

*Legionella spp*  
**Ένα παθογόνο βακτήριο για  
τον άνθρωπο**

Καθ. Αθηνά Μαυρίδου  
Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων  
ΤΕΙ Αθήνας

# Εδω άρχισαν όλα



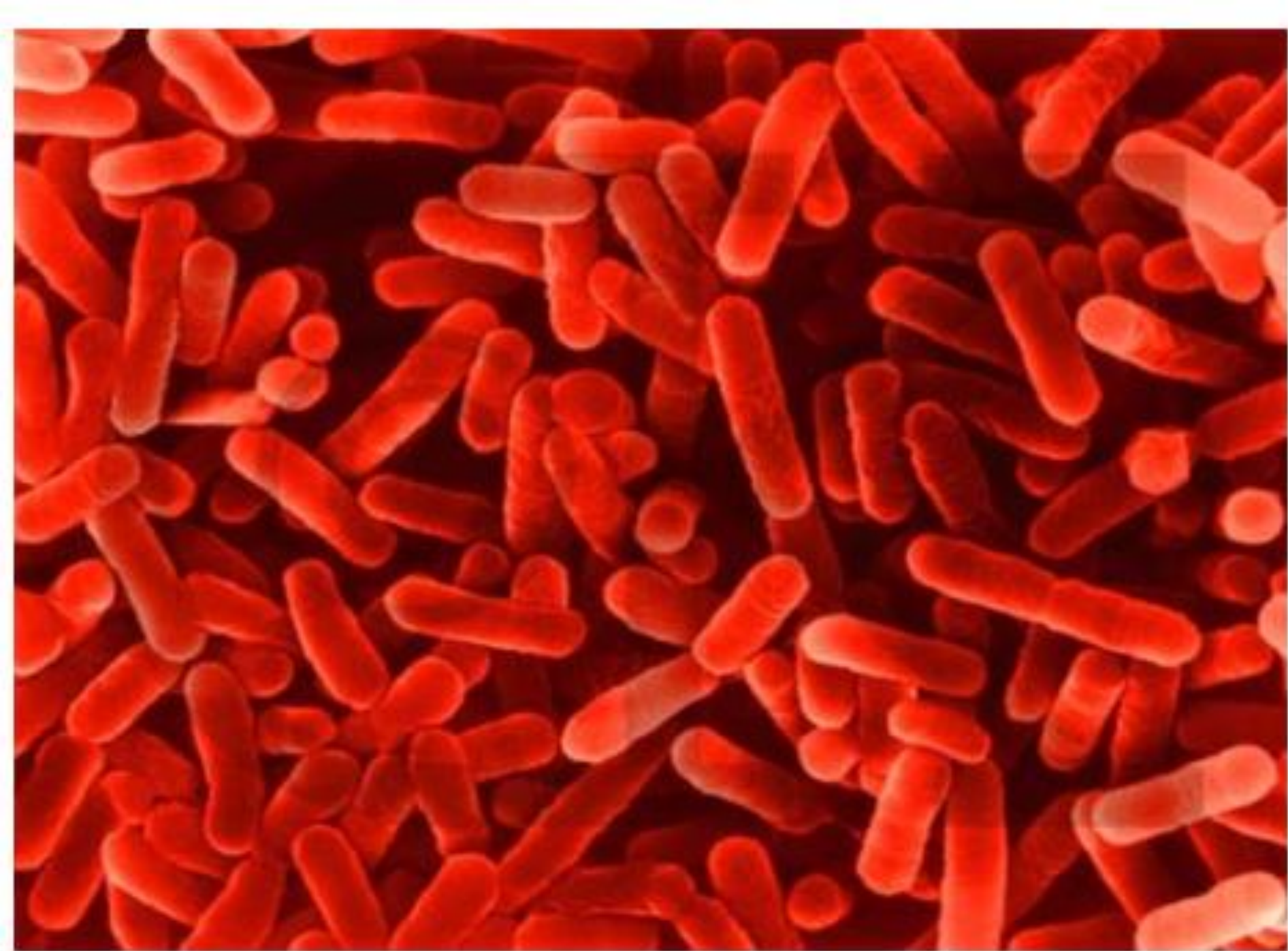
# Ιστορική αναδρομή

- Το 1976 στην 58η ετήσια συνέλευση της Αμερικανικής Λεγεώνας, στο Bellevue Stratford Hotel της Φιλαδέλφειας των ΗΠΑ παρουσιάστηκαν κρούσματα
- 221 άτομα παρουσίασαν συμπτώματα άτυπης πνευμονίας – 34 πέθαναν
- Το CDC αναγνώρισε το μικροοργανισμό ένα χρόνο αργότερα
- Διαπιστώθηκε ότι προϋπήρχαν και άλλες επιδημίες: 1965 έξαρση κρουσμάτων σε νοσοκομείο-81 ασθενείς με πνευμονία-14 πέθαναν.

