

# Dijagnoza i liječenje legionarske bolesti

---

**Puljiz, Maša**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2021**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:395967>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-01-13**



*Repository / Repozitorij:*

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**

**MEDICINSKI FAKULTET**

**Maša Puljiz**

# **Dijagnoza i liječenje legionarske bolesti**

**Diplomski rad**



**Zagreb, 2021.**

Ovaj diplomski rad izrađen je u Zavodu za urogenitalne infekcije Klinike za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“ u Zagrebu, pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Dalibora Vukelića i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2020./2021.

## **POPIS KRATICA**

LB - Legionarska bolest

Lp – *Legionella pneumophila*

BCYE – Puferirani kvasni i ugljeni ekstrakt (engl. Buffered charcoal-yeast extract)

Llb – *Legionella longbeachae*

CFU – Jedinica formirajućih kolonija (engl. Colony forming unit)

IL – Interleukin

TLRs – Receptori slični tolu (engl. Toll-like receptors)

LPS – Lipopolisaharid

Th1 - Pomoćničke stanice 1. vrste (engl. T-helper 1 cells)

IFN- $\gamma$  – Interferon gama

NK - Prirodno ubilačke (eng. Natural killer)

CDC – Centar za kontrolu i prevenciju bolesti (engl. Centers for disease control and prevention)

TNF- $\alpha$  – Faktor nekroze tumora alfa (engl. Tumor necrosis factor – alpha)

HAP – Bolničke ili hospitalne pneumonije (engl. Hospital acquired pneumonia)

CT – Kompjutorizirana tomografija (engl. Computed tomography)

CAP – Pneumonija iz opće populacije (engl. Community acquired pneumonia)

ELDSNet – Europska mreža za nadzor legionarske bolesti (engl. European Legionnaires' disease surveillance network)

ECDC – Europski centar za prevenciju i kontrolu bolesti (engl. European centre for disease prevention and control)

EU – Europska unija

EIA – Enzimski imunotest (engl. Enzyme immunoassay)

ICA – Imunokromatografski test (engl. Immunochromatographic assay)

DFA – Test izravne imunofluorescencije (engl. Direct fluorescent assay)

PCR – Lančana reakcije polimerazom (engl. Polymerase chain reaction)

rRNA – Ribosomalna ribonukleinska kiselina (engl. Ribosomal ribonucleic acid)

DNA – Deoksiribonukleinska kiselina (engl. Deoxyribonucleic acid)

ELISA – Enzimski vezan imunosorbentni test (engl. Enzyme-linked immunosorbent assay)

IFA – Test neizravne imunofluorescencije (engl. Indirect immunofluorescent assay)

JIL – Jedinica intenzivnog liječenja

ECMO – Izvantjelesna membranska oksigenacija (engl. Extracorporeal membrane oxygenation)

CRP – C-reaktivni protein

SE – Sedimentacija eritrocita

CK – Kreatin kinaza

PCT – Prokalcitonin

KKS – Kompletna krvna slika

DKS – Diferencijalna krvna slika

EBV – Epstein-Barr virus

CMV – Citomegalovirus

KZIB – Klinika za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“ u Zagrebu

## SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
1.1. POVIJEST.....	1
1.2. MIKROBIOLOGIJA.....	1
1.3. PATOGENEZA.....	3
1.4. EPIDEMIOLOGIJA.....	4
1.5. KLINIČKA PREZENTACIJA.....	7
1.5.1. Izvanplućna infekcija.....	9
1.6. MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOSTIKA.....	9
1.6.1. Dokazivanje antigena u urinu.....	9
1.6.2. Dokazivanje antigena u uzorcima dišnog sustava.....	10
1.6.3. Kultivacija legionela.....	10
1.6.4. Lančana reakcija polimerazom.....	11
1.6.5. Serološki testovi.....	11
1.7. LIJEČENJE .....	12
1.7.1. Makrolidi .....	12
1.7.2. Fluorokinoloni.....	13
1.7.3. Drugi antibiotici.....	13
1.7.4. Kombinirana terapija.....	14
1.7.5. Trajanje liječenja.....	15
1.8. PREVENCIJA.....	16
<b>2. ISPITANICI I METODE</b> .....	18
<b>3. REZULTATI</b> .....	20
<b>4. RASPRAVA</b> .....	33
<b>5. ZAKLJUČCI</b> .....	39
<b>6. ZAHVALA</b> .....	41
<b>7. LITERATURA</b> .....	42
<b>8. ŽIVOTOPIS</b> .....	49

## SAŽETAK

Maša Puljiz

### Dijagnoza i liječenje legionarske bolesti

Retrospektivno su analizirane kliničke i epidemiološke značajke legionarske bolesti u 60 bolesnika, dobi od 27 do 79 godina (50 muškaraca i 10 žena), koji su hospitalizirani u Klinici za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“ u Zagrebu od 01. siječnja 2018. do 31. prosinca 2019. godine. Dijagnoza legionarske bolesti utvrđena je određivanjem specifičnih protutijela *Legionella pneumophila* serotip 1-7 (11/60) i/ili određivanjem antigena *L. pneumophila* serotip 1 u urinu (58/60). Bolest je registrirana tokom cijele godine, a više oboljelih je bilo tijekom rujna (23,3%). Većina bolesnika su se pojavljivali kao sporadičan slučaj bolesti. Više od polovice bolesnika (58,4%) imalo je blaži oblik bolesti. Vodeći simptomi bolesti bili su vrućica (100,0%), kašalj (83,3%) i zimice (81,7%), a najvažniji laboratorijski pokazatelji povišena vrijednost C-reaktivnog proteina (100,0%), ubrzana sedimentacija eritrocita (98,1%) i leukocitoza (79,7%). Rendgenske slike pluća bile su nekarakteristične, a u više od dvije trećine bolesnika opisuje se bronhopneumonički infiltrat na plućima (68,3%). Pleuralni izljev je registriran u 41,7% bolesnika. Većina bolesnika prije dolaska u bolnicu nije uzimala adekvatnu antimikrobnu terapiju (96,7%). Najčešća inicijalna antimikrobna terapija u bolnici bila je kombinacija beta laktamskog antibiotika i azitromicina (53,3%), potom monoterapija azitromicinom (15,0%), levofloksacinom (11,7%) te moksifloksacinom (8,3%). U otprilike polovice bolesnika (48,3%) nakon prispjeća mikrobioloških testova inicijalna antimikrobna terapija je korigirana, najčešće u monoterapiju azitromicinom (35,4%), potom levofloksacin (6,7%) te moksifloksacin (5,0%). Nije zabilježena razlika u liječenju pacijenata između azitromicina, levofloksacina i moksifloksacina, Mehanička ventilacija provedena je u pet (8,3%), a tri bolesnika su razvila ARDS. Tri (5,0 %) bolesnika su umrla.

**Ključne riječi: Legionarska bolest, dijagnoza, terapija**

## SUMMARY

Maša Puljiz

### Diagnosis and treatment of Legionnaires' disease

A retrospectively analysis was performed of the clinical and epidemiological characteristics of legionnaires' disease in 60 patients, aged 27 to 79 years (50 males, and 10 females), hospitalized at the University Hospital for Infectious Diseases "Dr. Fran Mihaljević" in Zagreb from January 1, 2018 to December 31, 2019. The diagnosis of legionnaires' disease was confirmed by determining the specific antibodies to *Legionella pneumophila* serotype 1-7 (11/60) and/or by determining the antigen of *L. pneumophila* serotype 1 in urine (58/60). The disease occurred throughout the year, with more patients recorded during September (23,3%). Most patients appeared as sporadic cases. More than half of the patients (58,4%) had mild form of disease. The leading symptoms of disease were fever (100,0%), cough (83,3%) and chills (81,7%), and the most significant laboratory findings were increased C- reactive protein (100,0%), accelerated erythrocyte sedimentation rate (98,1%) and leukocytosis (79,7%). Chest X-rays were non-characteristic, and in more than two-third of the patients showing bronchopneumonic lung infiltrate (68,3%). Pleural effusion was recorded in 41,7% of patients. Most patients did not receive adequate antimicrobial therapy prior to hospitalization (96,7%). The most common initial antimicrobial therapy in the hospital was a combination of beta-lactam antibiotic and azithromycin (53,3%), followed by monotherapy with azithromycin (15,0%), levofloxacin (11,7%) and moxifloxacin (8,3%). In approximately half of the patients (48,3%) after obtaining microbiology test results, the initial antimicrobial therapy was corrected, most often to azithromycin monotherapy (35,4%), followed by levofloxacin (6,7%) and moxifloxacin (5,0%). There was no difference in the treatment of patients between azithromycin, levofloxacin and moxifloxacin. Mechanical ventilation was performed in five (8,3%) patients, and three patients developed ARDS. Three (5,0%) patients died.

**Keywords: Legionnaires' disease, diagnosis, therapy**



## 1. UVOD

### 1.1. POVIJEST

Legionarska bolest (LB) je naziv za upalu pluća koju uzrokuju gram negativni bacili iz roda *Legionella*, najčešće *Legionella pneumophilla*. LB je prvi put zabilježena 1976. godine kada je uzrokovala epidemiju pneumonija u Philadelphiji na konvenciji američkih legionara. Tom prilikom je 221 osoba oboljela, a 34 su umrle. Unatoč intenzivnom laboratorijskom istraživanju, uzročnik bolesti je mjesecima ostao nepoznat. Epidemiološka istraživanja su zaključila da se bolest najvjerojatnije prenosi zrakom (aerosolom) te su primarno bila fokusirana na hotel gdje se konvencija bila održala, a koji je potom zatvoren zbog pritiska javnosti (1). McDade i suradnici s američkog Centra za kontrolu i prevenciju bolesti (CDC) su šest mjeseci poslije izolirali uzročnika, gram negativni bacil (2). Kako je bolest bila povezana s konvencijom američkih legionara nazvana je „legionarska bolest“, a uzročnik *Legionella pneumophila* (Lp) koja pripadala rodu *Legionella*. Zbog svojih fenotipskih i genskih osobitosti rod *Legionella* je izdvojen 1979. godine u zasebnu porodicu *Legionellaceae*, a danas je općenito prihvaćeno mišljenje da porodici *Legionellaceae* pripada samo rod *Legionella*. Retrospektivnim analizom sačuvanih seruma Thacker i suradnici opisuju je da je Lp bila uzročnik nekoliko do tada nedokazanih epidemija pneumonija u pedesetim i početkom sedamdesetih godina prošlog stoljeća (3). LB je odgovorna za 1-10% svih pneumonija iz opće populacije (engl. Community acquired pneumonia – CAP) , a može se prezentirati od blage do teške i fatalne bolesti.

### 1.2. MIKROBIOLOGIJA

Legionele su mali tanki pleomorfni štapići koji se, ovisno o uvjetima sredine, pojavljuju u kokobacilarnom ili filamentoznom obliku. U većini slučajeva pokreću se s pomoću jedne do dviju flagela, posjeduju fimbrije, a posjedovanje kapsule je varijabilno. Legionele se po Gramu boje negativno. Samo *L. micdadei* pokazuje određenu otpornost na djelovanje kiselina kao dekolorizirajućih čimbenika i prikazuje se u preparatima obojenim modificiranom metodom po Ziehl-Neelsenu. Zbog nutritivnih zahtjeva legionele rastu samo na specijalnim hranilištima. Aminokiseline su glavni izvor energije za izvanstanični rast, a tijekom unutarstaničnog rasta koriste glicerol i glukozu (4). Kao obligatni aerobi legionele rastu na temperaturama između 20 °C i 42 °C. L-cistein je potreban za inicijalni rast legionela, a željezo za optimalan rast i za početnu izolaciju bakterija iz različitih uzoraka. Kultivacija na agaru s kvašćevim ekstraktom i aktivnim ugljenom koji je puferiran na pH 6.9 (engl. Buffered

Charcoal-Yeast Extract - BCYE) je zlatni standard za kultivaciju legionela iz kliničkih izolata. Klinički značajne legionele najbolje rastu na temperaturi od 35 °C u ovlaženom zraku na BCYE agaru, dodatkom  $\alpha$ -ketoglutarata obično 2 do 10 dana nakon inokulacije na pločama.

Do sada je poznato i u rod *Legionella*, porodice *Legionellaceae*, klasificirano više od 60 vrsta legionela s više od 70 seroloških skupina (5). Iz različitih bolesničkih uzoraka izolirana je oko polovica tih vrsta, koje se smatraju patogene za ljude. Lp posjeduje DNA genom veličine  $2.5 \times 10^9$  daltona. Na temelju specifičnosti u antigenskoj građi Lp je podijeljena u 15 serotipova. Lp serotip 1, uzročnik philadelphijske epidemije je odgovorna za 65% do 90% svih slučajeva LB. Lp serotip 1 se može podijeliti u razne podtipove koristeći serološke, fenotipske i genetske testove. Jedan poseban podtip Lp serotip 1, nazvan „Pontiac“ podtip uzrokuje 85% slučajeva uzrokovanih Lp serotip 1. Najčešće ne-Lp vrste izolirane kod čovjeka su *L. longbeachae*, *L. micdadei*, *L. bozemanai* i *L. dumoffii* koje su, s izuzetkom Australije odgovorne za manje od 5% dokazanih slučajeva LB (6). Postoje značajne razlike u o geografskoj prevalenciji pojedinih vrsta legionela. Tako *Legionella longbeachae* (Llb) uzrokuje 50% do 85% svih slučajeva LB na Novom Zelandu i Australiji (7).

Legionele su ubikvitarni mikroorganizmi rasprostranjeni u našem prirodnom vodenom okruženju, u jezerima, potocima pa čak i na obalama oceana na temperaturama koje se kreću između 5 °C i većim od 50 °C (8). Topla voda (25 °C – 40 °C) podržava visoke koncentracije legionela te je glavni rezervoar patogenih legionela. Slobodno živuće amebe u vodi podržavaju unutarstanični rast i preživljavanje legionela (9). Kada su suočene s nepovoljnim uvjetima okoliša amebe prelaze u stadij ciste i tako štite i sebe i legionele. Legionela i inficirane amebe mogu stvarati biofilm. Promjene okoliša mogu razbiti biofilm što rezultira iznenadnom i masovnom oslobađanju legionela u okolnu vodu. Ako se takva voda inhalira ili aspirira legionela može uzrokovati bolest u osjetljivih domaćina. Legionela je jedan od nekoliko oportunističkih patogena koji su otkriveni u izgrađenom vodovodnom okruženju (10). Novija saznanja kao izvore legionela navode kišne lokve u tropima, izlaganje vodi tijekom tsunamija, tekućina za brisanje vjetrobranskog stakla, voda iz kamionskih cisterni koja se koristi za čišćenje prometnica te voda iz korodiranih vodovodnih cijevi u domaćinstvu (11,12). Rizični čimbenik za prijenos Llb je zemlja za tegle koja se koristi u vrtlarstvu (13). Legionele su prisutne u manjim koncentracijama u dezinficiranoj hladnoj vodi za piće, obično manje od jedne bakterije po litri vode. Koncentracija legionela se može povećati rastom u biofilmu unutar cijevi za distribuciju vode, poglavito dotrajalih cijevi s slabim protokom ili bez protoka vode. Isto tako, koncentracija legionela se može povećati u toplijim uvjetima, kao što su sustavi za zagrijavanje vode. Koncentracija legionela u rashladnim klimatizacijskim

tornjevima varira između  $10^2$  do  $10^8$  jedinica formirajućih kolonija (engl. Colony Forming Unit - CFU) po litri. Gotovo 80% testiranih air-condition rashladnih tornjeva sadrži legionele, kao i 5% do 30% tople vode u domaćinstvu i u industrijskim postrojenjima. Kontaminirana voda koja služi kao aerosol jedan je od glavnih izvora širenja legionela u okoliš.

