



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
TRABAJO DE INVESTIGACION



LEGIONELLA PNEUMOPHILIA EN EL CONDENSADO DE LOS SISTEMAS
DE CLIMATIZACION Y EN EL AMBIENTE DE LAS BIBLIOTECAS
CENTRALES DE LA UNIVERSIDAD DE CARABOBO DURANTE EL
PERIODO DE MAYO A JULIO DEL AÑO 2009.

Autores:
Flores Beatriz
Fonseca Natalia
Tutor: Nairalith Ramos
Asesora: Aura Palencia

Valencia, octubre de 2009



reapertura

"honramos el pasado, hacemos el presente, construimos el futuro"

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
 ESCUELA DE BIOANALISIS
 DEPARTAMENTO DE INVESTIGACION Y DESARROLLO PROFESIONAL
 ASIGNATURA TRABAJO DE INVESTIGACION

INSTRUCTIVO DE EVALUACION DEL CUARTO LAPSO

Título del Trabajo:

Detección de *Legionella pneumophila* en las Bibliotecas Centrales de la Universidad de Carabobo durante el período de Mayo a Julio del 2009.

La calificación obtenida en la presentación y defensa del Trabajo fue:

Estudiante	P. Escrita (30%)	Diseño de la P. (20%)	P. Oral (30%)	Defensa y Discusión (20%)	Total
Br. FLORES BEATRIZ	4,80	3,7	5,40	3,8	17,7
Br. FONSECA NATALIA	4,80	3,7	5,70	3,6	17,8
Br.					

Nombre	Nombre	Nombre:
GERMAN GONZALEZ M.	Teresita Luigi S.	Aura Palencia
C.I.: 10.105.054	C.I.: 10.219.726	C.I.: 11.147.392
 Firma	 Firma	 Firma

Valencia, 28 de Octubre de 2009

Instrumento Diseñado por las Profesoras Rosalina González y Yunedy Marcano. Actualizado por las Profesoras Vita Calzolaio y Amarilly Perelli

Estas notas corresponden al 70% de la Evaluación del 4to Lapso de la Asignatura Trabajo de Investigación

CERTIFICACION DEL TUTOR

Yo, Nairalith Ramos, portador de la cédula de identidad No. V-11.271.318, por medio de la presente certifico que he tenido conocimiento del trabajo de investigación que lleva por título: “LEGIONELLA PNEUMOPHILIA EN EL CONDENSADO DE LOS SISTEMAS DE CLIMATIZACION Y EN EL AMBIENTE DE LAS BIBLIOTECAS CENTRALES DE LA UNIVERSIDAD DE CARABOBO DURANTE EL PERIODO DE MAYO A JULIO DEL AÑO 2009”, desde su inicio hasta su culminación. El mismo fue realizado por los bachilleres: Beatriz Flores, y Natalia Fonseca, portadores de la Cédula de Identidad No. V-18.999.558 y V-18.611.270, respectivamente. Considero que el presente estudio reúne los requisitos suficientes para ser sometido a evaluación.

Nairalith Ramos
V-11.271.318

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar a Dios por darnos la oportunidad de vivir y de crecer en este hermoso planeta, lleno de oportunidades y bendiciones, solo con su ayuda toda es posible. A nuestros padres por ser nuestra principal fuente de apoyo incondicional, desinteresado, a través de ellos nacimos y para ellos este logro.

Agradecidos eternamente con la Universidad de Carabobo por permitirnos formarnos y ejecutar esta tesis en sus instalaciones, específicamente en el Departamento de Microbiología.

A nuestros profesores (Nairalith ramos, Aura Palencia, Luis Medina) quienes con su conocimiento y su excelente profesionalismo nos motivaron a la ejecución exitosa de este trabajo de investigación.

DEDICATORIA

Beatriz Flores y Natalia Fonseca:

A Dios, por darnos la oportunidad de vivir y por estar con nosotros en cada paso que damos, por fortalecer nuestro corazón e iluminar nuestra mente y por haber puesto en nuestro camino a aquellas personas que han sido soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

Beatriz Flores

A mis padres Carmen Lara y a Raúl Flores, por darme la vida, quererme mucho, creer en mí y porque siempre me apoyaron. Papá y Mamá gracias por darme una carrera para mi futuro, todo esto se lo debo a ustedes. A mi abuela, por quererme y apoyarme desde el cielo, esto también te lo debo a ti. A mi hermano Diego Flores, por estar conmigo día a día y apoyarme siempre, los quiero mucho.

Natalia Fonseca

A mis padres Beatriz Páez y Argenis Fonseca, por darme la vida, quererme mucho, creer en mí y porque siempre me apoyo. Mamá gracias por darme una carrera para mi futuro, todo esto te lo debo a ti. A mi abuela, por quererme y apoyarme, este logro también te lo debo a ti.