# *Legionella spp*

- Βακτηρίδιο
- Έχουν ταυτοποιηθεί τουλάχιστον 42 είδη και 65 ορότυποι
- Το 85-90% των περιπτώσεων οφείλεται στο είδος *Legionella pneumophila* οροτύπου 1
- 8% στις ομάδες *Legionella pneumophila* οροτύπων 2-14
- Ενδημεί στους υδάτινους αποταμιευτήρες
- Η ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΤΟΥ ΔΕΝ ΟΦΕΙΛΕΤΑΙ ΣΕ ΡΥΠΑΝΣΕΙΣ





# Νόσος των λεγεωναρίων

- Υπάρχουν δύο μορφές:
  - Η νόσος των λεγεωναρίων – η πιο οξεία μορφή (εκδήλωση πνευμονίας)
  - Ο πυρετός Pontiac – πιο ήπια νόσος

# Χαρακτηριστικά

- **Νόσος των λεγεωναρίων  $\Rightarrow$  χρόνος επώασης 2-10 ημέρες (συνήθως 3-6 ημέρες)**
- **Θνησιμότητα 10-15% στους υγιείς ενήλικες**
- **Στους ενδονοσοκομειακούς ασθενείς ήταν 40% αλλά σήμερα στην Ευρώπη 18%**
- **Πυρετός Pontiac  $\Rightarrow$  χρόνος επώασης 48-72 ώρες**

# Συμπτώματα νόσου των λεγεωναρίων

- Κλινική εικόνα άτυπης πνευμονίας
  - Πυρετός (40 – 41°C)
  - Ρίγος
  - Ξηρός Βήχας
- Σε ορισμένες περιπτώσεις:
  - Μυαλγία
  - Σύγχιση (50%)
  - Εξάντληση
  - Ανορεξία
  - διάρροια και εμετός (30%)
  - Η ακτινογραφία θώρακος ίσως δείξει πνευμονία
  - Μπορεί να επηρεαστεί η λειτουργία των νεφρών.



# Συμπτώματα πυρετού Pontiac

- Πυρετός (38 – 39°C)
- Μυαλγία
- Δεν εμφανίζεται πνευμονία
- Φυσιολογικά εργαστηριακά ευρήματα
- Οι ασθενείς αναρρώνουν τελείως χωρίς θεραπεία σε 2-5 ημέρες
- Θνητότητα 0%

# Τρόπος μετάδοσης

## Μετάδοση της λεγεωνέλλας

### Περιβαλλοντική

### Κλινική

#### Παράγοντες

#### Συμβάντα

#### Συμβάντα

#### Παράγοντες

Θερμοκρασία, pH,  
θρεπτικά υλικά,  
παρουσία  
μικροβίων

1  
Επιβίωση σε πηγές  
(φυσικό περιβάλλον)

7  
Διάγνωση της  
νόσου των  
Λεγεωναρίων

Συμπτώματα  
Εργαστηριακές  
εξετάσεις  
Επιδημιολογική  
επιτήρηση

Παρουσία  
μικροβίων,  
θρεπτικά υλικά,  
βιοκτόνες ουσίες,  
καθαριότητα  
συστήματος

2  
Ανάπτυξη,  
πολλαπλασιασμός

Μείωση του  
κινδύνου  
(πρόληψη)

6  
Πολλαπλασιασμός  
στα ανθρώπινα  
φαγοκύτταρα

Τοξικότητα

Θερμοκρασία,  
υγρασία,  
παραγωγή  
σταγονιδίων

3  
Διασπορά (με τη  
μορφή  
σταγονιδίων)

