

Parasit hos människa och amöba:

Sänkt varmvattentemperatur gynnar legionellabakterierna

Kunskapen om legionellabakterier har expanderat snabbt under de tjugo år som gått sedan *Legionella pneumophila* första gången beskrevs efter ett stort utbrott av lunginflammation (legionärsjuka) hos krigsveteraner i Philadelphia i USA. Ett 40-tal arter och ett stort antal serotyper finns nu beskrivna.

I artikeln presenteras en översikt av legionellainfektionernas epidemiologi, transmission och patogenes samt nyare rön inom molekylär ekologi.

En allvarlig form av pneumoni, vilken först beskrevs efter ett omfattande utbrott 1976, visades vara orsakad av en tidigare okänd miljöbakterie som fick namnet *Legionella pneumophila* [1, 2]. Det har senare visat sig finnas ett stort antal arter och varianter inom genus *Legionella*. Med tekniska installationer har människan skapat gynnsamma tillväxtmiljöer för dessa opportunistiska bakterier, vilka vanligen påträffas i sjöar och vattendrag.

Samtidigt har medicinska framsteg medfört att det finns ett större antal människor med nedsatt immunförsvar, vilka därigenom har en avsevärt ökad mottaglighet för legionellasmitta. Trots en omfattande kunskapsupbyggnad är fortfarande väsentliga faktorer såsom infektionsdosens storlek, transmissionsvägar och virulensfaktorer ofullständigt kända.

I Sverige rapporteras årligen 50–80 fall av legionellainfektion. Resultat från flera prospektiva studier hos oss och i

Författare

SVERKER BERNANDER

överläkare, klinisk mikrobiologi, Karolinska laboratoriet, Karolinska sjukhuset, Stockholm

INGEGERD KALLINGS

överläkare, bakteriologiska enheten, Smittskyddsinstitutet, Stockholm.

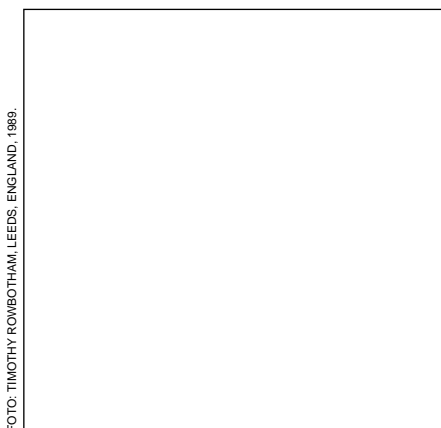


FOTO: TIMOTHY ROWBOTHAM, LEEDS, ENGLAND, 1989.

Figur 1. *Acanthamoeba polyphaga*, packade med intracellulära legionellabakterier, fördelade på två fagosomer. Bakterierna är märkta med en monoklonal fluorescerande antikropp mot *Legionella pneumophila*. Förstoring 5 600 gånger.

andra industriländer talar för att det verkliga antalet är minst tio gånger större [3–6]. Majoriteten av legionellainfektioner är samhällsförvärvade, och många patienter, 10–40 procent, insjuknar i anslutning till en resa i hemlandet eller utomlands. Incidensen av legionellainfektion bland svenska charterresenärer uppskattas till ca 1/100 000.

Fler fall inträffar under perioden maj–oktober än under vinterhalvåret, vilket motsvaras av skillnader i resandefrekvens. Sjukhusmitten uppmärksammades tidigt och ett antal utbrott av varierande omfattning har rapporterats [7–9]. Mortaliteten vid legionellainfektion är hög, 16–34 procent [10].

Ekologi

Legionellabakterier kunde tidigt isoleras från sötvatten [11], men närmare kunskap om den ekologiska nischen har dröjt. Engelsmannen Rowbotham var den förste som iakttog att legionella förökade sig i frilevande protozoer [12], och man känner nu till sådan parasitism hos tretton amöbaararter och två flagellater [13].

