a 1 de Enero de 2015).
- Las capas geográficas de los distritos y secciones electorales del municipio de Manzanares se obtuvieron de la página web del INE.
- Se obtuvo el número de casos por distrito y sección electoral según grupos de edad y sexo.
- Se calcularon las tasas brutas de incidencia con sus intervalos de confianza por distrito y sección electoral
- Se calcularon las tasas ajustadas de incidencia por edad y sexo con sus intervalos de confianza por distrito y sección electoral. Como población estándar se tomó la población por grupos de edad y sexo del municipio de Manzanares a 1 de Enero de 2015.
- Se calcularon las razones estandarizadas de incidencia (REI) ajustadas por edad y sexo con su intervalo de confianza por distrito y sección electoral. Se tomó la distribución por edad y sexo de los casos de Manzanares como Ley de Incidencia.
- Se estimaron diferentes modelos de regresión de Poisson según distrito y sección electoral, ajustados por edad y sexo.
- **Software:**
 - PASW Statistics. Ver 22
 - Stata Ver 14
 - QGIS 2.12

- Hojas de cálculo diseñadas al efecto y programadas por el Servicio de Epidemiología

3) **Estimación de la Densidad de Casos por Kilómetro Cuadrado**

- Geocodificación de la dirección postal de todos los casos confirmados con residencia en el municipio de Manzanares.
- A continuación, el fichero con las geocodificaciones se importó al programa “Legionnaires’ Disease Gis Tool (ECDC)”.
- Se definieron los parámetros del modelo (tamaño de celda ráster o cuadrícula y el radio de búsqueda o ancho de la función Kernel)
- Finalmente se obtuvo un mapa (capa ráster) con los valores estimados de la densidad de casos por kilómetro cuadrado, identificándose zonas de mayor densidad o mayor riesgo de incidencia de casos.

4) **Estudio Casos Control Apareado**

a) **Selección Inicial:**

- 247 casos confirmados con residencia en Manzanares.
- Cuatro controles por caso (total 988), apareados por grupos quinquenales de edad y sexo
- Los controles se extrajeron aleatoriamente de la base de datos de tarjeta sanitaria de Manzanares

b) **Selección Final:**

- 242 casos confirmados con residencia en Manzanares.
- 939 controles (≈ 4 por caso) excluyéndose los sujetos que habían sido clasificados como casos sospechosos o probables o habían padecido durante el periodo de estudio una enfermedad respiratoria.

c) **Geocodificación:**

- Todos los casos y controles se geocodificaron según el domicilio de tarjeta sanitaria.
- Para ello se utilizó el programa GeoToMap desarrollado por la Consejería de Sanidad.
- Se calcularon las distancias en metros de los casos y los controles a cada una de las instalaciones consideradas de riesgo.

d) **Estratificación:**

- En función del histograma de distancias de los sujetos a cada una de las fuentes se agruparon los casos y controles en intervalos específicos para cada una de las instalaciones de riesgo

e) **Hipótesis Nula:**

- La distancia del domicilio a la instalación de riesgo no está asociada a la enfermedad:

- $H_0: OR = 1$

f) **Hipótesis Alternativa**

- La distancia del domicilio a la instalación de riesgo está asociada a la enfermedad:

- H_a (Bilateral): $OR \neq 1$

- H_a (Unilateral): $OR > 1$

g) **Procedimientos:**

- Para cada una de las instalaciones consideradas de riesgo se obtuvo un modelo de regresión logística condicional.
- El modelo se obtuvo de forma independiente para cada uno de los intervalos considerados en cada una de las instalaciones.
- Los modelos con mayor verosimilitud se ajustaron por la distancia a instalaciones de riesgo próximas
- Finalmente se procedió a comparar los diferentes modelos obtenidos.

h) **Software:**

- PASW Statistics, Ver. 23
- Stata, Ver. 14

5) **Estudio de Casos y Controles por el Método de Kernel**

- Con el fin de evitar la confusión que en el patrón espacial puede introducir la variación de la densidad de la población, se compara con una distribución espacial de controles.
- Estos controles son extraídos, al azar, del conjunto de la población sana (no padece la enfermedad en cuestión).

- Se aparea cada caso con un conjunto de controles de igual sexo y grupo de edad quinquenal.
- Si el riesgo de contraer la enfermedad no depende de la residencia, del caso confirmado, es de esperar que se distribuya espacialmente de igual forma que lo hacen los controles
- Una forma de abordar el problema para ver si se ajusta la distribución de los casos y controles a un mismo patrón es dividir la zona a estudiar en cuadrículas y verificar si el número controles y casos son iguales (suponiendo un control por caso).
- En las zonas de alto riesgo se contabilizarán más casos que controles y al contrario en las de bajo riesgo.
- Se puede formular la hipótesis de que la distribución de casos sigue una distribución de Poisson.
- El método de Kernel es una forma semiparamétrica de estimar una distribución desconocida
- Dada la muestra de “n” observaciones se define la estimación de tipo kernel o núcleo:

$$f_n(x) = \frac{1}{nh_n} \sum_{i=1}^n K\left(\frac{x - X_i}{h}\right)$$

Donde h es el parámetro de ancho de banda o ventana, n el número de observaciones y K la función K.

6) Estimación de la Densidad de Casos respecto a “Buffers de Anillos” en torno a las Instalaciones de Riesgo

- En este método, además de obtener la geocodificación de todos los casos confirmados con residencia en el municipio de Manzanares se ha de obtener la geocodificación de las instalaciones de riesgo.
- Los ficheros correspondientes a geodificación de casos e instalaciones de riesgo se importaron al programa “Legionnaires’ Disease Gis Tool (ECDC)”.
- Se definieron los parámetros del modelo, en este caso tamaño o radio de los buffers (polígono que encierra el “área de influencia” resultante de dar una determinada distancia en torno a un punto, línea o polígono).
- Se obtuvieron diferentes capas vectoriales de buffers (círculos concéntricos en torno a instalaciones de riesgo) con estimación continua de la densidad de casos respecto a una o varias instalaciones de riesgo

Resultados (Investigación Epidemiológica)

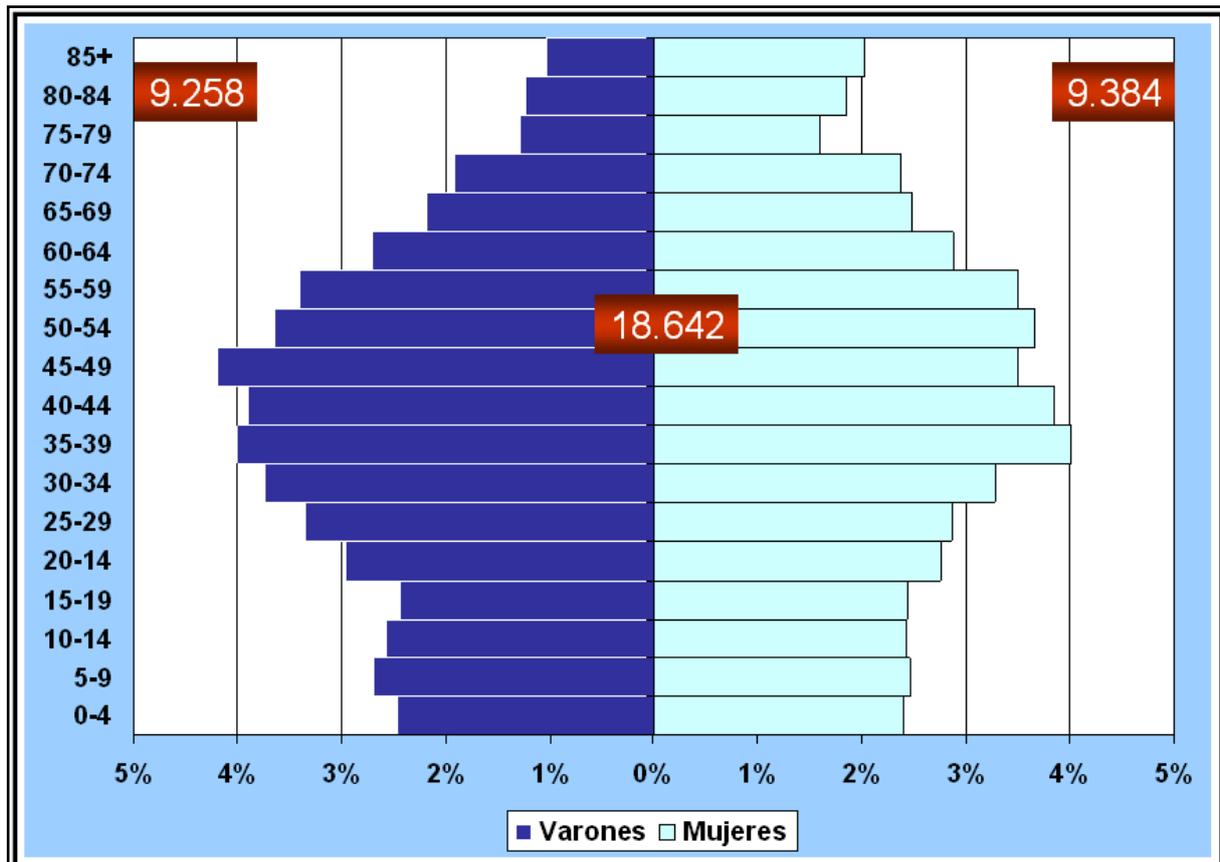
1) Estudio Epidemiológico Descriptivo

Población

Según el Padrón Municipal de Habitantes a 1 de Enero de 2015, el municipio de Manzanares tiene una población de 18.642 habitantes de los cuales 9.258 son varones (49,7%) y 9.384 son mujeres (50,3%).

La pirámide de población de Manzanares (Gráfico 1) presenta una base estrecha y una cúspide achatada lo que es expresión de un importante envejecimiento poblacional como la mayoría de los municipios de Castilla-La Mancha. El índice de Rosset (porcentaje de población mayor de 60 años) es del 23,5% (4.388 habitantes), es decir se trata de una población envejecida en fase muy avanzada. El índice de envejecimiento de la ONU (porcentaje de población mayor de 65 años es del 18,0% (3.348 habitantes) lo que supone también un envejecimiento muy acusado. El porcentaje de personas con 80 y más años de edad es del 6,1% (1.143 habitantes) y el de personas con 85 y más años de edad es del 3,1% (570 habitantes).

Gráfico 1.- Pirámide de Población de Manzanares (1 de Enero de 2015)



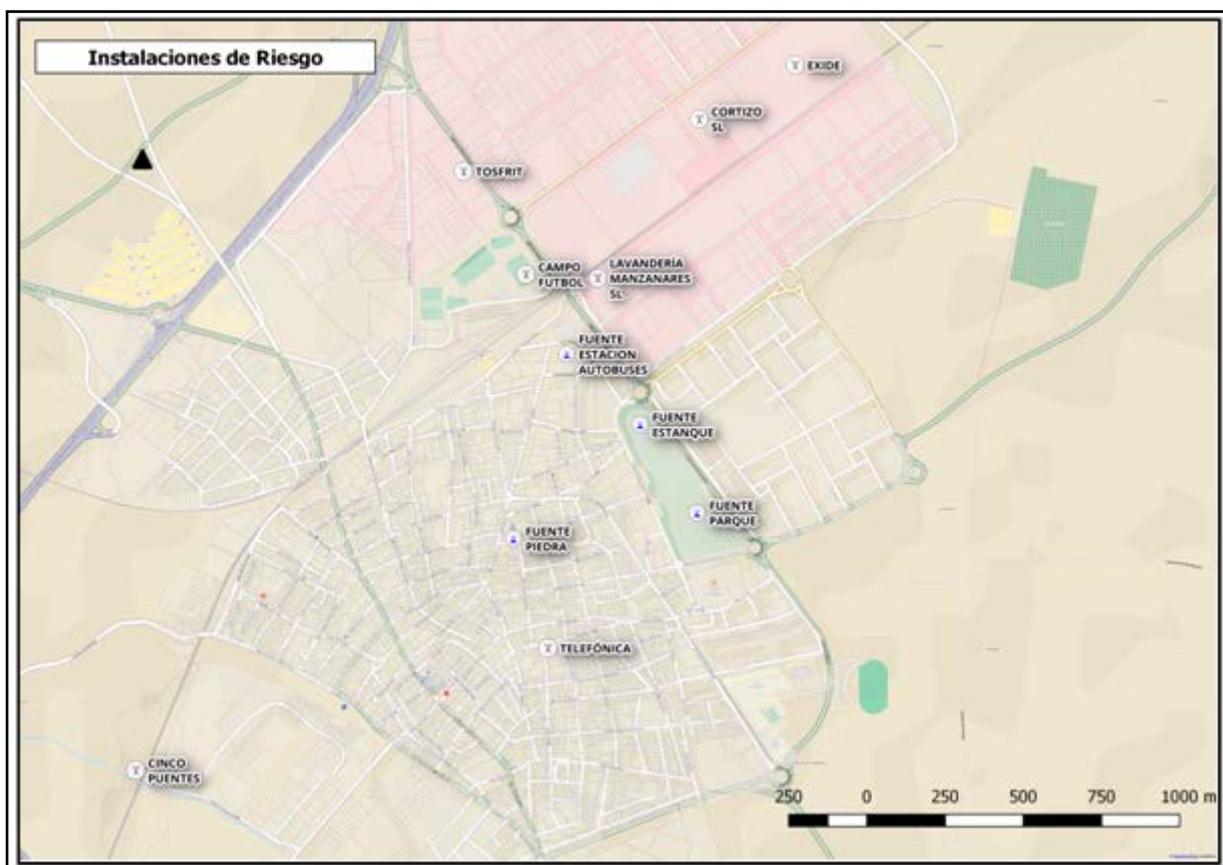
Dado que la legionelosis es una enfermedad muy asociada a la edad (a mayor edad mayor riesgo de enfermar incluso ante la misma exposición), es conveniente a la hora de abordar

el estudio del brote analizar la composición y estructura de la población en cuestión, en este caso la del municipio de Manzanares.

Instalaciones de Riesgo

Aunque se inspeccionaron 67 instalaciones de riesgo (con toma de muestras en 31 de ellas) y se visitaron además 49 establecimientos que pudieran tener alguna instalación de riesgo, las instalaciones de riesgo que se consideraron definitivamente en el estudio del brote fueron 11 y se representan en el Gráfico 2.

Gráfico 2.- Ubicación Espacial de las Instalaciones de Riesgo (Manzanares)



No obstante, la Fuente del Parque que figura como instalación de riesgo, finalmente no se consideró como tal ya que se comprobó que no estaba en funcionamiento. De las 10 restantes:

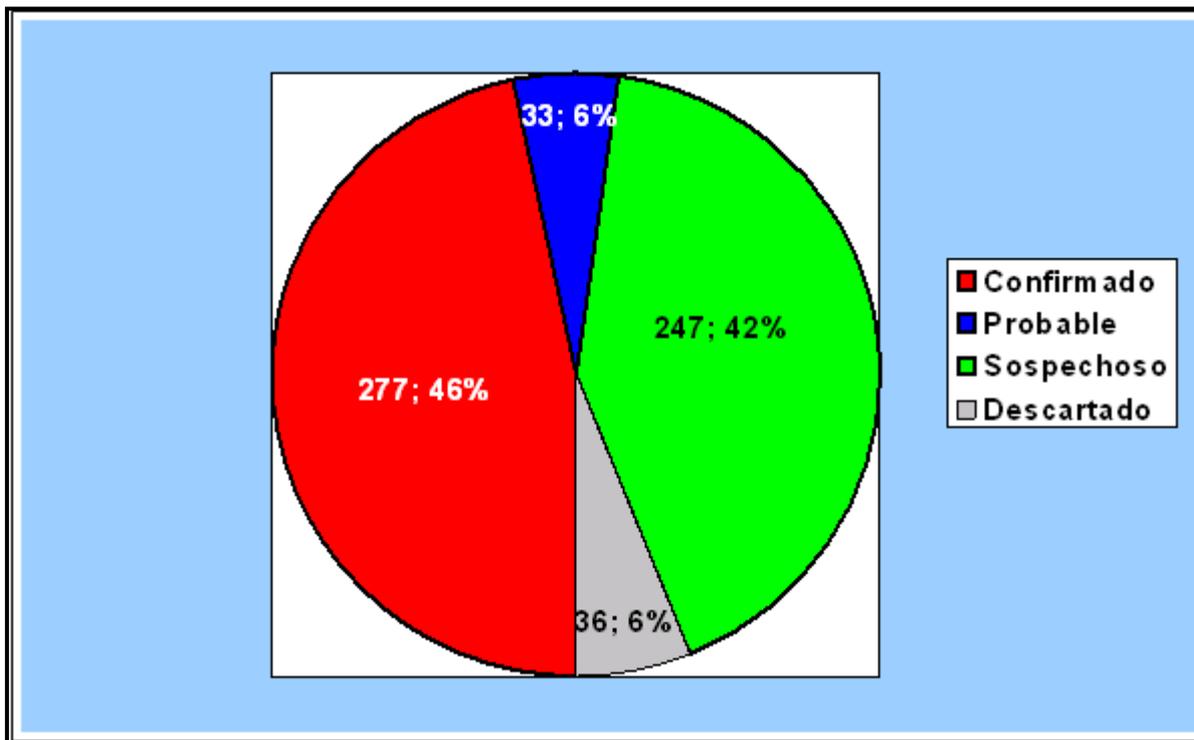
- Cinco son instalaciones con torres de refrigeración (Exide, Cortizo, Tosfrit, Lavandería de Manzanares y Telefónica).
- Cuatro de las cinco torres de refrigeración se encuentran en el Polígono Industrial de Manzanares (tres de ellas bastante alejadas del núcleo urbano). La torre de Telefónica se encuentra en el centro del municipio aunque no funciona regularmente.

- Tres son fuentes ornamentales (Fuente de la Estación de Autobuses, Fuente de Piedra y Fuente del Estanque del Parque)
 - Las tres fuentes se encuentran en el casco urbano, una de ellas en el centro del mismo y las otras dos en el extremo norte del casco.
- Dos son instalaciones de riego por aspersión (explotación agrícola Cinco Puentes y Campo de Fútbol)
 - Una de estas instalaciones encuentra en el extremo norte del casco urbano y la otra en el extremo sur un tanto alejada del casco urbano.

Casos Confirmados y Sospechosos

El número total de casos declarados fue de 593, de los cuales 277 (46%) se clasificaron como casos confirmados de acuerdo con la definición de caso adoptada para este brote; 247 (42%) se clasificaron como sospechosos, 33 (6%) se consideraron probables y 36 (6%) se descartaron por no cumplir con los criterios de caso relacionado con el brote (Gráfico 3).

Gráfico 3.- Número Total de Casos Declarados según Clasificación del Caso

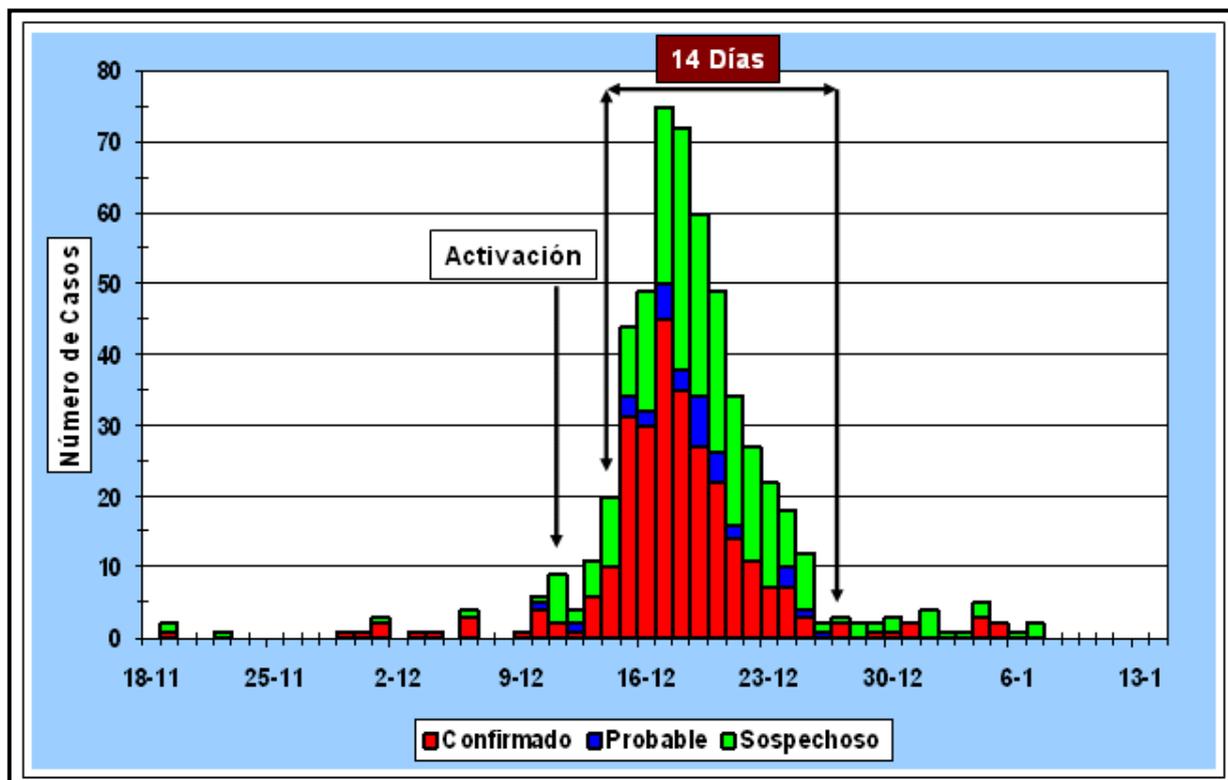


Curva Epidémica

La impresión visual inmediata de la curva epidémica (Gráfico 4) con todos los casos (confirmados, probables y sospechosos) es una curva típica de exposición puntual a una fuente común. Sin embargo con una inspección más detallada de la misma se observan algunas particularidades:

- Desde casi un mes antes de la declaración del brote y puesta en marcha de las actuaciones de control del mismo se aprecia un goteo de intermitente, de escasa intensidad, de casos (diagnosticados a posteriori en su mayoría).
- Transcurridos 14 días (periodo de incubación en brotes aunque en algún brote ha llegado a 19 días) desde la puesta en marcha efectiva de las actuaciones de control (14 de diciembre) se sigue observando la aparición de algunos casos aislados.
- Esos casos aislados pueden corresponder a varias causas: personas que no precisan con rigor la fecha de inicio de síntomas (comienzo insidioso por ejemplo), casos provocados por alguna instalación de riesgo no controlada en ese momento aunque de escaso impacto o simplemente corresponderían a lo que en términos epidemiológicos se conoce como “ruido”.

Gráfico 4.- Número de Casos según Fecha de Inicio de Síntomas y Tipo de Caso



El mayor número de casos, por fecha de inicio de síntomas, se registró el día 17 de diciembre con 75 casos (13,5% del total de casos). Entre los días 14 y 25 de diciembre se registraron 482 casos (86,5% del total). Antes del 14 de diciembre se registraron 45 casos (8,1% del total) y desde el día 26 de diciembre al 7 de enero se registraron 30 casos (5,4%

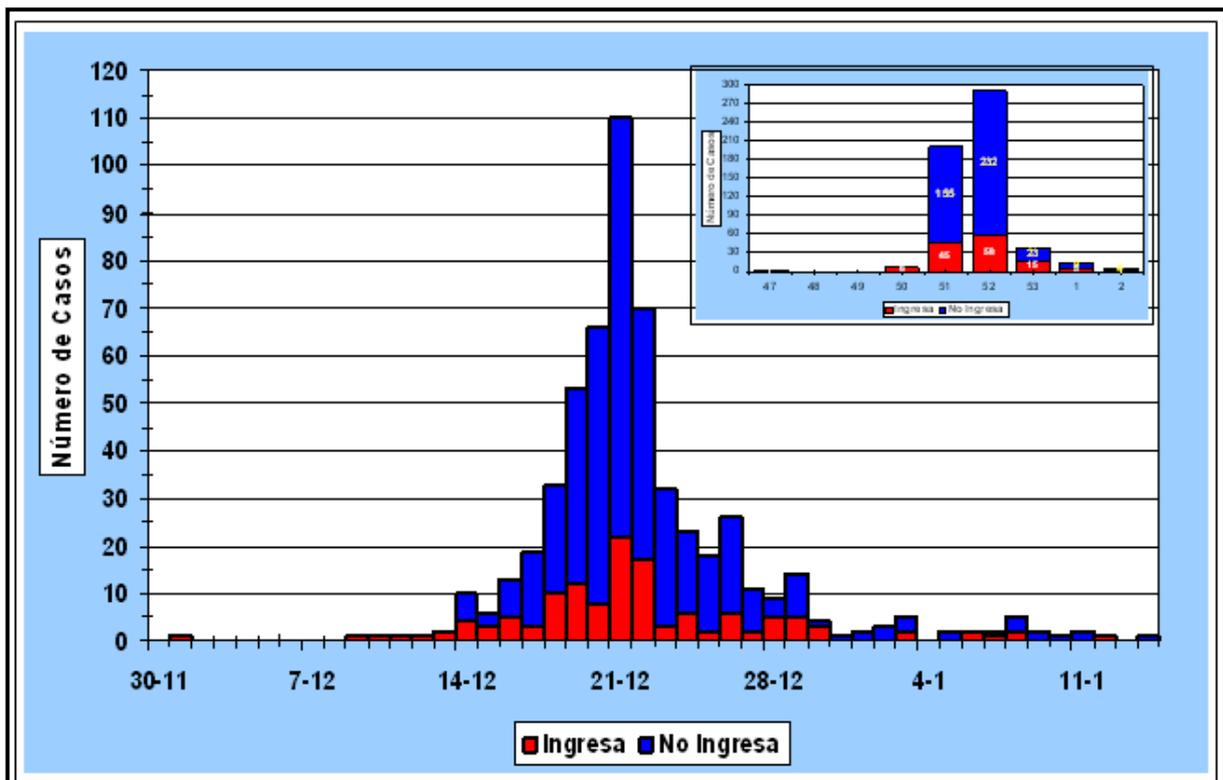
del total de casos). Por lo tanto, todo parece apuntar que la mayor exposición se produjo entre los días 8 y 12 de diciembre de 2015.

Carga Asistencial

La puesta en marcha inmediata de las medidas de control tras la declaración del brote alertó a los servicios asistenciales del área de Manzanares (especialmente el Hospital Virgen de Altagracia). Esta alerta intensificó la sospecha diagnóstica de legionelosis que se apoya, al menos inicialmente, en la determinación de la prueba de antígeno en orina. Esta prueba se realizó en el contexto del brote de forma simultánea a la demanda de asistencia sanitaria, por ello es un buen indicador de la presión asistencial sufrida por el Hospital Virgen de Altagracia.

El 54% de los casos (299) solicitaron demanda asistencial entre los días 19 y 22 de diciembre de 2015 (Gráfico 5). En relación con la fecha de inicio de síntomas se observa un retardo de 4-5 días.

Gráfico 5.- Número de Casos según Ingreso Hospitalario y Fecha de Realización de Antígeno en Orina



El 88,4% (490) de los casos solicitaron demanda asistencial en las semanas epidemiológicas 51 y 52 de 2015 (parte superior derecha del gráfico 5). En la semana 51 se produjeron 45 ingresos y en la semana 52 se produjeron 58 ingresos lo que supone el 78% de todos los ingresos registrados en relación con el brote.

