

JAN KOŁODYŃSKI<sup>1</sup>, STANISŁAW JANKOWSKI<sup>2</sup>

## *Legionella pneumophila* – epidemiologia i chorobotwórczość

### *Legionella pneumophila* – Epidemiology and Virulence

<sup>1</sup> Instytut Genetyki i Mikrobiologii UW we Wrocławiu

<sup>2</sup> Katedra i Zakład Biologii i Parazytologii Lekarskiej AM we Wrocławiu

#### Streszczenie

*Legionella pneumophila* są wewnątrzkomórkowymi patogenami, które są odpowiedzialne za chorobę legionistów. W pracy przedstawiono krótki zarys obecnego stanu wiedzy na temat epidemiologii i właściwości chorobotwórczych wymienionych bakterii oraz metod ich identyfikacji i zapobiegania potencjalnym zakażeniom (Adv Clin Exp Med 2004, 13, 4, 645–649).

**Słowa kluczowe:** *Legionella pneumophila*, chorobotwórczość, identyfikacja, epidemiologia, zapobieganie.

#### Abstract

*Legionella pneumophila* is a facultative intracellular pathogen that accounts for majority of cases of Legionnaires' disease. A brief outlook of the present state of knowledge of the epidemiology and virulence of the indicated bacteria as well as the methods of its identification and prevention of infections has been presented (Adv Clin Exp Med 2004, 13, 4, 645–649).

**Key words:** *Legionella pneumophila*, virulence, detection, epidemiology, prevention.

Od 1976 r., w którym *Legionella pneumophila* zidentyfikowano jako przyczynę epidemii ostrego zapalenia płuc wśród uczestników corocznego zjazdu kombatantów, członków Legionu Amerykańskiego w Filadelfii (34 zgony na 221 przypadków zakażeń), legioneloza znalazła się na stale wydłużającej się liście nowych chorób zakaźnych [1, 2].

*Legionella pneumophila* to nie są jednak egzotyczne patogeny, ale bakterie rozpowszechnione w otaczającym nas środowisku i odpowiedzialne za sporadyczne, a często epidemiczne przypadki ostrego zapalenia płuc. Według danych statystycznych, nieuwzględniających Polski, są drugą po *Streptococcus pneumoniae* przyczyną bakteryjnych zapaleń płuc [3].

W 1999 r., dzięki H. Stypułkowskiej-Misiurewicz z Państwowego Zakładu Higieny, w raportach publikowanych przez EWGLI (The European Working Group for Legionella Infections) znalazła się również Polska, a od 2002 r. wprowadzono obowiązek zgłaszania i rejestracji legionelozy [4].

O stanie polskiej służby zdrowia w stosunku do innych europejskich krajów może świadczyć zestawienie dwu liczb 0 i 2136 określających liczbę przypadków legionelozy w Polsce i sumarycznie w innych krajach Europy [4]. Dlatego po wstąpieniu do Unii Europejskiej wydaje się celowe zapoznanie mikrobiologów i lekarzy z tym, dość nietypowym patogenem.

## Charakterystyka

Rodzina *Legionellaceae* zawiera jeden rodzaj *Legionella*, liczący obecnie 48 gatunków, wśród których wyróżniono 70 różnych grup serologicznych [5, 6]. Są to Gram-ujemne, niewytwarzające przetrwalników, tlenowe pałeczki. Obecność biegunowo usytuowanej, zwykle pojedynczej rzęski zapewnia im zdolność do ruchu. Bakterie te bytujące w wodach powierzchniowych i gruntowych, często pasożytujące we wnętrzu jednokomórkowo-

wych pierwotniaków, dokonały udanej kolonizacji komunalnych sieci wodociągowych [7, 8]. Optymalna temperatura wzrostu waha się między 25–43°C. Pałeczki te mogą przeżywać nawet w temperaturze 55–60°C, na co wskazują częste przypadki ich izolacji z systemów dystrybucji gorącej wody w budynkach użyteczności publicznej oraz osiedli mieszkaniowych [9, 10]. Tylko w obrębie gatunku *Legionella pneumophila* wyróżniono 15 grup serologicznych (prawie 80% szczepów izolowanych z przypadków chorobowych należy do grupy 1), podczas gdy ich liczba wśród pozostałych gatunków waha się 1–2 [5].

