



Legionella- status, udfordringer og testmetoder

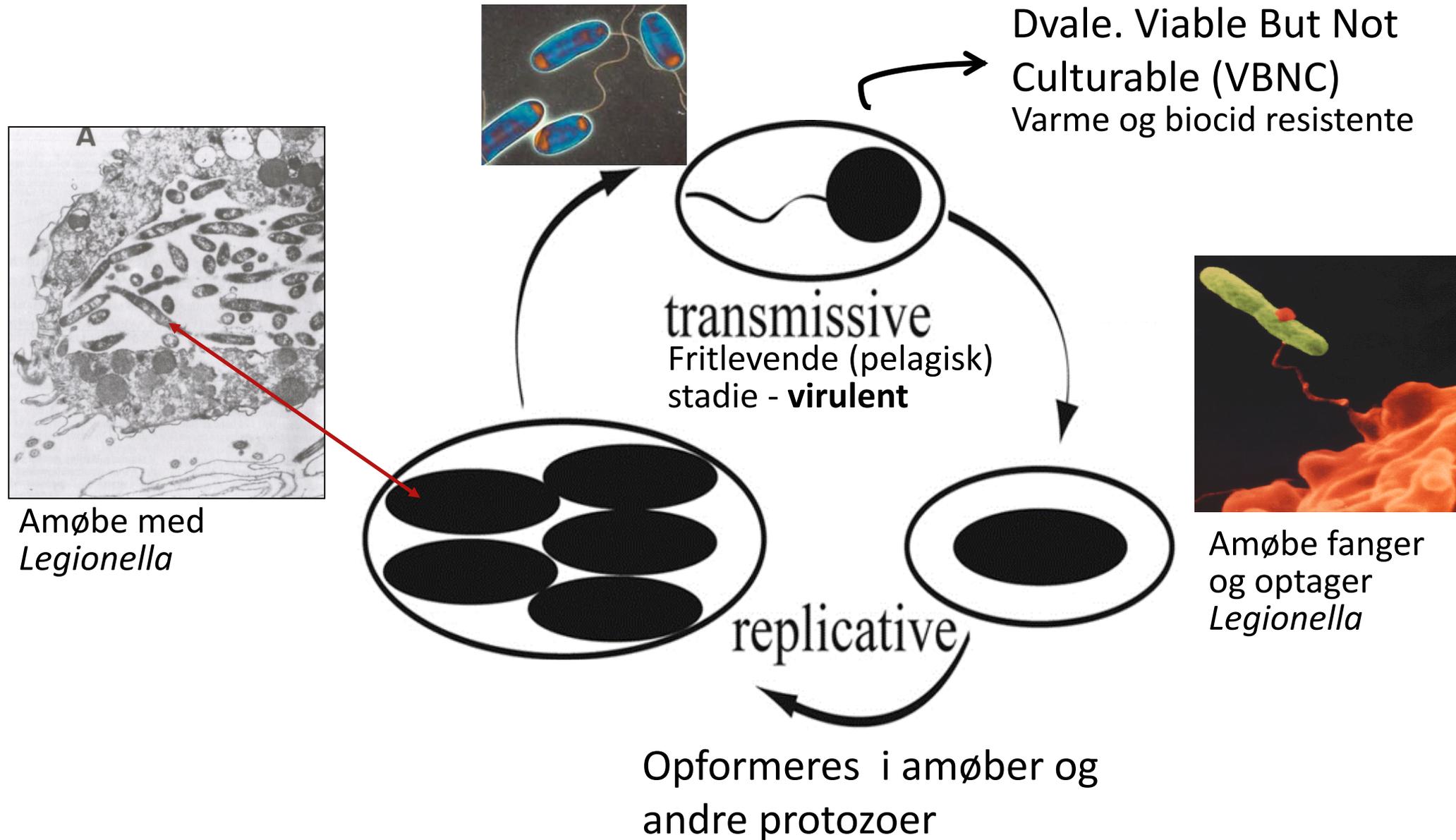
Søren Uldum, SSI. su@ssi.dk, tlf. 3268 3194

Legionella

- Små stavformede Gram-negative bakterier (2 μ m), de fleste med en eller to flageller
- Der er beskrevet mere end 60 arter, hvoraf 25 er blevet forbundet med sygdom hos mennesker
- F.eks. - *L. pneumophila*, *L. bozemanæ*, *L. micdadei*, *L. longbeachæ* (jord/kompost)
- *Legionella pneumophila* er sandsynligvis årsagen til mere end 90% af alle tilfælde af legionærsygdom
- *L. pneumophila* kan opdeles i 16 serogrupper
- Serogruppe 1 forårsager 50-60% af alle tilfælde påvist i Danmark



