Seroprevalencia de *Legionella pneumophila* en Santiago: evidencias de exposición durante la infancia

Teresa Lobos M.¹; Pablo A. Vial C.²; Paula Piemonte L.³;
Jimena Ovalle P.⁴; Rodrigo Moreno B.⁵; Catterina Ferreccio R.⁶

Evidence of *Legionella pneumophila* infection in Chilean subjects under twenty years of age

Evidence of past exposure to *L. pneumophila* was evaluated in a 120 Chilean subjects less than 20 years old stratified by socioeconomic background and age. Serum samples were analyzed for *L. pneumophila* antibodies by indirect immunofluorescence using serogroup 1 to 6 antigens; titers equal or greater than 1:64 were considered positive. Overall, 12 out of 120 samples (10%) were positive for *L. pneumophila* antibodies and different prevalence rates were recorded among individuals of low (0/40), middle (2/40; 5%) and high (10/40; 25%) socioeconomic groups. The highest titers observed in this healthy population based survey were 1:128. High socioeconomic background is associated with highest prevalence of anti-*L. pneumophila* antibodies in Chilean population.

Key words: *Legionella pneumophila*, fluorescence immunoassay, antibodies, prevalence.

La enfermedad del legionario, clínicamente caracterizada como una neumonía atípica, fue descrita por primera vez en 1976¹; el año siguiente se descubrió su agente etiológico², *Legionella pneumophila*, un bacilo Gram negativo, aerobio obligado, de crecimiento fastidioso. Desde entonces se han descrito al menos 20 especies del género *Legionella* y 12 serogrupos de *L. pneumophila*. Las bacterias de este género tienen una amplia distribución y alcanzan altas concentraciones en ambientes acuáticos tales como agua de lagos y ríos, agua potable, termos de agua caliente y sistemas de enfriamiento de aire acondicionado³.

La epidemiología de *L. pneumophila* y su importancia como patógeno humano ha sido estudiada principalmente por evaluaciones serológicas³⁻⁶, determinándose que 2 a 30% de la población adulta ha tenido exposición a este agente evidenciada por presencia de anticuerpos específicos y que ella es infrecuente en la población pediátrica. En coincidencia con esta información se ha determinado que *L. pneumophila* es el agente causal de 5 a 10% de las neumonías del adulto y sólo 1% de las que ocurren en menores de 15 años⁵⁻⁹.

Considerando el creciente interés por conocer la magnitud epidemiológica de los patógenos que producen neumonía y la creciente demanda por técnicas de diagnóstico etiológico de estas infecciones, el presente estudio tuvo por objetivo determinar, mediante un marcador serológico, la exposición a *L. pneumophila* en la población menor de 20 años de Santiago de Chile y estandarizar un ensayo serológico que permita identificar los casos de infección aguda.

Población y métodos

Para la determinación de seroprevalencia se utilizó una muestra aleatoria de una colección de sueros disponible en

1. Departamento de Medicina y Centro de Investigaciones Médicas, Universidad Católica de Chile.
 2. Departamento de Pediatría y Centro de Investigaciones Médicas, Universidad Católica de Chile.
 3. Becada en Microbiología, Universidad de Chile.
 4. Centro de Investigaciones Médicas, Universidad Católica de Chile.
 5. Departamento de Enfermedades Respiratorias, Universidad Católica de Chile.
 6. GREDIS (Grupo para el Desarrollo de Investigación en Salud).
- Este proyecto contó con financiamiento del proyecto IDUC-91 de Child Health Foundation.

el Centro de Investigaciones Médicas. Estos sueros fueron obtenidos durante el año 1991 en un muestreo de la población de Santiago realizado por visitas al hogar, en la que se incluyó una encuesta socioeconómica, de hábitos higiénicos y de salud. El único criterio de exclusión fue haber padecido una infección respiratoria baja en los tres meses previos a la toma de la muestra de sangre. La determinación de nivel socioeconómico (NSE) se realizó mediante escala de Grafar modificada. Se incluyeron 120 individuos, distribuyéndose 40 en cada NSE (bajo, medio y alto). En cada subgrupo de NSE, la muestra se distribuyó proporcionalmente en cuatro grupos de edades: 0 a 5, 6 a 10, 11 a 15 y 16 a 20 años.