### 1.3. PATOGENEZA

LB počinje inhalacijom i vjerojatno mikroaspiracijom, odnosno izravnom inokulacijom legionela u pluća. Iako su legionele ubikvitarne u našem okolišu, rijetko uzrokuju bolest u ljudi. Naime, za izazivanje bolesti potrebno više čimbenika, kao što su prisustvo virulentnih sojeva u okruženju, pogodni uvjeti okoliša koji omogućuju preživljavanje i inhalacija infektivne doze legionela na osjetljivog domaćina. Sojevi različite virulencije postoje u istim vrstama, a neki sojevi i serotipovi su virulentniji od drugih (14).

Infekciозна forma legionele nije poznata, ali u svim slučajevima ona potječe iz vode ili vlažnoga tla. Moguće da postoji nekoliko infekciозnih formi, kao što su legionela u cisti amebe, forma spora, čestica biofilma koje sadrže legionele te slobodno disperzirana ekstracelularna legionela (15). Isto tako, nije poznata inokulacijska doza legionela za izazivanje LB. Amebna cista i fragmenti biofilma sadrže više od 1000 legionela te je moguće da njihova inhalacija može uzrokovati bolest (16). Preživljavanje aerosolizirane ekstracelularne legionele ovisi o relativnoj vlazi pa ona može biti ključna čimbenik u prijenosu LB. LB je u pojedinim dijelovima svijeta sezonska bolest gdje se većina slučajeva pojavljuju u toplijim mjesecima godine najvjerojatnije zbog veće ambijentalne temperature i vlažnosti te češće i intenzivnije izloženosti čovjeka vodenom aerosolu (17).

Nakon ulaska u pluća inhalacijom ili aspiracijom, alveolarni makrofagi fagocitiraju legionele. Fagocitoza i unutarstanični rast i razmnožavanje legionela ključni su momenti u patogenezi. Legionele proizvode čimbenike virulencije koji pojačavaju fagocitozu i potiču unutarstanično preživljavanje i umnožavanje. Nakon uspješne unutarstanične replikacije, legionele ubijaju makrofage i dolaze u izvanstanično okruženje gdje ih fagocitiraju drugi makrofagi. Koncentracija bakterija u plućima se povećava uslijed njenog umnožavanja unutar makrofaga. Makrofagi inficirani legionelama izlučuju kemokine i citokine koji trigeriraju teški upalni odgovor. Dolazi do privlačenja neutrofila, monocita koji se transformiraju u makrofage i eritrocita u alveole koji dovode do edema uslijed kapilarnog „leaka“ (18).

Sistemska širenje bakterija može nastati uslijed infekcije cirkulirajućih monocita, odnosno makrofaga. Osim u plućima, legionela je nađena i u krvi, u stijenci krvnih žila, medijastinalnim limfnim čvorovima, jetri, slezeni, crijevima, bubregu, endokardu, perikardu,

koštanom srži i u mozgu. Mehanizam sistemske toksičnosti LB nije jasan, a uključuje teški inflamatorni odgovor na virulentne legionele. Produkcija citokina i kemokina je posredovana otkrivanjem produkata legionela unutar makrofaga putem receptora urođenog imunskog sustava. Receptori slični tolu (engl. Toll-like receptors TLRs) na makrofagima i drugim imunskim stanicama započinju imunološki odgovor. Produkti virulentnih legionela u citosolu makrofaga značajno doprinose jakom upalnom odgovoru. Iako teški imunski odgovor Th1 (engl. T helper 1 cells) koji induciraju legionele može biti nepoželjan za domaćina tijekom infekcije legionelama, producirani citokini su od najvećeg značaja za eradikaciju organizma od legionela (19). Inficirani makrofagi produciraju citokine koji privlače upalne stanice i stimuliraju interferon gama (IFN- $\gamma$ ) kojeg proizvode prirodno ubilačke (engl. Natural killer - NK) stanice. Neutrofili i IFN- $\gamma$  su potrebni za sterilizaciju pluća od legionela. Neutrofili su učinkoviti za odstranjivanje izvanstaničnih legionela, a makrofagom aktivirani IFN- $\gamma$  ubijaju legionele (20). Uz to, aktivirani makrofagi imaju nižu koncentraciju unutarstaničnog željeza koje je potrebno za replikaciju legionela. Tijekom LB dolazi do stvaranja protutijela, no humoralni imunološki odgovor nema veći značaj u obrani domaćina od LB, jer specifična protutijela ne zaustavljaju unutarstaničnu replikaciju legionela u alveolarnim makrofagima. Stanična imunost je temeljna obrana od infekcije. Stoga je LB mnogo učestalija i mnogo teža u bolesnika s oštećenom staničnom imunošću, uključujući stanje nakon presadbe organa i dugotrajno liječenje kortikosteroidima.

#### **1.4. EPIDEMIOLOGIJA**

Inkubacijsko razdoblje tijekom većine zabilježenih epidemija LB je između 2 i 10 dana, a do 10% epidemijskih slučajeva bilježi inkubaciju dulju od 10 dana. Medijan inkubacije je 4 do 6 dana s pojedinačnim odstupanjima od 1 do 28 dana (21). Interhumani prijenos LB nije zabilježen kao niti laboratorijski prijenos na čovjeka. Izvještaj o mogućoj intehumanoj transmisiji koji su pojedinačno bili opisani nisu imali znanstvenu potvrdu za takve zaključke. LB se pojavljuje sporadično i epidemijski. U Klinici za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“ u Zagrebu (KZIB) legionarska se bolest dijagnosticira i liječi od 1978. godine (22). Od tada se u nas redovito pojavljuje, uglavnom u sporadičnom obliku, a zabilježeno je i nekoliko manjih epidemija. Zapaža se naglašeno sezonsvo bolesti, uglavnom u toplijim mjesecima. Mjesto i način infekcije u većine bolesnika nisu poznati. Legionela je bila otkrivena u vodovodnom sustavu u nekim zagrebačkim bolnicama, te je bilo nekoliko slučajeva nozokomijalno stečene LB (nepubliciran podatak). Manji broj prijavljenih od stvarnih slučajeva LB rezultat je povoljnog učinka empirijske antibiotske terapije bez

laboratorijske potvrde bolesti, slabije osjetljivosti dijagnostičkih testova te ponekad uslijed nemara zdravstvenih službi. Postoje geografske varijacije u distribuciji incidencije LB. Ipak, zadnjih godina bilježi se veća incidencija LB temeljem prijavljenih slučajeva. Ostaje nepoznato da li je to rezultat šire upotrebe antigenskog testa urina, boljeg praćenja i prijavljivanja ili zbog same bolesti. Procjena je da je LB uzročnik između 0.5% i 10% svih hospitaliziranih odraslih pacijenata s pneumonijom, s prosjekom od oko 2% čak i u geografskim područjima s odličnim dijagnostičkim mogućnostima (23).

Nakon otkrića LB opisano je više nozokomijalnih epidemija diljem svijeta. Kako se relativno slabo poznavala ekologija okoliša legionela kao i optimalna dijagnostička metoda, epidemije su bile karakterizirane dugim trajanjem, nerijetko više godina s relativno velikim brojem oboljelih i umrlih. Nakon boljeg upoznavanja mikrobiologije i epidemiologije legionela i provođenja odgovarajućih mjera prevencije nozokomijalne epidemije su trajale nekoliko tjedana, zahvaćajući manji broj pacijenata.

Prema izvještajima pojedinih zemalja polovica slučajeva LB bilježi se u putnika. U većini slučajeva otkriju se izvori epidemije, a neki se pojavljuju sporadično. Tako u Europi postoji Europska mreža za nadzor legionarske bolesti (engl. European Legionnaires' Disease Surveillance Network - ELDSNet), čiji rad koordinira Europski centar za sprečavanje i kontrolu bolesti (engl. European Centre for Disease prevention and Control - ECDC), provodi nadzor nad legionarskom bolešću (24). Mrežu čine epidemiolozi, mikrobiolozi i infektolozi koje su imenovala nacionalna tijela nadležna za javno zdravstvo u Europskoj uniji (EU) i mnogim zemljama diljem svijeta. Ona omogućuje da zemlje u kojima je došlo do pojave bolesti razmjenjuju informacije sa zemljama u kojima je moglo doći do zaraze. U okviru mreže postoje i postupci za obavješćivanje organizatora putovanja o pojavi slučajeva bolesti. Sporadični slučajevi bolesti su 5 do 20 puta češći nego epidemijski, ali se teže otkrivaju. Nerijetko se radi o putnicima koji se vraćaju kući tijekom inkubacijskog razdoblja. Epidemiološkom anamnezom može se potvrditi njihov boravak u prostorijama s rashladnim uređajima. Sporadičan slučaj LB može nastati i bez posebne izloženosti vodenom aerosolu, a povezani su s infekcijom u vlastitome domu, na radnome mjestu ili pitkom vodom. Stjecanje infekcije pijenjem vode ili kupanjem u vodi odgovorno je za manje od 10% do 15% sporadičnih slučajeva LB (25).

Mortalitet od LB je varijabilan, ovisno o popratnim bolestima, početku odgovarajuće terapije te o način stjecanja infekcije. Najmanji mortalitet bilježi se u većim epidemijama LB, a najveći kod nozokomijalno stečenih slučajeva bolesti u pacijenata s teškim popratnim bolestima koji nisu adekvatno liječeni (26). Prosječni mortalitet sporadičnih slučajeva bolesti

je između 10% i 15%. Mortalitet nozokomijalno stečene LB zadnjih se 20-ak godina smanjio za više od polovice zbog boljeg i bržeg prepoznavanja bolesti te veće upotrebe učinkovite antimikrobne terapije.

Budući da su legionele ubikvitarni mikroorganizmi čovjek je često s njima u kontaktu i u najvećem broju slučajeva neće dobiti bolest. To se pripisuje u najvećem dijelu nepoznatim imunosnim mehanizmima i nedostatku dovoljne koncentracije virulentnih legionela u aerosolu. Poznati čimbenici rizika za LB su oni koji rezultiraju u smanjenoj lokalnoj i sistemske staničnoj imunosti te one aktivnosti koje povećavaju izlaganje infektivnom aerosolu ili mikroaspiraciji kontaminirane vode. Također su važni čimbenici okoliša i same legionele, kao što su relativna virulencija legionela, stabilnost legionela u aerosolu, uvjeti rasta legionela te čimbenici koji ubrzavaju širenje legionela od kontaminirane vode do domaćina (smjer vjetrova, relativna vlaga i stvaranje aerosola). Muški spol, pušenje, alkoholizam, kronična bolest srca i pluća, dijabetes, terminalni stadij bubrežnog zatajenja, transplantacija organa, imunosupresija, neki oblici maligne bolesti i starija životna dob su čimbenici rizika za LB (26). Gotovo dvostuko veći rizik u muškaraca može biti zbog veće prevalencije pušača i popratnih komplikacija u muškaraca. Siromaštvo, poglavito u većim gradovima je rizični čimbenik za LB. U SAD postoji i rasna razlika u incidenciji, Afroamerikanci imaju veći incidenciju od bijelaca uključujući osobe sličnog socioekonomskog statusa (27). Čimbenici rizika za stjecanje LB uzrokovane drugim vrstama legionela su slični onima Lp, a većina pacijenata su imunosuprimirani ili imaju malignu bolest, izuzev onih uzrokovanih Llb (28).

Aktivnosti koje pojačavaju šansu izlaganju legionelama u vodi povećavaju rizik za stjecanje bolesti. Nedavno noćno putovanje, korištenje bunarske vode kod kuće, nedavni vodovodni radovi u kući, prekid opskrbe vodom koji rezultira mutnom vodom na vodovodnim završecima te stanovanje u području gdje su starije vodovodne instalacije povećavaju rizik za stjecanje LB iz opće populacije. Povećana rizična aktivnost uključuje boravak u toplicama s toplom vodom, stanovanje u blizini rashladnih tornjeva ili boravak u blizini ukrasnih fontana (29). Čimbenici rizika za LB uzrokovanu Llb se znatno razlikuju od Lp i uključuju rukovanje kompostom ili zemljom za tegle, pušenje cigareta, KOPB te ne održavanje higijene nakon korištenja zemlje (13).

Brojna nozokomijalna izlaganja mogu rezultirati u LB, gotovo sva pomagala što mogu dovesti kontaminiranu vodu u dišni sustav, voda iz slavine, raspršivač, ovlaživač zraka, ventilator, nazogastrična sonda i dr. Konzumacija kontaminiranog leda također može biti rizični čimbenik za nozokomijalnu LB.

LB se prenosi iz okoliša na čovjeka prvenstveno inhalacijom infektivnog aerosola. Opisuju se i slučajevi mikroaspiracije kontaminirane vode u pluća. Da li je mikroaspiracija glavni način prijenosa nozokomijalne LB ostaje kontraverzno i nedokazano. Od značaja je brza prijava svih suspektnih ili dokazanih slučajeva LB za otkrivanje moguće epidemije bolesti. Pojedinačni slučaj oboljenja može biti dio epidemije ili „index case“. Zdravstvene ustanove trebaju provesti iscrpno istraživanje i u pojedinačnim slučajevima nozokomijalne LB. U svih pacijenata s nozokomijalnom pneumonijom bi trebalo mikrobiološkom obradom isključiti LB.

### **1.5. KLINIČKA PREZENTACIJA**

LB uzrokuje akutnu upalu pluća koju je na temelju kliničkog ili radiološkog nalaza u početku teško razlikovati od pneumokokne pneumonije (30). Inicijalna klinička prezentacija LB 70-tih godina prošlog stoljeća pokazuje različite kliničke sindrome koji su karakterizirani vrućicom u disocijaciji s pulsom, mijalgijama, podražajnim kašljem, oskudnim simptomima sa strane pluća, proljevom, konfuzijom, hiponatremijom, hipofosfatemijom i povišenim vrijednostima jetrenih aminotransferaza. Spomenuti skup znakova i simptoma nije specifičan da može razlikovati LB od drugih uzročnika pneumonija iz opće populacije (engl. Community Acquired Pneumonia – CAP). Isto tako, ne postoji precizan skor sistem u dijagnostičkoj procjeni.

Klinički znakovi LB uzrokovane ne-Lp ne razlikuju se bitno u odnosu na Lp. Lb LB pojavljuje se u prvom redu u imunosuprimiranih pacijenata (6). Imunosuprimirani i ne-Lp LB imaju teži klinički tijek i veći broj izvanplućnih oblika LB.