INDICE GENERAL

	Pág.
Agradecimientos	iv
Dedicatoria	v
Índice de tablas	vii
Resumen	ix
Introducción	
Objetivo General	1
Objetivos Específicos	8
Material y métodos	9
Tipo de investigación	9
Población y muestra	9
Procesamiento metodológico	10
Análisis de los datos	12
Resultados	13
Discusión	21
Conclusiones	23
Referencias bibliográficas	24

INDICE DE TABLAS

Tabla	Descripción	Página
1	Temperatura y humedad de las bibliotecas centrales de la Universidad de Carabobo	13
2	Crecimiento bacteriano en las placas sembradas con el agua condensada de los sistemas de climatización de las bibliotecas centrales de universidad de Carabobo.	14
3	Microorganismos aislados del ambiente de las bibliotecas centrales de universidad de Carabobo.	14
4	Microorganismos aislados del ambiente de la Biblioteca de la Facultad de Ingeniería.	15
5	Crecimiento bacteriano en placas impactadas en el ambiente de la Biblioteca de la Facultad de Ingeniería	15
6	Crecimiento bacteriano en placas impactadas en el ambiente de la Biblioteca de la Facultad de Ciencias y Tecnología.	16
7	Microorganismos aislados del ambiente de la Biblioteca de la Facultad de Ciencias y Tecnología.	16

8	Crecimiento bacteriano en placas impactadas en el ambiente de la Biblioteca de la Facultad de Ciencias de la salud.	17
9	Microorganismos aislados del ambiente de la Biblioteca de la Facultad de Ciencias de la salud.	17
10	Crecimiento bacteriano en placas impactadas en el ambiente de la Biblioteca de la Facultad de Ciencias jurídicas y políticas.	18
11	Microorganismos aislados del ambiente de la Biblioteca de la Facultad de ciencias jurídicas y políticas.	18
12	Crecimiento bacteriano en placas impactadas en el ambiente de la Biblioteca de la Facultad de Ciencias de la Educación.	19
13	Microorganismos aislados del ambiente de la Biblioteca de la Facultad de Ciencias de la Educación.	19
14	Crecimiento bacteriano en placas impactadas en el ambiente de la Biblioteca de la Facultad de Ciencias económicas y sociales.	20
15	Microorganismos aislados del ambiente de la Biblioteca de la Facultad de Ciencias económicas y sociales.	20

RESUMEN

Legionella pneumophila en el condensado de los sistemas de climatización y en el ambiente de las bibliotecas centrales de la Universidad de Carabobo durante el periodo de mayo a julio del año 2009.

Autores: Beatriz Flores y Natalia Fonseca

Tutor: Nairalith Ramos.

Lugar: Departamento de Microbiología-Universidad de Carabobo

La legionelosis, es una enfermedad infecciosa, que se produce por vía aérea. El contagio viene dado principalmente por aquellos aerosoles generados por aparatos de aires acondicionados, humidificadores, equipos de terapia respiratoria, entre otros. El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia de *Legionella pneumophila* en el condensado de los sistemas de climatización y en el ambiente de las bibliotecas centrales de la Universidad de Carabobo durante el periodo de mayo a julio del año 2009. El estudio fue explorativa descriptiva, no experimental y transversal. Se seleccionaron las bibliotecas centrales de las seis facultades de la Universidad de Carabobo. La determinación de la bacteria se efectuó mediante métodos estandarizados, como el cultivo en agar-BCYE (*buffered charcoal yeast extract*), y en agar amortiguado con carbón y extracto de levadura que contiene L- cisteína, lupa esterooscópica y termohigrómetro de sensor. Se observó crecimiento bacteriano en las bibliotecas FAI (58%), FCS (25%), FACE (80%), FACES (18%), de las cuales no se detectó el microorganismo en estudio *Legionella pneumophila*, sin embargo se logró el aislamiento de levaduras y bacilos Gram positivos. En conclusión la contaminación biológica en ambientes interiores han recibido una importante atención donde la presencia de microorganismos pueden ser causante de naturaleza infecciosa y alérgica.

Palabras clave: Condensado, sistemas de climatización, *Legionella pneumophila*.

INTRODUCCION

En los últimos años los problemas de contaminación biológica en ambientes interiores han recibido una importante atención, admitiéndose en general que los microorganismos presentes en el aire interior pueden causar problemas de naturaleza infecciosa y alérgica. Entre estos microorganismos encontramos diversos tipos de bacterias como estafilococos, estreptococos y legionelas, siendo ésta última el agente causal de la enfermedad de la legionelosis (Keller, 2001). (1)

La legionelosis, es una enfermedad infecciosa, descubierta en 1976, en la ciudad estadounidense de Filadelfia (Pennsylvania) la cual es producida por una bacteria gramnegativa en forma de bacilo, aerobia facultativa capaz de sobrevivir en un amplio rango de condiciones físico-químicas multiplicándose entre 20°C y 45°C siendo su temperatura óptima de crecimiento de 35°C-37°C (Ulloa, 2005). (2). La *Legionella* es considerada una bacteria ambiental, ya que se encuentra de forma natural en los medios acuáticos, tales como ríos, lagos u otros reservorios, generalmente en concentraciones muy bajas. Desde estos nichos naturales pasa a otros artificiales tales como abastecimientos públicos de agua, sistemas de refrigeración, depósitos de agua, entre otros (Roncoroni y García, 2002). (3). Para que esto sea posible la bacteria tiene que colonizar, fundamentalmente a través de las redes de distribución de agua potable de las ciudades, los sistemas de agua sanitaria u otros sistemas que requieren agua para su funcionamiento, como torres de refrigeración y sistemas de distribución de agua sanitaria. Estas instalaciones en ocasiones, favorecen el estancamiento de agua y acumulación de productos que sirven de nutrientes para la bacteria como lodo, materia orgánica, material de corrosión y amebas, que junto con la temperatura favorece la multiplicación de *Legionella* hasta concentraciones infectantes para el hombre. A partir de estos lugares, concentraciones importantes de la bacteria puede alcanzar otros puntos del sistema, en los que si existe un mecanismo productor de aerosoles pudiendo así la

bacteria dispersarse en el aire. (4) lo que posibilita la entrada de la bacteria en las vías respiratorias del hombre, con el consiguiente riesgo de infección (Farjas-Abadia, 2001). (5)

