

Legioneloza – groźna i tajemnicza choroba

Zdzisław Gliński, Andrzej Żmuda

z Katedry Epizootiologii i Kliniki Chorób Zakaźnych Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie

Wśród chorób zakaźnych ludzi, które ostatnio budzą grozę i ogromne zainteresowanie, jest legioneloza (choroba legionistów). Ta rzadko rozpoznawana choroba zakaźna obejmująca wszystkie postacie zachorowań wywołanych zakażeniem bakterią *Legionella pneumophila* pojawiła się po raz pierwszy w USA w lipcu 1976 r. Po spotkaniu weteranów Legionu Amerykańskiego w Filadelfii 182 osoby zachorowały i 29 zmarło na nietypowe zapalenie płuc – stąd nazwa choroby (Legionnaires disease). Przyczyną choroby była *Legionella pneumophila* (1).

Epidemiologia

Pałeczki *Legionella* izolowano z próbek klinicznych jeszcze przed 1976 r. W 1947 r. *Legionella* spp. została wyizolowana i opisana jako mikroorganizm „podobny do riketsji” i dopiero w 1977 r. została zidentyfikowana jako oddzielny gatunek (2). Epidemie ostrych chorób układu oddechowego, które miały miejsce w latach 50. XX wieku, były wywołane przez ten nowy patogen (3). Następnie zdiagnozowano epidemie spowodowane przez *Legionella pneumophila* w Barlington w 1977 r. i w 1980 r. W 2012 r. w Hiszpanii stwierdzono 449 przypadków (4), w Wielkiej Brytanii w 2012 r. zdiagnozowano 50 przypadków tej choroby (5). Duży odsetek zachorowań stwierdzono w 2011 r. w Danii (11 przypadków/milion) i na Litwie (18 przypadków/milion; 6). Przypadki legionelozy odnotowuje się na całym świecie. Roczna globalna zapadalność na legionelozę wynosi 4–20 chorych na milion mieszkańców, co stanowi 2–9% wszystkich przypadków pozaszpitalnego zapalenia płuc (7). W ciągu ostatniej dekadę nasilenie choroby legionistów w Unii Europejskiej wzrosło z 1,2 do 1,4/100 tys. mieszkańców w latach 2012–2016, do 1,8–2,2 w latach 2017–2019 (8). Europejskie Centrum ds. Zapobiegania i Kontroli Chorób (ECDC) w raporcie opublikowanym w 2021 r. potwierdziło 11 298 przypadków legionelozy w 2019 r. na terenie UE i przewiduje wzrost wskaźnika zgłaszania legionelozy z 1,4 do 2,2 przypadków na 100 tys. mieszkańców w ciągu najbliższych 4 lat (9). Według ECDC w 2021 r. w UE odnotowano najwyższy jak dotąd roczny wskaźnik zgłaszania choroby legionistów – 2,4 przypadków na 100 tys. mieszkańców, przy czym 75% wszystkich zgłoszonych przypadków dotyczyło Włoch, Francji, Hiszpanii i Niemiec. Najczęściej chorowali mężczyźni w wieku 65 lat i starsi, z częstością 8,9 przypadków na 100 tys. mieszkańców (10). Przypadki zakażenia bakterią *L. pneumophila* wykryto w Polsce. W 2017 r. stwierdzono 38 przypadków choroby legionistów i 1 przypadek gorączki Pontiac (11), w 2023 r. legioneloza występowała w 4 województwach: podkarpackim, lubelskim,

Legionellosis – dangerous and mysterious disease

Gliński Z., Żmuda A., Department of Epizootiology and Clinic of Infectious Animal Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin

The annual global incidence of legionellosis is reported between 4–20 cases per million population. Legionellosis presents two, distinct clinical entities: multisystemic Legionnaires' disease, with severe pneumonia, and Pontiac fever, a self-limited flu-like illness. Additionally, many those who seroconvert to *Legionella* remain entirely asymptomatic. Although healthy individuals can contract Legionnaires' disease, most often patients are elderly or debilitated or immunocompromised. The causative agent, *Legionella pneumophila* is Gram-negative, small aerobic coccoid rod, obligate or facultative intracellular. Water is the major environmental reservoir for legionellae; they can infect and multiply within amoebae and ciliated protozoa which are found in natural and manufactured water systems. Legionellae infect human macrophages and monocytes and they multiply within alveolar macrophages. Laboratory diagnosis of legionellosis is based on bacteriological, serological and molecular methods. Among them urinary antigen test, UAT, is widely used. In this article, we present the current situation of legionellosis, with the focus on consequences, recognition and treatment of the disease.

Keywords: Legionnaires' disease, Pontiac fever, diagnostic methods, treatment.

małopolskim i wielkopolskim. Do sierpnia tego roku zakażenie zdiagnozowano u 155 osób.

Biologia *Legionella*

Legionella (Legionellaceae) jest Gram-ujemną bakterią pozbawioną otoczki i możliwości ruchu, wyjątkiem są niektórzy przedstawiciele *L. pneumophila* obdarzeni ruchem dzięki jednej lub kilku rzęskom. Jest tlenowcem, produkuje katalazę i jest słabo oksydazo-dodatnia. Większość szczepów produkuje β-laktamazę i rozrzedza żelatynę. W patologicznie zmienionych płucach i w płwocinie *L. pneumophila* występuje w postaci pałeczek o długości 3–5 μm, natomiast w hodowlach może tworzyć nitki o długości 10–25 μm (12). Trudno rośnie na standardowych podłożach bakteriologicznych. Podstawowym podłożem stosowanym do izolacji bakterii jest agar z węglem drzewnym i ekstraktem drożdżowym (BCYE). Jedną z najciekawszych cech pałeczek *Legionella* jest termotolerancja. *L. pneumophila* rozwija się w granicach od 25 do 37°C, nie może się rozmnażać w 44,2°C (13), przeżywa w 0–63°C (14). Do rodziny Legionellaceae należy ponad 42 gatunków i wyróżnia się 64 grupy serologiczne. *L. pneumophila* jest przyczyną ok. 90% przypadków legionelozy, za pozostałe 10% odpowiada *L. micdadei*, niekiedy określana jako przyczyna pit-sburskiego zapalenia płuc, *L. bozemanii*, *L. dumoffii*

