

PREVENCIÓN DE LA LEGIONELOSIS EN SISTEMAS DE REFRIGERACIÓN DE AGUA

LEGIONNAIRES' DISEASE PREVENTION IN WATER COOLING SYSTEMS

ENRIQUE GEA-IZQUIERDO

*Junta de Andalucía, Consejería de Salud, Escuela Andaluza de Salud Pública, Granada, España
enriquegea@telefonica.net*

Recibido para revisar febrero 1 de 2010, aceptado septiembre 27 de 2010, versión final septiembre 28 de 2010

RESUMEN: Los sistemas de refrigeración de agua constituyen unas de las fuentes principales de desarrollo de la bacteria *Legionella*. El sur de España (Comunidad Autónoma de Andalucía, Málaga) presenta enclaves industriales y turísticos, con gran afluencia de personas, que disponen las instalaciones de riesgo. El análisis del grado de control y desinfección del agua se presenta como un indicador preventivo frente al desarrollo del agente biológico, recogido en la normativa nacional. Mediante un estudio descriptivo y el empleo de pruebas no paramétricas se concluye que el cumplimiento de la reglamentación es mayor en los sistemas estudiados que en otras instalaciones de riesgo. Se presentan deficiencias en el mantenimiento preventivo de la calidad del agua de los equipos, por lo que existe un riesgo serio para la población expuesta.

PALABRAS CLAVE: Legionelosis, Sistemas De Refrigeración De Agua, Calidad Del Agua, Desinfección, Control.

ABSTRACT: The water cooling systems are one of the main sources of growth of the bacteria *Legionella*. Southern Spain (Autonomous Community of Andalusia, Malaga) offers industrial and tourist sites with high-risk devices and a large influx of people. The analysis of the degree of control and water disinfection is presented as a preventive indicator against the development of the biological agent, included in national legislation. Through a descriptive study and use of nonparametric tests, it is concluded that regulation compliance is higher in the studied systems than in other facilities at risk. There are deficiencies in preventive maintenance of the devices water quality, so there is a serious risk to the exposed population.

KEYWORDS: Legionnaires'Disease, Water Cooling Systems, Water Quality, Disinfection, Control.

1. INTRODUCCIÓN

La enfermedad definida como legionelosis es en realidad un término genérico, utilizado para la denominación del desarrollo de la misma a través de la bacteria *Legionella pneumophila* y otras de la familia. Actualmente, la *Legionella pneumophila* es aproximadamente la causante del 90% de las infecciones por *Legionella* sp. y el serogrupo 1 uno de los que causan la enfermedad con mayor frecuencia [1].

El primer brote de legionelosis identificado ocurrió en un hotel de Pensilvania (EEUU) en 1976 y afectó a los participantes en una

Convención de la Legión Americana. Desde entonces, numerosos casos aislados (esporádicos) así como brotes epidémicos (mayor trascendencia) han sido detectados en todo el mundo, con origen en sistemas de aerosolización de agua. De hecho, la frecuencia de aparición de la enfermedad es bastante relevante constituyendo uno de los tipos de neumonía infecciosa más frecuente en el mundo desarrollado. La tasa de ataque (número de enfermos/ número de personas expuestas) en brotes es de 0,1 a 5% en la población general; la letalidad, en la comunidad, supone menos del 5%, pero puede llegar a ser del 15 o 20% [2].

