

# Die Legionelleninfektion

G. Ruckdeschel<sup>1</sup> und W. Ehret<sup>2</sup>

1	Einführung	208
1.1	Historisches	208
1.2	Terminologie der Legionellose	210
2	Mikrobiologie der Legionellen	210
2.1	Morphologie und mikroskopische Darstellung	210
2.2	Kultur	211
2.3	Biochemische Identifizierung	213
2.4	Taxonomie	213
2.5	Immunologische Identifizierung	215
2.6	Identifizierung anhand chemischer Strukturen	216
2.7	Molekularbiologische Identifizierung	218
2.8	Antibiotikaempfindlichkeit	220
3	Pathogenese und Virulenz	223
3.1	Interaktion mit anderen Mikroorganismen	223
3.2	Mechanismen der Infektion	223
3.3	Virulenzfaktoren	225
3.4	Tiermodelle und Zellkulturen	226
3.5	Molekularbiologische Untersuchungen	227
4	Klinik der Legionellose	228
4.1	Legionellenpneumonie	228
4.1.1	Symptomatik und Verlauf	228
4.1.2	Laboratoriumsbefunde	230
4.1.3	Röntgenbefunde	232
4.1.4	Pathologie	235
4.2	Nosokomiale Legionelleninfektionen	238
4.3	Extrapulmonale Manifestation und Infektionen	240
4.4	Pontiac-Fieber	246
4.5	Risikofaktoren – Legionellose bei Abwehrschwäche	247
4.6	Legionellose bei Kindern	251
4.7	Hinweise auf Legionellenpneumonien	253
5	Antimikrobielle Therapie	254
6	Mikrobiologische Diagnostik	257
6.1	Mikroskopie und Züchtung	258
6.2	Antikörpernachweis	260
6.3	Antigennachweis	263
6.4	Molekularbiologische Diagnostik	263
7	Epidemiologie	266
7.1	Epidemiologische Formen der Legionellose	266
7.2	Nichtnosokomiale Ausbrüche	266

<sup>1</sup> Max von Pettenkofer-Institut für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie, Universität München, Außenstelle Klinikum Großhadern, Marchioninistraße 15, 81377 München, Bundesrepublik Deutschland.

<sup>2</sup> Institut für Medizinische Mikrobiologie, und Hygiene, Universität Regensburg, Franz-Josef-Strauß-Allee 11, 93053 Regensburg, Bundesrepublik Deutschland.

7.3 Ausbrüche in Krankenhäusern . . . . .	267
7.4 Sporadische Fälle und Häufigkeit . . . . .	268
7.5 Natürliche Standorte und Erregerreservoir . . . . .	269
7.6 Sanierungsmaßnahmen . . . . .	271
7.7 Epidemiologische Typisierung . . . . .	273
Literatur . . . . .	275
Weiterführende Literatur . . . . .	302

## 1 Einführung

### 1.1 Historisches

Als nach dem Treffen der „American Legion“, des mächtigen Veteranenverbandes, 1976, im Jahr der 200. Wiederkehr der Unabhängigkeitserklärung in Philadelphia, viele der Teilnehmer schwer erkrankten und nicht wenige starben, gab es ungeheure Aufregung und weltweit große Beachtung. Zeitungen und Fernsehen berichteten tagelang an erster Stelle. Etwas vom Besonderen, das die Erkrankung von Anbeginn umgab, begleitet sie bis heute.

Tatsächlich war das Geschehen rätselhaft. 4400 Teilnehmer an der Konvention, die meisten aus Pennsylvania, hatten sich vom 21.–24. Juli in Philadelphia getroffen. Im traditionellen Bellevue-Stratford-Hotel an der Broad Street, dem Zentrum des Treffens, gab es Versammlungen, Vorträge, einen Ball und auf der Straße vor dem Hotel eine Parade. Schon während des Treffens erkrankten einige Teilnehmer mit Fieber und trockenem Husten, danach aber häuften sich die Krankheitsfälle, und bis zum 2. August wurden schließlich 149 Personen in verschiedenen Krankenhäusern behandelt. Insgesamt hatten 182 Mitglieder der Pennsylvania American Legion eine akute Erkrankung entwickelt, die Legionärs- oder Veteranenkrankheit, wie man sie schnell getauft hatte; 29 der Erkrankten starben.

Später zeigte sich, daß auch 32 Teilnehmer an einem Eucharistischen Kongreß, der zur gleichen Zeit im Bellevue-Stratford-Hotel stattfand, und einige andere Gäste eine Lungenentzündung bekommen hatten. Außerdem waren 39 Personen erkrankt, die sich zur fraglichen Zeit auf der Broad Street aufgehalten hatten; sie repräsentieren die Fälle der „Broad Street Pneumonia“, die die epidemiologische Spurensuche zunächst sehr erschwert haben. Zusammengenommen waren im Juli 1976 in Philadelphia 221 Menschen mit den gleichen Erscheinungen erkrankt und 34 davon gestorben.

Im Winter vorher hatte man in New Jersey ein Influenza A-Virus isoliert, mit verdächtig enger Verwandtschaft zum Virus der Schweineinfluenza, die in den Jahren 1918/19 mit verheerenden Folgen um die Erde gezogen war. Darauf richteten sich die schlimmsten Befürchtungen. Die Nervosität war jedenfalls beträchtlich und steigerte sich in Philadelphia zu hysterischen Reaktionen. Das Bellevue-Stratford-Hotel mußte zumachen und wurde abgerissen.

Die Suche nach der Ursache begann sofort, nachdem der epidemische Charakter der Erkrankungen erkannt und sich keine der üblichen viralen oder bakteriellen Ursachen finden ließ; die Arbeit wurde vom Pennsylvania Department of Health gemeinsam mit den Centers for Disease Control (CDC) in Atlanta betrie-

ben. Der zeitlich scharf begrenzte Ausbruch war zwar mit hoher Wahrscheinlichkeit einem infektiösen Agens zuzuschreiben, doch wurden auch Gifte wie Kadmium oder andere Schwermetalle, Phosgen oder das Pestizid Paraquat, ja sogar ein Anschlag mit chemischen oder biologischen Kampfstoffen für möglich gehalten.

Die Untersuchungen blieben zunächst ergebnislos. Dennoch festigte sich die Vorstellung, daß die Erkrankungen nur durch einen noch unbekanntem Infektionserreger ausgelöst sein konnten, der aerogen übertragen wird und mit den bisher bekannten Methoden nicht nachzuweisen war. Die Fahndung wurde neben anderen auch mit den Methoden der Rickettsienzüchtung, also in Bruteiern, Zellkulturen und mit Tierversuchen fortgesetzt. Rickettsien und Coxiellen sind intrazellulär proliferierende Bakterien, die auch pulmonale Infektionen hervorrufen können, und tatsächlich gelang es schließlich dem auf Rickettsien spezialisierten Dr. McDade in Atlanta, im Lungengewebe eines Teilnehmers an der Philadelphia Convention, der der Erkrankung erlegen war, sehr kleine „rickettsienähnliche“ Elemente zu erkennen. Die Verimpfung auf Meerschweinchen ließ die Versuchstiere erkranken. In Bruteiern gelang es schließlich, die verdächtigsten Mikroorganismen zu vermehren. Daß sie tatsächlich die gesuchten Erreger waren, konnte bald durch serologische Untersuchungen bestätigt werden: mehr als 90% der während des Ausbruchs gesammelten Patientenserum reagierten im Immunfluoreszenztest mit den gezüchteten Mikroorganismen und zeigten den Anstieg der Antikörpertiter, der die spezifische Immunantwort beweist. Der Erreger der Legionärskrankheit, *Legionella pneumophila*, war entdeckt.

Mit Hilfe dieser Serodiagnostik ließen sich jetzt auch frühere Ausbrüche ähnlicher Infektionen, deren Ursache unerkannt geblieben war, dem neuen Erreger zuschreiben, so im Jahr 1957 in einem Fleischwarenbetrieb in Austin (Minnesota), und, 1965 eine Häufung in einem psychiatrischen Krankenhaus in Washington, die durch Erdarbeiten im Garten ausgelöst worden war [499]. Außerdem stellte sich jetzt heraus, daß die Legionärskrankheit schon einmal, 2 Jahre vor dem großen Ausbruch, vom Bellevue-Stratford-Hotel ausgegangen war; damals waren 20 Teilnehmer an einem Treffen der Oddfellows, einer Loge von Philanthropen, erkrankt. Auch die Massenerkrankung unter den Angestellten und Besuchern des Health Department in Pontiac (Michigan) ließ sich jetzt klären; sie hat einer weiteren Form der Legionelleninfektion, dem Pontiac-Fieber, den Namen gegeben [213]. Schon damals, im Jahre 1968, hatte man die Erreger in Meerschweinchen inokuliert und in Bruteiern gezüchtet; ihre ätiologische Rolle war jedoch nicht zu beweisen [298].

Legionellen waren übrigens schon einmal im Jahre 1943 gezüchtet worden. Damals hatte Tatlock das „Fort Bragg Fever“ beschrieben und einen Erreger isoliert, der sich später als *L. micdadei* erweisen sollte [497]. Ein im Jahre 1947 isolierter, mit OLDA bezeichneter Bakterienstamm, wurde jetzt als *L. pneumophila* identifiziert und der WIGA-Stamm, den man 1959 in der Lunge eines Tauchers gefunden hatte, wurde nun als *L. bozemanii* bezeichnet [61].

Die Untersuchung akuter Fälle ergab, daß *L. pneumophila* nicht nur als Ursache von Ausbrüchen zu fürchten war, sondern häufig auch sporadische Erkrankungen hervorrief.

Was beim Ausbruch in Philadelphia geschehen war, wurde nicht restlos geklärt. Am wahrscheinlichsten ist es wohl, daß die Legionellen durch die Klimaanlage des Hotels ein paar Stunden lang in den Speisesaal und auf die Broad-Street geblasen worden sind, und in der Folge wurden Klimaanlage auch zu den Hauptschuldigen anderer Ausbrüche erklärt.

Als es dann gelungen war, die Legionellen ohne Schwierigkeiten auf künstlichen Nährböden zu züchten, wurde die Alltäglichkeit dieser zuerst so exotischen Erreger, ihre weite Verbreitung in der Natur und in unseren Wasserinstallationen schnell entdeckt [127]. Neue Serogruppen von *L. pneumophila* und viele andere Arten der Gattung *Legionella* wurden gefunden. Innerhalb eines Jahrzehnts hat sich damit ein Gebiet der Bakteriologie entwickelt, das für die klinische Medizin wie für die Umwelthygiene in gleichem Maße wichtig ist.

## 1.2 Terminologie der Legionellosen

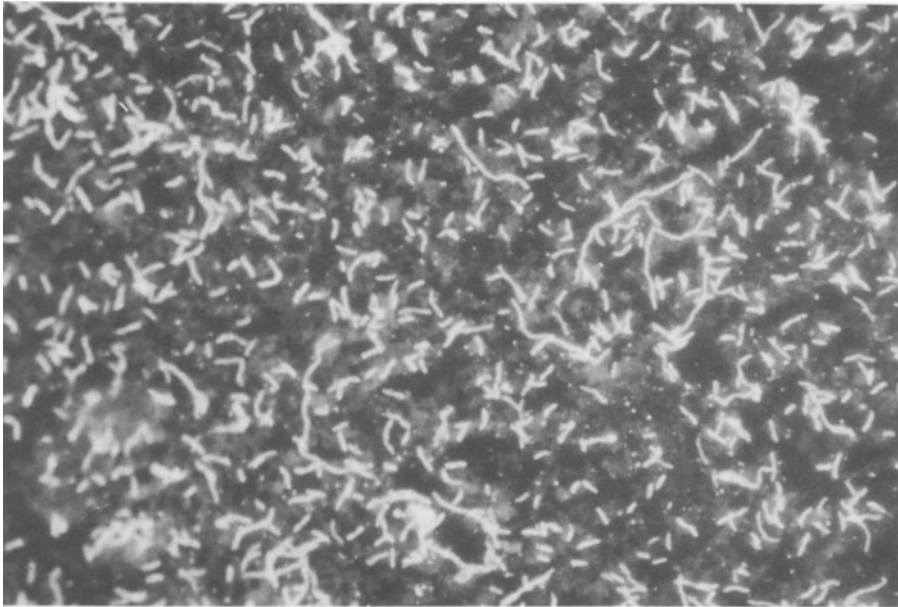
Ihre Entdeckungsgeschichte trägt die Erkrankung bis heute im Namen „Legionärskrankheit“. Damit sind alle sporadisch oder gehäuft auftretenden Pneumonien gemeint, die durch *L. pneumophila* verursacht werden und in der Symptomatik und Verlauf den ersten Beschreibungen nach der Entdeckung des Erregers entsprechen, doch ist eine solche Definition inzwischen zu eng. Schließlich zeigen pulmonale Infektionen, die durch andere Legionellenspezies als *L. pneumophila* ausgelöst wurden, die gleichen Symptome, so daß die klinische Diagnose ergänzt durch die Ätiologie, also durch die Bezeichnung Legionellenpneumonie, den Sachverhalt am besten beschreibt [168]. Die „Legionärskrankheit“ charakterisiert eher Ausbrüche wie den von Philadelphia.

Erkrankungen durch Legionellen werden summarisch als Legionellosen bezeichnet. Sie reichen von der Serokonversion bei asymptomatischem Erregerkontakt bis hin zu tödlichen Erkrankungen und umfassen das leicht grippeähnliche Pontiac-Fieber ebenso wie schwerste Pneumonien mit multipler Organbeteiligung oder die seltenen extrapulmonalen Infektionen.

## 2 Mikrobiologie der Legionellen

### 2.1 Morphologie und mikroskopische Darstellung

Obwohl Legionellen mit der üblichen Gram-Färbung nur schlecht darstellbar sind, ähnelt ihre Zellhülle mit 2 dreischichtigen Membranen und einer zwischengelagerten Peptidoglykanschicht stark der anderer gramnegativer Stäbchen, wie beispielsweise der Enterobacteriaceae. Um die Darstellung zu verbessern, wurde als Gegenfärbung 0,1%iges Karbolfuchsin empfohlen [107]. In der Ziehl-Neelsen-Färbung erweisen sich Legionellen als nicht säurefest, wenngleich über einzelne Spezies wie *L. micdadei* anderslautende Berichte vorliegen [256]. Im Lungengewebe eignen sich vor allem Silberimprägnationsverfahren, wie das nach Dieterle



**Abb. 1.** *Legionella pneumophila*, Kulturpräparat (x 1000) direkte Immunfluoreszenz

oder Faine, zur Darstellung der Legionellen [111, 163]. Es muß jedoch betont werden, daß legionellaspezifische Darstellungen nur bei Verwendung spezifischer Antisera möglich sind, sei es mit dem Immunfluoreszenzverfahren, der Immunperoxidase markierung oder auch der Immunelektronenmikroskopie [56, 85].

Während Legionellen in infizierten Geweben eher als kurze, manchmal kokkoid erscheinende, Stäbchenformen ( $1,5 \times 0,5 \mu\text{m}$ ) erscheinen, bilden sich auf künstlichen Medien längere Stäbchen ( $2\text{--}6 \mu\text{m}$ ) bis hin zu langen Filamenten ( $\text{--}100 \mu\text{m}$ ) (448) (Abb. 1). In elektronenmikroskopischen Aufnahmen können Legionellen Fimbrien aufweisen und meist sind die Stämme mittels einer oder mehrerer polar angeordneter Geißeln beweglich [502]. Obwohl gelegentlich saure Polysaccharide rund um agarkultivierte Stämme dargestellt wurden, besitzen Legionellen in aller Regel keine Kapseln [449]. Auch Sporen werden nicht gebildet.

## 2.2 Kultur

Legionellen wachsen nicht auf den üblichen bakteriologischen Nährmedien. Mit L-Cysteinhydrochlorid und einem löslichen Eisenpyrophosphat supplementierter Mueller-Hinton-Agar war das erste leidlich brauchbare Nährmedium für Legionellen. Die beiden Stoffe erwiesen sich als essentiell für das Legionellenwachstum und werden seither in fast allen flüssigen und festen Nährmedien verwendet. Die Entwicklung führte zum Feeley-Gorman-Agar, der die Bildung eines braunen Pigments und im langwelligen UV-Licht fluoreszierende Legionellenkolonien be-

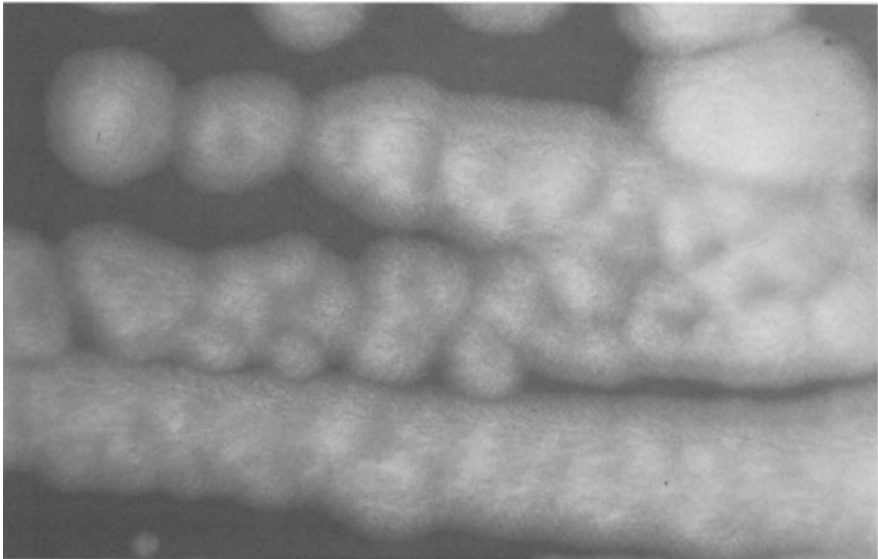
günstigt [176]. Braunes Pigment wird vor allem auf Medien produziert, die mit Phenylalanin oder Tyrosin angereichert sind [17]. Die meisten Kolonien fluoreszieren bei 366 nm buttergelb, doch manche Legionellenspezies zeigen eine intensiv bläulich-weiße und zwei Spezies (*L. erythra* und *L. rubrilucens*) eine rötliche Fluoreszenz. Das kann für eine vorläufige Zuordnung nützlich sein.

Das heute gebräuchlichste Flüssigmedium ist eine sterilfiltrierte gepufferte Hefeextraktlösung mit Zusatz von  $\alpha$ -Ketoglutarat; auch vollständig synthetische Nährlösungen wurden entwickelt [20, 418].

Der „Buffered Charcoal Yeast Extract Agar“ (BCYE $\alpha$ -Agar), ein mit  $\alpha$ -Ketoglutarat gepufferter Aktivkohle-Hefeextrakt-Agar nach Edelstein ist der am meisten gebrauchte feste Nährboden [128]. Die Selektivität dieses Mediums kann durch die Zugabe verschiedener antibakterieller Substanzen weiter erhöht werden, beispielsweise durch Mischungen aus Cefamandol, Polymyxin B und Anisomycin oder auch solche aus Glyzin, Vancomycin, Polymyxin B und Anisomycin [127].

Bei einzelnen Legionellenspezies, wie *L. micdadei* und *L. bozemanii*, bringt die Zugabe von 1%igem Rinderserumalbumin zu BCYE $\alpha$ -Agar eine bessere Ausbeute [375]. Die genaue Einhaltung eines pH-Wertes zwischen 6,85 und 6,95 ist entscheidend für die Qualität aller Nährböden. Die Aktivkohle dürfte photochemische Oxidationsreaktionen mit der Bildung von Superoxiden und Peroxiden katalysieren [259].

Nach Inkubation bei der optimalen Bebrütungstemperatur von 30 °C bei normaler Atmosphäre oder in einem auf 5% CO<sub>2</sub> gehaltenen Brutschrank mit erhöhter Luftfeuchtigkeit werden auf BCYE $\alpha$ -Agar die Kolonien nach 2–3 Tagen sichtbar. Primärkulturen können bis zu 10 Tagen benötigen, agaradaptierte Stämme



**Abb. 2.** Kolonien von *Legionella pneumophila* auf „Buffered Charcoal Yeast Extract Agar“ (BCYE $\alpha$ )

wachsen in der Regel schneller. Die Kolonien haben nach 2–3 Tagen einen Durchmesser von 1–2 mm und zeigen eine blau-rosa Opaleszenz. Unter dem Plattenmikroskop erkennt man runde, nicht ganz glatte Kolonien mit einer wenig kompakten wolkigen Struktur (Abb. 2).

### 2.3 Biochemische Identifizierung

Legionellen sind strikte Aerobier [421]. Aminosäuren wie Threonin, Serin, Arginin, Valin, Methionin, Glutaminsäure oder Glutamin stimulieren das Legionellenwachstum und dürften als primäre Energiequelle dienen [208]. *L. pneumophila* scheint jener Enzymkomplex zu fehlen, der die O-Azetylierung von Serin und darüber hinaus die Umwandlung in Cystein katalysiert. Das essentielle Nährstoffbedürfnis nach Cystein könnte hierin begründet liegen.