## Chorobotwórczość

W USA *L. pneumophila* jest przyczyną 1–15% środowiskowych i ponad 50% szpitalnych zapaleń płuc [11, 12]. Jeśli w USA notuje się 8–17 000 zachorowań rocznie, to w Europie w 2001 r. średnia zachorowalność wynosiła 0,6 przypadków na 100 000 mieszkańców (np. we Francji 1,35, a w Hiszpanii aż 2,6/100 000). Dominowały sporadyczne przypadki zachorowań, odnotowano też kilka groźnych miejskich epidemii [13].

Legioneloza, powodowana głównie przez szczepy *L. pneumophila*, może rozwijać się w postaci dwu klinicznie odrębnych zespołów: choroby legionistów i tzw. gorączki Pontiac.

Choroba legionistów (czas inkubacji 2–10 dni) przebiega w postaci ostrego zapalenia płuc i opłucnej. Objawy ogólnoustrojowe dotyczą zmian w nerkach (proteinuria, azotemia i hematuria), jelitach (biegunka, nudności, wymioty), ośrodkowym układzie nerwowym oraz zmian zapalnych w osierdziu. W płwocinie i tkankach stwierdza się obecność bakterii. Śmiertelność waha się w granicach 10–15% [12, 14].

Gorączka Pontiac to zwykle podobne do grypy stany gorączkowe (ból głowy i mięśni, kaszel występujący tylko u 50% chorych), objawy utrzymują się 2–6 dni, po czym następuje samowyleczenie. Nie wykazano obecności bakterii w płynach ustrojowych ani w tkankach. O trwającym zakażeniu świadczy tylko podwyższone miano swoistych przeciwciał [15]. Dokładny obraz choroby i jej epidemiologicznego rozprzestrzenienia można znaleźć w pracy Pancer i Stypułkowskiej-Misiurewicz [16].

Chorobę legionistów wywołują najczęściej szczepy należące do 1 grupy serologicznej (58–71,5% przypadków). Szczepy *L. pneumophila* należące do innych serotypów oraz innych gatunków *Legionella* (*L. micdadei*, *L. gormanii*, *L. jordanis*, *L. feeleyi*, *L. bozemanii*, *L. dumoffii*, *L. maceachernii*, *L. sainthelensi*, *L. birminghamensis*, *L. cinцинatiensis*, *L. longbeachae*, *L. wadsworthii*, *L. tuc-*

*sonensis*, *L. drozanskii*, *L. rowbathamii* i *L. fallonii*) mogą tylko sporadycznie być przyczyną zakażeń człowieka [17, 18]. Nie stwierdzono przypadków przenoszenia tych bakterii między ludźmi. Chorobotwórczość pałeczek *Legionella* w znacznym stopniu zależy od wrażliwości osoby zakażonej. Do zakażeń dochodzi częściej u mężczyzn w średnim lub w podeszłym wieku. Palenie tytoniu i alkoholizm to czynniki sprzyjające zakażeniu. Osoby o obniżonej odporności będącej skutkiem chronicznych schorzeń, takich jak: cukrzyca, przewlekłe obturacyjne choroby płuc, choroby naczyniowo-sercowe, a zwłaszcza po dializie nerek lub przeszczepach narządowych oraz zakażeni wirusem HIV, to grupy pacjentów o wyraźnie podwyższonych wskaźnikach zapadalności [19, 20]. Zarówno do epidemicznych, jak i sporadycznych zakażeń układu oddechowego dochodzi w wyniku inhalacji unoszącego się w powietrzu wodnego aerozolu zawierającego bakterie. Źródłem ich są najczęściej skażone urządzenia klimatyzacyjne i nawilżające, sieci wodociągowe oraz wodne układy grzewcze [21, 22]. Ryzyko zakażenia i przebieg legionelozy zależy od takich czynników, jak: stężenie bakterii w wodzie, zjadliwość szczepu, stopień aerosolizacji, czas ekspozycji, a przede wszystkim indywidualna wrażliwość gospodarza narażonego na ekspozycję. Dla zwierząt DL<sub>50</sub> wynosi  $1,4 \times 10^5$  żywych bakterii podanych w postaci aerozolu [22, 23]. Różnice statystyczne w ocenie zapadalności w krajach Europy, zrzeszonych w EWGLI (1,0–20,0 zachorowań na 10<sup>6</sup> mieszkańców), w większym stopniu wynikają z niedoskonałości metod identyfikacji niż dystrybucji zjadliwych szczepów [13, 24, 25].