La bacteria es capaz de colonizar los medios fabricados por el hombre partiendo de los de origen natural. En algunas ocasiones, es a través de los primeros y a lo largo de la red de distribución de agua [3] de los distintos núcleos urbanos como se distribuye hasta llegar al agua sanitaria e incluso otros tipos sistemas, como pueden ser el riego, sistemas industriales, etc [4]. Una vez que la bacteria ha colonizado estos medios y siempre que se presenten elementos favorecedores (amplificadores) como son: la existencia de ramales, zonas ciegas o de uso infrecuente, disminución del flujo de agua, estancamiento del agua (minutos u horas), composición determinada de algunos materiales [5], rotura de conducciones durante la instalación, irrupción de elementos externos al interior de los sistemas o equipos, reparación y puesta en marcha de bombas de recirculación (puede existir aporte de agua estancada al circuito), nutrientes orgánicos determinados (p.ej: madera, caucho, estopa), acumulación de sustancias o microorganismos que le puedan servir para “protegerse” frente a situaciones adversas, óxidos y sales de hierro, sales cálcicas y magnésicas, fangos, arena, temperatura comprendida entre los 20- 45° C etc.; la bacteria será capaz de desarrollarse, con máximo riesgo si hay producción de aerosoles que sirvan para su dispersión (sistemas de refrigeración de agua/ intercambio aire- agua). Cuando las gotas del aerosol tienen un tamaño que oscila en torno a las 5 μm y existe presencia en ellas de la bacteria, su inhalación puede provocar la entrada en los pulmones representando un riesgo inminente.

En principio, los sistemas por donde se recircula agua son lugares potenciales de presencia de la bacteria y por tanto, bajo condiciones medio ambientales específicas, de desarrollo de la misma. En este tipo de sistemas muchas veces el agua se encuentra saturada de oxígeno, con exposición a la luz solar, rango de temperatura de funcionamiento entre 30 y 60° C y niveles de pH entre 6-9; lo que puede conllevar a la existencia de nutrientes abundantes y un hábitat idóneo para el desarrollo de la bacteria. Si a esto le añadimos un deficiente mantenimiento higiénico- preventivo de los equipos o instalaciones, la ubicación de las fuentes puede

ser absolutamente crítica. Es cierto que no siempre se cumplen estos condicionantes en las distintas instalaciones y curiosamente, aún sin tratarse de medios en teoría totalmente satisfactorios, pueden presentar contaminación biológica. En algunos circuitos de agua en recirculación puede darse este caso y si no se realizan los tratamientos de control y desinfección del agua, es probable que haya presencia de microorganismos. Este crecimiento “natural” en medios no controlados puede tener una elevada relevancia tanto por la afectación de la propia circulación como por la “protección” que ejerce sobre otros microorganismos. La formación de “biopelículas” es esencial para la *Legionella* sp. como “refugio” frente a condiciones adversas del agua, en parte inducidas por el ser humano en su afán de control de la bacteria por medio de distintos tratamientos. Los materiales de corrosión y las incrustaciones presentes en las conducciones de los sistemas de refrigeración, de aporte de agua de suministro y resto de sistemas facilitan la presencia de la bacteria, su desarrollo y por ende el alcance de concentraciones críticas. Éstas junto con un tiempo variable de exposición a las personas pueden resultar en enfermedad, existiendo en el desarrollo de la misma un factor importante; para que se produzca la infección la bacteria ha de ser virulenta (ciertas especies o serogrupos están más vinculados a la enfermedad que otros), presentarse en número suficiente y que se forme agua aerosolizada [6]. Los estudios epidemiológicos que se realizan cuando aparecen brotes o casos suelen llevar a asociarlos con sistemas, equipos o edificios y con la ayuda de los ensayos microbiológicos se intenta precisar el foco de infección. Sobre el desarrollo de la *Legionella* sp. ejerce un cierto factor potenciador la presencia de microorganismos que se han introducido en los diferentes sistemas. En el caso de los sistemas de refrigeración los microorganismos son introducidos a través del aire o del agua de aporte. El pH y la temperatura del agua del circuito de los equipos suelen ser ideales para el desarrollo de la bacteria, por lo que el control bacteriano suele ser tarea complicada ya que el efecto ejercido sobre algunas especies en particular puede ser parcial o totalmente nulo sobre otras.

En el caso de los sistemas de refrigeración, se trata el agua del circuito con ánimo de controlar las poblaciones microbianas. Estas suelen mantenerse a unos niveles determinados, tolerables por el sistema sin llegar a la “desinfección completa”. El crecimiento biológico en los circuitos de refrigeración sigue una evolución exponencial con una gran proliferación cuando la cantidad de microorganismos empieza a ser alta. Es ahí donde radica la importancia de mantener el “umbral” de las distintas poblaciones microbianas, con objeto de que no se produzca el aumento o se pueda llegar hasta niveles irreversibles. Especialmente relevante es el control y desinfección preventivo del agua de las torres de refrigeración, condensadores adiabáticos y evaporativos por sus múltiples aplicaciones en el campo de la industria y minería [7] y el riesgo para el personal expuesto.