La transmisión de la enfermedad se produce por vía aérea, al ser inhalada la bacteria, la cual es transportada por el aire dentro de pequeñas gotas de agua que provienen de aparatos productores de aerosoles que contienen agua contaminada por *Legionella*, sin que exista evidencia de transmisión persona-persona (Vilaseca, 2004).(6) El contagio viene dado principalmente por aquellos aerosoles generados por aparatos de aires acondicionados, humidificadores, equipos de terapia respiratoria, entre otros. Encontrando que las instalaciones mas frecuentes contaminadas por legionelas y a su vez identificadas como fuentes de infección de las misma son los sistemas de agua sanitaria , caliente y fría, torres de refrigeración y condensadores evaporativos tanto en hospitales como hoteles u otros tipos de edificios (Marcos, 1999).(4)

Por lo general, este patógeno penetra por inhalación en el pulmón afectando principalmente a los alvéolos y bronquiolos terminales, donde son fagocitados por los macrófagos alveolares y son introducidos en forma individual dentro unas vesículas u organelas especializadas, los fagosomas. Después de la fagocitosis se inhibe la acidificación normal de los fagosomas y la fusión con los lisosomas siendo éstas las organelas encargadas de eliminar determinadas partículas tóxicas en el macrófago, eludiendo así los mecanismos microbicidas. Las bacterias se multiplican dentro de las vacuolas hasta que son numerosas; las células se lisan, liberan la progenie bacteriana e infectan a otros macrófagos. (Tamayo, 1999). (7)

Actualmente se reconocen dos formas clínico-epidemiológicas de la infección por *Legionella*: “enfermedad de los legionarios”, o forma neumónica y “fiebre de Pontiac”, forma no neumónica. La enfermedad del legionario se trata de una afección generalmente grave producida tras un período de incubación de 2-10 días, aparece un cuadro inespecífico con fiebre alta (39-41 °C), escalofríos, cefalea, tos, mialgias y malestar general. Rápidamente se producen los infiltrados celulares, afectando a los

alvéolos pulmonares. La Fiebre de Pontiac es una enfermedad gripal aguda no asociada a la neumonía. Los síntomas se manifiestan de manera brusca tras 5-6 horas de incubación, siendo las manifestaciones más frecuentes fiebre, escalofríos, cefaleas y mialgias localizadas mientras que los pacientes se reestablecen espontáneamente en un término de 2 a 5 días. En algunas ocasiones las afecciones pulmonares pueden ir acompañadas de diarrea, hiponatremia y alteraciones del estado mental, como confusión, desorientación y letargia (Benenson, 2000). (8) La incidencia de la enfermedad clínicamente significativa es superior en hombres mayores de 55 años de edad. Los factores asociados con riesgo elevado incluyen tabaquismo, bronquitis crónica y enfisema, esteroides y otros tratamientos inmunosupresores como el trasplante renal, quimioterapia del cáncer y diabetes mellitus (López, 2006). (9)

Para realizar un diagnóstico adecuado de *Legionella pneumophila* se requieren pruebas específicas de laboratorio que se realizan a partir de una muestra del tracto respiratorio, de la orina, la sangre, los líquidos corporales o heridas. El diagnóstico microbiológico se puede realizar mediante métodos directos; para ello, se requiere aislar el microorganismo a partir de las muestras obtenidas del paciente y posteriormente confirmar el diagnóstico por métodos serológicos, genéticos o cromatografía de gases. El diagnóstico microbiológico es complejo y requiere de un medio especial denominado agar-BCYE (buffered charcoal yeast extract), que requiere de 3 a 5 días aunque se aconseja prolongar el cultivo por la posibilidad de algunos aislamientos tardíos. Los métodos indirectos, como la detección serológica de anticuerpos, por inmunofluorescencia (IFA), ELISA y microaglutinación son los más usados y se requiere entre 4 y 8 semanas para poder constatar un aumento del título de anticuerpos cuatro veces superior al inicial y en edades avanzadas la seroconversión puede requerir incluso hasta 14 semanas. Estos métodos indirectos tienen más utilidad para los estudios epidemiológicos que para realizar un diagnóstico inmediato. De las pruebas disponibles, parece que la más específica es el aislamiento en el cultivo de las especies de *Legionella* de cualquier muestra del tracto respiratorio. Aun así, ninguna de las pruebas de laboratorio tiene un 100% de

sensibilidad, por lo que es aconsejable realizar varias pruebas para que el diagnóstico sea adecuado (Farjas-Abadia, 2001). (5)

En la mayoría de países de Europa y en EE.UU, la declaración de casos de legionelosis comenzó a aumentar de forma notable en la década de los noventa (Falco, 2004) reportándose en 1999, en Cataluña, España y Europa 221, 430 y 2260 casos, respectivamente. Un mayor número de casos ha sido reportados en países como Bélgica, Dinamarca, Países Bajos, Eslovenia, Suiza y Grecia donde el 9,1% de los casos fueron nosocomiales, el 31,8% pertenecieron a brotes comunitarios, el 13,5% se asociaron a viajes al extranjero, el 7,1% a viajes en el país de residencia y el 38,6% restante, fueron casos esporádicos (Martínez, 2002).(10)

A Continuación se describirán una variedad de estudios que permite observar la estrecha relación que presenta esta enfermedad con las torres de enfriamiento:

García, Munuera y Guillén, en la ciudad de Sevilla mediante su investigación logran hallazgos de *Legionella* en aguas procedentes de 11 hoteles muestreados en dicha localidad; las muestras de agua de estos hoteles fueron tomadas de diferentes puntos (agua fría, caldera, sistema de aire acondicionado, sistema de riego, fuentes ornamentales), pudiendo aislar *Legionella* en ellas, donde las cepas aisladas fueron del serogrupo 1, siendo el subtipo OIda el más frecuente. (11)

