



**CARACTERIZACIÓN DE DIFERENTES FACTORES TÉCNICOS
DE LAS INSTALACIONES FRIGORÍFICAS
DE CENTRALES FRUCTÍCOLAS
QUE INFLUYEN EN EL RIESGO DE *Legionella spp.***

Autor: David Tomàs Tayac
Teléfono: 653 214167
Avda. President Josep Tarradellas nº 57, 2, 2ª
CP 25001 Lleida
www.david@isofred.com

Tutor: Jordi Graell Sarlé
Departamento de Tecnología de Alimentos
Universidad de Lleida

ÍNDICE

RESUMEN.....	3
INTRODUCCIÓN.....	3
Características del Agente causal.....	4
Proceso de Infección.....	4
La enfermedad.....	4
ANTECEDENTES.....	4
OBJETIVOS.....	5
MATERIAL Y MÉTODOS.....	5
Plan de Trabajo.....	5
Selección de las variables de interés.....	6
<i>Datos tomados de los análisis físico-químicos del agua de las instalaciones.....</i>	<i>6</i>
<i>Determinaciones referentes a los factores relacionados con el estado de mantenimiento y limpieza de los equipos:.....</i>	<i>7</i>
<i>Determinaciones referentes a los factores propios de cada equipo.....</i>	<i>7</i>
RESULTADOS.....	8
Estadísticos descriptivos.....	8
<i>Variables de calidad físico-química del agua.....</i>	<i>8</i>
<i>Factores propios de cada torre.....</i>	<i>9</i>
<i>Determinaciones de Odd's ratio.....</i>	<i>9</i>
Resultados frente a recuentos de aerobios.....	9
Resultados frente a recuentos de <i>Legionella spp</i>	9
Análisis de Varianza.....	10
Realización de mapas cartográficos.....	10
CONCLUSIONES.....	10
BIBLIOGRAFIA.....	11
ANEXOS:.....	15
1. Tablas y figuras.....	15
2. Cartografía.....	24

RESUMEN

El presente estudio caracterizó 25 torres de refrigeración y condensadores evaporativos de instalaciones frigoríficas de diferentes centrales frutícolas de la provincia de Lérida atendiendo a su riesgo para el crecimiento de *Legionella spp.* y de microorganismos aerobios. Para ello se recogieron los datos de dichas instalaciones referentes a la calidad del agua y los que describían técnicamente a las mismas en función de criterios del estado de mantenimiento y factores individuales, tomando como base un año natural. Los datos de calidad del agua fueron tomados a partir de los registros de las operaciones de mantenimiento, y los parámetros indicadores del estado de mantenimiento y factores individuales fueron recogidos mediante la inspección visual de las mismas.

El estudio estadístico contenía, en un primer nivel, pruebas descriptivas de todos los parámetros, como diagramas de dispersión, histogramas y determinaciones del *Odd's Ratio*. En un segundo estadio, se realizó un análisis de varianza (*Anova*) de los factores más relevantes.

A raíz de las pruebas realizadas, se observó que algunos aspectos ajenos a los tomados en las analíticas de agua a las que obliga la legislación vigente, podían influir en los recuentos de microorganismos aerobios o de *Legionella spp.* Otros, como la conductividad y la concentración de biocida, resultaron ser estadísticamente significativos. El conjunto de parámetros que podían influir en el crecimiento de *Legionella spp.* sirvieron para caracterizar a las distintas instalaciones inspeccionadas. Estas fueron representadas en mapas cartográficos de cada municipio creando así, un mapa de riesgo identificando en caso de aparición de un brote de legionelosis, aquellas que podían tener más probabilidades de haber causado la dispersión en el ambiente del aerosol continente de la bacteria.

Palabras clave: Legionella spp., legionelosis, torres de refrigeración, condensadores evaporativos, centrales frutícolas

INTRODUCCIÓN

La aparición en los medios de comunicación de noticias relacionadas con brotes de legionelosis se suceden de forma regular. Lejos de ser una patología controlada, se desconocen hasta el momento varios aspectos referentes a la epidemiología de dicha bacteria (Barbaree, et al., 1.993; Butler y Breimann, 1998). Las instalaciones frigoríficas que contienen torres de refrigeración y condensadores evaporativos son comunes en las centrales frutícolas, y se encuentran en gran número en la provincia de Lérida; dichos equipos son considerados de alto riesgo de dispersión de *Legionella spp.* según la legislación vigente (RD 865/2003), (Decret 352/2004).