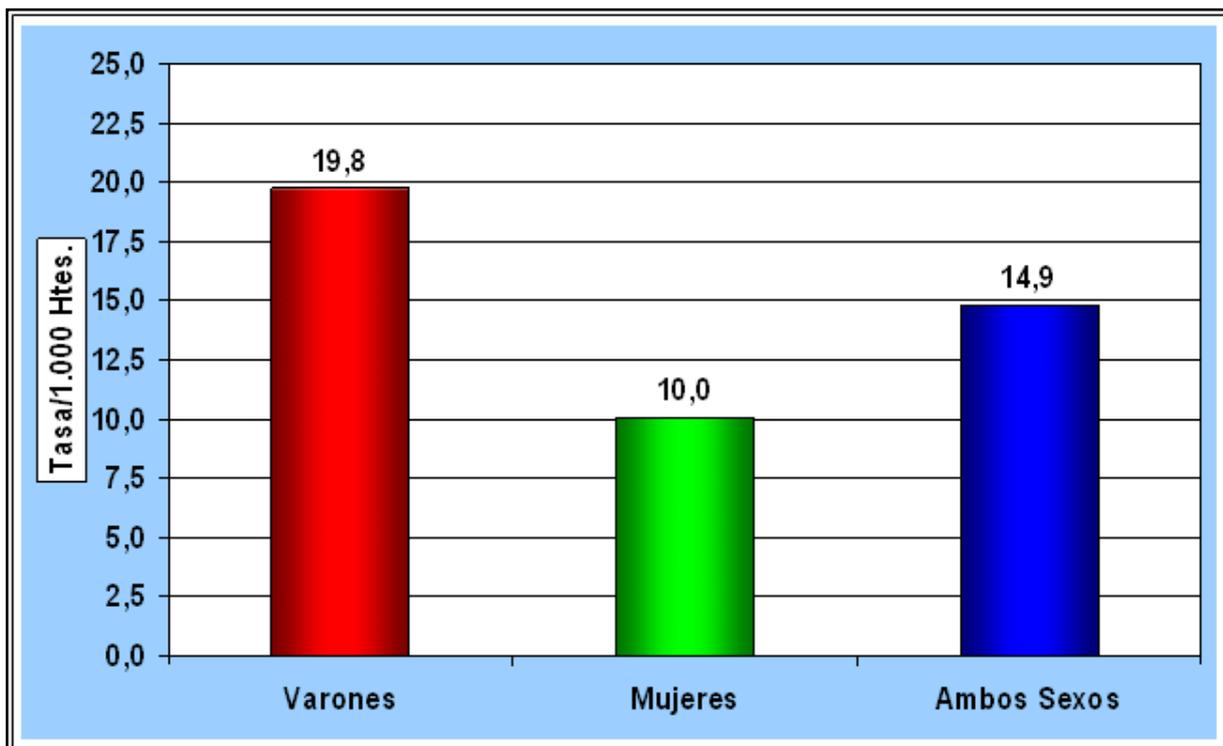
Casos Confirmados

El número total de casos confirmados en el brote de Manzanares ha sido de 277, de los cuales 183 son varones (66%) y 94 son mujeres (34%). La razón varón/mujer ha sido de 1,95 lo que concuerda con otros brotes publicados en la literatura.

La tasa de ataque en el conjunto de la población ha sido de 14,9 casos por 1.000 habitantes, con una tasa en varones de 19,8 casos por 1.000 habitantes y en mujeres de 10,0 casos por 1.000 habitantes (Gráfico 6).

Este brote es uno de los brotes comunitarios de legionelosis con mayor tasa de ataque. El brote registrado en la literatura con mayor número de casos es el de Murcia en 2001 con 449 casos, lo que supone una tasa de ataque entre 1,15 y 2,60 casos por mil habitantes, según se considere exclusivamente la población de la ciudad o la población de la ciudad más la de sus pedanías.

Gráfico 6.- Tasa por 1.000 Habitantes de Casos Confirmados de Legionelosis según Sexo



La edad media de los casos ha sido de 63,5 años (61,2 en varones y 67,9 en mujeres). La edad mediana del conjunto de los casos ha sido de 64 años (61 en varones y 71 en mujeres). El caso con mayor edad ha sido un varón de 95 años y el caso de menor edad ha sido una mujer de 18 años (rango de 77 años).

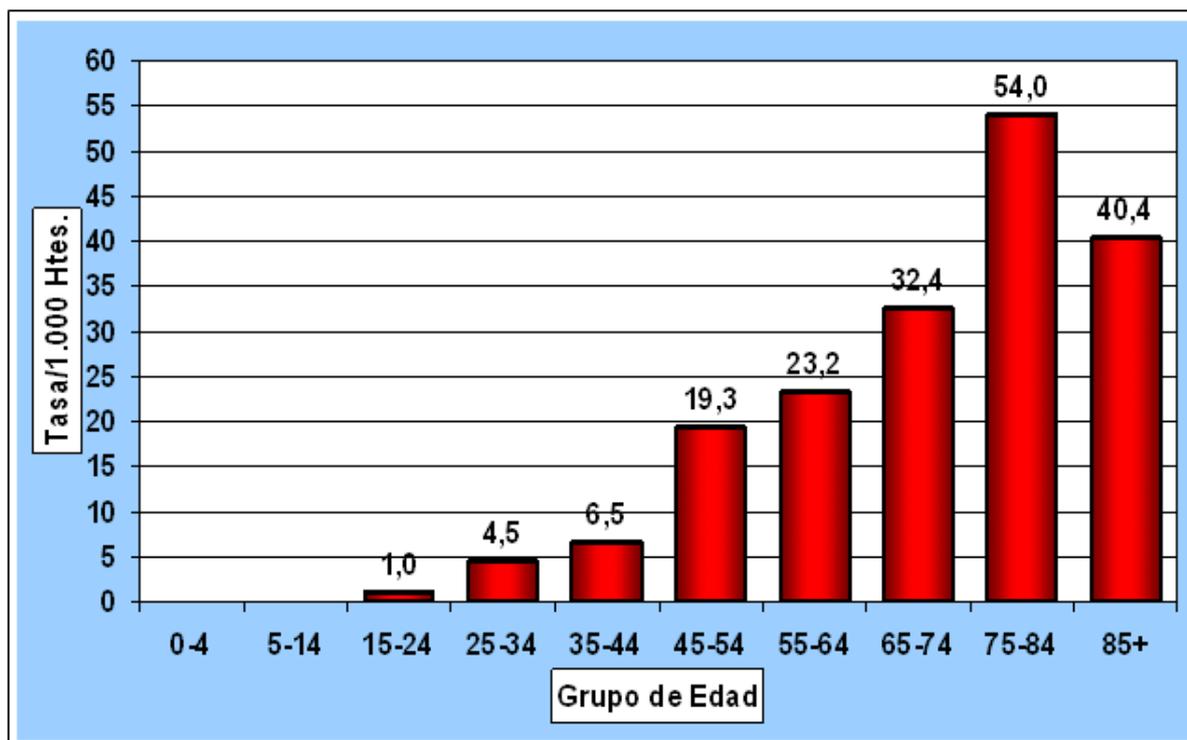
El grupo de edad con mayor número de casos es el de 75-84 años con 60 casos (21,7% del total). Los grupos de edad de 45-64, 55-64 y 65-74 años tienen el mismo número de casos (54). En el grupo de 85 y más años de edad se han registrado 23 casos (8,3% del total). En



el grupo de 15-24 años se han registrado dos casos (con 18 y 22 años). No se ha registrado ningún caso en menores de 18 años.

Las tasas específicas no siguen el mismo comportamiento que la distribución de casos, apreciándose un incremento progresivo de la tasa según aumenta la edad, excepto en el grupo de 85+ años de edad cuya tasa es inferior a la del grupo de 75-84 años aunque superior a todas las demás (Gráfico 7).

Gráfico 7.- Tasa por 1.000 Habitantes de Casos Confirmados de Legionelosis Según Grupos de Edad



De los 277 casos confirmados, 247 (89% del total de casos confirmados) tenían fijada su residencia en Manzanares mientras que 30 casos (11% de casos confirmados) residían en otros municipios. De los 30 casos confirmados con residencia fuera de Manzanares, 26 (87%) eran varones y 4 eran mujeres (13%).

Los 30 casos no residentes en Manzanares fueron encuestados especialmente sin que se encontrara un patrón común de los lugares visitados durante su estancia en Manzanares.

De los 30 casos no residentes en Manzanares, 28 residían en distintos municipios de la provincia de Ciudad Real, uno en la provincia de Toledo y otro era un transeúnte que pernoctó una noche en Manzanares y fue atendido en un hospital de otra comunidad autónoma.

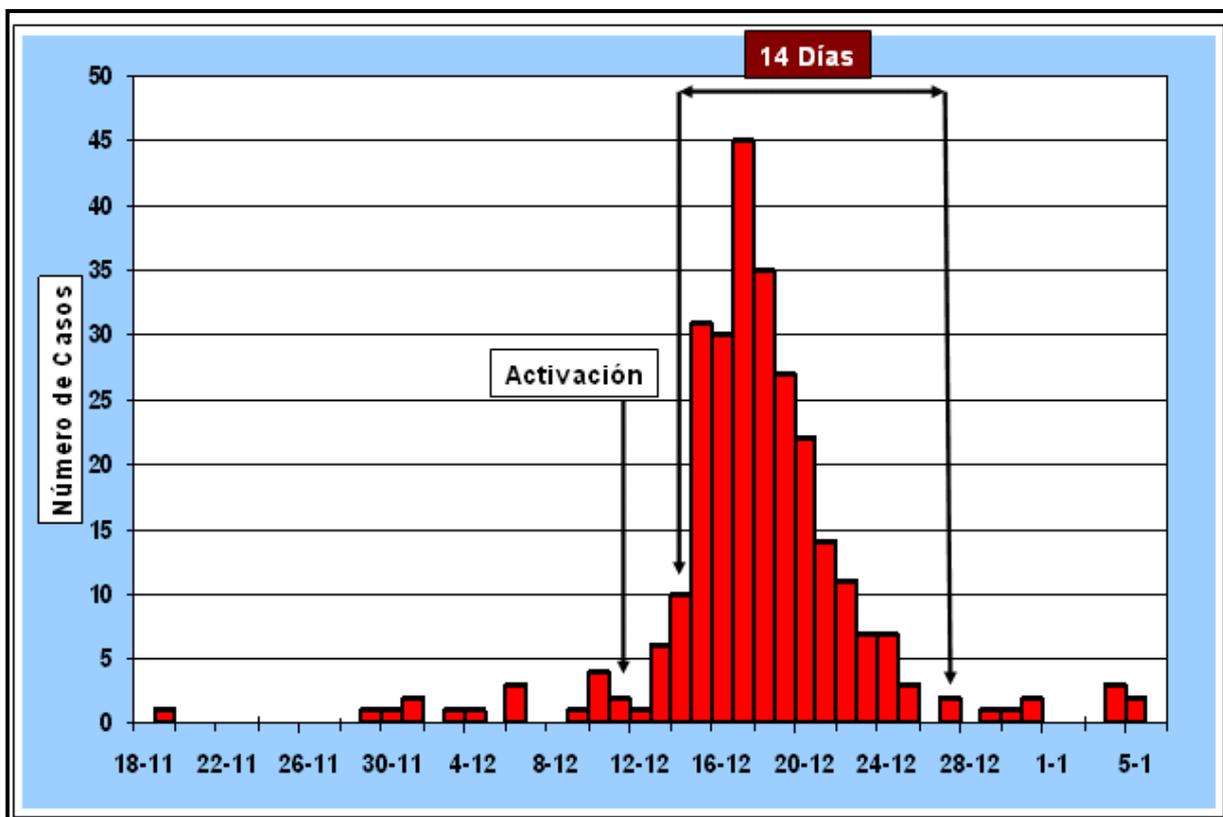
El municipio con mayor número de casos fue Membrilla con 10 casos. Otros municipios con más de un caso fueron La Solana (tres casos) y Alcazar de San Juan, Daimiel y Villarta con dos casos cada uno de ellos.



Curva Epidémica de Casos Confirmados

La curva epidémica de casos confirmados según fecha de inicio de síntomas (Gráfico 8) no es muy diferente a la curva epidémica con todos los casos. Se trata de una curva de exposición puntual a fuente común aunque se sigue apreciando el goteo intermitente de casos desde el día 18 de noviembre hasta el día 13 de diciembre fecha en la que comienza el ascenso de la curva epidémica. El día 25 de diciembre se interrumpe la curva epidémica y a partir del 27 se aprecia un goteo de casos atípicos hasta el día 5 de enero, fecha en la que se registra el último caso del brote.

Gráfico 8.- Número de Casos Confirmados según Fecha de Inicio de Síntomas



El día con mayor número de casos por fecha de inicio de síntomas fue el día 17 de diciembre (45 casos). En los días 15, 16, 18 y 19 de diciembre se registró también un número elevado de casos (en torno a 30 cada día). Entre los días 15 y 19 se registró el 60,6% de los casos confirmados

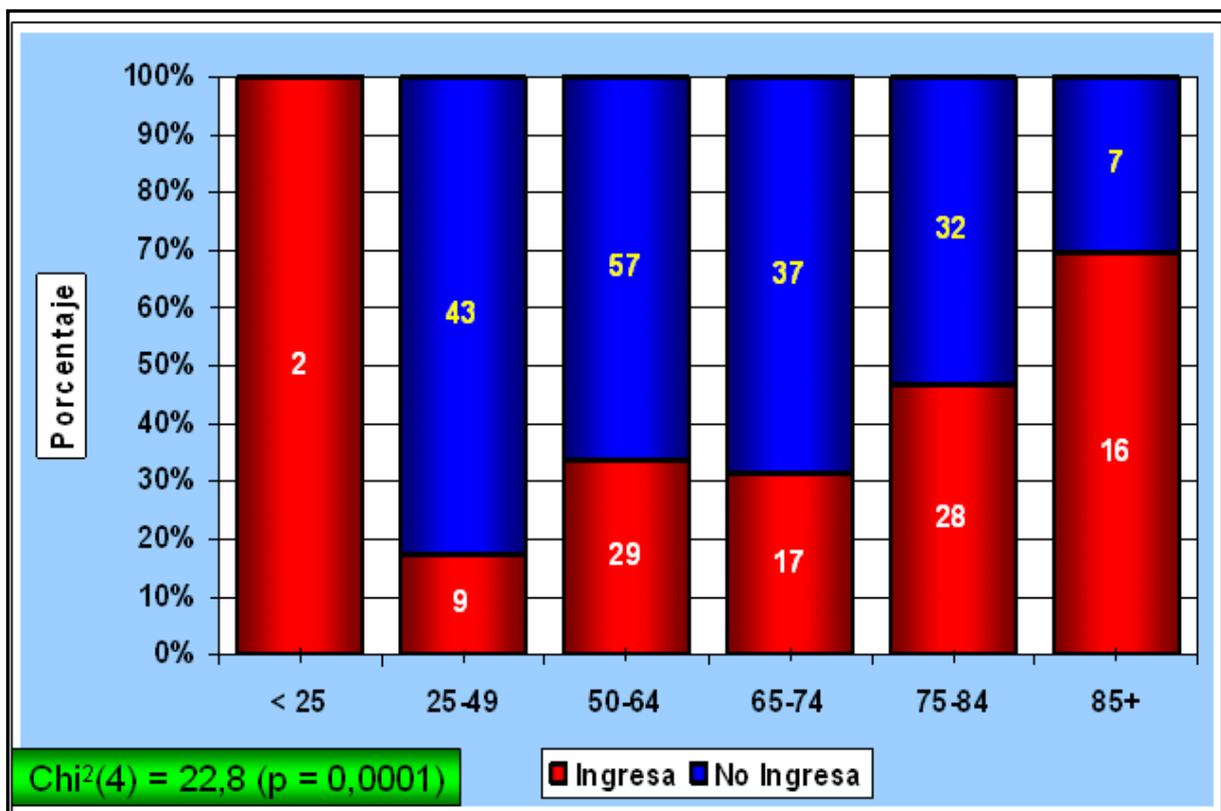
Entre los días 14 y 25 de diciembre se registraron 232 casos (87,4% del total). Entre el 19 de noviembre y el 13 de diciembre se registraron 24 casos (8,7% del total) y después del 25 de diciembre se registraron 11 casos (4,0% del total).

Características Clínicas de los Casos Confirmados

De los 277 casos confirmados requirieron ingreso hospitalario 101 de ellos (36,5%). El 37,2% de los varones requirieron ingreso hospitalario frente al 35,1% de las mujeres (Chi Cuadrado con corrección de Yates = 0,04; p = 0,83).

La edad fue una variable esencial para determinar el ingreso hospitalario (Chi Cuadrado de Pearson = 22,8; p = 0,0001). Como era de esperar, a mayor edad el porcentaje de ingresos fue mayor (Gráfico 9).

Gráfico 9.- Número y Porcentaje de Casos Confirmados según Ingreso Hospitalario y Grupo de Edad – Brote de Manzanares



Llama la atención que ingresara el 100% de los menores de 25 años, sin embargo sólo son dos casos y por tanto el porcentaje es muy lábil. El porcentaje de ingresos pasa de un 17,3% en el grupo de 25-49 años hasta casi un 70% en el grupo de edad de 85 y más. En el grupo de edad de 75-84 años ingresaron en torno al 50% de los casos. En los grupos de edad de 50-64 y 65-74 el porcentaje de ingresos fue similar (en torno al 30% en ambos).

Con datos clínicos facilitados por el Servicio de Urgencias del Hospital de Manzanares se estimó un modelo logístico con el objetivo de identificar las variables que predecían mejor el ingreso hospitalario de los pacientes con legionelosis (Tabla 1).

Coincidiendo con el análisis univariante (prueba Chi-Cuadrado), según el modelo logístico el sexo no influyó en el ingreso hospitalario (p = 0,3430) mientras que la edad fue un determinante del ingreso hospitalario con un odds ratio o razón de odds (OR) de 5,68 (IC 95:



1,9-17,4) en el grupo de edad de 85 y más años de edad respecto a los menores de 50 años. Se aprecia claramente un gradiente del OR en relación con la edad.

Tabla 1.- Modelo Logístico de Ingreso Hospitalario – Brote de Legionelosis (Hospital Virgen de Altagracia – Manzanares)

Variable	OR	EE	Z	p	Intervalo de Confianza	
					L. Inf	L. Sup
Sexo						
Mujer	1,00					
Hombre	1,32	0,38	0,95	0,3430	0,75	2,33
Grupo de Edad						
< 50	1,00					
50-64	1,33	0,65	0,59	0,5560	0,51	3,47
65-74	2,06	1,07	1,4	0,1610	0,75	5,69
75-84	3,70	1,84	2,63	0,0080	1,40	9,79
85+	5,68	3,25	3,04	0,0020	1,85	17,41
Análítica/Clinica Previa						
PCR	1,07	0,01	5,72	0,0000	1,04	1,09
Leucocitos	1,08	0,03	2,44	0,0150	1,02	1,15
Urea	1,02	0,01	2,87	0,0040	1,01	1,03
Confusión	1,89	0,53	2,29	0,0220	1,10	3,27
EPOC	1,08	0,16	0,52	0,6050	0,81	1,44
Cancer	1,25	0,18	1,59	0,1130	0,95	1,65

El aumento de leucocitos en sangre (OR = 1,08; 1,02-1,15), la proteína C reactiva o PCR (OR = 1,04-1,09) y la concentración de urea en sangre (OR = 1,02; 1,01-1,03) fueron las pruebas analíticas que determinaban en mayor medida el ingreso hospitalario.

Entre las condiciones clínicas en el momento del diagnóstico, la variable con mayor capacidad predictiva fue la confusión (OR = 1,89; 1,10-3,27). El cáncer (OR = 1,25) y la EPOC (OR = 1,08) aunque tenían un OR > 1 su diferencia no era estadísticamente significativas.

A la hora de valorar la magnitud del OR es preciso tener en cuenta que en las variables analíticas son cuantitativas y por tanto el OR expresa incremento por unidad de medición de dichas variables, mientras que el resto de las variables son cualitativas y el OR compara riesgos de las diferentes categorías con la basal (OR = 1).

Diez pacientes (5 varones y 5 mujeres) requirieron ingreso en UCI (3,6% de casos confirmados). La diferencia de ingreso en UCI según sexo no fue estadísticamente significativa (Chi-Cuadrado con corrección de Yates = 0,57; p = 0,4516).

Se registraron cuatro defunciones con una tasa global de letalidad del 1,4% (1,6% en varones y 1,1% en mujeres). Se trata de una de las tasas de letalidad más bajas entre los brotes de legionelosis descritos en la literatura científica. Las razones que pudieran explicar esta tasa de letalidad podrían estar en la alerta precoz del brote lo que evitó retraso

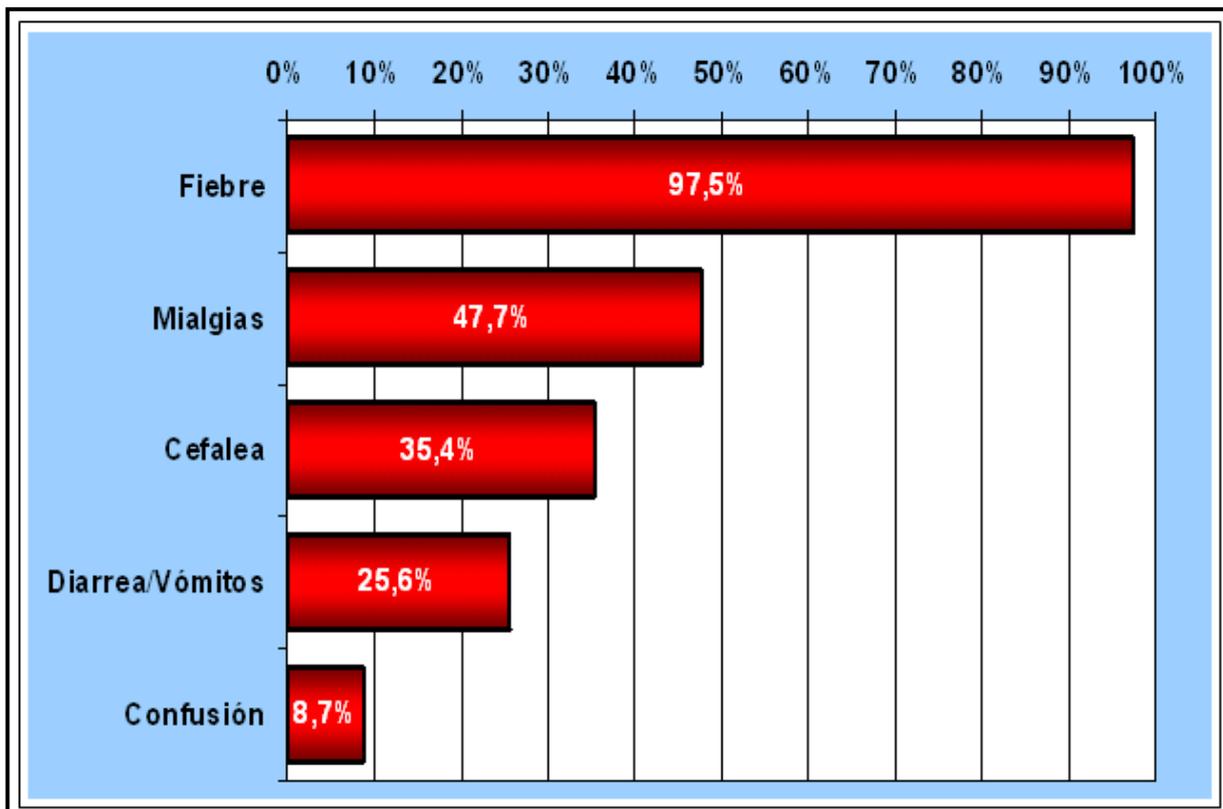


diagnóstico y terapéutico, así como la gestión clínica de los pacientes llevada a cabo por el Hospital de Manzanares y el resto de hospitales que atendieron casos de legionelosis. Se ha barajado también la baja virulencia de la cepa de legionelosis; sin embargo, aunque no se pueda descartar esta hipótesis, en un brote en el que han circulado al menos 14 cepas diferentes no es fácil explicar la baja letalidad por la escasa virulencia de las 14 cepas.

Manifestaciones Clínicas

En el gráfico 10 se recogen los signos y síntomas más específicamente relacionados con la legionelosis. El signo clínico presente en la mayoría de los casos confirmados fue la fiebre con 97,5%, sin apenas diferencias entre varones y mujeres. Las mialgias estuvieron presentes en el 47,7% de los casos, sin encontrar tampoco diferencias significativas según el sexo. La cefalea estuvo presente en el 35,4% de todos los casos (41,5% en mujeres y 32,2% en varones). La diarrea y/o vómitos se registraron en el 25,6% de todos los casos (30,9% en mujeres y 23,0% en varones). La confusión se detectó en el 8,7% de los casos (13,8% en mujeres y 6,0% en varones).

Gráfico 10.- Porcentaje de Signos y Síntomas Clínicos en Casos Confirmados de Legionelosis



La confusión es un signo muy relacionado con la edad; así, mientras que en los menores de 65 años apenas se observó en el 2,1%, en las personas de 65-84 años se observó en el 14,0% de los casos y en las personas con 85 y más años de edad se observó confusión en el 21,7% de los casos.

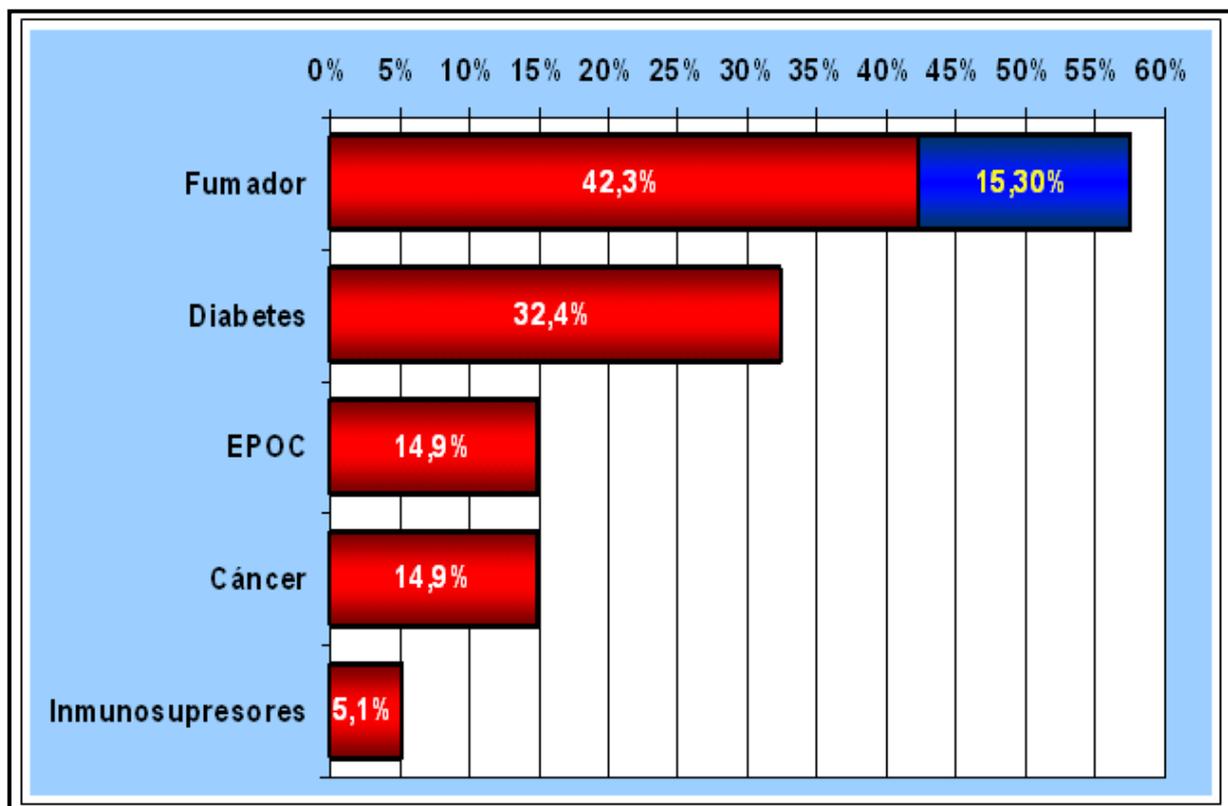


Por el contrario, la cefalea y las mialgias son más frecuentes en las personas de menor edad. El 40,7% de los casos con menos de 65 años presentaron cefalea frente al 29,9% de los casos con 65 y más años de edad. En el caso de las mialgias la diferencia es más llamativa: se observaron en el 57,9% de los casos con menos de 65 años frente al 37,2% en los casos con 65 y más años de edad.