Prodromalni simptomi LB mogu trajati od nekoliko sati do nekoliko dana, a prisutni su glavobolja, mijalgije, astenija i anoreksija. Vrućica u pravilu prati ove simptome izuzev u teško imunokompromitiranih ili ponekad starijih osoba. Mogu se pojaviti proljev i bolovi u trbuhu. Kašalj, ponekad uz probadanja u prsima može se pojaviti satima ili danima nakon prodromalnih simptoma. Produktivni kašalj bilježi se u oko 50% pacijenata. Inicijalna klinička slika može ostati neprepoznata zbog prevladavanja sistemskih simptoma bolesti. Fizikalni pregled prsnog koša i rendgenska snimka gotovo uvijek otkrivaju nalaz konsolidirajuće pneumonije (31). Nalaz kompjuterizirane tomografije (CT) otkriva karakterističan izgled „mlječnog stakla“ i konsolidaciju (32). Pojava pleuralne boli, ponekad zajedno s hemoptizama može dovesti do pogrešne dijagnoze infarkta pluća. Glavobolja može biti najistaknutiji znak i pobuditi sumnju na subarahnoidalno krvarenje. Nerijetko se opisuje konfuzija, a ponekad konvulzije i fokalni neurološki znak (33). Neki pacijenti u početku mogu imati uredan nalaz radiograma pluća, a nakon 24 sata rendgen može pokazivati fokalne ili

difuzne plućne infiltrate. U imunosuprimiranih pacijenata praktički uvijek se vidi kavitacija pluća. Pleuralni izljev bez infiltrata se rijetko opisuje. Rijetko se bilježi splenomegalija, perikarditis, miokarditis i fokalni apsces. Ako se pojavi osip, onda je rezultat reakcije na lijek, a ne same LB.

Nespecifični patološki laboratorijski nalazi mogu se pojaviti u pacijenata koji imaju teški oblik LB, a uključuju hiponatremiju, hipofosfatemiju, povišene jetrene enzime, hiperbilirubinemiju, leukopeniju ili leukocitozu, trombocitopeniju, diseminiranu intravaskularnu koagulaciju, piuriju, povišene vrijednosti kreatin kinaze i laktat dehidrogenaze. Pacijenti s LB češće imaju hiponatremiju nego oni s drugim pneumonijama, ali raspon serumskih vrijednosti natrija je preširok da bi imalo dijagnostičku vrijednost u pojedinačnih pacijenata. Oštećenje bubrega uzrokovana LB može rezultirati prisustvom kristala i leukocita u urinu te povišenim vrijednostima kreatinin kinaze.

Klinička dijagnoza se može pretpostaviti na temelju kliničkog tijeka bolesti nakon terapije te epidemioloških podataka. Veće je vjerojatnost za LB ako se polučio neuspjeh liječenja beta laktamskim antibioticima u pacijenta s akutnom konsolidirajućom pneumonijom ili je pneumonija teška da zahtjeva liječenje u JIL. Uz to je važan epidemiološki podatak o mogućem izlaganju legionelama. Nespecifična prezentacija LB može otežati kliničku dijagnozu te se preporuča empirijska terapija koja uključuje antibiotike učinkovite protiv LB u svih pacijenata s CAP nepoznate etiologije.

### **1.5.1. Izvanplućna infekcija**

Izvanplućna infekcija je rijetka i obično se pojavljuje kao metastatska komplikacija pneumonije u imunokompromitiranih pacijenata ili u pacijenata s fatalnim oblikom LB kada se mogu razviti apscesi i metastatske infekcije na mozgu, slezeni, limfnim čvorovima izvan pluća te skeletnom i srčanom mišiću (34). U nekih pacijenata se opisuju metastatska žarišta u crijevima, jetri, bubrezima, peritoneumu, perikardu, vaskularnim šantovima i graftovima, koštanoj srži, zglobovima, kirurškoj rani, nativnim srčanim zaliscima, perirektalnom području, koži i potkožnom tkivu. U nekim slučajevima simptomi metastatske infekcije mogu prethoditi pneumoniji nekoliko dana prije, a isto tako mogu se pojaviti nekoliko dana do nekoliko tjedana nakon početka pneumonije. Metastatska infekcija može biti jedini znak relapsa bolesti.

## **1.6. MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOSTIKA**



Etiološka dijagnoza legionarske bolesti može se postaviti samo specifičnim mikrobiološkim testovima. Većina mikrobioloških testova koji se koriste u dijagnostici LB imaju relativnu nisku osjetljivost i visoku specifičnost. Izbor mikrobiološke metode ovisi o njenoj kompliciranosti, vremenu potrebnom za dobivanje rezultata, osjetljivosti i specifičnosti, opremljenosti laboratorija, kao i cijeni koštanja. Nerijetko je potrebno kombinirati nekoliko metoda, a nalaz kritički prosuđivati.

### **1.6.1. Dokazivanje antigena u urinu**

Najčešće korišteni test za dijagnostiku LB je dokazivanje urinarnog antigena, imunoenzimskim (engl. Enzyme immunoassay – EIA) ili imunokromatografskim (Immunochromatographic assay – ICA) testom. Solubilni antigen Lp se pojavljuje rano u mokraći, već prvih dana bolesti, a katkad se zadržava nekoliko tjedana, pa i mjeseci u težim oblicima bolesti. Test ima visoku specifičnost, jednostavan je za izvođenje, ne zahtjeva specijaliziranu tehniku, omogućuje rezultat unutar 30 minuta, a uz to je i jeftin. Nedostatak testa je što otkriva samo tipno-specifični antigen Lp serotip 1. Test je visoko osjetljiv za „Pontiac“ podtip Lp1 (do 90%), manje osjetljiv za druge serotipove Lp (60%), a vrlo nisko osjetljiv (<5%) za druge vrste legionela (35). Budući da većinu ili oko 90% slučajeva LB iz opće populacije uzrokuje „Pontiac“ podtip, prosječna osjetljivost testa je između 70% i 80%. U imunokompromitiranih pacijenata, nozokomijalno stečenih LB ili u pacijenata iz pojedinih geografskih lokaliteta LB uzrokuju drugi serotipovi ili druge vrste legionela pa je niska osjetljivost urinarnog antigena (35). Koncentracija urina ili produženo vrijeme inkubacije može povećati osjetljivost testa. Rijetko može biti lažno pozitivan rezultat zbog reuma faktora. Ovaj test nije alternativa kultivaciji i serologiji. U područjima gdje je Lp serotip 1 najčešći uzročnik LB otkrivanje antigena Lp serotip 1 postaje referentna dijagnostička metoda za LB.

### **1.6.2. Dokazivanje antigena u uzorcima dišnog sustava**

Prisustvo antigena legionele može se otkriti u uzorcima dišnog sustava izravnom imunofluorencijom (engl. Direct Fluorescent Assay – DFA). Metoda se relativno brzo izvodi, ali joj je osjetljivost relativno niska jer ponajviše ovisi o broju legionela u uzorku. Osjetljivost je viša pri obradi aspirata traheje i bioptičkog uzorka pluća nego iskašljaja ili pleuralnog izljeva. DFA ima visoku specifičnost ako se koriste monoklonska protutijela vrsta legionela koje uzrokuju infekciju te ga izvode educirano medicinsko osoblje (36).

### **1.6.3. Kultivacija legionela**

Legionele su spororastuće nježne bakterije koje se uspješno kultiviraju na selektivnim medijima tijekom prolongiranog inkubacijskog razdoblja. Kultivacija na BCYE agaru je zlatni standard za dijagnostiku LB, no niska osjetljivost ograničava njenu upotrebu za kliničku rutinsku dijagnostiku. Osjetljivost kultivacije ovisi o težini bolesti, pa tako blagi oblici LB imaju osjetljivost između 15% i 25%, a teški oblik bolesti koji uzrokuje respiratorno zatajenje imaju osjetljivost veću od 90% (36). Prethodna specifična antimikrobna terapija može utjecati na rezultat iako neki pacijenti imaju pozitivan nalaz kultivacije iz iskašljaja danima i tjednima nakon početka terapije. Dobar uzorak za kultivaciju je iskašljaj, a još bolji bronhoalveolarni lavat ili bioptički materijal. Bojenje iskašljaja po Gramu ima nisku osjetljivost. Hemokultura je pozitivna u približno 10%, poglavito u kritičnih pacijenata ili teško imunokompromitiranih pacijenata, kao i u većine pacijenata s endokarditisom umjetnih valvula. Kultivacija iz krvi zahtjeva specijalizirane tehnike, a ne ovisi o serotipu ili vrsti legionele. Kultivacija je nerijetko jedina pozitivna metoda u slučajevima LB koju uzrokuju ne-Lp vrste. Budući da izolati iz kultivacije imaju veliki značaj za javno zdravstvo i mogu biti potrebni za kompletiranje istraživanja kao izvora epidemije, kultivacija i subtipizacija se nerijetko koristi bez obzira na rezultate drugih mikrobioloških metoda.

### **1.6.4. Lančana reakcija polimerazom**

Lančana reakcija polimerazom (engl. Polymerase Chain Reaction - PCR) za otkrivanje legionela se koriste u referentnim laboratorijima koji su opskrbljeni specijaliziranom opremom i osobljem za izvođenje testa. PCR ima 30% veću osjetljivost od kulture, ovisno o ciljnom mjestu ili „primeru“. Većina PCR testova ima specifično ciljno mjesto unutar 16S rRNA (engl. Ribosomal ribonucleic acid) gena, 5S rRNA gena, 23S-5S fiksnoj regiji ili unutar makrofagom inhibiranog potenciranog gena (mip gen) (37). PCR testovi povećavaju dijagnostičku vrijednost između 10% i 100% u odnosu na urinarni antigen te se mogu koristiti u dijagnostici blažih oblika bolesti i otkrivanju drugih vrsta legionela (43). Ovom metodom moguće je otkriti legionelu ako je prisutna samo jedna bakterijska stanica, 0.2 jedinica CFU ili 5 femtograma DNA (engl. Deoxyribonucleic acid) kromosoma po reakciji. PCR je specifičan test za vrstu te ima mjesto u testiranju uzoraka imunokompromitiranih kao i pacijenata koji nisu inficirani Lp. Lažno pozitivni rezultat može biti uslijed pogrešne interpretacije rezultata, kontaminacije reagensija i korištenih kitova. Zbog toga je potrebna standardizacija svih laboratorija, a rezultati se trebaju pažljivo interpretirati. Genetsko sekvenciranje pozitivnih PCR rezultata ili sekvenciranje cijelog genoma može se koristiti u

slučajevima identifikacije podvrste koja je važna zbog epidemioloških istraživanja, odnosno otkrivanja izvora infekcije (38).

### **1.6.5. Serološki testovi**

U kliničkoj praksi LB se ponekad dijagnosticira posredno, odnosno serološki, otkrivanjem titra specifičnih protutijela. Najčešće korišteni serološki testovi su enzimski vezan imunosorbentni test (engl. Enzyme linked immunosorbent assay – ELISA) i test indirektno imunofluorescencije (engl. Indirect immunofluorescent assay - IFA). ELISA se općenito preferira zbog manje subjektivnosti pretrage, veće osjetljivosti i mogućeg automatiziranog izvođenja u odnosu na IFA. Četverostruki porast titra protutijela u parnim uzorcima seruma ili prisustvo IgM protutijela u bilo kojem uzorku seruma smatra se dijagnostičkim. Otkrivanje protutijela ima nisku osjetljivost i specifičnost ukoliko se ne testiraju akutni i rekonvalescentni serum (36). Za optimalan rezultat, rekonvalescentni serum bi trebalo uzimati 4, 6 i 12 tjedana od početka bolesti. Serokonverzija će se postići samo u 75% pacijenata s pozitivnim testom kultivacije, čak i u slučajevima optimalnog vremena uzimanja seruma. Komercijalno korišteni serološki testovi imaju nisku osjetljivost i specifičnost zbog odstupanja od standardiziranih metoda.

Za optimalnu dijagnostiku LB potrebno je koristiti više mikrobioloških testova, PCR, kultivaciju iskašljaja i dokaz urinarnog antigena. Ako su ovi rezultati negativni, a postoji klinička i epidemiološka sumnja za retrospektivnom dijagnozom tjednima ili mjesecima poslije, tada se mogu izvesti serološki testovi. Za pacijente kod kojih postoji sumnja da su inficirani ne-Lp1 serotipom najbolji dijagnostički testovi su kultivacija iskašljaja i PCR. Rezultati svih testova, osim seroloških mogu imati nižu osjetljivost u pacijenata koji uzimaju specifičnu terapiju. Stoga ih je poželjno ordinirati čim prije, no mikrobiološka dijagnostika ne bi trebala odgoditi početak antimikrobne terapije.

## **1.7. LIJEČENJE**

U liječenju legionarske bolesti od najvećeg značaja je što prije primijeniti odgovarajući antibiotik. Kašnjenje u primjeni učinkovitog antibiotika rezultira lošijom prognozom. Legionele su intracelularne bakterije koje fagocitiraju monociti i makrofagi te učinkoviti antimikrobni lijekovi moraju imati sposobnost unutarstanične penetracije, a to su makrolidi, kinoloni i tetraciklini. Neke od ne-Lp vrsta nisu prisutne u fagosomu te neki od navedenih lijekova mogu bit manje učinkoviti u liječenju LB uzrokovanu tim vrstama legionela. Isto tako, jedan soj Llb pokazuje rezistenciju na tetracikline te oni ne bi bili prikladni u liječenju

LB uzrokovane tom vrstom legionele (39). Beta laktami, monobaktami, aminoglikozidi i fenikoli također nisu učinkoviti protiv LB (40). Do sada nije provedeno prospektivno kliničko istraživanje antimikrobne terapije LB na dovoljnom uzorku ispitanika.

### **1.7.1. Makrolidi**

Nakon otkrića LB bilježe se uspješni rezultati liječenja eritromicinom, poglavito u usporedbi s beta laktamskim antibioticima i aminoglikozidima. Dokazana je tolerancija legionela na eritromicin pa se smatra da to može biti uzrok relapsa u imunokompromitiranih bolesnika koji su liječeni eritromicinom te općenito slabiji učinak eritromicina u teško bolesnih pacijenata (41). Nakon izvješća o kliničkom neuspjehu eritromicina pokušalo se povećati dozi lijeka, umjesto 4x500mg, 4x1.0 gram dnevno. No, zbog interakcije s brojnim dugim lijekovima, poglavito u imunokompromitiranih bolesnika, kao i nuspojava pri višim dozama, eritromicin je danas uglavnom napušten (42). Legionela može razviti rezistenciju na makrolide na nekoliko načina, izbacivanjem antibiotika iz stanice pomoću efluks pumpe te promjenom u ribosomskoj podjedinici čime je smanjeno ili spriječeno vezanje makrolida za ribosome (43). Unatoč dobroj ekstracelularno i intracelularnoj aktivnosti, učinak klaritromicina protiv legionela je bakteriostatski. U nekoliko nekontroliranih istraživanja u liječenju LB dokazan je bolji klinički učinak levofloksacina u odnosu na eritromicin i klaritromicin u liječenju LB, što ograničava njihovu primjenu u tih bolesnika (44,45). Na temelju dosadašnjih podataka, azitromicin se pokazao kao najbolji makrolidni antibiotik s dobrom intracelularnom penetracijom, baktericidnim učinkom, dokazanom kliničkom učinkovitosti, relativno kratkim liječenjem i neznatnim nuspojavama. Isto tako, azitromicin se ne veže s citokrom P450 izoenzimima što smanjuje njegovu interakciju s drugim lijekovima, za razliku od makrolida s 14-članom laktonskim prstenom.