La Administración ha realizado notables esfuerzos en los últimos años con el fin de controlar esta patología, que se han plasmado en la normativa de reciente aplicación (RD 865/2003); (Decret 352/2004). Sin embargo, no se ha apreciado un claro descenso en el número de afectados desde la entrada en vigor de dicha normativa (Tabla 1 de Anexo).

CARACTERÍSTICAS DEL AGENTE CAUSAL

Se trata de bacilos Gram negativos, y son considerados como patógenos de gran virulencia para el hombre (Holt, et al. 1.994). Su hábitat natural son los ecosistemas acuáticos de agua dulce, aunque han podido ser aislados a partir de otros medios (Fliermans et al; 1981), (Hugues y Steele, 1994), (Ortiz-Roque y Hazen, 1987), (Steele y McLennan, 1996), (Verissimo et l. 1991). Sus condiciones de crecimiento, así como su parasitismo intracelular facultativo (Cirillo, 1.999), (Fields, 1989), (Fields et al; 1.993), (Kutch, et al; 1993), (Tison et al, 1980) permiten que puedan multiplicarse de forma óptima en las instalaciones de torres y condensadores evaporativos de los circuitos frigoríficos (CECOMAF, 2002), (Coulbourne, 1984), (Frahm y Obst, 1994), (Health and Safety executive, 2000).

PROCESO DE INFECCIÓN

El proceso de infección confirmado hasta el momento (Holt et al; 1994) es el resultado de una cadena de factores que se deben dar en las condiciones adecuadas. Es necesario que, desde el medio natural, la bacteria llegue a colonizar una instalación. Seguidamente, debe haber un entorno favorable para su multiplicación en cantidad suficiente. Posteriormente, debe ser dispersada en el ambiente en forma de microgotas que finalmente sean inhaladas por un sujeto susceptible (Horwitz y Silverstein, 1980), (Straus, 1996).

LA ENFERMEDAD

Se conocen dos formas de la enfermedad: legionelosis y fiebre de Pontiac. La mayoría de afectados son casos aislados que a menudo quedan ocultos debido a su similitud con la sintomatología de la neumonía (OMS, 2002). Este hecho, combinado con la difícil identificación de las instalaciones que resultan ser las causantes de dichos brotes, pone de manifiesto la importancia que tiene poder disponer de una herramienta que permita identificar y situar las torres que con más probabilidad hayan podido ser las causantes de la dispersión de dichos aerosoles (Bentham et al; 2002). A pesar de que los brotes son la forma más rara de aparición de la enfermedad, pueden ocasionar un gran número de afectados (Marre et al, 2002), (OMS, 2002).

ANTECEDENTES

La relación existente entre las torres de refrigeración y los condensadores evaporativos con la aparición de casos de legionelosis ha sido documentada de forma clara (Addiss, 1989), (Ohrant, 2006). De hecho, el porcentaje de brotes relacionados con estas instalaciones en los últimos años es considerable (ver tabla 2 Anexo).

Las condiciones de trabajo de las torres y condensadores crean el medio óptimo para el crecimiento de *Legionella spp.* A este hecho cabe añadir la dificultad que entraña mantener la calidad de agua de recirculación de estas instalaciones evitando que llegue a tener tendencias incrustantes o corrosivas (Martí, 2000). Varios autores han

estudiado los factores que pueden influir en el proceso de multiplicación de *Legionella spp.* en las instalaciones. (Marcó, 2005) También se han investigado los vínculos entre el crecimiento de *Legionella spp.* y otros microorganismos con los que se relaciona (Tison, 1980), (Wadowski, 1985). Diversos autores han estudiado el riesgo a la exposición de aerosoles producidos por torres de refrigeración y condensadores evaporativos (Bentham, 2002), (Llinares y Sanz, 2004).