Denna parasitism tycks vara en väsentlig mekanism för tillväxt i naturlig miljö, en företeelse som kan benämnas »protozoonos» och som även kan användas vid isolering av legionella från

miljöprov. I några fall har man kunnat verifiera legionellaetiologi vid pneumoni först efter isolering av bakterien i samkultur med amöbor, och nyligen har även rapporterats om isolering av legionella från feces med likartad teknik [14, 15].

Tillväxtcykel

Efter att ha trängt in i värdprotozoen som enstaka cell eller i par finns bakterierna i en endosom, som tycks attrahera värdcellens ribosomer och mitokondrier. Bakterierna tillväxer i endosomen till ett antal som kan överstiga 1 000 organismer per värdamöba.

Först i slutet av tillväxtfasen antar cellerna formen av korta stavar, blir flagellerade och kraftigt rörliga. Värdprotozoen lyseras nu och ett stim av legionellabakterier simmar ut och söker sig till andra värdceller. Efter 24 timmar har de tappat sin rörlighet [16].

Legionellabakteriernas tillväxtcykel belyser betydelsen av den ekologiska nischen på flera sätt:

1. Förmågan till intracellulär parasitism kan delvis förklara patogenesen. Legionellas överlevnad i humana makrofager uppvisar således många likheter med vad som utspelar sig i en amöba. Evolutionsmässigt kan möjligen patogeniteten för människa förklaras av en tidigare anpassning till växt i protozoer. Intracellulär förökning påverkar också möjligheten till behandling, eftersom endast sådana antibiotika som har förmåga att penetrera den humana cellväggen får tillfälle att utöva sin effekt [13].

2. En enskild protozo kan innehålla ett stort antal legionellabakterier, möjligen för att vara tillräckligt som human infektionsdos. Samtidigt kan antalet infekterade amöbor vara litet, vilket skulle kunna förklara varför endast ett fåtal människor insjuknar trots massiv kolonisation av ett vattenledningssystem mätt som antal bakterier/liter vatten.

Insjuknande i legionärsjuka vid ett nosokomialt utbrott kunde kopplas till koncentrationen av bakterier i ledningsvattnet, vilket i sin tur relaterade till antalet protozoer i vattnet [17]. Värdamöbor kunde även påvisas i planteringsjord i anslutning till legionellain-

Figur 2. Möjliga tillväxtplatser för *Legionella pneumophila* har markerats med tätare färgprickning = fler bakterier.

fektion hos en trädgårdsarbetare [18]. Man vet dock inte om legionella huvudsakligen överförs i form av »protozoopaket» eller som fria bakterieceller.

3. Protozoen skyddar sin parasit från yttre påverkan. Sålunda överlever *L. pneumophila* i cystor av *Acanthamoeba polyphaga* vid en koncentration av 50 mg fritt klor per liter vatten [19]. De extremt uttorkningskänsliga legionellabakterierna klarar också en torr miljö betydligt bättre inuti en amöbacysta, och sannolikt ges de på detta sätt en möjlighet att kolonisera nya områden.

Patogenitet

Det finns skillnader i den tidiga fasen av legionellabakteriernas förökningscykel i protozoer jämfört med när den sker inuti makrofager, men väl inne i värdcellen blir förloppet lika och involverar flera virulensfaktorer.

Ett membranprotein som påvisats hos flertalet legionellaarter, kallat mip (macrophage infectivity potentiator surface protein), har förmåga att interferera med värdcellens regulatoriska enzymer och uppvisar homologi med eukaryota isomeraser [20, 21].

Ett annat protein, dot (defect in organelle trafficking), interfererar också intracellulärt med regulatoriska mekanismer [22]. Virulenta bakteriestammar besitter dessutom förmågan att konkurrera med värdcellen om tillgången på järn [23].

Diagnostik

Det finns inga unika kliniska särdrag vid legionellainfektion. Misstanken väcks ofta först när patienten inte svarar på sedvanlig antibiotikabehandling. För säker diagnos fordras laboratorieanalys för att påvisa bakterien eller dess komponenter, eller ett antikroppssvar [24].