Die üblichen biochemischen Testverfahren sind für die Identifizierung nur von beschränktem Wert. Legionellen können Kohlenhydrate weder oxidativ noch fermentativ verwerten. Alle Legionellen erweisen sich als katalasepositiv; es empfiehlt sich jedoch, die Untersuchung als Röhrchentest durchzuführen [419]. Die Stärke der Katalasereaktion ist bei einigen Stämmen nur sehr schwach ausgeprägt. Legionellen können Nitrat nicht zu Nitrit reduzieren, auch die Ureasereaktion bleibt negativ [290]. Für die Durchführung der Oxidasereaktion sollte 1% N,N,N,N,-Tetramethyl-p-Phenylendiamin als Substrat verwendet werden. Während Stämme von *L. pneumophila* meistens einen positiven Oxidasenachweis ergeben, ist dieser für andere Spezies, wie beispielsweise *L. micdadei* und *L. longbeachae*, obligatorisch. Eine Reihe anderer Legionellenspezies, wie *L. dumoffii* oder *L. gormanii*, zeigen keine Oxidasereaktion.

*L. pneumophila* kann die Spaltung von 1% Hippurat katalysieren. Diese Reaktion läßt sich einfach durch Zugabe einer Ninhydrinlösung nachweisen und gestattet die vorläufige Zuordnung zur Spezies *L. pneumophila* oder den Non-pneumophila-Spezies [250].

Die proteolytische Aktivität der meisten Legionellenspezies wird am einfachsten durch die Auflösung eines Gelatinefilms nachgewiesen. Die Fähigkeit zur Produktion von  $\beta$ -Laktamasen kann mittels Penicillin G-Spaltung und anschließender Jod-Stärke-Reaktion oder mit dem chromogenen Cephalosporin Nitrocefim erfolgen [9].

### 2.4 Taxonomie

Innerhalb von 13 Jahren ist die Gattung *Legionella*, die das einzige Genus der Familie Legionellaceae bildet, sehr stark angewachsen. Die 9. Ausgabe von Bergey's Manual of Systematic Bacteriology nennt die Legionellaceae als Familie VII der gramnegativen aeroben Stäbchen und Kokken [63]. Während dieses 1984 erschienene Manual noch 6 Legionellenspezies aufführt, ist deren Anzahl mittlerweile auf mindestens 35 angewachsen. Da die Spezies *L. pneumophila* inzwischen

14 Serogruppen und einige weitere Legionellenspezies mindestens 2 Serogruppen aufweisen, gibt es zur Zeit 53 immunologisch unterscheidbare Legionellentypen [33]. Folgende Auflistung gibt einen Überblick. Diese Zahl dürfte weiter steigen [536].

- L. pneumophila 14 Serogruppen (sg)<sup>3</sup>
- L. anisa<sup>3</sup>
- L. birminghamensis<sup>3</sup>
- L. bozemanii (2 sg)<sup>3</sup>
- L. cinncinatiensis<sup>3</sup>
- L. dumoffii<sup>3</sup>
- L. feeleii (2 sg)<sup>3</sup>
- L. gormanii<sup>3</sup>
- L. hackeliae<sup>3</sup>
- L. israelensis<sup>3</sup>
- L. jordanis<sup>3</sup>
- L. longbeachae (2 sg)<sup>3</sup>
- L. maceachernii<sup>3</sup>
- L. micdadei<sup>3</sup>
- L. oakridgensis<sup>3</sup>
- L. wadsworthii<sup>3</sup>
- L. tucsonensis<sup>3</sup>
- L. sainthelensis (sg 2)<sup>3</sup>
- L. brunensis
- L. cherrii
- L. erythra
- L. fairfieldensis
- L. geestiae
- L. jamestowniensis
- L. londoniensis
- L. parisiensis
- L. quateriensis
- L. quinlivanii
- L. gratiana
- L. moravica
- L. nautarum
- L. rubrilucens
- L. sainthelensis (sg 1)
- L. santicrusis
- L. spiritensis
- L. steigerwaltii
- L. worsliensis

Die gültige Einordnung von Bakterienstämmen in eine bestimmte Spezies beruht heute vor allem auf der Untersuchung molekularer Strukturen. Die Zuordnung der

---

<sup>3</sup> Mit bekannter Humanpathogenität.



bislang bekannten 14 Serogruppen zur Spezies *L. pneumophila* folgt im allgemeinen solchen molekulargenetischen Kriterien; die Untersuchung der DNA-Ähnlichkeiten an Stämmen von *L. pneumophila* ergab eine Aufteilung in 3 Gruppen, die als *L. pneumophila* subsp. *pneumophila*, subsp. *fraseri* und subsp. *pascullei* bezeichnet werden [65].

Stärker genetische Heterogenität bieten die anderen Spezies innerhalb der Gattung *Legionella*. Eigentlich fehlt eine molekular definierte Grundlage. Mit der Forderung nach einer mindestens 40%igen DNA-Homologie für die Gattungsdefinition würden die Legionellen in mindestens 14 Gattungen, bei 30% in 11 Gattungen und auf dem 25%-Niveau noch in 9 Gattungen zerfallen. Als Beispiel seien prozentuale DNA-Ähnlichkeiten genannt, die zwischen *L. pneumophila* und *L. longbeachae* 8%, zwischen *L. pneumophila* und *L. gormanii* jedoch nur 1% betragen.

Der einheitliche Gattungsbegriff *Legionella* ist deshalb zwar phänotypisch, nicht aber genotypisch bedingt. In der Tat wurde eine Aufgliederung der Legionellen in mehrere Gattungen immer wieder angeregt, jedoch hat sich dies praktisch nicht durchsetzen können [204]. Die ausgeprägte phänotypische Ähnlichkeit der Legionellen rechtfertigte die Einordnung aller Spezies in eine einzige Gattung [64].

## 2.5 Immunologische Identifizierung

Techniken zur molekularbiologischen Identifizierung von Legionellenstämmen mittels DNA-Hybridisierungstechniken stehen nur in wenigen Zentren zur Verfügung. Eine für die Nomenklatur anerkannte Charakterisierung wird praktisch nur an den Centers for Disease Control (CDC) in Atlanta durchgeführt [34, 60].

Da die schwache biochemische Aktivität für eine Identifizierung nicht ausreicht, bildet derzeit die immunologische Untersuchung von Isolaten die einzige weit verbreitete Charakterisierungstechnik. Prinzipiell können mit Antiseren alle hierfür in Betracht kommenden Verfahren, im einfachsten Fall die Objektträgeragglutination, durchgeführt werden [501]. Die direkte Immunfluoreszenz mit Fluoreszeinisothiocyanat (FITC)-markierten spezifischen Antiseren, wie es von Cherry et al. beschrieben wurde, gilt aber als Referenzmethode [85, 339].

Immunologische Kreuzreaktionen sowohl unter den Legionellen als auch mit einer Vielzahl anderer bakterieller Spezies behindern im Einzelfall die Stammidentifizierung. So ergaben sich mit eigenen Antiseren erhebliche Kreuzreaktionen zwischen Stämmen der Serogruppen 1 und 12, 3 und 6, 8 und 10 oder auch 6 und 12 von *L. pneumophila*. Ebenfalls deutliche immunologische Kreuzreaktionen zeigten sich in unseren Untersuchungen zwischen *L. bozemanii* und *L. jordanii* oder auch zwischen *L. bozemanii* sg 1 und *L. longbeachae* sg 2.

Häufig findet sich auch eine Kreuzreaktivität zwischen Legionellen und Bakterien der *Pseudomonas*gruppe. So fanden Tenover et al. Kreuzreaktionen zwischen Antiseren gegen *L. pneumophila* und ca. 30% der untersuchten *Pseudomonaden*, wie *P. aeruginosa*, *P. putida*, *P. alcaligenes* und *P. fluorescens* [498].

Gelegentlich wurde auch über immunologische Kreuzreaktionen zwischen Legionellen und *Bacteroides fragilis*, *Hämophilus influenzae*, *Bacillus* spp. oder auch *E. coli* berichtet [95, 214, 403, 532]. Während die Spezifität des direkten Immunfluoreszenztests für *L. pneumophila* auf ca. 95% geschätzt wurde, liegen keine Daten über die Spezifität der anderen Legionellenspezies vor [286]. Eigenen Erfahrungen zufolge dürfte diese Spezifität deutlich niedriger liegen.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß die immunologische Erkennung der Legionellenspezies durch die große Zahl der erforderlichen Antisera und die Vielfalt der Kreuzreaktionen stark erschwert wird. Monoklonale Antikörper können hier vielleicht einen Ausweg schaffen.

## 2.6 Identifizierung anhand chemischer Strukturen

Die Probleme mit der immunologischen Bestimmung machen eine ergänzende Identifizierung anhand chemisch bestimmbarer Strukturmerkmale der Bakterienzelle wünschenswert. Die bakterielle Zellhülle enthält verschiedene chemische Komponenten wie Fettsäuren, Membranproteine und Isoprenoidchinone, die sich hierfür gut eignen.

### *Fettsäuren*

Die gaschromatographische Analyse zellulärer Fettsäuren hat für die mikrobiologische Diagnostik erheblich an Bedeutung gewonnen [376]. Moss et al. konnten zeigen, daß die Spezies *L. pneumophila* einen hohen Anteil für Bakterien ungewöhnlicher verzweigt-kettiger Fettsäuren aufweist [377]; die Eignung von Fettsäureanalysen für die Differenzierung von Legionellenstämmen wird wiederholt beschrieben [128, 143].

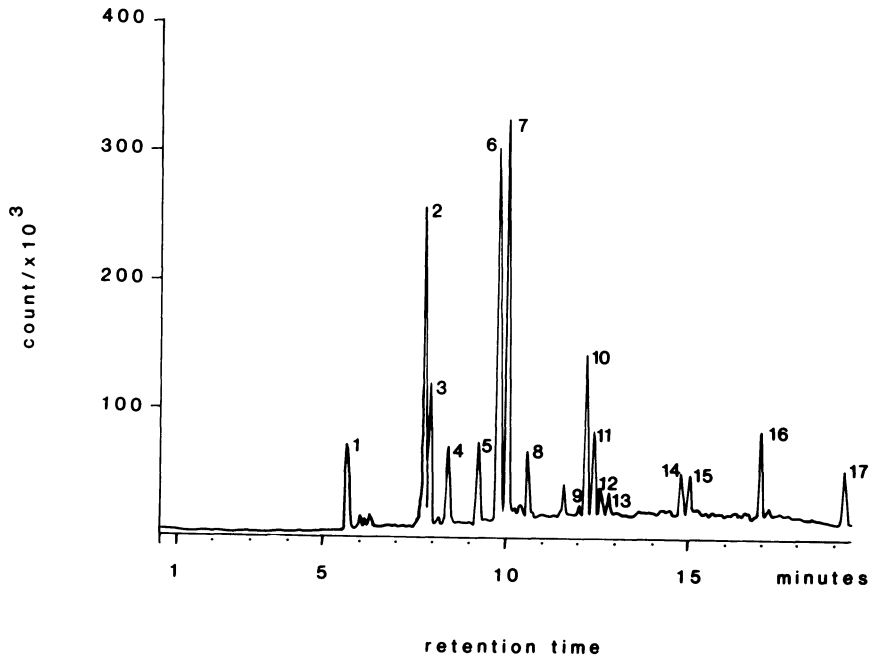
Da mit dieser Technik ein sehr komplexes Gemisch in seine Bestandteile zerlegt wird, resultiert ein nicht ganz einfach zu interpretierendes Chromatogramm (Abb. 3). Wie hier am Beispiel von *L. pneumophila* demonstriert, zeigt sich neben Komponenten minderer Bedeutung vor allem die terminal verzweigte gesättigte Fettsäure i-16:0 mit ca. 30% als Hauptkomponente.

Das dargestellte Muster ist für die Spezies *L. pneumophila* charakteristisch [148]. Analoge Ergebnisse werden auch für andere Legionellenspezies erhalten: die bakteriellen Fettsäuren ermöglichen somit die Zuordnung zu einer Legionellenspezies.

### *Membranproteine*

Proteine bilden wesentliche Strukturen der bakteriellen Zellwand. Die elektrophoretische Analyse der Proteine, besonders der äußeren Bakterienmembran, leistet einen wesentlichen Beitrag zur Identifizierung der Legionellen [145]. *L. pneumophila* weist ein speziesgebundenes Membranprotein von ca. 29 Kilodalton<sup>4</sup> auf, das zur Erkennung dieser Spezies sehr gut geeignet ist (Abb. 4). Der Vergleich

<sup>4</sup> Veraltete atomare Masseneinheit: 1 Dalton =  $1,66018 \times 10^{-27}$  kg.



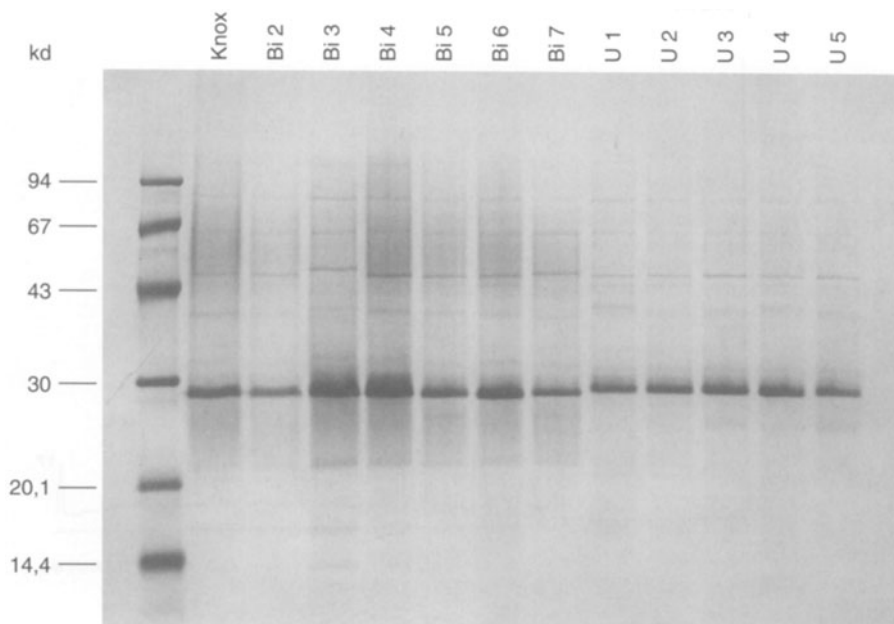
**Abb. 3.** Trennung der Fettsäuremethylester von *Legionella pneumophila* Sg 1 (Phil 1) in der Gaschromatographie mit einer Kapillarsäule DB-1 (s. Text)

des Membranproteins aus dem Referenzstamm vom Philadelphiaausbruch mit einigen Stämmen aus den Lungen von Patienten, aus dem englischen Birmingham und 5 Isolaten aus Münchner Trinkwasser zeigt die Identität des Membranproteinmusters, das für *L. pneumophila* charakteristisch ist. Weitere Untersuchungen haben belegt, daß die Proteinmuster der äußeren Zellwand auch bei anderen Legionellenarten ein speziesspezifisches Charakteristikum darstellen [146]. Die Analyse der Membranproteine wird nach Präparation der äußeren Membran mittels Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamid-Gelelektrophorese (SDS-PAGE) vorgenommen.

### *Isoprenoidchinone*

Naphtochinone und Benzochinone, die die Ubichinone (Coenzym Q) einschließen, bilden die beiden strukturellen Hauptgruppen der Isoprenoidchinone bei Bakterien [378]. Neben ihrer Funktion im Elektronentransportsystem der Zelle haben sie wesentliche Bedeutung für die Taxonomie der Bakterien [41, 94, 257].

Legionellen zeigen ungewöhnlich langkettige Isoprenologe. So weist die Analyse der Ubichinonzusammensetzung von *L. pneumophila* mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) ein charakteristisches Triplet mit der überwiegenden Hauptkomponente von Ubichinon-Q-12, also der Substanz mit 12 Isoprenresten in der Seitenkette auf (Abb. 5). Diese Zusammensetzung von ca. 11% Q-11, 65% Q-12, 22% Q-13 und nur Spuren von Q-14 hat sich als repräsentativ für die



**Abb. 4.** SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese der äußeren Membranen von *Legionella pneumophila*-Stämmen (Knox – Referenzstamm Knoxville 1; Bi2–Bi7 – klinische Isolate aus Birmingham (UK); U1–U5 – Isolate aus Münchener Trinkwasser)

Spezies *L. pneumophila* erwiesen. Ähnliches hat sich für eine Reihe weiterer *Legionellenspezies* ergeben [296].

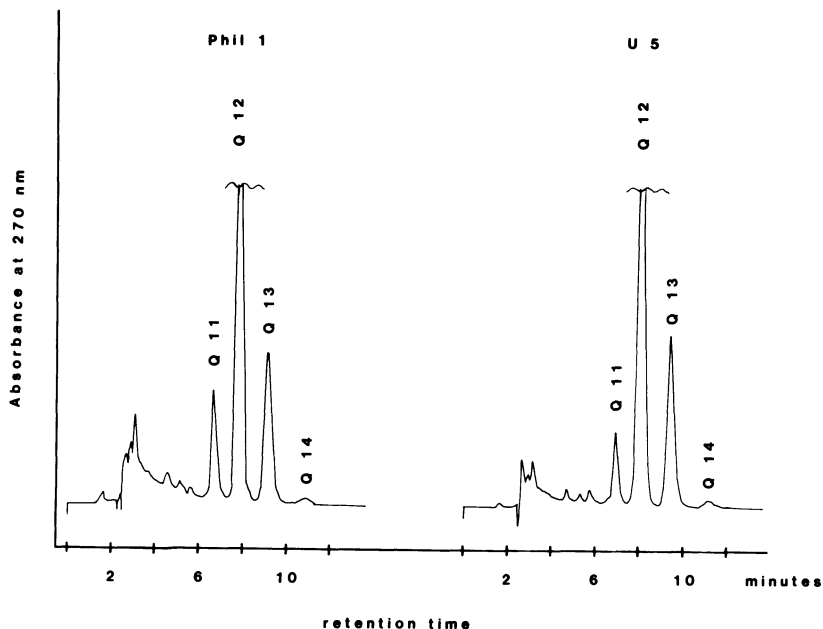
Da sowohl die Extraktion der Bakterienzellen mit organischem Lösungsmittel als auch die einfach automatisierbare HPLC-Analyse leicht an einer größeren Probenzahl durchgeführt werden kann, empfiehlt sich die dargestellte Ubichinonanalytik vor allem für größere Serien.

## 2.7 Molekularbiologische Identifizierung

Nukleinsäuresonden haben gegenüber herkömmlichen Methoden deutliche Vorteile. Der wesentliche Vorzug liegt in ihrer potentiell hohen Spezifität. Die Genome der bakteriellen Spezies unterscheiden sich, und sogar zwischen Stämmen derselben Spezies gibt es deutliche Differenzen.

Die Präparation der Polynukleotidsonden („probes“) läßt sich entweder durch Klonierung, Oligonukleotidsynthese oder die direkte Extraktion der gewünschten Nukleinsäuresequenz aus einem Bakterienstamm erreichen. Sowohl die klonierten als auch die synthetischen Sonden, letztere meist aus einer definierten Basensequenz bestehend, besitzen eine hohe Spezifität für die Zielmoleküle.

Die derzeit einzige im Handel verfügbare DNA-Sonde (Fa. Gen-Probe Inc., San Diego) für die Legionellenidentifikation wurde 1984 von Kohne et al. entwik-



**Abb. 5.** Vergleich der Elutionsprofile der Ubichinone zweier Stämme von *Legionella pneumophila* in der Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) (Phil 1 – Referenzstamm der Sg 1 aus Philadelphia; U 5 – Isolat von Sg 1 aus Münchener Trinkwasser; Q11–Q14 – Ubichinone mit 11–14 Isoprenresten in der Seitenkette)

kelt [314]. Diese Probe gilt als gattungsspezifisch für alle Legionellenspezies [139]. Sie beruht auf der reversen Transkription der ribosomalen RNA von *L. pneumophila* sg 1 unter Verwendung universaler Primer. Gemeinsam mit anderen bakteriellen Genera vorkommende Sequenzen wurden dann herausabsorbiert; die verbleibende Sonde hybridisiert stark mit rRNA der Legionellaceae, schwach oder gar nicht jedoch mit der rRNA anderer Gattungen.

Eine erhebliche Anzahl weiterer Nukleinsäuresonden für Legionellen wurden von Laboratorien in aller Welt entwickelt. Im Entwicklungsstadium befindet sich die jüngste, für die Zukunft vielversprechende neue Technik der Polymerasekettenreaktion. Mahbubani et al. ist es damit bereits gelungen, unter Amplifikation des sog. mip („macrophage infectivity potentiator“)-Gens den Nachweis einer einzigen Zelle von *L. pneumophila* zu führen [156, 348].

Die Aussagen zur Identifikation von Legionellenspezies lassen sich folgendermaßen zusammenfassen: immunologische Methoden sind nützlich und hilfreich; in vielen Fällen läßt sich damit jedoch keine eindeutige Aussage erzielen. Dann müssen chemische Methoden wie die Analyse von bakteriellen Fettsäuren, Membranproteinen und Ubichinonen oder molekularbiologisch basierte Nukleinsäuretechniken eingesetzt werden. Keinesfalls sind gleichzeitig alle Methoden erforderlich, so daß die Auswahl von Ausstattung und Erfahrungen des jeweiligen Laboratoriums abhängt.

