

Implicaciones sanitarias de los protozoos como reservorio de *Legionella* spp.

**José Carlos Solana Morcillo. Elisa Millana Fañanás.
Daniel Rodríguez Martín.**

Facultad de Ciencias Biológicas. C/ José Antonio Novais, 12. Ciudad Universitaria. 28040 - Madrid
(Licenciatura en Biología, Universidad Complutense de Madrid)
josecarlosolana@gmail.com

Ana Martín González. María Teresa García Esteban.

Departamento de Microbiología III, Facultad de Ciencias Biológicas. C/ José Antonio Novais, 12. Ciudad
Universitaria. 28040 - Madrid.
anamarti@bio.ucm.es mgesteban@bio.ucm.es

Resumen: La legionelosis es una neumonía que se adquiere fundamentalmente en países desarrollados y surge en forma de brotes, tanto en la comunidad como en el ámbito nosocomial. Los focos habituales de exposición a la bacteria, como torres de refrigeración y otros sistemas de distribución de agua, son un lugar adecuado para el desarrollo de biofilms y de protozoos que actúan como reservorios naturales de *Legionella* spp. En el interior de estos microorganismos, la bacteria no sólo parece ser capaz de resistir y multiplicarse durante largos periodos de tiempo, sino que además, podría potenciar los factores de virulencia necesarios para la infección posterior de los macrófagos pulmonares. Las soluciones de ingeniería adoptadas hasta ahora para la distribución de aguas, así como los tratamientos de control y métodos de prevención actuales no sólo parecen ser poco eficaces para evitar la infección, sino que además podrían seleccionar aquellas cepas de *Legionella* spp. con mayor capacidad para parasitar protozoos y, como consecuencia, más virulentas para el ser humano.

Palabras clave: *Legionella*. Protozoos. Virulencia.

INTRODUCCIÓN

En el control de muchos brotes infecciosos de origen microbiano, es fundamental la eliminación del patógeno de la fuente ambiental. Esta tarea en muchos casos es difícil debido a la gran persistencia en el ambiente de determinados microorganismos, siendo *Legionella* spp. un buen ejemplo de ello. La legionelosis es una infección bacteriana propia de los países industrializados transmitida por la inhalación de aerosoles contaminados con *Legionella* spp. procedentes de duchas, torres de refrigeración y otros sistemas de distribución de agua potable⁽¹⁾. La enfermedad

presenta dos formas clínicas: “Enfermedad del legionario” (forma neumónica) y “Fiebre de Pontiac” (no neumónica). Si bien la Fiebre de Pontiac cursa como una gripe inespecífica sin relevancia clínica, la forma neumónica es causante de numerosos brotes en todo el mundo⁽²⁾. Estos brotes pueden ser comunitarios o nosocomiales⁽¹¹⁾. La tasa de incidencia de la forma neumónica en Europa es de 11,2 casos por cada millón de habitantes, siendo la mortalidad del 10.8%⁽¹²⁾. Los grupos de riesgo son personas de avanzada edad, enfermos con patologías pulmonares, inmunodeprimidos y fumadores⁽¹¹⁾, de ahí que la prevención y el control de los brotes nosocomiales cobre especial importancia.

Existen técnicas de identificación y tratamientos adecuados para combatir la infección de manera eficaz⁽³⁾. Sin embargo, periódicamente se producen brotes de legionelosis en países desarrollados, entre ellos España (último brote registrado: Calpe, diciembre 2011)⁽¹³⁾. Esto podría indicar que los tratamientos utilizados hasta ahora para la eliminación de *Legionella* spp. en las fuentes de infección y los medios de prevención son ineficaces⁽²⁾.

En 1980 Rowbotham describió por primera vez el crecimiento de *Legionella* spp. en el interior de protozoos como *Acanthamoeba* y *Naegleria*. A partir de entonces, numerosos estudios han confirmado que los protozoos de vida libre son los principales reservorios de este patógeno. Dichos reservorios se encuentran en los sistemas artificiales de agua, que constituyen los focos de infección⁽²⁾.