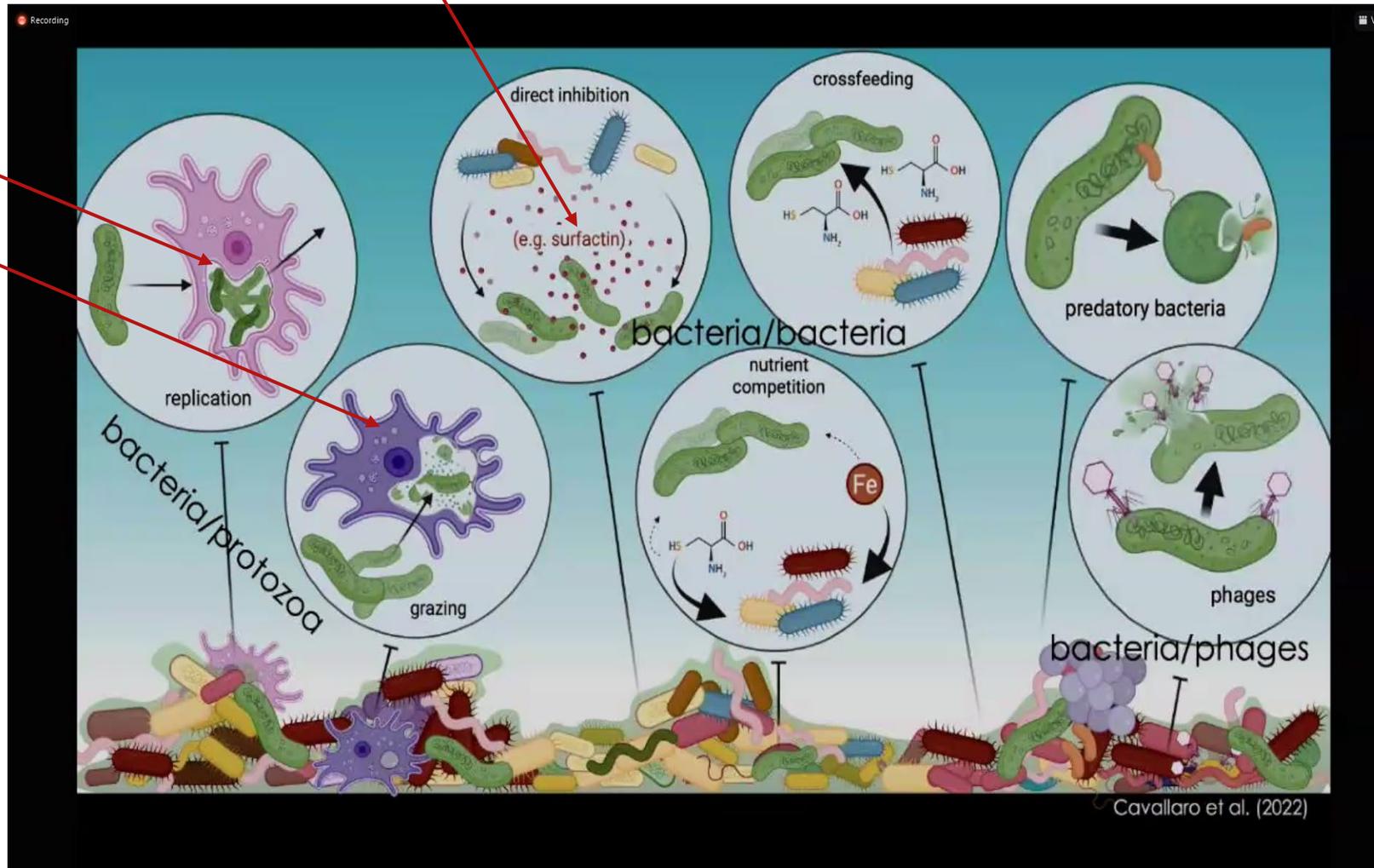
Legionella livscyklus - forsimplet



Legionella og biofilm

Nogle bakterier (fx. *Pseudomonas*) har en negativ virkning på *Legionella*

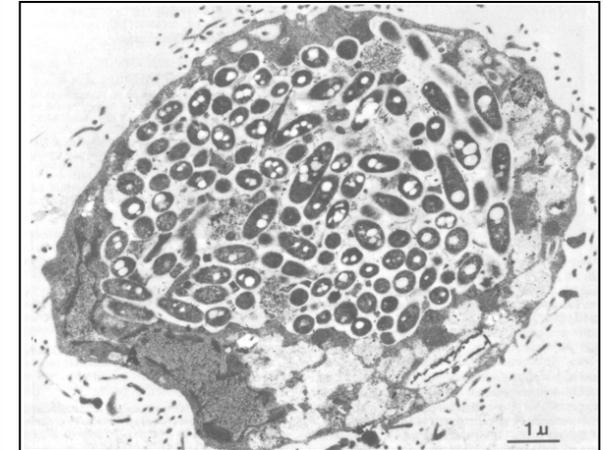
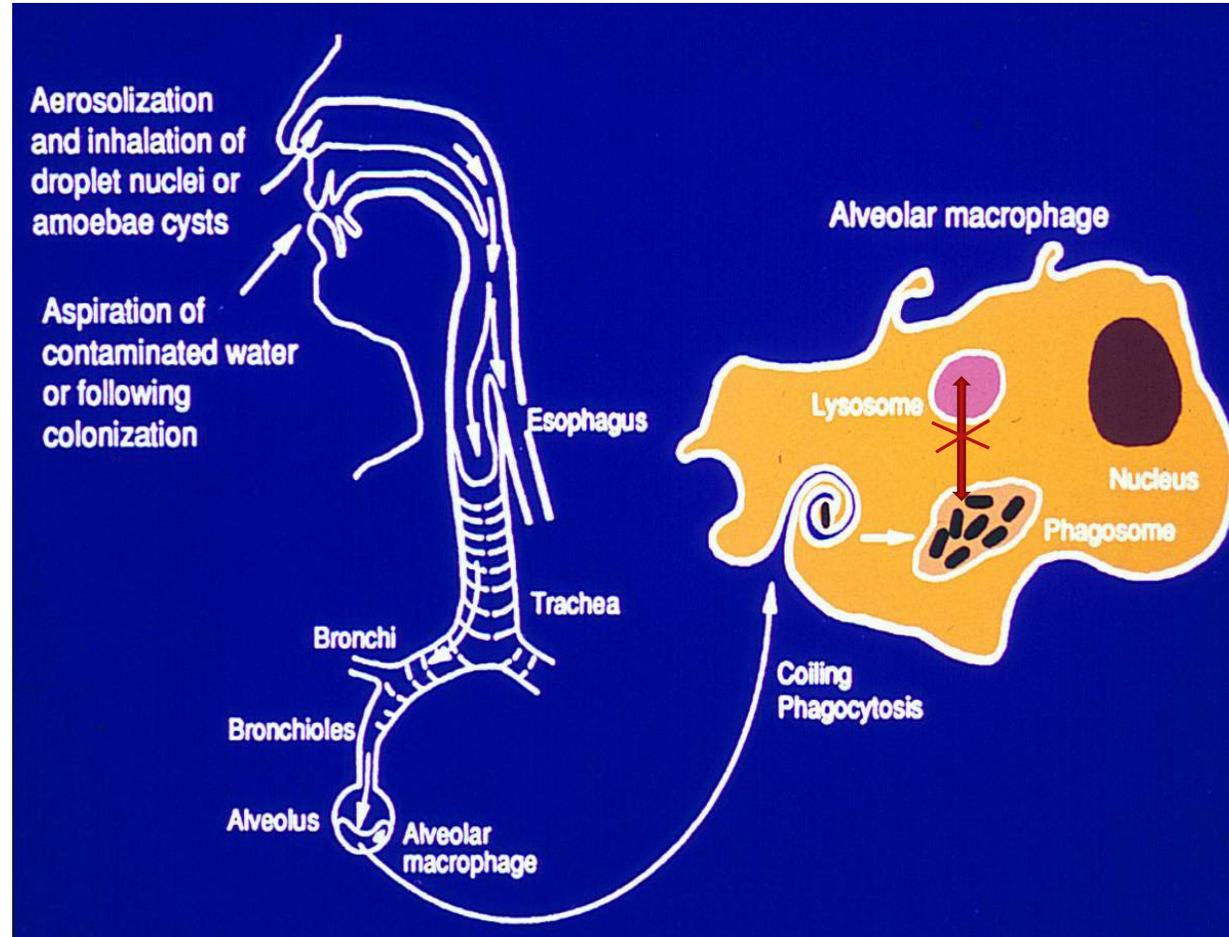
De fleste protozoer (fx Amøber) har en positive virkning på *Legionella*, nogle kan dog "spise" *Legionella*



Hammer F. Legionella in complex biofilms: Collaborators and antagonists within the building plumbing microbiome. Oral presentation 10th International Legionella Conference, Japan, 2022

Legionærsygdom

Legionella overføres oftest til mennesker ved indånding af aerosoliserede vandpartikler, der er forurenet med bakterierne (f.eks. fra brusere).