La detección de anticuerpos anti-*L. pneumophila* se realizó con la técnica de inmunofluorescencia indirecta, utilizando antígenos polivalentes de serogrupos 1 a 6 (Organon Teknika, Holanda). Las muestras fueron inicialmente analizadas en dilución 1:8 y aquellas que dieron resultado positivo fueron tituladas. Puesto que el ensayo tiene reacciones inespecíficas a títulos bajos, se eligió el de 1:64 como valor de corte para designar una muestra como positiva¹⁰.

Resultados

En el conjunto de las 120 muestras analizadas, doce dieron resultados positivos para anticuerpos anti-*L. pneumophila*, dos de las cuales corresponden a personas de NSE medio y diez al nivel alto (tabla 1). La prevalencia en NSE alto es significativamente mayor que la de los NSE medio y bajo ($p = 0,02$ y $p = 0,01$, respectivamente). La seroprevalencia por grupo de edades muestra que la exposición al agente comienza a aparecer después de los 5 años de vida (tabla 2), sin encontrarse diferencias significativas en los grupos etarios mayores.

La distribución de los títulos obtenidos en las 120 muestras analizadas fue 1:8 o menores en 61 (50,8%) de ellas, 1:16 en 44 (36,7%), 1:32 en 3 (2,5%) y, como hemos señalado, 1:64 o mayor en 12 (10%) de los casos, siendo el título máximo observado 1:128, en 5 de estas últimas.

Comentario

Este estudio muestra una seroprevalencia global de *L. pneumophila* de 10% en la población menor de 20 años. Este resultado no es significativamente diferente, como podría haberse esperado, de la seroprevalencia de 5% encontrada en 100 adultos en Santiago¹¹ con la misma técnica serológica, idéntico valor de corte y distribución proporcional de los grupos por NSE, lo que sugiere una exposición similar al agente en diferentes grupos etarios, sin que se observe un

efecto acumulativo. Este último fenómeno podría deberse a que la respuesta inmune humoral contra *L. pneumophila* sea transitoria, disminuyendo progresivamente después de la exposición al agente, característica que sería compartida con otros patógenos bacterianos que no inducen una respuesta inmune humoral permanente como *Salmonella typhi*, *Vibrio cholera* y *Mycoplasma pneumoniae*. Los pocos casos descritos de neumonía por *L. pneumophila* en Chile¹¹⁻¹⁴ han afectado a adultos y no se han informado casos en niños. Este hecho podría ser explicado tanto por la naturaleza esporádica (no epidémica) de la infección en nuestro medio, como también por la existencia de formas clínicas atípicas o bien asintomáticas, que podrían ser más frecuentes en niños. *Mycoplasma pneumoniae*, otro agente causal de neumonía atípica, ha mostrado un comportamiento biológico diferente según la edad del individuo afectado, teniendo una expresión clínica más severa en el adulto¹⁵.

Al analizar la seroprevalencia por grupos socioeconómicos destaca la alta exposición a *L. pneumophila* en NSE alto, significativamente más alta que en otros NSE. Por cuanto *Legionella pneumophila* se transmite principalmente por

Tabla 1

Seroprevalencia de anticuerpos anti-*Legionella pneumophila* según nivel socioeconómico en población menor de 20 años, Santiago, Chile

	Nivel socioeconómico			Global
	Bajo	Medio	Alto	
N (+) / Total	0/40	2/40	10/40	12/120
Prevalencia	0	5%	25%	10%

Tabla 2

Seroprevalencia de anticuerpos anti-*Legionella pneumophila* según grupo etario y nivel socioeconómico

Edad	Nivel socioeconómico			Prevalencia Global
	Bajo	Medio	Alto	
0 - 5 a	0/10	0/10	0/10	0 %
6 - 10 a	0/10	0/10	3/10	10 %
11 - 15 a	0/10	1/10	3/10	13 %
16 - 20 a	0/10	1/10	4/10	17 %

aerosoles y, por otra parte, la exposición a sistemas de aire acondicionado¹⁶⁻¹⁸, como el uso de calefactores eléctricos (en oposición a los de gas) para calentar el agua empleada en el aseo personal^{19,20}, han sido fuentes de numerosos brotes de la infección, es muy posible que la mayor prevalencia en NSE alto refleje mayor exposición a dichos factores de riesgo. De hecho, los sistemas de aire acondicionado y los calefactores eléctricos sólo han sido introducidos recientemente en nuestro país, y por su alto costo, incorporados preferentemente en inmuebles a los que sólo tiene acceso la población de más capacidad económica.