Igualmente Portero y Joseph en España, señalan que para finales de junio y los primeros días de julio un brote grande y explosivo de Legionelosis ocurrió en Murcia, asociado con 745 casos de neumonía de los cuales 315 han sido confirmados como Legionelosis por detección de antígeno de *Legionella* en la orina. Las entrevistas con los pacientes indican que los casos habían visitado el centro de la ciudad en la última semana de junio o los primeros días de julio, concretándose que la posible fuente de infección se trataba de una torre de enfriamiento ubicado en unos de los sitios de compras del centro de la ciudad.(12)

Pontrelli, Rota y Scaturro mediante la realización de un estudio con el propósito de identificar las posibles fuentes de exposición a *Legionella*, de los 15 casos que se reportaron con enfermedad del legionario entre agosto y octubre de 2003 en el 9º distrito de Roma, logran demostrar genotípicamente y fenotípicamente del análisis en humano y en el medio ambiente que trataba de la cepa de *L. pneumophila* serogrupo 1, hallándose un riesgo significativamente mayor de enfermedad entre las personas que frecuentan una tienda por departamentos ubicados en ese distrito debido a que se aisló en la torre de enfriamiento de la misma el causante de esta patología, *Legionella pneumophila*. Llegando a la conclusión que la torre de enfriamiento de esta tienda fue la fuente de infección en estos 15 pacientes reportados entre agosto y octubre del 2003. (13)

Según Tamayo se reporta en Bélgica la existencia de 4 casos de la enfermedad de legionarios, relacionando las infecciones de los mismos por la permanencia de al menos una noche en un hotel ubicado en centro del país. Se confirmó la enfermedad por un cultivo y/o detección del antígeno urinario y /o serología. Se refirió como posible fuente de infección una fuente decorativa productora de aerosoles presente en uno de los restaurantes del hotel. Las tomas de muestras de agua fueron tomadas de los grifos, duchas y calderas. El rango de temperatura de agua era de 42 °C a 46 °C posiblemente esta temperatura haya facilitado la contaminación de la misma.(7)

Por último García de Olalla, Gracia y Rius, en España reportan en su trabajo la asociación de un brote comunitario de neumonía por *Legionella* originado en agosto del 2004 con las torres de refrigeración de un hospital ubicado en Barcelona, donde dichas torres de refrigeración estacionales situadas en el centro sanitario de Vallarica se halló las cepas de *L. pneumophila* encontrada tanto en los pacientes como las aisladas en las muestras ambientales, lo cual permitió establecer la implicación de las mencionadas torres como causa de dicho brote.(14)

En la actualidad, la enfermedad de los legionarios es una neumonía existente en los cinco continentes en que habita más del 99% de la población mundial y aunque la

incidencia de esta enfermedad es cada vez mayor, las investigaciones sobre los brotes epidémicos y la publicación de éstas en boletines epidemiológicos o revistas es muy baja (Luna, 1999). (15)

Hoy en día se conoce que este agente infeccioso es una problemática en diversos países, entendiéndose que los sistemas de climatización presentes en ambientes cerrados como lo son los hoteles, hospitales y bibliotecas juegan un papel primordial en el desarrollo de dicha patología, manifestándose la misma por la inhalación de la bacteria mediante pequeñas partículas o aerosoles suspendidas en el aire y generadas por los sistemas de climatización, ya que en estos una acumulación de sedimentos como la presencia de suciedad y un mantenimiento inadecuado, va a contribuir con el desarrollo, crecimiento y supervivencia de *Legionella* a través del aporte de nutrientes como el hierro y fosfato, entre otros; permitiendo así la presencia de esta bacteria en el ambiente, la cual puede alcanzar el tracto respiratorio de los individuos, ocasionando de esta forma infecciones pulmonares.

Sin embargo, en la Universidad de Carabobo no se han encontrado estudios que traten dicha problemática, esto es debido probablemente a la poca importancia que se le da a la calidad de aire en los ambientes cerrados tales como bibliotecas, donde la presencia de cualquier microorganismo como lo es *Legionella pneumophila* puede llegar a ocasionar en los individuos susceptibles algún proceso patológico.

En vista de que la Legionelosis es considerada como un problema de salud importante debido a los brotes reportados en todo el mundo pero que escasamente se han estudiado en Venezuela y por la posible permanencia de este agente infeccioso en los sistemas de climatización colocados en espacios cerrados, se considera relevante investigar la presencia de *Legionella pneumophila* en el condensado de los sistemas de climatización y en el ambiente de las bibliotecas centrales de la Universidad de Carabobo.

Es por eso que la presente investigación busca orientar e informar a la población, tanto de la Universidad de Carabobo como en general, de la existencia de este

microorganismo en ambientes cerrados como lo son las bibliotecas y de la posibilidad de que su presencia en estos ambientes pueda llegar a ocasionar enfermedad en ellos.

Así mismo, beneficiar al estado con un aporte investigativo-científico ya que no se han encontrado estudios realizados en las áreas de las bibliotecas como ambientes cerrados debido a la escasa información que se maneja sobre estudios de esta naturaleza y por la poca relevancia que se le dá a la calidad de aire de los espacios cerrados, por ello es necesario mantener una buena calidad de aire en estos espacios donde habitualmente concurren las personas para cumplir sus obligaciones diarias y de no manejarse una buena calidad de aire puede llegarse a ocasionar afecciones nosocomiales en individuos susceptibles.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar la presencia de *Legionella pneumophila* en el condensado de los sistemas de climatización y en el ambiente de las bibliotecas centrales de la Universidad de Carabobo durante el periodo de mayo a julio del año 2009.