4  
Μετάδοση  
Υγρασία  
Μέγεθος σταγονιδίων  
Απόσταση

5  
Έκθεση του  
ευαίσθητου ξενιστή

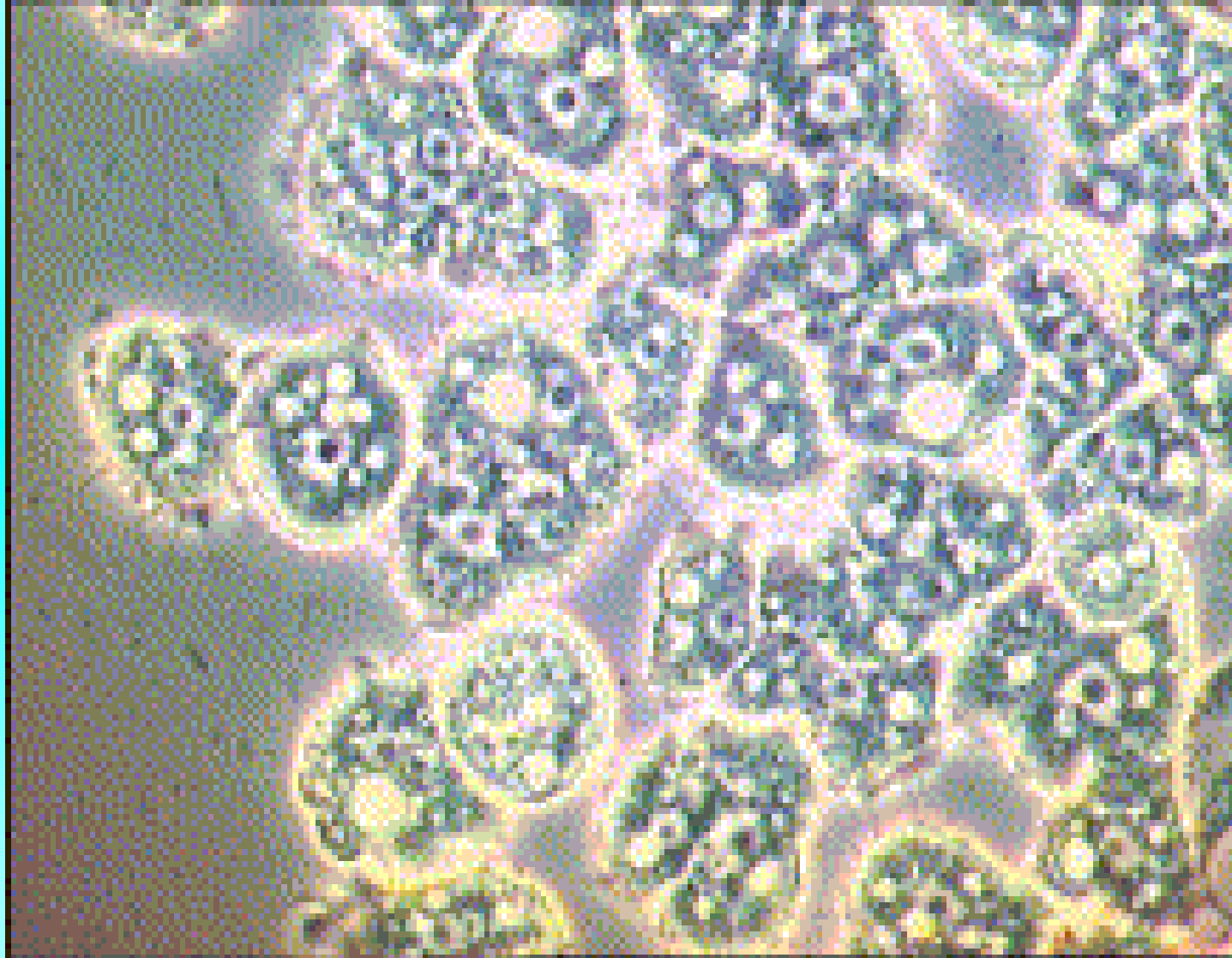
Ηλικία  
Άλλο νόσημα  
Ανοσοκαταστολή  
Κάπνισμα