Human macrophage
Infected with *Legionella*

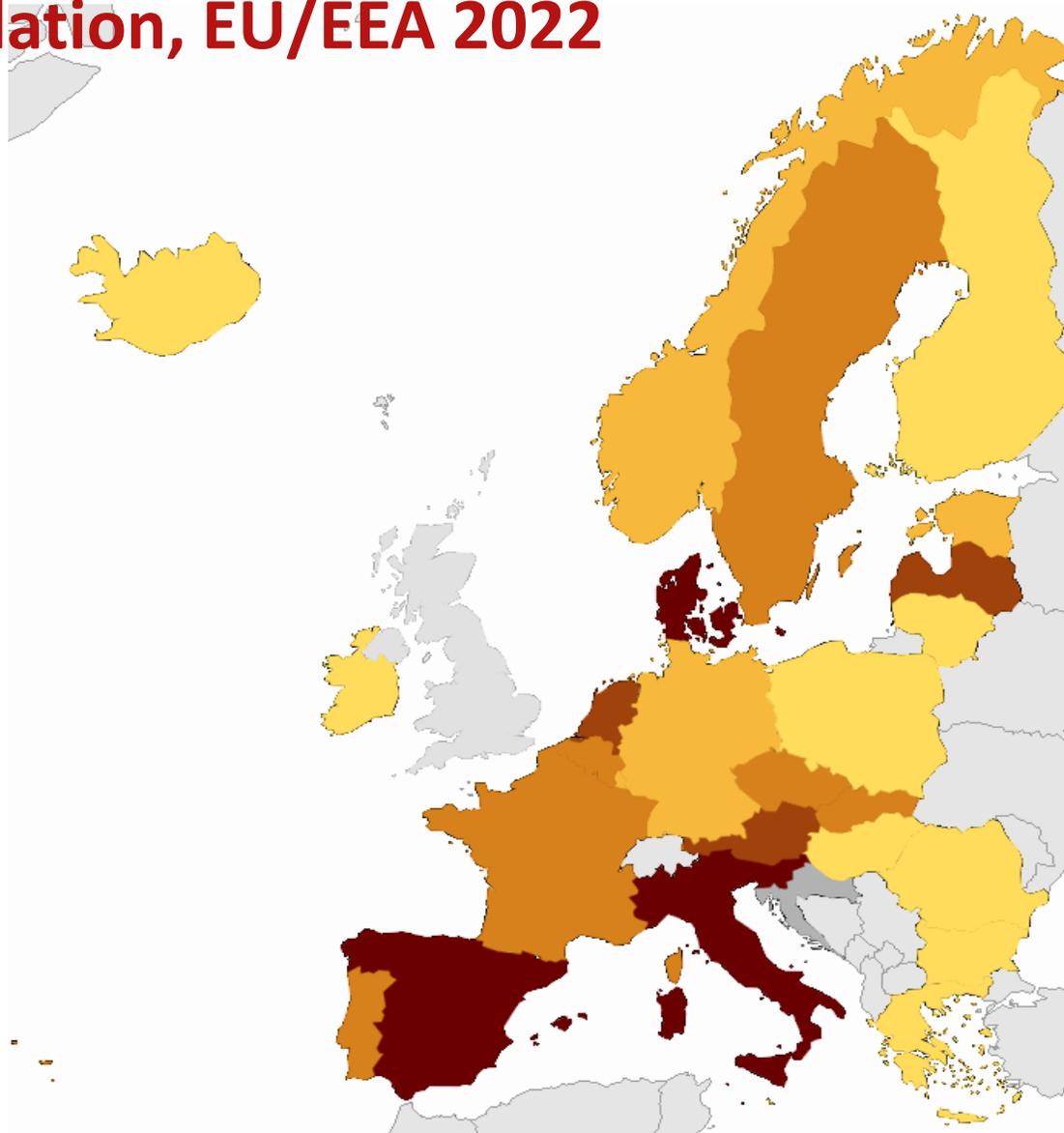
Legionærsygdom og disponerende faktorer

- Akut lungebetændelse
- Attack-rate < 5 % (ved udbrud)
- Dødelighed < 5 – > 35 % (10 – 15%)
- Inkubations periode 4 – 10 dage
- Ingen smitte fra person til person
- Kan behandles med antibiotika
 - (men ikke med penicillin!)

- Alder > 50 år
- Immunkompromitteret
- Organ transplanteret
- Leukæmi
- Diabetes
- Tobak & alkohol misbrug
- Kronisk lunge & hjerte sygdom
- Rejse med hotel ophold
- Arbejde med aerosoliseret vand



Legionnaires' disease - Notification rates per 100,000 population, EU/EEA 2022



De fem lande med højeste incidens
(tilfælde pr. 100.000 indbyggere, 2022)