Odling kan ske från respiratoriska sekret på speciella odlingsmedier med svar tidigast efter 2 dygn. Antikroppar mot *L. pneumophila* serogrupp 1 utvecklas inom 1–2 veckor efter sjukdomsdebut och når sitt maximum efter 3–6 veckor. IgM-antikroppar kan vara till diagnostisk hjälp i tidigt skede. Antikropps dynamiken vid infektioner orsakade av andra legionellaarter än *L. pneumophila* serogrupp 1 är mindre väl känd. Odling av bakterierna framstår i dessa fall som särskilt viktig [24].

Direkt immunfluorescens (DFA) är en metod att snabbt påvisa bakterier i respiratoriska sekret eller vävnad. Med monoklonala antikroppar är specificiteten hög, men känsligheten är låg och denna metod kommer sannolikt att helt ersättas av molekylärgenetiska tekniker.

Patienter med legionellos utsöndrar oftast ett polysackaridantigen i urinen. Antigenet kan påvisas med t ex enzymimmunologisk teknik (EIA) som har en specificitet på över 0,99 [25, 26]. Detta test påvisar vanligen antigen endast från *L. pneumophila* serogrupp 1, vilken orsakar 60–70 procent av legionelloserna. Detta är ytterligare ett skäl till varför det är viktigt att säkra diagnosen i akut skede genom att också odla från de nedre luftvägarna.

Metoder som amplifierar legionella-specifika genfragment (t ex polymeraskedjereaktion, PCR) har utvecklats. Tekniken är resurskrävande, men har börjat införas i rutindiagnostik. Känsligheten är högre än för odling, och specificiteten är hög. Legionella har påvisats hos patienter som redan behandlats med makrolider och kinoloner i upp till 7 dagar [27]. Nyligen har man rapporte-

rat tillämpning av PCR-teknik på urinprov och serum med utnyttjande av korta DNA-sekvenser på drygt 100 baspar [28]. Dessa metoder måste emellertid utvärderas ytterligare.

Antibiotikakänslighet

Makrolider (t ex erytromycin) och kinoloner (t ex ciprofloxacin) har god in vitro-effekt mot legionella. Störst erfarenhet föreligger för erytromycin, som länge var förstahandsmedel men som man nu försöker frånga på grund av risk för återfall.

Rifampicin har särskilt hög in vitro-aktivitet, och god klinisk effekt har erhållits med detta preparat, ofta i kombination med erytromycin och framför allt till immunsupprimerade patienter. Framgångsrik behandling har även rapporterats med claritromycin och ciprofloxacin, men erfarenheten är begränsad.

Ny, delvis experimentell, forskning har visat att azitromycin samt ett par nya fluorokinoloner är betydligt effektivare än de traditionellt använda medlen [29; Paul Edelstein, Philadelphia, pers medd, 1998]. Den terapeutiska arsenalen kommer därför troligen att vidgas inom en nära framtid.

In vitro-känslighet för penicilliner och cefalosporiner varierar emedan många legionellaarter är betalaktamasbildande. En förutsättning för antibiotikaeffekt är förmågan till intracellulär penetration, vilket ovan nämnda substanser besitter men som saknas hos penicilliner, cefalosporiner och aminosyror [24].

Smittvägar

Redan tidigt misstänktes att legionellabakterier koloniserar ledningssystemen från den naturliga vattentäkten. Ett nosokomialt utbrott visades bero på växt av legionella i en reservtank för vatten [7], och när man dessutom kunde påvisa riklig bakterieväxt i varmvattenledningar blev betydelsen av vatten som smittkälla tydligare [30, 31].

Temperaturer mellan 35 och 40°C är optimala för tillväxt, men legionella kan överleva i temperaturer upp till 55°C. En sådan miljö skapas i varmvattenledningar, där en biofilm bildas som innehåller olika slags mikroorganismer [32]. Vissa material i rörledningar och packningar befrämjar bakterieväxt och underhåller en biofilm.

Trenden att i energibesparande syfte sänka varmvattentemperaturen i offentliga byggnader och i bostäder har gynnat förekomsten av legionellabakterier. Ett flertal nosokomiala utbrott, varav ett par svenska, orsakade av smitta från ledningsvatten har beskrivits [8, 9].