Los equipos de intercambio aire- agua constituyen una de las fuentes de desarrollo de *Legionella pneumophila* recogidas en el ámbito legislativo nacional español [8]. El control analítico de la calidad del agua y el tipo de desinfección empleado en el mantenimiento preventivo son actividades de obligado cumplimiento frente a la propagación de la bacteria. El objetivo de este estudio es definir el tipo de desinfección, control del agua y periodicidad del mismo para los equipos descritos, según las disposiciones de mantenimiento preventivas españolas, como indicadores frente al desarrollo de la bacteria.

2. MÉTODO

Se realiza un estudio descriptivo correspondiente a torres de refrigeración, condensadores evaporativos y adiabáticos ($n = 44$) ubicados en edificios públicos de la provincia de Málaga (Comunidad Autónoma de Andalucía, España). Se define un análisis de variables categóricas y el empleo de medidas de asociación basadas en la reducción proporcional del error. Éstas expresan la proporción de reducción de la probabilidad de se cometa un error de predicción cuando, en la clasificación de un caso o un grupo de ellos en la pertenencia a una categoría de una

variable, en vez de usar las probabilidades asociadas a cada categoría, se realiza la clasificación considerando las probabilidades de las categorías de la variable descrita en cada categoría de otra variable. Para ello se consideran las medidas de asociación direccionales: tau de Goodman y Kruskal, y coeficiente de incertidumbre. La primera de ellas considera que al pronosticar a qué categoría de la variable “recuento de *Legionella pneumophila* serogrupo 1 (Unidades Formadoras de Colonias por litro de agua analizada [UFC/l])” pertenece un número de equipos, se puede realizar una asignación aleatoria considerando como referencia la probabilidad de pertenencia a cada categoría; e igualmente para la variable “tipo de equipo”. De esta forma, se reduce la probabilidad de pronósticos y de clasificación errónea, calculando la dependencia para ambas variables. El coeficiente de incertidumbre expresa igualmente la reducción proporcional del error al emplear los valores de una variable para realizar pronósticos sobre los valores de la otra, y en él únicamente se ha considerado la versión simétrica, ya que no existe razón para distinguir entre variable dependiente e independiente. Para las dos medidas se aportan los errores típicos asintóticos, calculados sin suponer la independencia entre las variables.

Se define la variable dicotómica “cumplimiento del Real Decreto (R.D.) 865/ 2003” [8] como variable categórica que únicamente toma dos valores “seleccionado” o “no seleccionado”, considerando el primer nivel como acierto. Para contrastar la hipótesis de bondad de ajuste referida al cumplimiento o no, se realiza una prueba binomial. Asumiendo que el 38% de las instalaciones críticas cumple la normativa [4], se plantea si el porcentaje se mantiene en los equipos descritos. Mediante la prueba se estudia si la variable dicotómica se ajusta a un modelo de probabilidad. En particular, se quiere contrastar la hipótesis de que la proporción observada de cumplimiento de la normativa nacional se ajusta a la proporción teórica de una distribución binomial. Por lo tanto, extrayendo muestras aleatorias de tamaño n y definiendo la variable $X =$ “número de selecciones en las n extracciones” en cada muestra, se obtiene una variable aleatoria distribuida si la proporción de

aciertos (π) permanece igual en cada extracción, atendiendo al modelo de probabilidad binomial, con parámetros n = “número de extracciones” y π = “proporción de selección”. Así, para conocer la probabilidad exacta relacionada con cada uno de los valores de la variable X se emplea las probabilidades de la distribución binomial; indicando que conforme aumenta el valor de n , la distribución de X se acerca a la distribución normal. De esta forma, los valores serían:

$$E(X) = n \pi$$

$$\sigma_X = \sqrt{n \pi (1 - \pi)}$$

Aplicando la corrección por continuidad mediante la suma (en caso de que X sea menor que $n \pi$) o resta (si X es mayor que $n \pi$) de 0,5 puntos a X para conseguir que el contraste no sea tan conspicuo, resulta la variable

$$Z = \frac{X \pm 0,5 - n \pi}{\sqrt{n \pi (1 - \pi)}}$$

con distribución de modelo de probabilidad normal; empleando esta distribución para conocer las probabilidades asociadas a los valores del estadístico Z y las aproximadas asociadas al X