OBJETIVOS

Los objetivos del presente trabajo se han centrado en las fases del proceso de infección. Ahora bien, estos se han restringido a las etapas de multiplicación y dispersión, puesto que la colonización de las instalaciones por parte de *Legionella spp.* siempre se debe considerar como una posibilidad. Son los siguientes:

- Realizar un estudio de las variables relacionadas con la calidad del agua de diferentes instalaciones.
- Realizar una valoración cuantitativa y cualitativa de diferentes aspectos propios de cada instalación que puedan estar relacionados con la aparición y/o crecimiento de *Legionella spp.* y/o microorganismos aerobios.
- Encontrar las posibles relaciones que se puedan establecer entre las distintas variables estudiadas y los recuentos de microorganismos.
- Identificar y caracterizar las distintas instalaciones en función del riesgo para la proliferación de legionelosis.
- Integrar la información para describir y situar a los diferentes equipos en función de su riesgo para presentar recuentos elevados de aerobios o de *Legionella spp.*

MATERIAL Y MÉTODOS

La población de estudio se centró en diversas centrales frutícolas, y se seleccionó de forma aleatoria a partir del censo de torres de refrigeración y condensadores evaporativos facilitado por la Sección de Saneamiento ambiental de la Delegación territorial de Lérida del Departamento de Sanidad y Seguridad Social. Los datos se obtuvieron a partir de los libros de registro de las instalaciones frigoríficas y la inspección de las mismas. El análisis estadístico de dichos datos se realizó utilizando el programa SPSS para Windows en su versión 7.5.2.s. Una vez tratados los datos obtenidos del estudio estadístico se incluyeron en mapas mediante el programa ArcGis 9.1.

PLAN DE TRABAJO

El alcance del trabajo de campo se limitó a 25 equipos de 17 instalaciones distintas definiendo el entorno en la provincia de Lérida. Los datos referentes a la calidad físico-química y microbiológica del agua se tomaron de los registros de las

empresas debidamente autorizadas e inscritas en el registro de establecimientos y servicios plaguicidas (ROESP).

El presente trabajo tuvo en cuenta que la totalidad de las instalaciones cumpliesen con los requisitos establecidos por la legislación vigente, por lo que era de esperar que esto afectara a las conclusiones que se pudieran obtener.

SELECCIÓN DE LAS VARIABLES DE INTERÉS

Las variables de interés se seleccionaron a partir de la bibliografía consultada (Eurovent-CECOMAF), la legislación vigente (RD865/2003), (Decret 352/2004) y otros parámetros registrados por las empresas encargadas del control de la calidad del agua de dichas instalaciones. Los datos se estudiaron teniendo en cuenta su naturaleza cuantitativa o cualitativa.

Datos tomados de los análisis físico-químicos del agua de las instalaciones:

Recuentos microbianos

Se dispuso de valores cuantitativos para los recuentos de aerobios y cualitativos (superiores o inferiores a 1000 ufc/mL) para los de *Legionella spp.* lo que influyó, en gran medida en las conclusiones que se pudieron extraer. Los recuentos de aerobios se expresaron en ufc/mL.

pH

Indica el grado de acidez o alcalinidad de una muestra de agua. El rango de valores límite para crecimiento de *Legionella spp.* se encuentra entre $6,5 < \text{pH} < 9,0$, según el anexo 4 del RD 865/2003.

Título Hidrotimétrico, (TH) o dureza total

Indica el contenido global de sales de calcio y de magnesio de una muestra de agua, que causan que la misma sea considerada como dura. Estas sales provocan que con el tiempo se originen incrustaciones en los equipos. Se mide en: ° F (grado francés); °A (grado alemán); mg/L CaCO₃ o meq/L. La legislación regula la adición de sustancias antiincrustantes para que el agua de recirculación no sobrepase el valor de 450 mg/L de CaCO₃.

Título Hidrotimétrico Cálcico total (TH Ca total)

Es el contenido de sales cálcicas de una muestra de agua. Las unidades de medida son las mismas que en la dureza total.

Título Alcalinimétrico simple (TA)

También llamado alcalinidad a la fenoftaleína o alcalinidad simple. Determina el contenido total en el agua de hidróxidos alcalinos y la mitad de su contenido en carbonatos. Se expresa en grados franceses, o bien ppm de CaCO₃.

Título Alcalinimétrico completo (TAC)

También llamado alcalinidad naranja de metilo o alcalinidad total. Determina el contenido total en agua de hidróxidos, carbonatos y alcalinotérreos. Se mide en

grados franceses o ppm de CaCO₃. Se recomienda no sobrepasar el valor límite de 350 mg/L de CaCO₃.

Conductividad:

Medida en $\mu\text{S/cm}$, es la capacidad de una solución acuosa para conducir la corriente eléctrica. Se toma como valor límite 1200 $\mu\text{S/cm}$.