i *L. longbeachae* (15). Oprócz legionelozy *L. pneumophila* wywołuje gorączkę Pontiac i zapalenie płuc. Chorobotwórcze dla człowieka są także inne gatunki *Legionella*: *L. anisa* wywołuje zakażenia opłucnej, *L. bozemanii*, *L. cincinnatiensis*, *L. clemsonensis*, *L. hackeliae*, *L. lansingensis*, *L. longbeachae*, *L. maceachernii*, *L. parisiensis* i *L. micdadei* są przyczyną zapalenia płuc, *L. cardiaca* odpowiada za wrodzone zapalenie wsierdza, *L. jordanis* za zapalenie wsierdza, a *L. feelei* za gorączkę Pontiac (16). Spośród 15 grup serologicznych *L. pneumophila* serogrupy Lp1, Lp4 i Lp6 są głównymi przyczynami chorób u ludzi, przy czym Lp1 odpowiada za 80% przypadków legionelozy wywołanej przez *L. pneumophila*. Wśród typów (STs) w obrębie Lp1 epidemie i sporadyczne przypadki najczęściej powodowały ST1, ST35, ST36, ST37 i ST222 (17).

Pałeczki *Legionella* są obligatoryjnymi lub fakultatywnymi wewnątrzkomórkowymi bakteriami, dla których środowisko wodne jest głównym rezerwuarem. W środowisku wodnym *L. pneumophila* zakaża i rozmnaża się w wolno żyjących amebach, pierwotniakach rzęskowych i śluzowcach (12). W komórkach wolno żyjących ameb *Acanthamoeba polyphaga* i *Hartmannella* występujących w naturalnych i sztucznych systemach wodnych *Legionella* dzięki omijaniu szlaku endosomalno-lizosomalnego namnaża się w fagosomie i może przetrwać w zakażonym organizmie (18, 19, 20). *L. pneumophila* może również przetrwać pozakomórkowo w wodzie w biofilmach. Najwyższe stężenie *Legionella* w biofilmie jest w miesiącach letnich, w maju wynosi $20,4 \times 10^3$ komórek/cm³ w październiku $13,6 \times 10^3$ komórek/cm³ (21). W biofilmie bakteria jest chroniona przed czynnikami środowiskowymi, takimi jak środki biobójcze i wysoka temperatura (22). *L. pneumophila* może przy tym namnażać się w wodzie w temperaturach od 20 do 42°C (23). Niewiele jest danych o występowaniu *Legionella* poza środowiskiem wodnym. Kompostowanie materiałów pochodzenia roślinnego wiąże się z ryzykiem obecności *Legionella* spp. Analiza 23 kompostowni odpadów zielonych w Holandii wykazała, że w 97 z 142 próbek wykryto legionele, a w 33 próbkach potwierdzono obecność szczepu *L. pneumophila* (24). Stwierdzono obecność *Legionella* spp. w 75% składowiskach odpadów zielonych w Szwajcarii. Stopień skażenia wahał się w granicach 10^2 – 10^8 jtk/g (25). Dla szczepów *L. pneumophila* izolowanych w Polsce najwyższa średnia wartość MIC dla tetracykliny wynosi $6130 \pm 0,353$ µg/ml, najniższe MIC ma ryfampicyna $0,020 \pm 0,037$ µg/ml. Najniższe stężenie biobójcze ma lewofloksacyna, a największe tetracyklina, przy tym najwyższe wartości MIC50 i MIC90 notuje się dla tetracykliny, a najniższe dla ryfampicyny. Najwyższą wartością biobójczą cechuje się azytromycyna, a najniższą tetracyklina (26).

Źródło zakażenia i gospodarze

Chociaż *L. pneumophila* występuje powszechnie na całym świecie w naturalnych i sztucznych środowiskach wodnych (7), to rzadko człowiek zakaża się z naturalnych zbiorników wodnych. Typowymi źródłami narażenia na *L. pneumophila* są sztuczne środowiska wodne, takie jak woda znajdująca się w instalacjach

wodno-kanalizacyjnych, podgrzewaczach wody, spa i wieżach chłodniczych. Źródłem *L. pneumophila* mogą być także woda deszczowa i gleba (27). Człowiek i zwierzęta zakażają się najczęściej poprzez wdychanie wody w aerozolu zawierającej *L. pneumophila* i aspirację zanieczyszczonej tą bakterią wody. Rzadziej mają miejsce zakażenia przyranne. Większość przypadków legionelozy jest efektem zakażenia środowiskowego. Znany jest prawdopodobny przypadek zakażenia na skutek bezpośredniego bliskiego i długotrwałego kontaktu człowieka zdrowego z chorym w słabo wentylowanym pomieszczeniu (28). Brak danych o możliwości szerszenia się zakażenia przez bezpośrednie kontakty pomiędzy zwierzętami oraz o zoonotycznych właściwościach *Legionella* spp.

Poza głównymi naturalnymi gospodarzami *L. pneumophila*, jakimi są ameby, pierwotniaki rzęskowe, śluzowce i ludzie, istnieje cała gama różnych gatunków zwierząt wrażliwych na zakażenie naturalne lub na zakażenie sztuczne. Rzadko notuje się naturalne zakażenie u cieląt (29). Przeciwciała dla tego zarazka stwierdza się u koni (29, 30), bydła, świń, owiec, psów, kóz (31), dromaderów (31), antylop, bawołów (29) i drobiu. Na zakażenia eksperymentalne są wrażliwe świnki morskie, konie, małpy rezusy, myszy i szczury (32). Chociaż zwierzęta domowe i nieudomowione mogą być seropozytywne, to brakuje danych na temat chorób wywołanych u zwierząt przez *L. pneumophila* (33).