Slovenien – 6,79

Italien – 5,26

Danmark – 4,89

Spanien – 4,14

Holland – 3,54

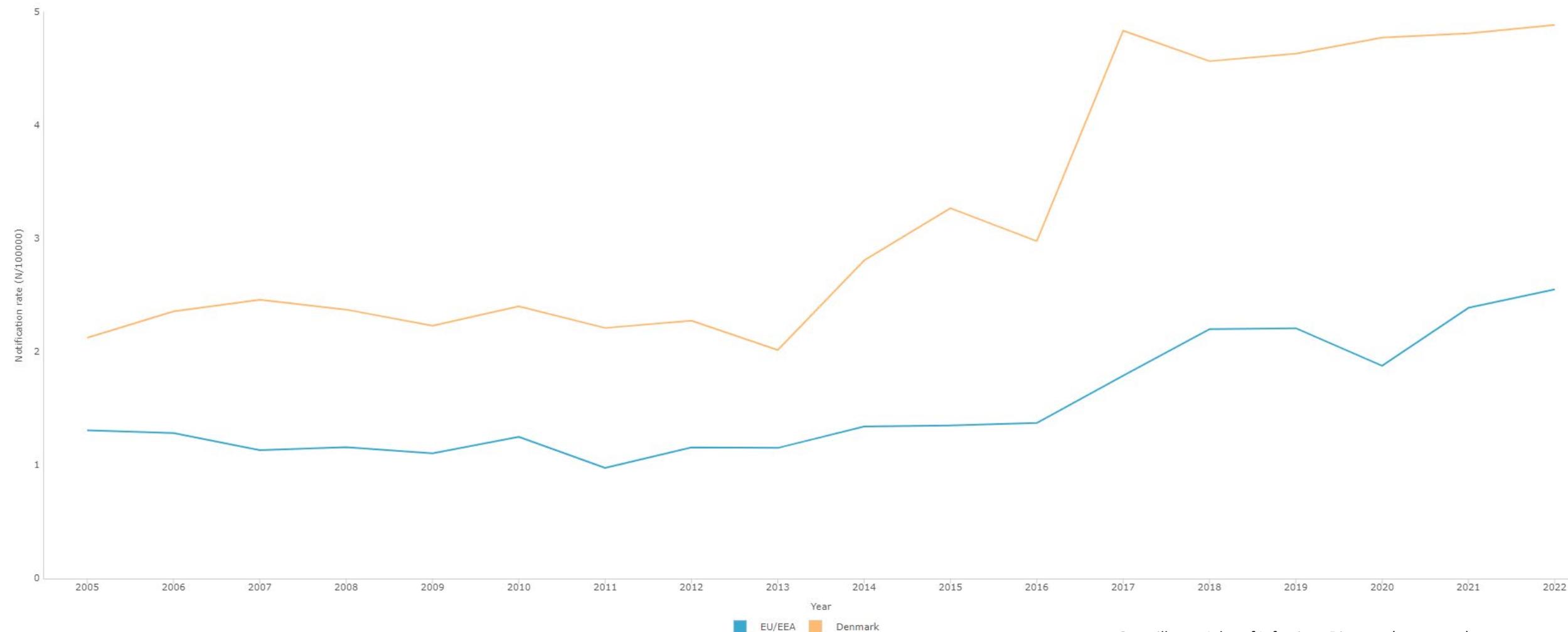
Incidenser i vores nabolande

Sverige – 2,07

Tyskland – 1,75

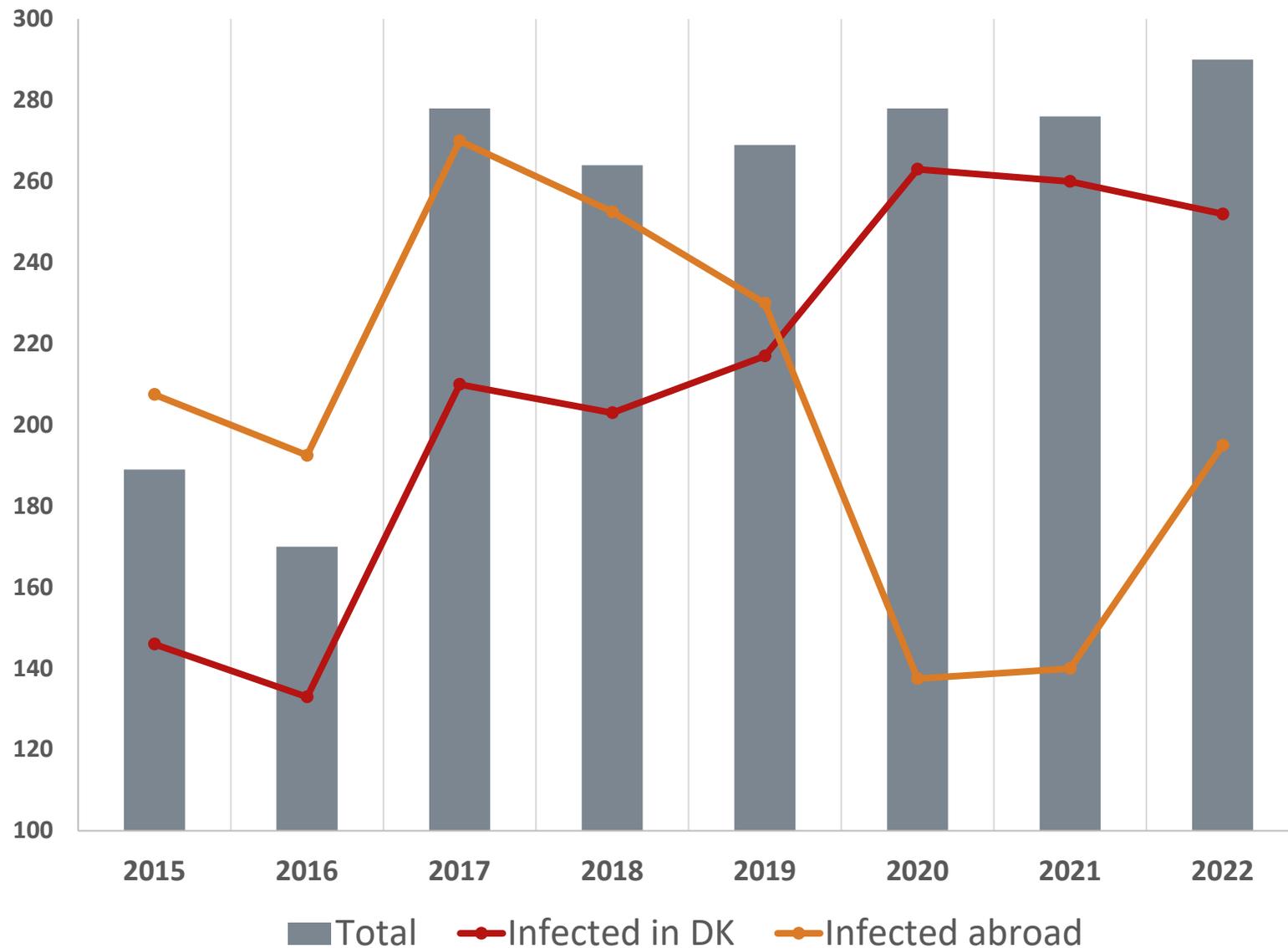
Norge – 1,29

Legionærsygdom: Incidens for Danmark og EU/EEA 2005 til 2022



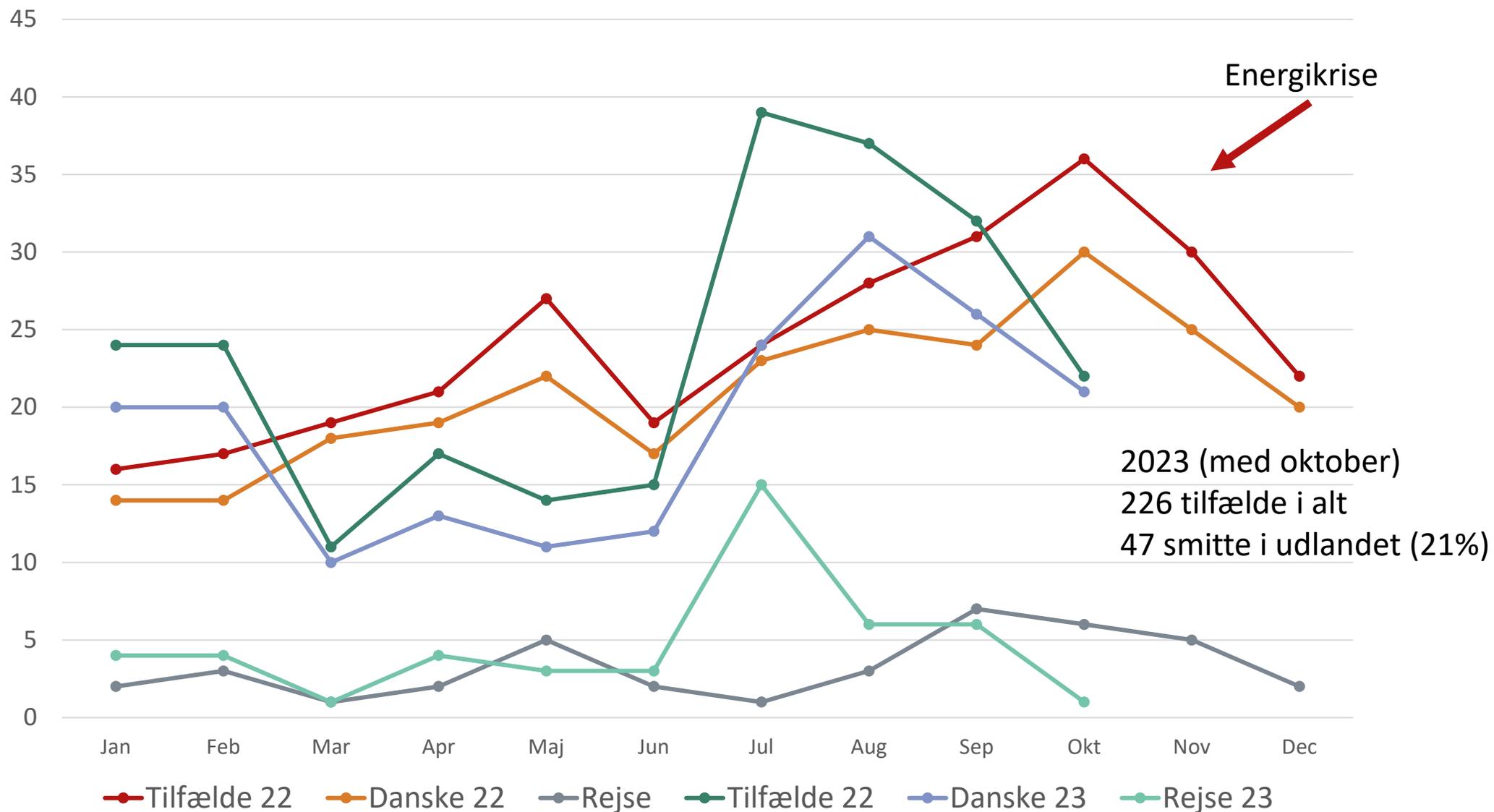
Legionærsygdom, Danmark 2015 - 2022

Tilfælde smittet
i alt og i
Danmark.



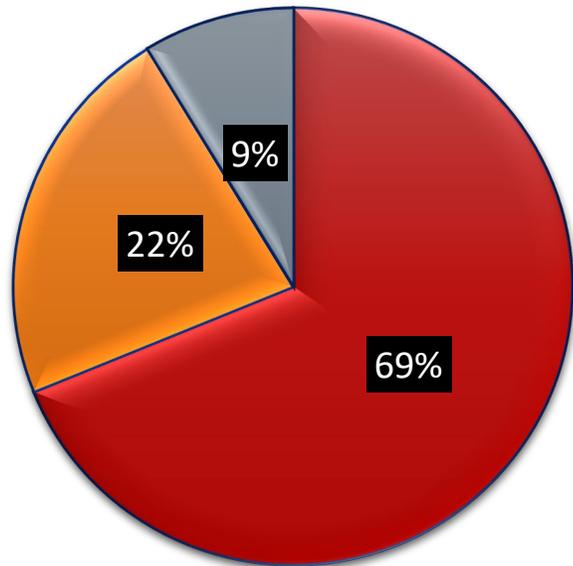
Tilfælde smittet
i udlandet.