# Οικολογία της Λεγιονέλλας

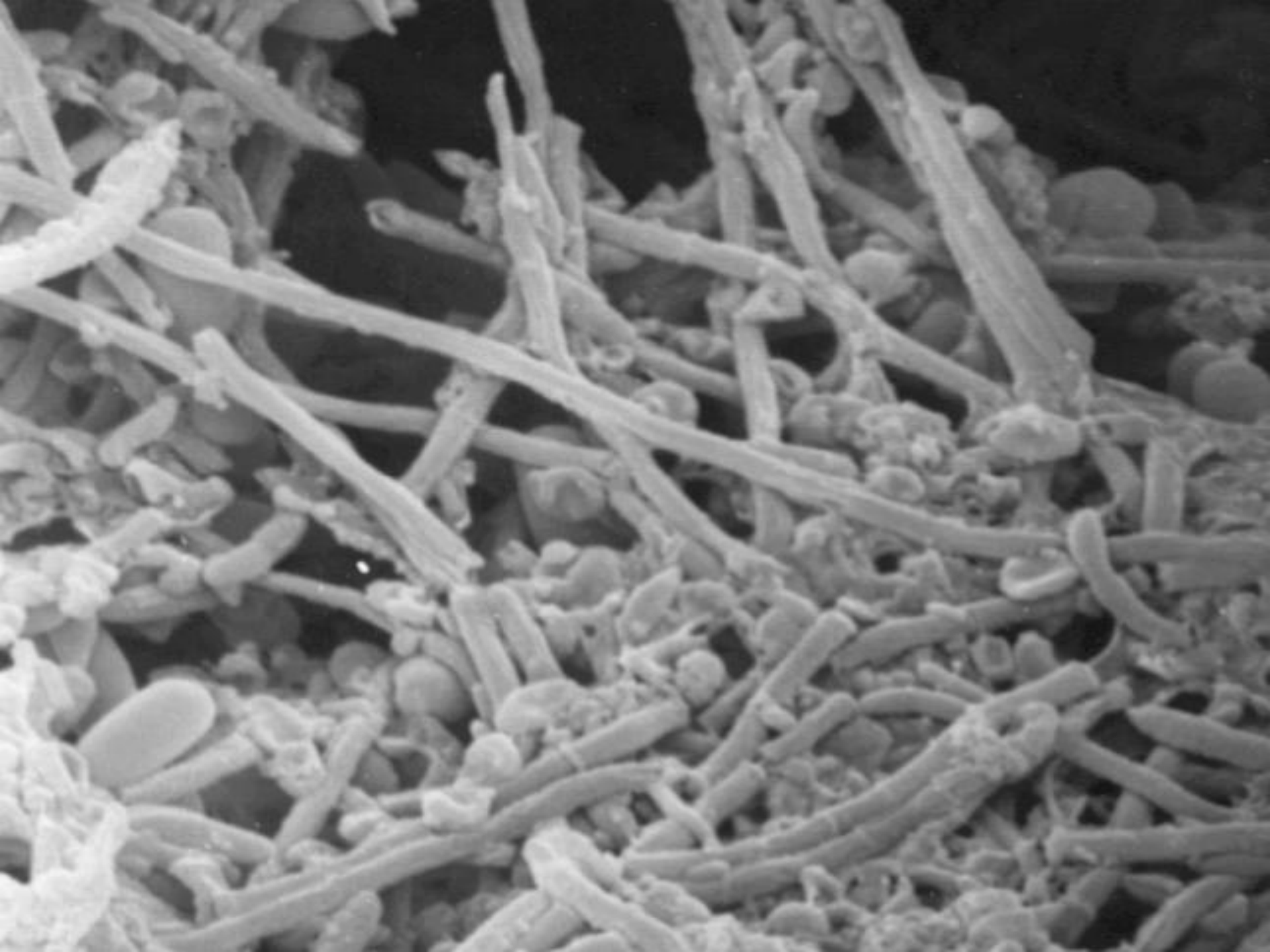
- Παρουσιάζει περίεργες και πολλαπλές στρατηγικές επιβίωσης σε στρεσογόνα περιβάλλοντα
- Μεταξύ άλλων
- Μετατροπή σε μη καλλιεργητικές μορφές
- Ενδοκυττάρωση σε πολλά πρωτόζωα (αμοιβάδες)
- Ελεύθερα κύτταρα επιβιώνουν σε βιοφίλμ
- Ο πολλαπλασιασμός της αναστέλλεται από βακτήρια του υδάτινου περιβάλλοντος

*Acanthamoeba polyphaga* trophozoites infected by *L. pneumophila* (live cells, magnification 400×).



# Συνθήκες ανάπτυξης στο νερό

- Πολλαπλασιάζεται στους 20-45°C Ιδανική θερμοκρασία 35-43°C
- Δεν επιβιώνει σε θερμοκρασίες > 60°C
- Παρουσία άλλων μικροοργανισμών (π.χ. αμοιβάδες), διάβρωσης, αλάτων, ιλύος σκουριάς, κ.τ.λ.
- Στασιμότητα νερού (τυφλά σημεία)
- Οργανικές-ανόργανες ενώσεις, μικροοργανισμοί  
⇒ αποικίες ⇒ βιομεμβράνη





***Legionella pneumophila* Persists within Biofilms Formed by *Klebsiella pneumoniae*, *Flavobacterium* sp., and *Pseudomonas fluorescens* under Dynamic Flow Conditions**  
Stewart *et al*, *PLOS ONE*, 2012

...we examined the ability of *L. pneumophila* (clinical isolate 130b) to persist within biofilms formed by various types of aquatic bacteria. *L. pneumophila* **was able** to intercalate into and persist within a biofilm formed by *Klebsiella pneumoniae*, *Flavobacterium* sp. or *Pseudomonas fluorescens*. **In contrast** to these results, *L. pneumophila* **did not persist within a biofilm** formed by *Pseudomonas aeruginosa*, confirming that some bacteria are permissive for *Legionella* colonization whereas others are antagonistic. In addition to colonizing certain mono-species biofilms, *L. pneumophila* **persisted within a two-species biofilm** formed by *K. pneumoniae* and *Flavobacterium* sp.

