



# Test de detección rápida de Legionella

Rivero Calle, I. Grupo de Patología Infecciosa AEPap. Test de detección rápida de Legionella. Febrero 2014. Disponible en <http://www.aepap.org/grupos/grupo-de-patologiainfecciosa/contenido>

## Neumonía en la edad pediátrica

---

La neumonía infantil es una causa importante de morbilidad en el mundo desarrollado, y de morbi-mortalidad (más de 2 millones de niños al año) en los países en vías de desarrollo <sup>1</sup>. Según datos de la Organización Mundial de la Salud se estiman 156 millones de casos de neumonía al año en niños menores de 5 años, de entre los cuales, hasta 20 millones de casos serán lo suficientemente graves como para requerir hospitalización <sup>2</sup>. La incidencia en nuestro país es de 30,3-36 casos por cada 1.000 niños menores de 5 años y de 11-16 casos por cada 10.000 niños mayores de 5 años <sup>3</sup>.

La verdadera prevalencia de los distintos agentes causales en la neumonía adquirida en la comunidad no está claramente definida a nivel mundial; debido a la realización de estudios en poblaciones sin un correcta estratificación por grupos etarios, la imposibilidad de correlación por disparidad de escenarios (países en vías de desarrollo frente a países desarrollados) y a la amplia variedad de técnicas microbiológicas empleadas (cultivo nasofaríngeo, hemocultivo, PCR, serología, etc).

No obstante, parece que si hay una serie de afirmaciones comunes <sup>4</sup>:

- *S. pneumoniae* es la causa bacteriana más frecuente de neumonía en la población infantil
- Los virus suponen entre el 14 y el 25% de los casos, y hasta el 50% en los menores de 5 años
- En mayores de 5 años, *Mycoplasma pneumoniae* y *Chlamydia pneumoniae* son más frecuentes

La amplia cobertura vacunal alcanzada en ciertos países mediante la vacuna frente a Haemophilus influenzae tipo b y las vacuna conjugada 13-valente neumocócica resulta protectora de la enfermedad invasiva por estos agentes <sup>5,6</sup>, así como frente a la neumonía viral debido a su frecuente coinfección <sup>7</sup>.

## Las infecciones por Legionella

---

*Legionella pneumophila* fue descubierta en 1976, como agente causal infrecuente de la neumonía adquirida en la comunidad (incidencia global del 3% en población pediátrica <sup>8</sup> y hasta 15% en brotes) y ligeramente más frecuente en la neumonía hospitalaria. Se trata de un bacilo aeróbico gram negativo que afecta principalmente a pacientes inmunodeprimidos (aunque no exclusivamente), y cursa en brotes esporádicos mayoritariamente debido a su transmisión por inhalación de agua aerosolizada contaminada. Existen al menos 20 especies diferentes patógenas para el ser humano, pero es el serogrupo 1, responsable del 90% de los casos, el de mayor relevancia <sup>9</sup>.

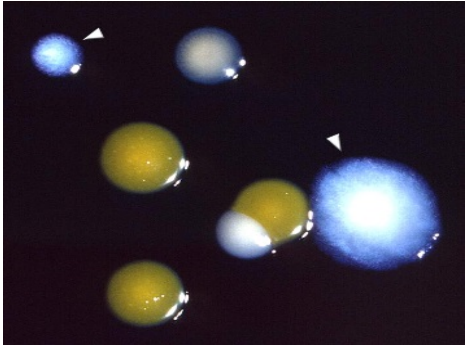
Puede producir dos síndromes clínicos:

- La Enfermedad del Legionario (lo más frecuente): cuyo periodo de incubación es de 2 a 10 días y varía en severidad. Cuadro neumónico que se caracteriza por fiebre con bradicardia refleja, tos y dificultad respiratoria progresiva. El esputo puede ser sanguinolento, pero la hemoptisis franca es muy infrecuente. El dolor torácico en cambio está presente hasta en el 35% de los casos. Puede asociar escalofríos, mialgias, afectación del tracto gastrointestinal, del sistema nervioso central (letargia, cefalea y ocasionalmente estupor), alteraciones hidroelectrolíticas (hiponatremia <130 meq/L) y manifestaciones renales (hematuria y proteinuria). En casos fatales conduce al fallo respiratorio y la muerte.
- Fiebre de Pontiac: síndrome febril agudo súbito y autolimitado, que cursa sin neumonía.