Al tratarse de una variable dicotómica son los propios valores de ésta los que definen la dicotomía, por lo que se contrasta la hipótesis de que la proporción observada en la primera categoría (seleccionado) se asemeje a la proporción teórica propuesta (0,38). Este contraste de proporción permite definir el valor poblacional propuesto en la hipótesis nula,

asumiendo que la variable dicotómica se ajusta al modelo de distribución de probabilidad binomial con $\pi = 0,38$ y tomando como categoría de referencia dicotómica la correspondiente al primer caso válido. Debido al valor de π se interpreta que el contraste es unilateral, ofreciendo el nivel crítico resultante de calcular la probabilidad de encontrar un número de casos mayor/ igual o menor/ igual al de la categoría de referencia.

El programa informático utilizado en la interpretación de los datos es SPSS (Copyright SPSS Inc., 1989- 2006. Windows. Versión 15.0.1. 22 Nov. 2006).

3. RESULTADOS

El estudio descriptivo se expresa a través de los valores obtenidos en las tablas 1 y 2. En el segundo análisis y considerando que Tau toma valores entre 0 y 1, 0 indica ausencia de reducción del error de clasificación y el 1 reducción global. Atendiendo a los valores indicados en las tablas 3 y 4, la variable empleada para efectuar pronósticos no contribuye a reducir el error de clasificación por ser próxima a 0, es decir, que la teórica variable independiente no permite predecir a qué categoría de la variable dependiente pertenecen los casos clasificados. Para las medidas de asociación de los datos nominales estudiados se muestra la significación aproximada o nivel crítico que aporta determinación relativa a la hipótesis de independencia. La relación entre las instalaciones de riesgo y el recuento de *Legionella* se expresa en la figura 1.

Tabla 1. Relación entre el tipo de desinfección e instalación de riesgo (número de casos)
Table 1. Relationship between the type of disinfection and risk device (number of cases)

	Desinfección química				Desinfección física		D. Físico- química
	Biocida	Cloración	Ozono	Bromo	UVA*	Filtración	Cobre- plata
<i>Torre de refrigeración</i>	13	16	26	29	28	20	27
<i>Condensador evaporativo</i>	3	1	5	4	6	3	6
<i>Condensador adiabático</i>	2	1	2	3	3	2	3

* Radiación ultravioleta.

Tabla 2. Relación entre el tipo de control de calidad del agua, periodicidad e instalación de riesgo (número de casos)

Table 2. Relationship between the type of water quality control, periodicity and risk device (number of cases)

	Control físico-químico*	Control microbiológico	Periodicidad C. Físico-químico†	Periodicidad C. <i>Legionella</i> ‡	Periodicidad C. Aerobios totales†
<i>Torre de refrigeración</i>	15	15	13	13	12
<i>Condensador evaporativo</i>	3	3	3	3	3
<i>Condensador adiabático</i>	5	3	2	3	1

* Parámetros analizados: temperatura, pH, conductividad, turbidez, hierro total y nivel de cloro o biocida utilizado.

† Frecuencia mínima: mensual, excepto para el nivel de cloro o biocida utilizado (frecuencia diaria).

‡ Frecuencia mínima: trimestral.