## Czynniki zjadliwości

*L. pneumophila* to wewnątrzkomórkowe patogeny mnożące się głównie w makrofagach pęcherzyków płucnych, monocytach krążenia obwodowego oraz w komórkach nabłonkowych pęcherzyków płucnych [26]. Do wywołania procesu chorobowego są zdolne szczepy mające system sekrecji białek typu IV. Białka te umożliwiają inwazję do wnętrza komórek gospodarza, a w przypadku fagocytów blokują powstawanie fagolizosomu, co zapewnia bezpieczne mnożenie się bakterii i dalsze rozprzestrzenianie się zakażenia [27, 28]. Chorobotwórczość tych bakterii zależy też od budowy ściany komórkowej. Lipopolisacharyd jest odpowiedzialny za fazową zmienność antygenową [29], główne białka błony zewnętrznej warunkują fagocytozę bakterii przez makrofagi [30], a fimbrie typu IV pośredniczą w adhezji bakterii do komórek gospodarza [31]. Inne domniemane czynniki zjadliwości i ich znaczenie dla wewnątrzkomórkowej

przeżywalności szczepów *Legionella* przedstawiono w przeglądowych pracach [32, 33].

## Diagnostyka

Ze względu na słabe barwienie się metodą Grama obecność pałeczek *Legionella* spp. w płwocinie i/lub w innych materiałach diagnostycznych można wykazać poprzez impregnację srebrem. W diagnostyce powszechnie jest wykorzystywany odczyn immunofluorescencji bezpośredniej, której wykonanie umożliwiając, oferowane przez różnych producentów, gotowe zestawy DFA (kits for direct fluorescent antibody) pozwalające na identyfikację ponad 30 gatunków *Legionella*. Te wewnątrzkomórkowe pasożyty słabo rosną na podłożach laboratoryjnych. Do wzrostu wymagają (komercyjnie dostępnych) wzbogaconych podłoży selektywnych, np. BCYE (buffered charcoal yeast extract agar). Według danych Centers for Disease Control and Prevention tylko około 30% zidentyfikowanych przypadków udaje się potwierdzić w hodowli. Jeszcze mniejsza skuteczność (4–7%) charakteryzuje posiewy próbek krwi. Ze względu na małą czułość i czasochłonność metody hodowlane są raczej rzadko stosowane.

Do wykrywania rozpuszczalnych antygenów *Legionella*, głównie w moczu, stosuje się testy ELISA i radioimmunologiczny, które zapewniają wysoką czułość (86–93%) i swoistość, zwłaszcza w przypadku *L. pneumoniae* grupy 1. Diagnostykę ułatwiają handlowe zestawy do wykrywania swoistych przeciwciał klasy IgG, IgM i IgA, np. testy do immunofluorescencji pośredniej, ELISA, aglutynacji lateksowej, mikroaglutynacji, hemaaglutynacji i immunoelektroforezy przeciwaprądowej. Krytyczne omówienie wyżej wymienionych metod diagnostycznych przedstawiono w pracy Waterer et al. [34].

Coraz częściej zarówno do identyfikacji wyizolowanych szczepów, jak i do potwierdzenia ich obecności w materiałach diagnostycznych stosuje się metody genetyczne: hybrydizację DNA-DNA, RAPD (random amplified polymorphic DNA), ITS 16-23S PCR (polymerase chain reaction amplification of the internal transcriber spacer 16S-23S) oraz rybotypowanie. Ze względu jednak na brak standaryzacji istniejące zestawy identyfikacyjne nie są jeszcze dostępne w handlu [35, 36].