## 2.8 Antibiotikaempfindlichkeit

Die ersten Erfahrungen von Philadelphia wirken bis heute: seinerzeit brachten das Erythromycin und die Tetracycline die besten Behandlungsergebnisse [190]. Die Gabe von Erythromycin wurde zur bevorzugten Behandlung erkoren und ist es bis jetzt geblieben. Hätte sich der Ausbruch in Mitteleuropa ereignet, wo Makrolide damals viel seltener für die Behandlung von Erwachsenen eingesetzt wurden als in den USA, wäre es nicht so schnell zu dieser Empfehlung gekommen.

Die überlegene klinische Wirkung des Erythromycin wurde in Experimenten an Tieren, Bruteiern und auf künstlichen Nährböden bestätigt [191, 336, 506]. Die Resultate dieser ersten provisorischen Versuche blieben auch in anderer Hinsicht bis heute gültig: sie zeigten die begrenzte Wirkung der  $\beta$ -Laktame und Aminoglykoside sowie die hohe Aktivität des Rifampicin, das deshalb ebenfalls schnell Eingang in die Therapie fand [466]. Doch erst die Entwicklung brauchbarer Nährböden ermöglichte systematische Untersuchungen.

Unter den  $\beta$ -Laktamantibiotika zeigen sich die Cephalosporine aktiver als die Penicilline. Das Penicillin G selbst und die Acylureidopenicilline Mezlocillin, Azlocillin und Piperacillin wirken nur mäßig; für die Aminopenicilline Ampicillin und Amoxicillin ist dagegen die Mehrzahl der untersuchten Stämme, gemessen an den üblichen Bewertungskriterien, empfindlich [133, 424, 456, 487, 510]. Die Kombination mit dem  $\beta$ -Laktamaseinhibitor Clavulansäure steigert und stabilisiert die Wirkung der Aminopenicilline [293, 424, 487].

Unter den Cephalosporinen heben sich Cefotiam, Cefoxitin, Cefoperazon und die Cephalosporine der 3. Generation Cefotaxim, Ceftizoxim, Cefmenoxim und Ceftriaxon hervor. Auffallend hoch ist die Aktivität von Ceftazidim und Cefpirom, die die geprüften Stämme schon in Konzentrationen von  $< 1$  mg/l vollständig hemmen [133, 407, 456, 521]. Imipenem bietet die unter den  $\beta$ -Laktamen höchste Aktivität, hemmt alle Teststämme in Konzentrationen von  $< 0,125$  mg/l und ist nach den Berichten über zufällige Behandlungen auch therapeutisch effektiv [89, 172, 337, 379, 456]. Sehr viele Legionellen, mit Ausnahme der Spezies *L. micdadei* und *L. oakridgensis*, bilden  $\beta$ -Laktamasen vom Typ TEM-3; deren Wirkung wird jedoch an den minimalen Hemmkonzentrationen nicht eindeutig erkennbar [197, 293, 505].

Die Hemmwerte der Aminoglykoside Gentamicin, Tobramycin, Netilmicin und Amikacin lassen alle untersuchten Stämme *in vitro* empfindlich erscheinen [133, 407]. Fosfomycin zeigt mäßige, Sulfamethoxazol und Trimethoprim dagegen gute Aktivität [510].

Die für die Behandlung von Legionelleninfektionen gebräuchlichen Antibiotika sind, wie zahlreiche Studien *in vitro* demonstrieren, ohne Einschränkungen wirksam. Erythromycin hemmt alle untersuchten Legionellenstämme in Konzentrationen bis 1 mg/l. Neuere Makrolidantibiotika wie Roxithromycin, Clarithromycin und Azithromycin erweisen sich im Vergleich zu Erythromycin leicht überlegen [132, 186, 292, 293, 337]. Eine natürliche Resistenz von Legionellen gegen Erythromycin wurde bisher nicht beobachtet, doch konnten resistente Mu-

tanten durch Züchtung auf antibiotikahaltigen Nährmedien experimentell erzeugt werden [23, 123].

Rifampicin ist die Substanz mit der höchsten Aktivität; in der Mehrzahl der In-vitro-Studien liegen die Hemmwerte bei maximal 0,03 mg/l, meistens jedoch weit darunter [133, 466]. Dennoch wird die Monotherapie mit Rifampicin nicht empfohlen, um eine Resistenzentwicklung zu vermeiden, die bei anderen Erregern unter die Behandlung mit Rifampicin öfters vorkommt. Rifampicinresistente Legionellen lassen sich experimentell erzeugen, sie treten, wie ein Beispiel zeigt, aber auch spontan auf. In Kombination mit Erythromycin und Amoxycillin sowie Ciprofloxacin wurden die resistenten Legionellen jedoch abgetötet [23].

Vielversprechend erscheinen die modernen 4-Fluorchinolone wie Ofloxacin, Ciprofloxacin, Pefloxacin, Enoxacin; sie hemmen Legionellen in sehr niedrigen Konzentrationen und sind in Tierversuchen dem Erythromycin gleichwertig oder überlegen [108, 121, 457, 462, 463]. Durch die neuen, experimentell und therapeutisch noch nicht voll erprobten Substanzen wie Lomefloxacin, Sparfloxacin, Amifloxacin, Difloxacin und Fleroxacin wird die Wirkung auf Legionellen offensichtlich nicht gesteigert [140, 141, 291].

Die Tetrazykline sind in der Muttersubstanz wie in den Derivaten Doxycyclin und Minocyclin gleich wirksam, besitzen aber nicht die therapeutische Breite und hohe Aktivität der anderen Substanzgruppen [466].

Diese Ergebnisse bergen manche Probleme, vor allem kann die Testmethodik nicht annähernd als standardisiert gelten. Die Studien, aus denen die Angaben stammen, wurden mit dem Agardilutionstest und meistens auf Nährböden durchgeführt, die Holzkohle enthalten. Die Holzkohle im Testmedium hemmt die Wirkung vieler Antibiotika; besonders ausgeprägt ist dieser antagonistische Effekt für die Chinolone und für Rifampicin. Die Untersuchung auf holzkohlefreien Nährböden erhöht die Aktivitäten beträchtlich [108, 458]. Auch die Auswahl der Teststämme oder die Menge der verimpften Bakterien wechseln in den verschiedenen Untersuchungen. Mit der Menge der inokulierten Bakterien steigen die Hemmkonzentrationen; dieser Effekt ist bei den Penicillinen besonders ausgeprägt.

Sonstige Unterschiede in der Empfindlichkeit der Stämme, etwa zwischen Patienten- und Umweltisolaten, existieren offensichtlich nicht. Die Überzahl der bisher geprüften Stämme gehört jedoch zur Spezies *L. pneumophila*; andere Arten wurden meist nur in kleiner Zahl untersucht, so daß Abweichungen bisher verborgen geblieben sein können.

Die in vitro gewonnenen Daten über die Antibiotikaempfindlichkeit der Legionellen gelten als besonders eindrucksvolles Beispiel für eine schlechte Korrelation von mikrobiologischen und klinischen Ergebnissen. Die  $\beta$ -Laktame und Aminoglykoside bleiben trotz guter Aktivität im Agardilutionstest therapeutisch wirkungslos, wie die Erfahrungen zeigen. Das hat mehrere Gründe: Bei der Infektion gelangen die Erreger in die Phagosomen der Granulozyten und Alveolarmakrophagen, wo sie überleben und sich vermehren.  $\beta$ -Laktame und Aminoglykoside passieren die Membranen dieser Zellen nur in geringen Mengen, die Makrolide, Rifampicin und die Chinolone werden dagegen in den Zellen über die extrazelluläre Konzentration hinaus kumuliert. Genaue Kenntnisse über das Maß der intra-

zellulären Kumulation sind nur mit sehr artefiziellen Versuchsanordnungen an isolierten Zellen zu erhalten. Sie ergeben Relationen der extra- und intrazellulären Antibiotikakonzentration, entsprechen aber nicht den Bedingungen während einer floriden Infektion im Organismus und bringen keine quantitativen Angaben, nach denen sich die Substanzen als wirksam oder unwirksam oder die intrazellulären Erreger als empfindlich oder resistent einstufen ließen. So geben weder die minimalen Hemmkonzentrationen noch die intrazellulären Konzentrationen eine zuverlässige Vorhersage der Wirkung *in vivo*.

Prüfungen der Wirksamkeit in Zellkulturen und in Tierversuchen sind deshalb von besonderer Bedeutung. Bacheson infizierte embryonale Lungenfibroblasten mit *Legionella pneumophila* und setzte sie verschiedenen Antibiotikakonzentrationen aus. Nach der Behandlung wurde die Zahl der überlebenden Bakterien bestimmt [15]. Horwitz näherte sich den Verhältnissen während der Erkrankung und verwendete Makrophagen [279]; ähnliche Anordnungen wählten Saito, Vilde, Havlichek, Pohlod und andere Untersucher [243, 307, 425, 462, 463, 521, 547]. Fitzgeorge unternahm Versuche an Lungenmakrophagen von Meerschweinchen, die er vorher mit legionellenhaltigen Aerosolen infiziert hatte [182]. Derartige Methoden werden seitdem ständig verwendet; so wurde die intrazelluläre Wirkung von Erythromycin, Rifampicin und Tetrazyklin, von Ciprofloxacin, Ofloxacin, Pefloxacin, von Roxithromycin und Clarithromycin sowie einer Reihe noch in Entwicklung begriffener Makrolide und Chinolone untersucht. Auch Hühnerembryonen werden noch immer für experimentelle Therapiestudien gebraucht [515].

Die in diesen Studien verwendeten Antibiotika bewirken, abhängig von der Konzentration, eine zum Teil unvollständige, in jedem Fall aber reversible Hemmung der intrazellulären Vermehrung der Legionellen; deren sichere Abtötung könnte die therapeutische Überlegenheit neuer Verbindungen versprechen.

Tierversuche wurden schon unmittelbar nach Entdeckung der Legionellen von Fraser an intraperitoneal infizierten Meerschweinchen vorgenommen; eine Pneumonie war so aber nicht zu erzeugen [191]. Um den Bedingungen einer aerogenen Infektion näherzukommen, wurden die Tiere später mittels Aerosol oder durch intratracheale Inokulation der Erreger infiziert. Mit dieser Methode führten neben anderen Edelstein, Saito, Pasculle, Hara und Havlichek ihre Untersuchungen durch [138, 235, 242, 407, 462, 463]. Beurteilt werden die Überlebenszeit der Tiere, die Antibiotikaspiegel im Serum und im Lungengewebe sowie die Zahl der im Lungengewebe persistierenden Legionellen.

Sowohl die Experimente an Zellkulturen wie die Tierversuche bestätigen das in der Klinik Erfahrene, nämlich die Wirksamkeit von Erythromycin, Rifampicin und neuerdings von Ofloxacin, Ciprofloxacin und Pefloxacin sowie den unzureichenden Effekt der Betalaktame und Aminoglykoside. Dabei zeigt sich tendenziell eine Überlegenheit des Rifampicin und der Chinolone über das Erythromycin.

Die Simulation der menschlichen Infektionen in Tieren stößt aber bei der Infektionsdosis, der Dosierung und Applikationsweise der Medikamente auf Grenzen. Die Antibiotika wurden oral, subkutan, intramuskulär, intraperitoneal oder durch Aerosol in verschiedenen Dosen verabreicht, weshalb die Ergebnisse nur schwer vergleichbar sind.



So muß trotz der aufwendigen Versuche letzten Endes der Erfolg am Kranken entscheiden. Die erfolgreichen Therapieformen waren im Falle der Legionärskrankheit durch klinische Erfahrungen schon vor Beginn aller Experimente bekannt.

### 3 Pathogenese und Virulenz

#### 3.1 Interaktion mit anderen Mikroorganismen

Trotz der besonderen Bedürfnisse bei der Anzucht im Labor leben Legionellen ubiquitär im scheinbar anspruchslosen Milieu natürlicher Gewässer. Jedoch wachsen die Legionellen in der natürlichen Umwelt in ökologischer Wechselbeziehung mit einer Reihe anderer Wasserorganismen.

Photosynthetische Cyanobakterien, heterotrophe Bakterien, frei lebende Amöben und begeißelte Protozoen können das Wachstum von Legionellen unterstützen. Bereits im Jahre 1981 berichtete Rowbotham als erster über Wechselwirkungen zwischen *L. pneumophila* und frei lebenden Amöben, während Tison im gleichen Jahre über die Assoziation zwischen Legionellen und Blaualgen berichtet hatte. Die Vermehrung von *L. pneumophila* als intrazellulärer Parasit des begeißelten Protozoons *Tetrahymena pyriformis* wurde von Fields et al. beschrieben, aber auch andere Protozoen wie *Naegleria fowleri*, *Naegleria lovaniensis* oder auch Acanthamoeben wie *A. castellanii* oder *A. palestinensis* ermöglichen die intrazelluläre Replikation von Legionellen [5, 180, 262, 393, 453, 507, 514].

Die Vermehrung der Legionellen in Protozoen ähnelt jener in menschlichen Monozyten, wobei eine Assoziation zwischen der Virulenz der Legionellen und ihrer Vermehrungsfähigkeit in Protozoen besteht [271]. Protozoen stellen vermutlich den natürlichen Wirt der Legionellen dar, der ihnen auch Schutz vor schädlichen Einflüssen wie dem Chlor als Desinfektionsmittel gewährt [275]. So ließ sich zeigen, daß *Acanthamoeba polyphaga* intrazellulär wachsende Legionellen vor der Einwirkung extrem hoher Spiegel von 50 mg/l freiem Chlor zu schützen vermag [302]. Auf diese Weise können Legionellen auch intensiven Desinfektionsversuchen entgehen.

#### 3.2 Mechanismen der Infektion

Trotz eines reichen Wissens um Details, das im wesentlichen aus Tierversuchen stammt, ist die Pathogenese der Legionelleninfektionen bisher in wesentlichen Punkten ungeklärt.

Die Erreger gelangen durch Aspiration oder direkte Inhalation in die Atemwege; der wahrscheinlichste Weg ist wohl die Mikroaspiration. Der Oropharynx und die Atemwege werden jedoch durch die Legionellen nicht kolonisiert; seitens der Mund-Rachen-Flora sind sowohl symbiontische wie antagonistisierende Effekte beschrieben worden [491]. Über eine spezifische Adhärenz der Legionellen an das

oropharyngeale oder tracheobronchiale Epithel vermittelt Pili, die die Legionellen besitzen, ist nichts Näheres bekannt. Die mikrobielle Aktivität am tracheobronchialen Epithel ist offensichtlich gering, da kaum Schäden gesehen werden [27]. Die Legionellen unterliegen der mukoziliären Clearance; das belegt auch der Umstand, daß Störungen dieses Mechanismus, beispielsweise durch Rauchen oder Alkoholabusus, einen wichtigen Risikofaktor bilden.

Mit dem Erreichen der Alveolen entscheidet die Virulenz der Erreger und die Abwehrkraft des Wirts über die weitere Entwicklung der Infektion. Der erste und wichtigste Schritt in der Pathogenese ist die Aufnahme der Legionellen durch die Alveolarmakrophagen. Die Erreger werden schnell aufgenommen, opsonierende Antikörper steigern die Phagozytose [391]. Die Erreger gelangen über spiralig gerollte Pseudopodien in die Phagosomen, ein eigenartiger Vorgang, der auch als „coiling phagocytosis“ bezeichnet wird [274]. In den Phagosomen, die von Ribosomen und Mitochondrien gesäumt sind, persistieren die Legionellen, da die Fusion der Phagosomen mit den Lysosomen, die die bakteriolytischen Enzyme enthalten, nicht stattfindet [212, 271, 273]; im Gegenteil, die Legionellen können sich gut und bei akuten Infektionen sogar exponentiell vermehren. In der Folge platzt die Zelle, die Erreger gelangen ins Lungenparenchym und der Zyklus wiederholt sich. Neben der phagolysosomal Fusion wird auch die Säuerung des phagosomalen Inhalts gehemmt [276]. Auch andere bakterizide Mechanismen wie der „oxidative burst“ bleiben ohne entscheidende Wirkung.

Möglicherweise werden von den befallenen Makrophagen chemotaktisch wirkende Stoffe abgegeben, die polymorphkernige Granulozyten und Monozyten anlocken [104]. Die Rolle der Leukozyten während der Infektion ist schwer zu verstehen. Ihre Bedeutung scheint eher gering zu sein, zeigen doch auch neutropenische Patienten keine auffällig erhöhte Empfindlichkeit für Legionelleninfektionen. Leukozyten und monozytäre Zellen bilden eine 2. Front: *Legionella pneumophila* widersteht auch der intrazellulären Abtötung durch die Leukozyten, obwohl die O<sub>2</sub>-abhängigen mikrobiziden Mechanismen in Gang kommen [342]. Im Gegensatz zu den monozytären Zellen vermehren sich die Legionellen aber nicht in den Leukozyten [104, 278].

Über die Wirkung anderer unspezifischer und spezifischer Faktoren der Abwehr gibt es nur fragmentarische Kenntnisse. Die Legionellen binden oberflächlich den Komplementfaktor C 3, dieser Faktor wird als Bindeglied für die Monozytenrezeptoren verfügbar [413].  $\gamma$ -Interferon aktiviert die Makrophagen, das intrazelluläre Wachstum der Legionellen zu hemmen; die Abtötung wird jedoch nicht gesteigert [40]. Dieser Mechanismus ist jedoch nicht spezifisch gegen Legionellen gerichtet [210]. Sowohl beim Patienten wie bei Versuchstieren reagieren die Monozyten auf das Legionellenantigen mit der Produktion monozytenaktivierender Zytokine einschließlich des erwähnten  $\gamma$ -Interferon und des Interleukin-1 [40, 272, 308].

Spezifische humorale Abwehrmechanismen stehen bei den Legionelleninfektionen nicht im Vordergrund. Die Antikörper fördern die Bakterizidie des Komplements nicht und steigern nur mäßig die Abtötung durch die phagozytären Zellen (Leukozyten, Monozyten, Makrophagen), sie haben keine Wirkung auf die in-

trazelluläre Vermehrung [278]. Die während der Infektion gebildeten IgM-Antikörper vermitteln aber offensichtlich eine erhöhte Widerstandsfähigkeit bei erneutem Kontakt mit dem Erreger [59, 451].

Die zellulären Abwehrreaktionen stehen im Vordergrund. Patienten, deren zelluläre Abwehr wie bei Leukämie oder Immunsuppression beeinträchtigt ist, werden von Legionelleninfektionen häufiger betroffen. In den ersten beiden Wochen nach der Infektion kommt es zur Lymphozytenproliferation und zur Entwicklung einer Hautreaktion vom verzögerten Typ [59, 195].

Die Frage, ob Legionelleninfektionen eine Immunität hinterlassen, bleibt vorerst noch offen. Tierexperimente geben keine schlüssige Auskunft und bieten sogar widersprüchliche Ergebnisse. So waren Meerschweinchen, die mit abgetöteten Bakterien immunisiert worden sind, gegen eine intraperitoneale Infektion geschützt [150]. Durch die Behandlung mit einem subletal dosierten Legionellenaerosol wurden die Tiere gegen spätere Infektionen unempfindlich [537]. In einem anderen Versuch jedoch konnten aerosolimmunisierte Meerschweinchen nicht gegen eine erneute Aerosolinfektion geschützt werden, im Gegenteil, die Tiere starben schneller [28].

Unklar bleibt, ob Menschen immun gegen eine Reinfektion sind, wenn sie eine Erkrankung durch Legionellen überstanden haben. Die Immunantwort auf isolierte Erregerbestandteile ist jedenfalls heterogen.

### 3.3 Virulenzfaktoren

Die Erfahrung hat gezeigt, daß bestimmte mit monoklonalen Antiseren definierte Untergruppen der Serogruppe 1 von *L. pneumophila* beim kranken Menschen sehr viel häufiger gefunden werden, als ihrem Vorkommen in der Umwelt entspricht [120, 147]. Bestimmte Faktoren, die jedoch nicht unbedingt dem von Antigen entsprechen müssen, sollten also zu einer Selektion von virulenteren Subtypen aus einem Pool unterschiedlich virulenter Stämme als besonders aggressive Krankheitserreger führen.

Bestimmte Eigenschaften virulenterer Stämme wurden mit analogen Faktoren weniger virulenter Stämme verglichen, um auf diese Weise Virulenzunterschiede herauszuarbeiten. Die meisten Proteine der Zelloberfläche von Legionellen erwiesen sich als speziesspezifisch, während bestimmte Proteinantigene, z.B. im 60-kdal-Bereich, als gattungsspezifisch beschrieben wurden [145, 410]. Kapselähnliche Substanzen ließen sich zwar gelegentlich bei Legionellen nachweisen, jedoch nicht eindeutig mit der Virulenz der betreffenden Stämme assoziieren [449]. Ob die bei Legionellen in unterschiedlichen Verteilungen gefundenen Katalasen, Peroxidasen und Superoxiddismutasen Einfluß auf die Virulenz ausüben, muß ebenfalls offen bleiben [420].