OBJETIVOS ESPECÍFICO

- ❖ Medir la temperatura y humedad como factores que permiten la permanencia de este agente infeccioso en los sistemas de climatización de las bibliotecas centrales de la Universidad de Carabobo durante el periodo de mayo a julio del año 2009.
- ❖ Detectar la presencia *Legionella pneumophila* en el agua condensada de los sistemas de climatización de las bibliotecas centrales de la Universidad de Carabobo durante el periodo de mayo a julio del año 2009.
- ❖ Determinar *Legionella pneumophila* en el ambiente de las bibliotecas centrales de la Universidad de Carabobo durante el periodo de mayo a julio del año 2009.

MATERIAL Y METODOS

Diseño y Tipo de Investigación

El diseño que fue aplicado al contexto en estudio fue no experimental, el cual se realizó sin manipular las variables en estudio y en el que se observaron los fenómenos tal y como se dan en su ambiente natural, para después analizarlos. La investigación fue de tipo transversal, ya que se recolectaron los datos en un solo momento, en un tiempo único y a su vez se define como explorativa – descriptiva debido a que el tema o problema de investigación ha sido poco estudiado o que no ha sido abordado antes y además se recolectaron las incidencias, características y especificaciones propias de manifestación del objeto sometido a análisis (Hernández, 2001). 16

En el presente estudio se procedió a investigar la presencia de *Legionella pneumophila* tanto en el ambiente como en el agua condensada de los sistemas de climatización en las bibliotecas centrales de la Universidad de Carabobo, así como también la influencia de factores como la temperatura y humedad, que permiten la permanencia de este microorganismo en los mismos.

Población y muestra

La población estuvo conformada por las bibliotecas centrales de las seis facultades de la Universidad de Carabobo.

La muestra fue igual a la población y su recolección se realizó en los sistemas de climatización y en el ambiente de las 6 bibliotecas centrales de la Universidad de Carabobo en el período de mayo a julio del año 2009.

Procedimiento metodológico

En primer lugar se solicitó el respectivo permiso a cada uno de los encargados de las seis bibliotecas centrales de la Universidad de Carabobo que corresponde a las facultades de: ingeniería (FAI), Ciencia y tecnología (FACYT), Ciencias de la salud (FCS), Ciencias jurídicas y políticas (FACJP), Ciencias de la educación (FACE), Ciencias económicas y sociales (FACES) para que se pudiera llevar a cabo el presente estudio. Una vez recibido los permisos por parte de los representantes encargados, se dio inicio a la recolección de las muestras. Las mismas se llevaron a cabo en las áreas de las bibliotecas centrales de la Universidad de Carabobo, así como también del agua condensada de los sistemas de climatización situados en dichas áreas.

Para la toma de muestra del ambiente se aplicó el método de impactación de aire basado en el empleo de un muestreador S.A.S meter 100, el cuál captó un volumen determinado de aire, que fue impactado sobre superficies del medio de cultivo como es el agar amortiguado con carbón y extracto de levadura que contiene L- cisteína, adecuado para el estudio, donde se valoró la presencia de la bacteria *Legionella pneumophila* tomando en cuenta que por cada cuatro metros cuadrados (4 m^2) de la superficie total del área a analizar se emplearía este método. Posteriormente las placas se incubaron durante 7 días a una temperatura de 35 a 37 °C en microaerofilia, realizándose posteriormente el conteo de colonias formadas, expresando el resultado en unidades formadoras de colonia por metro cúbico de aire (UFC/m³).

Luego para la evaluación del condensado, se tomó aproximadamente 10 mL de agua del condensado de los sistemas de climatización, una vez obtenida la muestra fue centrifugada por 20 minutos obteniendo de esta forma un sobrenadante y sedimento del cual el sobrenadante fue descartado y al sedimento se le añadió aproximadamente 9 mL de buffer formado de esta forma una solución que se dejó en

reposo aproximadamente 5 minutos con la finalidad de que el buffer elimine toda carga bacteriana acompañante presente en la muestra que no es de interés para el estudio. Posteriormente se sembró 0.1 mL de la muestra por extendido en placa en el medio de cultivo agar-BCYE (*buffered charcoal yeast extract*). La incubación se realizó a 35°C-37°C durante 7 días en microaerofilia. Finalmente para la determinación de la temperatura y humedad del ambiente de las bibliotecas, se realizaron mediciones puntuales con un termohigrómetro de sensor marca EXTECH, que permite medir simultáneamente la temperatura y humedad relativa .17

Identificación

Para su identificación se utilizó una lupa esterooscópica con la cual se examinó diariamente todos los cultivos con más de 48 horas de incubación para detectar la existencia de colonias bacterianas opacas que tienen un aspecto de vidrio esmerilado. Aquellas placas con sugestivas colonias de crecimiento de *Legionella* en medio BYCE se sembraron asepticamente en agar BYCE preparado sin L-cisteína y en agar Mac-conkey incubándose durante 24 horas. Reincubándose las placas sin crecimiento 24 horas más. Las placas que no tuvieron crecimiento en el agar BYCE preparado sin L-cisteína fueron sugestivas de la presencia de *Legionella*. Adicionalmente para confirmar la existencia de la misma se realizaron las pruebas bioquímicas específicas que permiten diferenciar este microorganismo de las especies que no pertenecen al género *Legionella*, como Almidón, Gelatina, Catalasa, Oxidasa, Ureasa y Nitratos – Negativo, siendo estas pruebas las indicadas para la identificación de este agente (Holt, 1994). 18

Análisis de los datos

Una vez obtenidos los resultados se aplicó la estadística descriptiva en donde los datos deben ser ordenados y representados de una manera entendible. Por lo tanto la presencia o ausencia de *Legionella pneumophila* fue expresada en porcentaje y representada en tablas.