La literatura actual no cuestiona el uso de determinación de anticuerpos anti-*L. pneumophila* como medio para estudiar la exposición previa a este agente, cuya especificidad es 99% (utilizando un valor de corte de 1:64), con sensibilidad cercana a 80%^{21,22}. Sin embargo, si bien el método es útil para estudios epidemiológicos, su interpretación como herramienta para el diagnóstico de infección aguda es más compleja. De acuerdo a los resultados que se comentan y otros previos¹¹, en Chile no se observan títulos mayores de 1:128 en poblaciones sanas, sin antecedentes de afecciones respiratorias en los últimos tres meses. De este modo parece válido adoptar como criterio serológico de infección reciente un título igual o mayor a 1:256, criterio concordante con el del Centro para Control de las Enfermedades, de Atlanta, E.U.A. Esta prueba tiene las ventajas de ser fácil, de rápida ejecución y, además, haber sido validada en nuestra población, si bien debe tenerse presente que ella está muy lejos de ser el ideal, tanto por limitaciones biológicas como metodológicas. Desde el punto de vista biológico, conviene recordar que hasta 25% de los pacientes infectados pueden no desarrollar respuesta humoral inmune y, en aquellos en que ésta ocurre, puede tardar hasta tres meses (promedio dos semanas) en hacerse detectable³; desde el punto de vista metodológico, como en la mayoría de las pruebas de inmunofluorescencia, la sensibilidad y la especificidad de ésta también dependen en gran parte del entrenamiento de quien realiza la lectura; por otro lado los antígenos de superficie de *L. pneumophila*, utilizados para efectuarla, comparten determinantes antigénicos con los lipopolisacáridos de bacterias del género *Pseudomonas* y *Bacteroides*^{23,24}. Los resultados expuestos sugieren la conveniencia de em-

plear pruebas complementarias para el diagnóstico de infección aguda, tales como antígeno en orina, inmunofluorescencia directa o cultivo de muestras de secreciones respiratorias^{21,22}; la detección directa de *Legionella pneumophila* mediante inmunofluorescencia, en muestras obtenidas por lavado broncoalveolar, ha demostrado ser una técnica con alta sensibilidad y especificidad (T. Lobos, R. Moreno, datos no publicados).

Resumen

Se evaluó la exposición previa a *Legionella pneumophila* de un grupo de 120 sujetos chilenos, sanos, menores de 20 años, estratificados según nivel socioeconómico. Las muestras de suero fueron analizadas, para la detección de anticuerpos de *Legionella pneumophila* serogrupos 1 a 6, por técnica de inmunofluorescencia indirecta considerando positivos títulos iguales o mayores a 1:64. Doce de los 120 sujetos fueron positivos (10%); se observaron diferentes grados de seroprevalencia según niveles socioeconómicos: 0/40 para el más bajo; 2/40 (5%) en el nivel medio y 10/40 (25%) alto. El mayor título registrado fue 1:128. El nivel socioeconómico alto está asociado con la prevalencia más alta de anticuerpos anti-*Legionella pneumophila* en población chilena.

(Palabras clave: *Legionella pneumophila*, fluorescencia, inmunoensayo, anticuerpos, prevalencia.)

Referencias

1. Fraser DW, Tsai TR, Orenstein W y col.: Legionnaires disease: description of an epidemic of pneumonia. N Engl J Med 1977; 297:1189-1197.
2. McDade JE, Shepard CC, Fraser DW y col.: Legionnaires disease: isolation of a bacterium and demonstration of its role in other respiratory diseases. N Engl J Med 1977; 297: 1197-1203.
3. Thornsberry C, Balows A, Feeley JC y col (eds.): Legionella. Proceedings of the 2nd International Symposium. American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1984.
4. Renner ED, Helms CM, Hierholzer WJ y col.: Legionnaires disease in pneumonia patients in Iowa. A retrospective seroepidemiologic study, 1972-1977. Ann Intern Med 1979; 90: 603-606.
5. Foy HM, Broome CV, Hayes PS. y col.: Legionnaires disease in a prepaid medical-care group in Seattle 1965-75. Lancet 1979; i: 767-770.