Sólidos Totales en solución (TDS)

Expresa la cantidad de sólidos disueltos en el agua. Se mide en ppm.

Turbidez

La turbidez de una muestra de agua muestra la presencia de materiales en suspensión. Se mide en UNF (unidades nefelométricas de formacina).

Contenido de cloruros

Los resultados se miden en ppm, o mg/L.

Concentración de biocida

Esta determinación viene regulada por el fabricante.

Temperatura

Se mide en °C.

Índice de Ryznar

Este parámetro determina la tendencia incrustante o agresiva de una muestra de agua.

Hierro total

Indica la presencia de corrosiones en la muestra de agua. Se recomienda no sobrepasar el valor de 2 mg/L.

Determinaciones referentes a los factores relacionados con el estado de mantenimiento y limpieza de los equipos:

Corrosiones, materia orgánica, incrustaciones y limpieza

Estas variables se determinaron mediante las valoraciones de su presencia en las instalaciones como 'mínima', 'normal' y 'muy importante'.

Determinaciones referentes a los factores propios de cada equipo:

Régimen de operación:

Se distinguieron aquellas instalaciones que tenían un régimen de operación en continuo de las que lo tenían estacional.

Depósito:

Se refiere a la presencia de depósito de acumulación en la instalación hidráulica de la torre o condensador evaporativo.

Circuito:

Se consideró la complejidad del circuito hidráulico, siendo los simples aquellos circuitos conectados a un solo aparato y que no compartían el aporte de ninguna otra instalación hidráulica. En caso contrario se consideraron complejos.

Aporte:

Se separaron aquellas instalaciones que tenían aporte de agua de red de aquellas que tenían un aporte propio, entendiendo por tal el aporte de un pozo o de una fuente de suministro propia total o parcial, como la recogida de aguas pluviales.

Tipo de biocida utilizado

Se tuvieron en cuenta las diferentes materias activas de los biocidas empleados, que se dividieron entre los derivados del amonio y los fosfatos.

Año de instalación:

Se obtuvo la edad de la instalación a partir del censo de torres de refrigeración y condensadores evaporativos del Departamento de Sanidad y Seguridad social (de la Generalitat de Catalunya).

Potencia nominal:

El diseño de los equipos varía en función de la potencia térmica a disipar. Se distinguieron las instalaciones que tenía una potencia nominal superior o inferior a 1.000 kW.

RESULTADOS

ESTADÍSTICOS DESCRIPTIVOS

Variables de calidad físico-química del agua

En primer lugar, destacó la no posibilidad de encontrar relaciones entre los valores de recuentos de aerobios y *Legionella spp.*

De los resultados obtenidos en los estadísticos descriptivos, cabe decir que no se pueden tomar como significativos hasta realizar pruebas posteriores que lo confirmen o desmientan. Destacaron los siguientes resultados:

- Se observó un aumento de los recuentos de aerobios en los márgenes en torno al valor de pH neutro, lo que coincide con lo esperado. Algo similar ocurrió con los recuentos de aerobios frente a la temperatura. Cuando esta variable se encontraba en un valor medio aglutinaba los recuentos más elevados.

- El número de aerobios crecía con el valor de la conductividad eléctrica, sólidos totales en disolución y turbidez, hechos que se consideran lógicos.

- Con respecto a los valores de recuentos de aerobios frente a los valores de cloruros o concentración de biocida, se observó que si el número de cloruros era superior a 300 ppm o bien la concentración de biocida era superior a la necesaria según los fabricantes, el número de aerobios descendía de forma muy clara. Estos hechos se podían esperar. El tipo de biocida utilizado no permitió sacar conclusiones frente a su eficacia para dar como resultado recuentos bajos de aerobios. Las aguas con tendencias

incrustantes reflejadas en los valores bajos del Índice de Ryznar acumulaban los valores más elevados de aerobios, ocurriendo lo contrario para las aguas con tendencias corrosivas.

Factores propios de cada torre

Las instalaciones con régimen de operación en continuo presentaron valores inferiores de aerobios. Podría ser debido a que el periodo de inactividad de las mismas diera lugar al estancamiento del agua, favoreciendo de este modo la multiplicación de los microorganismos.

De acuerdo con los resultados obtenidos, aquellas instalaciones que tenían depósito registraban los valores inferiores de recuentos de aerobios. Posiblemente, debido al efecto de la desinfección a la que obliga la Administración en caso de existencia de depósito.