Sowohl Pili als auch Flagellen wurden bei Legionellen gefunden, gleichfalls ohne eindeutigen Einfluß auf die Virulenz [83, 447]. Das Hauptmembranprotein der äußeren Zellwand von *L. pneumophila* erwies sich als Porin und als Rezeptor für die Bindung des Komplementfaktors C 3, einer wesentlichen Eigenschaft für

die Opsonisierung und Phagozytose, und somit letztlich auch für die zellulären Abwehrmechanismen [31, 146, 202].

Verschiedene toxinartige Faktoren wurden bei Legionellen beschrieben. Zwar zeigen, ähnlich wie bei anderen gramnegativen Stäbchenbakterien, die Lipopolysaccharide der bakteriellen Zellwand eine gewisse Endotoxinwirkung, jedoch ist diese Aktivität eher geringer ausgeprägt als bei anderen Bakterien [96, 396]. So beschrieben Baine und Mitarbeiter Zytotoxine und Phospholipase-C-Aktivität bei verschiedenen Legionellenspezies [16]; sowohl die zytotoxischen Aktivitäten als auch die Fähigkeit von Phospholipase C zur Schädigung der Säugetierzellmembran mögen für die Virulenz von Legionellen eine gewisse Bedeutung haben.

Eine Reihe von Untersuchungen befaßt sich mit der Induktion von Interferon und Tumornekrosefaktor durch Antigene von *L. pneumophila* und der biologischen Wirkung dieser Aktivierung [40, 47]. So konnte zwar gezeigt werden, daß Interferon- $\gamma$ -aktivierte menschliche Monozyten die intrazelluläre Multiplikation von *L. pneumophila* zu hemmen vermögen, eine synergistische Wirkung von Interferon  $\gamma$  und chemotherapeutisch verwendeten Substanzen ließ sich jedoch nicht nachweisen [39, 40, 46]. Auch dem lokal sezernierten Tumornekrosefaktor kommt zumindest in der experimentellen Infektion ein gewisser protektiver Effekt zu [45].

Für die Virulenz von Legionellen haben extrazellulär sezernierte gewebserstörende Proteasen große Bedeutung. Vor allem eine 38-kdal-Zink-Metalloprotease ist in der Lage, bei Applikation an der Meerschweinchenlunge Läsionen zu setzen, die denen bei der experimentellen und klinischen Legionellenpneumonie sehr ähneln [48, 124]. In Kulturüberständen findet sich diese Protease als mengenmäßig überwiegendes Protein, das neben kaseolytischer und kollagenolytischer Aktivität auch zytotoxische Eigenschaften für Zellkulturen und Erythrozyten aufweist [299, 435].

### 3.4 Tiermodelle und Zellkulturen

Manche Umweltisolate von *L. pneumophila* besitzen die Fähigkeit, Tiere im Experiment zu infizieren, während andere in dieser Hinsicht vollständig avirulent sind. Im typischen Fall werden Patientenisolate durch wiederholte Kultivierung auf künstlichen Nährmedien im Tierversuch avirulent [80, 153]. Ob diese Konversion zur Avirulenz durch einen oder über mehrere Mechanismen abläuft und ob irgendeine dieser avirulenten Mutanten spontan wieder zu einem virulenten Phänotyp revertieren kann, ist nicht eindeutig geklärt. Dieses Phänomen kann Pathogenesestudien behindern, da die Manipulation der Bakterien u.U. bereits die Virulenz beeinflusst. Man versucht deshalb bei Virulenzuntersuchungen an Legionellen mit einer möglichst geringen Anzahl von Kulturpassagen zurecht zu kommen.

Nach wie vor bilden Tiermodelle ein wesentliches Hilfsmittel für die Rolle bestimmter bakterieller Faktoren für die Virulenz einer Spezies. Obwohl *L. pneumophila* eine Anzahl verschiedener Tiere zu infizieren vermag, gilt das Meer-

schweinchchen als die am meisten empfängliche Art. Eine der menschlichen Lungenentzündung ähnliche Pneumonie läßt sich im Meerschweinchen durch die Gabe infektiöser Aerosole oder auch durch die intratracheale Instillation von Bakteriensuspensionen erreichen [26, 150]. Wie beim Menschen auch ist die Erkrankung beim Versuchstier charakterisiert durch die Bakterienvermehrung in Alveolarmakrophagen, verbunden mit einer akuten fibrinopurulenten Bronchopneumonie und gefolgt von einer Disseminierung in andere Organe wie die Milz. Auch die intranasale und intraperitoneale Inokulation werden verwendet, um Meerschweinchen zu infizieren, jedoch dürfte der einfacheren Handhabung der Nachteil des unphysiologischen Infektionsmodus gegenüberstehen [184, 297]. Während gesunde Mäuse gegen eine Infektion mit Legionellen ziemlich resistent sind, erweisen sich immunsupprimierte Mäuse als empfänglich [46]. Auch Kaninchen und Rhesusaffen sind gegen Legionelleninfekte ziemlich widerstandsfähig [26]. Ratten und Hamster lassen sich zwar mit Legionellen infizieren, sterben aber selten an den typischen Manifestationen der Infektion [537].

Für Studien zur Pathogenese und Virulenz von *L. pneumophila* erwiesen sich Zellkulturen menschlicher Alveolarmakrophagen oder Monozyten als gut geeignet [277, 391]. Makrophagen unterstützen die intrazelluläre Replikation und gehen dabei zugrunde. In der Gewebekultur wachsen die Legionellen ausschließlich intrazellulär, während im Lungengewebe Erkrankter sowohl intra- als auch extrazelluläres Wachstum möglich ist [277]. Avirulente Mutanten von *L. pneumophila* können sich in Alveolarmakrophagen weder vermehren noch können sie die Makrophagen abtöten. Deshalb bilden Zellkulturen gute Modelle für die Untersuchung von Virulenzfaktoren.

Auch Zelllinien aus menschlichen Leukämiezellen erwiesen sich als gute Systeme; sie sind auch einfacher zu handhaben. Vor allem die Zelllinie U937 wurde häufig verwendet. Auch in HeLa-Zellen aus menschlichem Zervixkarzinom, in humanen embryonalen Lungenfibroblasten, in menschlichen epithelialen Larynxkarzinomzellen, in Verzellen von Affen oder McCoy-Zellen von Mäusen lassen sich Legionellen zur Vermehrung bringen [103, 238, 372, 401, 414, 540]. Die Verfügbarkeit solcher Zellkulturmodelle erleichtert Screeninguntersuchungen an großen Zahlen transposoninduzierter Legionellenmutanten, für welche sonst umfangreiche Tierstudien erforderlich wären.

### 3.5 Molekularbiologische Untersuchungen

In den letzten Jahren wurden mehr und mehr auch molekularbiologische Methoden verwendet, um genetische Faktoren der bakteriellen Virulenz zu definieren. Vielen dieser Studien liegt die plausible Annahme zugrunde, daß die Fähigkeit zu intrazellulärem Wachstum eine unabdingbare Voraussetzung für die volle Virulenz der Legionellen darstellt. Die Selektion spezifischer Mutanten, die Bestimmung ihres pathogenetischen Phänotyps und der Vergleich dieser Eigenschaften mit dem Wildtyp sind ein gangbarer Weg für solche Studien. So konnte gezeigt

werden, daß thymidinauxotrophe Mutanten die Fähigkeit verloren haben, sich in Monozyten zu vermehren [371].

Legionellenantigene ließen sich in *E.coli*-Zellen klonieren und auch zur Expression bringen [157]. In der Folge wurden bestimmte *E.coli*-Klone, die individuelle Antigene von *L. pneumophila* auf ihrer Oberfläche exprimieren, dazu genutzt, monospezifische Antikörper durch Affinitätschromatographie zu reinigen und auf diese Weise die Kreuzreaktivität bestimmter Antigene innerhalb der Gattung *Legionella* zu untersuchen [159].

Sowohl mit polyklonalen als auch mit monoklonalen Antikörpern ließ sich auf diese Weise ein 60-kdal-Proteinantigen, das mit ähnlichen Proteinen anderer gramnegativer Stäbchen kreuzreagiert, identifizieren [19, 260]. Das 60-kdal-Protein von *L. pneumophila* erwies sich als „heat-shock-protein“, d.h. als ein Protein, das vor allem bei erhöhter Umgebungstemperatur synthetisiert wird.

Die Isolierung von Genen, die für potentielle Virulenzfaktoren kodieren, ist von besonderem Interesse. Durch direkten allelen Austausch ließ sich ein Gen mutieren, das für ein *L. pneumophila*-spezifisches 24-kdal-Oberflächenprotein kodiert [158]. Durch bestimmte molekularbiologische Untersuchungen wurde demonstriert, daß diese DNA-Veränderung bei *L. pneumophila* mit einem spezifischen Verlust der Expression des 24-kdal-Antigens einhergeht. Im Vergleich mit dem isogenen Wildstamm war die Defektmutante wesentlich in ihrer Fähigkeit gehemmt, die oben erwähnten U937-Zellen zu infizieren. Der Mutantenstamm erlangte jedoch nach Wiedereinfügung des betreffenden klonierten 24-kdal-Proteingens seine volle Infektivität wieder. Auf diese Weise ließ sich belegen, daß die reduzierte Infektivität spezifisch auf eine Mutation in diesem Gen zurückzuführen war. Entsprechend dieser Funktion für die Infektivität der Legionellen wurde das betreffende Gen als *mip* („macrophage infectivity potentiator“)-Gen bezeichnet. Die inzwischen vorliegende DNA-Sequenz des *mip*-Gens belegt, daß es sich bei dem Genprodukt nicht um das oben angesprochene Hauptmembranprotein von *L. pneumophila* handelt [91]. So ist von der kontrollierten und gezielten Konstruktion isogener Mutanten die Aufklärung der physiologischen Funktion einzelner Gene in der Virulenzbestimmung von Bakterien in zunehmendem Maße zu erwarten.

## **4 Klinik der Legionellose**

### **4.1 Legionellenpneumonie**

#### *4.1.1 Symptomatik und Verlauf*

Die Inkubationszeit der Legionellenpneumonie beträgt in der Regel 2–10 Tage. Sie kann bei hoher Erregerdosis und abwehrschwachen Personen kürzer, bei Infektionen unter Antibiotikatherapie aber auch bis zu 4 Wochen verlängert sein.

Die typische Erkrankung beginnt stufenweise mit Müdigkeit, Übelsein, Benommenheit, Kopf- und Gliederschmerzen sowie Schweißausbrüchen. Wenige Stunden später steigt die Temperatur plötzlich und schnell; fast alle Patienten bekommen Fieber, mehr als die Hälfte mit ziemlich konstanten Temperaturen über 40 °C. Schüttelfröste sind häufig. Zumeist besteht eine relative Bradykardie, die als wichtiger differentialdiagnostischer Hinweis gilt [190, 306, 512].

Die pulmonalen Symptome wechseln: sie beginnen meist als leichter trockener Husten, der im weiteren Verlauf stärker auffällt und nun auch purulentes Sputum, manchmal mit geringen Anteilen von Blut, fördern kann [249]. Der obere Respirationstrakt ist nur sehr selten beteiligt. Ungefähr ein Drittel der Erkrankten hat Thoraxschmerzen und Dyspnoe, Pleurareiben ist selten [249, 306]. Kleine exsudative Pleuraergüsse kommen öfters vor, regelrechte Empyeme nur in seltenen Fällen [52, 434]. Die Ergüsse können Legionellen enthalten und sollen deshalb für den Erregernachweis punktiert werden. Zu Abszedierung und Einschmelzung neigen vor allem die Patienten mit Abwehrdefekten [324, 335, 476]. Der physikalische Befund präsentiert sich weniger ausgeprägt als es das Röntgenbild erwarten läßt: oft besteht nur eine geringe Dämpfung, Rasselgeräusche bieten drei Viertel der Patienten.

Die Begleitsymptome stammen meist vom ZNS und vom Gastrointestinaltrakt. Neurologische Störungen treten etwa in der Hälfte der Fälle auf, zu jeweils ungefähr der Hälfte als Kopfschmerzen oder Bewußtseinsstörungen in Form von emotionaler Labilität, Desorientiertheit, Verwirrung, Halluzinationen, Benommenheit und Bewußtlosigkeit. Bei solchen Symptomen soll man stets an eine Legionellose denken; sie kommen aber auch bei Pneumonien anderer Ursache öfters vor [548]. Krampfanfälle sind selten. Die meistens schweren und hartnäckigen Kopfschmerzen treten vorwiegend frontal auf. Die Enzephalopathie, die diese Symptome ausdrücken, hinterläßt in der Regel keine bleibenden Folgen, doch wurden längerdauernde Gedächtnisstörungen, Ataxie und periphere Neuropathien beobachtet [287].

Fast ebenso oft finden sich Begleitsymptome seitens des Verdauungstrakts. Jeder 2. oder 3. Patient hat wäßrige, unblutige, auch schmerzhaftige Diarrhöen, die gelegentlich allen anderen Krankheitszeichen vorangehen und oft von Brechreiz oder Erbrechen begleitet werden. Aber auch diese Symptome sind bei Pneumonien anderer Genese häufiger als es vielen Ärzten bisher bewußt war [548].

Der erhöhte Kreatininspiegel, des Reststickstoffs sowie eine meist schwache, aber doch häufig anzutreffende Protein- und Erythrozyturie zeigt die Beteiligung der Nieren. Bei schweren Legionellenpneumonien kann es durchaus zum Nierenversagen kommen, das dann aber durch eine Summation von Noxen wie bakteriellen Stoffen, Rhabdomyolyse und Myoglobinurie, den Blutdruckabfall im Schock, Immunaggression und nephrotoxische Therapie zustande kommt [55].

Die Leberbeteiligung ist nur an den Laborbefunden zu erkennen. Eine Hepatomegalie tritt selten auf [367]. Auffällige kardiovaskuläre Begleitsymptome sind eher selten und oft einer weiteren Erkrankung zuzuschreiben; das Myokard kann mit Arrhythmien unterschiedlicher Ausprägung beteiligt sein [78, 225, 431]. Flüchtige Exantheme kommen vor, sie sind aber offensichtlich beim Pontiac-Fieber häufiger als bei der Legionellenpneumonie [3, 213, 247]. Die durch Legionel-

len verursachte Endo- und Perikarditis hat eine eigene Nosologie und wird bei den extrapulmonalen Manifestationen näher beschrieben.

Eine treffsichere Differentialdiagnose gegenüber Pneumonien anderer Ätiologie kann anhand der beschriebenen Symptome nicht gelingen, doch gibt es eine Reihe von Besonderheiten in der Anamnese, Verdachtsmomente über den Infektionsmodus, auffällige Initialsymptome und klinische Charakteristika, die eine Legionelleninfektion doch in gewissem Maße eingrenzen und wahrscheinlich machen können [220, 246].

Die Erkrankung verläuft in sehr unterschiedlichen Formen und Schweregraden. Ohne angemessene antibiotische Behandlung kann sich der Zustand innerhalb weniger Tage dramatisch verschlechtern. Die Minderung des pulmonalen Gasaustauschs führt zu schwerer arterieller Hypoxämie bis hin zum ARDS [549]. Schwere pneumonische Verlaufsformen mit multipler systemischer Beteiligung machen Intensivtherapie, mechanische Beatmung und Hämodialyse erforderlich. Eine respiratorische Insuffizienz, die künstliche Beatmung erfordert, tritt bei bis zu 30% aller Legionellenpneumonien auf. Ungewöhnliche Behandlungsverfahren wie Austauschtransfusionen und die extrakorporale CO<sub>2</sub>-Elimination wurde zur Behandlung schwerer Legionellenpneumonien eingesetzt [109, 386]. Die Patienten sterben durch Ateminsuffizienz oder im Schock. Perakute Verläufe kommen vor.

Unter antibiotischer Behandlung erholen sich die Erkrankten meist vollständig, aber oft sehr langsam. Rezidive sind zu befürchten, wenn die Therapie nicht konsequent durchgehalten wird. Manche Patienten leiden oft noch lange an Dyspnoe, Abgeschlagenheit und Gliederschmerzen. Geringere Störungen der Atemfunktion halten oft Monate an [207]. Die über Jahre eingeschränkte Lungenfunktion bei persistierender Alveolitis oder progredienter Lungenfibrose gehört zu den selteneren Folgen [44, 84, 281, 386]. Auf jeden Fall sollen die Patienten nach Überstehen einer Legionellenpneumonie für einige Zeit pneumologisch überwacht werden. Reinfektionen nach längeren Intervallen sind seltene Ereignisse, obwohl doch viele Menschen der Infektionsquelle, die zur Erkrankung geführt hat, weiter ausgesetzt sind [411, 479]. Infektionen durch mehrere Spezies, Serogruppen oder Subtypen gleichzeitig wurden beschrieben und auch hier beobachtet [122, 201, 380, 381].

Tabelle 1 gibt eine Übersicht von epidemiologischen und klinischen Daten aus mehreren großen Auswertungen.

#### *4.1.2 Laboratoriumsbefunde*

Das Blutbild ergibt meistens eine mäßige Leukozytose mit Durchschnittswerten von 10000 bis 12000/mm<sup>3</sup> und mäßiggradiger Linksverschiebung, außerdem eine Lymphopenie, bei zwei Dritteln der Patienten mit Werten unter 1500/mm<sup>3</sup>. Leukopenien werden seltener beobachtet; sie sind eher als Symptom einer disponierenden Grunderkrankung oder Folge zytosuppressiver Therapie zu verstehen [306]. Leukopenien und Thrombopenien sind unter Umständen auch einer myelosuppressiven Wirkung von *L. pneumophila* zuzuschreiben [288]. Die Thrombopenie ist ein seltener Befund; sie kann allein, zusammen mit einer Leukopenie, mit



**Tabelle 1.** Epidemiologische und klinische Angaben zu Legionellenpneumonien (%)

Autoren Zitat Zahl d. Patienten	Bartlett (24) n = 84	Helms (249) n = 87	Kirby (306) n = 65	Nordström (398) n = 68	Tsai (512) n = 123	Woodhead (543) n = 79	Eigene Daten (224) n = 128
Männer	73	71	95	59	-	63	77
Alter	53	52	59	59	57	53	53
Raucher	62	68	47	57	64	77	47
Disponierende							
Begleiterkrankung	42	70	92	43	61	17	72
Immunsuppression	5	31	42	N.b.	-	3	18
Anteil nosokomialer							
Infektionen	N.b.	23	100	N.b.	N.b.	N.b.	21
Husten	59	71	92	65	86	95	80
Hämoptoe	-	21	34	N.b.	18	18	10
Dyspnoe	29	37	36	34	59	46	75
Thoraxschmerzen	29	26	33	28	52	47	36
Fieber (> 39 °C)	77	+	90	100	+	72	74
Relative Bradykardie	-	-	60	47	+	18	13
Schüttelfrost	+	51	77	-	74	-	20
Myalgien	24	23	20	31	55	-	19
Kopfschmerzen	+	28	28	56	53	35	30
Bewußtseinsstörungen	44	35	+	32	+	46	48
Diarrhöen	17	24	47	27	41	29	35

(- ohne Angaben, n.b. nicht berichtet, + prozentuale Angabe fehlt, \* 90% ≥ 38,3 °C)

Verbrauchskoagulopathie oder mit einer thrombopenischen Purpura auftreten [205, 445, 512]. Die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit ist in den meisten Fällen deutlich erhöht.

Als auffälliges Zeichen gelten relativ niedrige Natriumwerte im Blut unter 130 mmol/l; in einzelnen Fällen war die Hyponatriämie als Folge von inadäquater ADH-Sekretion zu erklären [306]. Die absolute Hypophosphatämie unter 2,5 mg/dl ist ebenfalls ein typischer Befund, der bei der Mehrheit der Fälle gefunden wird. In einzelnen Fällen war eine relative Senkung der Phosphatspiegel (Verhältnis Phosphat/Harnstoff-N > 0,04) als Zeichen der Niereninsuffizienz zu deuten.

Einzelne Enzymreaktionen haben erhöhte Werte: so zeigt die Laktatdehydrogenase (LDH) gesteigerte Aktivität über 200 U/l (bis 850 U/l), die alkalische Phosphatase (AP) über 90 U/l (bis 805 U/l), die Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) über 50 U/l (bis 725 U/l). Auch die Bilirubinspiegel werden oft erhöht gefunden. Die Aldolase und Kreatinphosphokinase (CPK) sind als Ausdruck der Muskelbeteiligung selten, in Fällen von Rhabdomyolyse allerdings extrem gesteigert [67, 427]. Die Harnstoff- und Kreatininwerte sind nicht erhöht. Die Blutgase ändern sich mit der Einschränkung des Gasaustauschs durch die pulmonalen Veränderungen [134, 249, 306].

Die Urinbefunde bleiben meist unauffällig: eine leichte Proteinurie in der akuten Phase, ebenso eine Mikrohämaturie und seltener eine Leukozyturie [249, 306].

Wichtige Laborbefunde aus zwei umfangreichen Auswertungen sind in Tabelle 2 zusammengestellt [306].