Factores de Riesgo

Entre los factores de riesgo de padecer legionelosis (Gráfico 11), el más frecuente fue el hábito de fumar con un 42,3% del total de casos confirmados (51,1% en varones y 25,5% en mujeres).

Gráfico 11.- Porcentaje de Casos Confirmados de Legionelosis Según Factores de Riesgo



El porcentaje de exfumadores fue de 15,3% (21,3% en varones y 4,3% en mujeres). Si se consideran tanto fumadores como exfumadores y se construye una variable que distingue entre las personas que fuman actualmente o han dejado de fumar, se observa que el 56,6% de todos los casos son fumadores o ex-fumadores (79,8% en varones y 29,8% en mujeres).

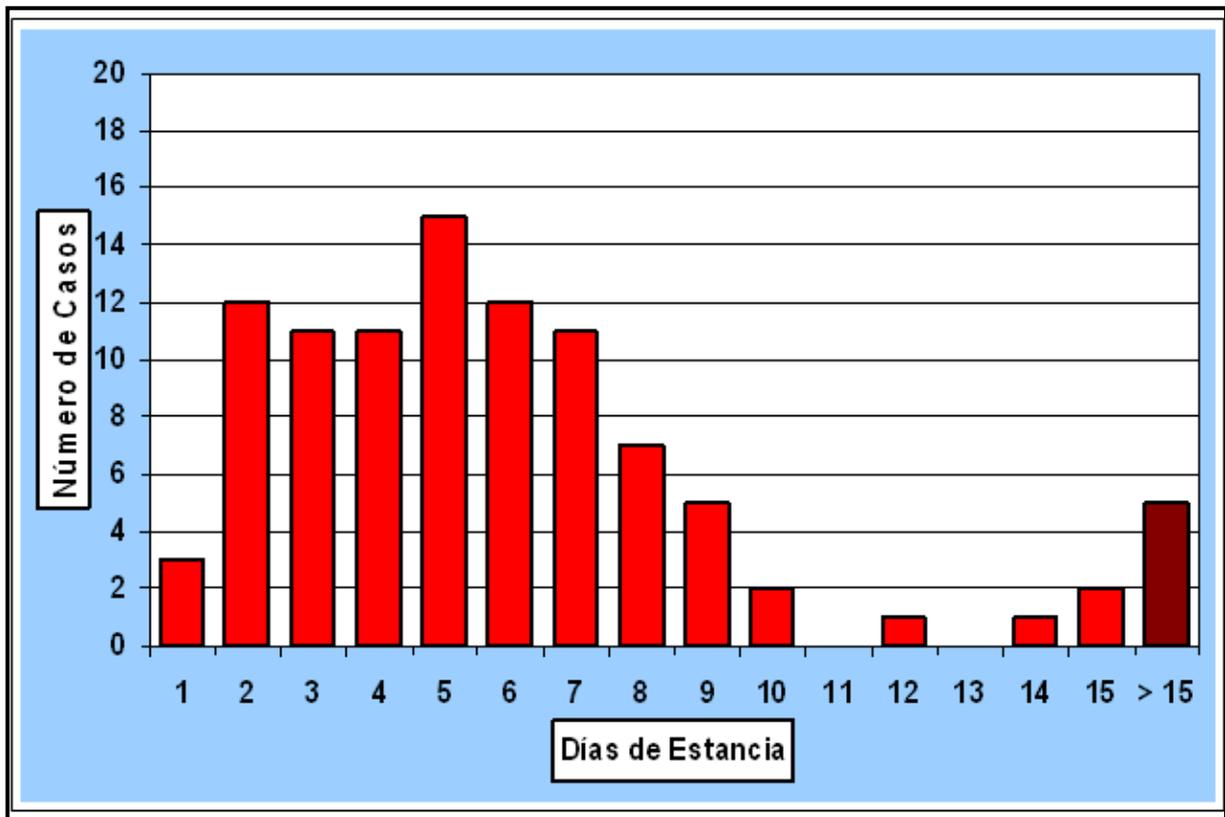
El porcentaje de diabéticos entre los casos confirmados es del 32,4% (muy similar en varones y en mujeres). La EPOC está presente en el 14,9% de los casos (18,1% en varones y 8,6% en mujeres). Los casos con antecedentes de cáncer y/o hemopatías suponen también un 14,9% de los casos sin apenas diferencia entre sexos. Los casos en tratamiento con inmunosupresores y/o corticoides suponen un 5,1% de los casos (4,4% en varones y 6,5% en mujeres).



Estancias Hospitalarias

Los 101 casos confirmados que requirieron hospitalización generaron un total de 676 días de estancia hospitalaria (Gráfico 12). La estancia media fue de 6,7 días con un error estándar de 0,89 días. La estancia mediana fue de 5 días y el rango de 74 días con un mínimo de un día y máximo de 75 días.

Gráfico 12.- Número de Casos Confirmados según Días de Estancia Hospitalaria



Los 30 casos sospechosos/probables que requirieron hospitalización generaron un total de 166 días de estancia hospitalaria. La estancia media fue de 5,5 días con un error estándar de 0,57 días. La estancia mediana fue de 4,5 días y el rango de 12 días con un mínimo de un día y máximo de 13 días.

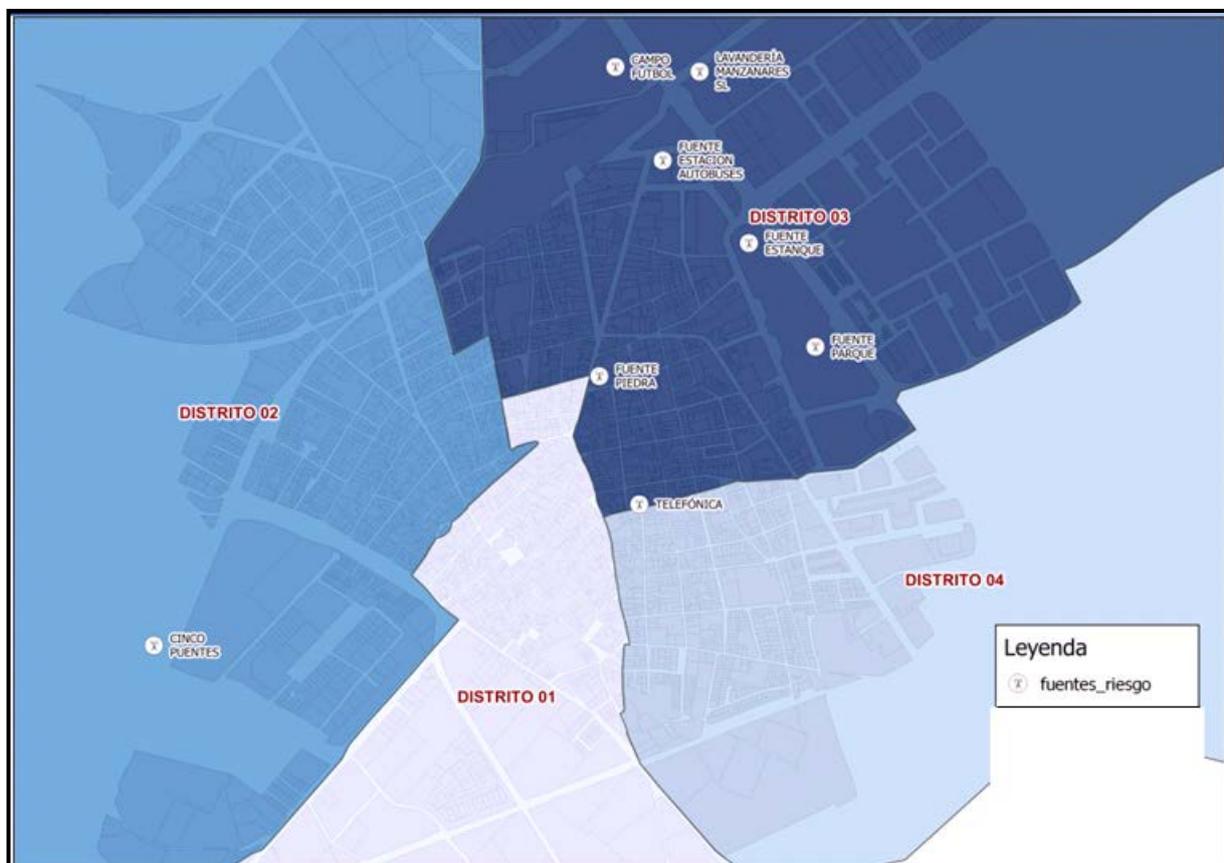
2) **Cálculo y Comparación de Tasas de Incidencia según Distrito y Sección Electoral.**

Administrativamente el municipio de Manzanares está dividido en 4 distritos electorales y 16 secciones electorales. El número de habitantes según sexo y distrito electoral se recoge en la Tabla 2. En el mapa 1 se presenta la localización de los distritos y de las instalaciones de riesgo más próximas al casco urbano de Manzanares.

Tabla 2.- Número de Habitantes según Sexo y Distrito Electoral Manzanares (01/01/2015)

Distrito	Número de Secciones	Sexo		Ambos Sexos	
		Varones	Mujeres	N	%
01	3	1.260	1.398	2.658	14,3%
02	5	2.386	2.433	4.819	25,9%
03	5	3.690	3.799	7.489	40,2%
04	3	1.922	1.754	3.676	19,7%
Total	16	9.258	9.384	18.642	100,0%

Mapa 1.- Distritos Electorales e Instalaciones de Riesgo (Manzanares)





Tasas Brutas

En la Tabla 3 se representan el número de casos y las tasas de incidencia según sexo por distrito y sección electoral.

Tabla 3.- Número de Casos y Tasas Brutas según Sexo por Distrito y Sección

Distrito Sección	Número de Casos			Tasas/1.000 Htes.		
	Varones	Mujeres	Total	Varones	Mujeres	Total
01001	3	1	4	10,3	2,8	6,1
01002	5	3	8	8,0	4,7	6,3
01003	7	1	8	20,2	2,5	10,8
Distrito 1	15	5	20	11,9	3,6	7,5
02001	13	5	18	18,1	7,1	12,7
02002	3	3	6	9,8	8,2	8,9
02003	8	5	13	26,3	15,1	20,4
02004	12	3	15	16,5	4,4	10,7
02005	7	6	13	21,4	17,0	19,1
Distrito 2	43	22	65	18,0	9,0	13,5
03001	19	15	34	18,5	14,3	16,4
03002	18	11	29	16,9	9,8	13,2
03003	16	10	26	30,5	19,2	24,9
03004	7	5	12	16,9	11,6	14,2
03005	15	4	19	22,8	6,0	14,3
Distrito 3	75	45	120	20,3	11,8	16,0
04001	12	3	15	20,6	5,6	13,4
04003	1	5	6	1,9	11,4	6,2
04004	11	10	21	13,7	12,9	13,3
Distrito 4	24	18	42	12,5	10,3	11,4

El mayor número de casos se observa en el Distrito 3 con 120 casos lo que supone casi la mitad de todos los casos (48,6%). Aunque es el distrito con mayor número de habitantes, su porcentaje respecto al total de la población de Manzanares es del 40,2% por lo que de una forma intuitiva se aprecia una incidencia superior a la esperada.

El distrito con menor número de casos es el Distrito 1 con 20 casos lo que supone el 8,1% de todos los casos en tanto que su peso en la población de Manzanares es del 14,3%.

Los Distritos 2 y 4 con un número intermedio de casos mantienen un cierto equilibrio entre el peso relativo de los casos y el peso relativo de su población.

La tasa bruta de incidencia de legionelosis también es mayor en el Distrito 3 (16,0 casos por 1.000 habitantes) que en el resto de distritos. Su diferencia es estadísticamente significativa respecto al Distrito 1 (7,5 casos por 1.000 habitantes) y aunque es mayor que las tasas de los Distritos 2 y 4 (13,5/1.000 y 11,4/1.000) su diferencia no es estadísticamente significativa (Mapa 2 y Gráfico 13).

Mapa 2.- Tasa Bruta de Incidencia de Legionelosis según Distrito Electoral

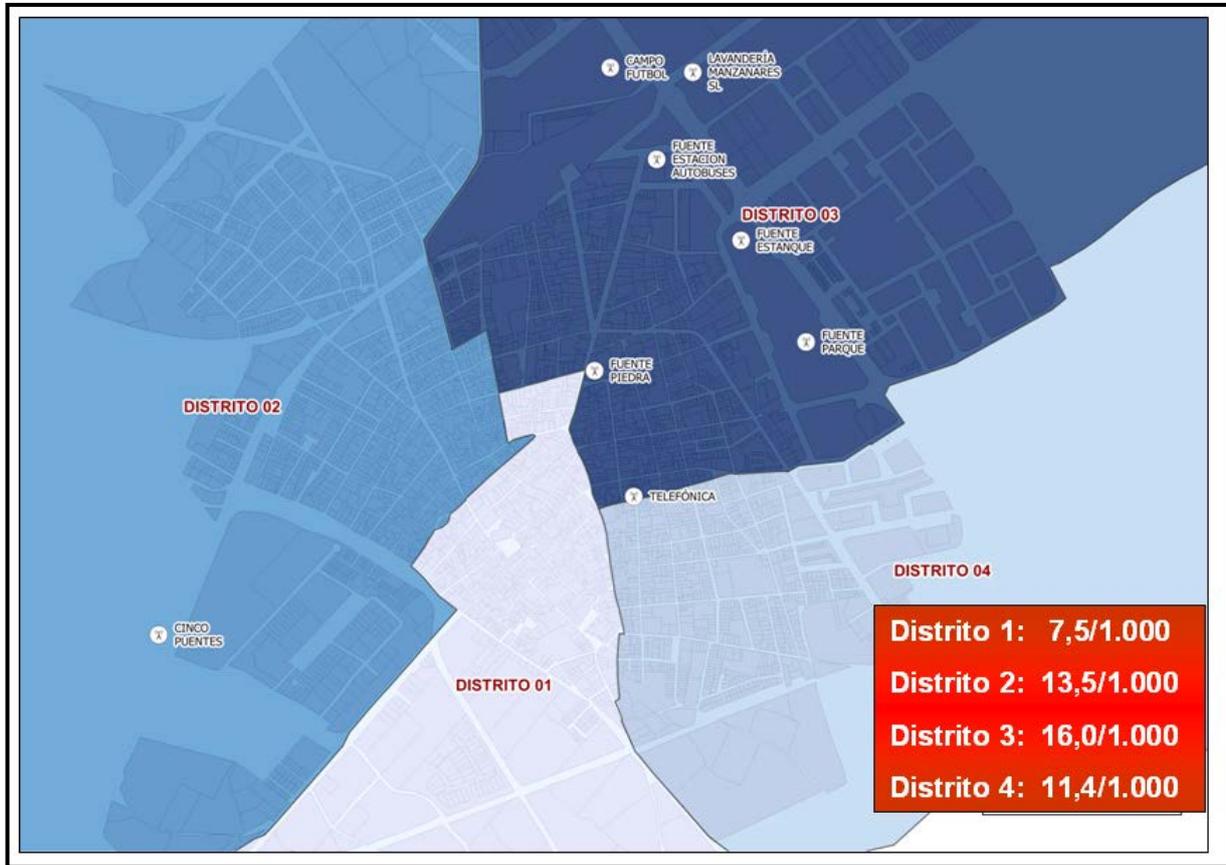
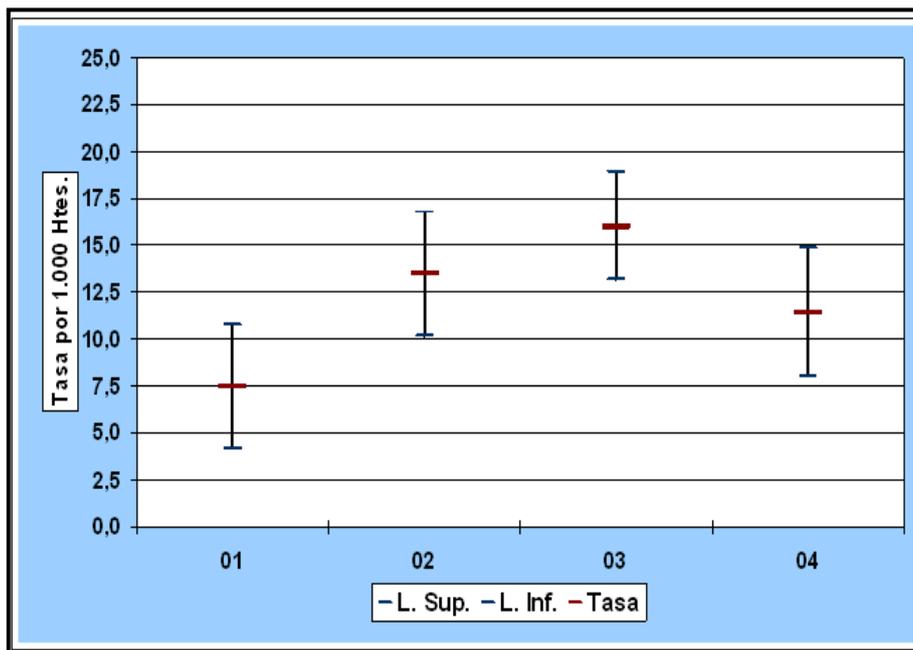


Gráfico 13.- Intervalo de Confianza de las Tasas Brutas de Incidencia según Distrito

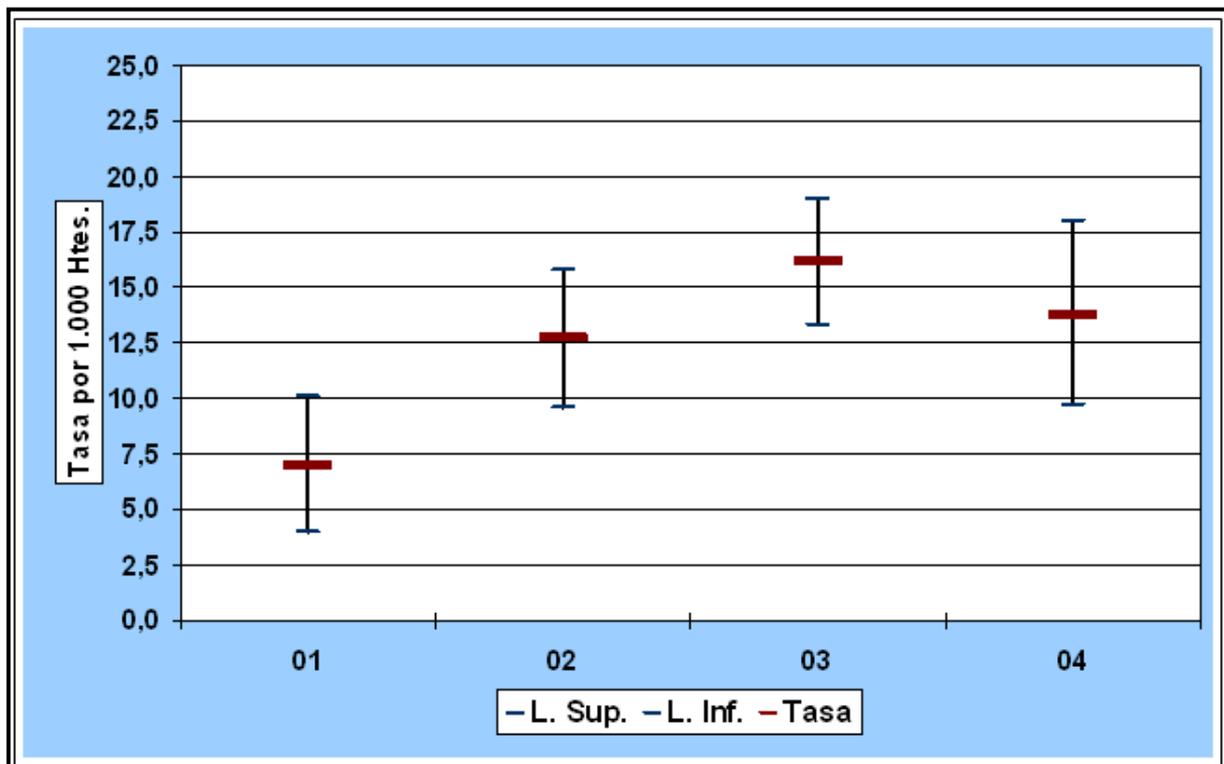


Tasas Ajustadas de Incidencia

Al ajustar por edad las tasas de incidencia se observa una inversión en el orden de los distritos. Así el Distrito 2 con una tasa bruta de 13,5/1.000 tiene una tasa ajustada de 12,7/1.000, mientras que el Distrito 4 con una tasa bruta 11,4/1.000 pasa a tener una tasa ajustada de 13,8/1.000 (segunda tasa). El Distrito 3 con 16,2 casos por 1.000 habitantes sigue siendo el distrito con mayor tasa, mientras que el Distrito 1 con 7,0 casos por 1.000 permanece como el distrito con tasa de incidencia más baja.

Se mantiene la diferencia estadísticamente significativa entre las tasas del Distrito 3 y las del Distrito 1. La diferencia de la tasa del Distrito 3 con las tasas de los distritos 2 y 4 no es estadísticamente significativa (Gráfico 14).

Gráfico 14.- Intervalo de Confianza de la Tasa Ajustada de Incidencia de Legionelosis según Distrito Electoral



Razón Estandarizada de Incidencia (REI)

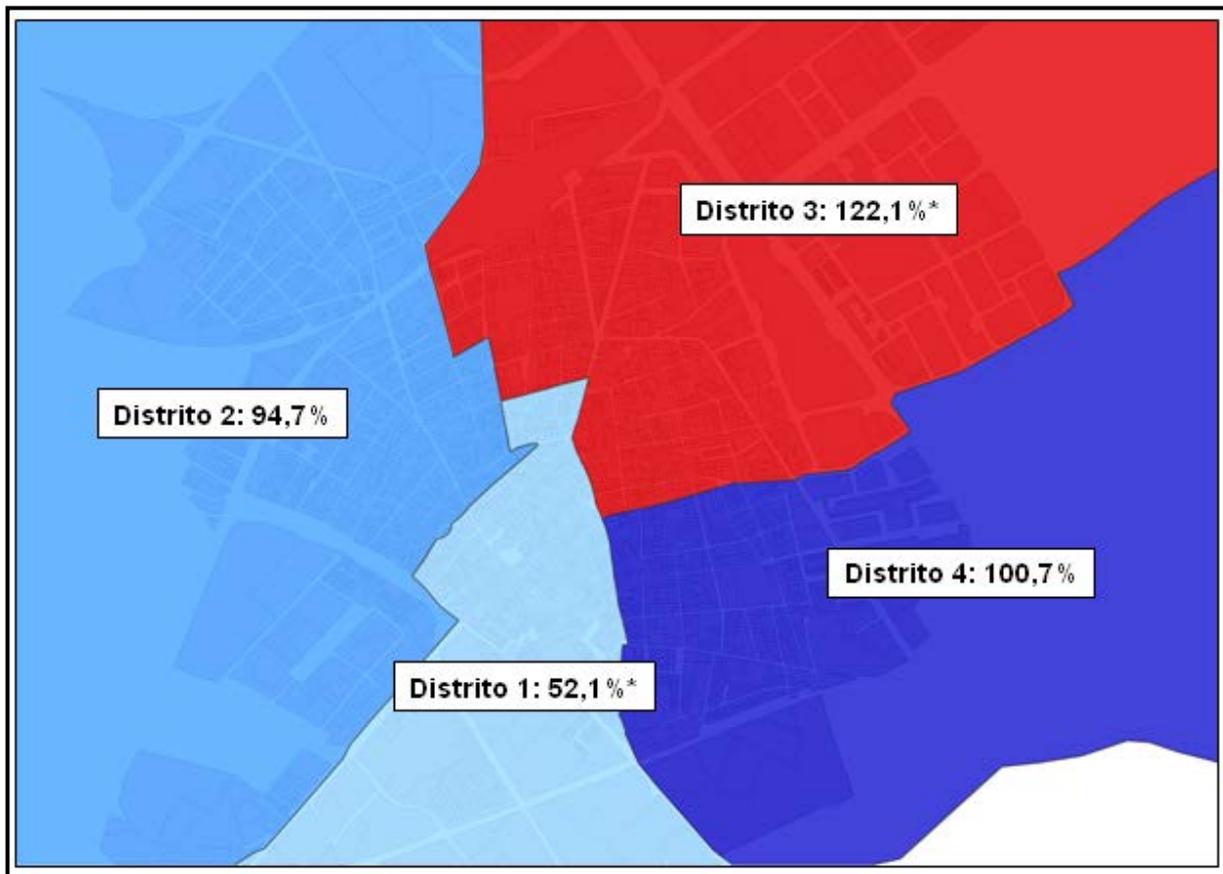
Con el ajuste de las tasas de incidencia tomando como modelo la incidencia global del municipio de Manzanares se obtienen unos resultados similares al obtenido ajustando las tasas de los distritos por edad (Mapa 3). El Distrito 3 tiene una REI de 122,1% es decir que la incidencia de este distrito es un 22% mayor que la del municipio de Manzanares. La diferencia es estadísticamente significativa (IC 95%: 101,2%-146,0%).

El distrito 1 tiene una REI de 52,1% (aproximadamente un 48% menos que la incidencia global del municipio de Manzanares). Esta diferencia también es estadísticamente significativa (IC 95%: 31,8%-80,4%).



El Distrito 2 tiene una REI de 94,7% y el Distrito 4 tiene una REI de 100,7%, aunque en ninguno de los dos la diferencia es estadísticamente significativa.