Las instalaciones con circuitos complejos presentaron recuentos inferiores de aerobios, posiblemente debido a estancamientos. Los recuentos eran inferiores en las instalaciones que recuperaban agua de lluvia. Estos hechos se podrían explicar por unas aplicaciones más severas de biocida, que no se confirmaron.

La potencia nominal de la torre o condensador pareció influir reduciendo los recuentos de aerobios, lo que se podría explicar por las secciones más elevadas utilizadas en los equipos de mayor potencia, reduciendo así los tramos ciegos o estancamientos.

DETERMINACIONES DE *ODD'S RATIO*:

Resultados frente a recuentos de aerobios:

A la luz de los valores de *Odd's ratio* tomando como límites 1.000 ufc/l para *Legionella* y 10.000 ufc/mL para aerobios, los factores que resultaron tener cierta influencia en el crecimiento de aerobios fueron los sólidos totales en disolución (OR=3,5); concentración de biocida (OR=5,4); la tendencia incrustante del agua representada por el valor del Índice de Ryznar (OR=0,3) y la complejidad del circuito (OR=3,5). De este modo se reforzaron los primeros supuestos obtenidos al observar los estadísticos descriptivos. El resto de parámetros no parecieron influir en los recuentos de aerobios.

Resultados frente a recuentos de *Legionella spp.*:

Los factores que finalmente pudieron influir en los recuentos de *Legionella spp.* fueron la conductividad (OR=4,6) de acuerdo con la bibliografía consultada; el tipo de biocida empleado en caso de contener amonio como materia activa (OR=3,7); la presencia de corrosiones (OR=7,1) factor ya conocido como favorecedor de la presencia de *Legionella spp.* y el año de instalación para aquellas con más de 15 años de antigüedad (OR=9,2). El resto de resultados no permitían afirmar que influyeran en los recuentos de *Legionella spp.*

ANALISIS DE VARIANZA DE LOS DATOS

Una vez realizadas las pruebas pertinentes con todos los factores, los resultados de la tabla *Anova* para la conductividad y concentración de biocida resultaron ser estadísticamente significativos, con unos valores de significación 0,039 y 0,002 para un intervalo de confianza del 95 %. Se confirmó también que se cumplieran con los requisitos de homocedasticidad y normalidad mediante las pruebas de Levene (Sig.=0,201) y Kolmogoroff-Smirnov (Sig.=0,456). Se reafirmó así, la relevancia de estos parámetros, ya mencionada por la bibliografía consultada y la legislación vigente.

A raíz de los resultados de los tests de Tukey para estos factores, se confirmó para la concentración de biocida la existencia de subconjuntos homogéneos para los valores de concentración superiores a las dosis recomendadas por el fabricante (Sig.=1,0). En lo que respecta a la conductividad, se encontraron subconjuntos entre los valores inferiores a 500 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Sig.=0,337).

REALIZACIÓN DE MAPAS CARTOGRÁFICOS

Los parámetros propios de las instalaciones considerados influyentes en el crecimiento de *Legionella spp.* fueron utilizados para clasificar las torres y incluir estas en unos mapas cartográficos de alcance municipal conteniendo otra información relevante como la densidad de población del entorno y las distancias relativas a los núcleos urbanos.

CONCLUSIONES

Del conjunto de resultados observados en el presente estudio se deduce una posible influencia de factores propios de las instalaciones en los recuentos de *Legionella spp.*, tales como la presencia de corrosiones y la edad de las instalaciones (superior a 15 años), y otros relativos a las labores de mantenimiento (en concreto, los biocidas conteniendo como materia activa el amonio).

Con respecto a los recuentos de aerobios, destaca la posible influencia de la complejidad del circuito, los sólidos totales en disolución y la tendencia incrustante del agua de recirculación. Parece ser pues, que existen motivos suficientes para pensar que ciertos aspectos propios de las instalaciones que no están reglamentados por la legislación vigente deberían ser tenidos en cuenta para clasificar aquellas instalaciones con mayor riesgo de propagación de *Legionella spp.* en el ambiente.