### **1.7.2. Fluorokinoloni**

Eksperimentalna istraživanja pokazuju da fluorokinoloni ireverzibilno inhibiraju razmnožavanje legionela unutar stanica, a uz to imaju baktericidni učinak (46). Gacouin i suradnici nalaze da pacijenti s teškim oblikom LB koji su liječeni fluorokinolonima unutar 8 sati od prijema u JIL imaju značajno bolju prognozu od onih kod kojih je liječenje započeto kasnije (47). Shadoud i suradnici opisuju *in vivo* mutaciju Lp koja je dovela do rezistencije u dva pacijenata koji su bili liječeni fluorokinolonom (48). Zbog težine bolesti bili su liječeni u JIL, a dodatkom makrolida oba pacijenta su bila uspješna izliječena. Nedavno je molekularnim istraživanjima zabilježena heterorezistencija niske razine tijekom terapije

kinolonima, no bez jasne poveznice na terapijski odgovor i ishod liječenja (49). Levofloksacin je fluorokinolon izbora za liječenje pneumonija budući da u tkivu pluća ima dva do pet puta veće koncentracije nego u serumu (50).

### **1.7.3. Drugi antibiotici**

Rifampicin pokazuje vrlo dobru izvanstaničnu i unutarstaničnu aktivnost protiv legionela. No, opisuju se rezistentni sojevi *Lp in vitro*. Stoga se zbog pojave rezistencije monoterapije rifampicinom ne preporuča, a ranije se koristio u kombinaciji s drugim antibiotikom za teške slučajeve LB. Ograničenje rifampicina je i značajna indukcija citokrom P450 enzimskog sustava i posljedična interakcija s drugim lijekovima.

Trimetoprim-sulfametoksazol, tetraciklini i kloramfenikol su bili testirani *in vitro*, u životinjskim modelima, kao i kliničkim istraživanjima, no njihova učinkovitost je manja od makrolida, kinolona i rifampicina (43). Postoje tek ograničena istraživanja o učinkovitosti streptogramina i ketolida protiv legionela. Iako su pokazali učinkovitost zbog svoje toksičnosti ne koriste se u liječenju legionarske bolesti.

Tigeciklin je derivat tetraciklina koji postiže visoke intracelularne koncentracije te se *in vitro* i u animalnim modelima pokazao učinkovit protiv *Lp* (51). Bopp i suradnici su istraživali aktivnost tigeciklina protiv legionele unutar humanih fagocita i ekstracelularno (52). Tigeciklin je bio manje učinkovit ekstracelularno u odnosu na levofloksacin i eritromicin, a intracelularno je pokazao bolju učinkovitost. Valve i suradnici opisuju slučaj imunosuprimiranog pacijenta nakon trantsplantacije jetre s diseminiranom LB kod kojeg je terapija moksifloksacinom tijekom tri tjedna pokazala klinički neuspjeh (53). Nakon uvođenja tigeciklina bilježi se kliničko poboljšanje.

Omadaciklin je semisintetski derivat tetraciklina koji u dva multicentrična, dvostruko slijepa, randomizirana istraživanja faze 3, pokazao sličnu učinkovitost i sigurnosni profil u odnosu na moksifloksacin (54,55).

### **1.7.4. Kombinirana terapija**

Kombinirana terapija većinom se koristila u teškim oblicima bolesti. Ne postoje jasni pokazatelji o njejoj učinkovitosti, a s druge strane kombinirana terapija može povećati rizik za toksičnost i interakciju lijekova. U staničnim modelima, rifampicin neznatno povećava učinkovitost fluorokinolona, a u životinjskim modelima učinkovita može biti kombinacija s makrolidima (44). No, obzirom na moguću toksičnost i značajnije metaboličke alteracije reducirana je upotreba rifampicina, i to prvenstveno s azitromicinom i novijim

flurokinolonima. Rifampicin ne bi trebalo koristiti u liječenju LB sve dok su drugi lijekovi dostupni. Grau i suradnici naglašavaju da je istovremeno dodavanje rifampicina flurokinolonu ili makrolidu nepoželjno i bez koristi (56). Rifampicin značajno reducira serumsku i plućnu koncentraciju svih makrolida uslijed indukcije klirensa lijeka koja može trajati tjednima. U svom istraživanju Grau i suradnici opisuju da dodatak rifampicina levofloksacinu ima lošiju prognozu od monoterapije levofloksacinom (56). Kombinacija antibiotika nije se pokazala učinkovitom u terapiji LB, čak niti dvojna terapija kinolon-makrolid u kritičkih bolesnika nije pokazala bolji ishod (45).

### **1.7.5. Trajanje liječenja**

Ne postoji jasne preporuke o duljini trajanja antibiotske terapije. Klinička procjena o duljini liječenja ovisi od više čimbenika, kao što su imunološki status, težina kliničke slike, prisustvo izvanplućne komplikacije, zakašnjela odgovarajuća terapija, farmakokinetika i farmakodinamika izabranog lijeka i odgovor na inicijalno liječenje. U nekoliko istraživanja terapija 500 mg dnevno azitromicinom između 3 i 7 dana u ambulantno i bolnički liječenih pacijenata se pokazala učinkovita sa samo jednim relapsom u teško imunosuprimiranog pacijenta (57). Stoga je pacijenata s opsežnijom pneumonijom ili u teško imunokompromitiranih poželjnija duža terapija azitromicinom. Petodnevna terapija levofloksacinom (750 mg/dan) pokazala se veoma učinkovita bez relapsa te jednako učinkovita kao i tretman od 500 mg dnevno između 7-14 dana (58). Općenito, ako se isključe teško imunokompromitirani pacijenti, trajanje antibiotske terapije treba slijediti smjernice svih oblika CAP. Za hospitalizirane pacijente u početku se proporučuju parenteralni pripravci antibiotika. Nakon kliničke stabilizacije pri težim oblicima bolesti, parenteralni lijek se može zamijeniti peroralnim. Ne postoje istraživanja koja preporučuju prelazak s parenteralnog na peroralni pripravak lijeka („switch therapy“), kao niti vrijeme otpusta iz bolnice.

Većina pacijenata s LB liječenih jednim od ranije navedenih lijekova ima brzi odgovor na terapiju. Unutar 12 do 24 sata većina pacijenata imaju poboljšanje ili potpuno odsustvo većine simptoma. Temperatura se postupno snižava te obično normalizira između 4 i 7 dana. Simptomi sa strane dišnog sustava se nešto sporije smiruju, ali najveće poboljšanje javlja se unutar nekoliko dana. Period oporavka može trajati mjesecima i komplicirati se neuropsihijatrijskim tegobama, uključujući kronični umor (59). Uz to, simptomatski poremećaj plućne funkcije može biti prisutan mjesecima. Prisustvo konsolidacije na radiogramu pluća zahtjeva duže vrijeme za rezoluciju nalaza. Do potpune rezolucije rendgenske snimke pluća može proći i 4 mjeseca iako se to u većine pacijenata bilježi dva

mjeseca nakon završetka terapije. Nerijetko se tijekom prvih dana terapije bilježi radiološko pogoršanje unatoč značajnom kliničkom poboljšanju (60). U teško imunokompromitiranih pacijenata te u onih s teškom pneumonijom koja zahtjeva mehaničku ventilaciju potrebno je dulje vrijeme za kliničko poboljšanje nakon početka terapije ili se može postići neuspjeh terapije uslijed ireverzibilnog ARDS-a. Čak i u tih pacijenata dolazi do poboljšanja sistemskih znakova infekcije dok se respiratorno zatajenje može pogoršati.

Neuspjeh specifične antimikrobne terapije otvara neka pitanja: da li ispravna dijagnoza, mogućnost koinfekcije ili superinfekcije te mogućnost izvanplućne komplikacije bolesti. Do 10% pacijenata s LB imaju koinfekciju ili superinfekciju s respiratornim ili drugim patogenima. Superinfekcija oportunističkim patogenima općenito se susreće u teških imunokompromitiranih pacijenata ili tijekom nozokomijalne LB. Koinfekcija s uobičajenim respiratornim patogenima otkriva se u pacijenata s CAP, temeljem pozitivne hemokulture ili pozitivnog nalaza iskašljaja. Kao rijetke komplikacije LB ili njene terapije mogu biti „drug fever“, pankreatitis, miokarditis, hepatitis, perikarditis, metastatska infekcija i empijem pleure te su razlog prologirane vrućice i slabijeg odgovora na terapiju.

Uz antimikrobnu, važna je i suportivna terapija LB. Potrebna je nadoknada tekućine, korekcija elektrolitskog disbalansa, kao i terapija kisikom u hipoksemičnih pacijenata. Iako su neki zagovornici kortikosteroidne terapije u slučaju razvoja ARDS-a, nije dokazana korist terapije te uz to mogu biti štetni u kontroli infekcije (61). Kortikosteroidi se mogu primijeniti za postpneumonički oblik bolesti kao što je kriptogena organizirajuća pneumonija te plućna fibroza. U teškim oblicima bolesti potrebno je primijeniti izvantjelesnu membransku oksigenaciju (engl. Extracorporeal membrane oxygenation -ECMO).

## **1.8. PREVENCIJA**

Ne postoji učinkovito humano cjepivo protiv LB. Profilaksa antibiotikom za prevenciju LB je opravdana u imunokompromitiranih pacijenata tijekom nozokomijalne epidemije bolesti (62). Prilikom provođenja preventivnih mjera za smanjenje rizika od LB cilj je izbjeći stvaranje pogodnih uvjeta za razmnožavanje legionela te diseminaciju zrakom kroz kapljice i aerosol. To se može postići ispravnim i redovitim održavanjem potencijalnih izvora infekcije. Tako se u bolnicama voda iz slavina ne smije koristiti u uređajima za respiratornu terapiju, kao što su ovlaživači i nebulizatori. Za sve turističke objekte i bolnice vrijedi mjera kojom maksimalna temperatura potrošne hladne vode treba biti niža od 20 °C dok temperatura tople vode ne smije biti niža od 50 °C. Poželjno je da se u bolničkim vodovodnim sustavima, poglavito u sobama gdje su imunokompromitirani pacijenti redovito uzimaju uzorci za

kultivaciju legionela. U nekoliko dosadašnjih nozokomijalnih epidemija LB pokazalo se da otkrivanje bilo koje vrste i koncentracije legionela u vodovodnom sustavu bolnice bude oprez pa nisu točna ranija opažanja da se sanacija provede samo ako je 30% ili više mjesta pozitivno (63). Kloriranje javne pitke vode reducira kolonizaciju legionelama kao i udio nozokomijalnih LB. Sekundarna dezinfekcija klorom se također pokazala učinkovitom.



## 2. ISPITANICI I METODE

Retrospektivno sam analizirala demografske, epidemiološke i kliničke pokazatelje, te učinak antimikrobne terapije u bolesnika koji su zbog LB liječeni u KZIB od 1. siječnja 2018. do 31. prosinca 2019. godine. Podaci o bolesnicima prikupljeni su iz povijesti bolesti. Bolesnici su razvrstani prema dobi i spolu, mjesecu i trajanju hospitalizacije, načinu stjecanja infekcije, čimbenicima rizika te težini bolesti. Analizirani su klinički simptomi i znakovi bolesti (tjelesna temperatura, zimica, tresavica, kašalj, glavobolja, bolovi u mišićima, bolovi u prsima, kratkoća daha, hunjavica, povraćanje i proljev), laboratorijski nalazi (sedimentacija eritrocita, C-reaktivni protein, prokalcitonin, leukociti, neutrofili, natrij, ureja, kreatinin, bilirubin, aspartat aminotransferaza, alanin aminogtransferaza, gama glutamil transferaza, kreatin kinaza, laktat dehidrogenaza i albumini u serumu) i radiološka prezentacija LB (tip rendgenskog infiltrata, lokalizacija i proširenost infiltrata na plućima, te pleuralni izljev). Posebno sam analizirala terapiju prije dolaska u bolnicu, inicijalnu antibiotsku terapiju u bolnici te korigiranu antibiotsku terapiju u bolnici. Detaljno sam proučavala kliničke značajke u bolesnika u kojih je provedena (inicijalna ili korigirana u bolnici) monoterapija azitromicinom, levofloksacinom ili moksifloksacina. Na kraju sam, analizirala terapijski učinak azitromicina, levofloksacina i moksifloksacina i to: trajanje bolesti prije primjene hospitalizacije, trajanje temperature ( $\geq 37,5$  °C) pod terapijom antibioticima, ukupno trajanje antibiotske terapije te duljina hospitalizacije tih bolesnika.

Dijagnoza LB postavljena je otkrivanjem antigena *L. pneumophila* serotip 1 u urinu ICA-om (BinaxNOW *Legionella*, Abbott, Scarborough, ME, SAD) i/ili određivanjem specifičnih protutijela IgM i IgG za *L. pneumophila* serotip 1-7 u parnim uzorcima seruma ELISA-om (ELISA, Virion-Serion, Njemačka) (64). Kriteriji pozitivnog nalaza specifičnih protutijela određenih ELISA metodom izraženi su kvalitativno i kvantitativno u jedinicama po mililitru (U/ml). Vrijednosti IgM veće od 140 U/ml, te IgG veće od 70 U/ml smatrane su pozitivnim. ICA test u urinu se interpretira kvalitativno prema prisutnosti ili odsutnosti vizualno detektabilne roza do ljubičasto obojane crte na membrani.

Kriteriji za dijagnozu LB bili su pozitivan antigen *L. pneumophila* serotip 1 u urinu, serokonverzija titra protutijela, odnosno dvostruki ili veći porast titra protutijela u parnim uzorcima seruma, te perzistencija visokog titra specifičnih protutijela (najmanje dvostruko veća vrijednost od granične vrijednosti testa) u parnim uzorcima seruma.

Svi bolesnici su imali pneumoniju, dijagnosticiranu uz karakterističnu kliničku sliku i rendgenskim nalazom infiltrata na plućima. Analizirala sam 60 bolesnika u kojih je mikrobiološki dokazana LB. U većine bolesnika (58 ili 96,7%) bolest je dijagnosticirana dokazom antigena *L. pneumophila* serotip 1 u urinu ICA-testom, a u 9/58 bolesnika i ELISA metodom. U 2 bolesnika LB je utvrđena samo dokazom specifičnim protutijela ELISA metodom.

