

dr NIMFA MARIA STOJEK
Instytut Medycyny Wsi
im. Witolda Chodźki
20-950 Lublin
ul. Jaczewskiego 2

Zagrożenie bakteriami z rodzaju *Legionella* w środowisku pracy

Słowa kluczowe: *Legionella pneumophila*, ryzyko zawodowe, zapalenie płuc, gorączka Pontiac.

Key words: *Legionella pneumophila*, occupational risk, pneumonia, Pontiac fever.

Bakterie z rodzaju *Legionella* są rozpowszechnione w środowisku, zwłaszcza wilgotnym. Mają zdolność kolonizowania sieci wodociągowej i różnorodnych zbiorników wodnych sztucznych i naturalnych.

Dotychczas wyodrębniono 42 gatunki i 64 grupy serologiczne, z których najczęściej przyczyną zachorowań jest *L. pneumophila*, serotyp 1.

Człowiek zaraża się przez drogi oddechowe, wdychając zakażone pyły lub wodne aerozole. Do szczególnie narażonych na zakażenia należą osoby przebywające w pomieszczeniach o wzmożonej wilgotności powietrza.

Legioneloza przebiega pod postacią ciężkiego zapalenia płuc o śmiertelności około 20% lub gorączki Pontiac o znacznie łagodniejszym przebiegu, bez przypadków śmiertelnych.

UWAGI WSTĘPNE

Bakterie z rodzaju *Legionella* to mikroaerofilne Gram-ujemne drobne, niezarodnikujące pałeczki z rodziny *Legionellaceae*, rodzaju *Legionella*. Dotychczas wyodrębniono ich 42 gatunki i 64 grupy serologiczne. Najczęściej przyczyną zachorowań jest *L. pneumophila*, serotyp 1. Bakterie te rosną na podłożach sztucznych, wzbogaconych czynnikami wzrostowymi (*L*-cysteiną i solami żelaza). Głównym źródłem energii dla nich jest seryna i treonina, a nie węglowodany. Dodatek do podłoża dwutlenku węgla o stężeniu 2,5 ÷ 5% wpływa na przyspieszenie wzrostu kolonii bakteryjnych.

Pałeczki *Legionella* są trudne do wyizolowania i namnożenia w sztucznej hodowli, mają jednak duże zdolności adaptacyjne w środowisku naturalnym – mogą rosnąć w środowisku o temperaturze w zakresie 25 ÷ 45 °C (optymalna temperatura 35 °C) i pH od 5,5 ÷ 9,2 (optymalne 7,0).

PAŁECZKI *LEGIONELLA*

Bakterie z rodzaju *Legionella* są rozpowszechnione w przyrodzie. Głównym miejscem ich bytowania jest środowisko o wzmożonej wilgotności.

Pałeczki *Legionella* izolowano z różnego rodzaju zbiorników wodnych, sztucznych i naturalnych, a zwłaszcza zawierających muł lub osad denny, a także z wilgotnej gleby. Obecność alg i pierwotniaków w zbiornikach wodnych sprzyja ich rozwojowi. Bakterie te izolowano z gorących źródeł leczniczych, z próbek wody z platform wiertniczych, z pary powstałej w urządzeniach chłodniczych, z wody cyrkulującej w urządzeniach klimatyzacyjnych, służącej do hydroterapii, z próbek wody używanej w stomatologii, z wody pitnej wodociągowej, zwłaszcza ciepłej, a także z innych wód.

Drogi zakażenia

Obecność pałeczek *Legionella* w wodzie wodociągowej, a także obserwowane czasami u chorych objawy ze strony układu pokarmowego, sugerują możliwość wystąpienia zakażeń na drodze pokarmowej. Droga ta jak dotychczas nie została jednak ani potwierdzona, ani jednoznacznie wykluczona.