#### 4.1.3 Röntgenbefunde

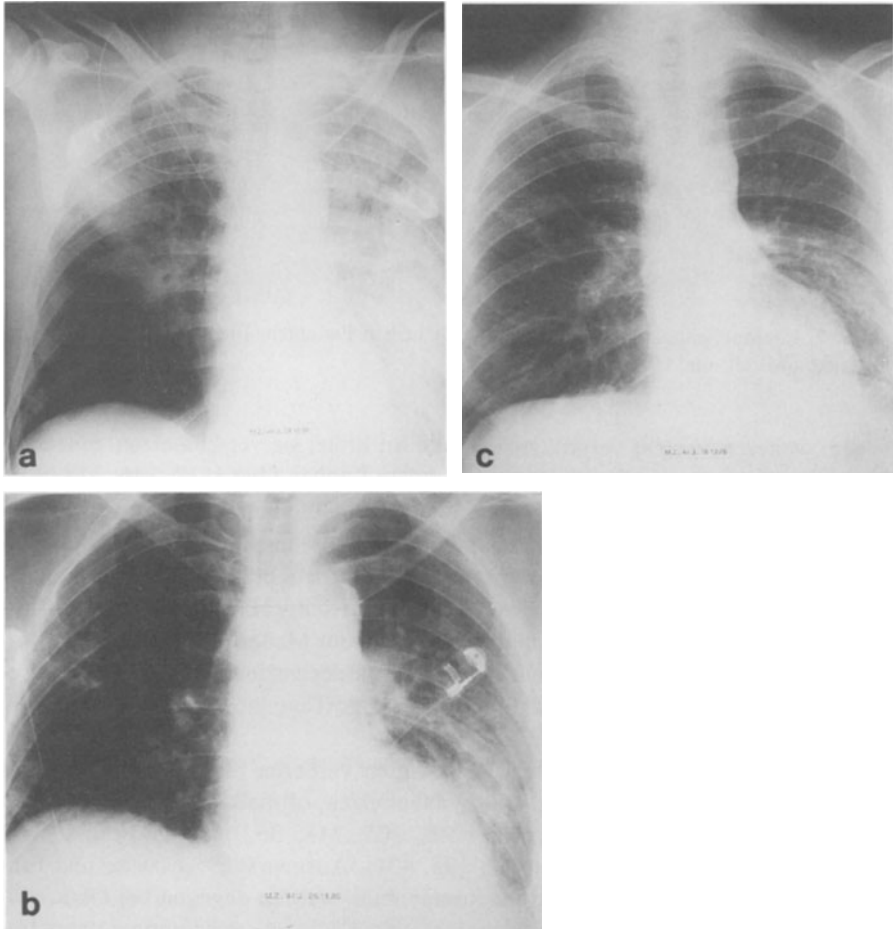
Röntgenbefunde, die für eine Legionellenpneumonie pathognomonisch wären, gibt es nicht, doch lassen sich an den Befunden und Verläufen einige Charakteri-

**Tabelle 2.** Laboratoriumsbefunde bei Legionellenpneumonien

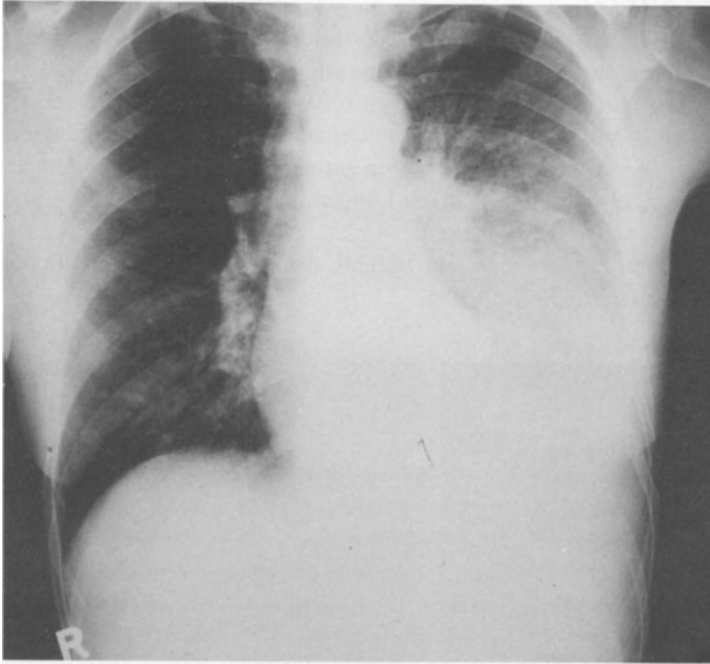
	Normalwerte	Los Angeles (232) [%]	Deutschland (224) [%]	(306) [%]
Leukozytose	10000	78 (- 36000)	72 (- 56000)	45
Hyponatriämie	130–150 mmol/l	54 (- 117)	44 (- 122)	68
Hypophosphatämie	2,5–4,5 mg/l	51 (- 1,2)	–	–
LDH	90–250 IU/l	88 (- 850)	41 (- 13470)	45
GOT	10–50 IU/l	49 (- 735)	60 (- 4080)	65
Bilirubin	0,2–1,2 mg/l	15 (- 4,5)	76 (- 8,7)	–
Alkalische Phosphatase	30–85 IU/l	49 (- 805)	30 (- 1060)	62
Kreatinin	106 µmol/l	–	34 (- 1327)	–
Proteinurie	–	45	37	25

stika erkennen, die den Verdacht eher auf eine Legionelleninfektion als eine Pneumonie anderer Ursache lenken [246, 383].

Bei der Aufnahme in die Klinik zeigen die meisten, 2–3 Tage später alle Patienten pathologische Befunde im Thoraxröntgen [305,383]. Initial finden sich am häufigsten fleckförmige unilaterale Infiltrate mit einer gewissen Bevorzugung der unteren Lappen; die Verschattungen erscheinen unscharf begrenzt, gerundet, liegen der Pleura auf und erinnern oft an einen Lungeninfarkt [112, 305, 318] (Abb. 6a und 7). Beim Ausbruch von Philadelphia wurden bei fast einem Viertel der Patienten interstitielle Infiltrate gesehen, ein Befund, der in späteren Publikationen nicht mehr beschrieben wird [512].



**Abb. 6 a–c.** Röntgenologischer Verlauf der Legionellenpneumonie bei einem 44jährigen Mann mit COPD. **a** Aufnahmebefund: bakterielle, teils homogene, teils streifige Verdichtungen (Patient intubiert). **b** 4 Wochen später: Restinfiltrate im linken Mittel- und Unterfeld (Patient extubiert, ohne Antibiotikatherapie). **c** Vor Entlassung: residuale Infiltrate im linken Mittel- und Unterfeld



**Abb. 7.** Legionellenpneumonie bei einem 55jährigen Patienten. Fleckig-streifige Infiltrate im linken Mittel- und Unterfeld

Im weiteren Verlauf vergrößern sich die Infiltrate; sie verschmelzen, umfassen einen ganzen Lappen oder springen auf andere Lappen über [112, 246, 318, 362] (Abb. 6b). Mehr als ein Lappen ist in 25–50% der Fälle befallen, bei zwei Dritteln erfassen die Veränderungen schließlich beide Lungen. In Einzelfällen bleiben umgrenzte, isolierte knotige Infiltrate stehen, wie sie öfters bei Pilzinfektionen zu sehen sind (Abb. 6c). Die Verschlechterung des Röntgenbefunds nach der Aufnahme tritt fast regelmäßig auf und ist in gewissem Maße für die Legionelleninfektion charakteristisch. Selbst nach dem Beginn der gezielten antibiotischen Behandlung setzt sich diese Entwicklung noch einige Tage lang fort [246, 305, 318, 362]. Eine Hilusbeteiligung ist selten.

Die befallenen Lappen können an Volumen verlieren [362, 488]. Kleine bis mäßiggradige Pleuraergüsse sind häufig anzutreffen, oftmals schon bevor sich die Infiltrate voll entwickeln [160, 165, 246, 305, 318, 362]; große Ergüsse und Pleuraempyeme bleiben aber rar [52, 193, 434]. Ausgeprägte Abszesse und Einschmelzungen zeigen sich selten im Röntgenbild, werden dagegen bei Obduktionen häufiger gefunden und charakterisieren die Legionellenpneumonie unter Immunsuppression [122, 268, 284, 305, 324, 362].

Die Befunde von 123 sporadischen Infektionen in der Bundesrepublik Deutschland bestätigen diese Angaben. Die Infiltrate liegen bevorzugt in den Unterlappen (rechts 46%, links 57%), sind bei der Aufnahme meist unilobulär gele-

gen (56%), breiten sich dann aber über mehrere Lappen und beide Lungen aus (54%), und zwar meist in Form fleckiger (52%) oder streifiger (30%) Verschattungen. Kleine Pleuraergüsse waren bei einem Drittel der Patienten zu sehen. Abszedierungen oder Einschmelzungen gab es in 8 Fällen. Auffallend war, daß sich der Befund bei fast der Hälfte der Fälle (44%) nach der stationären Aufnahme nicht fortentwickelt hat; drei Viertel der Patienten hatten bei der Entlassung noch Restbefunde. Die eigene Auswertung ergab Pleuraergüsse in 40,9% und Abszedierungen in 7,3% der Fälle [224].

Der Röntgenbefund erlaubt im allgemeinen keine Schlüsse auf den Zustand und die Prognose des Patienten. Sehr oft imponiert das Röntgenbild viel schwerer, als es die klinische Symptomatik erwarten läßt [318]. Der klinischen Erholung folgen die Röntgenbefunde mit einigen Tagen Abstand. Die vollständige Rekonstitution verläuft überhaupt langsam und braucht bei der Mehrzahl der Patienten ungewöhnliches: in einer Auswertung hatten 3 Monate nach Erkrankungsende erst 60% der Patienten einen normalen Röntgenbefund, und in einer weiteren Studie waren nach 100 Tagen nur 29% frei von Veränderungen [165, 362]. Die schleppende Normalisierung der Röntgenbefunde bildet ein spätes Charakteristikum der Legionellenpneumonie.

Bei Patienten mit Abwehrschwäche sind diese Veränderungen stärker ausgeprägt und laufen beschleunigt ab. Besonders auffallend sind Einschmelzungen, die auch nach Therapiebeginn und trotz klinischer Besserung weiter bestehen. Die eingeschmolzenen Bezirke dehnen sich u.U. noch über Wochen aus, bis sie schließlich mit den sie umgebenden Infiltraten schrumpfen und verschwinden [217, 374]. Perforationen zum Pleuraraum und bronchopleurale Fistelung wurden wiederholt beschrieben [200, 217, 228, 319, 374, 465].

Röntgenologische Befunde, die für einzelne Legionellenspezies charakteristisch wären, gibt es so wenig wie pathognomonische Befunde für die Legionelleninfektion überhaupt. Die Non-pneumophila-Spezies führen bei abwehrschwachen Patienten häufiger zu besonders schweren Veränderungen [381].

#### *4.1.4 Pathologie*

Die Lungen der Patienten, die an Legionellenpneumonien verstorben sind, zeigen im typischen Fall eine multifokale Pneumonie. Das Bild ist makroskopisch dem der Pneumokokkenpneumonie sehr ähnlich.

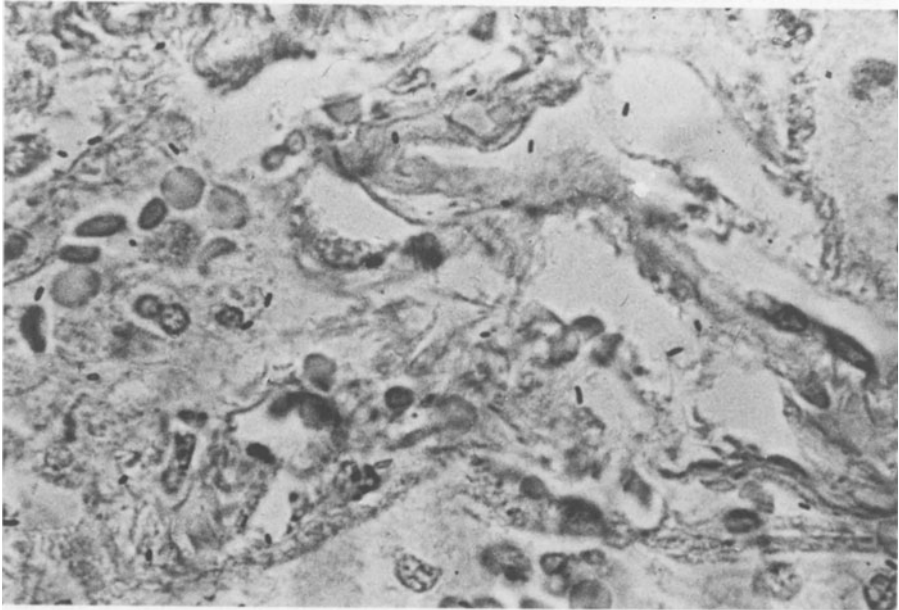
Die Veränderungen erfassen lobuläre Segmente oder ganze Lappen. Häufig konfluieren benachbarte lobuläre Segmente; sie zeigen unregelmäßige derbe Konsolidierung mit eckigen Rändern, die durch die Lobularsepten gebildet werden. Die lobuläre Verschmelzung ist meist ausgedehnt, erfaßt große Teile der Lappen und reicht bis zur Pleura oder Lobärfissur [538]. Seltener finden sich noduläre Infiltrationen mit gerundeter und deutlicher Abgrenzung, die als Tumorherde imponieren können. Auch in ausgedehnten konsolidierten Bezirken läßt sich die knottige Struktur erkennen [538]. Die Infiltrate treffen alle Lungenlappen in ungefähr gleichem Maße; in der Mehrheit (70–80%) sind beide Lungen befallen.

Die Schnittflächen der frischen Lunge erscheinen dunkelrot oder graubraun und körnig; durch die Fixierung wird das befallene Gewebe bröcklig und ist, abhängig vom Fibrin- und Blutanteil, grau oder braun gefärbt. Die stärker fibrinhaltigen Teile ähneln der klassischen grauen oder roten Hepatisation. Makroskopisch erkennbare Hämorrhagien gibt es selten. Multiple Abszedierungen werden bei der Autopsie häufiger gefunden als die Röntgenbefunde vermuten lassen, sie sind aber meist klein und werden wohl deshalb nicht früher gesehen [345]. Dagegen kommen große Abszesse und Empyeme selten vor. In vielen Fällen bestehen seröse oder serös-sanguinolente Pleuraergüsse mit Volumina von weniger als 200 ml. Fibrinbeläge liegen vorwiegend auf der Pleura visceralis.

Das histologische Bild zeigt eine fibrinopurulente Alveolitis und Bronchiolitis. Die Bronchien und proximalen Bronchioli bleiben unverändert. Die Alveolen und distalen Bronchiolen werden von einem Exsudat aus reichlich Fibrin, eiweißhaltigem Material, polymorphkernigen Granulozyten und Alveolarmakrophagen gefüllt. Granulozyten und Makrophagen sind zu ungefähr gleichen Teilen vertreten; der Zellgehalt der Infiltrate ist aber heterogen und wechselt von Herd zu Herd. Im Kern der Entzündungsherde liegen oft Granulozyten und Makrophagen, umgeben von einem Wall aus Makrophagen.

Das fibrinöse Exsudat zeigt gelegentlich eine auffällige Lyse, die für die Legionellenpneumonie typisch, aber nicht pathognomonisch ist. Mikrohämorrhagien kommen zahlreich vor, sind aber nicht gleichmäßig über die Herde verteilt.

Die Feinstruktur der Lunge bleibt, abgesehen von sehr schweren Fällen, im wesentlichen erhalten. Ödem, Fibrin und Zellen dehnen die interstitielle Zone, die ebenfalls, doch geringer als die Alveolen, entzündlich infiltriert ist. Hyaline



**Abb. 8.** *Legionella pneumophila* in Lungengewebe, Dieterle-Färbung x 1000

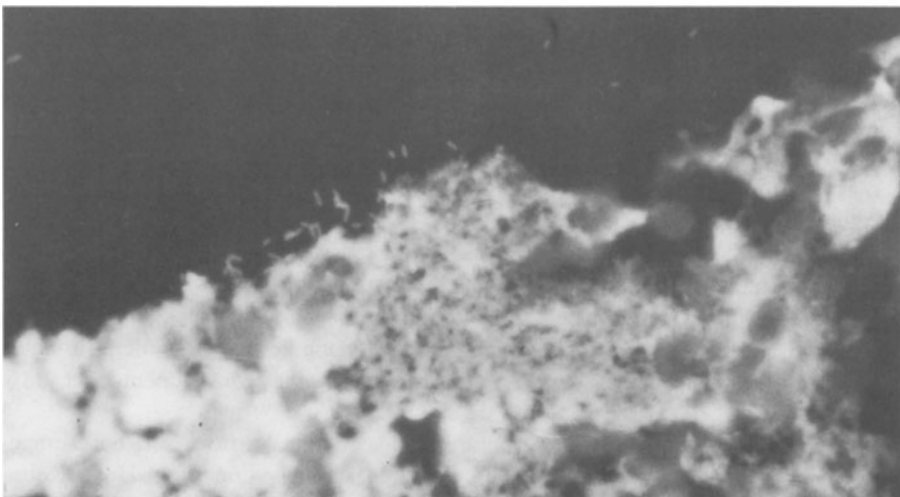
Membranen, die gelegentlich zu sehen sind, müssen wahrscheinlich meist der intensiven Therapie, in erster Linie wohl der Beatmung zugeschrieben werden.

Unter den ultrastrukturellen Veränderungen tritt die intrazelluläre Lagerung der Erreger, und zwar in den Phagosomen und im Zytosol sowie in den Granulozyten und Makrophagen, besonders hervor. Neben einem intrazellulären Ödem, der Dehnung des endoplasmatischen Retikulums und der Ablösung von Epithelzellen, sind die pulmonalen Zellstrukturen nicht auffällig verändert [212].

Als Folge der Legionellenpneumonie werden Lungenfibrosen immer wieder genannt und pathologisch-anatomisch entsprechende Veränderungen gefunden [29]. Geringe herdförmige und parenchymatöse Fibrosen treten nicht selten auf; für schwere Fibrosen ließen sich außer der Pneumonie oft auch andere Ursachen finden. Eine mäßiggradige Proliferation des Alveolarepithels und des Interstitiums wurde in einzelnen Fällen beobachtet [252].

Die extrapulmonalen Veränderungen betreffen in erster Linie die Lymphknoten, die als hyperplastisch oder reaktiv mit erweiterterem und von Makrophagen gefüllten Sinus beschrieben werden. Die Milz ist gelegentlich, in einzelnen Fällen auch akut entzündet, vergrößert und gestaut. Nekrosen waren in den Lymphknoten und der Milz nicht zu finden [538]. Die Leber ist infolge einer passiven Stauung meist vergrößert und zeigt öfters portale Infiltrate [538]. Regelmäßig oder häufiger auftretende Nierenbefunde wurden nicht bekannt. Andere pathologisch-anatomische Befunde von extrapulmonalen Infektionen werden bei der kasuistischen Originalliteratur der extrapulmonalen Manifestationen beschrieben.

Die Legionellen lassen sich in histologischen Schnitten sehr eindrucksvoll mit einer Silberimprägnationsmethode, der modifizierten Dieterle-Färbung, darstellen; sie stellt alle Legionellenarten gleich gut dar, ist aber für die Erreger nicht spezifisch. Die Schnitte zeigen pleomorphe, meist eher plumpe Bakterien [518] (Abb. 8). Schnitte, Gewebeabdrücke und Geschabsel von frischen und fixierten



**Abb. 9.** Legionella pneumophila in Lungengewebe (Schabpräparat), direkte Immunfluoreszenz x 800

Lungen werden bevorzugt mit FITC-markierten Antiseren gefärbt (Abb. 9). Die Darstellung der Erreger mit der direkten Immunfluoreszenz ist eine schnelle und zweckmäßige Methode, sofern man über Antiseren für die wichtigen Legionellenspezies verfügt und die unspezifische Fluoreszenz das Lungengewebe mit einer Gegenfärbung unterdrückt [85, 86].

Im pathologischen Bild und der Histologie von Pneumonien, die durch die verschiedenen Legionellenspezies hervorgerufen wurden, gibt es keine auffälligen Unterschiede [538].

#### **4.2 Nosokomiale Legionelleninfektionen**

Drei Faktoren bedingen das Auftreten nosokomialer Legionelleninfektionen: die Infektionsquellen und Übertragungswege im Krankenhaus sowie die höhere Infektionsbereitschaft der Patienten.

Die nosokomialen Legionellose können prinzipiell in allen Krankenhäusern vorkommen, doch konzentrieren sie sich in onkologischen Kliniken, Transplantationseinheiten, Intensivstationen und anderen Behandlungsbereichen für Schwerkranke. Immer wieder betroffen sind aber auch Kliniken für die Rehabilitation, Sanatorien, Pflegeheime und Einrichtungen für Physiko- und Atemtherapie.