Mapa 3.- Razón Estandarizada de Incidencia de Legionelosis Según Distrito Electoral



Las tasas de incidencia de legionelosis (brutas y ajustadas) muestran un claro patrón geográfico en la distribución de casos de legionelosis en el municipio de Manzanares.

Aunque se han registrado casos en todos los barrios del municipio, los casos se concentran en el Distrito 3 y en las zonas próximas a él de los distritos 2 y 4. Estos resultados coinciden en gran medida con la ubicación de las instalaciones de riesgo, prácticamente todas ellas en el Distrito 3 (ver Mapa 1).

Modelos de Regresión de Poisson

Se han obtenido 4 modelos de regresión de Poisson, en el primero se ha estimado el riesgo relativo de incidencia de legionelosis según distrito ajustando por edad y sexo. En el segundo modelo se ha estimado el riesgo relativo de incidencia de legionelosis, ajustado por edad y sexo, del Distrito 3 (distrito con mayor RR) frente al resto de los distritos. En el tercer modelo se ha seguido un desarrollo similar al primero aunque se ha estimado el riesgo relativo de incidencia de las secciones electorales en lugar de distritos. En el cuarto se ha seguido un modelo similar al segundo aunque se ha estimado el riesgo relativo de incidencia



de la Sección 03003 (sección con mayor RR) frente al resto de las secciones. En los cuatro modelos se ha comprobado la sobredispersión sin que se haya vulnerado esta hipótesis en ninguno de ellos.

a) Modelo Distrito, Grupo de Edad y Sexo

En este modelo (Tabla 4) se toma por defecto como categoría basal el Distrito 1 ya que es la categoría codificada con el numeral más bajo. Se toma como categoría basal de la variable edad el grupo de 35-44 años.

Los riesgos relativos de la edad y el sexo siguen el patrón esperado según los datos analizados hasta ahora en este informe; el RR varón/mujer es de 2,03 (IC: 1,56-2,63). La edad sigue el comportamiento ya conocido: incremento progresivo del RR según aumenta la edad hasta el grupo de 75-84 años y descenso del RR en el grupo de 85+.

**Tabla 4.- Análisis de Regresión de Poisson - Riesgo Relativo de Legionelosis
Modelo: Sexo, Edad, Distrito Electoral**

Variable	RR	Error Estándar	Z	p	Intervalo de Confianza	
					L. Inferior	L. Superior
Sexo						
Mujer	1,00					
Varón	2,03	0,27	5,32	0,0000	1,56	2,63
Grupo de Edad						
0-4	0,00	0,00	-0,02	0,9850	0,00	0,00
5-14	0,00	0,00	-0,02	0,9850	0,00	0,00
15-24	0,12	0,13	-2,01	0,0440	0,02	0,95
25-34	0,96	0,41	-0,08	0,9320	0,42	2,23
35-44	1,00				1,00	1,00
45-54	3,96	1,28	4,25	0,0000	2,10	7,48
55-64	4,90	1,59	4,90	0,0000	2,60	9,25
65-74	7,89	2,53	6,43	0,0000	4,20	14,80
75-84	13,78	4,37	8,27	0,0000	7,40	25,66
85+	10,81	3,89	6,61	0,0000	5,34	21,88
Distrito Electoral						
01	1,00				1,00	1,00
02	1,79	0,46	2,26	0,0240	1,08	2,95
03	2,30	0,56	3,44	0,0010	1,43	3,69
04	1,86	0,51	2,28	0,0220	1,09	3,18

El Distrito 3 es el que presenta mayor riesgo relativo (RR = 2,3) con una diferencia estadísticamente significativa respecto al Distrito 1. En los distritos 2 y 4 también se observa mayor RR que en el Distrito 1 aunque la magnitud del RR es menor que la del Distrito 3.

La Chi-Cuadrado de la razón de verosimilitud (LR) con 13 grados de libertad (GL) es de 339,44 ($p < 0,0001$). El coeficiente de determinación (Pseudo R^2) es de 38,5% con un -Log likelihood de -270,99. Para contrastar el supuesto de sobredispersión se ha utilizado la deviance goodness-of-fit que tiene un valor de 244,56 ($p = 0,9959$).



b) Modelo Distrito 3 vs Resto de Distritos, Grupo de Edad y Sexo.

En las explicaciones de este modelo se obvian las relativas a los RR de edad y sexo ya que no sufren modificaciones relevantes respecto al modelo anterior. Lo que interesa en nuestro caso es que el RR de incidencia de legionelosis del Distrito 3 frente al resto del municipio es de 1,43 con una diferencia estadísticamente significativa (IC 95%: 1,11-1,83). Por lo tanto, independientemente de cualquier otra razón, parece que los residentes en este distrito tuvieron mayor riesgo de padecer legionelosis, todo ello sin olvidarnos que en el Distrito 3 residían casi el 50% de los casos de legionelosis del brote de Manzanares.

El modelo estimado es bueno (Tabla 5) y cumple con los requisitos necesarios en la estimación de modelos de regresión de Poisson.

**Tabla 5.- Análisis de Regresión de Poisson - Riesgo Relativo de Legionelosis
 Modelo: Sexo, Edad, Distrito Electoral 3 vs Resto Distritos**

Poisson regression		Number of obs	=	320		
		LR chi2(11)	=	332,60		
		Prob > chi2	=	0,0000		
		Pseudo R2	=	0,3773		
Log likelihood =		-274,41				
Distrito Electoral	RR	Error Estándar	Z	p	Intervalo de Confianza	
					L. Inferior	L. Superior
Resto	1,00				1,00	1,00
03	1,43	0,18	2,80	0,0050	1,11	1,83
poisgof		Deviance goodness-of-fit	=	251,4011		
		Prob > chi2(308)	=	0,992		

Las instalaciones de riesgo más próximas al Distrito 3 (dentro del mismo) son las tres fuentes ornamentales consideradas de mayor riesgo: Fuente de la Estación de Autobuses, Fuente del Estanque del Parque y Fuente de Piedra; las tres configuran un triángulo que abarcaría casi todos los casos del Distrito 3 (Mapa 4).

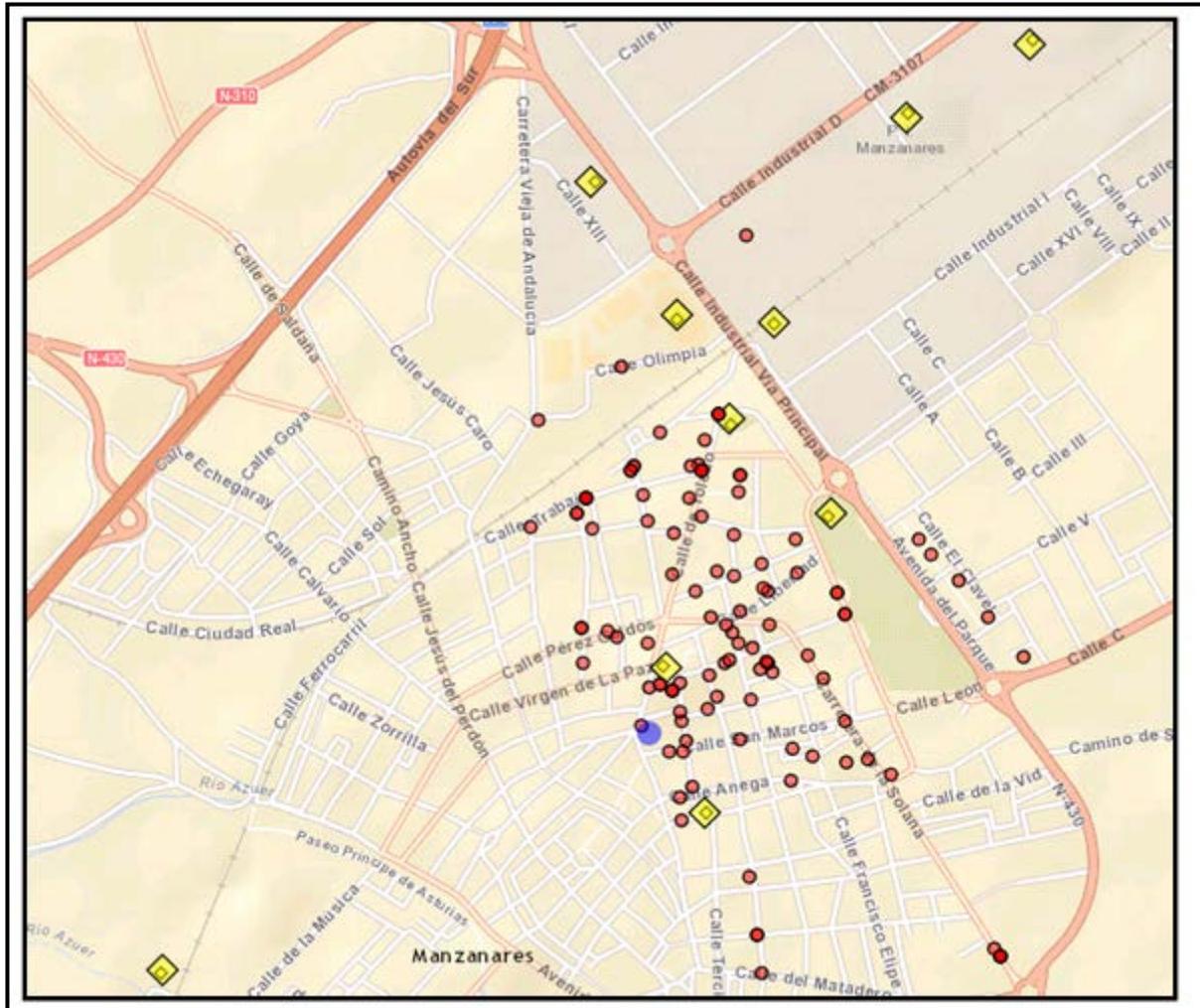
En el extremo inferior del distrito 3 se ubica la torre de refrigeración de Telefónica que parece no haber funcionado durante el periodo de riesgo del brote.

En el borde superior, aunque separadas del casco urbano, se encuentran el Campo de Fútbol con un sistema de riesgo por aspersión en el que se detectó presencia de *legionella* aunque no se pudo secuenciar completamente (la parte secuenciada no coincide con la cepa epidémica) y la torre de refrigeración de la torre de la Lavandería de Manzanares en la



que se han identificado dos cepas de *legionella*: la epidémica (ST 899) y otra cuya secuencia no se ha identificado ni total ni parcialmente en ninguna muestra humana (ST 87).

Mapa 4.- Distribución Espacial de Casos de Legionelosis en el Distrito 3 e Instalaciones de Riesgo de Manzanares



c) Modelo Sección, Grupo de Edad y Sexo

En este modelo (Tabla 6) se toma por defecto como categoría basal la Sección 01001 ya que es la categoría codificada con el numeral más bajo. Se toma como categoría basal de la variable edad el grupo de 35-44 años. En las explicaciones de este modelo se obvian las relativas a los RR de edad y sexo ya que no sufren modificaciones relevantes respecto a los modelos anteriores.

En este modelo se observan tres secciones con riesgo relativo de incidencia de legionelosis superior a 3, son las secciones 02003, 03001 y 03003. En los tres casos la diferencia es estadísticamente significativa. El mayor RR se observa en la Sección 03003 con un valor puntual de 3,71 (IC 95%: 1,29-10,64).



En las secciones 02005, 03005 y 04004 también se observan RR próximos a 3, aunque en ninguna de ellas la diferencia es estadísticamente significativa.

**Tabla 6.- Análisis de Regresión de Poisson - Riesgo Relativo de Legionelosis
Modelo: Sexo, Edad, Sección Electoral**

Sección	RR	Error Estándar	Z	p	Intervalo de Confianza	
					L. Inferior	L. Superior
01001	1,00					
01002	1,16	0,71	0,24	0,8130	0,35	3,84
01003	1,74	1,07	0,91	0,3650	0,52	5,79
02001	2,39	1,32	1,58	0,1150	0,81	7,07
02002	1,31	0,85	0,42	0,6770	0,37	4,64
02003	3,11	1,78	1,98	0,0470	1,01	9,54
02004	2,05	1,15	1,27	0,2020	0,68	6,18
02005	2,81	1,61	1,81	0,0700	0,92	8,64
03001	3,09	1,63	2,13	0,0330	1,10	8,71
03002	2,75	1,47	1,89	0,0580	0,97	7,82
03003	3,71	1,99	2,44	0,0150	1,29	10,64
03004	2,20	1,27	1,37	0,1720	0,71	6,83
03005	2,91	1,60	1,94	0,0520	0,99	8,58
04001	2,55	1,44	1,67	0,0960	0,85	7,70
04003	1,41	0,91	0,53	0,5990	0,40	4,99
04004	2,85	1,56	1,92	0,0550	0,98	8,31

Estos resultados concuerdan con los de los modelos anteriores, ya que dos de las tres secciones con mayor RR se encuentran localizadas en el Distrito 3, aportando entre las dos casi la cuarta parte de todos los casos del brote (24,3% del total).

d) Modelo Sección 03003 vs Resto de Secciones, Grupo de Edad y Sexo

Aunque parece evidente que la Sección 03003 tiene un riesgo relativo de incidencia de legionelosis muy elevado, dado que la comparación en el modelo anterior se hace con referencia a la sección con menor tasa bruta de incidencia (01001), se plantea este modelo para comparar el RR de la sección 03003 con el resto del municipio de Manzanares (resto de secciones).

El modelo se presenta resumido en la Tabla 7. Es un modelo bueno que cumple con las condiciones de aplicación de la regresión de Poisson. La Chi-Cuadrado de la razón de verosimilitud (LR) con 11 grados de libertad (GL) es de 329,27 ($p < 0,0001$). El coeficiente de determinación (Pseudo R^2) es de 37,4% con un $-\text{Log likelihood}$ de -276,08. Para contrastar el supuesto de sobredispersión se ha utilizado la deviance goodness-of-fit que tiene un valor de 244,73 ($p = 0,9880$).

La estimación puntual del riesgo relativo de incidencia de legionelosis en la Sección 03003 frente al resto del municipio es de 1,59 (IC 95%: 1,06-2,39). La Sección 03003 con 26 casos



explica el 10,5% de todos los casos. Por tanto, todo sigue apuntando a esa zona como de especial riesgo de incidencia de legionelosis en el contexto del brote.

**Tabla 7.- Análisis de Regresión de Poisson - Riesgo Relativo de Legionelosis
Modelo: Sexo, Edad, Sección Electoral 03003 vs Resto Secciones**

Poisson regression		Number of obs	=	320
		LR chi2(11)	=	329,27
		Prob > chi2	=	0,0000
		Pseudo R2	=	0,3736
Log likelihood =		-276,08		

Sección Electoral	RR	Error Estándar	Z	p	Intervalo de Confianza	
					L. Inferior	L. Superior
Resto	1,00	-	-	-	-	-
03003	1,59	0,33	2,24	0,0250	1,06	2,39

poisgof		Deviance goodness-of-fit	=	254,7267
		Prob > chi2(308)	=	0,988



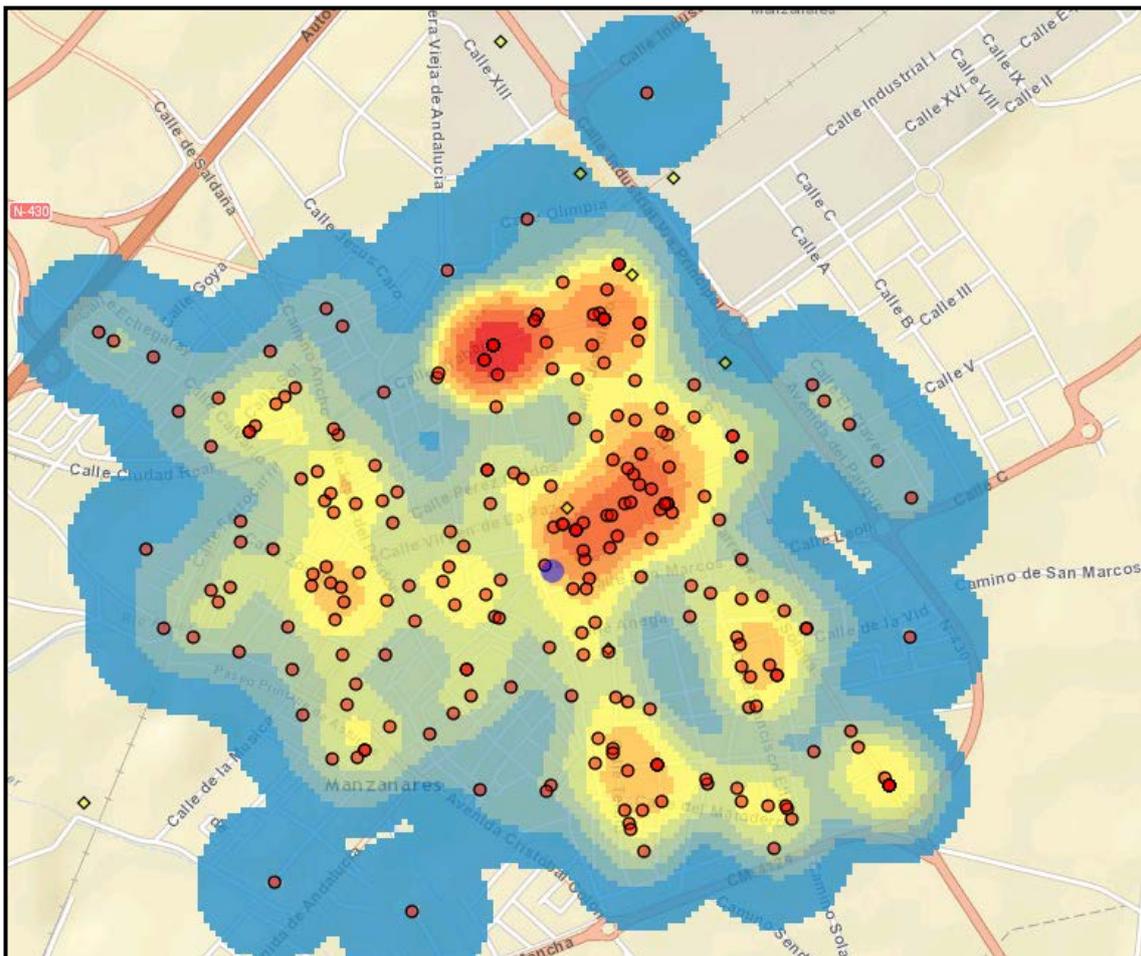
3) Estimación de la Densidad de Casos por Kilómetro Cuadrado

Se trata de un modelo obtenido con el programa “Legionnaires' disease GIS Tool (ECDC)”, ubicado inicialmente en una dirección privada de Internet facilitada por el Centro Europeo de Control de Enfermedades (ECDC) a la Dirección General de Salud Pública de Castilla-La Mancha para apoyar el estudio del brote de legionelosis en Manzanares. El programa ha sido validado en parte con los trabajos realizados por el Servicio de Epidemiología en el estudio y análisis del brote. Actualmente, una vez validado al menos inicialmente, se encuentra disponible libremente en la página web del ECDC.

Este método en particular no requiere la ubicación de las instalaciones de riesgo, simplemente analiza la distribución espacial de casos y ofrece diferentes representaciones de densidad de casos por kilómetro cuadrado o por otra medida de superficie. El usuario define el radio de búsqueda y el tamaño de las celdas de resultados.

En el Mapa 5 se presenta este modelo en el que se ha definido una celda de salida de 20 píxeles y un radio de búsqueda de 0,2 kilómetros.

Mapa 5.- Densidad de Casos por Kilómetro Cuadrado – Manzanares (Modelo 1)



En este mapa se observan dos zonas de elevada densidad de casos ($> 200/\text{km}^2$), una de ellas con dos círculos de densidad. Cada una de ellas está próxima a una de las fuentes

4) Estudio Casos-Control Apareado (Regresión Logística Condicional)

Consideraciones Previas

Aunque puedan parecer obviedades, es preciso tener en cuenta algunas consideraciones antes de proceder al desarrollo del estudio casos-control:

- a) La transmisión de la legionelosis ha de ocurrir a partir de una instalación de riesgo contaminada, con capacidad de emitir aerosoles y que esté funcionando.
- b) En principio parece que la mayor proximidad de las personas a la instalación emisora de aerosoles contaminados (por su lugar de residencia, ocio o trabajo) es un riesgo en sí mismo de adquirir la enfermedad.
- c) La mayoría de los estudios de brotes de legionelosis publicados en la literatura aplican el concepto de distancia a la instalación de riesgo, valorando especialmente el efecto dosis-respuesta, equivalente en este caso al incremento gradual del riesgo a medida que la exposición es más próxima a la instalación.
- d) Indudablemente, el potencial emisor de aerosoles que pueda tener la instalación de riesgo es un elemento esencial en la valoración del riesgo y la identificación de la causa de un brote.
- e) En este sentido, las torres de refrigeración son las instalaciones con mayor potencial emisor, sin embargo no se puede olvidar que ha habido brotes de legionelosis con un elevado número de casos que han tenido su origen en fuentes ornamentales o decorativas (por ejemplo en el acuario de Melbourne, tienda de comestibles en Bogalusa y Feria de las Flores en Holanda).
- f) La legionelosis tiene un periodo de incubación de 2 a 14 días (se ha publicado en algún brote un máximo de 19 días) con un periodo medio de incubación de 5-6 días.
- g) Teniendo en cuenta que el mayor número de casos (por fecha de inicio de síntomas) se produjo entre los días 15 y 18 de diciembre (máximo el día 17), según el periodo de incubación medio, la mayor exposición debió producirse entre los días 9 y 12 de diciembre.
- h) Sin embargo, no se puede olvidar que desde el día 18 de noviembre se venía produciendo un goteo intermitente de casos, debido a la fuente principal de riesgo o a otras que pudieran estar emitiendo aerosoles en escasa cantidad o alejadas de la población.
- i) El descenso acusado de la curva epidémica a partir del día 17 de diciembre y su interrupción a partir del día 25, hacen pensar que la instalación o instalaciones de riesgo cesaron su actividad emisora, bien por cierre de las mismas o como consecuencia de las actuaciones de control.
- j) Por lo tanto, el objetivo del estudio casos-control es identificar una instalación de riesgo que estuviera funcionando entre los días 10 y 14 de diciembre, que dejara de funcionar a partir de los días 14-15, con suficiente potencial emisor de aerosoles, que se haya constatado que estaba contaminada y con un riesgo de padecer la enfermedad mayor a

medida que la exposición ocurre más próxima a la instalación (mayor odds ratio y secuencia gradual del mismo en función de la distancia).

Instalaciones de Riesgo

Las instalaciones de riesgo consideradas en el estudio casos-control han sido las siguientes:

➤ Torres de Refrigeración:

- Torre de Telefónica
- Torre de la Lavandería de Manzanares
- Torre de Aluminios Cortizo
- Torre de Tosfrit
- Torre de Exide-Tudor

➤ Sistemas de Riego por Aspersión

- Explotación Agrícola Cinco Puentes
- Campo de Fútbol de Manzanares

➤ Fuentes Ornamentales:

- Estación de Autobuses
- Fuente de Piedra o del Gran Teatro
- Fuente del Estanque del Parque

En todas estas instalaciones (excepto en la torre de refrigeración de Telefónica) se ha identificado presencia de *legionella* en algún momento del estudio de este brote.

Distancia de las Instalaciones de Riesgo al Domicilio de los Casos

Como se ha comentado antes, la distancia de la residencia de los casos a las instalaciones de riesgo es un indicador del riesgo de padecer la enfermedad, ciertamente no el único pero indudablemente es un riesgo objetivo y medible.

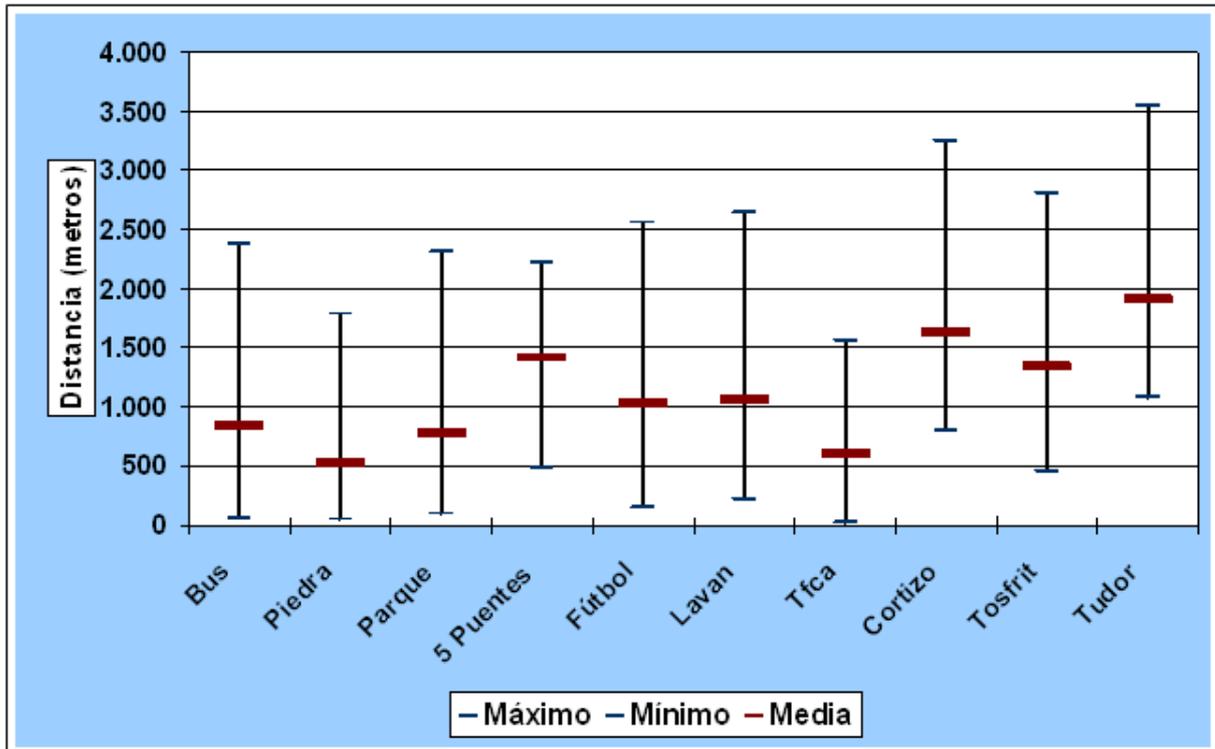
En el Gráfico 15 se presenta un resumen de indicadores de la distancia en metros del domicilio de residencia de los casos a las instalaciones de riesgo. Básicamente se pueden establecer tres agrupaciones según la distancia:

➤ Instalaciones **muy próximas** a la residencia de los casos:

- Fuente de Piedra y Torre de Refrigeración de Telefónica
- Con una distancia media a los casos, en ambas, de 500 metros

- Son instalaciones que están muy próximas entre sí (≈ 350 metros)
- Ubicadas en el centro de la población.