Patogeneza

Rozwój i postaci kliniczne choroby zależą od gatunku i liczby bakterii w aerozolu, grupy serologicznej, do której należy *Legionella*, czynników zjadliwości i stanu odporności człowieka. Czynniki zjadliwości u *Legionella* są lipopolisacharyd (LPS), rzęski, pili i białka zewnętrznej błony komórkowej (outer membrane proteins; 34, 35). Ruchliwość decyduje o rozprzestrzenianiu się bakterii orzęsionych w płucach (36). Peptydaza prepiliny (PilD), uczestnicząca w wytwarzaniu pili typu IV, odgrywa kluczowe znaczenie w wewnątrzkomórkowej proliferacji bakterii i w układzie wydzielniczym typu II. Białka błony zewnętrznej umożliwiają infekcję, namnożenie i przeżycie *Legionella* w makrofagach i monocytach (33). Głównie białko błony zewnętrznej (MOMP) o właściwości porzyn zainicjuje adhezję i introdukcję bakterii do wnętrza komórki (37). *L. pneumophila* posiada układy wydzielnicze, które są podstawowymi czynnikami zjadliwości. Należą do nich system wydzielniczy Lass, Lap, system wydzielniczy typu III mechanizmu transportu białek i system wydzielniczy typu IV, który wydziela ponad 300 różnych białek efektorowych do komórki gospodarza i ma kluczowe znaczenie dla zjadliwości *L. pneumophila* (38). Bakterie rozmnażają się wewnątrzkomórkowo w makrofagach pęcherzyków płucnych. Naciekające neutrofile i monocyty pęcherzyki płuc łącznie z czynnikami zjadliwości powodują zapalenie pęcherzyków płucnych. W zakażonej komórce *L. pneumophila* traci wici, unika szlaku endocytarnego i namnaża się w wakuolach. Przejęciu między fazami wzrostu towarzyszą główne zmiany

transkryptomocne. Drastyczna zmiana ekspresji z fazy replikacyjnej do fazy transmisyjnej dotyczy prawie połowy genów *Legionella* (39). Na skutek działania czynników zjadliwości zainfekowane komórki ulegają martwicy (37). Układ odpornościowy wykrywa *L. pneumophila* jako „obce” dzięki synergicznemu rozpoznawaniu wzorców molekularnych związanych z patogenami (PAMP) przez receptory rozpoznawania wzorców (PRR), w tym receptory Toll-podobne (TLR), receptory podobne do domeny oligomeryzacji wiążącej nukleotydy (NLR) i Rig-, jak helikazy (RLH), oraz aktywuje odpowiedź immunologiczną, która indukuje zapalenie, hamuje rozmnażanie i niszczy patogeny (40). Przekazywanie sygnału pobudzenia, które odbywa się z udziałem wielu białek adaptorowych, w tym stymulatora promotora interferonu- β -1 (IPS-1), aktywuje czynniki regulujące NF- κ B i interferon, wzmaga się wytwarzanie cytokin prozapalnych oraz interferonu IFN- γ i TNF- α (41). Cytokiny prozapalne odgrywają kluczową rolę w obronie gospodarza przed *L. pneumophila* i są przede wszystkim odpowiedzialne za usuwanie immunologiczne *L. pneumophila*. W tym procesie uczestniczy ponadto stres oksydacyjny, przebudowa składników odżywczych i ksenofagia. Odporność nabyta dodatkowo przyczynia się do obrony przed *L. pneumophila*. Pobudzone komórki TCD4+ i TCD8+ uczestniczą w odpowiedzi na zakażenie (42, 43).

Badania nad odpornością humoralną w legionellozie rozpoczęto na myszach. Powtórne zakażenie układowe oraz donosowe myszy silnie pobudza limfocyty B. Działanie ochronne zależało od przeciwciał, które hamują rozmnażanie *Legionella*. Przeciwciała anty-*L. pneumophila* produkowane w trakcie rozmnażania się bakterii w płucach regulują u immunologicznie kompetentnego gospodarza wewnętrzplucny wzrost *L. pneumophila* poprzez zmniejszenie żywotności zewnątrzkomórkowej *L. pneumophila* i nasilenie fagocytozy bakterii przez jednojądrzaste komórki fagocytarne pęcherzyków płucnych w mechanizmie niezależnym od dopełniacza (44).

U pacjentów z chorobą legionistów przeciwciała pojawiają się w surowicy po 8 lub więcej dniach po wystąpieniu objawów choroby i utrzymują się przez okres od poniżej 34 dni do roku. Pacjenci różnią się wysokością mian przeciwciał. Początkowo dominują

przeciwciała w klasie IgM, część chorych produkowała tylko IgM w ciągu pierwszych 21 dni, a część chorych tylko IgM w ciągu pierwszych 28 dni, kilku pacjentów nie wytwarzało przeciwciał w klasie IgG (45).

Objawy kliniczne

Klinicyści wyróżniają dwie odrębne jednostki chorobowe wywołane przez *L. pneumophila*: chorobę legionistów (legionelloza) – ciężką chorobą wielonarządową obejmującą zapalenie płuc (46) i gorączkę Pontiac – samoograniczającą się chorobę grypopodobną (47; **tab. 1**). Ponadto u wielu osób, u których doszło do serokonwersji na *L. pneumophila*, zakażenie przebiega bezobjawowo (48). Do grupy podwyższonego ryzyka należą osoby po 50 roku życia, pacjenci z osłabioną odpornością komórkową, np. z zespołem nabytego niedoboru immunologicznego, osoby poddane leczeniu immunosupresyjnemu (pacjenci po przeszczepach), cukrzycy, chorzy na nowotwory krwi i na wyniszczające choroby nerek, a także alkoholicy i nałogowi palacze tytoniu.