Con respecto a la posible relación ente los recuentos de *Legionella spp.* con los de aerobios, no se pudo confirmar en el presente estudio. De aquí se sugiere la idea de que *Legionella spp.* se desarrolla de forma selectiva cuando los recuentos de aerobios no son elevados, hecho que precisaría de futuras investigaciones. De acuerdo con la bibliografía consultada, se confirma la relevancia en el control de *Legionella spp.* de los valores de conductividad y las concentraciones de biocida.

La realización de mapas caracterizando las diferentes instalaciones, en función de los parámetros propios que pueden influir en el riesgo de *Legionella spp.*, son una

herramienta útil para ayudar a identificar de manera rápida aquellas instalaciones que pudieran ser causantes de la dispersión de aerosoles conteniendo la bacteria. También permiten representar la gravedad de la dispersión de dichos aerosoles, en función de la densidad de población del entorno y las distancias relativas a los distintos núcleos urbanos.

AGRADECIMIENTOS

Ángel del Río, Sección de Saneamiento ambiental, de la Delegación Territorial de Lérida (del Departamento de Sanidad y Seguridad Social, Generalitat).

ISOFRED, S.L.

Jordi Graell, Catedrático EU del Departamento de Tecnología de Alimentos, Universidad de Lleida

Montserrat Guerrero Lladós, Cartoteca de la Universitat de Lleida

Natalia Panadés Vega

BIBLIOGRAFIA

ADDISS, D.G., 1989, "Community-acquired Legionnaires' disease associated with a cooling tower: evidence for longer-distance transport of *Legionella pneumophila*.", *American Journal of Epidemiology*, 130:557-568

ALARY, M.; JOLY, J.R.; 1992, "Factors contributing to the contamination of hospital water distribution systems by *Legionella*", *Journal of Infectious Diseases*, 165:565-569.

BARBAREE, J.M.; BREIMAN, R.F.; DUFOUR, A.P.; 1993, *Legionella: current status and emerging perspectives*, American Society for Microbiology, Washington DC.

BENTHAM, R., PRADHAN, m., HAKENDORF, P., WILMOT, P.; 2002, "Using geographical information systems for risk assessment and control of Legionnaires' disease associated with cooling towers"; en MARRE, R.; KWAIK, Y. A.; BARTLETT, C.; CIANCIOFFO, N. P.; FIELDS, B.; FROSCHE, M.; HACKER, J.; LÜCK, P. C.; *Legionella*, ASM Press, Washington D.C.

BUTLER, J.C.; BREIMAN, R. F.; "Legionellosis", en EVANS, A. S.; BRACHMAN, P. S. (eds.); 1998, *Bacterial infection of humans: epidemiology and control*, 3rd ed., Plenum Medical Book Co., Nova York, p. 613-630.

CIRILLO, J.D.; 1999, "Exploring a novel perspective on pathogenic relationships", *Trends Microbiology*, 7:96-98.

- COULBOURNE, J.S.; PRATT, D.J.; SMITH, M.G.; FISHER-HOCH, S.P.; HARPER, D.; 1984, "Water fittings as sources of *Legionella pneumophila* in a hospital plumbing system", *Lancet*, Gener 28;1(8370): 210-213.
- FIELDS, B.; SANDEM, G., BARBAREE, J., MORRIL, W., WADOWSKY, R., WHITE, E; 1989, "Intracellular multiplication of *Legionella pneumophila* in *amoebae* isolated from hospital hot water tanks", *Current Microbiology*, 18: 131-137.
- FIELDS, B.S., 1993, "*Legionella* and protozoa: interaction of a pathogen and its natural host" en BARBAREE, J. M.; BREIMAN, R.F.; DUFOUR, A.P. (eds.); "*Legionella: current status and emerging prespectives*", American Society for Microbiology, Washington, DC, 129-136.
- FIELDS, B.S.; 2002, "*Legionellae* and Legionnaires' Disease", en HURST, C. J.; CRAWFORD, R. L.; KNUDSEN, G. R.; McINERNEY, M. J.; STETZENBACH, L. D. (eds.); *Manual of environmental microbiology*, ASM Press, Washington, Cap. 77.
- FLIERMANS, C.B.; CHERRY, W. B.; ORRISON, L. H.; SMITH, S. J.; TISON, D. L.; POPE, D. H.; 1981, "Ecological distribution of *Legionella pneumophila*", *Applied Environmental Microbiology*, 41: 9-16.
- FLIERMANS, C.B., 1996, "The molecular ecology of *legionellae*", *Trends in Microbiology*, 4:286-290.
- FRAHM, E.; OBST, U.; 1994, "Investigation of the ocurrence of *Legionellae* in a drinking water distribution system by using improved detection techniques", *Vom Wasser*, 82:127-336.
- HOLT J.G; KRIEG N.R.; STANLEY, J.T.; 1994, *Bergey's Manual of determinative Bacteriology*, 9 ed; Ed. Williams & Wilkins, Nova York, 5 vols.
- HORWITZ M.A.; SILVERSTEIN, S.C.; 1980, "The Legionnaires' disease bacterium (*Legionella pneumophila*) multiplies intracellularly in human monocytes", *The Journal of Clinical Investigation*, 66:441-450.
- HUGUES, M.S.; STEELE, T.W.; 1994, "Ocurrence and distribution of *Legionella* species in composted plant materials", *Applied and Environmental Microbiology*, 60:2003-2005.
- KUCHTA, J.M. et al; 1993, "Effect of chlorine on the survival and growth of *Legionella pneumophila* and *Hartmannella vermiformis*", en BARBAREE, J.; BREIMAN, R.; DUFOUR, A. P. (eds.); *Legionella: current status and emerging perspectives*, Washigton, DC, American Society for Microbiology, 5-62.
- LLINARES, M.; SANZ, M.; "*SIG y brotes epidemiológicos*", publicat a la xarxa, Consellería de Sanidad de Valencia, 2004.
- MARCÓ, J., 2005, "Importancia de un correcto mantenimiento de las instalaciones para la prevención de *Legionella*", *Montajes e instalaciones*, 398: 99-103.