## Leczenie

Ponieważ szczepy *Legionella* spp. są wewnątrzkomórkowymi patogenami, to w ocenie przydatności leku należy uwzględnić jego zdolno-

ści przenikania do zakażonych komórek i zabijania bakterii bytujących w ich wnętrzu. Stosowane od wielu lat erytromycyna i tetracyklina są stopniowo zastępowane przez inne makrolidy oraz fluorochinolony szczególnie aktywne przeciwko szczepom *Legionella*. Obecnie najczęściej stosuje się azytromycynę (500 mg/d przez 3–5 dni) lub lewofloksacynę (500 mg/d przez 7–10 dni) [37]. W ciężkich przypadkach zaleca się jednocześnie stosowanie antybiotyków z grupy makrolidów (erytromycyna, spiramycyna IV) i fluorochinolonów (ciprofloksacyna, lewofloksacyna, ofloksacyna) [14, 38].

## Zapobieganie

Dotychczas nie stwierdzono przypadków przekazywania legionelozy między ludźmi, dlatego działania zapobiegawcze są skierowane na eliminację pałeczek *Legionella* ze zbiorników wodnych i systemów wodociągowych. Bakterie te występują powszechnie w naturalnych zbiornikach i ciekach wodnych, gdzie pasożytują we wnętrzu komórek pierwotniaków, najczęściej z gatunków *Acanthamoeba*, *Hartmannella* i *Naegleria*. Wytwarzane przez nie cysty umożliwiają komórkom *Legionella* przetrwanie okresowych, niekorzystnych zmian środowiskowych (np. spadku temperatury, wysychania, skażenia czynnikami bakteriobójczymi) oraz ułatwiają transmisję bakterii w środowisku, co ma korzystny wpływ na liczebność populacji [39]. Pałeczki *Legionella* mogą osiągać wyższe, sprzyjające zakażeniom, stężenia w sieciach transportu wody, zwłaszcza cieplej, w miejscach i urządzeniach, w których dochodzi do powolnego przepływu lub jej zalegania [33]. We Francji już w 1998 r. wprowadzono obowiązek regularnej konserwacji i kontroli urządzeń, w których mogą mnożyć się te bakterie [22]. Najczęściej stosowane metody eradykacji *Legionella* to dezynfekcja: termiczna (np. jednonominutowe podniesienie temperatury krążącej wody powyżej 60°C), chemiczna (chlorowanie lub ozonowanie), podwyższenie stężenia jonowego bakteriobójczych metali (miedzi i srebra). W obiektach szpitalnych, poza stałą kontrolą jakości wody, zaleca się jej filtrowanie i naświetlanie promieniami UV, szczególnie dotyczy to chorych z grupy podwyższonego ryzyka [13, 22]. O ile rygorystyczna kontrola systemów rozprowadzania wody może istotnie ograniczyć liczbę szpitalnych zakażeń, to powszechność występowania *Legionella* w środowisku naturalnym oznacza ciągle ryzyko przypadkowego zakażenia. Prace nad szczepionką odpornościową nie wyszły jeszcze z fazy eksperymentalnej [40]. W celu uaktualnienia przedstawionych w pracy danych warto skorzystać z zestawu adresów stron www dotyczących hasła *Legionella* [41].