Tilfælde pr. måned 2022 og 2023

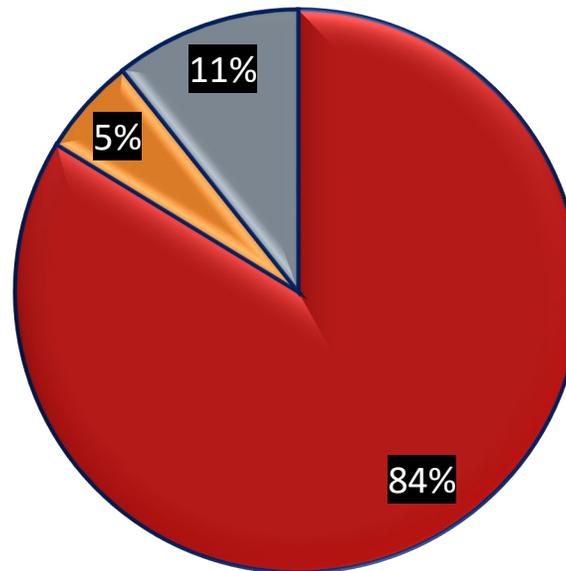


Smittekategori og mortalitet

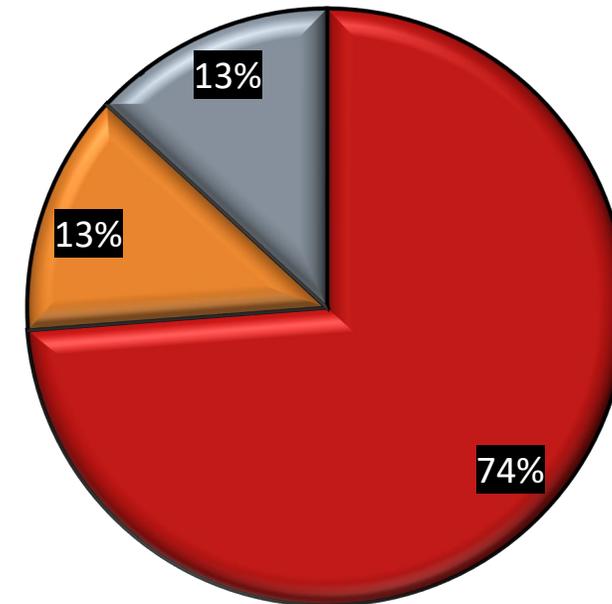
2017 – 2019;
815 tilfælde
Døde 11,5 %



2020 - 2021;
554 tilfælde
Døde 14,6 %

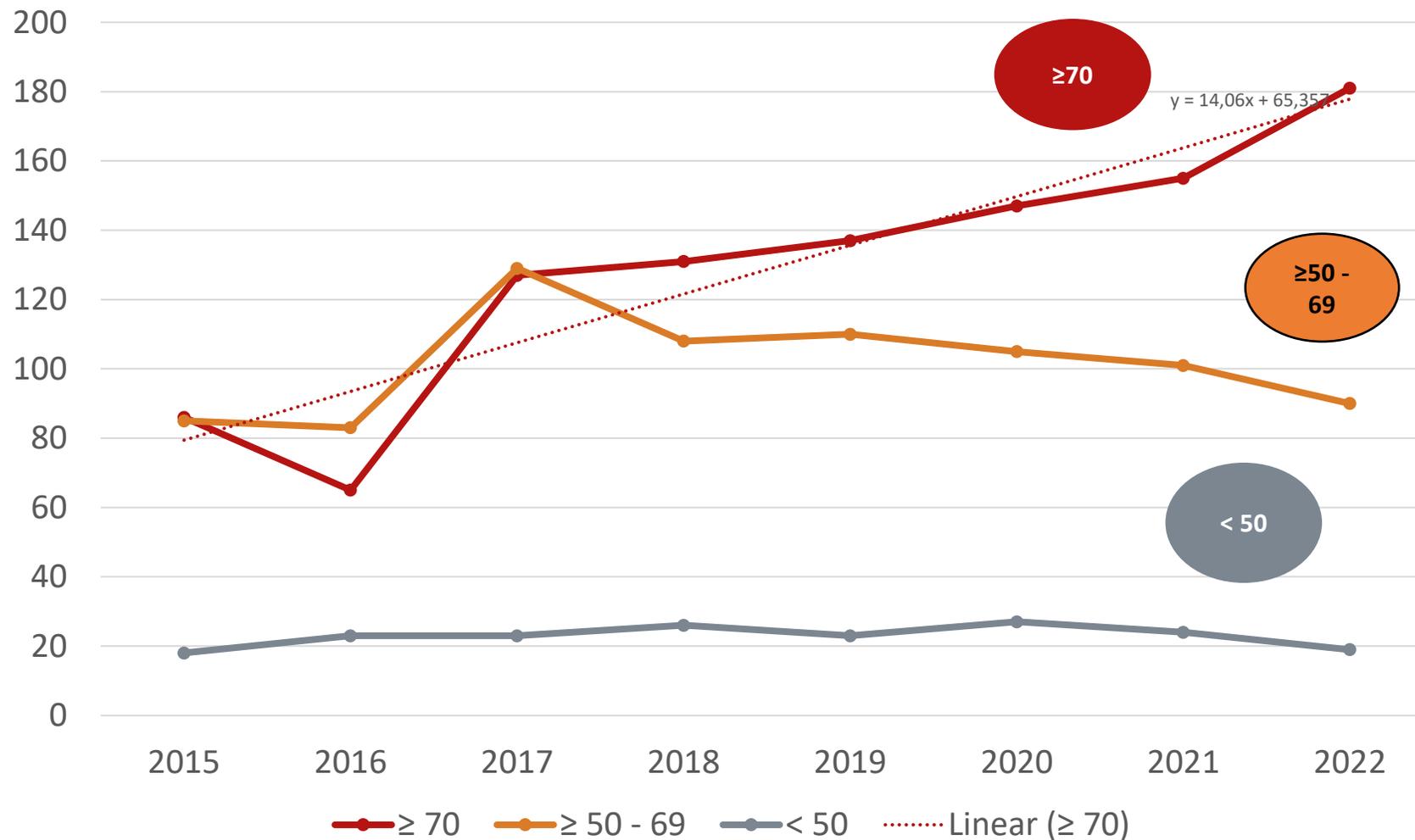


2022;
290 tilfælde
Døde 19,6 %

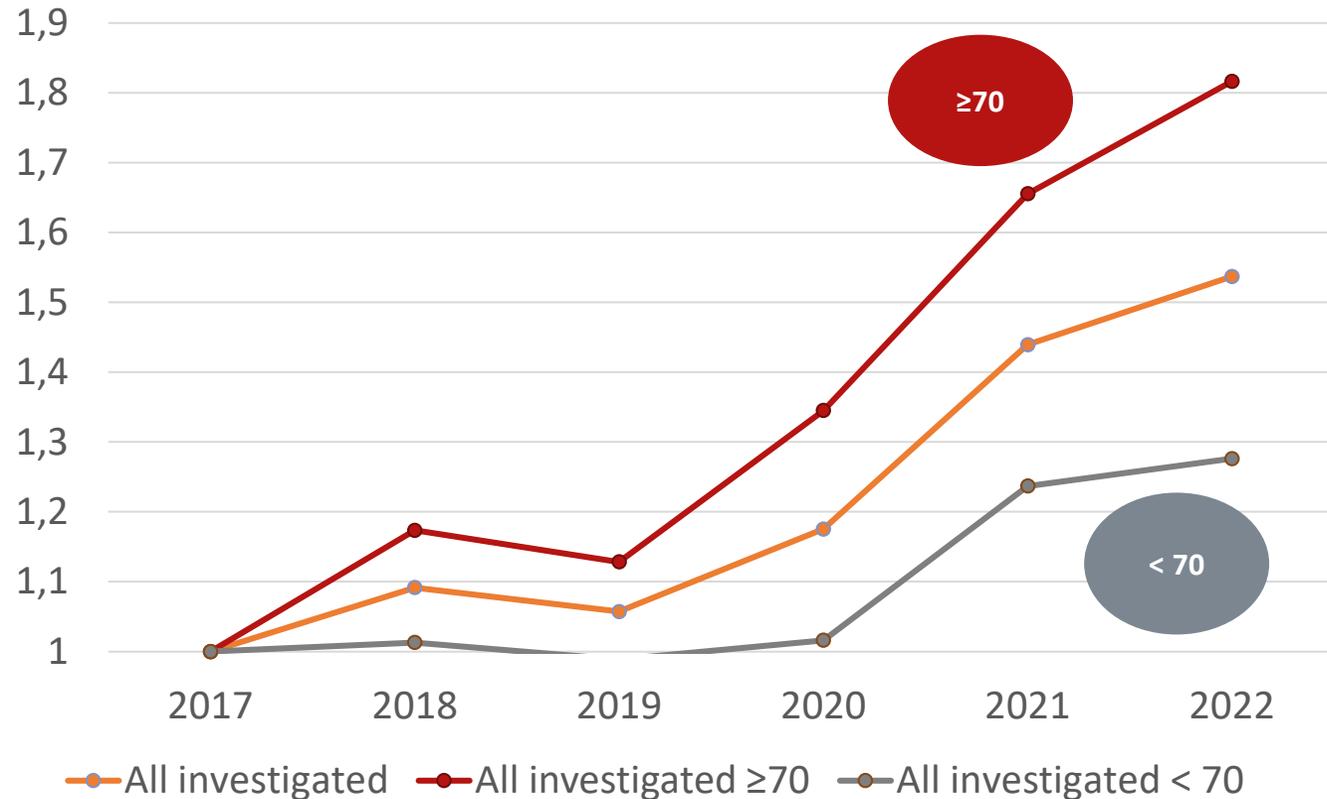


Rød – Samfund Danmark