U svih bolesnika uzete su hemokulture, a u troje bolesnika i iskašljaj za bakteriološku obradu. U 11 bolesnika učinjene su i serološke pretrage na najčešće uzročnike drugih atipičnih pneumonija (*Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia psittaci*, *Coxiella burnetii*), koje su bile negativne.

Podaci su obrađeni na osobnom računalu, a u statističkoj analizi korištena je deskriptivna statistika. Vrijednosti kontinuiranih varijabli opisane su aritmetičkom sredinom, standardnom devijacijom, minimumom, maksimumom, medijanom i interkvartilnim rasponom. Za izradu statističkih podataka korišten je statistički program XLSTAT 2021.2.2.

### 3. REZULTATI

Od 1151 bolesnika koji su zbog pneumonije hospitalizirani u Klinici za infektivne bolesti “Dr. Fran Mihaljević” u Zagrebu (KZIB) od 1. siječnja 2018. do 31. prosinca 2019. godine, u 60 bolesnika dokazana je legionarska bolest, što čini 5,2% svih hospitaliziranih bolesnika s pneumonijom (nepublicirani podaci iz Odjela za medicinsku dokumentaciju KZIB). Od njih 60, muškaraca je bilo 50 (83,3%) i samo 10 (16,7%) žena. Temeljem epidemiološke anamneze u gotovo polovici bolesnika (28 ili 46,7%) može se pretpostaviti izvor infekcije. U većine pacijenata riječ je o sporadičnoj pojavi LB, a dvoje pacijenata se zarazilo u drugoj bolničkoj sredini grada Zagreba nakon čega su premješteni na daljnje liječenje u KZIB.

Tablica 1 prikazuje čimbenike rizika za stjecanje LB u naših bolesnika. Jedna trećina bolesnika bolovala je od neke kronične bolesti, a jedan je uzimao tri imunosupresivna lijeka nakon transplantacije srca. Četrnaest, odnosno 23,3% bolesnika bili su stariji od 65 godina. Nešto više od polovice ili 51,7% bolesnika bili su pušači, a 7 ili 11,7% bolesnika bili su alkoholičari.

**Tablica 1.** Čimbenici rizika za stjecanje bolesti u 60 bolesnika s legionarskom bolesti

Čimbenici rizika	Broj bolesnika N	Postotak %
Muški spol	50	83,3
Starija dob (>65 godina)	14	23,3
Kronične bolesti*	20	33,3
Imunosupresivno liječenje	1	1,7
Pušenje	31	51,7
Alkoholizam	7	11,7

\* Neoplazme, kronične plućne, jetrene, srčanožilne i bubrežne bolesti

Bolesnici su svrstani u pet skupina s obzirom na težinu bolesti, odnosno rizik mortaliteta unutar 30 dana od početka bolesti, prema uobičajenim kriterijima Fine i suradnika. (65). Iz tablice 2 vidljivo je da više od polovice bolesnika, odnosno 35 ili 58,3% pripada u skupine lakših oblika bolesti, u kojima je vrlo nizak mortalitet (skupina I, II i III).

**Tablica 2.** Raspodjela 60 bolesnika s legionarskom bolesti prema težini bolesti (Pneumonia Severity Index - PSI)\*

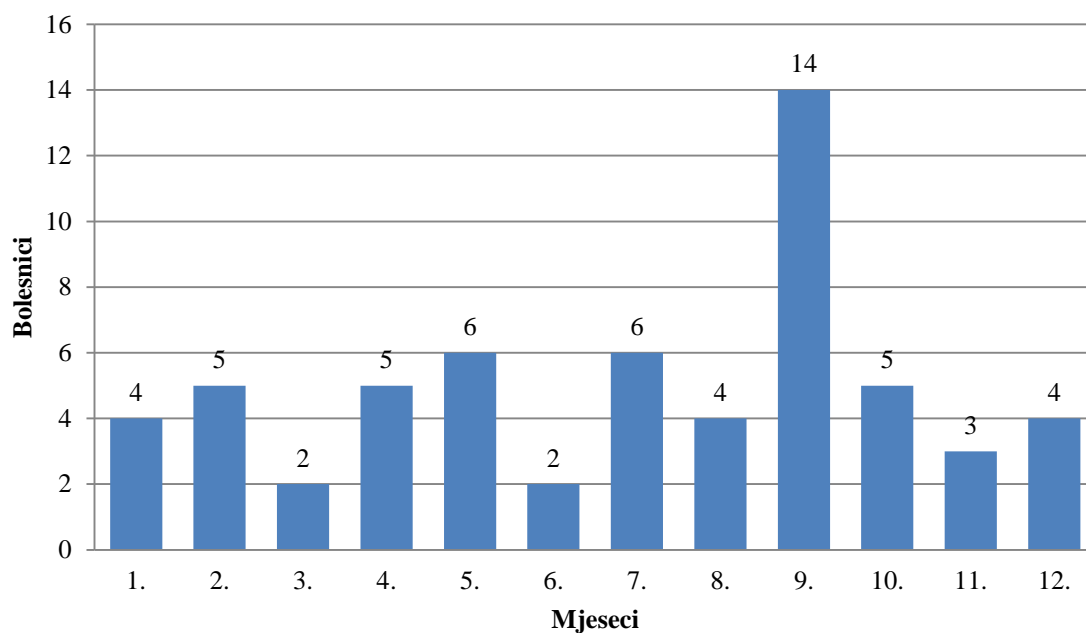
Skupina rizika	Broj bolesnika	Postotak
	N	%
I	7	11,7
II	10	16,7
III	18	30,0
IV	20	33,3
V	5	8,3
Ukupno	60	100,0

\* Pneumonia Severity Indeks – PSI prema Fine i sur. (Fine et al. 1999)

Tablica 3 prikazuje raspodjelu bolesnika po dobnim skupinama. Najviše bolesnika, 20 ili 33,3% bilo je u dobi od 51 do 60 godina (tablica 3). Najmlađi bolesnik imao je 27, najstariji 79 godina, a prosječna dob je bila  $56,2 \pm 12,6$  godina (aritmetička sredina  $\pm$ SD).

**Tablica 3.** Raspodjela 60 bolesnika s legionarskom bolesti po dobnim skupinama

Dob bolesnika (godine)	Broj bolesnika	Postotak
	N	%
$\leq 20$	0	0
21-30	2	3,3
31-40	8	13,3
41-50	7	11,7
51-60	20	33,3
61-70	14	23,4
$> 70$	9	15,0
Ukupno	60	100,0



**Stupičasti dijagram 1.** Raspodjela 60 bolesnika s legionarskom bolesti po mjesecima

Iz stupičastog dijagrama 1. se vidi da se bolest pojavljivala tokom čitave godine. Najviše je bolesnika hospitalizirano u rujnu (14 ili 23,3), a najmanje u ožujku i lipnju, odnosno po dva bolesnika.

Do prijema bolesnika u bolnicu bolest je trajala od 1-15 dana, u prosjeku  $4,45 \pm 2,4$  dana (medijan $\pm$ IQR)., a bolesnici su bili hospitalizirani od 1 do 35, u prosjeku  $9,7 \pm 7,0$  dana (medijan $\pm$ IQR).

Učestalost kliničkih simptoma i znakova bolesti prikazana je u tablici 4. Svi bolesnici su bili febrilni, s više od polovice bolesnika ili 55,5% su bili hiperpirektični ( $T \geq 40$  °C). Većina bolesnika je imala zimice, a dvije trećine i tresavicu. Do prijema u bolnicu kašalj je bio zabilježen u 50 ili 83,3% bolesnika, a od njih 45/50 ili 90% je imalo podražajni kašalj. Gotovo polovica bolesnika je imala glavobolju, nešto manje od jedne trećine bolove u mišićima, a jedna petina povraćanje i proljev i hunjavicu. Bolove u prsima imalo je 16,7%, a kratak dah 20,0% bolesnika. Hunjavica je zabilježena tek u 3 ili 5% bolesnika.

**Tablica 4.** Učestalost kliničkih simptoma i znakova bolesti u 60 bolesnika s legionarskom bolesti

Simptom ili znak bolesti	Broj bolesnika N	Postotak %
Vrućica	60	100,0
Vrućica >40 °C	33	55,0
Zimica	49	81,7
Tresavica	39	65,0
Glavobolja	29	48,3
Bolovi u mišićima	18	30,0
Kašalj	50	83,3
Podražajni kašalj	45	75,0
Bolovi u prsima	10	16,7
Kratkoća daha	12	20,0
Hunjavica	3	5,0
Povraćanje	13	21,7
Proljev	12	20,0

Povišenu vrijednost CRP-a imali su svi, a ubrzanu sedimentaciju eritrocita (SE) gotovo svi bolesnici (tablica 5). Više od polovice (29/54) bolesnika je imalo izrazito ubrzanu SE ( $\geq 70/1.\text{sat}$ ), a vrijednost CRP-a višu od 200 mg/L imalo je 54/60, a višu od 400 mg/L 11/60 bolesnika. Povišena vrijednost prokalcitonina bilježi se u manje od polovice bolesnika (41,7%). Leukocitoza je zabilježena u 47 ili 79,7%, a neutrofilija u 94,9% bolesnika.

Hiponatremija je zabilježena u 33 ili 55,0% bolesnika, a znatnija hiponatremiju ( $< 130$  mmol/L) u 6, odnosno 10,0% bolesnika. Povišene vrijednosti ureje i kreatinina zabilježene su u 38,3%, odnosno u 51,7% bolesnika. Četrnaest ili 23,3% bolesnika su imala prolazno akutno zatajenje bubrega, a kod troje je provedena akutna hemodijaliza. Blagu hiperbilirubinemiju je imalo 15 bolesnika. Oštećenje jetre koje se manifestiralo povišenim vrijednostima aspartat aminotransferaze (AST), alanin aminotransferaze (ALT), te gama glutamiltransferaze ( $\gamma$ GT) zabilježeno je 35 (59,3%), 29 (49,20%), odnosno 28 (47,5%) bolesnika. Povišenu vrijednost kreatin kinaze (CK) imalo je 14/29 ili 48,3%, dok je povišena vrijednost laktat dehidrogenaze (LDH) zabilježena u 31/56 (55,4%) bolesnika. Snižene vrijednosti ukupnih albumina u serumu imalo je 21/46 ili 45,7% bolesnika.



**Tablica 5.** Važniji laboratorijski nalazi u 60 bolesnika s legionarskom bolesti

Laboratorijski nalaz	Referentne vrijednosti	Patološki nalaz Broj bolesnika (N)	Patološki nalaz Postotak (%)	Medijan	Interkvartilni raspon
SE (n=54) ↑	≤20 mm/1.sat	53	98,1	70	10
C-reaktivni protein ↑	1-10 mg/L	60	100,0	288	122
Prokalcitonin (n=12) ↑	>0.5 µg/L	5	41,7	0,7	1,5
Leukociti (n=59) ↑	4,0-9,7x10 <sup>9</sup> /L	47	79,7	13,3	4,3
Neutrofili ↑	44-72%	56	94,9	86	5
Natrij ↓	136-142 mmol/L	33	55,0	134	6
Ureja ↑	2,8-8,3 mmol/L	23	38,3	6,4	5,5
Kreatinin ↑	64-104	31	51,7	105	49
Bilirubin (n=57) ↑	3-20 µmol/L	15	26,3	14	10
AST (n=59) ↑	11-38 U/L	35	59,3	46	70
ALT (n=59) ↑	12-48 U/L	29	49,2	48	59
γGT (n=59) ↑	11-55 U/L	28	47,5	52	73
Kreatin kinaza (n=29) ↑	0-177 U/L	14	48,3	210	875
Laktat dehidrogenaza (n=56) ↑	0-241 U/L	31	55,4	262	167
Albumini (n=46) ↓	≤30 g/L	21	45,7	31	7

SE - Sedimentacija eritrocita  
 AST – Aspartat aminotransferaza  
 ALT – Alanin aminotransferaza  
 γGT – Gama glutamiltransferaza  
 ↑ - Povišene vrijednosti  
 ↓ - Snižene vrijednosti  
 L - Litra  
 U - Jedinice/ Unit

Rendgenska slika pluća učinjena je u svih bolesnika kod prijema u bolnicu. U najvećeg broja bolesnika (41 ili 68,3%) opisani su bronhopneumonički infiltrati, jedna petina (12 ili 20,0%) je imala alveolarne infiltrate, tek 6 ili 10% intersticijske upalne infiltrate (tablica 6). U više od dvije trećine, odnosno u 41 ili 68,3% bolesnika pneumonični infiltrat je bio lokaliziran u jednom, plućnom režnju. Od 19 ili 31,7% bolesnika koji su imali infiltrate u više plućnih režnjeva, u 9 su infiltrati bili smješteni u istom plućnom krilu, a u preostalih 10 u oba plućna krila. Pleuralni izljev je zabilježen u 25 ili 41,7% bolesnika.

**Tablica 6.** Radiološka prezentacija u 60 bolesnika s legionarskom bolesti

<b>Radiološka prezentacija</b>	<b>Broj bolesnika N</b>	<b>Postotak %</b>
Tip rendgenskog infiltrata na plućima:		
- Lobarni	12	20,0
- Bronhopneumonički	41	68,3
- Intersticijski	6	10,0
- Kombinirani	1	1,7
Akutni respiratorni distres sindrom (ARDS)	3	5,0
Multifokalni jednostrani infiltrati	9	15,0
Multifokalni obostrani infiltrati	10	16,7
Pleuralni izljev	25	41,7

Većina analiziranih bolesnika prije dolaska u bolnicu liječena je samo simptomatskom terapijom (81,7%) ili neadekvatnom antibiotskom terapijom (15,0%) dok su samo dva pacijent prije dolaska u Kliniku liječena kombinacijom antibiotika koja je uključivala azitromicin, odnosno moksifloksacin (tablica 7). Radilo se o pacijentima koji su premješteni iz drugih zdravstvenih ustanova zbog potvrđene bolničke LB. U više od polovice bolesnika (32 ili 53,3%) inicijalna antimikrobna terapija u Klinici uključivala je parenteralnu kombinaciju beta laktamskog antibiotika (najčešće ceftriaksona) i azitromicina. Po prispjeću pozitivnog ICA, u 19 bolesnika nastavljena je monoterapija azitromicinom, 2 levofloksacinom, 3 moksifloksacinom dok se u 8 bolesnika antimikrobna terapija nije mijenjala. Tri ili 5% bolesnika je po primitku liječeno beta laktamskim antibiotikom koji je potom promijenjen u azitromicin (1 bolesnik), odnosno levofloksacin (2 bolesnika). Monoterapija azitromicinom provedena je u 9 (15,0%), levofloksacinom u 7 (11,7%), a moksifloksacinom u 5 (8,3%) bolesnika. Četiri pacijenta po primitku su bili liječeni kombinacijom tri antimikrobna lijeka koja je u jednog nastavljena monoterapijom azitromicinom. U jednog pacijenta inicijalna monoterapija moksifloksacinom nastavljena je kombinacijom beta laktamskog antibiotika i moksifloksacina.