Mimo że stwierdzono obecność tych bakterii w ślinie chorych ludzi, dotychczas nie opisano przypadku zakażenia człowieka od człowieka. Przeciwciała anty-*Legionella* wykazano w surowicach różnych gatunków zwierząt (głównie koni), co sugeruje możliwość występowania zakażeń tymi patogenami również w świecie zwierzęcym. Jak dotychczas nie ma jednoznacznej odpowiedzi na pytania dotyczące ewentualnych powiązań między zakażeniami występującymi u zwierząt i u ludzi. Nie udokumentowano przypadku zakażenia człowieka od zwierzęcia, jak również zwierzęcia od człowieka. Być może, istnieje dla nich wspólne źródło zakażenia.

Jedną z pierwszych uznanych i jak dotychczas jedyną, potwierdzoną drogą zakażenia są drogi oddechowe.

Źródło zakażenia

Głównym źródłem zakażenia pałeczkami *Legionella* są pyły i aerozole wody w powietrzu o średnicy kropeł $0,2 \div 0,5 \mu\text{m}$, wytwarzane przez różnorodne generatory aerozolu wodno-powietrznego (np. urządzenia klimatyzacyjne, nawilżacze powietrza, aparatura do hydroterapii, natryski, aparatura stomatologiczna, zraszacze roślin czy fontanny).

W pierwszych udokumentowanych zachorowaniach źródłem infekcji były urządzenia klimatyzacyjne, które w dalszym ciągu są powszechnie uważane za główne źródło infekcji.

Udokumentowano przypadki zakażeń przenoszonych przez wilgotne powietrze, a także zachorowania wywołane przez pył z ziemi.

Przeżywalność bakterii unoszących się w aerozolu wzrasta od 3 do 15 min, wraz ze wzrostem wilgotności powietrza od 30 do nawet 80%.

Wrażliwość i narażenie na zakażenie

Na zakażenie pałeczkami *Legionella* wrażliwa jest cała populacja, jednak bardziej podatni na zakażenie są: palacze papierosów, osoby z obniżoną z różnych powodów odpornością (np. osoby po transplantacji narządów, leczeni lekami immunosupresyjnymi), chorzy na cukrzycę, nowotwory czy przewlekłe schorzenia układu oddechowego.

Stwierdzono też, że wiek (powyżej 50 lat) i płeć (męska) zwiększają wrażliwość na infekcję pałeczkami *Legionella*.

Obecność bakterii w wodzie wodociągowej upoważnia do domniemania, że tam, gdzie jest używana woda wodociągowa, zwłaszcza w formie rozpylonej, istnieje zagrożenie infekcją.

Zawodowo na infekcję pałeczkami *Legionella* są zagrożeni:

- pracownicy przemysłu biotechnologicznego, farmaceutycznego, perfumeryjno-kosmetycznego wykonujący pracę w pomieszczeniach, gdzie stosuje się biopreparaty
- pracownicy poligrafii i niektórych innych zawodów wymagających specyficznego mikroklimatu
- górnicy i pracownicy
- przemysłu wydobywczego, w tym górnicy „dołowi” i pracownicy platform wiertniczych
- pracownicy przemysłu metalurgicznego i zbliżonych zawodów, w tym pracownicy przemysłu maszynowego narażeni na „mgłę olejową” oraz pracownicy obsługujący np. turbiny wodne, wieże chłodnicze, wieże ciśnień, a także szlifierze
- pracownicy instytucji naukowych i ośrodków badawczych
- pracownicy zatrudnieni przy zbieraniu i przetwarzaniu odpadów i ścieków oraz wykonujący zbliżone czynności, w tym pracownicy kanalizacji miejskiej i oczyszczalni ścieków
- pracownicy ochrony zdrowia, w tym stomatologowie i personel pomocniczy, mikrobiolodzy, salowe i osoby obsługujące urządzenia do hydroterapii
- rolnicy i zawody zbliżone, w tym ogrodnicy, producenci ziemi doniczkowej, hodowcy zwierząt, zwłaszcza koni, a także pracownicy gospodarstw rybnych
- pracownicy sfery usług, w tym hydraulicy, konserwatorzy urządzeń wodno-kanalizacyjnych, sprzątaczk i pokojówki w hotelach, domach noclegowych, fryzjerzy i kosmetyczki
- osoby pracujące w pomieszczeniach klimatyzowanych.