Orange – Rejse udland
Grå - Hospital og institution

Aldersgruppefordeling 2015 - 2022



Relativ test intensitet, reference 2017

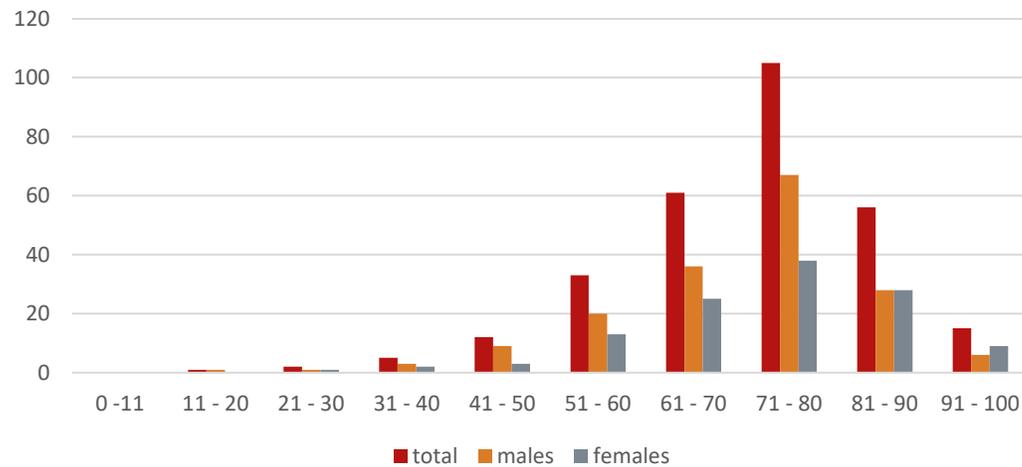


Test intensiteten (alle metoder) er næsten fordoblet for personer ≥ 70 år siden 2017

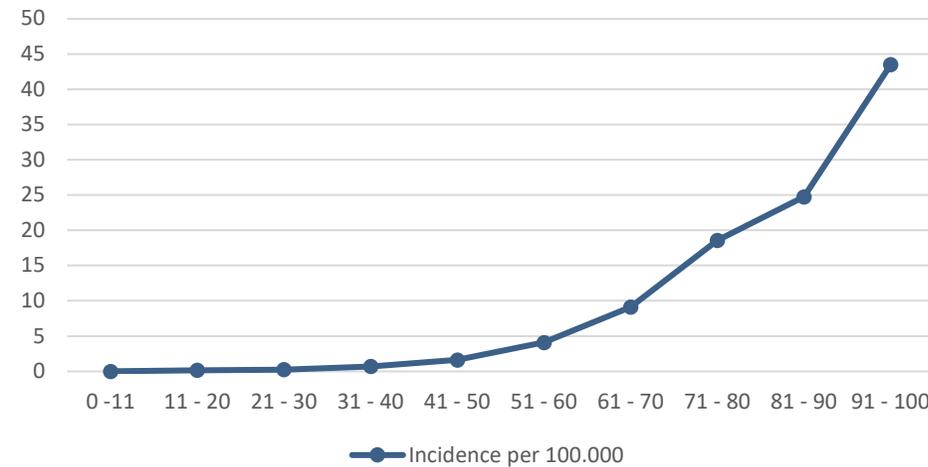
Test intensiteten (alle metoder) er kun steget 1.3 gange for personer < 70 years