Gráfico 15.- Distancia en Metros de los Casos a las Instalaciones de Riesgo de Legionelosis



➤ **Instalaciones con una distancia media a la residencia de los casos:**

- Fuente del Estanque del Parque, Fuente de la Estación de Autobuses, Campo de Fútbol y Lavandería de Manzanares
- Con una distancia media en torno a 1.000 metros en el caso del Campo de Fútbol y la Lavandería de Manzanares, y en torno a 800 metros en el caso de las dos fuentes.
- Ubicadas en el extremo norte del caso urbano
- Relativamente próximas entre sí (≈ 300 metros de todas ellas a la estación de Autobuses)

➤ **Instalaciones con una distancia elevada a la residencia de los casos:**

- Exide-Tudor, Aluminios Cotizo, Tosfrit y Cinco Puentes
- Con una distancia media en torno a 1.500 metros en el caso de Aluminios Cotizo, Tosfrit y Cinco Puentes, y en torno a 2.000 metros en el caso de Exide-Tudor.

interrupción de la curva epidémica a partir del día 25 de diciembre, salvo que entre los días 12 y 15 de diciembre llevaran a cabo una limpieza y desinfección efectivas de la torre de refrigeración.

El caso de Aluminios Cortizo es algo más complejo ya que mantiene la actividad desde el día 14 de diciembre hasta el día 18 (ambos inclusive) y después cierra hasta el día 6 de enero de 2016. Cumple por tanto con el criterio de apertura durante el periodo de exposición y lo hace parcialmente con el de cierre de la actividad, aunque en este caso la curva epidémica tendría que haberse prolongado, salvo que los días 12 y 13 de diciembre se llevara a cabo la limpieza y desinfección de la torre.

El Campo de Fútbol y la Explotación Agrícola Cinco Puentes cumplen con el criterio de apertura o funcionamiento durante el periodo de exposición, aunque no lo hacen con el criterio de interrupción de la actividad, ya que el Campo de Fútbol estuvo funcionando hasta el día 5 de enero y la explotación agrícola hasta el 26-27 de diciembre. Es cierto que en esta última instalación se ha identificado la cepa epidémica (ST 899), sin embargo dadas las características de la misma y su ubicación, no parece que haya sido la causa del brote, aunque si pudiera haber provocado algún caso aislado.

Las tres fuentes ornamentales cumplen con los dos criterios manejados (funcionamiento durante el periodo de exposición y cese de actividad-interrupción de la curva epidémica). Sin embargo, es preciso tener en cuenta que el potencial emisor de las fuentes ornamentales es, a priori al menos, mucho menor que el de las torres de refrigeración.

Modelos Logísticos Estimados

Se han ensañado múltiples modelos logísticos con cada una de las instalaciones de riesgo ya que las diferencias en las distancias de los casos a las propias instalaciones ha impedido formular un modelo similar para todas ellas. No obstante, se ha intentado en lo posible que los intervalos considerados en cada unos de los modelos fueran iguales o similares.

A continuación se exponen, para cada una de las instalaciones de riesgo, los modelos que mejor explican, según nuestro criterio, la asociación de la distancia a la instalación con el riesgo de desarrollar la enfermedad.

Los elementos que se han considerado para seleccionar y valorar la bondad de los diferentes modelos, han sido:

- Ajuste global del modelo (Mayor LR χ^2 y Prob $\chi^2 < 0,005$)
- Menor valor absoluto de -Log likelihood
- Mayor valor de la estimación puntual del OR
- Significación estadística del OR ($p > |Z|$)
- Menor amplitud del intervalo de confianza del OR
- Incremento progresivo del OR según intervalos de distancia

a) Torre de Refrigeración de Telefónica



Number of obs	=	1.181
LR chi2(3)	=	3,5300
Prob > chi2	=	0,3172
Pseudo R2	=	0,0046
Log likelihood	=	-381,2489

Hipótesis Alternativa: OR > 1

Intervalo	OR	EE	Z	P > Z	Intervalo de Confianza	
					L. Inferior	L. Superior
> 1000	1,00	-	-	-	-	-
500-1000	1,54	0,41	1,59	0,0555	0,99	2,39
350-500	1,22	0,36	0,68	0,2490	0,75	1,99
< 350	1,43	0,42	1,23	0,1085	0,89	2,32

El modelo no es aceptable ya que Prob Chi² = 0,32172 → p > 0,05.

Aunque los OR de tres intervalos son mayores que 1, ninguno de ellos es significativo.

No se cumple el criterio dosis respuesta (el intervalo de 500-1.000 metros tiene mayor OR que los anteriores).

Este modelo no es el único en el que se ha encontrado este efecto (mayor riesgo a mayor distancia). Tiene un cierto sentido, ya que con unas instalaciones tan próximas unas de otras, alejarse de una puede suponer acercarse a otras. Es posible que en estos casos se esté midiendo el riesgo relacionado con otra instalación.



b) Torres de Refrigeración de Tosfrit

Number of obs	=	1.181
LR chi2(3)	=	3,8000
Prob > chi2	=	0,2845
Pseudo R2	=	0,0050
Log likelihood	=	-381,1153

Hipótesis Alternativa: OR > 1

Intervalo	OR	EE	Z	P > Z	Intervalo de Confianza	
					L. Inferior	L. Superior
> 2000	1,00	-	-	-	-	-
1500-2000	1,25	0,51	0,55	0,2925	0,64	2,45
1000-1500	1,39	0,56	0,81	0,2080	0,72	2,69
< 1000	1,85	0,79	1,43	0,0760	0,91	3,75

El modelo no es aceptable ya que Prob Chi² = 0,2845 → p > 0,05.

Aunque los OR de tres intervalos son mayores que 1, ninguno de ellos es significativo.

Parece cumplirse el criterio dosis respuesta, aunque como se ha comentado ningún OR es significativo.

c) Torre de Refrigeración de Aluminios Cortizo

Number of obs	=	1.181
LR chi2(3)	=	13,7000
Prob > chi2	=	0,0033
Pseudo R2	=	0,0179
Log likelihood	=	-376,1605

Hipótesis Alternativa: OR > 1

Intervalo	OR	EE	Z	P > Z	Intervalo de Confianza	
					L. Inferior	L. Superior
> 2000	1,00	-	-	-	-	-
1500-2000	0,99	0,20	-0,05	0,4815	0,72	1,37
1000-1500	1,15	0,24	0,66	0,2550	0,81	1,62
< 1000	3,70	1,41	3,43	0,0005	1,98	6,91

El modelo en principio es aceptable ya que Prob Chi² = 0,0033 → p < 0,05.

Sólo los OR de los dos intervalos más próximos a la torre son mayores que uno.

Tan sólo el OR del intervalo más próximo es significativo (IC 95%: 1,98-6,91). En este intervalo se encuentran localizados 19 casos (7,7% de todos los casos)

No se cumple el criterio dosis respuesta, el OR del intervalo de mayor distancia (basal) es ligeramente mayor que el anterior

Con un modelo con dos intervalos (< 1.000 y ≥ 1.000) se obtiene un OR de 3,55 (IC 95%: 1,79-7,03). Este modelo explicaría 19 casos (7,7% del total de casos).

d) Torres de Refrigeración de Exide-Tudor

Number of obs	=	1.181
LR chi2(3)	=	7,8700
Prob > chi2	=	0,0195
Pseudo R2	=	0,0103
Log likelihood	=	-379,0778

Hipótesis Alternativa:	OR > 1
-------------------------------	------------------

Intervalo	OR	EE	Z	P > Z	Intervalo de Confianza	
					L. Inferior	L. Superior
> 2000	1,00	-	-	-	-	-
1500-2000	1,16	0,18	0,93	0,1760	0,89	1,51
< 1000	1,82	0,38	2,85	0,0020	1,29	2,56

El modelo en principio es aceptable ya que Prob Chi² = 0,0195 → p < 0,05.

Los OR de los dos intervalos considerados (al margen del basal) son mayores que uno.

Tan sólo el OR del intervalo más próximo es significativo (IC 95%: 1,19-2,56). En este intervalo se encuentran localizados 46 casos (18,6% de todos los casos)

Se cumple parcialmente el criterio dosis respuesta, ya que aunque es mayor que uno, el OR del intervalo central no es significativo.



e) Torre de Refrigeración de la Lavandería de Manzanares

Number of obs		=	1.181	
LR chi2(4)		=	10,8900	
Prob > chi2		=	0,0278	
Pseudo R2		=	0,0142	
Log likelihood		=	-377,5656	

Hipótesis Alternativa: OR > 1

Intervalo	OR	EE	Z	P > Z	Intervalo de Confianza	
					L. Inferior	L. Superior
> 1.500	1,00	-	-	-	-	-
1.000-1.500	0,93	0,20	-0,35	0,3645	0,65	1,33
500-1000	1,07	0,24	0,28	0,3880	0,73	1,55
350-500	1,53	0,61	1,05	0,1470	0,79	2,96
< 350	3,61	1,62	2,86	0,0020	1,73	7,54

El modelo en principio es aceptable ya que Prob Chi² = 0,0278 → p < 0,05.

Tres OR de los cuatro considerados (al margen del basal) son mayores que uno.

Sin embargo, sólo el OR del intervalo más próximo es significativo (IC 95%: 1,73-7,54). En este intervalo se encuentran localizados 46 casos (18,6% de todos los casos)

No se cumple el criterio dosis respuesta, ya que el OR del cuarto intervalo es menor que el OR basal. Además el OR de los intervalos segundo y tercero no es significativo.

Con un modelo con dos intervalos (< 350 y ≥ 350) se obtiene un OR de 3,52 (IC 95%: 1,56-7,90). Este modelo explicaría 12 casos (4,9% del total de casos).

Con otro modelo con dos intervalos (< 450 y ≥ 450) se obtiene un OR de 2,68 (IC 95%: 1,46-4,92). Este modelo explicaría 21 casos (8,5% del total de casos).



f) Riego por Aspersión del Campo de Fútbol

Number of obs	=	1.181
LR chi2(3)	=	10,2200
Prob > chi2	=	0,0168
Pseudo R2	=	0,0133
Log likelihood	=	-377,9020

Hipótesis Alternativa: OR > 1

Intervalo	OR	EE	Z	P > Z	Intervalo de Confianza	
					L. Inferior	L. Superior
> 1.500	1,00	-	-	-	-	-
1000-1500	0,87	0,21	-0,58	0,2815	0,59	1,29
500-1000	1,14	0,28	0,55	0,2910	0,77	1,70
< 500	2,01	0,65	2,16	0,0155	1,18	3,44

El modelo en principio es aceptable ya que Prob Chi² = 0,0168 → p < 0,05.

Dos OR de los tres considerados (al margen del basal) son mayores que uno.

Sin embargo, sólo el OR del intervalo más próximo es significativo (IC 95%: 1,18-3,44). En este intervalo se encuentran localizados 27 casos (10,9% de todos los casos)

No se cumple el criterio dosis respuesta, ya que el OR del tercer intervalo es menor que el OR basal. Además el OR de los intervalos segundo y tercero no es significativo.

Con un modelo con dos intervalos (< 350 y ≥ 350) se obtiene un OR de 3,74 (IC 95%: 1,72-8,13). Este modelo explicaría 13 casos (5,3% del total de casos).

Con otro modelo con dos intervalos (< 450 y ≥ 450) se obtiene un OR de 1,92 (IC 95%: 1,13-3,29). Este modelo explicaría 22 casos (8,9% del total de casos).

g) Explotación Agrícola Cinco Puentes

Number of obs		=	1.181	
LR chi2(3)		=	8,2500	
Prob > chi2		=	0,0411	
Pseudo R2		=	0,0108	
Log likelihood		=	-378,8869	

Hipótesis Alternativa:		OR	>	1
-------------------------------	--	-----------	-------------	----------

Intervalo	OR	EE	Z	P > Z	Intervalo de Confianza	
					L. Inferior	L. Superior
> 1.750	1,00	-	-	-	-	-
1.250-1.750	0,99	0,19	-0,05	0,4820	0,72	1,36
750-1.250	0,64	0,13	-2,14	0,0160	0,45	0,90
< 750	1,06	0,33	0,20	0,4225	0,64	1,76

El modelo en principio es aceptable ya que Prob Chi² = 0,0411 → p < 0,05.

Sólo un OR de los tres considerados (al margen del basal) es mayor que uno.

Los otros dos OR (al margen del basal) son menores que uno.

El único OR significativo es el del segundo intervalo (IC 95%: 0,45-0,90). Sin embargo al ser menor que uno, la explicación sería que a menor distancia el riesgo es menor, es decir que la proximidad a la instalación es protectora. Probablemente sea así ya que al acercarse a esta instalación se produce un alejamiento de la instalación o instalaciones verdaderamente implicadas en el brote.

Excepto por el OR del primer intervalo se cumpliría el criterio de dosis respuesta en sentido inverso al considerado hasta ahora.

h) Fuente del Estanque del Parque

Number of obs		=	1,181	
LR chi2(3)		=	6,2400	
Prob > chi2		=	0,1005	
Pseudo R2		=	0,0081	
Log likelihood		=	-379,8925	

Hipótesis Alternativa:		OR	>	1
-------------------------------	--	-----------	-------------	----------

Intervalo	OR	EE	Z	P > Z	Intervalo de Confianza	
					L. Inferior	L. Superior
> 1000	1,00	-	-	-	-	-
500-1000	0,97	0,17	-0,19	0,4260	0,73	1,28
350-500	1,54	0,34	1,94	0,0265	1,07	2,22
< 350	1,38	0,32	1,37	0,0855	0,94	2,02

El modelo no es aceptable ya que Prob Chi² = 0,1005 → p > 0,05.

De los tres intervalos considerados (al margen del basal), dos tienen un OR mayor que uno, sin embargo ninguno es significativo.

No se cumple el criterio dosis respuesta, ya que el OR del segundo intervalo es mayor que el del primero y el del tercer intervalo es menor que el basal.

i) Fuente de Piedra o del Gran Teatro

Number of obs	=	1.181
LR chi2(3)	=	8,1800
Prob > chi2	=	0,0424
Pseudo R2	=	0,0107
Log likelihood	=	-378,9224

Hipótesis Alternativa: OR > 1

Intervalo	OR	EE	Z	P > Z	Intervalo de Confianza	
					L. Inferior	L. Superior
> 1000	1,00	-	-	-	-	-
500-1000	2,75	1,33	2,10	0,0180	1,25	6,08
350-500	2,08	1,05	1,44	0,0745	0,90	4,78
< 350	2,97	1,46	2,22	0,0135	1,32	6,67

El modelo es aceptable ya que Prob Chi² = 0,0424 → p < 0,05.

De los tres intervalos considerados (al margen del basal), tres tienen un OR mayor que uno, sin embargo uno de ellos no es significativo.

No se cumple el criterio dosis respuesta, ya que el OR del tercer intervalo es mayor que el del segundo.

Aunque no es elevado, el valor ajustado del coeficiente de determinación (Pseudo R²) es el mayor de todos los modelos estimados.



j) Fuente de la Estación de Autobuses (**Modelo 1**)

Number of obs	=	1.181
LR chi2(4)	=	14,9600
Prob > chi2	=	0,0048
Pseudo R2	=	0,0195
Log likelihood	=	-375,5305

Hipótesis Alternativa: OR > 1			
---	--	--	--

Intervalo	OR	EE	Z	P > Z	Intervalo de Confianza	
					L. Inferior	L. Superior
> 1.500	1,00	-	-	-	-	-
1.000-1.500	2,89	2,16	1,42	0,0775	0,85	9,86
500-1000	3,25	2,43	1,58	0,0575	0,95	11,10
350-500	3,43	2,68	1,58	0,0565	0,95	12,37
< 350	6,97	5,37	2,52	0,0060	1,96	24,76

El modelo es aceptable ya que Prob Chi² = 0,0048 → p < 0,05.

Los OR de los cuatro intervalos considerados (al margen del basal) son mayores que uno, sin embargo sólo el primero de ellos no es significativo. El segundo y el tercero están próximos a la significación estadística (Límite Inferior del OR = 0,95 en ambos casos)

Se cumple el criterio dosis respuesta, con una disminución progresiva del OR según va aumentando la distancia a la instalación, aunque, como ya se ha comentado, sólo el primer OR es significativo.

Aunque no es elevado, el valor ajustado del coeficiente de determinación (Pseudo R² = 2,0%) es el mayor de todos los modelos estimados.

De la misma manera, aunque no sea estrictamente comparable con el resto de los modelos estimados, el valor absoluto del Log likelihood es el más bajo de todos.

Con un modelo con dos intervalos (< 350 y ≥ 350) se obtiene un OR de 2,31 (IC 95%: 1,55-3,33). Este modelo explicaría 31 casos (12,6% del total de casos).

Con otro modelo con dos intervalos (< 450 y ≥ 450) se obtiene un OR de 1,77 (IC 95%: 1,26-2,50). Este modelo explicaría 42 casos (17,0% del total de casos).

k) Fuente de la Estación de Autobuses (Modelo 2)

Dado que el modelo 1 estimado para la Estación de Autobuses parece un modelo aceptable, con algunas limitaciones, se han estimado diferentes modelos tentativos tomando como referencia para la definición de los intervalos los ofrecidos por defecto en la página web del ECDC (estos intervalos se han aplicado también a todas aquellas instalaciones en las que era posible hacerlo, fundamentalmente las más próximas a la población).

A continuación se exponen los resultados de este modelo denominado modelo 2 de la Fuente de la Estación de Autobuses:

Number of obs	=	1,181
LR chi2(4)	=	10,5800
Prob > chi2	=	0,0318
Pseudo R2	=	0,0138
Log likelihood	=	-377,7252

Hipótesis Alternativa: OR > 1

Intervalo	OR	EE	Z	P > Z	Intervalo de Confianza	
					L. Inferior	L. Superior
> 1.000	1,00	-	-	-	-	-
500-1000	1,17	0,19	0,97	0,1650	0,90	1,53
200-500	1,49	0,34	1,74	0,0410	1,02	2,17
100-200	2,28	0,90	2,09	0,0185	1,19	4,36
< 100	3,51	1,73	2,55	0,0055	1,56	7,91

El modelo es aceptable ya que Prob Chi² = 0,0318 → p < 0,05.

Los OR de los cuatro intervalos considerados (al margen del basal) son mayores que uno, siendo sólo uno de ellos no significativo aunque próximo a la significación estadística (límite inferior del OR = 0,90)

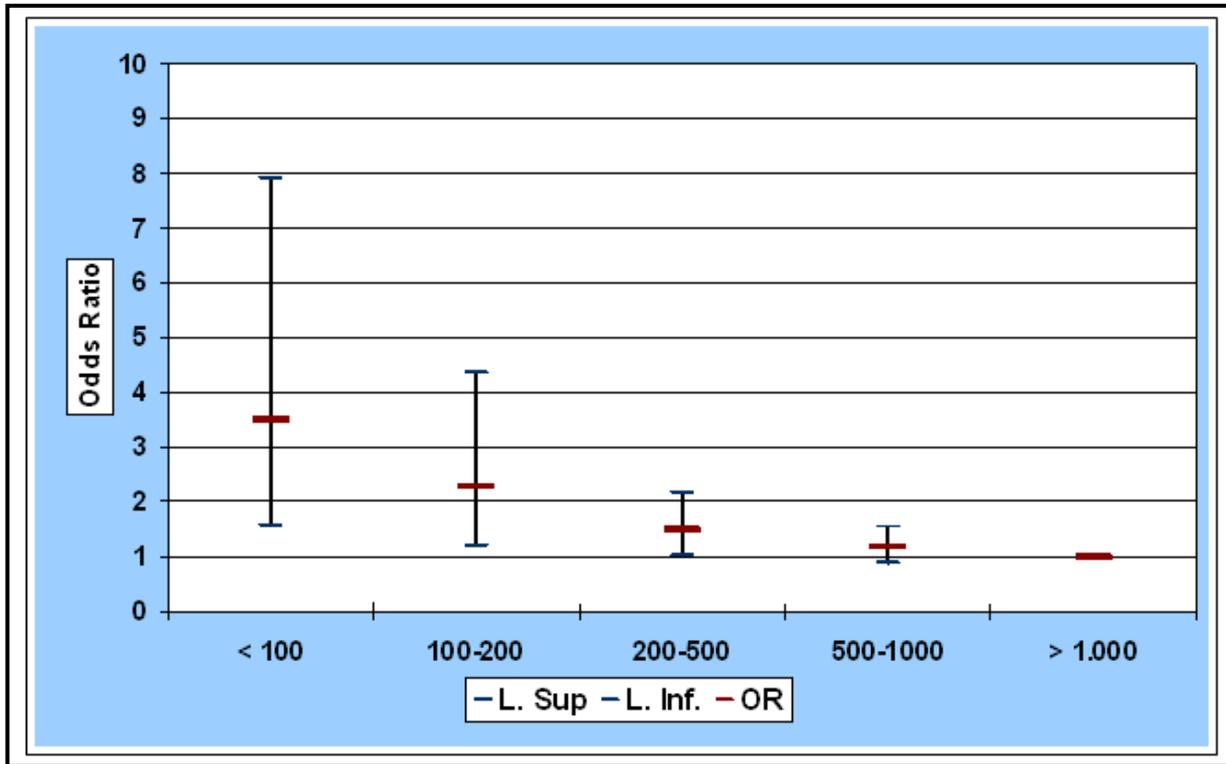
Los intervalos de confianza del OR no son muy amplios, en realidad son estrechos lo que hablaría a favor de la precisión en la estimación.

Se cumple el criterio dosis respuesta, con una disminución progresiva del OR según va aumentando la distancia a la instalación (Gráfico 17).

Aunque no es elevado, el valor ajustado del coeficiente de determinación (Pseudo R² = 1,4%) es uno de los más altos de todos los modelos estimados.

De la misma manera, aunque no sea estrictamente comparable con el resto de los modelos estimados, el valor absoluto del Log likelihood es uno de los más bajos de todos los modelos.

Gráfico 17.- Intervalo de Confianza del OR según Distancia a Fuente de la Estación de Autobuses - Estudio Casos-Control (Modelo 2)



Aunque en este modelo la estimación puntual de los OR de los diferentes intervalos es inferior a la de los OR del modelo 1, la significación estadística de tres ellos frente a sólo uno en el primer modelo, le hacen preferible, según nuestro criterio, y es un buen punto de partida para el análisis de la causalidad del brote de legionelosis.

1) Distancias a la Fuente de la Estación de Autobuses Controlado por Distancias a Campo de Fútbol (Modelo 3).

La proximidad de las instalaciones de riesgo es una dificultad importante en el análisis epidemiológico del brote de legionelosis en Manzanares. Por muy sofisticadas que sean las técnicas estadísticas utilizadas, es complejo discriminar riesgos entre instalaciones situadas unas de otras apenas a 300 metros, cuando los casos distribuyen en una superficie amplia (unos 5 kilómetros cuadrados).

Se han observado en el análisis de los diferentes modelos algunos resultados relativamente paradójicos, por ejemplo se ha visto que al alejarse de la supuesta instalación del riesgo aumentaba la probabilidad de enfermar. Esta paradoja se ha explicado argumentando que al alejarse de una instalación, sin potencia causal, la residencia de los casos se acercaba a otras instalaciones y era el riesgo de estas lo que media el modelo.

Intentando controlar este efecto se han diseñado modelos en los que se han incorporado las distancias a otras fuentes para controlar su posible confusión. Es cierto que esta decisión en un modelo de regresión lleva implícito el riesgo de incurrir en la multicolinealidad.

A continuación se presenta el modelo de distancias a la Fuente de la Estación de Autobuses (con los mismos intervalos que el modelo 1) controlando el efecto con la distancia de los casos al Campo de Fútbol:

Number of obs		=	1.181	
LR chi2(5)		=	16,4800	
Prob > chi2		=	0,0056	
Pseudo R2		=	0,0215	
Log likelihood		=	-374,7724	

Hipótesis Alternativa: OR > 1

Intervalo	OR	EE	Z	P > Z	Intervalo de Confianza	
					L. Inferior	L. Superior
> 1.500	1,00	-	-	-	-	-
1.000-1.500	4,10	3,28	1,76	0,0390	1,10	15,28
500-1000	5,86	5,21	1,99	0,0235	1,36	25,32
350-500	7,35	7,34	2,00	0,0230	1,42	37,96
< 350	17,29	18,51	2,66	0,0040	2,97	100,62
Fútbol	1,00	0,00	1,23	0,1095	1,00	1,00

El modelo es aceptable ya que Prob Chi² = 0,0056 → p < 0,05.

Los OR de los cuatro intervalos considerados (al margen del basal) son mayores que uno, todos ellos significativos. Su estimación puntual ofrece valores muy elevados.

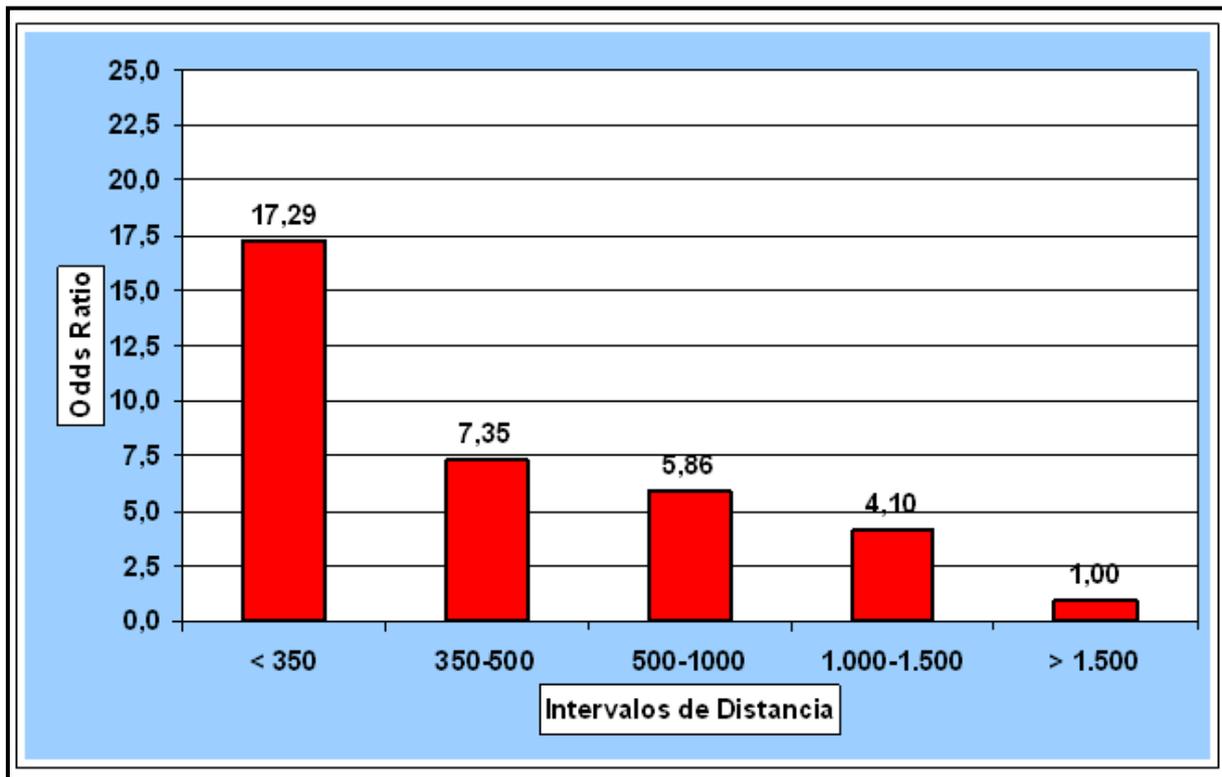
Los intervalos de confianza del OR son muy amplios, lo que no hablaría a favor de una buena precisión en la estimación.