LEGIONELOZA

Legioneloza jest określana jako wieloukładowa choroba zakaźna o zróżnicowanej symptomatologii.

Najlepiej poznane, z uwagi na zagrożenie życia, jest zapalenie płuc. Pałeczki *Legionella*, unoszące się w pyłe czy wodnym aerozolu, przedostają się do pęcherzyków płucnych wraz z wdychanym powietrzem. Należą one do bakterii, które umiejscawiają się wewnątrzkomórkowo. Taka lokalizacja drobnoustrojów utrudnia do nich dotarcie antybiotyków. *Legionella* dodatkowo ma zdolność produkowania szeregu enzymów, w tym *beta*-laktamaz, które unieczynniają antybiotyki *beta*-laktamowe. W środowisku wewnątrzkomórkowym patogeny te pobudzają funkcjonowanie szeregu mechanizmów, które powodują ich uodpornienie na fagocytozę i działanie dopełniacza, czyli na działanie naturalnych sił obronnych organizmu. Pałeczki *Legionella* produkują również wiele substancji o działaniu cytotoksycznym. To wszystko wpływa na małą skuteczność typowego leczenia. Bakterie te mają zdolność do wewnątrzkomórkowego namnażania, co powoduje rozpad komórek gospodarza i prowadzi do rozprzestrzenienia zakażenia wraz z krwią i chłonką. Bakteriemię stwierdza się w około 1/3 przypadków i jest ona przyczyną pozapłucnych lokalizacji infekcji.

W przebiegu legionozowego zapalenia płuc, oprócz objawów typowych dla każdego zapalenia płuc, u części chorych może dojść do wstrząsu septycznego oraz niewydolności nerek, mogą pojawić się takie objawy neurologiczne ze strony innych układów, jak: bóle

głowy, mięśniowe, senność czy zaburzenia świadomości, które są prawdopodobnie reakcją organizmu na toksyczne produkty metabolizmu. Mogą pojawić się również objawy ze strony układu pokarmowego, np. biegunka, wymioty czy bóle brzucha, a także zapalenie osierdzia, mięśnia sercowego, opłucnej, mózgu oraz wysypka.

Inną, znaną postacią legionelozy jest gorączka Pontiac, którą część specjalistów uważa za alergiczną odpowiedź organizmu na infekcję pałeczkami *Legionella*. Choroba zaczyna się nagle wysoką gorączką, dreszczami, bólami mięśniowymi, bólami głowy i ogólnym złym samopoczuciem. Objawom tym może towarzyszyć suchy kaszel, nieżyt nosa oraz stany zapalne spojówek. Mogą również pojawić się takie objawy o charakterze neurologicznym, jak: zawroty głowy, sztywność karku, światłowstręt czy zamroczenie. Stan ten może utrzymywać się od 2 do 5 dni, bez względu na stosowaną antybiotykoterapię. Dotychczas diagnoza gorączki Pontiac była stawiana retrospektywnie, głównie na podstawie wywiadu epidemiologicznego.

Niektórzy uważają, że legioneloza w 90% przebiega jako zapalenie płuc, a inni, że legioneloza w postaci gorączki Pontiac występuje znacznie częściej niż się sądzi, tylko nie jest diagnozowana. Choroby układu oddechowego są stwierdzane wśród pracowników różnych zawodów stosunkowo często, bez ustalenia czynnika etiologicznego. Być może, jedną z przyczyn takiego stanu są infekcje wywołane przez pałeczki *Legionella*. Choroba, mimo że banalna, jest jednak uciążliwa i kosztowna, zarówno dla chorego, jak i całego społeczeństwa.

EPIDEMIOLOGIA

Legioneloza występuje na wszystkich kontynentach. Pierwsze przypadki zachorowań w Europie Zachodniej zarejestrowano w 1978 r., a następnie w państwach sąsiadujących z Polską – z obszaru ZSSR (1982), w Słowacji (1982), w Czechach (1985), na terenie NRD (1997) i na Węgrzech (1982). W państwach tych są prowadzone badania dotyczące zachorowań na legionelozę, zwłaszcza w grupach o wysokim ryzyku zakażenia.