Alders-, kønsfordeling og mortalitet – legionærsygdom 2022

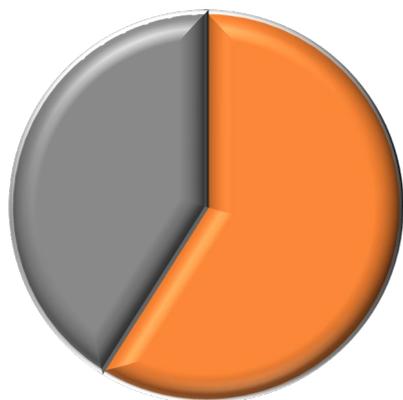
Age and gender distribution LD 2022



Age adjusted Incidences per100,000; 2022

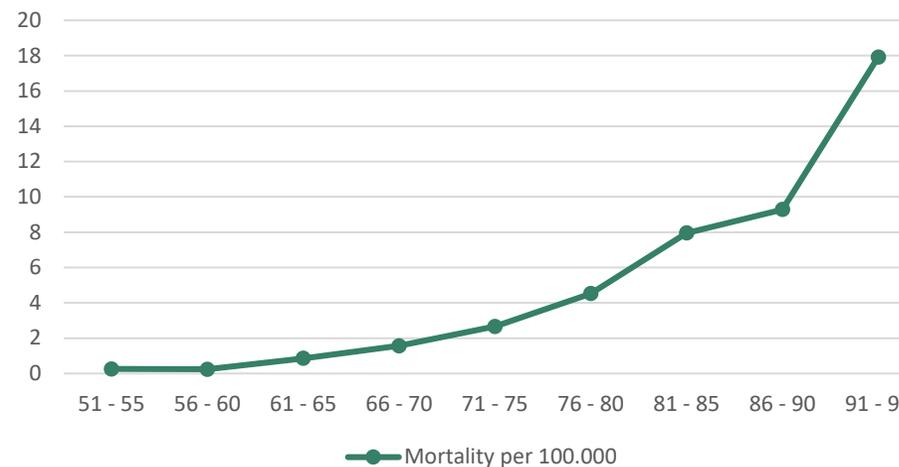


Male-to-female ratio 1.4:1



males females

Age adjusted mortality per 100,000; 2022



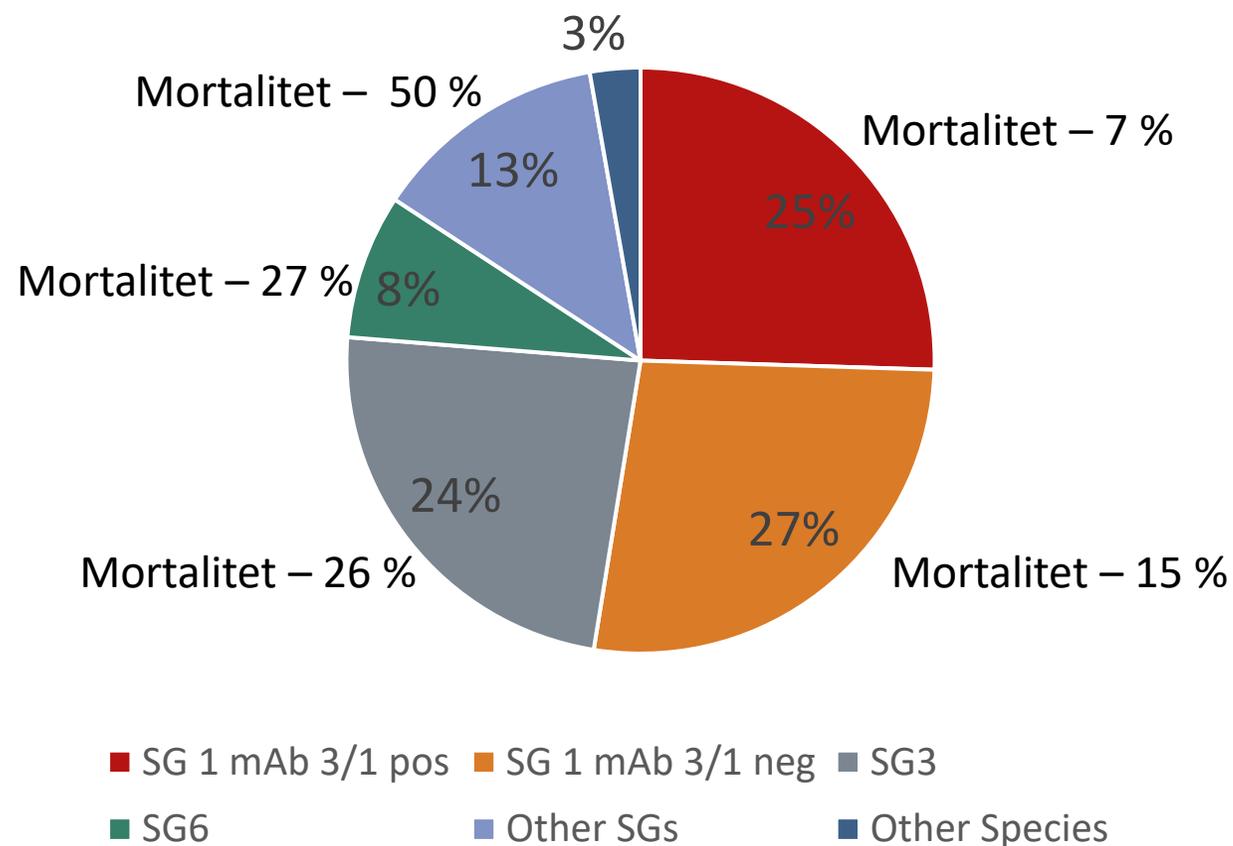
Stor forskel på hvilke typer man eksponeres for, hvilke man bliver syg af og hvilke infektioner man dør af

Ca. 80% af de danske varmtvandssystemer er koloniseret med *L. pneumophila*:

- < 1 % med *L. pneumophila* **SG 1 Pontiac** stammer
- < 10 % med *L. pneumophila* **SG1 non-Pontiac** strains
- Ca. 50 % med *L. pneumophila* **SG 3**
- Ca. 20 % med *L. pneumophila* **SG 6**
- Ca. 40 % med **andre *L. pneumophila* serogrupper**
- ~ 100 % **andre arter (påvist med PCR)**
- Der kan være store geografiske variationer