Okres wylegania choroby w chorobie legionistów trwa zwykle 2–14 dni, rzadko dłużej. Z reguły początkowi choroby towarzyszy ogólne „rozbitcie” i ból głowy. Następnie pojawiają się gorączka (38,8–40,5°C) i dreszcze, bóle mięśniowe, duszność, kaszel z plwociną, która pojawia się u ok. 50% pacjentów i zawiera niekiedy domieszkę krwi (49). Często występują bóle przypominające zapalenie opłucnej oraz dolegliwości brzuszne i związane z nimi nudności, wymioty i biegunka. W końcu rozwija się ciężkie zapalenie płuc. Niekiedy występują, zwłaszcza u pacjentów z osłabionym układem immunologicznym, obrzęk śledziony, zapalenie wsierdzia, osierdzia, mięśnia serca, zapalenie stawów. U 25 do 50% chorych pojawiają się zaburzenia neurologiczne pod postacią splątania lub majaczenia. Choroba trwa kilka tygodni, śmiertelność dochodzi do 10%. Mogą wystąpić zaburzenia czynności wątroby i nerek (7, 50). Ciężkie przypadki legionellozy mogą prowadzić do niewydolności oddechowej, wstrząsu septycznego, następstw mózgowych, ostrej niewydolności nerek, niewydolności wielonarządowej i ostatecznie śmierci. Współczynnik zgonów mieści się w przedziale 5–15%, średnio wynosi ok. 10%. U nieleczonych pacjentów z obniżoną

Tabela 1. Najważniejsze objawy w chorobie legionistów i gorączce Pontiac (81, 82)

Objawy i zmiany	Choroba legionistów	Gorączka Pontiac
Zachorowalność	<1%	duża
Okres inkubacji choroby	2–14 dni	24–96 godz.
Objawy	zapalenie płuc, kaszel, bóle głowy i mięśni, gorączka 38,8–40,5°C, biegunka, zaburzenia neurologiczne	choroba grypopodobna
Rentgenografia	zmiany nieswoiste w płucach	brak zmian w płucach
Badania laboratoryjne	zaburzenie czynności nerek i wątroby	brak zaburzeń
Czas trwania choroby	kilka tygodni	3–5 dni
Rozpoznanie	test antygenowy z moczem, hodowla, IFA, PCR, ELISA	test antygenowy z moczem
Leczenie	azytromycyna, lewofloksacyna	objawowe
Śmiertelność	ok. 10%	brak

odpornością śmiertelność może sięgać nawet 40–80% (51). Gorączka Pontiac ma łagodniejszy przebieg niż choroba legionistów. Przyczyną może być *L. pneumophila* serotyp 1, 6 i 7 (52), a także *L. feeleii* (53), *L. micdadei* (54) i *L. anisa*. Okres wylegania choroby wynosi 2–3 dni, współczynnik zachorowania jest wysoki, wynosi 70–90%. Płeć i wiek chorych nie wpływają na zachorowalność. Chorobę cechują: gorączka, zmęczenie, bóle mięśni, bóle stawów, ból głowy, kaszel, ból gardła i nudności. W chorobie nie występuje zapalenie płuc. Chorzy zdrowieją w okresie do 7 dni. U chorych dzieci objawy mogą być różne: podwyższona temperatura ciała (40°C), brak leukocytozy z przesunięciem w lewo, skrócony okres inkubacji (56, 57). W legionelozie może wzrastać aktywność transaminaz w surowicy i poziom białka C-reaktywnego, występuje białkomocz, wysoki poziom kreatyniny w moczu i hiponatremia (58).

Zmiany histopatologiczne

W legionelozie rozwijają się ostre włóknikowo-ropne odoskrzelowe zapalenie płuc (59). Zmiany zapalne dotyczą dolnych dróg oddechowych, przede wszystkim oskrzelików, przewodów pęcherzykowych i pęcherzyków płucnych. Zapalenie obejmuje tylko w niewielkim stopniu główne odgałęzienia drzewa oskrzelowego i przylegające tkanki lub w ogóle ich nie obejmuje. Pęcherzyki płucne w obszarach płuc zajętych procesem chorobowym wypełnia wysięk zawierający komórki wielojądrzaste, makrofagi i złożony włóknika, limfocyty i erytrocyty. Obserwuje się rozrost pneumocytów i ich martwicę, erytrofagocytozę i leukofagocytozę makrofagową (60).

Rozpoznanie

Nie można odróżnić pacjentów z chorobą legionistów od pacjentów z innymi typami zapalenia płuc wyłącznie na podstawie objawów klinicznych (61). Objawy choroby legionistów obejmują: gorączkę, nieproduktywny kaszel, ból głowy, bóle mięśni, dreszcze, duszność, biegunkę i majaczenie (62). Również badanie rentgenowskie klatki piersiowej nie odgrywa decydującej roli w rozpoznaniu, ponieważ nie pozwala na odróżnienie legionelozy od innych typów zapalenia płuc. Niemniej jednak badania rentgenowskie klatki piersiowej posiadają pewną wartość diagnostyczną. Z tego względu, że nacieki w pęcherzykach płuc występują częściej w legionelozie aniżeli w innego typu zapaleniu płuc (63). Diagnostyka laboratoryjna wykorzystuje selektywne pożywki hodowlane, detekcję antygeny *Legionella* w moczu, wykrywanie przeciwciał w surowicy oraz metody amplifikacji molekularnej. W każdym przypadku podejrzenia infekcji *Legionella* wykonuje się badanie hodowlane. Zarazek identyfikuje się na podstawie wzrostu na podłożu z buforowanym ekstraktem drożdżowym z węglem drzewnym (BCYE) i na zapotrzebowaniu na aminokwas l-cysteinę (wyjątek stanowi *L. oakridgensis* i *L. spiritensis*). Metody hodowlane cechują się niską czułością, ale bardzo dużą swoistością, przynosząc bardzo dobre efekty u ciężko chorych pacjentów

i u osób z obniżoną odpornością. Stosuje się też do izolacji dwa podłoża selektywne: BCYE z dodatkiem polimyksyny B, anizomycyny, wankomycyny i barwników (purpura bromokrezolowa i bromotymol), i podłoża BCYE z polimyksyną B, anizomycyną oraz cefamandolem (64). Test immunofluorescencji pośredniej (IFA) i test immunoenzymatyczny (ELISA) to dwa najczęściej stosowane testy serologiczne zalecane w diagnostyce legionelozy (65). W teście IFA stwierdza się 4-krotny wzrost poziomu przeciwciał u 70–80% pacjentów, przy czym serokonwersja może nie wystąpić w ciągu 2 miesięcy od początku choroby (66). Test ELISA cechuje się mniejszą czułością aniżeli test IFA. W diagnostyce stosuje się też test mikroaglutynacji (67). Testy serologiczne do wykrywania przeciwciał w klasie IgM, IgG i A IgA mają tę zaletę, że na ich podstawie jest możliwe określenie serokonwersji przebytych i niedawnych infekcji w populacji. Otrzymano także przeciwciała dla białek szoku termicznego (Mip), które reagują z 34 gatunkami *Legionella* (68).