Legionellainfektion efter bad i na-

turligt varma källor finns redovisad, liksom efter bubbelbad och vanligt basångbad [33-35]. I Australien har infektioner med *L. longbeachae* inträffat efter hantering av fuktig planteringsjord [36].

Mekanismen för smitta vid legionellainfektion är ännu inte helt utredd. Aerosolsmitta har ansetts som den sannolika smittvägen vid flera utbrott [37]. Aspiration av legionellahaltigt vatten synes också vara en möjlig smittväg. Vid utbrottet i Philadelphia 1976 fann man endast en riskfaktor med samband till legionärsjuka, nämligen den att ha druckit vatten på hotellet [1, 38].

Luftkonditionering som orsak till legionärsjuka har sannolikt tillmätts en alltför stor betydelse. I de flesta fall av legionellapneumoni, epidemiska eller sporadiska, har personen smittats vid direktkontakt med legionellahaltigt vatten i samband med bad, duschning o dyl.

I de fall smittan kommit från ventilationssystem i byggnader har bakterier funnits i kyltorn på taket, från vilka aerosoler genererats ut i fria luften där de sedan kunnat sugas in i ventilationssystemet via ett friskluftsintag [39-42]. Människor har också blivit smittade utomhus direkt via en aerosol som blåst ned från ett kyltorn på taket av en byggnad.

Sanering av vattenledningssystem

Det är inte görligt att hindra legionellabakterier från att i små mängder spridas till vattenledningssystemet från den naturliga källan. Kontrollåtgärderna får i stället inriktas mot att förhindra vidare tillväxt genom att eliminera reservoarer med stillastående vatten, höja temperaturen på cirkulerande varmvatten och dekontaminera ledningssystemet.

Kemiska desinfektionsmedel bör undvikas och åtgärderna inriktas på mekanisk rengöring och på att hålla temperaturen tillräckligt hög. Trots en med tiden ganska stor erfarenhet av intervention med sanering av vattenledningssystemen och höjd vattentemperatur är dock återkommande utbrott inte ovanliga [42, 43].

Epidemiologisk typning

För att kunna identifiera och säkert fastställa en smittkälla måste man kunna visa att en bakterie som isolerats från exempelvis en vattenkran är identisk med bakterieisolatet från en patient. Metoder där man påvisar likhet på DNA-nivå mellan bakterieisolat har därför kommit att användas i allt större utsträckning vid legionellautbrott [44].

En utvärdering pågår för närvarande inom en europeisk arbetsgrupp för att utvärdera vilka DNA-metoder, eventuellt i

kombination med traditionell serotypning, som ger det största utbytet och den högsta säkerheten vid epidemiologiskt arbete.

Europeiskt samarbete

En europeisk arbetsgrupp finns etablerad sedan mitten av 1980-talet med uppgift bl a att utvärdera diagnostiska metoder, öka den kliniska medvetenheten om denna grupp av infektioner och att uppmuntra till aktiva nationella övervakningssystem.

För att snabbare och mera effektivt samla in data om legionellasmitta på turistorter har ett europeiskt nätverk, ett »early warning system», upprättats [45]. Vid flera utbrott bland turister har man funnit växt av legionellabakterier i hotellens vattenledningsnät. Utbrott med tiotals personer smittade från en gemensam smittkälla har inträffat på frekventerade turistorter.

Efterforskningar i anslutning till ett sporadiskt fall har ofta avslöjat att det finns en anhopning av fall i omgivningen, vilka till en början inte diagnostiserats som legionellainfektion. Genom att sammanställa data från flera länder kan man lättare leda i bevis att legionellasmitta sprids från ett visst hotell och påfordra saneringsåtgärder.

Flera av de hotell som varit den troliga smittkällan vid legionellainfektion har varit kontaminerade med legionellabakterier vid upprepade provtagningar under en lång följd av år, trots till synes adekvata saneringsåtgärder.