Tabla 3. Caracterización del recuento de *Legionella* según el tipo de instalación de riesgo (en porcentaje)

Table 3. Description of *Legionella* counts by type of risk device (in percentage)

		Recuento de <i>Legionella</i>			Total (%)	
		<1000 UFC/1	Entre 1000- 10000 UFC/1	> 10000 UFC/1		
<i>Equipo</i>	Torre de refrigeración	Tipo de equipo	78,8	12,1	9,1	100
		Rec. <i>Leg.</i>	83,9	57,1	50	75
		Total	59,1	9,1	6,8	75
	Condensador evaporativo	Tipo de equipo	50	33,3	16,7	100
		Rec. <i>Leg.</i>	9,7	28,6	16,7	13,6
		Total	6,8	4,5	2,3	13,6
	Condensador adiabático	Tipo de equipo	40	20	40	100
		Rec. <i>Leg.</i>	6,5	14,3	33,3	11,4
		Total	4,5	2,3	4,5	11,4
<i>Total</i>		70,5	15,9	13,6	100	

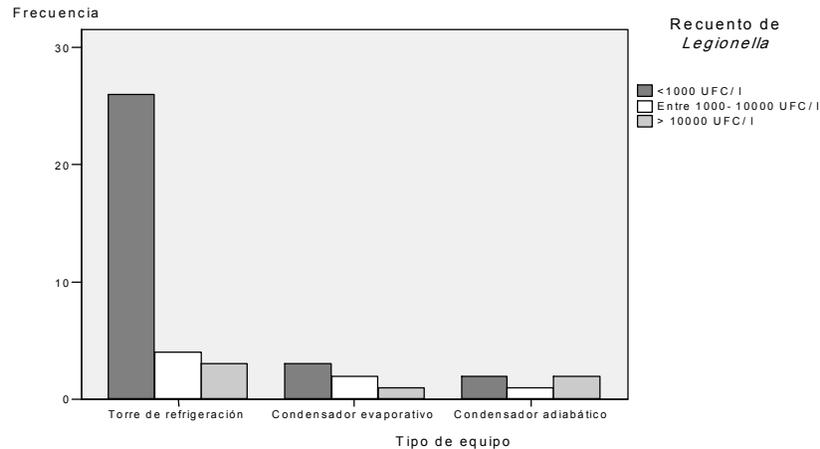


Figura 1. Clasificación de las instalaciones de riesgo según el recuento de *Legionella*
Figure 1. Classification of risk facilities under the *Legionella* counts

Tabla 4. Medidas direccionales
Table 4. Directional measures

		Valor	Error típ. asint *	Sig. aprox.
<i>Tau de Goodman y Kruskal</i>	Tipo de equipo dependiente	0,080	0,076	0,144 [†]
	Rec. de <i>Leg.</i> dependiente	0,079	0,075	0,146 [†]
<i>C. de incertidumbre</i>	Simétrica	0,074	0,067	0,287 [‡]

* Asumiendo la hipótesis alternativa.

[†] Basado en la aproximación chi-cuadrado.

[‡] Probabilidad del chi-cuadrado de la razón de verosimilitudes.

Tabla 5. Cumplimiento del R.D. 865/ 2003 (equipos de intercambio aire- agua)
Table 5. Compliance with the R.D. 865/ 2003 (water cooling systems)

		Categoría	N	Proporción observada	Proporción de prueba	Sig. asintót. (unilateral)
<i>Cumplimiento del R.D. 865/ 2003</i>	Seleccionado		28	0,64	0,38	0,001*
	No seleccionado		16	0,36		
	Total		44	1,00		

* Basado en la aproximación Z.

Para el tercer análisis, los valores obtenidos se basan en las tablas 1, 2 y la prueba realizada en la 5. La proporción observada de casos seleccionados es 0,64 y la proporción de prueba 0,38. Al ser el valor de prueba distinto de 0,5 y la proporción observada de la categoría de referencia (seleccionados) mayor que el valor de la prueba, el contraste es unilateral derecho aportando como nivel crítico la probabilidad de obtener, con $n=44$ y $p=0,38$ un número de casos ≥ 28 . Debido a que el tamaño muestral es >25 , la opción propuesta se basa en la aproximación normal.