Najczęściej stosowanym testem diagnostycznym w chorobie legionistów i w gorączce Pontiac jest test antygenowy z moczem (UAT, Urinary Antigen Test), którym wykrywa się w moczu antygen lipopolisacharydowy *L. pneumophila* z grupy serologicznej 1. UAT jest prostym, szybkim i nieinwazyjnym testem diagnostycznym o swoistości wysokiej, bo przekraczającej 90% i o umiarkowanej czułości, która wynosi poniżej 80% (69). Badanie na obecność antygenów *Legionella* w moczu ma szczególnie istotne znaczenie w przypadku infekcji dróg oddechowych wywołanych przez *Legionellę* (70). Jeśli u pacjenta z zapaleniem płuc wynik testu jest pozytywny, uznaje się, że pacjent cierpi na chorobę legionistów (71, 72). Dodatkową zaletą testu UAT jest brak wpływu poprzedniego leczenia pacjenta antybiotykami na wyniki testu (73).

Test PCR jest jednym z niewielu testów diagnostycznych, który umożliwi wykrycie infekcji wywołanych przez wszystkie znane gatunki *Legionella*. Różne testy RT-PCR opracowane dla diagnostyki legionelozy wykorzystuje fragmenty genu 5S rRNA (74), 16S rRNA lub genu mip *L. pneumophila* (75). Handlowe zestawy do PCR/RT-PCR do badania próbek z dróg oddechowych cechują czułość w zakresie od 17 do 100% i swoistość w zakresie od 95 do 100% (76). W przypadku stosowania PCR mogą wystąpić wyniki fałszywie dodatnie, ponieważ test molekularny może wykryć niehodowlaną *Legionellę* (77). Pętlowa amplifikacja izotermiczna (LAMP) jest prostą, szybką, czułą i dokładną metodą amplifikacji i wykrywania DNA/RNA, wymaga przy tym mniej sprzętu i krótszego czasu przetwarzania. Swoistość w przypadku infekcji *L. pneumophila* wynosi 91%, a czułość 100% (78). W rozpoznaniu legionelozy i gorączki Pontiac należy uwzględnić infekcje spowodowane przez *Chlamydia pneumoniae*, *Francisella tularensiae* i *Coxiella burnetii*.

Postępowanie

Ze względu na powodowanie przez bakterie *Legionella* zakażenia wewnątrzkomórkowego w terapii legionelozy stosuje się antybiotyki cechujące się

dobrymi właściwościami penetracji komórki. W leczeniu zaleca się fluorochinolony, antybiotyki makrolidowe i ryfampinę. U pacjentów z immunosupresją, szczególnie po przeszczepach narządów, stosuje się 21-dniową terapię fluorochinolonomą lub stosuje się azytromycynę (79, 80). W profilaktyce istotną rolę odgrywa ocena stanu obiektu wykorzystywanego przez ludzi pod kątem zagrożenia zakażeniem bakterią *Legionella*. Wspecjalizowane firmy dysponują sposobami minimalizowania ryzyka pojawienia się skażenia systemów wodnych oraz podają zalecenia eksploatacyjne i naprawcze.

Legioneloza jest o tyle groźną chorobą, że odpowiada za znaczący odsetek pozaszpitalnych zapaleń płuc o ciężkim przebiegu i nawet odpowiednio leczona u pacjentów z immunosupresją może powodować poważne powikłania i nawet spowodować zgon. Co więcej, powszechnie stosowany do wykrywania choroby test antygenowy z moczem ma pewne ograniczenia, umożliwia on bowiem wykrycie wyłącznie zakażenia *L. pneumophila* z grupy serologicznej 1, tym samym nie są wykrywane infekcje wywołane innymi serotypami tej bakterii. Bardzo często trudno przy tym szybko ustalić źródło lub źródła zakażenia, a tym samym przerwać łańcuch epidemiologiczny choroby. Namnożenie bakterii *Legionella* w pierwotniakach wolno żyjących w wodach i poza środowiskiem wodnym w materiałach pochodzenia roślinnego stanowi dodatkowe i często łatwo dostępne źródło zakażenia i rezerwuuar patogenu, a także utrudnia likwidację tych drobnoustrojów (83).