Referenser

- Bernander S, Kallings I, Nordström K. Legionellainfektioner diagnostiserade i slutenvård i Västmanland. Läkartidningen 1990; 87: 4429-31.
- Örtqvist Å, Hedlund J, Grillner L, Jalonen E, Kallings I, Leinonen M et al. Aetiology, outcome and prognostic factors in community-acquired pneumonia requiring hospitalization. Eur Respir J 1990; 3: 1105-13.
- Marston BJ, Plouffe JF, File TM, Hackman BA, Salstrom SJ, Lipman HB et al. Incidence of community-acquired pneumonia requiring hospitalization. Arch Intern Med 1997; 157: 1709-18.
- Darelid J, Bengtsson L, Gästrin B, Hallander H, Löfgren S, Malmvall BE et al. An outbreak of Legionnaires' disease in a Swedish hospital. Scand J Infect Dis 1994; 26: 417-25.
- Rowbotham TJ. Isolation of *Legionella pneumophila* from clinical specimens via amoebae and the interaction of those and other isolates with amoebae. J Clin Pathol 1983; 36: 978-86.
- Fields BS. The molecular ecology of legionellae. Trends Microbiol 1996; 4: 286-90.
- Rowbotham TJ. Isolation of *Legionella pneumophila* serogroup 1 from human faeces with use of amoebic cocultures. Clin Infect Dis 1998; 26: 502-3.
- Cianciotto NP, Fields BS. *Legionella pneumophila* mip gene potentiates intracellular infection of protozoa and human macro-

ANNONS

phages. Proc Natl Acad Sci USA 1992; 89: 5188-91.

24. Edelstein PH. Legionnaires' disease. Clin Infect Dis 1993; 16: 741-9.
26. Plouffe JF, File TM, Breiman RF, Harkman BA, Salstrom SJ, Marston BJ et al. Reevaluation of the definition of legionnaires' disease: use of the urinary antigen assay. Clin Infect Dis 1995; 20: 1286-91.
27. Bernander S, Hanson HS, Johansson B, von Stedingk LV. A nested polymerase chain reaction for detection of Legionella pneumophila in clinical specimens. Clin Microbiol Infect (CMI) 1997; 3: 95-101.
29. Edelstein PH. Antimicrobial chemotherapy for Legionnaires disease: Time for a change. Ann Intern Med 1998; 129: 328-30.
35. Fallon RJ, Rowbotham TJ. Microbiological investigations into an outbreak of Pontiac fever due to Legionella micdadei associated with use of a whirlpool. J Clin Pathol 1990; 43: 479-83.
37. Breiman RF, Fields BS, Sanden GN, Volmer L, Meier A, Spika JS. Association of shower use with Legionnaires' disease. JAMA 1990; 263: 2924-6.
40. Nordström K, Kallings I, Dahnsjö H, Clemens F. An outbreak of Legionnaires' disease in Sweden: Report of sixty-eight cases. Scand J Infect Dis 1983; 15: 43-5.
42. Fiore AE, Nuorti JP, Levine OS, Marx A, Weltman AC, Yeager S et al. Epidemic legionnaires' disease two decades later: old sources, new diagnostic methods. Clin Infect Dis 1998; 26: 426-33.
43. Patterson WJ, Hay J, Seal DV, Mc Luckie JC. Colonization of transplant unit water supplies with legionella and protozoa: precautions required to reduce the risk of legionellosis. J Hosp Inf 1997; 37: 7-17.

Summary

Legionella bacteria: human and amoebae parasites favoured by energy-saving reduction of hot water temperatures

Sverker Bernander, Ingegerd Kallings

Läkertidningen 1998; 95: 4340-4

Our knowledge of Legionella bacteria has increased since their discovery in 1977. Legionnaires' disease is an underestimated diagnosis in Sweden. Most cases are community acquired and probably due to the presence of legionella bacteria in the water distribution systems of buildings, though the precise source of infection often remains unknown.

Although a number of putative virulence factors have been identified, to date few of them have been shown to be significant. The replication of legionella in human macrophages is similar to that in protozoa. Their interaction with protozoa might explain certain features of their ecology and virulence, and shed light on peculiarities in the transmission of infection.