# **Necrotrophic Growth of *Legionella pneumophila***

Temerman *et al*, *Appl Environm Microbiol*, 2006

This study examined whether *Legionella pneumophila* is able to thrive on heat-killed microbial cells (necrotrophy) present in biofilms or heat-treated water systems. Quantification by means of plate counting, real-time PCR, and flow cytometry demonstrated **necrotrophic growth of *L. pneumophila* in water after 96 h, when at least 100 dead cells are available to one *L. pneumophila* cell.**

Although necrotrophy showed **lower growth yields compared to replication within protozoan hosts**, these findings indicate that it may be of major importance in the environmental persistence of *L. pneumophila*.

# Cyclic Diguanylate Signaling Proteins Control Intracellular Growth of *Legionella pneumophila*

Assaf Levi *et al*, *mBio*, 2011

Proteins that metabolize or bind the nucleotide second messenger cyclic diguanylate regulate a wide variety of important processes in bacteria. These processes include motility, biofilm formation, cell division, differentiation, and virulence. The role of cyclic diguanylate signaling in the lifestyle of *Legionella pneumophila*, the causative agent of Legionnaires' disease, has not previously been examined. **The *L. pneumophila* genome encodes 22 predicted proteins containing domains** related to cyclic diguanylate synthesis, hydrolysis, and recognition. We refer to these genes as *cdgS* (cyclic diguanylate signaling) genes. Strains of *L. pneumophila* containing deletions of all individual *cdgS* genes were created and did not exhibit any observable growth defect in growth medium or inside host cells. However, when overexpressed, several *cdgS* genes strongly decreased the ability of *L. pneumophila* to grow inside host cells.

## Σχέση θερμοκρασίας- ανίχνευση *Legionella spp* σε Ελληνικά Νοσοκομεία

- | <u>θ°C</u>        | <u>% στα θετικά δείγματα</u> |
|-------------------|------------------------------|
| • 10 °C – 20 °C   | 13.3%                        |
| • 20 °C – 30 °C   | 17.6%                        |
| • 30 °C – 40 °C   | 63.6%                        |
| • 40 °C – 50 °C   | 14.7%                        |
| • 50 °C – 60 °C   | 9.1%                         |
| • 60 °C or higher | 0%                           |
- (Mavridou *et al*, *Int Journal Environmn Health Res*, 2008)

# Συστήματα που παρουσιάζουν αυξημένη επικινδυνότητα

- Πύργοι ψύξης
- Εξατμιστικοί συμπυκνωτές
- Δίκτυο ύδρευσης κτιρίου (δεξαμενές, καταιωνιστήρες κ.τ.λ.)
- Θεάματα με νερό (συντριβάνια, καταρράκτες κ.τ.λ.)
- Δεξαμενές υδρομάλαξης
- Υγραντήρες
- Αναπνευστικές συσκευές
- Οδοντιατρικός εξοπλισμός
- Συστήματα ποτίσματος κήπων
- Πλυντήρια αυτοκινήτων