- MARRE, R.; KWAIK, Y.A.; BARTLETT, C.; CIANCIO, N.P.; FIELDS, B.; FROSCHE, M.; HACKER, J.; LÜCK, P. C.; 2002, *Legionella*, ASM Press, Washington D.C.
- MARTÍ, J.M^a, 2000, *Stenco water treatment Tratamientos de aguas Tractaments d'aigües*, Barcelona, Stenco.
- OHRANT, O., 2006, “Légionellose: aspect réglementaire pour prévenir le risque lié aux tours aéroréfrigérantes”; *Revue Generale du froid*; Gener/Febrer, 56-61.
- Organización Mundial de la Salud, 2002, *Guidelines for drinking-water quality. Addendum Microbiological agents in drinking water*; 2^a ed., OMS, Ginebra.
- ORTIZ-ROQUE, C.M.; HAZEN T.C.; 1987, “Abundance and distribution of *Legionellaceae* in Puerto Rican waters”, *Applied and Environmental Microbiology*, 53(9):2231-6.
- STEELE, T.W.; McLENNAN, A.M.; 1996, “Infection of *Tetrahymena pyriformis* by *Legionella longbeachae* and other *Legionella* species found in potting mixes”, *Applied and Environmental Microbiology*, 62:1081-1083.
- STRAUS, W.L.; PLOUFFE, J.F.; FILE, T.M.; LIPMAN, H.B.; HACKMAN, B.H.; SALSTROM, S.J.; BENSON, R.F.; BREIMAN, R.F.; 1996, “Risk factors for domestic acquisition of Legionnaires’ disease”, *Archives of internal medicine*”, 156 (15):1685-1692.
- TISON, D.L.; POPE, D.H.; CHERRY, W.B.; FLIERMANS, C.B.; 1980, “Growth of *Legionella pneumophila* in association with blue-green algae (*Cyanobacteria*)”, *Applied and Environmental Microbiology*, 39 (2):456-459.
- VERISSIMO, A.; MARRAO, G.; GOMES DA SILVA, F.; 1991, ”Distribution of *Legionella spp.* in hydrothermal areas in continental Portugal and the island of Sao Miguel, Azores”, *Applied Environmental Microbiology*, 57:2921-2927.

Páginas web consultadas:

www.baltaircoil.com
www.cdc.gov
www.dhs.vic.gov.au/health/environment/downloads/linkandsurvey_feb05.pdf.
www.isciii.es/jsps/centros/epidemiologia/boletinesSemanal.jsp
www.eurosurveillance.org
www.ewgli.org
www.gencat.net
www.icc.es
www.journals.asm.org
www.legionella.org
www.mtas.es
www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/
www.gencat.net/salut/depsan/units/sanitat/html/ca/publicacions/spbec.htm
www.msc.es