The urinary antigen assay has greatly facilitated the diagnosis of legionellosis, and methods based on the amplification of specific DNA sequences will probably become increasingly important, but isolation of the organism will still be justified. Traditional erythromycin therapy is likely to be replaced by treatment with new antimicrobials.

Correspondence: Sverker Bernander, Avdelningen för klinisk mikrobiologi, Karolinska sjukhuset, S-171 76 Stockholm, Sweden.

Kortikosteroid effektiv mot näsdroppsmissbruk

Nästappa på grund av överanvändning av avsvällande nässpray kallas rhinitis medicamentosa. Denna dubbelblinda, placebokontrollerade studie visar att nasal kortikosteroid är effektivare och ger en snabbare symtomlindring än placebo vid behandling av rhinitis medicamentosa. Adekvat behandling av dessa patienter är därför att de slutar använda nasal vaso-konstriktor samtidigt som behandling med lokal kortikosteroid påbörjas. Ett lyckat behandlingsresultat är helt beroende av läkarens förmåga att övertyga patienten om att den initialt uttalade nästappan snabbt blir bättre, trots årtal av näsdroppsmissbruk.

Rhinitis medicamentosa orsakas av överanvändning av avsvällande förkylningsnässprayer (vasokonstriktorer) som används lokalt i näsan. Preparaten används dagligen och ofta i överdosering, inte sällan under flera års tid. Näsdropsberoendet kommer sig av att det är nässprayerna i sig som orsakar nästappan, och varje gång effekten avtar drabbas patienterna av en uttalad rekyllsvullnad. Patienterna hamnar i en ond cirkel där de själva ej förmår att sluta med sina nässprayer. De patienter som löper störst risk att utveckla rhinitis medicamentosa är de med underliggande nästappa av annan orsak, till exempel allergisk och vasomotorisk rinit, nasseptumdeviation, näspolyper eller

graviditetsnästappa. Majoriteten av patienterna börjar dock överanvända näsdroppar i samband med en förkylning eller bihåleinflammation. Vi har visat att konserveringsmedlet bensalkonklorid i avsvällande nässpray spelar en stor roll i utvecklingen av rhinitis medicamentosa hos friska personer [1]. Det är därför glädjande att det numera finns både oximetazolin- och zylometazolin-nässpray utan bensalkonklorid på den svenska marknaden.

Huvudsymtomet vid rhinitis medicamentosa är nästappa, och vi har även kunnat visa att långtidsbehandling med oximetazolin, innehållande bensalkonklorid, inducerar en nasal hyperreaktivitet och toleransutveckling hos friska individer. Enligt vår definition är därför rhinitis medicamentosa ett tillstånd av nasal hyperreaktivitet, slemhinnesvullnad och tolerans som inducerats, eller aggraverats, av nasala vaso-konstriktorer med eller utan konserveringsmedel [2].

Behandling av rhinitis medicamentosa

Behandlingen av rhinitis medicamentosa består i att hjälpa patienterna sluta använda de avsvällande nässprayerna. I förekommande fall måste sedan den underliggande näsåkomman behandlas. Ett abrupt stopp på näsdropps-användningen efter långvarig överanvändning ger en uttalad nästappa. Patienterna behöver hjälp att lindra denna svåra nästappa åtminstone den första tiden.

Den uttalade nästappan är svår att utvärda, och detta gör att många patienter återfaller i sitt näsdroppsberoende redan efter ett par dagars uppehåll. Det duger därför inte att endast uppmana patienterna att sluta. Läkaren måste stötta, uppmuntra och personligen följa upp dessa patienter i samband med behandlingen.

Många sätt att behandla rhinitis medicamentosa har föreslagits. De flesta författare anser att man skall sätta ut nässprayerna på en gång, medan andra vänjer av en näsborre i taget. De flesta anser att nasala och/eller orala kortikosteroider utgör den effektivaste behandlingen. Andra alternativ som föreslagits

Författare

PETER GRAF
docent, specialistläkare

JAKOB ENERDAL
doktorand, ST-läkare

HANS HALLÉN
docent, specialistläkare; samtliga
öron-, näs- och halskliniken, Hud-
dinge sjukhus.