Piśmiennictwo

- Winn jr. W.C.: Legionnaires disease: historical perspective, *Clin. Microbiol. Rev.* 1988, 1, 60–81.
- Jackson E., Crocker T., Smadel J.: Studies on two Rickettsia-like agents probably isolated from guinea pigs, *Bacteriol. Proc.* 1952, 52, 119–123.
- Osterholm M.T., Chin D.Y., Osbourne D.O., Dull H.B., Dean A.G., Fraser D.W., Hayes P.S., Hall W.N.: A 1957 outbreak of Legionnaires' disease associated with a meat packing plant, *Am. J. Epidemiol.* 1983, 117, 60–67.
- García-Fulgueiras A., Navarro C., Fenoll D., Garcia J., González-Diego P., Jiménez-Buñuales T., Rodríguez M., Lopez R., Pacheco F., Ruiz J., Segovia M., Balandrón B., Pelaz C.: Legionnaires' disease outbreak in Murcia, Spain, *Emerg. Infect. Dis.* 2003, 9, 915–921.
- McCormick D., Thorn S., Milne D., Evans C., Stevenson J., Llano M., Donaghy M.: Public health response to an outbreak of Legionnaires' disease in Edinburgh, United Kingdom, June 2012, *Eurosurveillance*. 2012, 17, 20216, DOI: 10.2807/ese.17.28.20216-en.
- ECDC: Legionnaires' disease surveillance in Europe, 2011, Stockholm, ECDC, 2013.
- Cuhna B.A., Burillo A., Bouza E.: Legionnaires' disease, *Lancet* 2016, 387, 376–385.
- Samuelsson J., Hallström L.P., Marrone G., Dias J.G.: Legionnaires' disease in the EU/EEA: increasing trend from 2017 to 2019, *Eurosurveillance*. 2023, 28, 2200114, DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2023.28.11.2200114.
- ECDC: Legionnaires' disease, *Annual Epidemiol. Rep.* 2019.
- ECDC: Increasing rates of Legionnaires' disease in the EU/EEA, *Annual Epidemiol. Rep.* 2021, 2023, <https://www.ecdc.europa.eu/en/news-events/increasing-rates-legionnaires-disease-eueea>.
- Stypułkowska-Misiurewicz H., Czerwiński M.: Legionellosis in Poland in 2016, *Przegl. Epidemiol.* 2018, 72, 143–147.
- Carratala J., Garcia-Vidal C.: An update on Legionella, *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2010, 23, 152–157.
- Konishi T., Yamashiro T., Koide M., Nishizono A.: Influence of temperature on growth of Legionella pneumophila biofilm determined by precise temperature gradient incubator, *J. Biosci. Bioeng.* 2006, 101, 478–484.
- Rakić A., Štambuk-Giljanović N.: Physical and chemical parameter correlations with technical and technological characteristics of heating systems and the presence of Legionella spp. in the hot water supply, *Environ. Monit. Assess.* 2016, 188, 73, DOI: 10.1007/s10661-015-5047-8.
- Wilkinson H.W.: Hospital laboratory diagnosis of Legionella infections, *Zed. Center Dis. Control. Atlanta* 1988, 1–35.
- Talapko J., Frauenheim E., Juzbašić M., Tomas M., Matic S., Jukić M., Samaržić M., Škrlec I.: Legionella pneumophila: Virulence factors and the possibility of infection in dental practice, *Microorganisms* 2022, 10, 255, DOI: 10.3390/microorganisms10020255.
- Kozak-Muiznieks N.A., Lucas C.E., Brown E., Pondo T., Taylor T.H., Frace M., Miskowski D., Winchell J.M.: Prevalence of sequence types among clinical and environmental isolates of Legionella pneumophila serogroup 1 in the United States from 1982 to 2012, *J. Clin. Microbiol.* 214, 52, 201–211.
- Van Heijnsbergen E., Schalk J.A., Euser S., Brandsema P.S., den Boer J.W., De Roda Husman A.M.: Confirmed and potential sources of Legionella reviewed, *Environ. Sci. Technol.* 2015, 49, 4797–4815.
- Shaheen M., Scott C., Ashbolt N.J.: Long-term persistence of infectious Legionella with free-living amoebae in drinking water biofilms, *Int. J. Hyg. Environ. Health* 2019, 222, 678–686.
- Quan F.S., Kong H.H., Lee H.A., Chu K.B., Moon E. K.: Identification of differentially expressed Legionella genes during its intracellular growth in Acanthamoeba, *Heliyon* 2020, 6, e05238, DOI: 10.1016/j.heliyon.2020.
- Kanarek P., Bogiel T., Breza-Boruta B.: Legionellosis risk: An overview of Legionella spp. habitats in Europe, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2022, 29, 76532–76542.
- Vaccaro L., Gomes T.S., Izquierdo F., Magnet A., Berzosa S.L., Olleiro D., Salso S.: Legionella feeli: ubiquitous pathogen in the environment and causative agent of pneumonia, *Front. Microbiol.* 2021, 12, 707187, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.707187>
- WHO: Legionellosis Fact Sheet, 2018, <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/legionellosis>.
- Huss A., Derks L.A.N., Heederik D.J.J., Wouters I.M.: Green waste compost as potential reservoirs of Legionella in the Netherlands, *Clin. Microbiol. Infect.* 2020, 26, 1259, e3, <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.05.018>
- Casati S., Conza L., Bruin J., Gaia V.: Compost facilities as a reservoir of Legionella pneumophila and other Legionella species, *Clin. Microbiol. Infect.* 2010, 16, 945–947.
- Gładysz A., Sikora A., Wójtowicz-Bobin M., Szepełuk A., Matuszewska R., Bartosik M., Karczewski J.K.: Antibiotic sensitivity of environmental Legionella pneumophila strains isolated in Poland, *Annals Agric. Environ. Med.* 2023, 30, 602–605.
- Van Heijnsbergen E., de Roda Husman A.M., Lodder W.J., Bouwknecht M., Docters van Leeuwen A.E., Bruin J.P., Euser S.M., den Boer J.W., Schalk J.A.C.: Viable Legionella pneumophila bacteria in natural soil and rainwater puddles, *J. Appl. Microbiol.* 2014, 117, 882–890.
- Correia A.M., Goncalves J., Gomes J.P.: Probable person-to-person transmission of legionnaires' disease, *New Engl. J. Med.* 2016, 374, 497–498.
- Boldur I., Cohen A., Tamarin-Landau R., Sompolinsky D.: Isolation of Legionella pneumophila from calves and the prevalence of antibodies in cattle, sheep, horses, antelopes, buffaloes and rabbits, *Vet. Microbiol.* 1987, 13, 313–320.
- Collins M.T., Cho S.N., Reif J.S.: Prevalence of Antibodies to Legionella pneumophila in animal population, *J. Clin. Microbiol.* 1982, 15, 130–136.
- Phakkey A., Linkqvist K.J., Omland T., Berdal J.P.: Legionella antibodies in human and animal populations in Kenya, *APMIS* 1990, 98, 43–49.
- Dubuisson J.F., Swanson M.S.: Mouse infection by Legionella, a model to analyze autophagy, *Autophagy* 2006, 2, 179–182; Rolstad B., Berdal B.P.: Immune defenses against Legionella pneumophila in rats, *Infect. Immun.* 1981, 32, 805–812.
- Fabbi M., Pastoris M. C., Scanziani E., Magnino S., Di Matteo L.: Epidemiological and environmental investigations of Legionella pneumophila infection in cattle and case report of fatal pneumonia in a calf, *J. Clin. Microbiol.* 1998, 36, 1942–1947.
- Arslan-Aydoğdu E.Ö., Kimiran A.: An investigation of virulence factors of Legionella pneumophila environmental isolates, *Braz. J. Microbiol.* 2018, 49, 189–199.
- Newton H.J., Ang D.K.Y., Van Driel I.R., Hartland E.L.: Molecular pathogenesis of infections caused by Legionella pneumophila, *Clin. Microbiol. Rev.* 2010, 23, 274–298.
- Appelt S., Heuner K.: The flagellar regulon of Legionella: A review, *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2017, 7, 454, <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00454>
- Chauhan D., Shames S.R.: Pathogenicity and virulence of Legionella: Intracellular replication and host response, *Virulence* 2021, 12, 1122–1144.
- Gomez-Valero L., Rusniok C., Carson D., Mondino S., Pérez-Cobas A.E., Rolando M., Pasricha S., Reuter S., Demirtas J., Crumbach J.,