# Birmingham

## L. pneumophila in hot-water systems

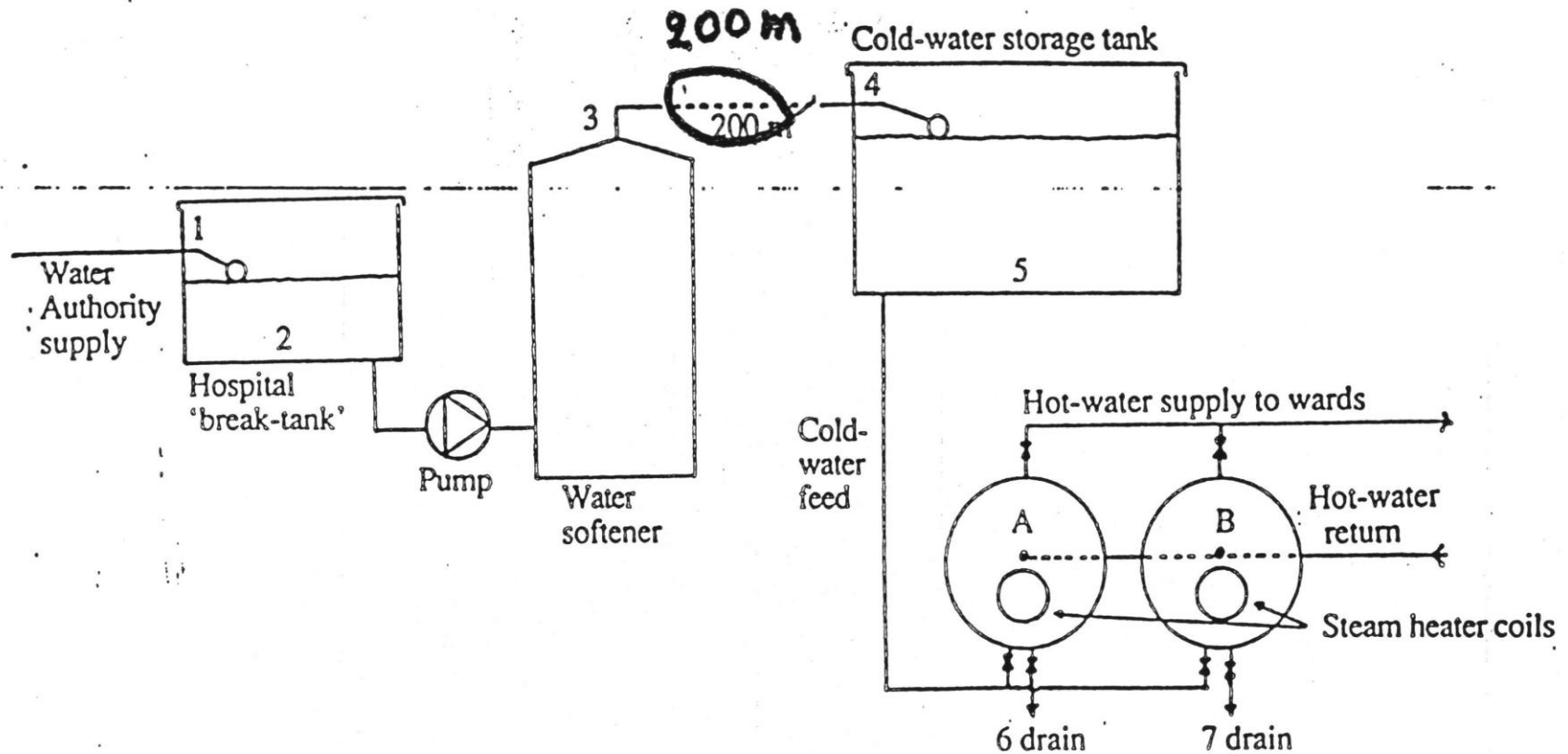


Fig. 1. A diagram (not to scale) of the water-distribution system supplying a hospital unit. Hot water is heated in two horizontal calorifiers A and B. Sample points 1, Water Authority inlet; 2, hospital 'break-tank'; 3, water softener; 4, inlet to the cold-water storage tank; 5, tank water; 6, 7, calorifier drains.



# **Αξιολόγηση ποιότητας νερού σε ελληνικά οδοντοϊατρεία**

- **Mavridou A., Kamma J., Mandilara G., Delaportas P., Komioti F (2006)**
- **Microbial Risk Assessment Of Dental Unit Water Systems in General Dental Practice In Greece**
- ***Water Science and Technology accepted, 54,3, 269-73***

# Αποτελέσματα

- Υδροσύριγγα
- Αναερόβια στόματος 88,8%
- Μυκοβακτηρίδια 90,4%
- HBV 23,8%
- Βιοφίλμ
- Λεγιονέλλα 16,1%

# **An approach to *Legionella* colonization in Greek hospitals correlated to antibody levels in hospital staff.**

- ATHENA MAVRIDOU , ELENI SMETI, GEORGIA MANDILARA, MIHALIS POLEMIS, OLGA PAPPA, *SOPHIA PLAKADONAKI, EIRINI GRISPOU, MARIA ANAGNOSTOPOULOU, KIMON FOUDOULIS*
- *International Journal of Environmental Health Research*, 2008

## Αποτελέσματα

- Δείγματα από 13 Νοσοκομεία Αττικής
- Ανίχνευση *Legionella spp* 8/13 Νοσοκομεία και 22 /130 δείγματα
- 72.7% των στελεχών *L. pneumophila* ser 1
- 22.7% *L. pneumophila* ser. 2-14
- 4.5% άλλη ομάδα.
- AFLP typing *L. pneumophila* ser. 1: 2 τύποι
- 30°C-40°C (63.6% των θετικών δειγμάτων) .
- Βρέθηκε συσχέτιση με σημείο δειγματοληψίας (περισσότερα δείγματα από πυργους ψύξης
- 265 δείγματα ορρού από νοσηλευτικό προσωπικό: IgG τίτλος, 89.4% αρνητικός, 7.2% θετικός, 3.4% αμφίβολος.