## El por qué de un diagnóstico temprano

El diagnóstico precoz de la Enfermedad del Legionario está directamente relacionado con un aumento de la supervivencia debido al inicio de un tratamiento antibiótico adecuado y eficaz <sup>10</sup>. Y puesto que las características clínicas de esta enfermedad son bastante inespecíficas, la realización de tests diagnósticos rápidos, sencillos, de alta sensibilidad y especificidad, condicionan un pronóstico favorable en estos pacientes.

## Las pruebas de laboratorio

- **Cultivo para Legionella pneumophila:** el método “gold standard”. De especial utilidad en lugares geográficos donde *L.pneumophila* tenga una alta prevalencia. Se trata de un bacilo gram negativo de lento crecimiento (48-72 horas hasta 7 días) que requiere medios de cultivo selectivos especiales para su desarrollo (BCYE: agar carbón con extracto de levadura con y sin antimicrobianos). La placa de agar se suplementa con polimixina, anisomicina, vancomicina y distintos colorantes que evitan el crecimiento bacteriano de agentes competidores, mientras que tiñen de un color distintivo las colonias de Legionella. Estos colorantes a su vez, pueden permitir diferenciar especies (ej. *L.maceachernii* azules y *L.pneumophila* amarilla, ver imagen). El mayor rendimiento se alcanza cuando la sospecha clínica sea alta y la tinción de Gram muestre una gran respuesta inflamatoria sin predominio de ningún tipo bacteriano. La sensibilidad del cultivo de una muestra de expectoración es menor del 50% y asciende a un 83-90% cuando la muestra se obtiene por broncoaspiración.
 

<http://aapredbook.aappublications.org/content/1/SEC131/SEC207/F1109.large.jpg>
- **Detección de anticuerpos en suero:** utiliza la detección de IgG mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI) o mediante enzimo-inmuno análisis (ELISA) de muestras respiratorias. Puesto que la elevación de los títulos en 4 diluciones se considera significativa para infección aguda por *L.pneumophila*, se requiere repetir serología a las 8-12 semanas del inicio de la sintomatología. El diagnóstico de presunción es a partir de una dilución 1:128 y definitivo >1:256. El periodo óptimo de seroconversión es a las 12 semanas. La sensibilidad, con estos criterios de positividad, varía entre 25% y 75%. Se puede aumentar la especificidad empleándose técnicas monoclonales (MONOFLUO®), que evitan reacciones cruzadas con otras bacterias gram negativas. También puede aumentarse la sensibilidad detectando IgM e IgG de forma conjunta.
- **Técnicas de biología molecular:** Se pueden realizar en muestras de origen respiratorio (exudado faríngeo, lavado broncoalveolar), suero y en muestras de orina. Los mejores resultados han sido obtenidos con el uso de sondas de DNA y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), aunque no han alcanzado mayor sensibilidad que el cultivo; por lo que su uso no está recomendado de forma rutinaria. Ambos métodos pueden detectar todos los serotipos de Legionella. Dado que Legionella es un patógeno capaz de desarrollarse en agua, deben extremarse las precauciones con las técnicas de amplificación, para evitar la contaminación de las muestras.