- Descorpes-Declere S., Artland E.L., Jarraud S., Dougan G., Schroeder G., Frankel G., Buchrieser C.: More than 18,000 effectors in the *Legionella* genus genome provide multiple, independent combinations for replication in human cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2019, **116**, 2265–2273.
39. Brüggemann H., Hagman A., Jules M., Sismeiro O., Dillies M.A., Gouyette C., Kunst F., Steiner M., Heuner K., Coppée J.Y., Buchrieser C.: Virulence strategies for infecting phagocytes deduced from the in vivo transcriptional program of *Legionella pneumophila*, *Cell Microbiol.* 2006, **8**, 1228–1240.
40. Massis L.M., Zamboni D.S.: Innate immunity to *Legionella pneumophila*, *Front. Microbiol.* 2011, **2**, 109, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00109>
41. Kawai T., Akira S.: The roles of TLRs, RLRs and NLRs in pathogen recognition, *Int. Immunol.* 2009, **21**, 317–337.
42. Trunk G., Oxenius A.: Innate Instruction of TCD4+ cell immunity in respiratory bacterial infection, *J. Immunol.* 2012, **189**, 616–628.
43. Ngwaga T., Chauhan D., Shames S.R.: Mechanisms of effector-mediated immunity revealed by the accidental human pathogen *Legionella pneumophila*, *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2020, **10**, <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.593823>
44. Brieland J.K., Heath L.A., Huffnagle G., Remick D.G., McClain M.S., Hurley M.C., Kunkel R.K., Fantone J.C., Engleberg C.: Humoral immunity and regulation of intrapulmonary growth of *Legionella pneumophila* in the immunocompetent host, *J. Immunol.* 1997, **157**, 5002–5008.
45. Nagington J., Wreghitt T.G., Tobin J.O., Macrae A.D.: The antibody response in Legionnaires' disease, *J. Hyg. (Lond)* 1979, **83**, 377–381.
46. Fraser D.W., Tsai T.R., Orenstein W., Parkin W.E., Beecham H.J., Sharrar R.G., Harris J., Mallison G.F., Martin S.M., McDade J.E., Shepard C.C., Brachman P.S.: Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia, *N. Engl. J. Med.* 1977, **297**, 1189–1197.
47. Glick T.H., Gregg M.B., Berman B., Mallison G., Rhodes W.W., Jr., Kasanoff I.: Pontiac fever. An epidemic of unknown etiology in a health department. I. Clinical and epidemiologic aspects, *Am. J. Epidemiol.* 1978, **107**, 149–160.
48. Boshuizen H.C., Neppelenbroek S.E., van Vliet H., Schellekens J.F., Boer J.W., Peeters M.F., Spaendonck M.A.: Subclinical *Legionella* infection in workers near the source of a large outbreak of legionnaires disease, *J. Infect. Dis.* 2001, **184**, 515–518.
49. Chitasombat M.N., Ratchatanawin N., Visessiri Y.: Disseminated extrapulmonary *Legionella pneumophila* infection presenting with panniculitis: Case report and literature review, *BMC Infect. Dis.* 2018, **18**, 467, <https://doi.org/10.1186/s12879-018-3378-0>
50. Hamilton K.A., Prussin A.J., Ahmed W., Haas C.N.: Outbreaks of Legionnaires' disease and Pontiac fever 2006–2017, *Curr. Environ. Health Rep.* 2018, **5**, 263–271.
51. Wingfield T., Rowell S., Peel A., Puli D., Guleri A., Sharma R.: Legionella pneumonia cases over a five-year period: a descriptive, retrospective study of outcomes in a UK district hospital, *Clin. Med. (Lond)* 2013, **13**, 152–159.
52. Luttichau H.R., Vinther C., Uldum S.A., Moller J., Faber M., Jensen J.S.: An outbreak of Pontiac fever among children following the use of a whirlpool, *Clin. Infect. Dis.* 1998, **26**, 1374–1378.
53. Cordes L.G., Fraser D.W.: Legionellosis: Legionnaires' disease; Pontiac fever, *Med. Clin. North. Am.* 1980, **64**, 395–416.
54. Goldberg D.J., Wrench J.G., Collier P.W., Emslie J.A., Fallon R.J., Forbes G.I., McKay T.M., Macpherson A.C., Markwick T.A., Reid D.: Lochgoilhead fever: outbreak of non-pneumonic legionellosis due to *Legionella micdadei*, *Lancet* 1989, **1**, 316–318.
55. Fenstersheib M.D., Miller M., Diggins C., Liska S., Detwiler L., Werner S.B., Lindquist D., Thacker W.L., Benson R.F.: Outbreak of Pontiac fever due to *Legionella anisa*, *Lancet* 1990, **336**, 35–53.
56. Pancer K., Stypułkowska-Misiurewicz H.: Gorączka Pontiac – pozapłucna postać legionelozy, *Przegląd Epidemiol.* 2003, **57**, 607–612.
57. CDC: Legionella (Legionnaires' disease and Pontiac fever), *Fact Sheets*, 24/7, <https://www.cdc.gov/legionella/about/signs-symptoms.html>
58. Cunha B.A.: Clinical features of legionnaires' disease, *Semin. Respir. Infect.* 1998, **13**, 13–27.
59. Carrington C.B.: Pathology of Legionnaires' disease, *Annals Intern. Med.* 1979, **90**, 496–499.
60. Lattimer G.L., Rachman R.A., Scarlato M.I.: Legionnaires' disease pneumonia: histopathologic features and comparison with microbial and chemical pneumonias, *Annals Clin. Lab. Sci.* 1979, **9**, 353–361.
61. Edelstein P.H.: Legionnaires' disease, *Clin. Infect. Dis.* 1993, **16**, 741–749.