4. CONCLUSIONES

Existe una mayor proporción de torres de refrigeración en el total de los casos estudiados, siendo el riesgo potencial idéntico para todos los equipos. De hecho, este tipo de sistema de enfriamiento del agua suele estar más extendido que los condensadores evaporativos y adiabáticos, así como presente en un mayor número de aplicaciones. Se presenta una relación variable entre el tipo de desinfección del agua y la instalación de riesgo correspondiente. Para las torres de refrigeración existe preferentemente una desinfección química (bromación), seguido de la desinfección física (mediante radiación ultravioleta) y físico- química (cobre- plata). Por lo tanto, en las operaciones de mantenimiento higiénico- sanitario no existe un procedimiento de desinfección general. El bromo es el desinfectante de mantenimiento más aplicado, identificándose en estado sólido. Aunque la acción del bromo suele ser eficaz, incluso si las temperaturas son altas, su disolución en el agua no es homogénea ya que está supeditada al flujo de agua y a la presencia de turbulencias, entre otros factores. Los tratamientos del agua son más eficaces mediante el uso de dispositivos automáticos comandados por el agua demandada y otros factores físico- químicos del agua. El empleo de procedimientos electroquímicos es de uso frecuente, quizás en parte debido cada vez más a un mayor conocimiento de su eficacia [9-11]. Asimismo, se observa una tendencia conservadora en el tipo de desinfección del resto de equipos con respecto a las torres de refrigeración. Para estas últimas y condensadores

evaporativos el mantenimiento preventivo a través de los controles analíticos se efectúa respectivamente al 45 y 50%, por lo que son del todo insuficientes. La periodicidad de los mismos es como máximo de un 39% para las torres de refrigeración, presentando los valores más bajos para todas las instalaciones. El tipo de periodicidad total más bajo se detecta en el control mensual de aerobios totales, válido para la mayoría de los sistemas. En general, existe un deficiente mantenimiento de las instalaciones interpretado a través de la obligatoriedad de los distintos controles y frecuencia mínima de muestreo de los mismos. En relación a los diferentes tipos de equipos con control microbiológico del agua y recuento de la bacteria, las dos variables son estadísticamente independientes y según el valor del coeficiente de incertidumbre, el conocimiento de una variable reduce en un 7,4% el error al pronosticar los valores de la otra. Por lo tanto, no existe una relación entre el tipo de sistema de intercambio aire- agua estudiado y el riesgo detectado (concentración de *Legionella pneumophila* en UFC/ l), por lo que se han de considerar todas las instalaciones como fuentes potenciales de desarrollo biológico y susceptibles de idéntica consideración para el tratamiento. Esta reflexión se expresa a través de la clasificación de las instalaciones de riesgo según el recuento, en la que se aprecia una distribución de los distintos intervalos de concentración entre los diferentes sistemas, presentando para los condensadores adiabáticos un recuento elevado (> 10000 UFC/ l) con respecto a los otros tipos. Esto implicaría acciones inmediatas de parada del funcionamiento de la instalación afectada, válido para todos los casos comprendidos en el intervalo mayor. Igualmente, hay que considerar el resto de equipos sin los controles analíticos pertinentes, ya que pudieran hallarse en idéntica situación [12].

Por último, como el nivel crítico es considerable ($>0,05$), se acepta la hipótesis nula de independencia con respecto a la normativa sanitaria española de los sistemas de intercambio aire- agua estudiados frente al total de las instalaciones de riesgo, concluyendo que las dos variables descritas no están relacionadas. Dicho

de otra forma y atendiendo al valor del nivel, se rechaza la hipótesis nula de bondad de ajuste ($p \leq 0,38$) concluyendo que la verdadera proporción poblacional es mayor que 0,38. Es decir, el cumplimiento de la reglamentación en el área estudiada es mayor en los equipos de intercambio aire- agua descritos (torres de refrigeración, condensadores evaporativos y adiabáticos) que en otras instalaciones de riesgo. Se trata de un factor positivo considerando que en estos sistemas los aerosoles son lanzados al exterior con la corriente de aire caliente que sale de aquellos [13] y al cesar el impulso con el que fueron emitidos, las gotas de agua más pequeñas son transportadas por el viento a una cierta distancia, con el riesgo que esto implica para la

salud. Dependiendo de las condiciones meteorológicas existentes y de la ubicación del equipo, las microgotas pueden alcanzar varios cientos de metros o más [14]. Es por ello la importancia de que este tipo de equipos se encuentren en lugares estratégicos, lo más lejos posible a lugares donde se hallen personas (extracción directa, oficinas, parques de ocio, etc.) con el objeto de que los aerosoles se dispersen lo máximo posible por el viento (bajando la concentración de bacterias) y disminuya el riesgo potencial. El incremento en la evaporación de las gotas en forma de aerosol eliminará las bacterias y la deposición de las mismas sobre el suelo contribuirá de manera positiva al control de la propagación.