## El test de antígeno urinario

Existen dos técnicas disponibles:

- Detección de antígeno urinario por enzoinmunoanálisis (Binax®, Biotest®, Bartels®):** Tiene una especificidad del 97-100% y una sensibilidad del 80% cuando se obtiene precozmente (dentro de la primera semana de la enfermedad), después disminuye progresivamente. Capaz de detectar serogrupos diferentes al 1 pero sin una sensibilidad ni especificidad determinada. Los resultados se obtienen en unos 90 minutos.
- Detección de antígeno urinario por inmunocromatografía (BinaxNOW® para antígeno de Legionella):** su especificidad del 100% y su sensibilidad del 96%. Tiene el inconveniente de que sólo detecta el serogrupo 1, aunque por otro lado es el más prevalente. Resultados disponibles en 15 minutos.

## La técnica de BinaxNOW® para antígeno de Legionella

El anticuerpo de conejo anti-serogrupo 1 de Legionella pneumophila (la línea del paciente), se absorbe en una membrana de nitrocelulosa.

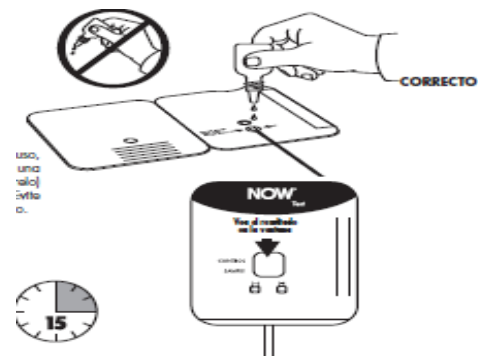
IgG anti-conejo caprina, (la línea testigo), se absorbe en la misma membrana como segunda estría.

Para realizar la prueba, se moja una torunda en la muestra de orina, se retira y luego se inserta en el dispositivo de prueba. Se agrega el reactivo A y se cierra el dispositivo, lo que pone la muestra en contacto con la tira de prueba.



El antígeno urinario del serogrupo 1 de L. pneumophila capturado por el anticuerpo inmovilizado anti-serogrupo 1 de L. pneumophila reacciona, y se liga al anticuerpo conjugado. La IgG caprina anti-conejo inmovilizada también se captura visualizando el conjugado, y forma la línea control.

En 15 minutos o menos es posible obtener un resultado visual de prueba positiva, según la concentración de antígeno presente en la muestra de orina.



Un resultado negativo, obtenido en 15 minutos, indica que no se detectó el antígeno del serogrupo 1 de L. pneumophila en la muestra de orina.

La prueba se interpreta mediante la presencia o ausencia de líneas detectables de color rosa a violeta. El resultado positivo incluye la detección tanto de una línea paciente como de una línea control, mientras que el ensayo negativo producirá únicamente la línea control. Si no apareciera la línea control, con o sin presencia de la línea paciente, indicaría que el ensayo no es válido.

Los kits se adquieren en packs de 12 o 22 y el precio por test son unos 15 euros aproximadamente.

## Los pros

---

- La orina es una muestra de fácil obtención, mientras que el cultivo requiere una muestra en general invasiva, para ser adecuada y por tanto aumentar su rentabilidad.
- El hecho de que el antígeno persista positivo durante días a pesar de iniciar tratamiento antibiótico, hace que sea útil su detección incluso en el caso de estar recibiendo terapia empírica anti-legionella
- El resultado del test de antígeno urinario está disponible en 15 minutos (90 minutos si técnica ELISA), mientras que el cultivo requiere entre 3 y 5 días.
- Presenta valores de sensibilidad (80%) y especificidad (95%) elevados
- Test de fácil interpretación
- El antígeno urinario permite detectar brotes nosocomiales desconocidos de una forma no invasiva.