62. Tsai T.F., Finn D.R., Plikaytis B.D., McCauley W., Martin S.M., Fraser D.W.: Legionnaires' disease: clinical features of the epidemic in Philadelphia, *Ann. Intern. Med.* 1979, **90**, 509–517.
63. Macfarlane J.T., Miller A.C., Smith W.H.R., Morris A.H., Rose D.H.: Comparative radiographic features of community acquired Legionnaires' disease, pneumococcal pneumonia, mycoplasma pneumonia, and psittacosis, *Thorax* 1984, **39**, 28–33.
64. Lee T.C., Vickers R.M., Yu V.L., Wagener M.M.: Growth of 28 *Legionella* species on selective culture media: a comparative study, *J. Clin. Microbiol.* 1993, **31**, 2764–2768.
65. Tay S.T., Lakhbeer Singh H., Ramasame S.D., Vadivelu J.: Detection of IgM antibodies against *Legionella pneumophila* serogroup 1 in Malaysian blood donors and patients with respiratory illnesses: evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay and indirect immunofluorescence assay, *Jpn. J. Infect. Dis.* 2009, **62**, 409–410.
66. Fields B.S., Benson R.F., Besser R.E.: Legionella and legionnaires' disease: 25 years of investigation, *Clin. Microbiol. Rev.* 2002, **15**, DOI: <https://doi.org/10.1128/cmr.15.3.506-526>.
67. Graham F.F., Hales S., White P.S., Baker M.G.: Global seroprevalence of legionellosis – a systematic review and meta-analysis, *Scien. Rep. Nature Res.* 2020, **10**, 7337, DOI: [10.1038/s41598-020-63740-y](https://doi.org/10.1038/s41598-020-63740-y).
68. Helbig J.H., Ludwig B., Luck P.C., Groh A., Witzleb W., Hacker J.: Monoclonal antibodies to *Legionella* Mip proteins recognize genus- and species-specific epitopes, *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 1995, **2**, 160–165.
69. Couturier M.R., Graf E.H., Griffin A.T.: Urine antigen tests for the diagnosis of respiratory infections, *Clin. Lab. Med.* 2014, **34**, 219–236.
70. Kim P., Deshpande A., Rothberg M.B.: Urinary antigen testing for respiratory infections: Current perspectives on utility and limitations, *Infect. Drug Resist.* 2022, **15**, 2219–2228.
71. CDCP: Legionella (Legionnaires' disease and Pontiac fever). Diagnosis, treatment, and prevention, 2021, <https://www.cdc.gov/legionella/clinicians/diagnostic-testing.html>
72. Kohler R.B., Winn W.C. Jr., Wheat L.J.: Onset and duration of urinary antigen excretion in Legionnaires disease, *J. Clin. Microbiol.* 1984, **20**, 605–607.
73. Song J.Y., Eun B.W., Nahm M.H.: Diagnosis of pneumococcal pneumonia: current pitfalls and the way forward, *Infect. Chemother.* 2013, **45**, 351, DOI: [10.3947/ic.2013.45.4.351](https://doi.org/10.3947/ic.2013.45.4.351).
74. Mahbubani M.H., Bej A.K., Miller R., Haff L., DiCesare J., Atlas R.M.: Detection of *Legionella* with polymerase chain reaction and gene probe methods, *Mol. Cell. Probes* 1990, **4**, 175–187.
75. Ramirez J.A., Ahkee S., Tolentino A., Miller R.D., Summersgill J.T.: Diagnosis of *Legionella pneumophila*, *Mycoplasma pneumoniae*, or *Chlamydia pneumoniae* lower respiratory-infection using the polymerase chain-reaction on a single throat swab specimen, *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 1996, **24**, 7–14.
76. Benitez A.J., Winchell J.M.: Clinical application of a multiplex real-time PCR assay for simultaneous detection of *Legionella* species, *Legionella pneumophila*, and *Legionella pneumophila* serogroup 1, *J. Clin. Microbiol.* 2013, **51**, 348–351.
77. Pei A., Winter A.L., Gubbay J.B.: Evaluation and comparison of multiple test methods, including real-time PCR, for *Legionella* detection in clinical specimens, *Front. Public Health* 2016, **4**, 175, DOI: [10.3389/fpubh.2016.00175](https://doi.org/10.3389/fpubh.2016.00175).
78. Lu X., Mo Z.Y., Zhao H.B., Yan H., Shi L.: LAMP-based method for a rapid identification of *Legionella* spp. and *Legionella pneumophila*, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2011, **92**, 179–187.
79. Roig J., Rello J.: Legionnaires' disease: A rational approach to therapy, *J. Antimicrob. Chemother.* 2003, **51**, 1119–1129.
80. Dumarçet N.: Updates for the antibiotic treatment of legionellosis in adults, *Med. Malad. Infect.* 2012, **42**, 393–413.
81. Beauté J., Robesyn E., de Jong B.: Legionnaires' disease in Europe: all quiet on the eastern front?, *Europ. Resp. J.* 2013, **42**, 1454–1458.
82. Cristovam E., Almeida D., Caldeira D., Ferreira J.J., Marques T.: Accuracy of diagnostic tests for Legionnaires' disease: a systematic review, *J. Med. Microbiol.* 2017, **66**, 485–489.
83. Kabarek P., Bogiel T., Breza-Boruta B.: Legionellosis risk: An overview of *Legionella* spp., in habitats in Europe, *Environ. Scien. Pollut. Res. Int.* 2022, **29**, 76532–76542.

Prof. zw. dr hab. mgr mikrobiol. Z. Gliński,
e-mail: zgliński@o2.pl