# Αυξημένη επικινδυνότητα στα ξενοδοχεία

- Εποχιακή χρήση του κτιρίου
- Αυξημένη κατανάλωση ορισμένες ώρες της ημέρας → μείωση θερμοκρασίας
- Χρήση ιδιωτικών πηγών νερού
- Διακυμάνσεις της θ. του νερού από το περιβάλλον
- Περίπλοκα συστήματα ύδρευσης
- Επεκτάσεις του κτιρίου
- Συχνή αλλαγή προσωπικού → ανεπαρκής ενημέρωση

# Παράγοντες κινδύνου-Ευπαθείς ομάδες

- **Ηλικία – ηλικιωμένα άτομα (άνω των 50) εμφανίζουν αυξημένο κίνδυνο**
- **Αντρες**
- **Καπνιστές**
- **Εξασθενημένο και ευάλωτο ανοσοποιητικό σύστημα (καρκινοπαθείς, ασθενείς HIV)**
- **Ασθενείς με χρόνιες πνευμονοπάθειες, νεφρική ανεπάρκεια**
- **Πρόσφατη μεταμόσχευση οργάνων**
- **Αγωγή με κορτικοστεροειδή**
- **Μεγάλη κατανάλωση αλκοόλ**



# Παράγοντες κινδύνου στην Ελλάδα

- Υψηλές θερμοκρασίες για μεγάλα χρονικά διαστήματα
- Ευρεία χρήση υδρόψυκτων κλιματιστικών συστημάτων και ιδιαίτερα των πύργων ψύξης.
- Μεγάλα διαστήματα κλεισίματος ή υπολειτουργίας των ξενοδοχειακών μονάδων

**EWGLI**  
**European Working Group for**  
**Legionella Infections**

**Ευρωπαϊκό Δίκτυο Επιτήρησης της Νόσου  
των Λεγεωναρίων**

- **European Legionnaires' Disease  
Surveillance Network (ELDSNet):  
Επιδημιολογικό δίκτυο**

# ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΕΥΓΛΙ

## 1987-2009

- Περιστατικά 8815
- Άνδρες 6390
- Γυναίκες 2418
- Ηλικία με ↑ κρούσματα 50-69
- (90-99) (18)
- Μήνες αιχμής 7<sup>ος</sup>-9<sup>ος</sup>
- Έτος 2007
- Χώρες με κρούσματα 35

Περιστατικά σε ταξιδιώτες στην Ελλάδα  
1987-2009= 468 ( Η Ελλάδα αναφέρει 11)

1987	1
1988	8
1989	4
1990	12
1991	16
1992	20
1993	20
1994	21
1995	15
1996	16
1997	16
1998	13
1999	21
2000	21
2001	18
2002	33
2003	28
2004	24
2005	37
2006	30
2007	34
2008	28
2009	27

# Μέτρα προστασίας

- Θερμικό shock 70-80°C
- Κυκλοφορία του νερού  $\theta > 65^{\circ}\text{C}$  για τουλάχιστον 3 μέρες.
- Οι βρύσες πρέπει να τρέξουν με καυτό νερό τουλάχιστον για 5 λεπτά.
- Υπερχλωρίωση. Σε νερό  $\theta < 30^{\circ}\text{C}$ 
  - » 50ppm /1h ή
  - » 20ppm /2h
- Χλωρίωση 0.5-1ppm συνεχώς.
- Θερμοκρασία νερού  $> 55-60^{\circ}\text{C}$  συνεχώς
- (δεν εξαφανίζει την Λεγιονέλλα!)

Βιοκτόνο	Συγκέντρωση ppm	Χρόνος αδρανοποίησης	Σχόλια
Χλώριο	0.5-1.0	<10min	Διαβρωτικό Εξαρτάται pH
Διοξείδιο του χλωρίου	0.5-1.0	99.99% / 0.5 h	Υπολειμμα τικά παραπροϊόν τα
Μονοχλωραμίνη	4.0	99.999% /0.5 h	Ενεργό υπόλειμμα
Βρώμιο	0.5-1.5	99.99% / 3 h	υψηλό pH