Se cumple el criterio dosis respuesta, con una disminución progresiva del OR según va aumentando la distancia a la instalación (Gráfico 18).

Aunque no es elevado, el valor ajustado del coeficiente de determinación (Pseudo $R^2 = 2,2\%$) es el más alto de todos los modelos estimados.

De la misma manera, aunque no sea estrictamente comparable con el resto de los modelos estimados, el valor absoluto del Log likelihood es el más bajo de todos los modelos.

Gráfico 18.- Intervalo de Confianza del OR según Distancia a Fuente de la Estación de Autobuses Controlado por Distancia a Campo de Fútbol (Modelo 3)



Resumen de Modelos Logísticos

1.- Modelos Descartados (Prob Chi² → p > 0,05)

- Torre de Telefónica (Prob Chi² = 0,32172)
- Torre de Tosfrit (Prob Chi² = 0,2845)
- Fuente del Estanque del Parque (Prob Chi² = 0,1005)

2.- Modelos Sólo con un OR Significativo (> 1,0)

- Torre de Aluminios Cortizo [OR (< 1.000 vs > 2.000) = 3,70 (1,98-6,91)]
 - No se cumple el criterio de dosis respuesta
 - Un Modelo con dos intervalos (< 1.000 vs ≥ 1.000) → OR = 3,55 (2,00-6,30)
- Torre de Exide-Tudor [OR (< 1.000 vs > 2.000) = 1,82 (1,82-2,56)]
 - Se cumple el criterio de dosis respuesta (el modelo sólo tiene tres intervalos)
 - Un Modelo con dos intervalos (< 1.500 vs ≥ 1.500) → OR = 1,70 (1,23-2,35)
- Torre de la Lavandería [OR (< 350 vs > 1.500) = 3,61 (1,73-7,54)]
 - Se cumple el criterio de dosis respuesta
 - Un Modelo con dos intervalos (< 350 vs ≥ 350) → OR = 3,52 (1,78-6,94)
- Campo de Fútbol [OR (<500 vs > 1.500) = 2,01 (1,18-3,94)]
 - No se cumple el criterio de dosis respuesta
 - Un Modelo con dos intervalos (< 350 vs ≥ 350) → OR = 3,74 (1,95-7,18)

3.- Modelos Sólo con un OR Significativo (< 1,0)

- Explotación Agrícola Cinco Puentes [OR (< 750 vs > 1.750) = 1,06 (0,64-1,76)]
 - El intervalo significativo es “protector”
 - No se cumple el criterio de dosis respuesta
 - Un Modelo con dos intervalos (< 350 vs ≥ 350) → OR = 0,00 (0,00-0,00)

4.- Modelo con Dos OR Significativos ($> 1,0$)

– Fuente de Piedra o del Gran Teatro:

- OR (< 350 vs > 1.000) = 2,97 (1,32-6,67)
- OR (500-1.000 vs > 1.000) = 2,75 (1,25-6,08)
- No se cumple el criterio de dosis respuesta

5.- Modelos Fuente de Estación de Autobuses

➤ Los diferentes modelos estimados para valorar el riesgo relacionado con la Fuente de la Estación de Autobuses son los más aceptables desde el punto de vista cuali-cuantitativo del modelo logístico:

- Los modelos 1, 2 y 3 (todos con 5 intervalos) cumplen con los requisitos a los modelos logísticos.
- En el conjunto de los modelos estudiados son los que tienen mejores valores de Pseudo R^2 (aunque no sean excelentes) y valor absoluto del Log likelihood
- **Todos ellos siguen de forma armoniosa el criterio de dosis-respuesta**
- El **modelo 1** sólo tiene un OR significativo (con un valor de 6,97) pero el resto de OR están próximos a la significación estadística.
 - Los intervalos de confianza de los OR del modelo 1 son estrechos.
- El **modelo 2** tiene tres OR significativos y el cuarto está próximo a la significación estadística. El OR del primer intervalo es de 3,51
 - Los intervalos de confianza de los OR del modelo 2 son estrechos.
- El **modelo 3** (interacción con distancias a campo de fútbol) tiene todos los OR significativos. El OR del primer intervalo es de 17,29 (2,97-100,62)
 - Los intervalos de confianza de los OR del modelo 3 son amplios.
 - Este modelo está expuesto a la multicolinealidad

➤ **Aunque cualquiera de los tres modelos podría explicar la mayoría de los casos del brote, no todos, los modelos 1 y 2 parecen los más coherentes.**

5) Estudio de Casos y Controles por el Método de Kernel

En el apartado de métodos se describieron los procedimientos seguidos para realizar este estudio analítico. Fundamentalmente se han seguido las referencias bibliográficas de Tilman M. Davis y colaboradores en el artículo “*Analyzing Spatial Relative Risk Using Fixed and Adaptative Kernel Density Estimation in R*” que fue publicado en el *Journal of Statistics Software* (March 2011, Volume 39, Issue 11).

En la selección de casos y controles se ha seguido el mismo procedimiento que en el estudio casos-control apareado, por lo tanto los casos y los controles son los mismos en ambos estudios.

La estimación del riesgo Relativo se ha realizado mediante la función:

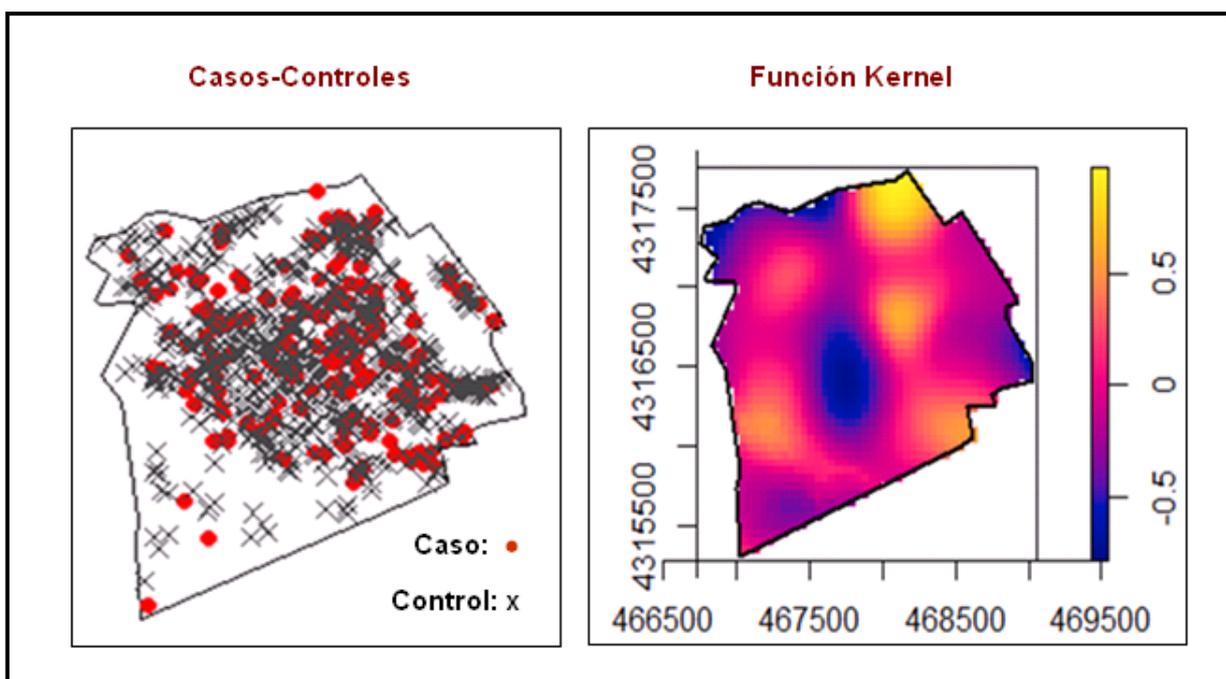
$$r(z) = \frac{f(z)}{g(z)}$$

Donde:

- $f(z)$: es la densidad de probabilidad de encontrar un caso
- $g(z)$: es la densidad de probabilidad de encontrar un control

En el Gráfico 19 se representa la distribución espacial de casos y controles sobre el casco urbano de Manzanares y en el lado derecho del gráfico la estimación inicial de la función de densidad de Kernel.

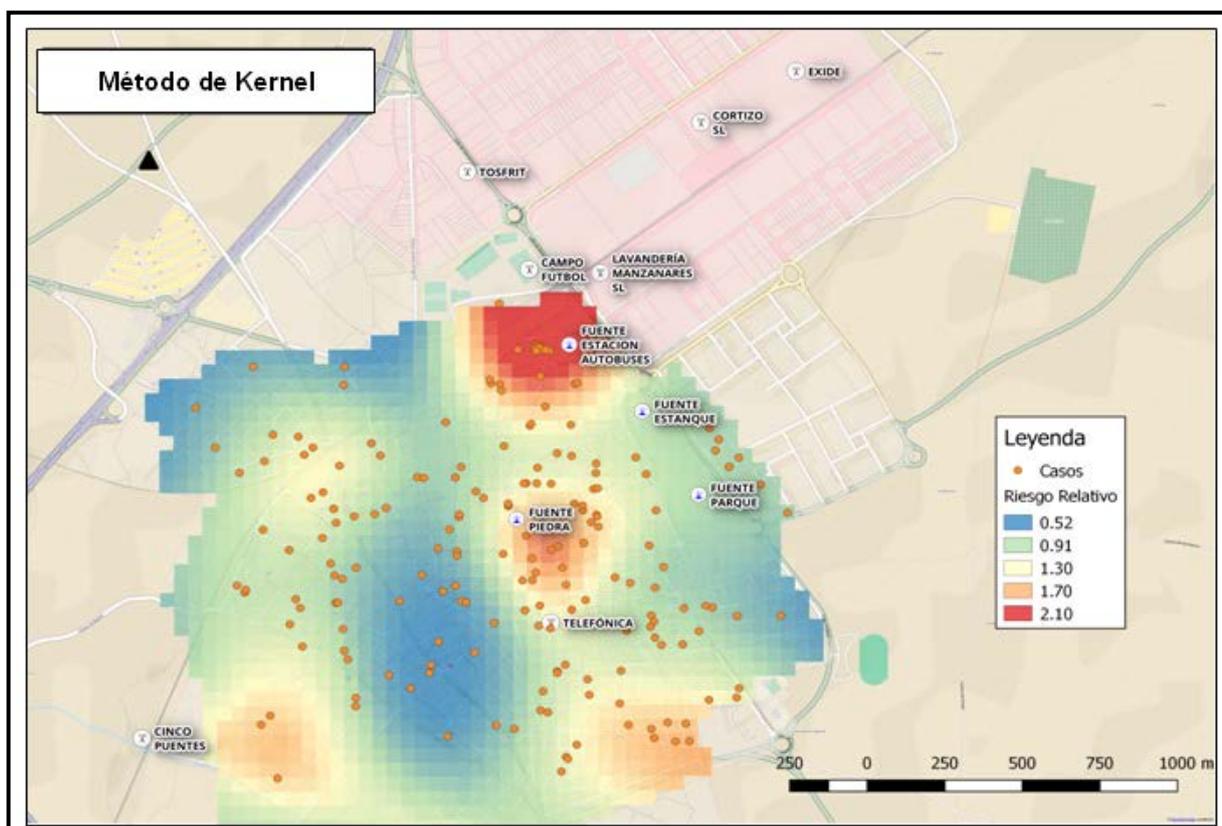
Gráfico 19.- Distribución de Casos y Controles – Función de Densidad de Kernel



Según el gráfico 19, la distribución de casos en relación con los controles parece uniforme, por lo que no parece, en principio, que se pudieran haber provocado sesgos por exceso de casos o controles en alguna zona del municipio.

El gráfico de la función de densidad de Kernel apunta varias zonas con mayor densidad: una en el norte del municipio (próxima a instalaciones de riesgo sospechosas) y otra en el centro de la ciudad coincidiendo con las secciones electorales en las que se obtuvo mayor tasa de incidencia. Parece vislumbrarse una zona en el extremo suroeste del municipio aunque no se identifica con claridad.

Mapa 7.- Riesgo Relativo de Legionelosis con Instalaciones de Riesgo Brote de Legionelosis en Manzanares



Transformando las funciones de densidad en riesgos relativos (RR) y trasladando estos al plano del casco urbano de Manzanares (Mapa 7) se observa una zona en el extremo norte del municipio con mayor RR que el resto. Según este estudio los residentes en esa zona habrían tenido 2,10 veces más probabilidad de padecer legionelosis. Es una zona amplia, próxima a instalaciones de riesgo posiblemente incriminadas en el brote.

Además, en el centro del municipio se aprecia una zona de elevada concentración de casos y un RR = 1,7; la instalación de riesgo más próxima a esta zona es la Fuente de Piedra. En el extremo de sur de la zona se identifica la torre de Telefónica que no parece estar relacionada con el brote ya que no funcionó en el periodo de riesgo.

Por último, se identifican dos zonas con RR = 1,7; en una de ellas, con pocos casos próximos, se localiza una instalación en la que se aisló la cepa epidémica.

Brote de Legionelosis en Manzanares Conclusiones

- 1.- Durante el mes de diciembre de 2015 se registró en Manzanares (Ciudad Real) el brote comunitario de legionelosis con mayor tasa de ataque entre los publicados en la literatura científica.
- 2.- La rápida intervención de la Dirección General de Salud Pública de Castilla-La Mancha junto con la activación inmediata de los servicios asistenciales del área permitieron minimizar los efectos de la enfermedad e interrumpir la transmisión de la *legionella* en el menor tiempo posible.
- 3.- La colaboración y coordinación entre los diferentes niveles de la administración (municipal, provincial y regional) facilitó el estudio del brote y contribuyó a adoptar en cada momento las medidas requeridas.
- 4.- El apoyo de profesionales e instituciones de otras comunidades autónomas, así como del Centro Coordinador de Alertas y Emergencias Sanitarias (CCAES), Centro Nacional de epidemiología (CNE) y Centro Nacional de Microbiología (CNM), supuso una ayuda inestimable para los técnicos de salud pública de Castilla-La Mancha.
- 5.- De acuerdo con la curva epidémica el máximo periodo de exposición pudo ocurrir entre los días 8 y 14 de diciembre de 2015, aunque desde la mitad del mes de noviembre se venía registrando (no declarando) un goteo intermitente de casos.
- 6.- La tasa de letalidad registrada en el contexto del brote es una de las más bajas de las registradas en brotes comunitarios de legionelosis.
- 7.- El envejecimiento poblacional y la prevalencia de factores de riesgo (hábito de fumar, diabetes, ..) pudieron contribuir a la transformación de riesgo en enfermedad, lo que podría explicar, en parte, la elevada tasa de ataque en el brote.
- 8.- Aún habiendo estando sometidos al mismo riesgo, no se registró ningún caso en menores de 15 años y tan sólo dos en menores de 25 años.
- 9.- La ausencia de Estación Meteorológica en el municipio de Manzanares ha impedido investigar con rigor las causas medioambientales que pudieron haber contribuido a la aparición y extensión del brote.
- 10.- Informes de la Agencia Estatal de Meteorología refieren que durante los meses de noviembre y diciembre se registraron en la provincia de Ciudad Real temperaturas más elevadas de lo habitual para esa época del año. Se cita también el fenómeno de inversión térmica como una causa del mantenimiento en el ambiente de los aerosoles infectados por *legionella*.
- 11.- Los casos se concentraron fundamentalmente en el norte del municipio, zona en la que están ubicadas la mayoría de las instalaciones de riesgo.
- 12.- Se identificó la cepa epidémica como *L. pneumophila* SG1, *Pontiac Philadelphia*, ST 899 (6, 10, 14, 10, 39, 3, 20) presente en el 80% de las cepas humanas secuenciadas. Sin embargo se identificaron 12 cepas diferentes en muestras respiratorias.

- 13.- Con toda seguridad, en el brote están implicadas un número de cepas muy elevado e inusual en este tipo de brotes, que podrían proceder de diferentes instalaciones de riesgo, aunque esta afirmación no se pueda hacer con la misma rotundidad que la anterior, a pesar de que algunas cepas humanas coinciden parcialmente con las correspondientes ambientales.
- 14.- La investigación microbiológica de muestras ambientales tuvo muchas dificultades y un rendimiento escaso.
- 15.- En la mayoría de las instalaciones de riesgo se detectó presencia de *legionella* pero sólo se pudo secuenciar en dos de ellas.
- 16.- En una torre de refrigeración se identificó la cepa epidémica (ST 899), sin embargo parece que no funcionó durante el periodo de exposición. Saber con certeza si funcionó o no, podría ser un elemento de suma importancia en la investigación del brote.
- 17.- En cualquier caso, los estudios epidemiológicos apuntan parcialmente a esta instalación.
- 18.- En esta instalación se identificó otra cepa de *legionella* (ST 87) que no se ha identificado en ninguna de las 66 muestras humanas secuenciadas.
- 19.- Los modelos epidemiológicos que mejor explicarían la mayoría de los casos del brote, no todos, son los correspondientes a la Fuente de la Estación de Autobuses.
- 20.- Tanto en el depósito como en los chorros de la Fuente de la Estación de Autobuses se detectó presencia de *legionella* en concentraciones no despreciables, aunque no se pudo secuenciar ninguna cepa. Los servicios técnicos contratados por el Ayuntamiento de Manzanares pudieron aislar una cepa de *Legionella No Pneumophila (Legionella Anisa)* que no tiene vinculación con el brote, al menos con los casos confirmados.
- 21.- El proceso de secuenciación masiva que está llevando a cabo el CNM en colaboración con laboratorios internacionales, podría permitir asociar, con escaso margen de error, las cepas humanas de *legionella* que se han podido secuenciar con alguna de las cepas ambientales identificadas.
- 22.- El elevado potencial que tiene la *legionella* para generar brotes comunitarios con graves repercusiones sanitarias, sociales y económicas, obligan a las autoridades sanitarias a reforzar los programas de control y prevención de legionelosis y los servicios de Salud Pública en general.
- 23.- La investigación sobre la legionelosis y otras enfermedades emergentes deben situarse en un primer plano de las políticas de investigación a nivel regional y nacional.



Castilla-La Mancha

Consejería de Sanidad
Dirección General de Salud Pública y Consumo
Avenida de Francia, 4 - 45071 Toledo

Brote de legionelosis en Manzanares (Ciudad Real)

Referencias Bibliográficas

Brote de Legionelosis en Manzanares (Ciudad Real) Bibliografía Consultada

- 1.- Fraser DW, Tsai TR, Orenstein W, et al. Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia. *N Engl J Med* 1977; 297: 1189–97.
- 2.- CDC. Respiratory Infection — Pennsylvania. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1976;25:244 (August 5, 1976).
- 3.- CDC. Follow-up on Respiratory Illness — Philadelphia. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1977;26:9–11 (January 18, 1977).
- 4.- Austin Bradford Hill, "The Environment and Disease: Association or Causation?". *Proceedings of the Royal Society of Medicine*, 58 (1965), 295-300.
- 5.- Burke A Cunha, Almudena Burillo, Emilio Bouza. Legionnaires' disease Review. *Lancet* 2016; 387: 376–85.
- 6.- Sandra M. Walsera,, Doris G. Gerstnera, Bernhard Brennera, Christiane Höllerb, Bernhard Liebl a, Caroline E.W. Herra. Assessing the environmental health relevance of cooling towers – A systematic review of legionellosis outbreaks. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 217 (2014) 145– 154.
- 7.- Fields BS, Benson RF, Besser RE. Legionella and Legionnaires' disease: 25 years of investigation. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15: 506–26.
- 8.- Nick Phin, Frances Parry-Ford, Timothy Harrison et al. Epidemiology and clinical management of Legionnaires' disease. *Lancet Infect Dis* 2014; 14: 1011–21.
- 9.- García-Fulgueiras A, Navarro C, Fenoll D, García J, González-Diego P, Jiménez-Buñuales T, et al. Legionnaires' Disease Outbreak in Murcia, Spain. *Emerg Infect Dis.* 2003;9(8) 915 – 921.
- 10.- Castilla J, Barricarte A, Aldaz J, et al. A large Legionnaires' disease outbreak in Pamplona, Spain: early detection, rapid control and no case fatality. *Epidemiol Infect* 2008; 136: 823–32.
- 11.- Sánchez-Busó L, Coscollà M, Vanaclocha H, González-Candelas F et al. 2015. Geographical and temporal structures of Legionella pneumophila sequence types in Comunitat Valenciana (Spain), 1998 to 2013. *Appl Environ Microbiol* 81:7106-7113
- 12.- Clive M Brown, Pekka J Nuorti, Robert F Breiman, Martin Cetron et al. A community outbreak of legionnaires' disease linked to hospital cooling towers: an epidemiological method to calculate dose of exposure. *International Journal of Epidemiology* 1999;28:353-359.
- 13.- Mireia Coscollá, José Fenollar, Isabel Escribano, and Fernando González-Candelas Legionellosis Outbreak Associated with Asphalt Paving Machine, Spain, 2009. *Emerg Infect Dis.* 16(9) 1381-1387



- 14.- Levesque S, Plante P-L, Mendis N, Cantin P, Marchand G, et al. (2014) Genomic Characterization of a Large Outbreak of Legionella pneumophila Serogroup 1 Strains in Quebec City, 2012. PLoS ONE 9(8): e103852. doi:10.1371/journal.pone.0103852
- 15.- Nygård K, Werner-Johansen Ø, Rønsen S, Caugant DA, Simonsen Ø, Kanestrøm A, et al. An outbreak of legionnaires disease caused by long-distance spread from an industrial air scrubber in Sarpsborg, Norway. Clin Infect Dis. 2008;46(1):61-9.
- 16.- Coetzee N, Duggal H, Hawker J, et al. An outbreak of Legionnaires' disease associated with a display spa pool in retail premises, Stoke-on-Trent, United Kingdom, July 2012. Euro Surveill 2012; 17(37): pii =20271.
- 17.- Francis J. Mahoney, Charles W. Hoge, Thomas A. Farley, James M. Barbaree, Robert F. Breiman, Robert F. Benson and Louise M. McFarland. Community wide Outbreak of Legionnaires' Disease Associated with a Grocery Store Mist Machine. The Journal of Infectious Diseases 1992;165: 736-739.
- 18.- European Centre for Disease Prevention and Control. Legionnaires' disease in Europe, 2013 [Internet]. Stockholm: ECDC; 2015
- 19.- M. Scaturro, S. Fontana, S. Crippa, M.G. Caporali, T. Seyler, E. Veschetti, G. Villa, M.C. Rota and M. L. Ricc. An unusually long-lasting outbreak of community-acquired Legionnaires' disease, 2005–2008, Italy. Epidemiol. Infect. (2015), 143, 2416–2425.
- 20.- P. S. White, F. F. Graham, D. J.G. Harte, M.G. Baker, C. D. Ambrose and A. R. G. Humphrey. Epidemiological investigation of a Legionnaires' disease outbreak in Christchurch, New Zealand: the value of spatial methods for practical public health. Epidemiol. Infect. (2013), 141, 789–799.
- 21.- Den Boer JW, Yzerman E, Schellekens J, Lettinga KD, Boshuizen HC, Van Steenberghe JE, et al. A large outbreak of Legionnaires' disease at a flower show, the Netherlands, 1999. Emerg Infect Dis 2002;8:37-43.
- 22.- Celia Quinn, Alicia Demirjian, Louise Francois Watkins, Sara Tomczyk, Brown, E., Benitez, and Mary DiOrio. (2015). Legionnaires' Disease Outbreak at a Long-Term Care Facility Caused by a Cooling Tower Using an Automated Disinfection System-Ohio, 2013. Journal of environmental health, 78(5), 8.
- 23.- Conza L, Casati S, Limoni C, et al. Meteorological factors and risk of community-acquired Legionnaires' disease in Switzerland: an epidemiological study. BMJ Open 2013;3:e002428. doi:10.1136/bmjopen-2012- 002428
- 24.- Smith, Shamika S., et al. "Legionellosis Outbreak Associated With a Hotel Fountain." Open forum infectious diseases. Vol. 2. No. 4. Oxford University Press, 2015.
- 25.- Chang, Ching-Wen, and Pei-Yu Hung. "Methods for detection and quantification of airborne legionellae around cooling towers." Aerosol Science and Technology46.4 (2012): 369-379.



- 26.- Egan, Joseph R., et al. "Modeling Legionnaires' disease outbreaks: estimating the timing of an aerosolized release using symptom-onset dates." *Epidemiology* 22.2 (2011): 188-198.
- 27.- Øystein Simonsen¹, Elisabeth Wedege, and Jetmund Ringstad. Characterization of the extent of a large outbreak of Legionnaires' disease by serological assays. *BMC Infectious Diseases* (2015) 15:163.
- 28.- Ulleryd, Peter, et al. "Legionnaires' disease from a cooling tower in a community outbreak in Lidköping, Sweden-epidemiological, environmental and microbiological investigation supported by meteorological modelling." *BMC infectious diseases* 12.1 (2012): 1.
- 29.- O'Loughlin, Rosalyn E., et al. "Restaurant outbreak of Legionnaires' disease associated with a decorative fountain: an environmental and case-control study." *BMC infectious diseases* 7.1 (2007): 1.
- 30.- Mercante, Jeffrey W., and Jonas M. Winchell. "Current and emerging Legionella diagnostics for laboratory and outbreak investigations." *Clin Microbiol Rev* 28.1 (2015): 95-133.
- 31.- Greig, Jane E., et al. "An outbreak of Legionnaires' disease at the Melbourne Aquarium, April 2000: investigation and case-control studies." *Medical Journal of Australia* 180.11 (2004): 566-572.
- 32.- P. Sansom, V. R. Copley, F. C. Naik, S. Leacha and I. M. Halla. A case-association cluster detection and visualisation tool with an application to Legionnaires' disease. *Statist. Med.* 2013, 32 3522–3538.
- 33.- Diggle P, Morris S, Morton-Jones T. Case-control isotonic regression for investigation of elevation in risk around a point source. *Stat Med.* 1999 Jul 15;18(13):1605-13.
- 34.- Lee M. Hampton, Laurel Garrison, and Hugo Lopez-Gate et al. Legionnaires' Disease Outbreak at a Resort in Cozumel, Mexico. *Open Forum Infect Dis.* 2016 Sep; 3(3): ofw170.
- 35.- Davies, Tilman M., Martin L. Hazelton, and Jonathan C. Marshall. "Sparr: analyzing spatial relative risk using fixed and adaptive kernel density estimation in R." *Journal of Statistical Software* 39.i01 (2011).
- 36.- Isabelle Goupil Sormany (2012). Rapport du Directeur de Santé Publique, François Desbiens, MD. Écllosion de légionelles dans la ville de Québec, Québec (in French). <http://www.rrsss03.gouv.qc.ca/pdf/Rapport%20legionellose%20version%20FINALE%2010-12-2012.pdf> (accessed May, 2014)
- 37.- Trudel L , Veillette M , Bonifait L , Duchaine C. Management of the 2012 Legionella crisis in Quebec City: need for a better communication between resources and knowledge transfer. *Front. Microbiol.* 5:182.