## Los contras

---

- La mayor desventaja es la especificidad para *L.pneumophila* serogrupo 1 exclusivamente; aunque por otro lado es el serogrupo más prevalente
- Si el resultado del test de antígeno de Legionella es negativo pero los síntomas clínicos persisten, se recomienda realizar un análisis adicional. Un resultado negativo no excluye la probabilidad de legionelosis.
- El precio de la prueba es considerable: 15 euros

## Aproximación diagnóstica

---

1. Las pruebas de diagnóstico de laboratorio para detección de Legionella se deben realizar en los pacientes hospitalizados con neumonía adquirida en la comunidad.
2. El cultivo para Legionella es la prueba principal que debe solicitarse.
3. El test de antígeno urinario es una prueba rápida, sensible, específica, no excesivamente cara, pero sólo útil en el diagnóstico de *L.pneumophila* tipo 1 (causante del 90% de los casos de infección por Legionella).
4. En pacientes en los que se sospecha una infección por Legionella, se recomienda recoger tanto un cultivo de una muestra respiratoria adecuada como una muestra de orina para detección antigénica.
5. Los test serológicos se solicitarán en casos seleccionados, y en caso de hacerlo, será conveniente realizar muestras seriadas.
6. Las técnicas de biología molecular (principalmente PCR), no superan la sensibilidad de otras técnicas disponibles (cultivo y antígeno en orina); mientras que si su coste.

## Utilidad en Atención Primaria

---

La baja incidencia de la infección por Legionella en la neumonía adquirida en la comunidad, junto con el coste no desdeñable de la prueba, parecen no justificar la disponibilidad de la técnica del test de antígeno en orina en los Centros de Atención Primaria.

Si bien es cierto que en casos seleccionados, en población de riesgo y con mala respuesta al tratamiento antibiótico empírico, podría ser una prueba idónea debido a varias de sus características: sencilla recogida de la muestra, fácil técnica e interpretación, y resultados prácticamente instantáneos; que podrían condicionar un manejo óptimo sin necesidad de recurrir a Atención Especializada.

## Bibliografía

---

1. Wardlaw T, Salama P, Johansson EW, Mason E. Pneumonia: the leading killer of children. *Lancet*. 2006;368(9541):1048
2. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs331/es/>
3. Andrés A, et al. Etiología y diagnóstico de la neumonía adquirida en la comunidad y sus formas complicadas. *An Pediatr (Barc)*. 2012;76(3):162.e1-162.e18
4. Harris M, Clark J, Coote N, Fletcher P, Harnden A, McKean M, Thomson A, British Thoracic Society Standards of Care Committee. British Thoracic Society guidelines for the management of community acquired pneumonia in children: update 2011. *Thorax*. 2011;66 Suppl 2:ii1.
5. Cevey-Macherel M, Galetto-Lacour A, Gervaix A, Siegrist CA, Bille J, Bescher-Ninet B, Kaiser L, Krahenbuhl JD, Gehri M. Etiology of community-acquired pneumonia in hospitalized children based on WHO clinical guidelines. *Eur J Pediatr*. 2009;168(12):1429.
6. Bryant KA, Block SL, Baker SA, Gruber WC, Scott DA, PCV13 Infant Study Group. Safety and immunogenicity of a 13-valent pneumococcal conjugate vaccine. *Pediatrics*. 2010;125(5):866.
7. Madhi SA, Klugman KP, Vaccine Trialist Group. A role for *Streptococcus pneumoniae* in virus-associated pneumonia. *Nat Med*. 2004;10(8):811.
8. Legionelosis. Situación general y evolución de la enfermedad en España. Datos de la Red Nacional de vigilancia Epidemiológica. Datos actualizados en noviembre 2010. Centro Nacional de Epidemiología. Instituto de Salud Carlos III. Disponible en: [http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-enfermedades/Legionelosis\\_informe\\_RENAVE.pdf](http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-enfermedades/Legionelosis_informe_RENAVE.pdf)
9. Fields BS, Benson RF, Besser RE. Legionella and Legionnaires' disease: 25 years of investigation. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15(3):506.
10. Heath CH, Grove DI, Looke DF. Delay in appropriate therapy of Legionella pneumonia associated with increased mortality. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1996;15(4):286.
11. Engel MF, van Manen L, Hoepelman AIM, et al. Diagnostic, therapeutic and economic consequences of a positive urinary antigen test for Legionella spp. in patients admitted with community-acquired pneumonia: a 7-year retrospective evaluation. *J Clin Pathol* 2013;66:797-802.