REFERENCIAS

- [1] JUNTA DE ANDALUCÍA, CONSEJERÍA DE SALUD, DIRECCIÓN GENERAL DE SALUD PÚBLICA Y PARTICIPACIÓN, SECTOR DE SALUD AMBIENTAL, Manual para la Prevención y Control de la Legionelosis, Aspergilosis y Tuberculosis en Instalaciones Sanitarias, Sevilla, 2002.
- [2] MINISTERIO DE SANIDAD Y CONSUMO, DIRECCIÓN GENERAL DE SALUD PÚBLICA, SUBDIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD AMBIENTAL, Recomendaciones para la prevención y control de la legionelosis, Madrid, 1999.
- [3] WILLIAMS, M.M., SANTO DOMINGO, J.W., MECKES, M.C. Population diversity in model potable water biofilms receiving chlorine or chloramine residual. *Biofouling*, 21, 279- 288, 2005.
- [4] GEA, E. Cumplimiento de los protocolos de prevención de la legionelosis en edificios públicos. *Rev. Salud pública*, 11 (1), 100- 109, 2009.
- [5] GEA, E. Evaluación del desarrollo de *Legionella pneumophila* mediante el análisis de materiales de sistemas de distribución de agua. *Bol. Mal. Salud Amb.*, Vol. XLIX, Nº 1, Enero- Julio, 167-171, 2009.
- [6] BASKERVILLE, A., FIZGEORGE, R.B., BROSTER, M., HAMBLETON, P., DENNIS, P.J. Experimental transmission of legionnaires' disease by exposure to aerosols of *Legionella pneumophila*. *Lancet*, 2, 1389-1390, 1981.
- [7] HUERGA, E. Desarrollo de alternativas de tratamiento de aguas residuales industriales mediante el uso de tecnologías limpias dirigidas al reciclaje y/o valoración de contaminantes [PhD Thesis]. Valencia: Universidad de Valencia, 2005.
- [8] 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. B.O.E. núm. 171 de 18 de julio de 2003.
- [9] KUSNETSOV, J., IIVANAINEN, E., ELOMAA, N., ZACHEUS, O., MARTIKAINEN, P.J. Copper and silver ions more effective against Legionellae than against mycobacteria in a hospital warm water system. *Water Res.*, 35 (17), 4217- 4225, 2001.
- [10] STOUT, J.E., YU, V.L. Experiences of the first 16 hospitals using copper-silver ionization for *Legionella* control: implications for the evaluation of other disinfection modalities. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.*, 24 (8), 563- 568, 2003.

- [11] LIU, Z., STOUT, J.E., TEDESCO, L., BOLDIN, M., HWANG, C., DIVEN, W.F., YU, V.L. Controlled evaluation of copper-silver ionization in eradicating *Legionella pneumophila* from a hospital water distribution system. *J. Infect. Dis.*, 169 (4), 919-922, 1994.
- [12] SHELTON, B.G., FLANDERS, W.D., MORRIS, G.K. Legionnaires' disease outbreaks and cooling towers with amplified *Legionella* concentrations. *Current. Microbiol.*, 28, 359– 363, 1994.
- [13] WAHALA, W.M., WICKRAMASINGHE, R.S. First isolation of *Legionella pneumophila* in Sri Lanka. *Ceylon. Med. J.*, 45 (4), 171- 172, 2000.
- [14] BROWN, J., HORT, K., BOUWMAN, R., CAPON, A., BANSAL, N., GOLDTHORPE, I., CHANT, K., VEMULPAD, S. Investigation and control of a cluster of cases of legionnaires disease in western Sydney. *Commun. Dis. Intell.*, 25 (2), 63- 66, 2001.