- 38.- Bull M, Hall IM, Leach S, Robesyn E. The application of geographic information systems and spatial data during Legionnaires disease outbreak responses. *Euro Surveill* 2012; 17: 20331
- 39.- Health and Safety Executive. Report of the public meetings into the legionella outbreak in Barrow-in-Furness, August 2002.
- 40.- Sánchez-Busó L, Vanaclocha H, González-Candelas F, et al. "Genomic Investigation of a Legionellosis Outbreak in a Persistently Colonized Hotel." *Frontiers in microbiology* 6 (2015).
- 41.- CDC. Surveillance for waterborne disease outbreaks associated with drinking water and other nonrecreational water—United States, 2009–2010. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2013;62:714–20.
- 42.- Martin L. Hazelton and Tilman M. Davies. Inference Based on Kernel Estimates of the Relative Risk Function in Geographical Epidemiology. *Biometrical Journal* 51 (2009) 1, 98–109
- 43.- David Kirragea, Gary Reynolds, Gillian E. Smith, Babatunde Olowokureb. Investigation of an outbreak of Legionnaires' disease: Hereford, UK 2003. *Respiratory Medicine* (2007) 101, 1639–1644.
- 44.- Institut de Veille Sanitaire. Epidémie communautaire de légionellose, Pas-de-Calais, novembre 2003 - janvier 2004, rapport d'investigation (Internet) <http://www.ladocumentationfrancaise.fr/rapports-publics/054000518-epidemie-communautaire-de-legionellose-pas-de-calais-novembre-2003-janvier-2004>
- 45.- Nguyen TM, Ilef D, Jarraud S, Rouil L, Campese C, Che D, Haeghebaert S, Ganiayre F, Marcel F, Etienne J, Desenclos JC. A Community-Wide Outbreak of Legionnaires Disease Linked to Industrial Cooling Towers - How Far Can Contaminated Aerosols Spread? *J Infect Dis.* 2006 Jan 1;193(1):102-11.
- 46.- Barrabeig I, Rovira A, Garcia M, et al. Outbreak of Legionnaires' disease associated with a supermarket mist machine. *Epidemiol Infect* 2010; 138: 1823-28.
- 47.- Cohn PD, Gleason JA, Rudowski E, Tsai SM, Genese CA, Fagliano JA. Community outbreak of legionellosis and an environmental investigation into a community water system *Epidemiol Infect.* 2015 Apr;143(6):1322-31.
- 48.- Nguyen TMN, Ilef D, Jarraud S, et al. A community-wide outbreak of legionnaires disease linked to industrial cooling towers—how far can contaminated aerosols spread? *J Infect Dis* 2006; 193: 102–11.
- 49.- Lock K, Millett C, Heathcock R, et al. Public health and economic costs of investigating a suspected outbreak of Legionnaires' disease. *Epidemiol Infect* 2008; 136: 1306–14.
- 50.- Chidiac C, Che D, Pires-Cronenberger S, et al. Factors associated with hospital mortality in community-acquired legionellosis in France. *Eur Respir J* 2012; 39: 963–70.



- 51.- Yzerman EP, den Boer JW, Lettinga KD, Schellekens J, Dankert J, Peeters M. Sensitivity of three urinary antigen tests associated with clinical severity in a large outbreak of Legionnaires' disease in The Netherlands. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 3232–36.
- 52.- Bennett E, Ashton M, Calvert N, et al. Barrow-in-Furness: a large community legionellosis outbreak in the UK. *Epidemiol Infect* 2013; 11: 1–15.
- 53.- Nazarian EJ, Bopp DJ, Saylor A, Limberger RJ, Musser KA. Design and implementation of a protocol for the detection of Legionella in clinical and environmental samples. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008; 62: 125–32.
- 54.- Kristen E. Cross, Jeffrey W. Mercante, Alvaro J. Benitez, Ellen W. Brown, Maureen H. Diaz, Jonas M. Winchell. Simultaneous detection of Legionella species and *L. anisa*, *L. bozemanii*, *L. longbeachae* and *L. micdadei* using conserved primers and multiple probes in a multiplex real-time PCR assay. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 85 (2016) 295–301.
- 55.- Vaccaro L, Izquierdo F, Magnet A, Hurtado C, Salinas MA, Gomes TS, et al. (2016) First Case of Legionnaire's Disease Caused by Legionella anisa in Spain and the Limitations on the Diagnosis of Legionella non-pneumophila Infections. *PLoS ONE* 11(7):
- 56.- Nathalie van der Mee-Marquet, Anne-Sophie Domelier, Laurence Arnault, Daniel Bloc, Patrice Laudat, Philippe Hartemann, and Roland Quentin. Legionella anisa, a Possible Indicator of Water Contamination by Legionella pneumophila. *Journal of Clinical Microbiology*, Jan. 2006, p. 56–59
- 57.- Maisa A, Brockmann A, Renken F, Lück C, Pleischl S, Exner M, Daniels-Haardt I, Jurke A. Epidemiological investigation and case–control study: a Legionnaires' disease outbreak associated with cooling towers in Warstein, Germany, August–September 2013. *Euro Surveill.* 2015;20(46).
- 58.- McCormick D, Thorn S, Milne D, Evans C, Stevenson J, Llano M, Donaghy M, on behalf of the Incident Management Team. Public health response to an outbreak of Legionnaires' disease in Edinburgh, United Kingdom, June 2012. *Euro Surveill.* 2012;17(28).
- 59.- K. De Schrijver, E. Van Bouwel, L. Mortelmans, P. Van Rossom, T. De Beukelaer, C. Vael, K. Dirven, H. Goossens, M. Leven, O. Ronveaux. Une épidémie de légionellose parmi les visiteurs d'un salon en Belgique, 1999. *Euro Surveill.* 2000 115-119.
- 60.- Keramarou M, Evans MR, for the South Wales Legionnaires' Disease Outbreak Control Team. A community outbreak of Legionnaires' disease in South Wales, August–September 2010. *Euro Surveill.* 2010;15(42).
- 61.- Shivaji T, Sousa Pinto C, San-Bento A, Oliveira Serra LA, Valente J, Machado J, Marques T, Carvalho L, Nogueira PJ, Nunes B, Vasconcelos P. A large community outbreak of Legionnaires' disease in Vila Franca de Xira, Portugal, October to November 2014. *Euro Surveill.* 2014;19(50).



- 62.- J.L. Aboal Viñas y P. Farjas Abadía. Legionella: un problema de salud pública y un problema para la salud pública. *Gac Sanit* 2001; 15 (2): 91-94.
- 63.- M. C. Rota, G. Pontrelli, M. Scaturro, A. Bella, A. R. Bellomo, M. O. Trinito, S. Salmaso and M. L. Ricci. Legionnaires' disease outbreak in Rome, Italy. *Epidemiol. Infect.* (2005), 133, 853–859.
- 64.- Savina Ditommaso, Monica Giacomuzzi, Susan R Arauco Rivera, Roberto Raso, Pierangela Ferrero and Carla M Zotti. Virulence of Legionella pneumophila strains isolated from hospital water system and healthcare-associated Legionnaires' disease in Northern Italy between 2004 and 2009. *BMC Infectious Diseases* 2014, 14:483.
- 65.- Giuseppe D'Auria, Núria Jiménez, Francesc Peris-Bondia, Carmen Pelaz, Amparo Latorre and Andrés Moya. Virulence factor rtx in Legionella pneumophila, evidence suggesting it is a modular multifunctional protein. *BMC Genomics* 2008, 9:14.
- 66.- Demirjian A, Lucas CE, Garrison LE, Kozak-Muiznieks NA, States S, Brown EW, Wortham JM, Beaudoin A, Casey ML, Marriott C, Ludwig AM, Sonel AF, Muder RR, Hicks LA. The importance of clinical surveillance in detecting legionnaires' disease outbreaks: a large outbreak in a hospital with a Legionella disinfection system-Pennsylvania, 2011-2012. *Clin Infect Dis.* 2015 Jun 1;60(11):1596-602.
- 67.- Gomez-Valero L, Rusniok C, Rolando M et al, Comparative analyses of Legionella species identifies genetic features of strains causing Legionnaires' disease. *Genome Biology* 2014, 15:505.
- 68.- Khan MA, Knox N, Prashar A, Alexander D, Abdel-Nour M, et al. (2013) Comparative Genomics Reveal That Host-Innate Immune Responses Influence the Clinical Prevalence of Legionella pneumophila Serogroups. *PLoS ONE* 8(6): e67298.
- 69.- Sánchez-Busó L, Comas I, Jorques G, González-Candelas F. Recombination drives genome evolution in outbreak-related Legionella pneumophila isolates. *Nat Genet.* 2014 Nov;46(11):1205-11.
- 70.- Hubert Hilbi, Sophie Jarraud, Elizabeth Hartland, and Carmen Buchrieser. Update on Legionnaires' disease: pathogenesis, epidemiology, detection and control. *Mol Microbiol.* 2010 April ; 76(1): 1–11.
- 71.- Coscollá, Mireia, et al. "Mixed infection by Legionella pneumophila in outbreak patients." *International Journal of Medical Microbiology* 304.3 (2014): 307-313.
- 72.- Wewalka, G., et al. "Dual infections with different Legionella strains." *Clinical Microbiology and Infection* 20.1 (2014): O13-O19.
- 73.- The South Wales "Heads of the Valleys" Legionnaires Disease Outbreak 2010: Report of the Outbreak Control Team (Internet): <http://www.wales.nhs.uk/sitesplus/888/page/44350>
- 74.- Benkel, Denise H., et al. "Outbreak of Legionnaires' disease associated with a display whirlpool spa." *International Journal of Epidemiology* 29.6 (2000): 1092-1098.



- 75.- Hlady, W. Gary, et al. "Outbreak of Legionnaire's disease linked to a decorative fountain by molecular epidemiology." *American Journal of Epidemiology* 138.8 (1993): 555-562.
- 76.- Addiss, David G., et al. "Community-Acquired Legionnaires' disease Associated With a Cooling Tower: Evidence for Longer-Distance Transport of Legionella Pneumophila." *American Journal of Epidemiology* 130.3 (1989): 557-568.
- 77.- Keller, David W., et al. "Community outbreak of Legionnaires' disease: an investigation confirming the potential for cooling towers to transmit Legionella species." *Clinical infectious diseases* 22.2 (1996): 257-261.
- 78.- Sabria, M., et al. "A community outbreak of Legionnaires' disease: evidence of a cooling tower as the source." *Clinical Microbiology and Infection* 12.7 (2006): 642-647.
- 79.- Hunt, D_A, et al. "An outbreak of Legionnaires' disease in Gloucester." *Epidemiology and infection* 107.01 (1991): 133-141.
- 80.- O'Mahony, M. C., et al. "The Stafford outbreak of Legionnaires' disease." *Epidemiology and infection* 104.03 (1990): 361-380.
- 81.- Irons, J. F., et al. "The effect of a large Legionnaires' disease outbreak in Southwest Edinburgh on acute and critical care services." *Qjm* (2013): hct167.
- 82.- E. Mitchell, M. O'Mahony, J. M. Watson, D. Lynch, C. Joseph, C. Quigley, R. Aston, G. N. Constable, R. J. Farrand, S. Maxwell, D. N. Hutchinson, J. Craske and J. V. Lee. Two Outbreaks of Legionnaires' Disease in Bolton Health District. *Epidemiology and Infection* Vol. 104, No. 2 (Apr., 1990), pp. 159-170.
- 83.- J H Winter, A C McCartney, R J Fallon, A B Telfer, J K Drury, I J Reece, and M C Timbury. Rapid diagnosis of an outbreak of Legionnaires' disease at Glasgow Royal Infirmary. *Thorax*. 1987 Aug; 42(8): 596-599.
- 84.- Natalia A. Kozak-Muiznieks,^a Claressa E. Lucas,^a Ellen Brown,^a Tracy Pondo,^a Thomas H. Taylor, Jr.,^a Michael Frace,^b Diane Miskowski,^c and Jonas M. Winchel. Prevalence of Sequence Types among Clinical and Environmental Isolates of Legionella pneumophila Serogroup 1 in the United States from 1982 to 2012. *J Clin Microbiol*. 2014 Jan; 52(1): 201-211.
- 85.- Chen, Derrick J., et al. "Utility of PCR, culture, and antigen detection methods for diagnosis of legionellosis." *Journal of clinical microbiology* 53.11 (2015): 3474-3477.
- 86.- Bentham, R. H., and C. R. Broadbent. "A model for autumn outbreaks of Legionnaires' disease associated with cooling towers, linked to system operation and size." *Epidemiology and infection* 111.02 (1993): 287-295.
- 87.- Fisman, David N., et al. "It's not the heat, it's the humidity: wet weather increases legionellosis risk in the greater Philadelphia metropolitan area." *Journal of Infectious Diseases* 192.12 (2005): 2066-2073.



- 88.- M. R. Sala Ferré, C. Arias, J. M. Oliva, A. Pedrol, M. García, T. Pellicer, P. Roura, A. Domínguez. A community outbreak of Legionnaires' disease associated with a cooling tower in Vic and Gurb, Catalonia (Spain) in 2005. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* (2009) 28:153–159.
- 89.- C. Jericó Alba, X. Nogués Solán, M. J. Santos Martínez, M. Félez Flora, J. M. Garcés Jarque, M. Mariñosa Marré y X. Sanz Salvador. Brote epidémico de neumonía comunitaria por *Legionella pneumophila* en Barcelona: «el brote de la Barceloneta». Efecto del diagnóstico y tratamiento precoz. *Rev Clin Esp* 2004;204(2):70-4.
- 90.- Paul R McAdam, Charles W Vander Broek, Diane SJ Lindsay, Melissa J Ward, Mary F Hanson, Michael Gillies, Mick Watson, Joanne M Stevens, Giles F Edwards and J Ross Fitzgerald. Gene flow in environmental *Legionella pneumophila* leads to genetic and pathogenic heterogeneity within a Legionnaires' disease outbreak. *Genome Biology* 2014, 15:504.
- 91.- Rothman, K. J., Greenland, S., & Lash, T. L. (2008). *Modern Epidemiology*, 3rd Edition. Philadelphia, PA: Lippincott, Williams & Wilkins.
- 92.- David W. Hosmer, Jr., Stanley Lemeshow, Rodney X. Sturdivant (2013). *Applied Logistic Regression*, 3rd Edition. Wiley.
- 93.- David G. Kleinbaum, Lawrence L. Kupper, Hal Morgenstern (1982). *Epidemiologic Research Principles and Quantitative Methods*. John Wiley & Sons.
- 94.- David G. Kleinbaum, Mitchel Klein (2012). *Logistic Regression: A Self-Learning Text (Statistics for Biology and Health)* Third Edition. Springer
- 95.- StataCorp. 2015. *Stata Statistical Software: Release 14*. College Station, TX: StataCorp LP.
- 96.- IBM Corp. Released 2014. *IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0*. Armonk, NY: IBM Corp.



Castilla-La Mancha

Consejería de Sanidad
Dirección General de Salud Pública y Consumo
Avenida de Francia, 4 - 45071 Toledo

Brote de legionelosis en Manzanares (Ciudad Real)

Anexos

Anexo I.- Protocolo de Actuaciones en Instalaciones de Riesgo frente a Legionella en el contexto del Brote de Manzanares (Ciudad Real)

1. Se procederá a la toma de muestras en las instalaciones de riesgo acordadas por la Comisión de seguimiento del brote.
2. Tipo de muestras a tomar:
 - ❖ Se tomarán muestras iniciales por duplicado para la realización de screening y de cultivo.
 - ❖ El contenido de las muestras será de:
 - i. Agua, preferentemente con sedimentos.
 - ii. Raspado de superficies (evitar raspados con instrumentos metálicos).
3. Las muestras se trasladarán a la mayor brevedad posible al Laboratorio.
4. Los métodos de análisis serán:
 - i. Screening: Técnica rápida de separación inmunomagnética.
 - ii. Cultivo
5. Actuaciones previas al análisis:
 - ❖ Se procederá a la suspensión del funcionamiento de la instalación hasta la evidencia de los resultados analíticos.
6. Actuaciones posteriores a los análisis:
 - Si el resultado de screening es negativo, la instalación no podrá funcionar hasta conocer el resultado de cultivo.
 - Si el resultado de screening es positivo, se procederá según se indica a continuación:
 - ❖ La instalación se cerrará cautelarmente por Resolución de la Dirección Provincial de Sanidad.
 - ❖ Se realizará una inspección “in situ” en las 24 horas siguientes al conocimiento del resultado analítico y se ordenará tratamiento de Limpieza y Desinfección de la instalación al titular de la misma.
 - ❖ Trascurridos 3 días desde la limpieza y desinfección, se realizará una nueva inspección “in situ” para la comprobación de la existencia del certificado de limpieza y desinfección. Se procederá a nueva toma de muestras para análisis por método de screening, que se remitirá al Laboratorio del ICS. Con independencia del resultado, la instalación se mantendrá cerrada hasta el resultado del cultivo.

- Si el resultado del screening es positivo, se continúa con el cierre cautelar. Se comunicará al titular para que proceda a realizar limpieza y desinfección de la instalación. Se repetirá el proceso y se girará nueva visita de inspección pasados 3 días (aproximadamente una semana desde el inicio) donde se procederá a comprobar el certificado de limpieza y desinfección y una nueva toma de muestras para análisis de screening que se remitirá al Laboratorio del ICS.
 - Si el resultado del screening es negativo, se esperará al resultado del cultivo.
- ❖ A los 15 días se girará visita de inspección “in situ” y se tomará muestra para análisis de screening, que se remitirá al Laboratorio de Talavera de la Reina. Si el resultado es POSITIVO se esperará al resultado del cultivo y la instalación permanecerá en CIERRE CAUTELAR.

Observaciones:

1. En cualquier momento, la Comisión de seguimiento podrá ordenar la toma de muestras para su remisión al Laboratorio que se designe.
2. Ante posible disparidad de resultados entre laboratorios, se considera vinculante el resultado positivo.
3. Se podrá elaborar y ejecutar un protocolo especial para aquellas instalaciones que se consideren que tienen un riesgo elevado o especial.
4. Se entiende que tras la Limpieza y Desinfección realizadas con un resultado de screening positivo y mientras no se obtenga un resultado de cultivo, la instalación sigue en una situación de monitorización realizando inspecciones al 3º día tras la limpieza y desinfección, a los siete días de la visita de comprobación de la existencia del Certificado de Limpieza y Desinfección y al 15 día de la misma, periodo en que el cultivo de la muestra inicial estará disponible, en su caso.
5. Esta monitorización se realizará siempre que el resultado analítico del screening inicial haya sido positivo, aunque las muestras subsiguientes sean negativas, y siempre se esperará al resultado del cultivo de la muestra inicial.
6. **Toda instalación sometida a este protocolo requiere un tratamiento de Limpieza y Desinfección para su reinicio o puesta en funcionamiento.**
7. Los Inspectores Oficiales de Salud Pública elaborarán un informe donde se especifiquen las condiciones de las instalaciones y actuaciones realizadas, que será remitido a la Comisión de seguimiento del brote.

Anexo II.- Protocolo de Vigilancia de Legionelosis

DESCRIPCIÓN DE LA ENFERMEDAD

Introducción

La Legionelosis es una enfermedad de origen ambiental. Fue identificada por primera vez en 1976 tras el estudio de un brote de neumonía en Filadelfia.

La introducción en la década de los años noventa de pruebas rápidas de diagnóstico, como la prueba de detección del antígeno de este microorganismo en orina, ha contribuido al aumento de la incidencia observado en los países desarrollados.

El término genérico de legionelosis se utiliza para describir las distintas formas de presentación de la enfermedad:

- La fiebre de Pontiac es la **forma no neumónica** que cursa de manera leve y autolimitada, el paciente se recupera en 2 a 5 días de manera espontánea.
- La **forma más grave, la neumónica**, tiene una evolución rápida y potencialmente fatal si no se instaura el tratamiento adecuado.

Legionelosis es una enfermedad de distribución mundial, aunque es en los países desarrollados donde presenta una mayor incidencia y constituye un problema de salud pública.

La enfermedad puede presentarse en forma de casos esporádicos u originar brotes de distinta magnitud dependiendo de la fuente de infección.

Los brotes producidos por torres de refrigeración son los que mayor impacto tienen en la población debido a la gran dispersión que pueden tener los aerosoles que producen.

Otros brotes se restringen a establecimientos y lugares cerrados como hospitales, hoteles, barcos, etc.

La enfermedad tiene una presentación estacional y los casos se producen con **mayor frecuencia a finales de verano y en otoño.**

Agente

La enfermedad está causada por la bacteria ***Legionella***, que es un **Bacilo Gram Negativo** del que se conocen 50 especies y 70 serogrupos aunque se continúan describiendo nuevas especies.

Legionella pneumophila comprende 16 serogrupos, siendo el **serogrupo 1** el que aparece como patógeno principal para el hombre al causar alrededor del **70-90% de las infecciones.**

Otras especies que se han identificado como causa de enfermedad en el hombre son: *L. longbeachae*, *L. micdadei*, *L. bozemanii* y *L. dumoffii*.

Reservorio

Legionella se encuentra en bajas concentraciones en las aguas superficiales de ríos y lagos e infecta a una gran variedad de especies de amebas y protozoos, tanto en medios acuáticos naturales como en los creados por el hombre. Es capaz de sobrevivir en un amplio rango de condiciones físico-químicas.

La bacteria pasa desde estos reservorios naturales a los sistemas de abastecimiento de agua de las ciudades y se incorpora a las instalaciones de agua doméstica u otras instalaciones que requieren la utilización de agua para su funcionamiento.

Las condiciones de estancamiento del agua, la presencia de limo, sedimentos, desechos de corrosión junto con la existencia de *biofilms* y las temperaturas entre 25° y 45° juegan un importante papel en la persistencia de la bacteria y le aportan las condiciones favorables para su crecimiento y multiplicación.

Las bacterias se dispersan al exterior del sistema colonizado cuando existan mecanismos productores de aerosoles (duchas, baños con movimiento de agua, sistemas de riego, torres de refrigeración, etc.).

Modo de Transmisión

Es por vía aérea mediante la inhalación de aerosoles contaminados con la bacteria.

También se ha descrito la microaspiración de agua contaminada con la bacteria, aunque es muy poco frecuente y se da en pacientes hospitalizados.

Período de Incubación

Es de **2 a 10 días**. En algunos brotes se han descrito casos con periodos de incubación de hasta 14 días.

En los casos de fiebre de Pontiac el periodo de incubación es de 5 a 66 horas (mayor frecuencia de 24 a 48 horas).

Susceptibilidad

El **desarrollo de la enfermedad va a depender** de la cantidad de **inoculo de la bacteria** que llega a los alvéolos pulmonares del paciente, de **la susceptibilidad** de éste y **de factores de patogenicidad y virulencia de la bacteria**, en general, poco conocidos.

La **susceptibilidad individual** y los factores de riesgo que favorecen la infección por *Legionella* son aquellos que favorecen **alteraciones de la vía respiratoria** (ser fumador, padecer una enfermedad pulmonar crónica, etc.) por una parte, **y la afectación de la inmunidad celular** por otra, ya sea por enfermedades o tratamientos que causan inmunodepresión.

VIGILANCIA DE LA ENFERMEDAD

Objetivos

- 1) Conocer y describir el patrón de presentación de legionelosis en la población.
- 2) Detectar precozmente casos y agregaciones de casos para controlar la difusión de la enfermedad, establecer medidas de prevención y evitar brotes.
- 3) Contribuir a la identificación de las fuentes de infección para orientar las medidas de control.

Definición de Caso

I.- Criterio Clínico

- a) **Legionelosis:** enfermedad respiratoria aguda con signos focales e **imágenes radiológicas compatibles con neumonía.**
 - Otros síntomas y signos son:
 - Cefalea
 - Mialgias
 - Diarrea y
 - Vómitos
 - La mitad de los pacientes pueden presentar **confusión mental** y delirio.
- b) **Fiebre de Pontiac:** síndrome febril agudo autolimitado sin neumonía.

II.- Criterio de Laboratorio

- a) **Caso Confirmado**
 - Aislamiento de cualquier especie o serogrupo (SG) de *Legionella* a a partir de secreciones respiratorias, tejido pulmonar o sangre.
 - Detección de antígeno *L. pneumophila* en orina por inmunocromatografía o ELISA.
 - Seroconversión (aumento del título de anticuerpos en cuatro veces o más) con un segundo título mínimo de 128 frente a *L. pneumophila* SG1 por inmunofluorescencia indirecta, en sueros tomados en la fase aguda y convaleciente de la enfermedad.
- b) **Caso Probable**
 - Detección de antígeno específico de *L. pneumophila* en secreciones respiratorias o tejido pulmonar, por inmunofluorescencia directa usando reactivos monoclonales

frente a cualquier especie o serogrupo de *Legionella*, incluido el SG1.

- Detección de ácido nucleico de *Legionella* spp en secreciones respiratorias, tejido pulmonar u otras muestras normalmente estériles.
- Seroconversión (aumento del título de anticuerpos en cuatro veces o más) con un segundo título mínimo de 128 frente a cualquier especie o serogrupo de *Legionella* distinto de *L. pneumophila* SG1, por inmunofluorescencia indirecta, en sueros tomados en la fase aguda y convaleciente de la enfermedad.
- Título único de anticuerpos elevado (≥ 256) frente a *L. pneumophila* SG 1.

III.- Criterio Epidemiológico

- Pacientes que presentan sintomatología compatible con legionelosis pero sin pruebas diagnósticas de laboratorio y que están relacionados con una fuente de infección que ha sido la causa de casos confirmados.
- El criterio de relación epidemiológica se tendrá en cuenta en el estudio de brotes.

Clasificación de los Casos

1) **Caso Sospechoso:**

- **No Procede**

2) **Caso Probable:**

- **Persona que cumple con los criterios clínicos junto con, al menos, un resultado positivo en las pruebas de laboratorio que definen caso probable o si tienen una relación epidemiológica, especialmente cuando el caso se estudie en el contexto de un brote.**

3) **Caso Confirmado:**

- **Compatible con la definición clínica de caso y con al menos un resultado positivo en alguna de las pruebas de laboratorio consideradas de confirmación.**

Otras Definiciones para la Investigación Epidemiológica

➤ **Caso Esporádico:**

- Paciente que no tiene relación epidemiológica con ningún otro caso.

➤ **Agregación de Casos:**

- Dos o más casos ocurridos en un intervalo de tiempo superior a un mes e inferior a 6 meses, en personas que hayan frecuentado un mismo lugar en los 2 a 10 días anteriores a la fecha de primeros síntomas.