6. Andersen RD, Lauer BA, Fraser DW y col.: Infections with *Legionella pneumophila* in children. J Infect Dis 1981; 143:386-389.
7. Muldoon RL, Jaeger DL, Kiefer HK: Legionnaires disease in children. Pediatrics 1981; 67: 329-332.
8. Mundel G, Goldberg A, Boldur I y col.: Legionnaires disease in Israel: serological evidence of childhood infection. Isr J Med Sci 1983; 19:380-382.
9. Orenstein WA, Overturf GD, Leedom JM y col.: The frequency of *Legionella* infection prospectively determined in children hospitalized with pneumonia. J Pediatr 1981; 99: 403-406.
10. Storch G, Hayes PS, Hill DL y col.: Prevalence of antibodies to *Legionella pneumophila* in middle-aged and elderly Americans. J Infect Dis 1979; 140:784-788.
11. Lobos T, Moreno B, Carstens M y col.: Seroprevalencia de *Legionella pneumophila* en Santiago de Chile. Rev Med Chile; 1993; 121:1123-1127.
12. Soto PF: Neumonitis por *Legionella*: comunicación de dos casos. Enfermedades Respiratorias y Cirugía Torácica (Santiago, Chile) 1988; 4: 51.
13. Gonzalez P, Vicencio M, Maldonado A: Neumonía por *Legionella*: primera comunicación de un caso diagnosticado en Chile. Enfermedades Respiratorias y Cirugía Torácica (Santiago, Chile) 1987; 3: 366-371.
14. Carstens M, Muñoz V, Labarca J y col.: Legionelosis aguda, caso clínico. Libro de resúmenes del XXV Congreso Chileno de Enfermedades Respiratorias, Santiago, Octubre 1992; p 76.
15. Cherry J: Mycoplasma and Ureaplasma Infections. En: Pediatrics Infectious Diseases, Fiegin y Cherry eds. 2nd edition, WB Saunders Co, Philadelphia, 1987; pp 1896-1924.
16. Dondero TJ, Rendtorff RC, Mallison GF y col.: An outbreak of legionnaires disease associated with a contaminated air-conditioning cooling tower. N Engl J Med 1980; 302:365-370.
17. Cordes LG, Fraser DW, Skaliy P y col.: Legionnaires disease outbreak at an Atlanta, Georgia, country club: evidence for spread from an evaporative condenser. Am J Epidemiol 1980; 111: 425-431.
18. Johnson JT, Yu V, Best MG y col.: Nosocomial legionellosis in surgical patients with head and neck cancer: implications for epidemiological reservoir and mode of transmission. Lancet 1985; ii: 298-300.
19. Alary M, Joly JR: Risk factors for contamination of domestic hot water systems by *Legionella*. Appl Environ Microbiol 1991; 57: 2360-2367.
20. Lee TC, Stout JE, Yu VL: Factors predisposing to *Legionella pneumophila* colonization in residential water systems. Arch Environ Health 1988; 43:59-62.
21. Edetstein PH, Meyer RD: Legionnaires disease: a review. Chest 1984; 85: 114-120.
22. Zuravleff JJ, Yu VL, Shonard JW y col.: Diagnosis of legionnaires disease. An update of laboratory methods with emphasis on isolation by culture. JAMA 1983; 250: 1981-1985.
23. Collins MT, McDonald J, Hoiby N y col.: Agglutinating antibody titers to members of the family Legionellaceae in cystic fibrosis patients as a result of cross-reacting antibodies to *Pseudomonas aeruginosa*. J Clin Microbiol 1984; 19:757-62.
24. Katz SM, Holsclaw DS: Serum antibodies to *legionella pneumophila* in patients with cystic fibrosis. JAMA 1982; 248: 2284-2288.

AVISO A LOS AUTORES

Con el objeto de dar prioridad a los trabajos de investigación, en vista de las limitaciones de espacio de la Revista Chilena de Pediatría, el Comité Editorial ha acordado restringir la impresión de casos clínicos a un máximo de dos por cada número.