## Piśmiennictwo

- [1] Fraser DW, Tsai TR, Orenstein W, Pardin WE, Beecham HJ, Sharrar RG, Harris J, Mallison GF, Martin SM, McDae JE, Shepard CC, Brachman PS, and the Field Investigation Team: Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia. *N Engl J Med* 1997, 297, 1189–1197.
- [2] McDade JE, Shepard CC, Fraser DW, Tsai TR, Redus MA, Dowdle WR, and the Laboratory Investigation Team: Legionnaires' disease: isolation of a bacterium and demonstration of its role in other respiratory disease. *N Engl J Med* 1997, 297, 1197–1203.
- [3] Marston BJ, Lipman HB, Breiman RF: Surveillance for Legionnaires' disease: risk factors for mortality and morbidity. *Arch Intern Med* 1994, 154, 2417–2422.
- [4] Stypułkowska-Misiurewicz H, Pancer K: Legionelloza w Polsce w latach 2001–2002 na tle sytuacji epidemiologicznej w Europie. *Przegl Epidemiol* 2003, 57, 599–606.
- [5] Fields BS, Benson RF, Besser RE: *Legionella* and Legionnaires' disease: 25 years of investigation. *Clin Microbiol Rev* 2002, 15, 506–526.
- [6] Salloom G, Meugnier H, Reyrolle M, Grimont F, Grimont PAD, Etienne J, Freney J: Identification of *Legionella* species by ribotyping and other molecular methods. *Res Microbiol* 2002, 153, 679–686.
- [7] Fields B: The molecular ecology of legionellae. *Trends Microbiol* 1996, 4, 286–290.
- [8] Abu Kvaik Y, Gao L-Y, Stone BJ, Venkataraman C, Harb OS: Invasion of protozoa by *Legionella pneumophila* and its role in bacterial ecology and pathogenesis. *Appl Environ Microbiol* 1998, 64, 3127–3133.
- [9] Leoni E, Legnani PP, Bucci Sabattini MA, Right F: Prevalence of *Legionella* spp. in swimming pool environment. *Wat Res* 2001, 35, 3749–3753.
- [10] Pedro-Botet ML, Stout JE, Yu VL: Legionnaires' disease contracted from patient homes: The coming of third plague? *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002, 21, 699–705.
- [11] McNally C, Hackman B, Fields BS, Plouffe JF: Potential importance of *Legionella* species as etiologies in community acquired pneumonia (CAP). *Diag Microbiol Infect Dis* 2000, 38, 79–82.
- [12] Butler JC, Breiman RF: Legionellosis. In: *Bacterial infections of humans. Epidemiology and Control*. Eds.: Evans AS, Brachman PS, Kluwer Academic/Plenum Medical, New York 1998, p. 355–376.
- [13] EWGLINET: European Guidelines for Control and Prevention of Travel Associated Legionnaires' Disease 2003, <http://www.ewgli.org>
- [14] Chidiac C, Maulin L: Pneumonies a *Legionella pneumophila*: aspects cliniques et therapeutiques. *Med Mal Infect* 2003, 33, 549–553.
- [15] Kaufmann AK, McDade JE, Patton CM, Bennett JV, Skaliy P, Feeley JC, Anderson DC, Potter ME, Newhouse VF, Gregg MB, Brachman BS: Pontiac fever: demonstration of its mode of transmission. *Am J Epidemiol* 1981, 114, 337–374.
- [16] Pancer K, Stypułkowska-Misiurewicz H: Gorączka Pontiac – pozapłucna postać legionelozy. *Przegl Epidemiol* 2003, 57, 607–612.
- [17] Winn WC, Jr, Myerowitz RL: The pathology of the *Legionella* pneumonias. *Hum Pathol* 1981, 12, 401–422.
- [18] Muder RR, Yu VL: Infection due to *Legionella* species other than *Legionella pneumophila*. *Clin Infect Dis* 2002, 35, 990–998.
- [19] Marston BJ, Lipman HB, Breiman RF: 1994. Surveillance for Legionnaires' disease: risk factors for morbidity and mortality. *Arch Intern Med* 1994, 154, 2417–2422.
- [20] PedroBotet ML, Sabria M, Sopena N, GarciaNunez MJ, Dominguez MJ, Reynaga E, RejJoly C: Legionnaires disease and HIV infection. *Chest* 2003, 124, 543–547.
- [21] Yu VL: Could aspiration be the major mode of transmission for *Legionella*? *Am J Med* 1993, 95, 13–15.
- [22] Kac G, Fagon JY: La legionellose: encore des questions non resolues. *Rev Med Intern* 2002, 23, 415–418.
- [23] Wilson ME: The traveller and emerging infections: sentinel, courier, transmitter. *J Appl Microbiol* 2003, 94, Suppl S, 1S–11S.
- [24] Helbig JH, Bernander S, Pastoris MC, Etienne J, Gaia V, Lauwers S, Lindsay D, Luck PC, Marques T, Mentula S, Peeters MF, Pelaz C, Struelens M, Uldum SA, Wewalka G, Harrison TG: Pan-European study on culture-proven Legionnaires' disease: Distribution of *Legionella pneumophila* serogroups and monoclonal subgroups. *Eur J Clin Microb Infect Dis* 2002, 21, 710–716.
- [25] Fernandez Sabe N, Roson B, Carratala J, Dorca J, Manresa F, Gudiol F: Clinical diagnosis of *Legionella pneumophila* revisited: Evaluation of the community-based pneumonia incidence study group scoring system. *Clin Infect Dis* 2003, 37, 483–489.
- [26] Weissgerber P, Faigle M, Northoff H, Neumeister B: Investigation of mechanisms involved in phagocytosis of *Legionella pneumophila* by human cells. *FEMS Microbiol Let* 2003, 219, 173–179.
- [27] Segal G, Russo JJ, Shuman HA: Relationships between a new type IV secretion system and the *icm/dot* virulence system of *Legionella pneumophila*. *Mol Microbiol* 1999, 34, 799–809.
- [28] Molmeret M, Bitar DM, Han L, Kwaik YA: Cell biology of the intracellular infection by *Legionella pneumophila*. *Microb Infect* 2004, 6, 129–139.
- [29] Luneberg E, Mayer B, Daryab N, Kooistra O, Zahringer U, Rohde M, Swanson J, Frosch M: Chromosomal insertion and excision of a 30 kb instable genetic element is responsible for phase variation of lipopolisaccharide and other virulence determinants in *Legionella pneumophila*. *Mol Microbiol* 2001, 39, 1259–1271.
- [30] Payne NR, Horwitz MA: Phagocytosis of *Legionella pneumophila* is mediated by human monocyte complement receptors. *J Exp Med* 1987, 166, 1377–1389.