RESULTADOS

Tabla 1. Temperatura y humedad de las bibliotecas centrales de la Universidad de Carabobo.

Bibliotecas	Temperatura	Humedad
FAI	27°C	48%
FACYT	26 °C	44%
FCS	25 °C	56%
FACJP	28°C	42%
FACE	28°C	53%
FACES	26°C	44%

Fuente: datos obtenidos del presente estudio.

El desarrollo de *Legionella pneumophila* en los sistemas de climatización se encuentra relacionado con factores como la temperatura y humedad, logrando sobrevivir este microorganismo entre un rango de 20°C y 45°C. (2) .Se observa que en los ambientes estudiados la temperatura oscilaba entre 25 y 28°C y la humedad entre un 42 y 48%.

Tabla 2. Crecimiento bacteriano en las placas sembradas con el agua condensada de los sistemas de climatización de las bibliotecas centrales de universidad de Carabobo.

Biblioteca	Crecimiento
FAI	Si
FACYT	No
FCS	Si
FACJP	No
FACE	Si
FACES	Si

Fuente: datos obtenidos del presente estudio.

Se observa que solamente hubo crecimiento en las bibliotecas: FAI, FCS, FACE, FACES.

Tabla 3. Microorganismos aislados del ambiente de las bibliotecas centrales de universidad de Carabobo.

Biblioteca	Microorganismo
FAI	Levadura
FACYT	_____
FCS	Levadura
FACJP	_____
FACE	Levadura
FACES	Bacilo Gram +

Fuente: datos obtenidos del presente estudio Los datos reflejan que no hubo presencia de *Legionella pneumophila*, sin embargo se logró aislar tanto levaduras como bacilos Gram positivos en los condensados estudiados.

Tabla 4. Crecimiento bacteriano en placas impactadas en el ambiente de la Biblioteca de la Facultad de Ingeniería.

Crecimiento	Frecuencia	%
Si	23	58%
No	17	42%
Total	40	100%

Fuente: datos obtenidos del presente estudio.

Los datos reflejados en la tabla demuestran que un 58% de las placas presento crecimiento bacteriano.

Tabla 5. Microorganismos aislados del ambiente de la Biblioteca de la Facultad de Ingeniería.

Microorganismo	Frecuencia	%
Levadura	17	74%
Bacilo Gram Positivo	4	17%
Coco Gram Positivo	2	9%
Legionella	0	0%
Total	23	100%

Fuente: datos obtenidos del presente estudio.

En la tabla III se puede observar que *Legionella pneumophila* esta ausente en el ambiente de la biblioteca de la Facultad de Ingeniería, sin embargo se aislaron otros

microorganismo tales como levaduras (74%), Bacilos Gram positivos (17%) y Cocos Gram positivos (9%).

Tabla 6. Crecimiento bacteriano en placas impactadas en el ambiente de la Biblioteca de la Facultad de Ciencias y Tecnología.

Crecimiento	Frecuencia	%
Si	4	20%
No	16	80%
Total	20	100%

Fuente: datos obtenidos del presente estudio.

Se observa que el crecimiento de colonias en la totalidad de placas muestreadas abarca un 20% con respecto al 80% en cual no se observó ningún crecimiento.

Tabla 7. Microorganismos aislados del ambiente de la Biblioteca de la Facultad de Ciencias y Tecnología.

Microorganismo	Frecuencia	%
Levadura	3	75%
Bacilo Gram Positivo	1	25%
Legionella	0	0%
Total	4	100%

Fuente: datos obtenidos del presente estudio.

Se observa que los microorganismos encontrados en este ambiente cerrado esta relacionado con la presencia de bacilos Gram positivos y levaduras, siendo estos los

agentes causales de la contaminación del mismo, sin encontrar algún hallazgo de la posible presencia de *Legionella pneumophila*.

Tabla 8. Crecimiento bacteriano en placas impactadas en el ambiente de la Biblioteca de la Facultad de Ciencias de la salud.

Crecimiento	Frecuencia	%
Si	9	25%
No	28	75%
Total	37	100%

Fuente: datos obtenidos del presente estudio.

Según los datos obtenidos se observa que solamente un 25% de las placas impactadas presento crecimiento bacteriano

Tabla 9. Microorganismos aislados del ambiente de la Biblioteca de la Facultad de Ciencias de la salud.

Microorganismo	Frecuencia	%
Levadura	8	89%
Bacilo Gram Positivo	1	11%
Legionella	0	0%
Total	9	100%

Fuente: datos obtenidos del presente estudio.

En el análisis de este ambiente se observa que no hubo ningún hallazgo del microorganismo en estudio *Legionella pneumophila*, pero siendo resaltante una presencia considerable de levaduras en el ambiente.

Tabla 10. Crecimiento bacteriano en placas impactadas en el ambiente de la Biblioteca de la Facultad de Ciencias jurídicas y políticas.

Crecimiento	Frecuencia	%
Si	3	27%
No	8	73%
Total	11	100%

Fuente: datos obtenidos del presente estudio

El desarrollo de las colonias bacterianas solo se halló en un 25%, de la totalidad de placas muestreadas.