**Tablica 7.** Antibiotička terapija u 60 bolesnika s legionarskom bolesti

Antibiotička terapija	Broj bolesnika N	Postotak %
<u>Terapija prije dolaska u bolnicu:</u>		
- Simptomatska	49	81,7
- Beta laktam	8	13,3
- Aminoglikozid	1	1,7
- Kombinacija antibiotika	2	3,3
<u>Inicijalna terapija u bolnici:</u>		
- Beta laktam	3	5,0
- Azitromicin	9	15,0
- Levofloksacin	7	11,7
- Moksifloksacin	5	8,3
- Beta laktam + azitromicin	32	53,3
- Kombinacija tri antimikrobna lijeka	4	6,7
<u>Korigirana terapija u bolnici:</u>		
- Beta laktam → azitromicin	1	1,7
- Beta laktam → levofloksacin	2	3,3
- Beta laktam/azitromicin → azitromicin	19	31,6
- Beta laktam/azitromicin → levofloksacin	2	3,3
- Beta laktam/azitromicin → moksifloksacin	3	5,0
- Kombinacija tri antimikrobna lijeka → azitromicin	1	1,7
- Moksifloksacin → beta laktam/moksifloksacin	1	1,7

Inicijalna ili korigirana monoterapija azitromicinom provedena je u 29, levofloksacinom u 9, a moksifloksacinom u 5 bolesnika (tablica 8). Veći je broj starijih od 65 godina (31,0%) s kroničnim bolestima (44,8%) liječen je azitromicinom, u 24,1% njih bilježe se multilobarni infiltrati, a u jedne petine respiratorna insuficijencija. Teži oblik bolesti (PSI skupina IV i V) bilježi se u 41,4% liječenih azitromicinom, 44,4% liječenih levofloksacinom te 20,0% liječenih moksifloksacinom.

**Tablica 8.** Kliničke značajke u 60 bolesnika s legionarskom bolesti liječenih azitromicinom, levofloksacinom i moksifloksacinom

	Azitromicin N=29	Azitromicin (%)	Levofloksacin N=9	Levofloksacin %	Moksifloksacin N= 5	Moksifloksacin %
Varijable						
- Muški spol	23	79,3	9	100,0	3	60,0
- Dob >65 godina	9	31,0	1	11,1	0	0
Alkoholičar	3	10,3	2	22,2	0	0
Pušač	14	48,3	5	55,6	3	60,0
Kronične bolesti <sup>a</sup>	13	44,8	1	11,1	1	20,0
Hipoalbuminemija (<30 mg/L)	7	24,1	2	22,2	2	40,0
Zatajenje bubrega	4	13,8	1	11,1	0	0
Respiratorna insuficijencija	6	20,7	0	0	1	20,0
Multilobarna pneumonija	7	24,1	1	11,1	3	60,0
Pleuralni izljev	13	44,8	1	11,1	2	40,0
Veći PSI skor <sup>b</sup>	12	41,3	4	44,4	1	20,0
Prijem u JIL	0	0	0	0	1	20,0

- Neoplazme, kronične plućne, jetrene, srčanožilne i bubrežne bolesti
- Pneumonia Severity Index (PSI) skupina IV i V

U tablici 9 vidljivo je da je bolest prije hospitalizacije u pacijenata liječenih azitromicinom trajala između 2 i 7 dana (medijan±IQR 4,0±1), levofloksacinom između 2 i 7 dana (medijan±IQR 4,0±3), a moksifloksacinom između 4 i 8 dana bolesti (medijan±IQR 5,0±2). Nije se našlo značajne razlike u trajanju vrućice nakon započete terapije između ispitivanih skupina bolesnika: azitromicin (medijan±IQR 4,0±2), levofloksacin (medijan±IQR 4,0±1) i moksifloksacin (medijan±IQR 3,5±1) i duljini bolničkog liječenja: azitromicin (medijan±IQR 8,0±5), levofloksacin (medijan±IQR 9,0±2) i moksifloksacin (medijan±IQR 8,0±19). Pacijenti su kraće liječeni azitromicinom (medijan±IQR 7,0±2) nego levofloksacinom (medijan±IQR 10,0±1) i moksifloksacinom (medijan±IQR 10,0±4).

**Tablica 9.** Učinak azitromicina, levofloksacina i moksifloksacina na klinički tijek bolesti u 60 bolesnika s legionarskom bolesti

Obilježje	Azitromicin N=29			Levofloksacin N=9			Moksifloksacin N=5		
	AS	SD	MD	AS	SD	MD	AS	SD	MD
	IQR	MIN	MAX	IQR	MIN	MAX	IQR	MIN	MAX
Trajanje bolesti prije hospitalizacije (dani)	3.72	1.44	4.0	4.11	1.69	4.0	5.40	1.52	5.0
	1	2	7	3	2	7	2	4	8
Trajanje temperature pod terapijom (dani)	3.86	0.88	4.0	4.11	0.93	4.0	3.50	0.58	3.5
	2	3	6	1	3	6	1	3	4
Trajanje terapije (dani)	7.59	1.62	7.0	9.67	1.32	10.0	10.0	2.83	10.0
	2	5	10	1	7	12	4	6	14
Duljina hospitalizacije (dani)	9.38	5.38	8.0	8.67	1.73	9.0	13.40	12.03	8.0
	5	4	34	2	6	12	19	5	34

AS – aritmetička sredina  
SD – standardna devijacija  
MD – medijan  
IQR – interkvartilni raspon  
MIN – minimum  
MAX – maksimum

Trinaest ili 21,7% bolesnika, imalo je znakove akutne respiratorne insuficijencije, kod 5 bolesnika bila je potrebna umjetna ventilacija, tri bolesnika su razvila akutni respiratorni distres sindrom (ARDS) zbog čega su bili na izvantjelesnoj membranskoj oksigenaciji (ECMO). Tri (5,0%) bolesnika s teškim oblikom bolesti je umrlo. Dva prethodna zdrava muškarca u dobi od 38 i 54 godine koji su hospitalizirani u teškom općem stanju (PSI skupina V). Prije dolaska u bolnicu 5 dana nisu uzimali nikakvu antimikrobnu terapiju, a umrli su u roku od 24 sata u refraktornom septičkom šoku unatoč svim poduzetim mjerama liječenja (vazopresori mehanička ventilacija, ECMO, hemodijafiltracija, kombinirana antimikrobna terapija). Treći umrli pacijent je 65 godišnji muškarac koji je tri mjeseca ranije transplantirao srce zbog čega je bio na imunosupresivnoj terapiji. Premješten je iz druge bolničke ustanove gdje je bio liječen od postranplantacijske EBV i CMV infekcije te plućne aspergiloze, a umro je nakon tri dana liječenja u Klinici zbog multiorganskog zatajenja i kardiogenog šoka.

#### 4. RASPRAVA

U svojem radu retrospektivno sam analizirala demografske, epidemiološke i kliničke značajke hospitaliziranih bolesnika u KZIB s LB u dvogodišnjem razdoblju, učinjenu mikrobiološku dijagnostiku te procijenila učinak antimikrobne terapije. Većina pacijenata su muškarci odrasle i starije životne dobi, sporadično oboljeli. Dvoje bolesnika je premješteno iz drugih bolničkih ustanova grada Zagreba gdje su bili stekli nozokomijalnu LB (nepublicirani podatci). LB se bilježi tijekom cijele godine, a najveći broj bolesnika bio je hospitaliziran u rujnu. Poznato je da se LB češće pojavljuje u toplijem dijelu godine zbog povoljnih epidemioloških uvjeta. Iako je jedna trećina bolesnika imala poticajnu kroničnu bolest, više od polovice je imalo lakši oblik bolesti. Vrućica, kašalj i zimice su vodeći simptomi, a povišeni reaktanti akutne faze upale (sedimentacija eritrocita, C-reaktivni protein, leukociti) dominantni patološki laboratorijski nalazi. Ti su klinički znakovi i nalazi nespecifični jer se otkrivaju i u drugim vrsta pneumonija, poglavito bakterijskih. Iako je hiponatremija zabilježena i više od polovice bolesnika, tek je 10% oboljelih imalo umjerenu ili tešku hiponatremiju (<130 mmol/L). Akutno bubrežno oštećenje bubrega praćeno povećanom razinom ureje i kreatinina bilježe se u više od polovice bolesnika. Većinom se radi o prerenalnoj azotemiji, a prolazno akutno zatajenje bubrega imalo je 23,3% pacijenata. Otprilike polovica bolesnika ima povišene vrijednosti jetrenih aminotransferaza, kreatin fosfokinaze i laktat dehidrogenaze. Rendgenska slika pluća u dvije trećine hospitaliziranih opisuje bronhopneumonične infiltrate, a u više od 40% otkriva se pleuralni izljev.

Legionela je vrlo važan i čest uzročnik izvanbolničkih pneumonija pa na nju treba misliti u svakog pacijenta s CAP. Poznato je da se LB pojavljuje mnogo češće nego što se dijagnosticira. Sporadično pojavljivanje znatno je češće nego epidemijsko i tada se bolest teže otkriva jer može imati blaži klinički oblik pa se ne radi etiološka dijagnostika. Poželjno bi bilo kod svih hospitaliziranih pacijenata s pneumonijom učiniti mikrobiološku dijagnostiku LB, u



prvom redu otkrivanje antigena u urinu. To je i jedan od razloga što se posljednjih godina povećava broj dijagnosticiranih LB. Ipak, na taj način 10 do 20% pacijenata s LB može ostati nedijagnosticirano te se u slučaju kliničke sumnje radi i dodatna mikrobiološka dijagnostika LB. Neuspjeh terapije beta laktamskim antibiotikom povećava sumnju na LB. U promatranom razdoblju, a osobito 2019. godine na području Hrvatske, srednja godišnja temperatura bila je iznad višegodišnjeg prosjeka čime se može opravdati pojava bolesti tijekom cijele godine. Sopena i suradnici LB najčešće otkrivaju u muškaraca srednje životne dobi, a od čimbenika rizika najčešće je prisutan alkoholizam (66). Premda neki klinički znakovi oboljelih mogu pobuditi sumnju na LB, ne postoji pojedinačni simptom ili znak ili njihova kombinacija koji upućuju na LB. Doduše, Stout i Yu (67) slijedeće znakove i nalaze opisuju patognomičnim za LB: visoka temperatura, hiponatremija, neurološki simptomi, visoka vrijednost LDH i težak oblik bolesti, što tek dijelom u korelaciji s mojim nalazima. Isto tako, rendgenska snimka pluća u LB nije karakteristična, no progresija infiltrata i pleuralni izljev u prvom tjednu bolesti opisuje se u više od polovice bolesnika, unatoč odgovarajućoj terapiji i kliničkom poboljšanju (60). Muder i sur. opisuju nerijetko neslaganje između radiološkog pogoršanja i kliničkog poboljšanja (31). Stoga, temeljem kliničke prezentacije i laboratorijskih nalaza LB može stvarati dijagnostičke poteškoće prema bakterijskim, najčešće pneumokoknoj pneumoniji i u konačnici jedino se može dijagnosticirati specifičnim mikrobiološkim testovima.

U 58 analiziranih pacijenata bolest je dijagnosticirana otkrivanjem antigena Lp serotip 1 u mokraći, kod 9 i dokazom prisustva specifičnih protutijela, dok je u 2 pacijenta bolest dijagnosticirana samo serološki. U svakodnevnoj kliničkoj praksi LB se najčešće dijagnosticira jednostavnim ICA, otkrivanjem antigena Lp serotip 1 u mokraći. Metoda ima sličnu osjetljivost kao i druge metode i vrlo visoku specifičnost. Nedostatak mu je što otkriva samo tipospecifični antigen Lp, serotip 1. To je u svakodnevnoj praksi manje važno jer je taj

serotip u našoj sredini odgovoran za više od 80% slučajeva LB iako je broj novootkrivenih vrsta legionela u stalnom porastu (68). Antigen Lp serotip 1 se pojavljuje rano u mokraći, već prvih dana bolesti, a katkad se zadržava nekoliko tjedana, pa i mjeseci. Uz otkrivanje antigena u mokraći, LB se ponekad dijagnosticira serološki, otkrivanjem visokog titra protutijela u serumu. Nedostatak metode je što je potrebno uzeti dva uzorka seruma u razmaku od 2-3 tjedna te se bolest u pravilu dijagnosticira retrospektivno. U slučaju negativnog nalaza antigena u mokraći, a kliničke sumnje da se radi o LB indicirano je učiniti PCR iz uzoraka donjeg dišnog sustava. Za interpretaciju nalaza potrebno je imati adekvatno opremljen laboratorij i educirano osoblje. Glavni nedostatak PCR je nerijetko uzet neadekvatan uzorak gornjeg dijela dišnog sustava zbog čega je osjetljivost testa tada relativno niska. Kultivacija legionela na BCYE $\alpha$  agaru je moguća praktički iz svih uzoraka, a najbolji rezultati se postižu iz uzoraka donjeg dijela dišnog sustava (iskašljaj, BAL). Osjetljivost metode je relativno niska, a specifičnost 100% budući da se ne bilježi kolonizacija legionelama (36). Nalaz je moguće interpretirati unutar tri do pet dana.

Tri ili 5,0% ispitanih bolesnika s teškim oblikom bolesti je umrlo unatoč svim poduzetim mjerama liječenja. Ipak, zadnjih 30-ak godina bilježi se pad mortaliteta pacijenata s LB. To se tumači češćim korištenjem urinarnog antigena Lp serotip 1 za otkrivanje LB pa je raniji početak adekvatne antimikrobne terapije. Ipak, još uvijek 20-25% hospitaliziranih pacijenata s LB zahtjeva mehaničku ventilaciju, a njihov bolnički mortalitet iznosi do 35% (69).

U istraživanju sam analizirala provedenu antibiotsku terapiju te posebno analizirala terapijski učinak azitromicina (29 bolesnika), levofloksacina (9 bolesnika) i moksifloksacina (5 bolesnika) uspoređujući normalizaciju temperature, duljinu hospitalizacije i trajanje antimikrobne terapije. Iako, nisam radila statističku usporedbu učinkovitosti antibiotika zbog relativno malog uzorka, iz dobivenih rezultata vidljivo je da se polučio sličan klinički učinak

azitromicina, levofloksacina i moksifloksacina. Pacijenti su kraće liječeni azitromicinom što je bilo za očekivati.