Pierwsze infekcje, do których doszło w Polsce, zdiagnozowane przez inne państwa, dotyczyły obcokrajowców, przebywających czasowo w Polsce. Obecnie w Państwowym Zakładzie Higieny są diagnozowane pojedyncze przypadki zachorowań na legionelozę.

W 1997 r. Szwecja zgłosiła trzy przypadki zachorowania na legionelozę, które stwierdzono u osób po powrocie z Polski – u jednej po pobycie w Krakowie i u dwóch osób po pobycie w Kołobrzegu. W 1998 r. również Szwecja zgłosiła dwa przypadki legionelozy, które rozpoznano u osób po wizycie w Polsce (jedna z tych osób zmarła). Osoby te przebywały na leczeniu sanatoryjnym i tam były poddawane zabiegom balneologicznym. W próbkach wody pobranej z natrysków w pokojach, w których przebywali Szwedzi, stwierdzono obecność *Legionella pneumophila*.

Dania zgłosiła przypadek legionelozy stwierdzonej u osoby po bytności w Szczecinie, a w 1996 r. zgłosiła następane cztery zachorowania, również związane z pobytem w Polsce: w Gdańsku, Krakowie, Szczecinie i w Warszawie.

Na podstawie wyników badań serologicznych przeprowadzonych u pracowników zatrudnionych na polskich platformach wiertniczych, w związku z częstym występowaniem u nich zapaleń górnych dróg oddechowych, wykazano u 25% badanych obecność przeciwciał przeciw *L. pneumophila*. Serologiczne badania własne przeprowadzone wśród mieszkańców Lubelszczyzny wykazały przeciwciała anti-*Legionella pneumophila* 1 ÷ 6 u 34,3% badanych mieszkańców wsi i u 10,7% mieszkańców miast. Prawdopodobnie osoby te chorowały na niezdiagnozowaną gorączkę Pontiac.

METODA BADAŃ

Z uwagi na fakt, że drogami zakażenia pałeczkami *Legionella* są drogi oddechowe, a głównym źródłem zakażenia jest zainfekowany pył lub drobiny wody zawieszane w powietrzu, należy, w celu wykazania zagrożenia, zbadać powietrze, wodę lub glebę.

Metodę badania próbek wody określono w normie PN-ISO 11731:2002, natomiast próby stwierdzenia obecności pałeczek *Legionella* przez badania powietrza i gleby dotychczas nie powiodły się w warunkach krajowych. Z uwagi na fakt, że pałeczki *Legionella* należą do bakterii trudnych w hodowli, a także istnienie form, które nie dają się hodować na pożywkach agarowych, brak izolacji ich z próbek powietrza czy gleby nie zawsze świadczy o ich nieobecności.

Badania wody mogą być prowadzone metodą posiewu powierzchniowego (kiedy jest przewidywana duża koncentracja bakterii) lub metodą filtracji membranowej (o spodziewanej niewielkiej liczbie bakterii).

Objętość badanej próbki zależy od rodzaju systemu wodnego oraz celu badań i może wynosić od 1 do 1000 ml, najczęściej 100 lub 500 ml. W razie badania wody, zawierającej środki dezynfekcyjne, należy do pojemnika na próbkę wody dodać środek inaktywujący (tiosiarczan potasu lub sodu).

Do sączenia próbek wody są zalecane filtry z estrów celulozowych o średnicy $45 \div 47$ mm i wielkości porów $0,22 \div 0,45$ μm . Po przefiltrowaniu próbki wody, w celu usunięcia towarzyszącej mikroflory, filtry należy ogrzewać w temperaturze 50 °C przez 30 min lub poddać kąpeli w buforze o pH 2,2 przez 10 min, a następnie przepłukać w płynie Ringera i przenieść na płytki Petriego z podłożem podstawowym do izolacji pałeczek *Legionella*: buforowane podłoże agarowe z węglem drzewnym i z ekstraktem drożdżowym (BCYE), uzupełnione suplementami (wzrostowym oraz selektywnym), zawierające glicynę, siarczan polimyksyny B, chlorowodorek wankomycyny i cykloheksamid (GVPC).