Tabla 11. Microorganismos aislados del ambiente de la Biblioteca de la Facultad de ciencias jurídicas y políticas.

Microorganismo	Frecuencia	%
Levadura	3	100%
Legionella	0	0%
Total	3	100%

Fuente: datos obtenidos del presente estudio

Se observa que este ambiente bibliotecario no hubo presencia del microorganismo en estudio.

Tabla 12. Crecimiento bacteriano en placas impactadas en el ambiente de la Biblioteca de la Facultad de Ciencias de la Educación.

Crecimiento	Frecuencia	%
Si	20	80%
No	5	20%
Total	25	100%

Los datos reflejados en la tabla, demuestran que un 80% de las placas muestreadas presento crecimiento bacteriano.

Tabla 13. Microorganismos aislados del ambiente de la Biblioteca de la Facultad de Ciencias de la Educación.

Microorganismo	Frecuencia	%
Levadura	7	35%
Bacilo Gram Positivo	11	55%
Bacilo Gram Negativo	2	10%
Legionella	0	0%
Total	20	100%

Estos datos demuestran la ausencia del microorganismo *Legionella pneumophila* en el ambiente de las áreas de la biblioteca de la facultad de educación, sin embargo se observa que hubo predominio de otros agentes bacterianos y fúngicos.

Tabla 14. Crecimiento bacteriano en placas impactadas en el ambiente de la Biblioteca de la Facultad de Ciencias económicas y sociales.

Crecimiento	Frecuencia	%
Si	9	18%
No	41	82%
Total	50	100%

Fuente: datos obtenidos del presente estudio.

Se distingue que el desarrollo de colonias bacterianas abarco un bajo porcentaje con respecto al 82% en el cual no se logro observar crecimiento bacteriano.

Tabla 15. Microorganismos aislados del ambiente de la Biblioteca de la Facultad de Ciencias económicas y sociales.

Microorganismo	Frecuencia	%
Levadura	5	56%
Bacilo Gram Positivo	4	44%
Legionella	0	0%
Total	9	100%

Fuente: datos obtenidos del presente estudio

Se observa que hubo crecimiento de levaduras (56%), y de Bacilos Gram positivos (44%) habiendo ausencia de *Legionella pneumophila*.

DISCUSION

En los ambientes estudiados se apreció que la temperatura oscilaba entre 25 y 28°C y la humedad entre un 42 y 56%. a pesar de que se trata de rangos aceptables para la permanencia del microorganismo en estudio en dichos espacios, no se detectó la presencia de *Legionella pneumophila*, Estos resultados difieren de los encontrados por los autores Lázaro, Gonzales y Hernández que lograron aislar *Legionella pneumophila* en el agua de los grifos, duchas y calderas de un Hotel ubicado en Bélgica determinado que el rango de temperatura de dichas aguas fue la causa que propicio la contaminación del agua originando de esta forma 3 casos de legionelosis en los huéspedes del hotel.

En cuanto al estudio del agua condensada de los sistemas de climatización se obtuvo como resultados la presencia de levadura y bacilos Gram positivos sin detectar la presencia de *Legionella pneumophila*, a diferencia de los hallazgos encontrados por los autores García, Munuera y Guillén que lograron aislar 12 cepas de *Legionella* de muestras de agua de diferentes puntos procedentes de 11 hoteles de la ciudad de Sevilla, dando como resultado que el 83,3% de las cepas aisladas correspondían al serogrupo 1.

Por otro lado en los ambientes de las bibliotecas centrales de las 6 facultades de la Universidad de Carabobo se logró apreciar que en aquellas placas impactadas que tuvieron crecimiento microbiano se debió principalmente a la presencia de levaduras, Bacilos Gram positivos, Bacilos Gram negativo y cocos Gram positivos en dichos ambientes, sin lograr detectar la presencia de *Legionella pneumophila*, todo lo contrario de los hallazgos encontrados por los autores García de Olalla, Gracia y Rius (2008) que lograron detectar en las torres de refrigeración estacionales situadas

en un centro sanitario de vallarca, España cepas de *L. pneumophila*, siendo la misma responsable del brote comunitario de neumonía originado en dicha ciudad. Así mismo los autores Pontrelli, Rota y Scaturro consiguieron aislar de una torres de enfriamiento ubicada en una tienda por departamentos la cepa de *Legionella pneumophila*, logrando demostrar fenotípicamente y genotípicamente la presencia de este microorganismo tanto en humanos como en el ambiente de dicha tienda.

Igualmente los autores Portero y Josep (2001) logran aislar *Legionella pneumophila* tras la detección del su antígeno en la orina de los 315 casos de legionelosis asumiendo como posible fuente de infección una torre de enfriamiento contaminada con dicho microorganismo la cual se encontraba ubicada en unos de los sitios de compras del centro de Murcia.

CONCLUSIONES

Los problemas de contaminación biológica en ambientes interiores han recibido una importante atención, admitiéndose en general que los microorganismos presentes en el aire interior pueden causar problemas de naturaleza infecciosa y alérgica.