Kombinacija beta laktamskog antibiotika i makrolida, odnosno fluorokinolona u brojnim istraživanjima nije pokazala veću učinkovitost od monoterapije bez beta laktama. Legionela je intracelularna bakterija, a beta laktamski antibiotici djeluju na razini stanične stijenke. Doduše, opisuju se i dvojne infekcije legionele s drugim bakterijama, no one su ipak rijetke. Stoga je kombinirana antimikrobna terapija opravdana u slučaju potvrđene ili sumnjive dvojne respiratorne ili nerespiratorne infekcije. Burdet i suradnici u svojem sistematskom pregledu i meta-analizi analiziraju učinak kinolona i makrolida u liječenju LB (70). Uključili su 12 studija (879 pacijenata) u razdoblju od 1985. do 2013. godine, a među njima niti jedno nije randomizirano kontrolirano istraživanje. Kinoloni su pokazali veću učinkovitost od makrolida no bez statističke značajnosti. Pacijenti liječeni kinolonom su imali kraće bolničko liječenje, veći broj izlječenih, kraće vrijeme do normalizacije temperature i manji broj komplikacija. U istraživanju u pacijenata s blagom i umjerenom pneumonijom LB Blazquez i suradnici bilježe jednak klinički učinak levofloksacina i azitromicina u liječenju LB (71). Međutim, u pacijenata s teškim oblikom LB levofloksacin je pokazao bolju učinkovitost, zbog manje komplikacija (3.4%,) u odnosu na pacijente koji su primali azitromicin (27,2%) i kraće hospitalizaciju. Dodatak rifampicina levofloksacinu u pacijenata s teškim oblikom LB nije donio dodatnu korist. Varner i suradnici su retrospektivno istraživali publicirane radove (MEDLINE, Ovid baza) u razdoblju od 1970. do 2011. godine koji opisuju ulogu rifampicina u kombiniranoj terapiji LB (72). Prema njihovim zaključcima, dodatak rifampicina monoterapiji makrolidima ili fluorokinolonima treba razmotriti samo u pacijenata s teškim oblikom LB ili značajnim komorbiditetima (nekontrolirani dijabetes, pušači ili KOPB) uključujući i imunokompromitirane te u onih koji su bili refrakterni na standardnu monoterapiju. U tom slučaju je potreban je dodatni oprez zbog nuspojava lijeka i međusobne

interakcije lijekova. U svom opservacijskom retrospektivnom multicentričkom istraživanju Garci-Vidal i suradnici u razdoblju od 2000-2014. godine su analizirali učinak levofloksacina, azitromicina i klaritromicina u liječenju LB (73). Nije se našlo statistički značajke razlike u normalizaciji temperature, kliničkom oporavku, trajanju intravenske terapije i duljini hospitalizacije u pacijenata liječenih levofloksacinom, klaritromicinom i azitromicinom. Pacijenti liječeni azitromicinom su imali veću 30-dnevnu smrtnost nego oni liječeni levofloksacinom (5.1% u odnosu na 2.3%), a multivarijantna analiza nije našla statistički značajnu razliku u mortalitetu. Pacijenti liječeni klaritromicinom su dulje liječeni intravenskom terapijom, dulje su bili hospitalizirani no bez statističke značajne razlike u mortalitetu u odnosu na levofloksacin. Retrospektivna analiza Gerhengorna i sur. odraslih pacijenata hospitaliziranih zbog LB ne pokazuje razliku u mortalitetu, razvoju klostridijkog proljeva, duljini hospitalizacije i koštanju bolničkog liječenja između pacijenata liječenih levofloksacinom i azitromicinom (69). Sličan rezultat opisuju Falco i suradnici u prospektivnom opservacijskom istraživanju pacijenata s LB (74). Arget i suradnici opisuju uspješno liječenje tigeciklinom imunokompromitiranog pacijenta s LB koji je bio alergičan na makrolide i fluorokinolone (75). Slawek i suradnici u retrospektivnom istraživanju opisuju učinak tigeciklina u 8 pacijenata s teškim oblikom LB (PSI IV ili V) u razdoblju od 2008. do 2016. godine (76). Svi pacijenti su prethodno bili liječeni standardnom terapijom azitromicinom ili levofloksacinom u rasponu 1-8 dana (median 3 dana) te su zbog pogoršanja kliničkog statusa liječeni tigeciklinom. Tigeciklin su dobivali ili u kombinaciji (6 - levofloksacinom, 1 - azitromicinom) ili kao monoterapiju (1 pacijent). Nakon započete terapije tigeciklinom u 5/8 pacijenata došlo je do kliničkog poboljšanja dok je u trojice došlo do daljnjeg pogoršanja i u konačnici do smrtnog ishoda. Rezultati sugeriraju da je tigeciklin potencijalna druga linija u liječenju teških oblika LB u kojih se bilježi slab klinički učinak standardne terapije levofloksacinom ili azitromicinom. Slično tome, Galstian i suradnici

opisuju neutropeničnog pacijenta s teškim oblikom LB na mehaničkoj ventilaciji i dvojnog *Acinetobacter baumannii* infekcijom u kojega se dodatkom tigeciklina levofloksacinu bilježi klinički uspješan oporavak (77). U dva novija multicentrična, dvostruko slijepa, randomizirana istraživanja faze 3, omadaciklin je pokazao sličnu učinkovitost i sigurnosni profil u odnosu na moksifloksacin (54,55).

Azitromicin i levofloksacin su temeljni antibiotici koji su se pokazali idealnim u liječenju pacijenata s LB. Brojna društva, uključujući Američko društvo za infektivne bolesti, Britansko torakalno društvo i Nizozemsko udruženje torakalnih liječnika preporučuju fluorkinolone ili azitromicin kao antimikrobni izbor u liječenju LB (78). Tijekom trudnoće makrolidi su lijekovi izbora za liječenje LB budući da ne uzrokuju oštećenje fetusa. U većine hospitaliziranih pacijenata s LB preporuča se inicijalna intravenska antimikrobna terapija koja se može promijeniti u oralni oblik lijeka kada se bilježi kliničko poboljšanje, ako su pacijenti hemodinamski stabilni i ako toleriraju oralni antibiotik. Levofloksacin je fluorokinolon izbora za liječenje pneumonija budući da u tkivu pluća ima dva do pet puta veće koncentracije nego u serumu (79). Fluorokinoloni pokazuju antimikrobnu aktivnost koja ovisi o koncentraciji pa bi veće doze levofloksacina (750 mg/24h ili čak 500 mg/12h) mogle pojačati baktericidnu aktivnost zbog veće vršne koncentracije lijeka. Tretman pacijenata s teškim oblikom bolesti i/ili visoko imunosuprimiranih još uvijek predstavlja klinički izazov. Ukoliko se ne postigne uspjeh standardne monoterapije nerijetko se razmišlja o kombiniranoj terapiji. Drugi mogući učinkoviti antibiotici uključuju tigeciklin i omadaciklin kao potencijalno druga linija za liječenje pacijenata s teškim oblikom LB u pacijenata koji slabo su reagirali na standardnu terapiju levofloksacinom ili azitromicinom. Trajanje antibiotske terapije treba slijediti smjernice ostalih CAP. Minimalno trajanje terapije je 3 dana (azitromicin) ili 5 dana (levofloksacin) za pacijente s blažim oblikom LB koji su afebrilni i klinički stabilni unutar 48 sati, 5-7 dana za pacijente s blažim oblikom LB, 7-10 dana za umjerene i teške oblike LB ili

pacijente s komorbiditetima (80). Liječenje duže od 10 dana se može provesti u imunokompromitiranih pacijenata ili onih koji su razvili neku komplikaciju bolesti.

## 5. ZAKLJUČCI

Na osnovu obrade epidemioloških i kliničkih pokazatelja u bolesnika s legionarskom bolesti, te analize mikrobiološke dijagnostike i učinka provedene terapije, u vremenskom razdoblju od 1. siječnja 2018. do 31. prosinca 2019. godine, mogu ustvrditi slijedeće:

- U Klinici za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“ u Zagrebu godišnje se hospitalizira 30 bolesnika s legionarskom bolesti što iznosi 5,2% svih hospitaliziranih s pneumonijom.
- Legionarska bolest se najčešće dijagnosticira otkrivanjem antigena *Legionella pneumophila* serotip 1 u urinu imunokromatografskim testom (58/60) te u nekih bolesnika i/ili serološki dokazom prisustva specifičnih protutijela *L. pneumophila* 1-7 (11/60).
- Većina oboljelih su muškarci (83,3%), a jedna trećina su u dobi od 51 do 60 godina.
- Kronična bolest kao čimbenik rizika za stjecanje bolesti bilježi se u jedne trećine bolesnika (33,3%)
- Više od polovice pacijenata (58,4%) ima blaži oblik legionarske bolesti.
- Najveći broj pacijenata hospitalizirano je u rujnu (23,3%).
- Vodeći simptomi legionarske bolesti su vrućica (100,0%), kašalj (83,3%) i zimice (81,7%).
- Vodeći laboratorijski nalazi su visoka razina C-reaktivnog proteina (100,0%), ubrzana sedimentacija eritrocita (98,1%) i leukocitoza (79,7%).
- Rendgenska snimka pluća u većine ili 68,3% bolesnika otkriva bronhopneumoničke plućne infiltrate.
- Pleuralni izljev bilježi se u 41,4% bolesnika.
- Prije dolaska u bolnicu većina pacijenata nije uzimala nikakvu (81,7%) ili je uzimala neadekvatnu antibiotsku terapiju (15,0%).
- Kombinacija beta laktamskog antibiotika i azitromicina je bila najčešća inicijalna terapija u bolnici (53,3%), potom monoterapija azitromicinom (15,0%), levofloksacinom (11,7%) te moksifloksacinom (8,3%).
- U gotovo polovice pacijenata (48,3%) učinjena je korekcija inicijalne antibiotske terapije nakon etiološke potvrde LB.
- Ne bilježi se bitne razlike u početku antibiotske terapije od prvih simptoma bolesti azitromicinom (3,72 dana), levofloksacinom (4,11 dana) i moksifloksacinom (5,40 dana).

- Uspoređujući klinički učinak ne bilježi se bitne razlike u trajanju temperature nakon početka antibiotske terapije azitromicinom (3,86 dan), levofloksacinom (4,11 dana) i moksifloksacinom (3,50 dana).
- Antibioticska terapija azitromicinom je kraće trajala (7,59 dana) u odnosu na levofloksacin (9,67 dana) i moksifloksacin (10,0 dana).
- Bolničko liječenje pacijenata liječenih azitromicinom trajalo je 9,38 dana, levofloksacinom 8,67 dana te moksifloksacinom 13,40 dana.
- Mehanička ventilacija provedena je u pet ili 8,3%, a tri ili 5,0% pacijenta su razvila ARDS.
- Troje (5,0%) bolesnika je umrlo.



## **6. ZAHVALA**

Zahvaljujem se mentoru, izv. prof. dr. sc. Daliboru Vukeliću na velikoj pomoći, stručnim savjetima te strpljenju i uloženom vremenu pri izradi ovog diplomskog rada.

Veliku zahvalu želim iskazati svojim roditeljima, na ljubavi i velikoj podršci tijekom studiranja. Hvala Vam za vaše strpljenje.

Najveću zahvalu želim iskazati svome sinu Noi Ivanu kojemu sam ponekad nedostajala zbog fakultetskih obaveza, hvala ti što si mi uveseljavao naše zajedničke trenutke.

## 7. LITERATURA

1. Fraser DW, Tsai TR, Orenstein W, Parkin WE, Beecham HJ, Sharrar RG, et al. Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia. *N Engl J Med.* 1977;297:1189-97.
2. McDade JE, Shepard CC, Fraser DW, Tsai TR, Redus MA, Dowdle WR. Legionnaires' disease: isolation of a bacterium and demonstration of its role in other respiratory disease. *N Engl J Med.* 1977;297:1197-203.
3. Thacker SB, Bennett JV, Tsai TF, Fraser DW, McDade JE, Shepard CC. An outbreak in 1965 of severe respiratory illness caused by the Legionnaires' disease bacterium. *J Infect Dis.* 1978;138:512-9.
4. Hauslein I, Manske C, Goebel W, Eisenreich W, Hilbi H. Pathway analysis using (13) C-glycerol and other carbon tracers reveals a bipartite metabolism of *Legionella pneumophila*. *Mol Microbiol.* 2016;100:229-46.
5. Parte AC, Sarda Carbasse J, Meier-Kolthoff JP, Reimer LC, Göker M. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN) moves to the DSMZ. *Int J Syst Evol Microbiol* 2020;70:5607-12.
6. Whiley H, Bentham R. *Legionella longbeachae* and legionellosis. *Emerg Infect Dis.* 2011;17:579-83.
7. Isenman HL, Chambers ST, Pithie AD, MacDonald SLS, Hegarty JM, Fenwick JL. Legionnaires' disease caused by *Legionella longbeachae*: clinical features and outcomes of 107 cases from an endemic area. *Respirology.* 2016;21:1292-9.
8. Fields BS, Benson RF, Besser RE. *Legionella* and Legionnaires' disease: 25 years of investigation. *Clin Microbiol Rev.* 2002;15:506-26.
9. Harb OS, Gao LY G, Abu Kwaik Y. From protozoa to mammalian cells: a new paradigm in the life cycle of intracellular bacterial pathogens. *Environ Microbiol.* 2000;2:251-65.
10. Falkinham JO, Hilborn ED, Arduino MJ, Pruden A, Edwards MA. Epidemiology and ecology of opportunistic premise plumbing pathogens: *Legionella pneumophila*, *Mycobacterium avium*, and *Pseudomonas aeruginosa*. *Environ Health Perspect.* 2015;123:749-58.
11. Sakamoto R, Ohno A, Nakahara T, Satomura K, Iwanaga S, Kouyama Y, et al. *Legionella pneumophila* in rainwater on roads. *Emerg Infect Dis.* 2009;15:1295-7.

12. Rhoads WJ, Pruden A, Edwards MA. Interactive effects of corrosion, copper, and chloramines on *Legionella* and *Mycobacteria* in hot water plumbing. *Environ Sci Technol.* 2017;51:7065-75.
13. Kenagy E, Priest PC, Cameron CM, Smith D, Scott P, et al. Risk factors for *Legionella longbeachae* Legionnaires' disease, New Zealand. *Emerg Infect Dis.* 2017;23:1148-54.
14. Samrakandi MM, Cirillo SLG, Ridenour DA, Bermudez LE, Cirillo JD. Genetic and phenotypic differences between *Legionella pneumophila* strains. *J Clin Microbiol.* 2002;40:1352-62.
15. Berk SG, Faulkner G, Garduno E, Joy MC, Ortiz-Jimenez MA, Garduño RA. Packaging of live *Legionella pneumophila* into pellets expelled by *Tetrahymena spp.* does not require bacterial replication and depends on a Dot/Icm-mediated survival mechanism. *Appl Environ Microbiol.* 2008;74:2187-99.
16. Buse HY, Ashbolt NJ. Counting *Legionella* cells within single amoeba host cells. *Appl Environ Microbiol.* 2012;78:2070-72.
17. Simmering JE, Polgreen LA, Hornick DB, Sewell DK, Polgreen PM. Weather-dependent risk for Legionnaires' disease, United States. *Emerg Infect Dis.* 2017;23:1843-51.
18. Winn WC, RL Myerowitz RL. The pathology of the *Legionella* pneumonias. A review of 74 cases and the literature. *Hum Pathol.* 1981;12:401-22.
19. Deng JC, Tateda K, Zeng X, Standiford TJ. Transient transgenic expression of gamma interferon promotes *Legionella pneumophila* clearance in immunocompetent hosts. *Infect Immun.* 2001;69:6382-90.
20. Nash TW, Libby DM, Horwitz MA. IFN-gamma-activated human alveolar macrophages inhibit the intracellular multiplication of *Legionella pneumophila*. *J Immunol.* 1988;140:3978-81.
21. European Centre for Disease Prevention and Control: Legionnaires' disease incubation period. [Internet]. 2017 [pristupljeno 18.04.2021.] Dostupno na: <https://legionnaires.ecdc.europa.eu/?pid=107>.
22. Petričević I, Kuzman I, Babić K, Puntarić V, Maček P, Fabijanić I, i sur. Značajke legionarske bolesti u bolesnika iz prve dokazane epidemije u Jugoslaviji. *Liječ Vjesn* 1988;110:265-8.
23. Breiman RF, Butler JC. Legionnaires' disease: clinical, epidemiological, and public health perspectives. *Semin Respir Infect.* 1998;13:84-9.