MATERIAL Y MÉTODOS

La detección de *Legionella* spp. en muestras ambientales se realiza, según la norma ISO 11731/98, por cultivo y aislamiento en medio BCYE⁽¹⁴⁾. Otros métodos son: EIA (BinaxNOW[®])⁽¹⁵⁾, ampliación e hibridación de dianas génicas (Legiofast[®]_{SPECIES})⁽¹⁶⁾ o la técnica ELISA⁽⁴⁾. Para detectar *Legionella* spp. en el interior de protozoos se utilizan técnicas de cocultivo⁽⁵⁾. La realización de ensayos de cinéticas de crecimiento de *Legionella* spp. son útiles para detectar el aumento en la proliferación y capacidad infectiva en presencia de hospedador⁽⁶⁾.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En un entorno tan pobre en nutrientes como son los depósitos y canalizaciones de agua, la supervivencia de *Legionella* spp. se relaciona especialmente con los biofilms, en los que puede permanecer libre o en el interior de otros microorganismos⁽⁷⁾.

Ubicuidad

Legionella spp. tiene como reservorio natural distintas especies de protozoos que se encuentran habitualmente en los sistemas de distribución de agua. Se ha descrito esta relación en al menos veinte especies de amebas, dos de ciliados y una de hongos mucilaginosos, pudiendo encontrarse distintos grados de relación interespecífica, desde intracelulares facultativas hasta obligadas como *Legionella drancourtii*⁽²⁾. Debido a su movilidad, los protozoos podrían incrementar, de manera muy notable, la distribución de *Legionella* spp. en ecosistemas naturales y artificiales.

Supervivencia y replicación intracelular

El mecanismo de entrada de la bacteria en estas amebas bacteriófagas se realiza por fagocitosis. A lo largo de la evolución, *Legionella* spp. ha sido capaz de desarrollar mecanismos que impiden la unión del lisosoma al fagosoma, evitando su digestión. El fagosoma se convierte en una vacuola parasitófora en la cual la bacteria es capaz de sobrevivir e incluso multiplicarse⁽²⁾. Como respuesta a la infección por *Legionella* spp. la ameba se enquistada, liberándose las vesículas parasitóforas con la bacteria en su interior. Una vez enquistada, la ameba es resistente a nuevas infecciones^(6, 8). Sin embargo, *Legionella* spp. es capaz de modificar la expresión de determinados genes, retrasando el mecanismo de enquistamiento⁽⁹⁾.

Cocultivos. Resucitación de bacterias viables no cultivables

Una paradoja que se presenta en los brotes de legionelosis es la escasa concentración de la bacteria que suele detectarse en el foco, aparentemente insuficiente para constituir dosis infectivas. La ecología de *Legionella* spp. haría pensar que los métodos tradicionales de cuantificación basados en el cultivo y la detección del microorganismo serían insuficientes, pues subestiman el número de bacterias que residen en el interior del protozoo⁽¹⁾.

Por otra parte, bajo ciertas condiciones de estrés ambiental, tanto naturales como artificiales, *Legionella* spp. puede presentarse en un estado viable no cultivable. Esto incrementa el número de falsos negativos obtenidos mediante el cultivo monoxénico. Para que la bacteria vuelva a un estado viable cultivable sería de gran utilidad el uso de cocultivos con amebas como *Acanthamoeba polyphaga* y *A. castellanii*^(6, 1, 8).

Resistencia

El nicho intracelular otorga a *Legionella* spp. una mayor resistencia a diversos agentes biocidas: polihexametileno, biguanidina, benzisotiozolona, cloro⁽⁶⁾, tratamientos térmicos⁽¹⁾, tratamientos físicos como la presión⁽²⁾, luz ultravioleta⁽⁶⁾ y metales como plata y cobre⁽²⁾. En el caso concreto del cloro, se ha demostrado que la ameba también ve incrementada su resistencia a dicho elemento⁽⁶⁾, así como las

vacuolas parasitóforas liberadas por ella, que parecen tener un papel principal en la transmisión de la enfermedad^(1, 6, 10).