Hodowlę należy inkubować w temperaturze 37 °C przez 7 dni, sprawdzając wzrost codziennie, począwszy od czwartego dnia. Identyfikację wyizolowanych kolonii domniemanych pałeczek *Legionella* należy przeprowadzić metodą:

- biochemiczną – posiew na podłoże podstawowe z cysteiną oraz bez cysteiny i, wykorzystując brak zdolności pałeczek *Legionella* do wzrostu na podłożu bez cysteiny, traktować kolonie, rosnące na podłożu z cysteiną, jako domniemane pałeczki *Legionella*
- serologiczną, np. testem lateksowym DR 800 (Oxoid), co umożliwi oznaczenie: *L. pneumophila* sg. 1, *L. pneumophila* sg. 2-14, i *Legionella* spp., w tym: *L. longbeache* sg. 1 i 2, *L. bozemanii* sg.1 i 2, *L. dumofii*, *L. gormanii*, *L. jordanis*, *L. micdadei* i *L. anisa*.

Próbki powietrza można pobierać na sączki szklane, używając aspiratorów indywidualnych. Czas poboru próby powietrza należy ustalić w zależności od przewidywanego zanieczyszczenia powietrza (od 30 min do kilku godzin). Sączki należy umieścić w płynie fizjologicznym z dodatkiem Tween 80 na 120 min, po czym płyn ten trzeba ogrzać w temperaturze 50 °C przez 30 min, w celu likwidacji flory towarzyszącej i posiać za pomocą szklanych kolanek na podłoże GVPC, omówione wcześniej.

Próbki ziemi pobierać do płynu Ringera ze szklanymi perelkami, a następnie poddać je wytrząsaniu i odwirowaniu, a supernatant ogrzewać w temperaturze 50 °C przez 30 min i posiać za pomocą szklanych kolanek na podłoże GVPC, omówione wcześniej.

Dalszy tok postępowania, czyli prowadzenie hodowli, izolacja i identyfikacja domniemanych *Legionella* – jak taki sam, jak opisano przy badaniu próbek wody.

ZAPOBIEGANIE

W wodzie, w tym również w wodzie pitnej, szczepy *Legionella* mogą przeżyć rok. Stwierdzono, że pałeczki te nie są radykalnie likwidowane przez ogólnie stosowane środki dezynfekcyjne w wodociągach, czyli chlor, ozon, promienie UV, a także podgrzewanie nawet do temperatury 60 °C. Całkowicie niszczy je dopiero ogrzewanie do temperatury około 80 °C.

Wskazana jest więc okresowa kontrola bakteriologiczna wody pitnej, a szczególnie takich znanych źródeł infekcji, jak urządzenia klimatyzacyjne czy urządzenia do terapii balneologicznej. Konieczna jest w nich częsta zmiana filtrów oraz unikanie recyrkulacji powietrza wentylacyjnego. Wskazane jest utrzymywanie w odpowiednim stanie czystości (bez zastoju wody i szlamu) oraz w odpowiednim stanie technicznym (niedopuszczanie do korozji) urządzeń do zraszania, podlewania, mycia samochodów w myjniach, a także innych urządzeń tworzących aerozol wodno-powietrzny.

POSUMOWANIE

Pałeczki z rodzaju *Legionella* są zaliczane do drugiej kategorii zagrożenia, zarówno według postanowień zawartych w dyrektywach Wspólnoty Europejskiej, jak i polskich autorów (*Dutkiewicz i in.* 1999).

Sporadyczne skażenie wody $10^4 \div 10^6$ komórek na litr, może spowodować zachorowania, a stałe skażenie wody $10^2 \div 10^4$ komórek na litr już może być przyczyną infekcji, natomiast wdychane powietrze winno być wolne od tych drobnoustrojów.