24. European Centre for Disease Prevention and Control: European Legionnaires' Disease Surveillance Network (ELDSNet). [Internet]. 2017 [pristupljeno 18.04.2021.] Dostupno na: <https://ecdc.europa.eu/en/about-us/partnerships-and-networks/disease-and-laboratory-networks/eldsnet>
25. Dufresne SF, Locas MC, Duchesne A, Restieri C, Ismail J, Lefebvre B, et al. Sporadic Legionnaires' disease: the role of domestic electric hot-water tanks. *Epidemiol Infect.* 2012;140:172-81.
26. Sopena N, Force L, Pedro-Botet ML, Barrufet P, Sauca G, Garcia-Nunez M, et al. Sporadic and epidemic community legionellosis: two faces of the same illness. *Eur Respir J.* 2007;29:138-42.
27. Farnham A, Alleyne L, Cimini D, Balter S. Legionnaires' disease incidence and risk factors, New York, New York, USA, 2002-2011. *Emerg Infect Dis.* 2014;20:1795-802.
28. Muder RR, Yu VL. Infection due to *Legionella species* other than *Legionella pneumophila*. *Clin Infect Dis.* 2002;35:990-8.
29. Miyamoto H, Jitsurong S, Shiota R, Yoshida S, Yabuuchi E. Molecular determination of infection source of a sporadic *Legionella pneumonia* case associated with a hot spring bath. *Microbiol Immunol.* 1997;41:197-202.
30. Granados A, Podzamczar D, Gudiol F, Manresa F. Pneumonia due to *Legionella pneumophila* and pneumococcal pneumonia: similarities and differences on presentation. *Eur Respir J.* 1989;2:130-4.
31. Muder RR, Yu VL, Parry MF. The radiologic manifestations of Legionella pneumonia. *Semin Respir Infect.* 1987;2:242-54.
32. Kim KW, Goo JM, Lee HJ, Lee HY, Park CM, Lee CH, et al. Chest computed tomographic findings and clinical features of *Legionella pneumonia*. *J Comput Assist Tomogr.* 2007;31:950-5.
33. Shelburne SA, Kielhofner MA, Tiwari PS. Cerebellar involvement in legionellosis. *South Med J.* 2004;97:61-4.
34. Evans CP, Winn WC. Extrathoracic localization of *Legionella pneumophila* in Legionnaires' pneumonia. *Am J Clin Pathol.* 1981;76:813-5.
35. Helbig JH, Uldum SA, Bernander S, Lück PC, Wewalka G, Abraham B, et al. Clinical utility of urinary antigen detection for diagnosis of community-acquired, travel-associated, and nosocomial Legionnaires' disease. *J Clin Microbiol.* 2003;41:838-40.

36. Edelstein PH, Roy CR. Legionnaires' disease and Pontiac fever. U Bennett JE, Doli R, Blaser MJ, ur. Principles and Practise of Infectious Diseases. Philadelphia: Elsevier; 2020, str. 2814-1815.
37. Herpers B, de Jongh BM, van der Zwaluw K, Hannen EJ. Real-time PCR assay targets the 23S-5S spacer for direct detection and differentiation of *Legionella spp.* and *Legionella pneumophila*. J Clin Microbiol 2003;41:4815-6.
38. Mentasti M, Afshar B, Collins S, Walker J, Harrison TG, Chalker V. Rapid investigation of cases and clusters of Legionnaires' disease in England and Wales using direct molecular typing. J Med Microbiol. 2016;65:484-93.
39. Park J, Gasparrini AJ, Reck MR, Symister CT, Elliott JL, Vogel JP, et al. Plasticity, dynamics, and inhibition of emerging tetracycline resistance enzymes. Nat Chem Biol. 2017;13:730-6.
40. Edelstein PH. Antimicrobial chemotherapy for legionnaires' disease: a review. Clin Infect Dis. 1995;21(3):265-76.
41. Adams KN, Takaki K, Connolly LE, Wiedenhoft H, Winglee K, Humbert O, et al. Drug tolerance in replicating *Mycobacteria* mediated by a macrophage-induced efflux mechanism. Cell. 2011;145:39-53.
42. Roig J, Rello J, Yu VL. Legionnaires' disease: a guide to diagnosis and therapy. J Respir Dis 2002;23:229-34.
43. Barker J, Scaife H, Brown MR. Intraphagocytic growth induces an antibiotic-resistant phenotype of *Legionella pneumophila*. Antimicrob Agents Chemother. 1995;39:2684-8.
44. Sabria M, Pedro-Botet ML, Gomez J, Roig J, Vilaseca B, Sopena N, et al. Fluoroquinolones vs macrolides in the treatment of Legionnaires disease. Chest. 2005;128:1401-5.
45. Cecchini J, Tuffet S, Sonnevile R, Fartoukh M, Mayaux J, Roux D, et al. Antimicrobial strategy for severe community-acquired legionnaires' disease: a multicentre retrospective observational study. J Antimicrob Chemother. 2017;72:1502-9.
46. Stout JE, Arnold B, Yu VL. Comparative activity of ciprofloxacin, ofloxacin, levofloxacin, and erythromycin against *Legionella* species by broth microdilution and intracellular susceptibility testing in HL-60 cells. Diagn Microbiol Infect Dis 1998;30:37-43.

47. Gacouin A, Le Tulzo Y, Lavoue S, Camus C, Hoff J, Bassen R, et al. Severe pneumonia due to *Legionella pneumophila*: prognostic factors, impact of delayed appropriate antimicrobial therapy. *Intensive Care Med.* 2002;28:686-91.
48. Shadoud L, Almahmoud L, Jarraud S, Etienne J, Larrat S, Schwebel C, et al. Hidden selection of bacterial resistance to fluoroquinolones in vivo: The case of *Legionella pneumophila* and humans. *EBioMedicine* 2015;2:1179-85.
49. Hennebique A, Bidart M, Jarraud S, Beraud L, Schwebel C, Maurin M., et al. Digital PCR for detection and quantification of fluoroquinolone resistance in *Legionella pneumophila*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61:617-28.
50. Wimer SM, Schoonover L, Garrison MW. Levofloxacin: A therapeutic review. *Clin Therap* 1998;20(6):1049-70.
51. Edelstein PH, Weiss WJ, Edelstein MA. (2003) Activities of tigecycline (GAR-936) against *Legionella pneumophila* *in vitro* and in guinea pig with *L. pneumophila* pneumonia. *Antimicrob Agents Chemother* 47:533-40.
52. Bopp LH, Baltch AL, Ritz WJ, Michelsen PB, Smith RP. Activities of tigecycline and comparators against *Legionella pneumophila* and *Legionella micdadei* extracellularly and in human monocyte-derived macrophages. *Diagn Microbiol Dis* 2011;69(1):86-93.
53. Valve K, Vaalasti A, Anttila VJ, Vuento R. Disseminated *Legionella pneumophila* infection in an immunocompromised patient treated with tigecycline. *Scand J Infect Dis* 2010;42:152-5.
54. Stets R, Popescu M, Gonong JR, Mitha I, Nseir W, Madej A, et al. Omadacycline for community-acquired bacterial pneumonia. *N Engl J Med* 2019;380:517-27.
55. Surani S, Anzueto A, Rodriguez M, Chitra S, Gunter K. Treatment of *Legionella pneumophila* using Omadacycline vs Moxifloxacin: subanalysis results from a phase 3 randomized, double-blind, multicenter study (OPTIC). *Chest Annual Meeting*, 2020.
56. Grau S, Antonio JM, Ribes E, Salvado M, Garces JM, Garau J. Impact of rifampicin addition to clarithromycin in *Legionella pneumophila* pneumonia. *Int J Antimicrob Agents.* 2006;28:249-52.
57. Plouffe JF, Breiman RF, Fields BS, Herbert M, Inverso J, Knirsch C, et al. Azithromycin in the treatment of *Legionella* pneumonia requiring hospitalization. *Clin Infect Dis.* 2003;37:1475-80.

58. Yu VL, Greenberg RN, Zadeikis N, Stout JE, Khashab MM, Olson WH, et al. Levofloxacin efficacy in the treatment of community-acquired legionellosis. *Chest*. 2004;125:2135-9.
59. Lettinga KD, Verbon A, Nieuwkerk PT, Jonkers RE, Gersons BPR, Prins JM. Health-related quality of life and posttraumatic stress disorder among survivors of an outbreak of Legionnaires disease. *Clin Infect Dis*. 2002;35:11-17.
60. Tan MJ, Tan JS, Hamor RH, Breiman RF. The radiologic manifestations of Legionnaire's (sic) disease. The Ohio Community-Based Pneumonia Incidence Study Group. *Chest*. 2000;117:398-403.
61. Fernandez-Serrano S, Dorca J, Garcia-Vidal C, Fernandez-Sabe N, Carratala J, Fernandez-Agüera A, et al. Effect of corticosteroids on the clinical course of community-acquired pneumonia: a randomized controlled trial. *Crit Care*. 2011;15:96-105.
62. Oren I, Zuckerman T, Avivi I, Finkelstein R, Yigla M, Rowe M. Nosocomial outbreak of *Legionella pneumophila* serogroup 3 pneumonia in a new bone marrow transplant unit: evaluation, treatment and control. *Bone Marrow Transplant*. 2002;30:175-9.
63. Allen JG, Myatt TA, Macintosh DL, Ludwig JF, Minegishi T, Stewart JH, et al. Assessing risk of health care-acquired Legionnaires' disease from environmental sampling: the limits of using a strict percent positivity approach. *Am J Infect Control*. 2012;40:917-21.
64. Sočan M, Marinić-Fišer N, Kerše D. Comparison of serologic test with urinary antigen detection for diagnosis of legionnaire's disease in patients with community-acquired pneumonia. *Clin Microbiol Infect* 1999;5:201-4.
65. Fine MJ, Stone RA, Singer DE. i sur. Processes and outcomes of care for patients with community-acquired pneumonia: Results from the Pneumonia Patients Outcomes Research Team (PORT) cohort study. *Arch Intern Med* 1999;159:970-80.
66. Sopena N, Sabria-Leal M, Pedro-Botet ML, et al. Comparative study of the clinical presentation of *Legionella pneumonia* and other community-acquired pneumonias. *Chest* 1998;113:1195-200.
67. Stout JE, Yu VL. Legionellosis. *N Engl Med* 1997;337:682-7.
68. Kuzman I, Puljiz I. Legionarska bolest: praktički pristup dijagnostici i liječenju. *Medicus* 2005;14:107-13.

69. Gershengorn HB, Keene A, Dzierba AL, Wunsch H. The association of antibiotic treatment regimen and hospital mortality in patients hospitalized with *Legionella* pneumonia. *Clin Infect Dis*. 2015;60:66-79.
70. Burdet C, Lepeule R, Duval X, et al. Quinolones versus macrolides in the treatment of legionellosis: a systemic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemoth* 2014;69:2354-60.
71. Blazquez Garrido RM, Espinosa Parra FJ, Frances LA, et al. Antimicrobial chemotherapy for Legionnaires disease: levofloxacin versus macrolides. *Contr Clin Trial* 2005;40(6):800-6.
72. Varner TR, Bookstaver PB, Rudisill CN, Albrecht H. Role of rifampin-based combination therapy for severe community-acquired *Legionella pneumophila* pneumonia. *Ann Pharmacother* 2011;45:967-76.
73. Garcia-Vidal C, Sanchez-Rodriguez I, Simonetti AF, Burgos J, Viasus D, Martin MT, et al. Levofloxacin versus azithromycin for treating *Legionella* pneumonia: a propensity score analysis. *Clin Microbiol Infect*. 2017;23:653-8.
74. Falco V, Molina I, Juste C., Crespo M, Almirante B, Pigrau C, et al. Treatment for Legionnaires' disease. Macrolides or quinolones. *Enferm Infect Microbiol Clin* 2006;24:360-4.
75. Arget M, Kosar J, Suen B, Peermohamed S. Successful Treatment of Legionnaires' Disease with Tigecycline in an Immunocompromised Man with a Legion of Antibiotic Allergies. *Cureus* 2019;11(4):4577-80.
76. Slawek D, Altshuler D, Dubrovskaya, Louie E. Tigecycline a a second-line agent for Legionnaires' disease in severely ill patients. *Open Forum Inf Dis* 2017;4(4):184-6.
77. Galstian GM, DrovkovMI, Katrysh SA, et al. A case of legionellosis pneumonia verified by isolation of *Legionella pneumophila* serogroup 1 from bronchoalveolar lavage fluid treated with levofloksacin and tigecycline *Ter Arkh* 2011;83:61-5.
78. Sharaby Y, Nitzan O, Brettar I, Höfle MG, Peretz A, Halpern M. Antimicrobial agent susceptibilities of *Legionella pneumophila*. MLVA-8 genotypes. *Sci Reports* 2019;9(1):6138-48.
79. Wimer SM, Schoonover L, Garrison MW. Levofloxacin: A therapeutic review. *Clin Therap* 1998;20(6):1049-70.
80. Murdoch D, Chambers ST, Priest P, Phil D. (2021) Treatment and prevention of *Legionella* infection. [pristupljeno 15.06.2021.] Dostupno na: <https://www.uptodate.com/contents/treatment-and-prevention-of-legionella-infection>.



## 8. ŽIVOTOPIS

Zovem se Maša Puljiz, studentica sam 6. godine Medicinskog fakulteta u Zagrebu. Rođena sam 14.04.1993. u Zagrebu. Osnovnoškolsko obrazovanje sam stekla u Osnovnoj školi Dragutina Kušlana u Zagrebu, a jezičnu (XVI) gimnaziju završavam u Zagrebu. Medicinski fakultet upisujem 2015. godine. Član sam Studentske sekcije za infektologiju koja je od 09. studenoga 2020. do 01. srpnja 2021. volontirala u Klinici za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“. Autor sam dva rada: „Massive Pulmonary thrombosis/embolism in a patient with coronavirus disease-2019 (COVID-19)“ i “Hemorrhagic fever with renal syndrome – a case report” koje sam prezentirala na International Medical Students' Conference Cracow 22.-24. travnja 2021. godine. Uz to sam koautor sam rada „Pulmonary thrombosis/embolism in a patient with coronavirus disease-2019 (COVID-19)“ koji sam prezentirala na International Medical Students' Congress 25.-28. veljače 2021. godine u Sarajevu. Aktivno koristim engleski jezik, talijanski i norveški jezik, a njemački pasivno.