Los hallazgos de este estudio permiten inferir que las condiciones de los ambientes estudiados a pesar de que se trata de rangos aceptables para la permanencia del microorganismo en estudio en dichos espacios, no se detectó la presencia de *Legionella pneumophila*. Cabe destacar que el estudio del agua condensada de los sistemas de climatización se obtuvo como resultados la presencia de levadura y bacilos Gram positivos que pueden ser causante de problemas de naturaleza infecciosa y alérgica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Keller D, Rana H, Demaria JR, Fields S, Pruckler M, Benson S, et al. Community outbreak of legionnaires' disease: an investigation confirming the potential for cooling towers to transmit Legionella species. Clin Infect Dis. [ISSN 1058-4838] 1996 [Consulta: 2008, Septiembre 24]. 22(2): [257-261 p.] Disponible: <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=2992541>.
2. Ulloa M. Legionella pneumophila. Rev Chilena Infectol. [ISSN 0716-1018 2005] 2008 Jun [Consulta: 2008, septiembre 13] 25(3): [208 p.] Disponible: <http://www.scielo.cl/pdf/rci/v25n3/art13.pdf>.
3. Roncoroni A, García C. Legionella sp. En infecciones respiratorias agudas y muestras de aguas hospitalarias. Rev Chilena Infectol. 1991 [Consulta: 2008, Septiembre 02]. 8(1): [32-34 p.] Disponible: <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=104817&indexSearch=ID>
4. Ministerio de sanidad y consumo de España. Recomendaciones para la Prevención y Control de la legionelosis, 1999. http://biblioteca.sp.san.gva.es/biblioteca/publicaciones/MATERIAL%5CPUBLICACIONES%5CEPI%5CVIG_EI%5CLEGIONELA/LEGIONELOSIS.PDF
5. Farjas-Abadía P, Aboal Viñas JL. Legionella: un problema de salud pública y un problema para la salud pública. Gac Sanit. 2001 [Consulta: 2008, Septiembre 15]. 15(2): [91-94 p.] Disponible: <http://lbe.uab.es/vm/sp/old/docs/problemas/gsllegionela.pdf>
6. Vilaseca M. La calidad del agua en el espacio público. Legionelosis. Boletín Intexter de Instituto de Investigación Têxtil y de Cooperación Industrial. Revistas i congressos UPC.[ISSN 1131-6756] 2004 Jul [Consulta: 2008, octubre 17] 126 (8): [55-60 p.]

Disponible:<https://upcommons.upc.edu/revistes/bitstream/2099/2828/1/12tdivulgaci%C3%B3n.pdf>

7. Tamayo R. Enfermedad de los Legionarios. Reporte Técnico de Vigilancia. [ISSN 1028-4338] 1999 Jun [Consulta: 2008, Septiembre 29]. 4(6). Disponible: http://www.bvs.sld.cu/uats/rtv_files/rtv0699.htm.

8. Benenson A. Manual para el control de las enfermedades transmisibles. Rev Esp Salud Pública. [ISSN 1135-5727] 1997 sept-oct [Consulta: 2008, Septiembre 30]. 71(5).Disponible: http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1135-57271997000500008.

9. López A. Agentes infecciosos. Rev Latinoam Microbiol. 2006 Abr-Jun [Consulta: 2008, Septiembre 3] 48 (2): [146-153p.] Disponible: <http://www.medigraphic.com/espanol/e-htms/e-lamicro/e-mi2006/e-mi06-2/em-mi062o.htm>.

10. Martinez J, Ruiz M, Ewig S, Marcos M, Arancibia F, Mensa J, et al. Etiology of community-acquired pneumonia: Impact of age, comorbidity, and severity. Am. J. Respir Crit Care Med. 1999 Ago. [Consulta: 2008, Septiembre 11] 160(2): [397-405p.] disponible: <http://ajrccm.atsjournals.org/cgi/content/abstract/160/2/397>

11. García D, Munuera I, Guillen J. Investigación de Legionella spp en hoteles de la ciudad de Sevilla. Revista de tecnología e higiene de los alimentos. [ISSN 0300-5755] 2000 [Citado: 2008, octubre 8]. 315.

Disponible: // <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=133753>

12. Portero R, Joseph C. Community outbreak of legionnaires' disease in Murcia, Spain. Euro surveill. 2001 Jul [Consulta: 2008, Septiembre 24] 5(28). Disponible: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=1718>.

13. Pontrelli G, Rota M, Scaturro M, Bella A, Bellomo A, Trinito M, et al. (2005). Legionnaires' disease outbreak in Rome, Italy. *Epidemiol Infect.* 2005 Oct [Consulta: 2008, septiembre 19] 133(5): [853-859 p.] Disponible: <http://journals.cambridge.org/action/displayAbstract;jsessionid=6E5BC2BB81297CD BFF6E67EF6B0AD042.tomcat1?fromPage=online&aid=340481>

14. García de Olalla P, Gracia J, Rius C, Caylà J, Pañella H, Villabí R, et al. Brote comunitario de neumonía por *Legionella pneumophila*: importancia del control de las torres de refrigeración en los centros sanitarios. *Enferm Infecc Microbiol Clín.* [ISSN: 0213-005] 2008 Ene [Consulta: 2008, octubre 16] 26 (1): [15-22p.] Disponible: http://www.elsevier.es/revistas/ctl_servlet?_f=7064&articuloid=13114390

15. Luna C. Neumonía por *Legionella*, un hecho infrecuente en Argentina ¿Diferente epidemiología o marcador de desarrollo? *Medicina (Buenos Aires).* [ISSN 0025-7680] 1999 [Consulta: 2008, Agosto 21]. 59(3): [311-317p.] Disponible: http://www.medicinabuenosaires.com/revistas/vol59-99/3/v59_n3_311_312.pdf

16. Hernández C. Metodología de la Investigación. 2º Edición. México: Ultra, S.A. de C.V; 2001.

17. Clesceri L. Standard Methods for the Examination of water an wastewater. 20 th Edition. USA: American Public Health Association; 1998.

18. Holt J. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9º Edición. USA: Williams & Wilkins; 1998.