SG 1 Pontiac = mAb 3/1 positives

Smittet i Danmark 2010-2022,
902 kliniske isolater

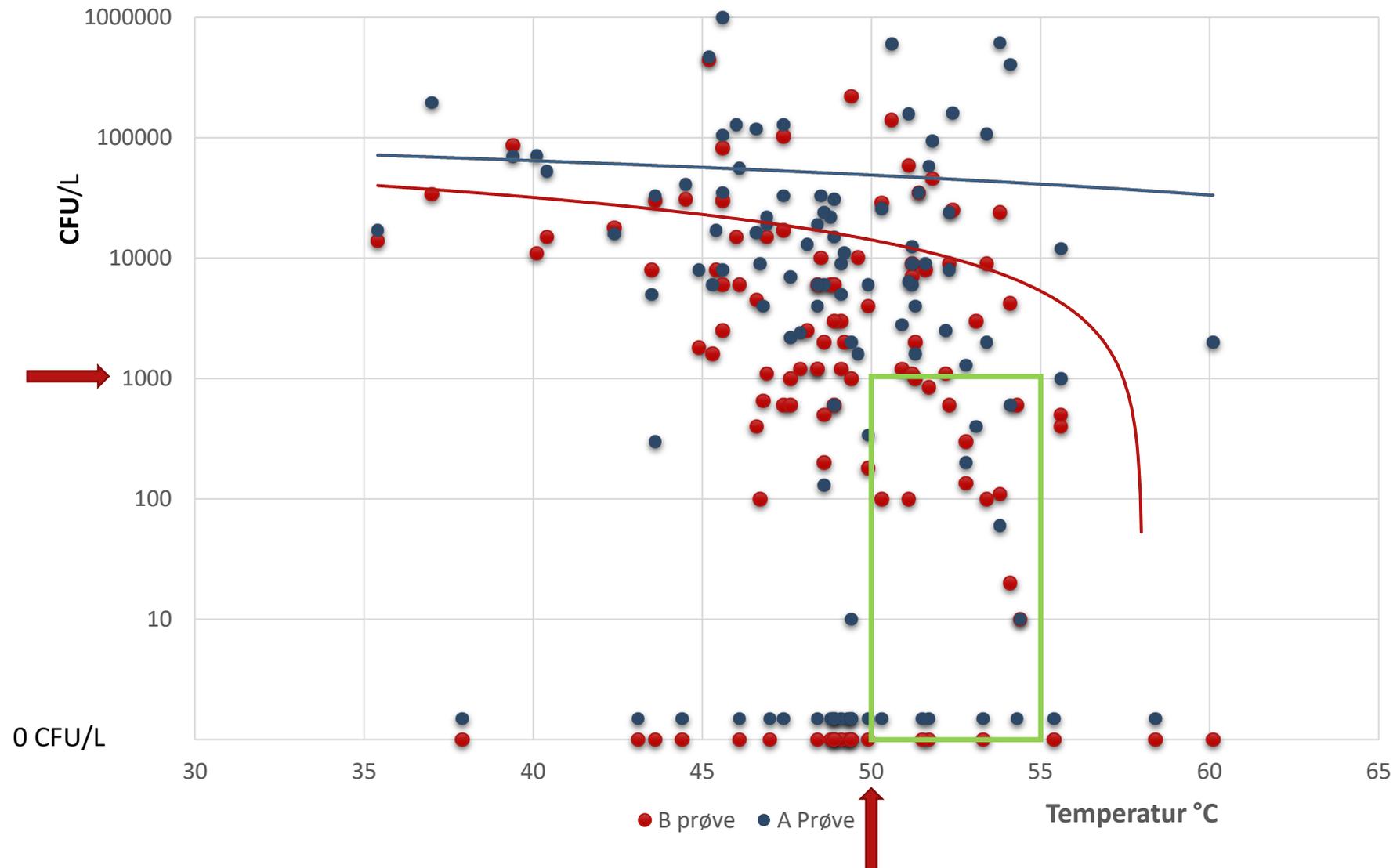


Nyt EU-drikkevandsdirektiv under implementering

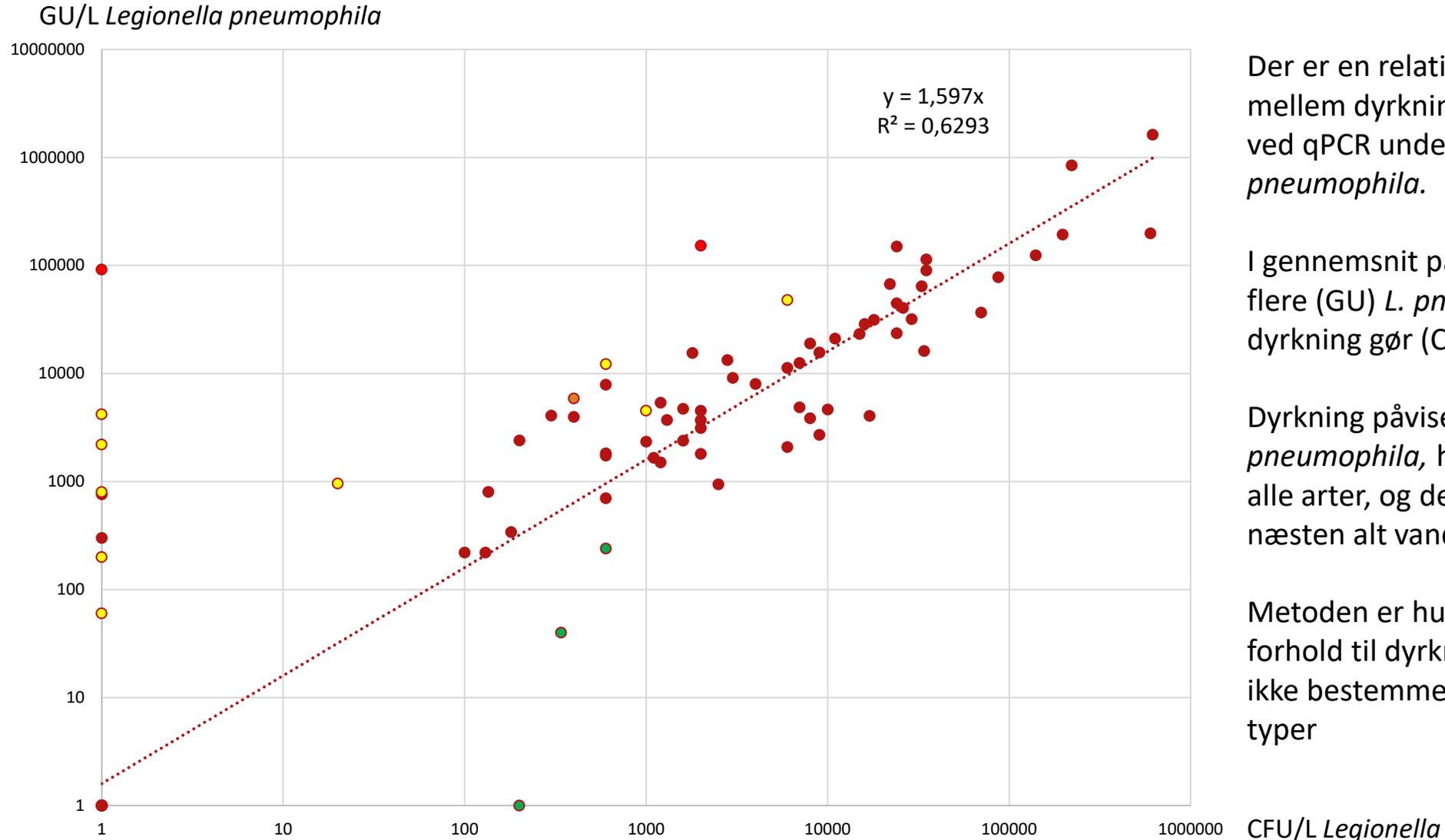
- Directive (EU) 2020/2184 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2020 **on the quality of water intended for human consumption** was adopted by the European Parliament and the Council of the European Union on 16 December 2020 and **entered into force on 12 January 2021**.
 - Legionella er ny parameter (fordelingsnettet – ink. varmt brugsvand)
 - Vand fra prioriterede ejendomme/bygninger skal regelmæssigt undersøges
 - Prøver skal undersøges iht. DS/ISO 11731 - kvantitativ dyrkning (ved spredningspladekultur), men kan suppleres (ikke erstattes) med andre metoder
 - Parameterværdien er 1.000 CFU/L (alle *Legionella* arter)
 - Antageligt målt i prøver fra varmt brugsvand tappet ved konstant temperatur – men mangler at blive defineret.
- SSI anbefaler at ovenstående parameterværdi generelt er gældende i Danmark, det er dog pt. kun en anbefaling.

Sammenhæng mellem temperatur (konstant) og *Legionella* niveauet påvist ved dyrkning

Undersøgelse af 104 anlæg i fire byer



Supplement til dyrkning – qPCR for *L. pneumophila* (SSI intern metode)



Der er en relative god sammenhæng mellem dyrkning og qPCR, hvis man ved qPCR undersøger specifikt for *L. pneumophila*.

I gennemsnit påviser qPCR 1,6 gange flere (GU) *L. pneumophila* end dyrkning gør (CFU).

Dyrkning påviser primært *L. pneumophila*, hvor PCR kan påvise alle arter, og der er *Legionella* i næsten alt vand.

Metoden er hurtig (måske billigere) i forhold til dyrkning, men man kan ikke bestemme serogrupper og DNA typer

Legiolert til påvisning af *L. pneumophila*



Legiolert*

For detection of *Legionella pneumophila*



- *Legionella* test for all serotypes of *Legionella pneumophila* with equal or greater accuracy than traditional spread plate culture methods.¹⁻¹²
- Significantly improves *Legionella* testing workflow, leading to higher productivity.
- Liquid culture test; isolates can be stored and/or serotyped.
- Reports in MPN, equivalent to CFU per ISO 6107:2021.
- Published by ASTM International as Standard D8429-21.
- Received NF Validation by AFNOR Certification, reference number IDX 33/06-06/19.



Legiolert er en test, der kan bruges til at detektere *Legionella pneumophila* i vandprøver. Testen er baseret på en bakteriel enzymdetektionsteknologi, der signalerer tilstedeværelsen af *L. pneumophila* gennem anvendelse af et substrat, der er til stede i Legiolert-reagenset.

Testen kan detektere *L. pneumophila* ved 1 organisme i 100 mL inden for 7 dage.

Fordele:

- Generel bedre sensitivitet end traditionel dyrkning
- Ingen koncentreringstrin (intet tab).
- Kendskab til *Legionella* morfologi ikke nødvendigt.
- Kun 100 ml vandprøver i stedet for 1 liters vandprøver.

Ulemper:

- Kan ikke påvise andre arter, hvilket kan være nødvendigt og er et krav i hht. drikkevandsdirektivet.
- Identificering af serogrupper og DNA typer kræver sekundær udsåning for at få enkeltkolonier.

Andre metoder til påvisning af *Legionella pneumophila*

Immunokromatografiske metoder



Ny metode der kan påvise alle
L. pneumophila serogrupper

Metoder baseret på klik-kemi*

MICA *Legionella*

MICA *Legionella* enumerates *Legionella pneumophila* in water (Domestic Water, Cooling Tower Water, Sanitary Water...) in CFU/liter and after only 48 hours of incubation.



Testen er baseret på en metabolisk inkorporation af et syntetisk suktermolekyle (DIAMIDEX pLeg-N3) ved vækst af bakterierne. Ved brug af "klik-kemi" kan cellerne (mikrokolonier) ses og tælles ved brug af fluorescens.

*Årets danske Nobelpristager: Morten P. Meldal, professor ved Kemisk Institut, Københavns Universitet.



Tak for jeres tid