Incremento de la patogenicidad

Tras la salida de *Legionella* spp. en las vesículas parasitóforas, la bacteria podría haber incrementado su patogenicidad^(2, 8). Una posible explicación sería la gran similitud en la respuesta que presentan las células amebianas y los macrófagos pulmonares frente a la infección⁽²⁾. Además, en estos macrófagos se han encontrado células de *Legionella* spp. que se rodean de antígenos de *Acanthamoeba polyphaga*, lo cual conferiría una cierta protección frente a las defensas celulares, escondiendo a la bacteria del sistema inmune y retrasando su detección⁽²⁾.

CONCLUSIONES

El tratamiento clínico de *Legionella* spp. debería complementarse con actuaciones en el ámbito de la sanidad ambiental, basándose no solo en el estudio de las bacterias sino también en el de sus reservorios. Por ejemplo, sería interesante que se incluyesen técnicas de cocultivo en los protocolos de detección. Asimismo, el control de los reservorios en sistemas de distribución de agua podría limitar la presencia de *Legionella* spp. y evitar la selección de cepas más virulentas que se produce en estos ambientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Reinares J, Ferrer B. Notas sobre la ecología de *Legionella*: “El caballo de Troya”. Profesión Veterinaria. 2008; 69: 54-59.
2. Lau HY, Ashbolt NJ. The role of biofilms and protozoa in *Legionella* spp. pathogenesis: implications for drinking water. Journal of Applied Microbiology. 2009; 107: 368-378.
3. Prats G. Microbiología Clínica. Madrid. Panamericana; 2007.
4. Blanco S *et al.* Evaluation of a *Legionella* urinary antigen enzyme immunoassay for rapid detection of *Legionella pneumophila* in water samples. International Journal of Hygiene and Environmental Health. 2008; 211:168-71.
5. La Scola B, Mezi L, Weiller PJ, Raoult D. Isolation of *Legionella anisa* Using an Amoebic Coculture Procedure. 2001; 39 (1): 365–366.

6. García MT, Jones S, Pelaz C, Millar R, Abu Y. *Acanthamoeba polyphaga* resucitates viable non-culturable *Legionella pneumophila* after disinfection. *Environmental Microbiology*. 2007; 9 (5): 1267-1277.
7. Matz C, Kjelleberg S. Off the hook – how bacteria survive protozoan grazing. *Trends in Microbiology*. 2005; 13 (7): 302-307.
8. Lloyd D, Turner NA, Khunkitti W, Hann AC, Furr JR, Russell AD. Encystation in *Acanthamoeba castellanii*: Development of Biocide Resistance. *Journal of Eukaryotic Microbiology*. 2001; 48 (1): 11-16.
9. Marciano-Cabral F. Introductory Remarks: Bacterial Endosymbionts or Pathogens of Free-Living Amebae. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*. 2004; 51 (5): 497-501.
10. Berk S, Ting R, Turner W, Ashburn R. Production of Respirable Vesicles Containing Live *Legionella pneumophila* Cells by Two *Acanthamoeba* spp. *Applied and Environmental Microbiology*. 1998; 64 (1): 279-286.

RECURSOS ELECTRÓNICOS

11. World Health Organization. *Legionella* and the prevention of legionellosis. Geneva: WHO; 2007. Fecha de consulta: 9 de enero de 2012. Disponible en: www.who.int/water_sanitation_health/emerging/legionella_rel/en/index.html
12. European Centre for Disease Prevention and Control. Legionnaires' disease in Europe 2009. Stockholm: ECDC; 2011. Fecha de consulta: febrero de 2012. Disponible en: <http://ecdc.europa.eu/>
13. European Centre for Disease Prevention and Control. Outbreak of Legionnaires' disease in a hotel in Calpe, Spain 2012. Fecha de consulta: 25 de febrero de 2012. Disponible en: <http://ecdc.europa.eu/>
14. Norma ISO 11731:1998. Water quality: Detection and enumeration of *Legionella*. Fecha de consulta: 12 diciembre 2011. Disponible en: <http://www.iso.org>
15. Inverness Medical Innovations. BinaxNOW[®] *Legionella*. Fecha de consulta: 20 de febrero de 2012. Disponible en: <http://www.binaxnow.com/legionella.aspx>
16. Microbial S.L. Legiofast[®] SPECIES Fecha de consulta: 20 de febrero de 2012. Disponible en: <http://www.microbial-systems.com>

Recibido: 16 marzo 2012.

Aceptado: 16 diciembre 2011.