- [31] **Stone BJ, Abu Kwaik Y:** Expression of multiple pili by *Legionella pneumophila*: identification and characterization of a type IV pili gene its role in adherence to mammalian and protozoan cells. *Infect Immun* 1998, 66, 1768–1775.
- [32] **Dowling JN, Saha AK, Glew RH:** Virulence factors of the family *Legionellaceae*. *Microbiol Rev* 1992, 56, 32–60.
- [33] **Steinert M, Hentschel U, Hacker J:** *Legionella pneumophila*: an aquatic microbe goes astray. *FEMS Microbiol Rev* 2002, 26, 149–162.
- [34] **Waterer GW, Baselski VS, Wunderik RG:** Legionella and community-acquired pneumonia: a review of current diagnostic tests from a clinician's viewpoint. *Am J Med* 2001, 110, 41–48.
- [35] **Salloum G, Meugnier HN, Reyrolle M, Grimont F, Grimont PAD, Etienne J, Frenay J:** Identification of *Legionella* species by ribotyping and other molecular methods. *Res Microbiol* 2002, 153, 679–686.
- [36] **Cordevant C, Tang JS, Cleland D, Lange M:** Characterization of members of the *Legionellaceae* family by automated ribotyping. *J Clin Microbiol* 2003, 41, 34–43.
- [37] **Pascule W:** Update on *Legionella*. *Clin Microbiol Newsletter* 2000, 22, 97–101.
- [38] **Gacuin A, Le Tulzo Y, Camus C, Thomas R:** Legionellosis graves in reanimation. Severe *Legionella pneumophila* in intensive care unit. *Reanimation* 2003, 12, 198–204.
- [39] **Fliermans CB:** Ecology of *Legionella*: From data to knowledge with a little wisdom. *Microb Ecol* 1996, 32, 203–228.
- [40] **Hoge CW, Brieman RF:** Advances in the epidemiology and control of *Legionella* infections. *Epidemiol Rev* 1991, 13, 329–340.
- [41] **Bassetti S, Widmer AF:** *Legionella* resources on the world wide web. *Clin Infect Dis* 2002, 34, 1633–1640.

### Adres do korespondencji:

Jan Kołodyński  
Instytut Genetyki i Mikrobiologii UW  
ul. Przybyszewskiego 63/77  
51-148 Wrocław  
e-mail: kolodyn@microb.uni.wroc.pl

Praca wpłynęła do Redakcji: 23.02.2004 r.

Po recenzji: 5.04.2004 r.

Zaakceptowano do druku: 15.06.2004 r.

Received: 23.02.2004

Revised: 5.04.2004

Accepted: 15.06.2004