Meist treten die nosokomialen Infektionen sporadisch und weit verstreut auf, aber es gibt auch nicht selten Ausbrüche oder länger währende Infektketten mit z.T. vielen Erkrankungsfällen; das sind Ereignisse, die große Publizität finden. Patienten mit Abwehrschwäche erwerben die Infektion oft im Krankenhaus, und auch die besonders schweren, außergewöhnlichen und tödlichen Verläufe haben ihren Ursprung meist im Klinikmilieu. Viele Ausbrüche nosokomialer Legionelleninfektionen wurden vor allem hinsichtlich ihrer Epidemiologie detailliert beschrieben, und in einigen wichtigen Arbeiten sind diese Erkrankungen zusammenfassend dargestellt worden [58, 114, 249, 304, 306, 343].

Die wichtigste Infektionsquelle ist das Wasser. Die Wasserleitungen und Klimaanlage von Krankenhäusern sind oft von Legionellen besiedelt, allerdings auch nicht häufiger als in Hotels, Büro- und Wohnhäusern. Die Kontaminationsraten liegen hoch, in manchen Erhebungen bei fast 100%. Legionellen in den Wasserleitungen und damit ganz in der Nähe von Patienten müssen immer in Betracht gezogen werden, auch wenn die bakteriologische Untersuchung des Wassers im Einzelfall negativ verlaufen ist. Die ersten Ausbrüche, kurz nach der Entdeckung der Legionellen, wurden meist auf erregerhaltige Aerosole aus dem Abdampf der Kühltürme oder Leckagen in den Klimaanlage zurückgeführt; für einige Ereignisse konnten solche Zusammenhänge auch bewiesen werden. In vielen Fällen blieben die Erregerquelle und Übertragungswege jedoch unentdeckt [116, 203, 517].

In Kesseln, Leitungen und Armaturen, speziell für Warmwasser, bei Temperaturen von 35–45 °C können sich Legionellen schnell vermehren. Hohe Keimzahlen werden vor allem dort erreicht, wo das warme Wasser stagniert, nicht zirkuliert, in Kesseln und Leitungen, die blind enden oder lange nicht durchgespült



werden [37, 114, 230, 459, 489, 490, 517]. Gefördert wird die Vermehrung außerdem durch Installationsmaterial wie Kunststoffe, Gummi, Schmier- und Dichtungsstoffe sowie metallische Zuschläge von Eisen oder Zink [93]. Leitungswasser gilt heute als der wichtigste Standort der Legionellen im Krankenhaus.

Der Ausbruch im St. Elisabeth's Hospital, einem psychiatrischen Krankenhaus in Washington, D.C., im Jahre 1965 wurde auf Erdarbeiten im Garten zurückgeführt [499]. Aber feuchter Boden bildet wohl nur ausnahmsweise ein gefährliches Erregerreservoir; ob die Erklärung von damals heutigen Kenntnissen standhält, ist mehr als zweifelhaft. Auch Wassersprinkler zur Beregnung von Pflanzen wurden inzwischen als Infektionsquellen verdächtigt [151].

Aerosole müssen, um infektionstüchtig zu sein, lungengängige Partikelgrößen und eine Mindestkonzentration von Erregern aufweisen. Beides wird für Aerosole aus Duschen und Wasserhähnen anhand von Tierversuchen als wenig wahrscheinlich betrachtet [49]. Die Hauptmenge der Erreger in den Duschköpfen und aus den Endstücken der Leitungen wird ohnehin, so ist die experimentell belegte Meinung, mit dem ersten Wasserschwall ausgeschwemmt. Die prinzipielle Gefährdung läßt sich jedoch nicht wegargumentieren, gibt es doch überzeugende Berichte für die Gefährlichkeit von Duschen [98, 508, 541]. Diese Zweifel berühren aber letztlich nicht das Wasser als Infektionsquelle.

Wiederholt bewiesen ist die Rolle von medizinischen Luftbefeuchtern, Verneblern, von Geräten für die Atemtherapie oder Beatmung, wenn sie mit unbehandeltem Leitungswasser gefüllt oder gespült werden. Legionellen wurden wiederholt aus den Wasserbehältern und Schläuchen derartiger Apparate isoliert und konnten in Beziehung zu speziellen Infektionen gebracht werden [12, 218, 541, 552]. Ultraschall- und Jetvernebler können ganze Räume mit dem Aerosol füllen; Atemtherapie- und Beatmungsgeräte bringen die Erreger möglicherweise unter Druck in die Atemwege und durchbrechen dabei natürliche Infektionsbarrieren.

Für die Aspiration und die gastrointestinale Ingestion als Infektionsweg fehlen schlüssige Beweise [382]. Die Aspiration gilt nach der aerogenen Übertragung als wichtigster Infektionsweg für bronchopulmonale Infektionen. Mit dem Trinkwasser können die Erreger jedenfalls in die Mundhöhle und durch Mikroaspiration in die tieferen Atemwege gelangen. Bettlägerige Patienten, die nicht duschen, könnten bei der Mundpflege mit unbehandeltem Leitungswasser infiziert werden [382]. Im Mund wurden Legionellen aber bisher sehr selten nachgewiesen, was durch antagonistische Einflüsse der Oropharyngealfloora erklärt werden kann und vielleicht doch ein falsches Bild gibt. Einzelne Fälle von Aspiration sind erwiesen [545]. So kam es durch eine Magenspülung mit Leitungswasser zur Legionellenpneumonie, als der Patient nach der Spülung erbrochen und Spülwasser aspiriert hatte [118].

Zwei Patienten, die nach der Rettung vor dem Ertrinken eine Pneumonie bekamen, gehören auch in diese Kategorie, obwohl die Infektion außerhalb von Krankenhäusern erworben war: der eine ist mit *L. pneumophila* sg 10 infiziert worden, als er sich in einen Fluß gestürzt hatte, der andere, eine alte Frau mit chronisch-lymphatischer Leukämie, war ins Wasser gefallen und hatte *L. bozemanii* aspiriert [171, 503].

Die gastrointestinale Route ist für den Menschen nicht belegt. Bei Meer-schweinchen ließen sich disseminierte Infektionen mit Nachweis der Erreger in Lunge, in Milz und Blut durch orale Inokulation legionellenhaltigen Leitungswassers erzeugen. Die häufigen Begleitsymptome der Pneumonie wie Diarrhö und Abdominalschmerzen beweisen den gastrointestinalen Infektionsweg nicht, zumal pathologisch-anatomische Anomalien im Gastrointestinaltrakt bisher nur einmal bei einem 70jährigen Mann gefunden worden sind, der mit Pneumonie, Diarrhö und Erbrechen erkrankt war. Er verstarb mit akuten Abdominalsymptomen und Sepsis; die Autopsie ergab eine Peritonitis mit massenhaft Legionellen in Peritonealexsudat, in der Darmwand und im Intestinalschleim [119].

Direkte Infektionen von Wunden, Drainagen und Fisteln durch Kontakt mit Leitungswasser sind möglich und wurden auch beschrieben [57, 344].

Das Auftreten nosokomialer Legionellose ist immer ein Anlaß, nach Infektionsquellen und -wegen zu suchen und die Prophylaxe zu überdenken. Leider gibt es keinen Weg, Legionellen dauerhaft aus dem Trinkwasser zu eliminieren. Die einzige, im Krankenhaus praktikable Bekämpfungsmaßnahme besteht darin, das Warmwasser zur Desinfektion hoch zu erhitzen, die Leitungen mit Heißwasser zu spülen sowie die Wassertemperatur ständig auf 60–65 °C zu halten. Die Anwendung von Chlor in hohen Konzentrationen (5 ppm) zur Desinfektion der Leitungen ist riskant und technisch aufwendig.

Wenn Legionelleninfektionen unter Patienten mit hohem Infektionsrisiko auftreten, sollen auch die nichtbetroffenen Patienten mit der direkten Immunfluoreszenz oder dem Antigennachweis im Urin gründlich untersucht werden, um neue Fälle möglichst früh zu erfassen. Bei gehäuften Infektionen können Erythromycin oder Gyrasehemmer ausnahmsweise auch prophylaktisch gegeben werden [519].

Nosokomiale Legionellose werden durch alle humanpathogenen Legionellenarten hervorgerufen; die Non-pneumophila-Spezies treffen bevorzugt Patienten mit schweren Abwehrmängeln und sind aus diesem Grund bei nosokomialen Infektionen relativ häufiger zu finden als die klassische *L. pneumophila*.

### 4.3 Extrapulmonale Manifestation und Infektionen

Zwei prinzipiell verschiedene Situationen sind zu trennen: einmal die extrapulmonale Infektion mit dem Nachweis von Legionellen außerhalb der Lunge, und zum anderen eine Manifestation an Organen außerhalb des Respirationstrakts bei pulmonaler Infektion. Im 2. Fall reichen die Erscheinungen von der Begleitsymptomatik der Pneumonie bis zu scheinbar eigenständigen Erkrankungen extrapulmonaler Organsysteme. Diese Trennung birgt Probleme, zumal die Kenntnisse über die Pathogenese der systemischen Manifestationen noch lückenhaft sind.

Extrapulmonale Infektionen durch *L. pneumophila* ereignen sich zwar insgesamt nur selten, werden aber relativ oft kasuistisch beschrieben. Demnach ist das Endo- und Perikard am häufigsten betroffen [392]. Die Perikarditis entwickelt sich meistens im Zusammenhang mit einer Pneumonie, tritt aber auch isoliert auf [115, 194, 237, 326, 345, 357, 482, 495]. Ihre Symptomatik umfaßt alle Schwere-

grade und reicht von mediastinalen Thoraxschmerzen, Perikardreiben bei anfänglich unauffälligem Röntgenbefund bis zur Herzbeutelamponade [237, 357]. Die Erreger lassen sich durch Züchtung oder direkte Immunfluoreszenz im Exsudat nachweisen [345, 357]; die Mehrzahl der Fälle wurde aber serologisch diagnostiziert. Die antibiotische Behandlung soll sofort beginnen, wenn der Erguß röntgenologisch sichtbar wird, da die narbige Perikardkonstriktion sonst unvermeidbar bleibt. Vermutlich gelangen die Erreger aus kleinen Pleuraergüssen, die die Legionellenpneumonie begleiten, in das Perikard. Interessant ist aber auch der Fall eines jungen Mannes mit Pleura- und Perikarderguß ohne Pneumonie, dessen Infektion von einem morbilliformen Exanthem und den für eine subakute Endokarditis charakteristischen Veränderungen am Augenhintergrund (Roth-Flecke, Hämorrhagien) begleitet war; das Endokard war jedoch nicht beteiligt [194].

Die Prothesenendokarditis durch Legionellen stellt ganz offensichtlich eine Sonderform der nosokomialen Legionellose dar und zeigt keine Beziehung zu gleichzeitigen pulmonalen Infektionen. Als Erreger wurden bisher *L. pneumophila* und *L. dumoffii* aus Blutkulturen, von Klappenmaterial und Sternalwunden isoliert. Sie beginnt nach der Operation als Early-onset-Endokarditis und bildet nur geringe Vegetationen aus, führt demnach auch nicht oder nur selten zu septisch-embolischen Komplikationen. Damit ähnelt sie der Q-Fieber-Endokarditis, von der sie aber serologisch leicht zu trennen ist [358, 509]. Die Erreger gelangen über Drainagen ins Mediastinum, den pleuoperikardialen Raum und das Sternum, von da vermutlich durch Bakteriämie zum Klappenring und den Klappenprothesen. Die Verhütung dieser nosokomialen Infektion verlangt Hygiene im Herzkatheterraum, Kontrolle der Wasserquellen, sorgfältige Wundversorgung und muß auch die postoperative Pflege wie das Baden und Waschen einschließen [320, 344]. Die Prothesenendokarditis durch Legionellen wird erfolgreich mit Erythromycin und Rifampicin sowie alternativ mit Ciprofloxacin behandelt [282, 509]. Die Infektion einer nativen Aortenklappe, und zwar bei gleichzeitiger Pneumonie, wurde bis jetzt nur einmal beschrieben [340]. Mit Hilfe der molekularbiologischen Typisierung konnten Legionellen aus dem Leitungswasser als Infektionsquelle für eine Reihe von Sternalinfektionen angeschuldigt werden [344].

Das Myokard kann ebenfalls an Legionelleninfektionen beteiligt sein; direkte Infektionen des Herzmuskels sind aber offensichtlich sehr selten. Im einzigen bisher beschriebenen Fall einer fokalen Myokarditis ließen sich die Legionellen auch in den Lungen, den Nieren und der Milz darstellen; der Patient war primär mit einer Pneumonie erkrankt und starb am Leber- bzw. Multiorganversagen [225]. Passagere EKG-Veränderungen treten gelegentlich auf: einmal gab es bei einer Pneumonie neben schweren Diarrhöen, Niereninsuffizienz und Delirien auch Veränderungen im Thalliumszintigramm, ein anderer Fall war durch anfallsweise Tachykardien geprägt [225, 431]. Tachykardien und Arrhythmien in Form monofokaler und komplexer ventrikulärer Extrasystolen wurden bei Kindern mit Legionelleninfektionen ohne pulmonale Beteiligung beschrieben [79].

Wunden werden durch legionellenhaltiges Wasser auch direkt infiziert. Ein Hüftabszeß nach Endoprothesenersatz, der primär durch *Streptococcus pyogenes* verursacht war, wurde später durch *Pseudomonas aeruginosa* und Legionellen

unterhalten. Im Bewegungsbad, wo der Patient behandelt worden war, fand sich *L. pneumophila* sg 1 und 4 [57]. Eine Reihe von infizierten Sternalwunden war mit legionellenhaltigem Leitungswasser in Verbindung zu bringen [344]. Bei einem Patienten mit systemischem Lupus erythematoses, der an einer Pneumonie mit Lungenabszeß gestorben war, wurde die Haut als die Eintrittspforte der Erreger in Erwägung gezogen; sekundäre Hautsymptome traten aber nicht auf, und überhaupt fehlen schlüssige Beweise für diese Annahme [284]. Bei einem anderen Patienten mit Lupus erythematoses und nephrotischem Syndrom ließen sich Legionellen aus dem Aszites isolieren; der Infektionsweg blieb unbekannt [397]. Hautnahe Infektionen entstehen auch durch hämatogene Streuung. Dieser Weg wurde für einen Hautabszeß am Malleolus angenommen, der sich während einer subklinischen Pneumonie entwickelt haben soll. So waren auch die infizierten Hämodialysefisteln in 2 Fällen zu erklären; einer der Patienten war akut an einer Legionellenpneumonie erkrankt, der andere hatte die Pneumonie 3 Wochen vorher überstanden [294]. HNO-Infektionen sind offensichtlich sehr selten oder werden übersehen [469].

Der immer wieder erwähnte Nachweis von Legionellen in Blutkulturen belegt deutlich, daß die Pneumonien gelegentlich mit Bakteriämie einhergehen und die Erreger hämatogen streuen [87, 135, 173, 347, 351, 446]. Auf diese Weise ist auch die Isolierung aus Knochenmark zu erklären [105, 280]. Eine über mehr als eine Woche persistierende Bakteriämie ist aber die Ausnahme [351].

Legionelleninfektionen im Abdominalbereich sind selten. Einen Appendixabszeß entwickelte ein englischer Tourist, der nach der Rückkehr aus Benidorm an einer Pneumonie erkrankt war; nach beendeter Pneumoniebehandlung wurde der Abszeß operativ entfernt [265]. Eine Patientin mit einer Legionellenpneumonie unter Kortikosteroidbehandlung erkrankte zusätzlich an einem pararektalen Abszeß mit einer Mischflora aus Bakteriodazeen, anaeroben Kokken, Veillonellen, Laktobazillen und *L. pneumophila* sg 3 [11]. Eine legionellabedingte Peritonitis wurde ebenfalls beschrieben und Legionellen im Aszites wurden auch einmal beobachtet [119, 397].

Kolonkrankungen sind nur sehr selten durch Legionellen verursacht; solche Infektionen verlaufen aber sehr schwer und mit erheblichen Komplikationen [470]. Im Falle einer legionellabedingten Kolitis bei Pneumonie mußten das Kolon und das terminale Ileum teilweise entfernt werden. Nach den akut einsetzenden Abdominalsymptomen war der Blinddarm mit einer auffälligen Dilatation perforiert [187]. In einem anderen Fall mußte wegen der akuten Verschlechterung einer schon länger bestehenden Colitis ulcerosa eine Hemikolektomie vorgenommen werden. Nach der Operation entwickelten sich Pleuraergüsse, die mit Erythromycin behandelt wurden und sich schnell zurückbildeten, nachdem Antikörper gegen *L. pneumophila* sg 3 nachgewiesen worden waren.

Das Pankreas ist, wie die oft erhöhte Amylaseaktivität im Urin zeigt, an den Legionelleninfektionen häufiger beteiligt als es die Beschreibungen vermuten lassen [151, 398]. Ausgeprägte Pankreatitiden wurden als Folge oder Komplikation von Legionellenpneumonien in Einzelfällen beobachtet, ohne daß Legionellen nachgewiesen werden konnten [151, 528]. Schwere Affektionen sind zweifellos

sehr selten: bei einer hämorrhagischen Pankreatitis wurde der Erreger, *L. micdadei*, post mortem zwar in Lunge und Leber, nicht aber im Pankreas gefunden [10].

Die Nieren sind bei pulmonalen Infektionen sehr oft beteiligt; das wird vor allem in der akuten Phase an der leichten Proteinurie oder Hämaturie erkennbar [306, 512]. Eine Mikrohämaturie begleitet die Hälfte der Fälle [246, 477]. Massive Hämaturien wurden nur vereinzelt beschrieben, in einem Fall zusammen mit einer IgA-Nephropathie [179, 216]. Geringe Erhöhung des Kreatininspiegel und anderer renaler Parameter treten öfters auf und sind manchmal wohl Ausdruck einer bei älteren Menschen schon bestehenden Niereninsuffizienz.

Legionellenpneumonien führen oft zum Nierenversagen. Beim Ausbruch von Philadelphia hatten 15% der Patienten eine akute Niereninsuffizienz [512]. Bei einer Auswertung sporadischer Fälle in den USA ergab sich, daß 13% der Fälle mit Nierenbeteiligung dialysiert werden mußten [155]. Unsere Erhebung in Deutschland ergab Nierenfunktionsstörungen bei 47 von 128 Patienten (37%); 18 der Betroffenen mußten dialysiert werden [224]. Der Mechanismus des Nierenversagens ist nicht geklärt. Als Ursache schwerer Nierenschäden wird auch die Myoglobinurie durch den Zerfall von Muskelzellen angeführt. Die Rhabdomyolyse könnte durch die hämatogene Streuung der Erreger in die Muskulatur oder auch durch die vasokonstriktive und dadurch nekrotisierende Wirkung eines endotoxinartigen Stoffes zustande kommen [67, 99, 233, 427].

Die interstitielle Nephritis und Tubulusnekrose wird ebenfalls einem toxischen, vasokonstriktorisch wirkenden Metaboliten der Legionellen zugeschrieben [225, 429]. Die Glomerulonephritis bietet eine nur seltene Variante der renalen Beteiligung [526]. Die direkte Infektion der Nieren durch Legionellen kommt ebenfalls nur selten vor: eine akute Pyelonephritis durch Legionellen nach einer abszedierenden Bronchopneumonie bei einem Blasenkarzinom konnte histologisch diagnostiziert werden [117].

Akutes Nierenversagen wird auch durch hämolytische Anämien ausgelöst. Aber Thrombopenien schweren Grades finden sich selten bei Legionellosen und meistens resultiert daraus nur eine leichte Anämie [205]. Schwere Anämien bewirken jedoch sehr komplexe Störungen, wie die tubuläre Nekrose im Transplantat bei einer Pneumonie nach Nierentransplantation oder das hämolytisch-urämische Syndrom mit Thrombosierung der glomerulären Kapillargefäße zeigen [21, 76]. Eine komplizierte und im Detail nicht geklärte Pathogenese lag auch dem Fall einer thrombopenischen Purpura zu Grunde, die mit weit verstreuter intravaskulärer und subendothelialer Thrombenbildung abgelaufen ist [76, 445].

Durch Autoimmunreaktionen bedingte hämolytische Anämien werden vor allem durch Virusinfektionen in Gang gesetzt, doch wurde auch eine Anämie nach Legionellenpneumonie bekannt [493]. Als Mechanismen können dabei sowohl eine erregerbedingte Hämagglutination mit nachfolgender Lyse als auch die Induktion hämolysierender Immunzellen in Frage kommen. Andere hämatologische Störungen sind häufiger die Ursache als die Folge von Legionelleninfektionen; maligne Bluterkrankungen gehören bekanntlich zu den wichtigen Risikofaktoren. Leukopenien, die bei Legionellosen relativ selten vorkommen, gelten auch eher

als ein Symptom der disponierenden Grunderkrankung [229]. Die spezifische Myelosuppression durch einen mit Legionelleninfektionen assoziierten Serumfaktor wurde in einem Fall diskutiert [288]. Legionelleninfektionen bei oder mit Agranulozytose und Panzytopenie wurden in einzelnen Fällen beobachtet [105, 432].

Bei Legionellenpneumonien gibt es gelegentlich, wie bei den Pneumonien durch Viren und Mykoplasmen, erhöhte Titer von Kälteagglutininen [523]; auch die ausgeprägte Kälteagglutinerkrankung wurde beschrieben [303].