- Además, hay que considerar dos situaciones especiales, los casos asociados a viajes y los casos que reciben tratamiento o atención en instituciones sanitarias u otras residencias o centros de larga estancia (residencias de la tercera edad, etc.).
- **Casos Asociados a Viajes:**
 - Son pacientes que han pasado una o más noches en alojamientos fuera de su residencia habitual, en los 2-10 días antes del comienzo de los síntomas de la enfermedad.
- **Agregación de Casos Asociados a Viajes (“cluster”):**
 - Dos o más casos que residieron o visitaron el mismo alojamiento en los 2-10 días anteriores al comienzo de los síntomas y en un plazo de dos años. Este plazo de tiempo se establece sólo para la vigilancia de los casos asociados a viajar.
- **Casos Nosocomiales**
 - a) **Sospecha de caso nosocomial:** paciente con clínica compatible y confirmado por laboratorio que ha estado ingresado, al menos un día, de entre los 2 a 10 días anteriores a la fecha de inicio de los síntomas en un establecimiento hospitalario en el que no se han hallado más casos de legionelosis ni se halla evidencia microbiológica en el estudio de las muestras ambientales del hospital.
 - b) **Caso nosocomial probable:** paciente con clínica compatible y confirmado por laboratorio que ha pasado, al menos un día, de entre los 2 a 10 días anteriores a la fecha de inicio de los síntomas en un establecimiento hospitalario y además en el hospital ha habido otros casos próximos en el tiempo.
 - c) **Caso nosocomial confirmado:** paciente con clínica compatible y confirmado por laboratorio que ha pasado el periodo de incubación en un establecimiento hospitalario o cuando se ha obtenido del paciente un aislado indistinguible por técnicas de tipado de las cepas aisladas en el sistema de agua del hospital en el periodo de tiempo en el que se diagnosticó el caso.

Definición de Brote

- a) **Brote Comunitario:**
 - Dos o más casos ocurridos en un intervalo de tiempo igual o inferior a un mes, en personas que hayan frecuentado un mismo lugar en los 2 a 10 días anteriores a la fecha de primeros síntomas.
- b) **Brote Nosocomial:**
 - Dos o más casos confirmados ocurridos en personas ingresadas en el mismo hospital en los 2 a 10 días anteriores a la fecha de los primeros síntomas y cuando se sospecha de una fuente común de exposición.

MODO DE VIGILANCIA

De acuerdo con el Decreto 51/1997 de 29 de abril de la Red de Vigilancia Epidemiológica de Castilla-La Mancha, la legionelosis es una enfermedad de declaración obligatoria de periodicidad semanal con datos individualizados. Por lo tanto, todos los médicos en ejercicio están obligados a declarar casos sospechosos de legionelosis diagnosticados en su práctica clínica habitual.

En los hospitales, la declaración se hará por medio del Servicio de Medicina Preventiva, en su defecto, por la Dirección Médica del Hospital.

En Castilla-La Mancha, las declaraciones de casos de legionelosis se comunicarán a las Secciones de Epidemiología correspondientes. Estas, a su vez, los declararán al Servicio de Epidemiología de la Dirección General de Salud Pública y Consumo.

Tras la declaración inicial del caso, una vez constatado que se trata de un caso sospechoso, completarán el cuestionario de caso y lo remitirán al Servicio de Epidemiología. Los casos se grabarán en el Sistema de Información y Vigilancia Epidemiológica (SIVE) de Castilla-La Mancha.

En caso de brote se seguirá el procedimiento establecido en el Decreto 51/1997 de 29 de abril de la Red de Vigilancia Epidemiológica de Castilla-La Mancha (artículos 13 a 16). En el contexto de un brote de legionelosis la declaración pasará a ser de carácter urgente. El Hospital establecerá los mecanismos necesarios para que la declaración urgente se mantenga en fines de semana o días festivos.

El Servicio de Epidemiología de la Dirección General de Salud Pública de Castilla-La Mancha notificará de forma individualizada los casos probables y confirmados al CNE a través de la RENAVE y enviará la información de la encuesta epidemiológica de declaración del caso que se anexa con una periodicidad semanal. La información del caso podrá actualizarse después de la declaración inicial y se hará una consolidación anual de la información.

En caso de brote el Servicio de Vigilancia de Castilla-La Mancha enviará el informe final del brote al CNE en un periodo de tiempo no superior a tres meses después de que haya finalizado su investigación. Además, se enviarán las encuestas epidemiológicas de los casos implicados al CNE.

Se informará al CNE, tan pronto como se conozcan, los brotes en los que haya afectados que residan en otras comunidades autónomas o países. El CNE se encargará de comunicarlo al CCAES y a la Red Europea de Vigilancia de Legionelosis (ELDSNet).

Cuando la magnitud del brote o el patrón de difusión requieran medidas de coordinación nacional, el Servicio de Vigilancia de Castilla-La Mancha informará de forma urgente al CCAES y al CNE. El CCAES valorará junto con las CCAA afectadas las medidas a tomar y, si fuera necesario, su notificación al Sistema de Alerta y Respuesta Rápida de la Unión Europea y a la OMS de acuerdo con el Reglamento Sanitario Internacional (2005).

El Servicio de Vigilancia de Castilla-La Mancha notificará al CNE los casos de legionelosis asociados a viajes. La notificación se hará una vez recogida la información de las fechas (de inicio de síntomas, y las relacionadas con la estancia en el alojamiento), el nombre de los hoteles, campings, balnearios, barcos, así como la exposición a otros factores de riesgo relacionados con la enfermedad durante el viaje. El CNE notificará estos casos a la Red Europea de Vigilancia de Legionelosis (ELDSNet).

El ECDC coordina en Europa la vigilancia de casos de legionelosis asociados a viajes (ELDSNet).



La declaración al ECDC de los casos asociados a viajes tiene como objetivo detectar agregaciones de casos de legionelosis en viajeros de distintas nacionalidades y que se relacionan con un mismo alojamiento turístico, y adoptar las medidas de control en los alojamientos implicados para prevenir nuevos casos.

Los países de la Unión Europea deben notificar al ECDC los casos de legionelosis con antecedente de haber viajado durante el periodo de incubación de la enfermedad, tanto en el país de residencia del caso como en otros países. El CNE será el encargado de notificar los casos españoles asociados a viajes y, a su vez, comunicará a las autoridades autonómicas los casos asociados a viajes en España y declarados por otros países.

Ante la identificación de un alojamiento asociado a más de dos casos en un periodo de dos años (agregación de casos) se realizará una evaluación del riesgo del establecimiento y se instaurarán las medidas correctoras que permitan continuar con la actividad sin riesgo para los usuarios. Los resultados de las evaluaciones de riesgo y de las medidas de control adoptadas se comunicarán al ECDC usando los formularios A y B (ver anexos).

MEDIDAS DE SALUD PÚBLICA

Medidas Preventivas

Los esfuerzos para prevenir la enfermedad se dirigen a controlar la colonización, multiplicación y dispersión de *Legionella* en las instalaciones de riesgo. La evaluación del riesgo y el correcto mantenimiento de las instalaciones son los elementos fundamentales para controlar la multiplicación de la bacteria.

Al ser esta una enfermedad de origen ambiental, las medidas preventivas se basan en el buen diseño y en el mantenimiento adecuado de las instalaciones que utilizan agua. La legislación vigente (Real Decreto 865/2003) señala la importancia de evitar la entrada de *Legionella* a la instalación, evitar su multiplicación en el interior de la misma, impidiendo y controlando las condiciones que favorecen su multiplicación (temperatura y suciedad), y finalmente evitar su aerosolización, controlando la generación y el vertido de aerosoles.

Entre las potenciales fuentes de infección se encuentran:

- Torres de refrigeración y condensadores evaporativos.
- Sistemas de agua caliente y fría sanitaria con acumulador y circuito de retorno.
- Sistemas de agua climatizada con agitación constante y recirculación a través de chorros de alta velocidad o la inyección de aire (spas, jacuzzis, piscinas, vasos o bañeras terapéuticas, bañeras de hidromasaje, tratamientos con chorros a presión, etc.).
- Fuentes ornamentales
- Sistemas de riego por aspersión.
- Humectadores.
- Instalaciones de terapia respiratoria.
- Otros aparatos que acumulen agua y puedan producir aerosoles.
- Trabajos de jardinería y manejo de compostaje o tierra vegetal.

Medidas ante un Caso

La instauración, lo antes posible, de tratamiento específico a los pacientes es crucial para disminuir la letalidad de la enfermedad.

La realización de la encuesta epidemiológica permitirá recoger información relacionada con la exposición del paciente.

Entre los antecedentes epidemiológicos relevantes están: desempeño de un trabajo o actividad profesional que pueda ser de riesgo, viajes, antecedente de ingreso en hospitales o residir en centros de atención de larga estancia como residencias geriátricas u otras instituciones similares, y, en general, se la encuesta recoge la exposición a las fuentes infección más frecuentes.

Cuando se sospeche que el caso pueda estar asociado con un establecimiento público, las autoridades de salud pública, de acuerdo con la legislación en sus territorios y el riesgo potencial para los usuarios o residentes en el establecimiento, valorarán el grado de la intervención y la adopción de medidas de control.

Estas medidas podrán establecerse con una gradación que irá desde el refuerzo de la vigilancia a la realización de la evaluación del riesgo e investigación ambiental de la instalación.

Siempre que sea posible se realizará toma de muestras para aislamiento de *Legionella*.

Cuando se trate de un caso con antecedentes de haber viajado durante el periodo de incubación de la enfermedad, además de cumplir con los procedimientos de notificación ya mencionados, las autoridades de Salud Pública informarán al responsable del alojamiento o alojamientos utilizados por el paciente, del posible riesgo de la instalación y actuarán de acuerdo con la legislación vigente en la comunidad autónoma. Como mínimo, le enviarán la información relativa a las buenas prácticas para el mantenimiento de la instalación.

Medidas Ante un Brote

La investigación de los brotes de legionelosis se orienta a la identificación de la fuente de infección ambiental. El objetivo es la interrupción de la emisión de *Legionella* y evitar nuevos casos.

La investigación debe comenzar lo más rápidamente posible, y debe de incluir el estudio epidemiológico, ambiental y microbiológico.

La investigación debe iniciarse con la realización de un estudio descriptivo que incluirá información epidemiológica (análisis de la presentación de las variables de persona lugar y tiempo).

Los resultados del estudio descriptivo inicial guiarán el estudio ambiental, que incluirá necesariamente la inspección de las instalaciones y la toma de muestras de agua para detección de *Legionella*.

El uso de sistemas de información geográfica (GIS) puede resultar de utilidad para facilitar el análisis de la agregación espacial de los casos en los brotes comunitarios.

A partir de los resultados descriptivos se elaborarán hipótesis sobre las fuentes de infección y se valorará la posibilidad de realizar estudios epidemiológicos analíticos para probarlas. Sin embargo, estos estudios analíticos pueden ser innecesarios si se dispone de un estudio descriptivo consistente junto con resultados de la investigación ambiental y microbiológica.

El estudio microbiológico debe orientarse a la confirmación de la enfermedad en los pacientes, y a obtener el mayor número posible de muestras clínicas para aislamiento de la bacteria. Esto permitirá definir el agente causal del brote. Además, la comparación de los cultivos de los pacientes con los recuperados en la investigación ambiental, mediante métodos de tipificación genética, ayudará a establecer la relación epidemiológica entre los casos y las instalaciones. En caso necesario, el Centro Nacional de Microbiología actuará como laboratorio de referencia.

Se debe de disponer de un censo de las instalaciones como torres de refrigeración y de los dispositivos similares que emiten aerosoles y de su ubicación en el territorio.



Las autoridades de salud pública, de acuerdo con la legislación en sus territorios y el riesgo potencial para la población afectada, valorarán el grado de la intervención y la adopción de medidas de control. Estas medidas podrán establecerse con una gradación, en función de la situación del brote en cada momento, que irá desde el refuerzo de la vigilancia de los casos, a la realización de inspecciones sanitarias en las instalaciones, o el cierre cautelar de las mismas, como se recoge en el Real Decreto 865/2003.

Las instalaciones que se asocian a un brote de legionelosis deben ser sometidas a una vigilancia especial y continuada, como recoge el Real Decreto 865/2003.

BIBLIOGRAFÍA

1. Reglamento (CE) N.º 851/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 21 de abril de 2004 por el que se crea un Centro Europeo para la prevención y control de las enfermedades. *Diario Oficial de la Unión Europea*, 2004, L 142, 30/4/2004.
2. Decisión de la Comisión 2008/426/CE de 28 de abril de 2008 que modifica la Decisión 2002/253/CE, por la que se establecen las definiciones de los casos para comunicar las enfermedades transmisibles a la red comunitaria, de conformidad con la Decisión 2119/98/CE del Parlamento Europeo y del Consejo.
3. World Health Organisation. *Legionella and the prevention of legionellosis*, Bartram, J., Chartier, Y., Lee, J.V., Pond, K., Surman-Lee, S. (eds), 2006.
4. Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades. European Working Group for *Legionella* Infections. *European Guidelines for Control and Prevention of Travel Associated Legionnaires' Disease*. Disponible en:
<http://www.ecdc.europa.eu/en/healthtopics/Pages/Legionellosis.aspx>
5. Ministerio de Sanidad y Consumo. 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.

Anexo III.- Cuestionario Epidemiológica de Legionelosis

Datos del Paciente

Código de Caso: _____ Año Epidemiológico: _____ Semana: _____

Primer Apellido: _____ Segundo Apellido: _____

Nombre: _____ Fecha de Nacimiento: ____-____-____

Edad (Años): _____ Sexo: Hombre Mujer CIP: _____

Domicilio: _____ Teléfono: _____

Municipio: _____ Provincia: _____

País de Nacimiento: _____ Año de Llegada a España: _____

Ocupación: _____ Centro de Estudio/Trabajo: _____

Datos de la Enfermedad

Fecha de Inicio de Síntomas: __ - __ - ____

Manifestaciones Clínicas

	Sí	No	NC
Fiebre	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Neumonía	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Cefalea	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Mialgias	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Diarrea/Vómitos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Confusión	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Otros Síntomas: Citar: _____

Complicaciones: Citar: _____

Hospitalizado Sí No Fecha de Ingreso Hospitalario: __ - __ - ____

Hospital: _____ Servicio: _____ Número Historia: _____

Municipio del Hospital: _____ Provincia del Hospital: _____

Tratamiento: _____

Evolución Curación: Fallecimiento: Fecha Alta/Defunción: __ - __ - ____



Datos de Laboratorio

Toma de Muestras: Sí No

Fecha de Toma de Muestras: __/__/____

Muestra	Sí	No	NC	Fecha Muestra	Resultado	Fecha Dtco.
Orina:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	__ - __ - ____	_____	__ - __ - ____
Suero (1):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	__ - __ - ____	_____	__ - __ - ____
Suero (2):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	__ - __ - ____	_____	__ - __ - ____
Espuito:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	__ - __ - ____	_____	__ - __ - ____
Broncoaspirado:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	__ - __ - ____	_____	__ - __ - ____
Necropsia Pulmón:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	__ - __ - ____	_____	__ - __ - ____

Envío de Muestras al CNM: Sí No

Fecha de Envío: __ - __ - ____

Número de Muestra del CNM: _____

Fecha de Resultado: __ - __ - ____

Prueba Positiva:

Aislamiento:

Título Único Alto:

Detección Antígeno:

Detección de Ácido Nucleico (PCR):

Seroconversión:

L. Pneumophila SG 1: Sí No Otra Especie/Serogrupo: Sí No

Agente Causal:

Legionella Pneumophila: Sí No Legionella spp. Sí No

Otra Especie: Sí No Citar: _____

Serogrupo Legionella Pneumophila: _____

Subgrupo Legionella Pneumophila: _____

Genotipo: _____

Datos del Riesgo

Ocupación de Riesgo:

Agricultor: Construcción: Fontanero Conductor:

Limpieza/Mantenimiento Trabaja con Agua o Agua a Presión:

Factores Predisponentes Personales:

Fumador: Ex Fumador: EPOC: Diabetes:

Hemopatía/Cáncer: Corticoterapia: Otro Tto. Inmunosupresor:

Otro Factor Riesgo: Citar: _____

Exposición Principal: _____

Muestra Ambiental Positiva: _____

Ámbito de Exposición: _____

Resultado Muestra Ambiental Igual al del Caso Sí: No: NC:

Tipo de Confirmación de la Fuente de Infección:

Epidemiológica: Laboratorio: Epidemiológica y Laboratorio:

Viaje Durante el Periodo de Incubación: Sí: No: NC:

Datos del Viaje	Viaje 1	Viaje 2	Viaje 3	Viaje 4
País				
Provincia				
Municipio				
Tipo Alojamiento				
Nombre Alojamiento				
Identificador Alojamiento				
Número Habitación				
Fecha Entrada				
Fecha Salida				
Fecha Inspección				
Resultado Inspección				

Categorización del Caso

Clasificación del Caso: Sospechoso: Probable: Confirmado:

Categoría Diagnóstica: Enfermedad del Legionario: Fiebre de Pontiac:

Criterios de Clasificación del Caso:

Clínico: Epidemiológico: Laboratorio:

Asociación: Esporádico: Hotel: Cluster: Brote:



Asignación del Caso:

Importado: Sí No NC País: _____
Municipio: _____ Provincia: _____
Id. Brote: _____ CCAA/País que Declara el Caso/Brote: _____

Otros Datos de Interés

Otros Datos de Interés: _____

Medidas de Control

Inspección: Sí: No: NC: Fecha Inspección: _ _ - _ - _
Inspector: _____ Centro de Trabajo: _____
Medidas de Control Sí: No: NC: Fecha Medidas Control: _ / _ / _ _

Tipo de Medidas:

Limpieza y Desinfección de la Instalación:
Tratamiento Térmico de la Instalación:
Cambios estructurales y Arreglos en la Instalación:
Cierre del Local o Instalación de Riesgo:
No Realizado:

Resultado de las Medidas de Control:

Insuficientes: Suficientes: No Consta:
Fichero Adjunto: Sí: No: NC:

Datos de la Declaración

Fecha Declaración del Caso _ _ - _ - _ Sección Responsable del Caso: _____
Médico Declara Caso: _____ Centro Trabajo: _____
Municipio _____ Provincia: _____ Teléfono: _____

Observaciones

Observaciones: _____

Anexo IV.- Protocolo de Actuaciones en Brotes Comunitarios de Legionelosis

Introducción

En la investigación de un brote es esencial encontrar la respuesta correcta con la mayor rapidez posible.

Para satisfacer ambos requerimientos, la investigación se debe enfocar sistemáticamente, aplicando los 10 pasos siguientes:

- I.** Establecer la existencia de un brote
- II.** Prepararse para el trabajo de campo
- III.** Verificar el diagnóstico
- IV.** Definir e Identificar los casos
- V.** Describir y Orientar los Datos en términos de Tiempo, Lugar, y Persona
- VI.** Formular Hipótesis
- VII.** Evaluar las Hipótesis
- VIII.** Refinar las Hipótesis y Efectuar Estudios Adicionales
- IX.** Aplicar Medidas de Prevención y Control
- X.** Comunicar los Hallazgos

Los pasos se han puesto de manifiesto aquí en un orden conceptual. En la práctica, sin embargo, algunos pueden hacerse a la vez, o pueden hacerse en un orden diferente. Por ejemplo, las medidas de control deberían aplicarse tan pronto como se conozcan la fuente y el modo de transmisión, que puede ser al principio o al final en cualquier investigación particular de un brote.

I. - Establecer la Existencia del Brote

a) Definición de Brote Comunitario:

- Aparición de 2 o más casos confirmados de legionelosis siempre que estén **asociados** epidemiológicamente y se sospecha una fuente común.

b) Cluster Comunitario

- Aparición de 2 o más casos confirmados de legionelosis siempre que estén **asociados** en el espacio y en el tiempo sin que se sospeche una fuente común.

c) Caso Confirmado

- De acuerdo con los protocolos de la Red de Vigilancia Epidemiológica y las circunstancias particulares de cada brote (persona, lugar y tiempo)

d) Asociación Epidemiológica

- Cuando entre dos casos confirmados haya transcurrido un periodo de tiempo inferior a dos veces el periodo de incubación de la enfermedad (2-10 días).

II.- Preparación del Trabajo de Campo

Antes de iniciar la investigación del brote se debe:

- 1.- Decidir la necesidad de emprender la investigación del brote
- 2.- Investigar la enfermedad (búsqueda bibliográfica)
- 3.- Consultar con todas las partes implicadas para determinar su papel en la investigación y constituir un **Comité de Seguimiento del Brote** que debe incluir personal de las siguientes dependencias:

a) Por parte de la Consejería de Sanidad:

- Dirección General de Salud Pública
 - Director General de Salud Pública
 - Epidemiología
 - Sanidad Ambiental
 - Laboratorio de Salud Pública
- Dirección Provincial de Sanidad

- Director Provincial de Sanidad
- Jefe de Servicio de Salud Pública
- Epidemiología.
- Sanidad Ambiental.
- Inspectores de Salud Pública

b) Por parte del Servicio de Salud:

- Dirección de Atención Especializada
- Dirección de Atención Primaria
- Dirección de la Gerencia de Atención Integrada
- Clínicos implicados en el brote:
 - Servicio de Medicina Preventiva
 - Servicio de Urgencias
 - Servicio de Microbiología
 - Atención Primaria
 - Otros Clínicos (Neumología / Infecciosas/UCI).

4.- Definir el papel asignado en el brote a cada uno de los participantes en el mismo

5.- Decidir la persona responsable del brote así como la que será portavoz del Comité ante la opinión pública y la Autoridad Sanitaria.

III.- Verificar el Diagnóstico

- Comprobar que los casos realmente son casos, su grado de confirmación y asociación con su estancia en la zona.

IV.- Definir e Identificar los Casos

a) Definir Casos:

- Establecer una definición de caso propia del brote en cuestión. Esta definición debe incluir, al menos, los siguientes apartados:
 - Signos y Síntomas
 - Fecha de Inicio de Síntomas
 - Resultados de Laboratorio

- Lugar de Exposición

b) Identificar Todos los Casos:

- Búsqueda retrospectiva
- Vigilancia activa

V) Describir y Orientar los Datos en Términos de Tiempo, Lugar, y Persona

- En el caso de un brote de legionelosis debe haber tres componentes en constante comunicación, coordinación y colaboración a lo largo de todo el proceso. Estos componentes son:

1) Investigación Epidemiológica

2) Investigación Medioambiental

3) Investigación Microbiológica

1) Diseño y Aplicación de Encuesta Epidemiológica

- La encuesta epidemiológica habrá de incluir preguntas relativas a los siguientes apartados:

a) Distribución Personal:

- El mismo / distinto sexo.
- Jóvenes / ancianos.
- Usuarios de un Servicio.
- Idéntica patología de base.

b) Distribución Espacial:

- Todos los casos en un barrio.
- Todos en el mismo edificio.
- Dispersos por toda la ciudad.
- Siguiendo distribución de agua o aire acondicionado.

c) Distribución Temporal:

- Identificación del Periodo de Exposición.

d) Antecedentes de Exposición a Instalaciones de Riesgo

- Residencia.

- Lugares de Trabajo
- Lugares de Ocio
- Lugares de Paseo.

2) Investigación Medioambiental

a) Identificación de Instalaciones de Riesgo en el Territorio Epidémico

- Torres de Refrigeración
- Condensadores Evaporativos
- Fuentes Ornamentales
- Riegos por Aspersión
- Nebulizadores
- Cualquier Instalación capaz de producir Aerosoles

b) Búsqueda de Instalaciones de Riesgo No Registradas

c) Inspección de todas las Instalaciones de Riesgo:

- Inspección visual de todas y cada una de las instalaciones de riesgo
- Revisión de la Documentación de la Empresa
- Revisión del Programa de Mantenimiento
- Origen y procedencia del agua
- Resultados Analíticos (al menos del último año)
- Operaciones de Limpieza y Desinfección (métodos/productos/fecha).
- **Evaluación del Riesgo**

d) Toma de Muestras:

- **Inicialmente:**
 - En puntos críticos
- **En una segunda fase:**
 - En los lugares sugeridos por las Encuestas Epidemiológica y Ambiental
- **La toma de muestras estará rigurosamente protocolizada**
- **Se mantendrá contacto permanente con el Laboratorio de Salud Pública**

e) Revisión de la Red de Distribución de Agua Potable

- Estructura y funcionamiento de la red de distribución de agua potable

- Averías y reparaciones efectuadas en el último año
- Revisión del nivel de cloración del agua potable en distintos puntos de la red (últimos meses al menos)

f) Aplicación Inicial de Medidas Cautelares:

- Limpieza y desinfección de instalaciones de riesgo
- Cierre cautelar de la instalación hasta que se compruebe fehacientemente que la instalación no genera ningún riesgo
- Inicio de expediente sancionador (cuando proceda)
- Mantener niveles elevados de cloro en agua potable de la red
- Controlar resto de parámetros físico-químicos del agua potable para garantizar la efectividad del cloro.

3) Investigación Microbiológica

- El objetivo esencial de la investigación microbiológica es identificar la cepa causante del brote.
- Para ello, el Servicio de Epidemiología mantendrá una relación permanente con los clínicos implicados en el brote y, especialmente, con los Servicios de Microbiología que reciban muestras del brote.
- Desde el principio del brote se establecerá el tipo y número de muestras que se deben tomar.
- El Servicio de Epidemiología coordinará con el laboratorio de referencia (CNM) y con los Servicios de Microbiología que reciban muestras del brote, el tipo y número de muestras que se enviarán al CNM.
- El Laboratorio de Salud Pública informará puntualmente al Servicio de Epidemiología sobre las muestras que se remitan al CNM.

VI) Formulación de Hipótesis

- Una vez completadas las encuestas epidemiológicas y medioambientales, y solo entonces, se formularán la/s correspondiente/s hipótesis.

VII) Evaluación de las Hipótesis

- Diseño y ejecución de estudios analíticos

VIII) Refinar las Hipótesis y Efectuar Estudios Adicionales

- Revisión de los resultados del estudio epidemiológico
- Diseño y ejecución de nuevos estudios epidemiológicos
- Diseño y ejecución de estudios meteorológicos

IX) Aplicar Medidas de Prevención y Control

a) Inicialmente:

- Control de Instalaciones de Riesgo
- Control de niveles de cloro en red de agua potable.
- Vigilancia activa de casos y encuesta a todos ellos

b) Posteriormente:

- En función de los resultados del estudio

c) Control de la Demanda Sanitaria

- Número diario de personas atendidas en atención primaria y especializada
- Número diario de pruebas diagnósticas
- Número diario de personas ingresadas
- Número diario de personas ingresadas en UCI
- Número diario camas disponibles
- Evolución de los casos

X) Comunicar los Hallazgos

- En el transcurso de la investigación de un brote, debe ser evaluada la necesidad de compartir la información con las instituciones, la prensa, el público, y la población afectada por el brote.
- Se elaborará un informe diario de la evolución del brote que incluirá los hallazgos y novedades más relevantes desde el punto de vista epidemiológico y ambiental.
- El informe se difundirá diariamente a todos los participantes en la investigación y control del brote.
- Aunque los informes de la prensa, la radio, y la televisión a veces pueden ser inadecuados, el conjunto de los medios de comunicación puede ser un poderoso medio de compartir con el público la información sobre una investigación y distribuir información adecuada sobre los resultados obtenidos.
- Se establecerán los cauces adecuados de participación y comunicación con la población afectada por el brote.
- Al finalizar el brote se debe elaborar un informe técnico con todos los aspectos de la investigación.

Tabla 2.- Actividades Más Importantes en la Investigación de Brotes Comunitarios de Legionelosis

- 1.- Notificación del Brote y Activación del Protocolo**
- 2.- Investigación Epidemiológica**
- 3.- Investigación Ambiental**
- 4.- Obtención y Proceso de Muestras Clínicas y Ambientales**
- 5.- Comité Técnico de Seguimiento**
- 6.- Comité de Expertos**
- 7.- Investigación Meteorológica**
- 8.- Organización y Gestión de la Comunicación**

Todas estas actividades deben iniciarse en las primeras 24-48 h.