Parlament Europejski i Rada Unii Europejskiej w 1998 r. ustanowiły wspólną sieć nadzoru nad niektórymi zakażeniami. Na liście tych chorób znalazła się również legionelloza. Powołano Europejską Grupę Roboczą do prac nad zakażeniami wywołanymi przez pałeczki *Legionella* – European Working Group Legionella Infection (EWGLI), z którą współpracują polscy specjaliści z Państwowego Zakładu Higieny.

PIŚMIENNICTWO

Atlas R.M., Williams J.F., Hutington M.K. (1995) *Legionella* contamination of dental-unit waters. *Apl. Microbiol.* 61, 1208-1213.

Bednarski Z. (1984) Choroba legionistów. *Wiadomości Lekarskie* 20, 1600-1602.

Collins M.T., Cho S., Reif J.S. (1982) Prevalance of antibodies to *Legionella pneumophila* in animal populations. *J. Clin Microbiol.* 15, 130-136.

Droszcz W. (1982) Choroba legionistów. *Pol. Arch. Med. Wew.* 68, 361-365.

Droszcz P., Piotrowska B., Droszcz W. (1998) Legionellowe zapalenie płuc. *Pol. Merk. Lek.* 20, 100-101.

Dutkiewicz J., Śpiewak R., Jabłoński L. (1999) Klasyfikacja szkodliwych czynników biologicznych występujących w środowisku pracy oraz narażonych na nie grup zawodowych. Lublin, IMW.

Fuji J., Yoshida S. (1999) *Legionella* infection and control in occupational and environmental health. *Rev. Environ. Health* 14, 1-5.

Gregsen P. i in. (1999) Pontiac fever at sewage treatment plant in the food industry. *Scand. J. Work. Environ Health* 25, 291-195.

Kajfasz P. (1996) *Legionella* W: Choroby zakaźne i pasożytnicze. (Red.) Z. Dziubek. Warszawa, PZWL.

Knap J. (1998) Czy legioneloza występuje w Polsce? Pol. Merk Lek. 20, 106-107.

Kondrasiuk M. i in. (1994) Zakażenia *Legionella pneumophila*. Pneum. i Alerg. Pol. 62, 1-2, 106-111.

Krogulska B. i in. (2001) Metodyka wykrywania bakterii z rodzaju *Legionella* w środowisku wodnym i materiale klinicznym. Warszawa, PZH.

Łapiński T.W., Kruminis-Łozowski J. (1997) Zakażenia *Legionella pneumophila* wśród pracowników polskich morskich platform wiertniczych. Wiadomość Lekarskie 1-3, 11-15.

Stojek N.M. (2000) Zakażenia wywołane przez pałeczki z rodzaju *Legionella*. Medycyna Ogólna 1, 60-66.

Stojek N.M., Dutkiewicz J. (2000) Serologiczne badania ludzi w kierunku legionelozy w regionie lubelskim. Medycyna Ogólna 6, 354-363.

Stojek N.M., Dutkiewicz J. (2002) *Legionella* in sprinkling water as potential occupational risk factor for gardeners. Ann Agric. Environ. Med. 9, 261-264.

Stypułkowska-Misiurewicz H. (1993) Legioneloza. W: Choroby zakaźne i pasożytnicze. (Red.) W. Magdzik. Kraków, Vesalius.

Witeska M. (1998) Legioneloza. Pol. Merk. Lek. 20, 102-105.

Biuletyny Ministerstwa Zdrowia i Opieki Społecznej (1998; 1999) Warszawa, MZiOS 1998, 1999.

NIMFA MARIA STOJEK

Occupational risk to bacteria of genus *Legionella*

A b s t r a c t

The bacteria of genus *Legionella* are commonly present in the environment, especially in humid conditions. To date 42 species have been identified of which *Legionella pneumophila* is the most frequent cause of diseases (1).

Infections take place through the airways by inhalation of droplet aerosols from water or dust. The risk of infection is increased by high humidity of the air.

Legionellosis may occur as a pneumonia with mortality of about 20%, or as a much milder flu-like illness called Pontiac fever.