# Ειδικές εγκαταστάσεις επεξεργασίας του νερού

## Επίδραση με UV ακτινοβολία.

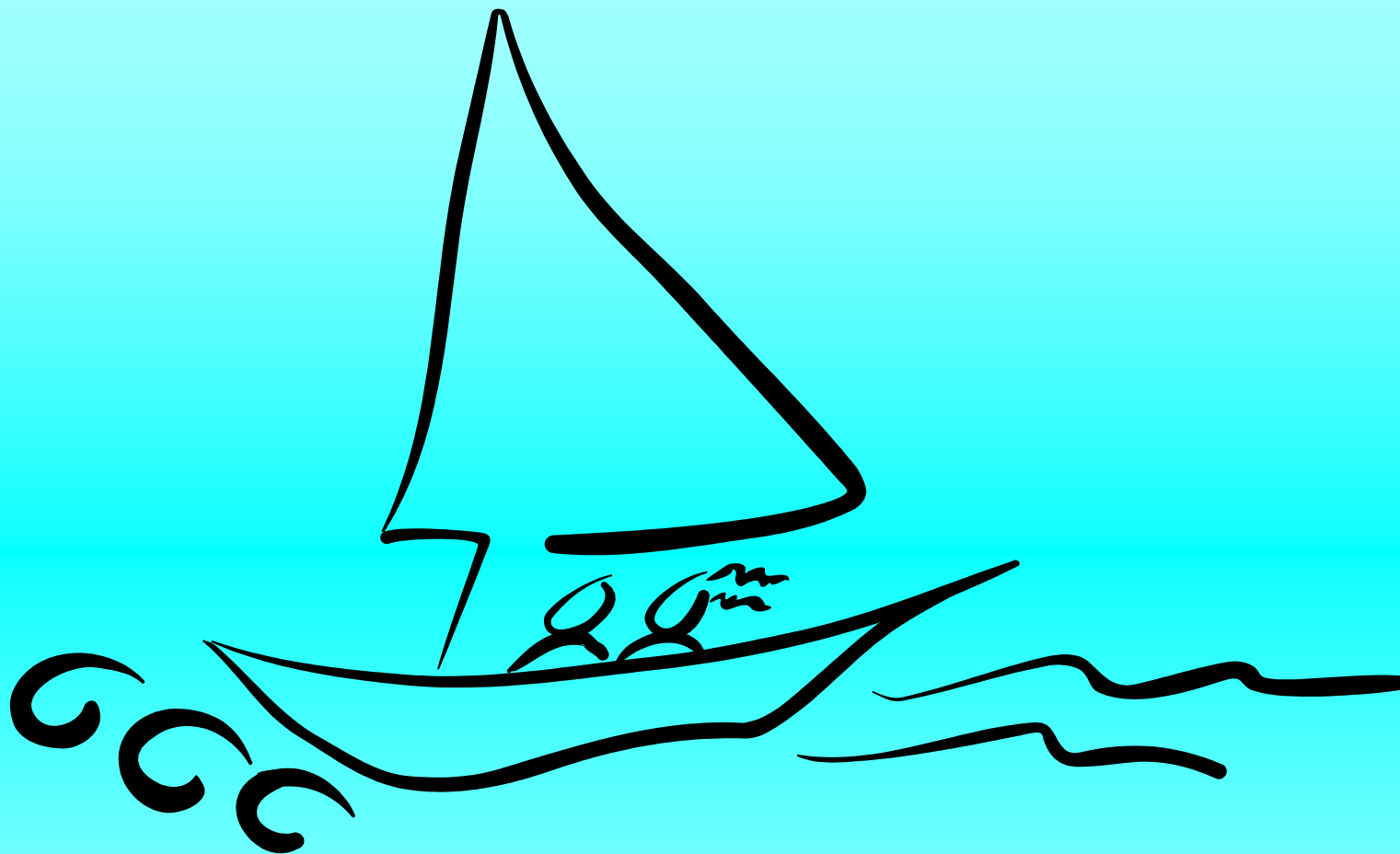
- 👍 Σκοτώνει τα βακτήρια
- 👍 Δεν υπάρχουν παραπροϊόντα
- 👎 Δεν έχει ενεργό υπόλειμμα

## Οζονόλυση

- 👍 Πολύ αποτελεσματικό απολυμαντικό
- 👎 Δεν έχει ενεργό υπόλειμμα
- 👎 Υπάρχουν παραπροϊόντα

## Ιοντεναλλαγή άργυρου-χαλκού

- 👍 Ιδιαίτερα αποτελεσματική κατά της **Legionella**
- 👍 Διατηρεί ενεργό υπόλειμμα
- 👍 Δεν υπάρχουν παραπροϊόντα



**ΕΥΧΑΡΙΣΤΩ**