Abgesehen von flüchtigen Rötungen (Rash), die ein kleiner Teil der Infizierten besonders beim Pontiac-Fieber zeigen sollen, sind Hauterscheinungen bei Legionellose selten [3, 213, 247]. Die thrombozytopenische Purpura wurde bereits erwähnt [445]. Außerdem gibt es Legionelleninfektionen bei Erkrankungen mit Beteiligung der Haut, bei Schönlein-Henoch-Syndrom, bei Erythema multiforme und bei Lupus erythematodes, die natürlich ihre eigene Symptomatik zeigen [74, 325, 533].

Neurologische Symptome begleiten die Hälfte aller Legionelleninfektionen; sie bestehen zu je ungefähr der Hälfte in Kopfschmerzen und Bewußteinsstörungen [287, 306, 398, 527]. Von 126 Patienten in einer eigenen Auswertung sporadischer Legionellenpneumonien zeigten 80 (63,5%) neurologische Symptome: 48% hatten Kopfschmerzen, 76% Vigilanzstörungen und 23% motorische Störungen wie Gangunsicherheit, Ataxien, Krämpfe und Paresen. In fast der Hälfte dieser Fälle wären jedoch neben der Infektion auch andere Ursachen der neurologischen Symptome denkbar gewesen [224]. Den Symptomen der legionellaassoziierten Enzephalopathie wird manchmal besondere Bedeutung für die Differentialdiagnose zugemessen; tatsächlich sind solche Symptome aber auch bei anderen Pneumonieformen nicht selten [249]. Trotzdem können sie als Charakteristikum der Legionellose gelten und die Diagnostik und Therapie entsprechend lenken.

Die Bewußteinsstörungen zeigen sich als emotionale Labilität, Desorientiert- und Verwirrtheit, Delirium, Benommenheit, Somnolenz, Sopor bis hin zum Koma. Sie können so vehement auftreten und den Beginn der Erkrankung derart beherrschen, daß manche Patienten mit dem Verdacht auf eine akute Psychose in psychiatrische Behandlung kommen. Diese Erscheinungen sind fast immer reversibel und bleiben ohne Folgen, doch wurden Einzelfälle mit andauernder Gedächtnisstörung und neurologischen Defekten wie Ataxie, Paraplegie und Zeichen der peripheren Neuropathie beschrieben [236, 244, 287, 394, 522, 527]. Die Kopfschmerzen sind heftig und treten bevorzugt frontal auf [287, 527].

Zentralnerval bedingte Anfälle wurden beschrieben, bei einem Kind als nicht beeinflussbare rezidivierende Anfälle vom Grand-mal-Typ [416]. Schwere generalisierte Krampfanfälle ähnlich denen einer Herpesenzephalitis beherrschten eine Infektion durch *L. bozemanii* [428]. Die neurologischen Komplikationen entwickeln sich ohne festen zeitlichen Bezug zur pulmonalen Infektion. Schon vor der Pneumonie hat sich eine akute Enzephalomyelitis mit der kompletten Lähmung eines Arms und beider Beine entwickelt; die Paresen waren noch Monate nach der akuten Phase nicht abgeklungen [236]. Im Anschluß an die Pneumonie war eine Chorea mit fokaler Störung im Corpus striatum aufgetreten, die spontan wieder

abgeklungen ist [18]. Mit Tetraparese und schwerer Mittelhirnsymptomatik verlief eine Enzephalitis durch *L. bozemanii* [422].

Enzephalopathien mit Hirnstammsymptomatik kommen nicht so selten vor. Zerebellare Ataxien betreffen zwar vorwiegend Kinder im Alter von 1–4 Jahren und sind meist virusbedingt, sie begleiten jedoch auch Infektionen nichtviraler Genese, am häufigsten solche durch *Mycoplasma pneumoniae* und treten auch bei Erwachsenen auf. Der Pathomechanismus wurde bisher nicht geklärt; in Frage kommen Toxine, toxische Metaboliten, Immunkomplexe oder Vaskulitiden. Unter 66 Kindern mit neurologischen Symptomen befanden sich 3 mit akut zerebellaren Ataxien, die zwar keine Pneumonie hatten, aber doch signifikante Antikörpertiter gegen *L. pneumophila* besaßen [394]. Ohne Pneumonie ist auch eine akute Hirnstammzerebellopathie mit Diplopie, Dysarthrie und Dysphagie sowie peripherer Parästhesie abgelaufen. Der Patient wurde bewußtlos in die Klinik gebracht und mußte künstlich beatmet werden; die Erkrankung heilte mit Residuen ab [244]. Ebenso mit Dysarthrie verlief das statisch-kinetische Zerebellarsyndrom bei einem typisch mit Pneumonie erkrankten Patienten [227]. Eine Dysarthrie als zerebellar bedingte Sprechstörung mit verlangsamter Sprache und behinderter Zungenartikulation läßt sich bei Legionellenpneumonien gelegentlich feststellen [346].

Neuropathien der peripheren Nerven mit pathologischen EMG- und NLG-Befunden wurden ebenfalls bekannt; sie hatten jedoch keine Ähnlichkeit mit dem Bild des postinfektiösen Guillain-Barré-Syndroms [264, 522, 527]. Der Befund der Nervenbiopsie entsprach eher einer chronisch axonalen Degeneration als einer Demyelinierung. Latente axonale Neuropathien wurden auch bei Legionellosen ohne neurologische Begleitsymptome gefunden [527].

Weniger auffällige und vorübergehende neurogene Störungen scheinen überhaupt ziemlich oft aufzutreten, so Hörschwäche, leichte Gangunsicherheit oder Sehstörungen, die oft nicht auffallen oder nicht eigens erwähnt werden. Die Beschreibung einer neurogenen Blasenstörung bei Legionelleninfektion macht eine Ausnahme [215].

Direkte Infektionen des ZNS durch Legionellen zählen zu den Seltenheiten. Die Züchtung der Erreger aus Liquor, Gehirn oder Nervengewebe ist bisher nie gelungen, aber in 2 Fällen wurden legionellaverdächtige Stäbchen in Gehirnschnitten und einmal *L. dumoffii* im Liquor gesehen [102, 287]. Legionellenantigen wurde bei einem Patienten post mortem im Gehirn und anderen Organen durch direkte Immunfluoreszenz dargestellt [206]. Im Falle eines Hirnabszesses war die Ursache auf Grund der positiven Legionellenserologie zu vermuten [8].

Die Pathogenese der neurologischen Erscheinungen bei Legionelleninfektionen ist ungeklärt. Angesichts der seltenen Legionellenbefunde im ZNS wird die direkte Aktion der Erreger eher eine Ausnahme darstellen. Die Lage ist aber auch deshalb unklar, weil trotz der Häufigkeit neurologischer Störungen Liquor und andere Proben aus dem ZNS nur selten untersucht worden sind.

Diese Feststellung gilt auch für die anderen hier erwähnten Begleiterkrankungen und Komplikationen der Legionelleninfektionen. Nur wenig davon ist durch die Infektion extrapulmonaler Organe oder die hämatogene Streuung der Erreger

eindeutig zu klären. Die meisten Erscheinungen sind wohl, wie bei vielen anderen Infektionen auch, als Epiphänomene auf Grund toxisch-metabolischer und immunpathologischer Prozesse zu verstehen. Auch die Wirkung der Infektion auf latent vorhandene Störungen spielt vermutlich keine geringe Rolle.

#### 4.4 Pontiac-Fieber

Das Pontiac-Fieber unterscheidet sich deutlich von den bisher beschriebenen pulmonalen und systemischen Manifestationen der Legionelleninfektion. Die Erkrankung beginnt nach einer Inkubationszeit von 1–2 Tagen und zeigt die Symptome eines grippalen Infekts: Fieber, Benommenheit, Kopf- und Muskelschmerzen, trockener Husten, gelegentlich Schnupfen, Konjunktivitis und Lichtscheu, seltener Thorax- und Abdominalschmerzen, Diarrhöen und Nackensteifigkeit. Der untere Respirationstrakt ist nie beteiligt. Objektiv sind allein das Fieber und eine geringe Leukozytose faßbar. Anhand der klinischen Erscheinungen läßt sich das Pontiac-Fieber nicht von Virusinfektionen mit ähnlichem Verlauf trennen.

Die Erscheinungen klingen ohne Behandlung innerhalb 2–5 Tagen ab und hinterlassen keine Folgen außer einer gelegentlich länger andauernden Mattheit. Antibiotikatherapie bleibt ohne Einfluß auf den Verlauf. Todesfälle wurden bisher nicht bekannt.

Die Züchtung der Erreger gelingt ebenfalls aus der Infektionsquelle. Antikörperreaktionen sind frühestens 2 Wochen nach der Exposition zu erwarten; sie treten nicht regelmäßig ein und führen meist nur zu niedrigen Titern.

Das Pontiac-Fieber wurde 1968 in Pontiac im Staate Michigan erstmals beobachtet, als 95 von 100 Angestellten und 40 von 170 Besuchern des Health Department erkrankt waren [213]. Die Klimaanlage des Gebäudes wurde als Quelle der Erkrankungen angeschuldigt: nach deren Stilllegung verebten die Erkrankungen, traten aber mit dem erneuten Betrieb gleich wieder auf. Es fand sich dann auch ein technischer Defekt, Verbindungen der Zuluftkanäle mit der Ableitung des „evaporative condensers“; außerdem lagen die Öffnungen der beiden Kanalsysteme auf dem Dach dicht beieinander. Nach Reparatur und Umbau gab es keine weiteren Erkrankungen. Die gründlichen Nachforschungen mit Tierversuchen hätten damals schon zur Entdeckung der Legionellen führen können, doch endgültig wurde der Vorfall erst nach der Epidemie von Philadelphia geklärt [298]. Weitere Ausbrüche des Pontiac-Fiebers wurden beschrieben, so im Jahre 1979 nach Reinigungsarbeiten am Kondensator einer Dampfturbine und 1981 ein Ausbruch in einem Automobilwerk mit mehr als 300 Kranken, wo vermutlich die mit *L. feeleeii* kontaminierte Schneidkühlflüssigkeit die Infektionsquelle war [192, 254].

Eine nichtpneumonisch verlaufende Epidemie im schottischen Lochgoilhead kam durch die Spezies *L. micdadei* zustande [167]. Übertragen durch einen kontaminierten Whirlpool, erkrankten hierbei im Januar 1988 60 Gäste eines Kurhotels; alle erholten sich ohne besondere Behandlung. Auch über *L. anisa* als infektiöses Agens für das Pontiac-Fieber liegt eine Nachricht vor [178].



Charakteristisch für das Pontiac-Fieber ist der im Gegensatz zur Legionellenpneumonie auffallend hohe Kontagionsindex: bis zu 95% der exponierten Personen erkranken. Ebenfalls im Gegensatz zu den pulmonalen Infektionen sind beide Geschlechter und alle Altersstufen in gleichem Maße betroffen. Die Infektion erfolgt wohl fast immer durch Aerosole von Flüssigkeiten, die mit Legionellen kontaminiert sind. Im Meerschweinchenversuch ließen sich aber auch bei oraler Applikation kurze Fieberschübe erzeugen [295]. Wahrscheinlich können alle humanpathogenen Legionellenspezies auch das Pontiac-Fieber verursachen; bisher beschrieben wurden aber nur *L. pneumophila*, *L. feeleii*, *L. micdadei*, *L. anisa* und eine nicht weiter definierte Spezies [167, 178, 192, 196, 254, 298, 440].

Völlig unklar ist bisher geblieben, warum ein und derselbe Erreger bei gleichem Infektionsmodus so verschiedene Erkrankungen wie Pneumonie und Pontiac-Fieber hervorrufen kann. Eine Erklärung könnte sein, daß beim Pontiac-Fieber niedrige Erregermengen wirksam werden, doch wurden auch fieberhafte Reaktionen auf Bestandteile toter Bakterien und eine spezifische Überempfindlichkeit für die Erreger für möglich erachtet. Die erneute Erkrankung beim Wiederbetrieb der Klimaanlage in Pontiac bei fast der Hälfte der vorher Betroffenen läßt eher eine toxische oder immunologisch deutbare Reaktion erwarten. Unterschiedliche Eigenschaften der Erreger könnten das Phänomen am besten erklären, doch wird berichtet und durch eigene Erfahrung bestätigt, daß die Exposition zur gleichen Zeit und am gleichen Ort sowohl zu Pneumonien als auch zum Pontiac-Fieber führen kann [211].

#### **4.5 Risikofaktoren – Legionellose bei Abwehrschwäche**

Die Legionellenpneumonie zählt zu den opportunistischen Infektionen und setzt deshalb eine gewisse Bereitschaft zur Erkrankung voraus. An der Lunge manifestieren sich opportunistische Infektionen am häufigsten. Obwohl im Einzelfall auch bei gründlicher Untersuchung oft keine definierten Abwehrmängel zu entdecken sind, ergibt sich doch ein charakteristisches Risikoprofil, wenn eine größere Zahl von Erkrankungen analysiert wird. Die Empfänglichkeit für Legionellen entspricht aber in weiten Teilen der für andere Pneumonieerreger, die schon länger bekannt sind.

Das Risiko, an einer Legionellenpneumonie zu erkranken, steigt generell mit dem Lebensalter und altersabhängigen Grunderkrankungen wie Herzinsuffizienz, chronischen Lungenleiden, Diabetes und Alkoholschäden. Die Infektion wird außerdem durch alle Einflüsse gefördert, die die mukoziliare Clearance und die Phagozytose, die wesentlichen Abwehrmechanismen des Respirationstrakts, schädigen, also durch die Inhalation von Zigarettenrauch und anderen toxischen Stoffen, durch Mangelernährung, Stoffwechselanomalien wie Azidose oder Urämie und die Behandlung mit Kortikosteroiden. Viele ältere Patienten besitzen mehrere solcher Faktoren, die im Einzelfall durch immunsuppressive Therapie oder eine maligne Grunderkrankung ergänzt werden und die Gefahr einer schweren Erkrankung potenzieren [228].

Die Inzidenz der Legionellenpneumonien steigt zwischen dem 40. und 50. Lebensjahr deutlich an; aus nicht bekanntem Grund sind Männer 2- bis 3mal häufiger betroffen als Frauen [24, 69, 190, 246, 306, 398]. Rassenunterschiede gibt es nicht [69]. Starke Raucher (> 20 Zigaretten/Tag) sind 2- bis 5mal häufiger betroffen als Nichtraucher [69, 71]; mehr als die Hälfte der Erkrankten sind oder waren Raucher [69, 190, 246, 398]. Altersbedingte pulmonale und systemische Grunderkrankungen sind oft gegeben, ihr Anteil kann aber angesichts der vielen, sehr heterogenen kasuistischen Daten kaum genau ausgedrückt werden. Von 65 Patienten in einem der frühen Berichte hatten 23 ein Herz-, 16 ein Lungen- und 14 ein Nierenleiden. Sechs waren Diabetiker und 4 Alkoholiker, davon 3 mit Leberschäden [306].

Die Zahlen aus Deutschland nennen Alkoholabusus bei 40% und Nikotinabusus bei 47% der Betroffenen. Vorerkrankungen fanden sich bei 72%, kardiale bei 43% und pulmonale bei 37% von 128 Patienten mit Pneumonien [224].

Bei primären Immundefekten, die fast nur bei Kindern vorkommen, sind Legionelleninfektionen selten. Eine Pneumonie bei septischer Granulomatose, einer Störung der Phagozytose, konnte mit Erythromycin und Rifampicin geheilt werden. Nach der Entlassung wurde der Patientin, einem 12jährigen Mädchen, noch über längere Zeit eine prophylaktische Dosis von 300 mg Rifampicin gegeben [486]. In einem weiteren Fall entwickelte sich auf der Basis eines kombinierten Immundefekts eine disseminierte Infektion, bei der die Lungen und in Form eines Mikroabszesses auch das Gehirn befallen waren. Für die Erkrankung waren möglicherweise mehrere Erreger verantwortlich, neben *L. pneumophila* noch *Pneumocystis carinii* und Parainfluenza-Virus; die Erkrankung endete tödlich [102].

Sekundäre Immundefekte disponieren dagegen sehr oft zu schweren Infektionen: sie bringen auch die höchste Gefährdung für Legionellenpneumonien.

Die Leukopenie allein ist offensichtlich kein besonderer Risikofaktor, obwohl Berichte über Legionellenpneumonien bei Agranulozytose, auch Panzytopenie und Knochenmarkhypoplasie vorliegen [105, 306, 432]. Die oft erwähnte Granulozytopenie läßt sich meistens auch durch maligne Erkrankungen sowie therapeutische Einflüsse durch Zytostatika und Bestrahlung erklären.

Maligne Tumoren repräsentieren einen erheblichen Teil der disponierenden Grundkrankheiten. Von 65 Patienten mit nosokomialen Legionellenpneumonien litten 19 an malignen Neubildungen; darunter waren 7 Lungen- und 4 Prostatakarzinome sowie 6 Leukämien [306]. Eine andere Zählung ergab 36 Legionellenpneumonien bei onkologischen Patienten; sie repräsentierten 24% der in dieser Studie gefundenen Legionellose. Leukämien (42%) und Bronchialkarzinome standen im Vordergrund [400].

Patienten mit Hämoblastosen und Knochenmarktumoren in allen ihren Formen werden oft von Legionellen betroffen. In der Literatur nimmt diese Krankheitsgruppe einen herausragenden Platz ein. Von 157 Patienten mit malignen Blutkrankungen waren in Berlin, wie autoptische Auswertungen ergaben, 70 mit Pneumonie verstorben; in 16 Fällen (23%) waren Legionellen die Ursache [474]. Von den schon erwähnten 65 Patienten mit nosokomialen Legionellenpneumonien hatten 6 eine Leukämie, 4 davon eine chronisch-lymphatische und je einer eine

akute lymphatische und eine Haarzell-Leukämie [306]. Unter 8 mit Zytostatika und Kortikosteroiden behandelten Patienten befanden sich je ein Fall von chronisch-lymphatischer und chronisch-myeloischer Leukämie, ein multiples Myelom und ein Lymphom [465]. Myelome und maligne Lymphome wurden wiederholt als Grunderkrankungen genannt. Die seltene Haarzell-Leukämie scheint, gemessen an der Zahl der Beobachtungen, eine spezielle Anfälligkeit für Legionellen zu vermitteln [441, 524]. Leukämiekranken Kinder sind ebenfalls in besonderem Maße gefährdet [229].

Über den Einfluß einzelner Immundefaktoren ist wenig bekannt; der humorale und zelluläre Immunstatus wurde praktisch nie komplett erfaßt. Die relativ zahlreichen Infektionen bei chronisch-lymphatischen Leukämien lassen einen Mangel an Immunglobulinen, die Haarzell-Leukämie dagegen eine Störung der Monozyten- und T-Zellfunktion als disponierende Defekte erscheinen, doch darf auch die Wirkung der onkologischen Therapie nicht außer acht gelassen werden. Tierversuche haben bisher wenig zur Klärung beigetragen.

Das erworbene Immundefektsyndrom (AIDS) gilt heute als der Inbegriff einer Abwehrstörung, die opportunistische Infektionen begünstigt. Aber gerade für Patienten mit AIDS haben Legionelleninfektionen anscheinend nur untergeordnete Bedeutung. Tatsächlich gibt es bisher wenige kasuistische Berichte; in einem davon wurden 2 Pneumoniefälle beschrieben, allerdings auch darauf hingewiesen, daß Legionellen 4% der pulmonalen Infektionen bei AIDS verursachen [301]. Nach anderen Beobachtungen zählen die Legionellen zu den selteneren Komplikationen des AIDS [1]. Unsere Erfahrung bestätigt diese Auffassung.

Träger von Organtransplantaten sind durch Infektionen besonders bedroht; fast jeder dieser Patienten erleidet wenigstens eine Infektionsepisode. Bakterielle Erkrankungen treffen vorwiegend die ersten Wochen nach der Transplantation. Die Hauptursache liegt in der Unterdrückung der zellulären Abwehr, wobei die Art und Intensität der Immunsuppression die Häufigkeit und Schwere der Infektionen beeinflußt. Dazu kommen aber oft sehr komplexe organische und metabolische Dysfunktionen, die das Grunderkrankung und den postoperativen Verlauf begleiten und die Empfänglichkeit weiter steigern. Simultane Infektionen durch Zytomegalieviren fördern ebenfalls die Entstehung von Pneumonien durch Bakterien und Pilze [417, 433]. Das Risiko wird aber letzten Endes davon bestimmt, ob der empfangliche Patient den Aspergillen, Legionellen, Nocardien und anderen exogenen Erregern überhaupt begegnet. Daraus folgert die entscheidende Rolle der Expositionsprophylaxe.

Nierentransplantierte gelten als hochgefährdet; über Legionellenpneumonien in diesem Patientenkreis gibt es zahlreiche Berichte [255, 306, 352, 388, 455, 465]. Herztransplantierte befinden sich immunologisch in der gleichen Lage; bei vielen dieser Patienten hat aber die langdauernde Grunderkrankung zu ausgeprägten Organschäden, vor allem seitens der Leber und Lunge geführt. Legionellenpneumonien nach Herztransplantation wurden wiederholt beschrieben; die meisten Transplantationszentren sind mit solchen Infektionen vertraut [97, 106, 125, 258, 535]. Auch Infektionen nach Herz-Lungen-Transplantation wurden bekannt [68]. Eine Erhebung in 28 Kliniken der USA mit 2274 Herztransplantationen zwischen

1983 und 1986 brachte insgesamt 35 Fälle, im Mittel 2% (0–>5%). Legionellen und Nocardien wurden mittels direkter Immunfluoreszenz und Kultur als die häufigsten pulmonalen Erreger nach Herztransplantationen ermittelt [106]. Der Gebrauch des Anti-T-Lymphozytenpräparats OKT3 in einigen der Kliniken war mit höheren Infektionsraten verknüpft; Ciclosporin und Kortikosteroide wurden in allen Abteilungen angewandt und ließen sich hinsichtlich eines spezifischen Risikos nicht bewerten [97, 125]. Einem Bericht zufolge sind nach Einführung des Ciclosporin die Legionellenpneumonien häufiger aufgetreten [437]. Die Surveillance-Diagnostik für Legionellen kann die Infektion nicht verhindern; durch die regelmäßige Überwachung können aber auch asymptomatische Infektionen entdeckt werden [283]. Nach eigenen Erfahrungen lassen sich Infektionen durch *L. pneumophila* sg 1 mit einem Screening auf Legionellaantigen im Urin frühzeitig diagnostizieren.

Über Legionelleninfektionen nach Lebertransplantationen wurde bisher nicht publiziert. In 2 großen Serien von jeweils 100 Operationen traten zwar keine Infektionen durch Legionellen auf, doch gibt es keinen Grund zu der Annahme, daß nach solchen Eingriffen das Risiko geringer wäre [322, 412]. Patienten nach Lebertransplantation tragen ein besonders hohes Infektionsrisiko und bedürfen in jedem Fall einer effektiven Expositionsprophylaxe. Unter 100 Transplantierten in unserem Klinikum wurden 3 schwere Legionellenpneumonien diagnostiziert.

Nach Knochenmarktransplantationen treten Legionelleninfektionen wohl in erster Linie wegen der umfassenden Expositionsprophylaxe nur selten auf; einzelne Fallbeschreibungen liegen vor [319, 365]. Erhöhte Gefährdung besteht nach der Entlassung aus dem geschützten Bereich.

Die systemische Anwendung von Kortikosteroiden, aber auch die topische Anwendung in großen Mengen, bilden den am weitesten verbreiteten Risikofaktor. Erkrankungen, die eine langdauernde Therapie mit Kortikosteroiden erfordern, rheumatische und andere chronisch-entzündliche Erkrankungen wie Lupus erythematodes, Sklerodermie oder chronische Darmerkrankungen, verlaufen nicht selten mit Legionellenpneumonien [2, 284, 306, 415]. Von allen immunsuppressiv wirkenden Medikamenten werden die Kortikosteroide am häufigsten als Monotherapie eingesetzt. Von den 65 Patienten einer Studie über nosokomiale Legionelleninfektionen wurden 25 Patienten mit Kortikosteroiden allein, 2 davon topisch in größeren Mengen, 8 Patienten kombiniert mit Zytostatika und 4 zusätzlich zu einer Strahlentherapie behandelt. Nur in 2 Fällen wurde ausschließlich zytostatisch therapiert [224, 306].

Der immunsuppressive Effekt der Zytostatika ist nur schwer von der Disposition zu trennen, die das Grundleiden mit sich bringt. Zytostatika scheinen aber schwächer zu wirken; ihr prinzipieller Effekt ist jedoch durch die klinische Erfahrung und durch Tierexperimente bewiesen [529]. Die Strahlentherapie allein steigert die Anfälligkeit für Legionellen vermutlich nicht.

Patienten mit Abwehrschwäche werden nicht nur durch *L. pneumophila*, sondern auch von selteneren Legionellenspezies häufiger betroffen [168]. Die bekannteren unter ihnen, *L. micdadei*, *bozemanii*, *dumoffii*, *gormanii* und *long-beachae*, verursachen ungefähr ein Viertel aller Legionellenpneumonien. Alle

diese Non-pneumophila-Spezies wurden bei immunkompromittierten Patienten erstmals nachgewiesen: *L. micdadei* nach Nierentransplantation (6 von 8 beschriebenen Pneumonien), *L. bozemanii* bei Leukämie, *L. dumoffii* bei einem Lungenkarzinom, *L. gormanii* bei Lupus erythematoses und *L. longbeachae* bei einer Arthritis mit Immunglobulinmangel [168, 222, 388, 503, 509]. Das gilt auch für die selteneren Arten, die wie *L. maceachernii* bei einem multiplen Myelom, *L. wadsworthii* bei chronisch-lymphatischer Leukämie, *L. birminghamensis* nach Herztransplantation und *L. cincinnatiensis* bei einem Hämodialysepatienten gefunden wurden [137, 500, 533, 535]. Das Gros der Erkrankungen wird jedoch durch die verschiedenen Serogruppen von *L. pneumophila* verursacht. Mischinfektionen mit *Pneumocystis carinii* oder *Cryptococcus neoformans* und weniger auffälligen Erregern, Staphylokokken, Enterobakteriazeen, Pseudomonaden, Pilzen und anderen, kommen vor [102, 126, 316, 351]. Im Einzelfall kann es schwierig sein, die Rolle der beteiligten Mikroorganismen zu bewerten; über die pathogene Bedeutung der Legionellen in solchen Fällen gibt es keinen Zweifel. Auch eine Erkrankung mit langdauernder Bakteriämie durch Legionellen wurde beschrieben [351].

Gefährdete Patienten müssen schon bei Infektionsverdacht umfassend mikrobiologisch untersucht werden; zur Bestätigung einer Legionelleninfektion sind in solchen Fällen nur schnelle Verfahren wie die direkte Immunfluoreszenzfärbung, die Kultur und der Antigennachweis im Urin gut geeignet. Auch die gezielte parenterale Antibiotikatherapie muß schon bei Infektionsverdacht beginnen; die Prognose ist um so besser, je früher die Behandlung beginnt. Dennoch liegt die Letalität bei Immunsupprimierten 3mal höher als bei nichtsuppressiv Behandelten. So starben unter Kortikosteroid- oder Zytostatikatherapie 24% der Patienten im Gegensatz zu 7% bei den Nichtsupprimierten trotz Erythromycinbehandlung. Bei den Patienten ohne angemessene Behandlung waren die Ergebnisse um vieles schlechter, mit einer Letalität von 80% im Gegensatz zu 25%.

#### 4.6 Legionellosen bei Kindern

Legionelleninfektionen treten bei Kindern relativ selten auf. Umfangreiche Untersuchungen zur Prävalenz von Legionellaantikörpern unter Kindern mit bronchopulmonalen Entzündungen wurden schon kurz nach der Entdeckung der Erreger mit den damals bekannten Spezies und Serogruppen von *L. pneumophila* vorgenommen. In 2 Studien an Seren von 167 Kindern (< 19 Jahre) mit Pneumonien und an 52 Kindern (< 4 Jahre) mit 64 Episoden von bronchopulmonalen Erkrankungen wurden signifikante Titerbewegungen nicht nachgewiesen (188,7). In anderen Untersuchungen wurde der geforderte 4fache Titeranstieg unter 170 Kindern 4mal, unter 55 Kindern mit onkologischen Erkrankungen einmal und unter 110 Kindern (< 17 Jahre) mit Pneumonien ebenfalls nur einmal gefunden [402, 443, 461]. In einer weiteren Studie wurde zwar eine mit dem Lebensalter steigende Prävalenz der Antikörper nachgewiesen, doch nur bei 2 von 35 Kindern, für die Serumpaare vorliegen, konnten durch den Titeranstieg Infektionen

bestätigt werden [385]. In der Literatur finden sich Berichte nur über 19 Legionelleninfektionen bei Kindern, die durch direkten Erregernachweis mittels Kultur oder Immunfluoreszenzfärbung diagnostiziert worden sind [38, 58, 77, 102, 198, 229, 253, 317, 319, 415, 494].

Die Befunde und der Verlauf der Infektionen variieren zwar beträchtlich, sie unterscheiden sich aber nicht grundsätzlich von der Symptomatik bei Erwachsenen. Meist wird über schwere Erkrankungen berichtet [58, 253]. Der dominierende Risikofaktor bei Kindern ist die Abwehrschwäche. Die Infektionen traten nur unter Kortikosteroidtherapie, bei Leukämien, schweren komplexen Immundefekten, chronischer Granulomatose, bei Translokationstrisomie 21 und nach Knochenmarktransplantation auf [77, 92, 102, 229, 317, 319, 415, 461, 494]. Die Grundkrankheiten begünstigen auch das gehäufte Vorkommen von Legionellose in den spezialisierten Pflegebereichen; dort muß an solche Infektionen gedacht werden [58]. Infektionen bei immunkompetenten Kindern bilden die seltene Ausnahme, wurden aber ebenfalls beschrieben [38, 77, 198, 253, 370].

Pulmonale Grund- und Begleiterkrankungen steigern offensichtlich das Infektionsrisiko, so wurden Infektionen bei Asthma bronchiale unter Kortikosteroidtherapie bei Hypogammaglobulinämie, bei Tracheobronchomalazie, bei Trachealstenose nach Tracheostomie und im Verlauf oder der Folge von akuten und chronischen bronchopulmonalen Erkrankungen gefunden [58, 77, 402, 478, 494]. Die Doppelinfektion mit RSV („respiratory syncytial virus“) und *Legionella pneumophila* sowie mit *Pneumocystis carinii* und Parainfluenzaviren wurde je einmal beschrieben [6, 102]. Die Kombination von Abwehrmangel und bronchopulmonalen Erkrankungen muß den Verdacht an Legionellainfektionen wecken, jedoch begünstigt eine solche Kombination auch Infektionen durch andere Erreger.

Die Pneumonien verlaufen als Lobärpneumonien in einem oder mehreren Lappen oder als diffuse alveoläre Infiltrate und werden auch von Pleuraergüssen begleitet. Abszeßbildung wurde in 2 Fällen beschrieben [77, 102]. Die Begleitsymptome umfassen wie beim Erwachsenen das Zentralnervensystem, das Herz, den Verdauungstrakt, die Leber, Milz und Niere sowie die Haut [6, 38, 77, 102, 253].

Zerebelläre Ataxien betreffen vorwiegend Kinder im Alter von 1–4 Jahren und haben meist eine virale Genese. Die Pathomechanismen blieben bisher ungeklärt. Pädiatrische Legionellose und zerebelläre Ataxien sind vielleicht enger verknüpft. Unter 66 Kindern mit neurologischen Symptomen hatten drei, die mit Ataxien erkrankt waren, Antikörper gegen Legionellen [394]. Schwere therapierefraktäre epileptische Anfälle wurden ebenfalls beobachtet [416].

Prinzipiell gibt es auch eine Gefährdung des Fetus bei einer Legionelleninfektion während der Schwangerschaft. Ein besonders hohes Risiko besteht aber nicht; eine Legionelleninfektion während der Schwangerschaft wurde bisher nur einmal beschrieben [480]. Bei Ausbrüchen könnten Mutter und Kind allerdings durchaus bedroht sein. Infektionen von Neugeborenen sind extrem selten [13].

Zur Behandlung wird die intravenöse Gabe von Erythromycin in pädiatrischer Dosierung und in schweren Fällen die Kombination mit Rifampicin empfohlen.

#### 4.7 Hinweise auf Legionellenpneumonien

Der hohe Anteil schwerer Erkrankungen, die Besonderheiten der Therapie und die schweren Folgen einer Fehlbehandlung zwingen dazu, die ätiologische Diagnose möglichst früh zu stellen oder wenigstens anhand von anamnestischen Hinweisen und klinischen Zeichen den Verdacht auf eine Legionellainfektion zu festigen. Die frühzeitige und endgültige Diagnose gelingt unter günstigen Umständen mit dem Nachweis der Erreger in der direkten Immunfluoreszenz oder durch einen positiven Antigennachweis. Die Präsentation und der Verlauf der Erkrankung, das Röntgenbild und die allgemeinen Laborbefunde lassen dagegen die Legionellenpneumonie keinesfalls sicher erkennen. Mehrere Studien wurden eigens angelegt, um die Symptomatologie einzukreisen; sie haben ergeben, daß es pathognomonische Charakteristika für Legionellen-, Pneumokokken- oder Mykoplasmenpneumonien nicht gibt [170, 220, 246, 255, 369, 542, 548]. Doch es gibt anamnestische und klinische Konstellationen, die auf eine Legionelleninfektion deuten und Anlaß sein müssen, die Diagnostik und Therapie entsprechend auszurichten. Sie sollen hier kurz erörtert werden.

In hohem Maße verdächtig sind alle Pneumonien von Touristen, die aus warmen Ländern zurückkehren; die Legionellen stellen offenkundig den häufigsten Einzelerreger in dieser Situation [100, 101, 332, 452]. Auch in Sanatorien und anderen Einrichtungen für Hydrotherapie muß man an Legionellen denken, wenn pulmonale Infektionen auftreten. Ein berufsbedingtes Risiko tragen alle Personen, die mit Klimaanlage, Kühltürmen, mit Reinigungs- und Montagearbeiten an gebrauchten Wasserkesseln und anderen Warmwasseranlagen zu tun haben oder die langdauernd Aerosolen ausgesetzt sind wie Dreher, Fräser, Schleifer und ähnliche Berufe.

Den Verdacht wecken müssen der plötzliche Beginn und der fulminante Verlauf sowie die fehlenden Frühsymptome seitens der oberen Luftwege, trockener Husten, die relative Bradykardie, die Abdominalschmerzen mit Diarrhöen und ZNS-Symptome (Benommenheit, Verwirrtheit, Delirium) bereits vor Beginn der pulmonalen Erscheinungen.

Auffällige Laborbefunde sind mäßige Leukozytose ( $< 15000/\text{mm}^3$ ) mit deutlicher Lymphopenie ( $< 1000/\text{mm}^3$ ), mäßig erhöhte Transaminasen, Hypalbuminämie ( $< 25 \text{ g/l}$ ), Hyponatriämie ( $< 130 \text{ mmol/l}$ ) und Mikrohämaturie. Die übliche mikrobielle Diagnostik ergibt negative Befunde.

Das Röntgen zeigt bereits ausgedehnte Infiltration einzelner Lungenlappen bei der stationären Aufnahme mit Ausdehnung und lappenübergreifender Entwicklung der Pneumonie trotz angemessener Behandlung; die Besserung des Röntgenbefunds hinkt der klinischen Erholung nach. Bei Patienten mit schweren Abwehrdefekten können Bilder auftreten, die an Lungenembolie erinnern.

Der Zustand der Patienten verschlechtert sich rapide; die Behandlung mit Penicillinen, Cephalosporinen und Aminoglykosiden bleibt ohne Wirkung. Der erheblich reduzierte Gasaustausch erfordert mechanische Beatmung. Hämorrhagische Pneumonien kommen vor.

## 5 Antimikrobielle Therapie

Die intravenöse Gabe von Erythromycin ist die Therapie erster Wahl bei erwiesenen Legionelleninfektionen. Die Behandlung soll mit 4 g täglich (bei Kindern 60 mg/kg) in 4 Einzeldosen begonnen und nach der Entfieberung mit 2 g (bei Kindern 30 mg/kg), dann auch oral, bis zur Gesamtdauer von mindestens 3 Wochen fortgesetzt werden. Die orale Applikation verbietet sich, wenn Diarrhöen vorliegen.

Bei schweren Erkrankungen, immunsupprimierten Patienten und in Fällen, die auf Erythromycin nicht schnell ansprechen, wird die Behandlung für mindestens eine Woche durch Rifampicin (2mal 0,6 oder 4mal 0,3 g, bei Kindern von 6–12 Jahren 10 mg/kg, unter 6 Jahren 15 mg/kg) ergänzt. Zytostatische Behandlungen sollen nach Möglichkeit unterbrochen werden. Die Dosis muß bei eingeschränkter Nierenfunktion wegen der überwiegend extrarenalen Ausscheidung der beiden Stoffe nicht herabgesetzt werden.

Bei Pneumonien, die ohne Kenntnis des Erregers behandelt wurden, haben sich auch Tetrazykline oder Cotrimoxazol als wirksam gezeigt. Solche Fälle können, nachdem sie als Legionelleninfektionen diagnostiziert sind, mit dem Tetrazyklin weiterbehandelt werden; die Therapie mit Cotrimoxazol soll abgebrochen und mit Erythromycin fortgesetzt werden. Tetrazykline in der gewohnten Dosierung sind auch für solche Fälle geeignet, in denen die sonst übliche Therapie kontraindiziert ist.

Neuere Makrolide wie Roxithromyxin, Clarithromycin und Azithromycin haben in experimentellen Studien und Tierversuchen so gute Resultate erbracht, daß auch die Anwendung beim Menschen berechtigt erscheint. Therapeutische Studien im Vergleich zum Erythromycin lassen sich wegen der schwierigen Logistik kaum organisieren, so daß die Empirie die weitere Entwicklung bestimmen wird. Die Erfahrungen an 46 Patienten, von denen 15 auf die Behandlung mit Erythromycin, Rifampicin, Tetrazyklinen und Ofloxacin nicht angesprochen hatten, bestätigen diese Auffassung. Sie waren mit 2mal 500 bis 1000 mg Clarithromycin mit gutem Erfolg (98% Heilung oder Besserung) behandelt worden [234]. Mit Erfolg begonnene Behandlungen sollen fortgesetzt werden; u.U. kann die empfohlene Dosis verdoppelt werden. In jedem Fall ist die Therapiedauer von mindestens 3 Wochen zu beachten.

Die Chinolone Ciprofloxacin und Ofloxacin bilden die wichtigste Alternative zur Standardtherapie; sie werden täglich in 2 Dosen von 200 mg gegeben, ebenfalls für eine Mindestdauer von 3 Wochen. In kritischen Fällen empfiehlt es sich, die Dosis zu verdoppeln.

Die prophylaktische Gabe von Erythromycin wurde schon erprobt [519]; sie muß hochgefährdeten Patienten, z.B. Transplantierten, während einer Häufung von Legionelleninfektionen, vorbehalten bleiben.

Die Standardtherapie der Legionellosen stützt sich auf die Erfahrungen von Philadelphia; damals waren nur 11% der mit Erythromycin und 10% der mit Tetrazyklinen behandelten Patienten gestorben, im Gegensatz zur hohen Letalität bei den Patienten, die Penicilline (20%), Cephalosporine (41%), Chloramphenicol



(30%) oder Aminoglykoside (36%) erhalten hatten [190]. Die Analyse des Ausbruchs in Vermont im Jahre 1977 ließ die Überlegenheit des Erythromycin noch deutlicher hervortreten: von insgesamt 63 Patienten wurden 22 mit Erythromycin behandelt, nur einer davon starb (4%). Die Behandlung mit Penicillinen, Cephalosporinen und Aminoglykosiden brachte dagegen Letalitätsraten von 16–19% [71]. Die gute Wirkung des Erythromycin wird in der Folge in vielen Publikationen betont; eine Therapiestudie, die wissenschaftlichen Ansprüchen genügen könnte, existiert jedoch nicht. Kirby gibt eine Auswertung von Fällen aus der Literatur: danach führte die Infektion bei 13% der mit Erythromycin behandelten 46 Patienten zum Tode, 24% bei gleichzeitiger Immunsuppression, 7% ohne Immunsuppression. Dagegen starben 55% der 18 Patienten ohne Erythromycinbehandlung, davon 80% der Patienten mit und 25% der Patienten ohne Immunsuppression [306]. Diese Zahlen belegen die hohe Gefährdung abwehrgeschwächter Menschen, zeigen aber auch die Bedeutung der frühzeitigen und treffsicheren Therapie.

Unter der Behandlung mit Erythromycin bessert sich das klinische Bild schnell, meist innerhalb weniger Tage. Die Therapie kann aber auch ohne Wirkung bleiben, vor allem bei oraler Gabe und zu geringer Dosierung, wie die zitierten Zahlen zeigen [228, 406].

Rifampicin wurde wegen seiner außerordentlich hohen Aktivität ohne lange Erörterungen in die Therapie eingeführt [191, 336, 506]. Seitdem wird die Kombination von Erythromycin mit Rifampicin bei schweren Erkrankungen oft und erfolgreich angewandt. Die Effizienz ist empirisch belegt; therapeutische Vergleichsstudien gibt es aber nicht. Retrospektive Auswertungen belegen die Überlegenheit der Kombinationstherapie [121]. Das Rifampicin mußte anfangs oral appliziert werden; heute stehen intravenös anwendbare Präparate zur Verfügung. Die Erfahrungen sprechen jedoch nicht gegen die orale Gabe. Die Indikation für die Kombinationstherapie soll keinesfalls eng gestellt werden; in jedem Fall müssen immunsupprimierte Patienten mit Erythromycin und Rifampicin behandelt werden. Die Monotherapie mit Rifampicin ist nicht üblich und wird wegen der Gefahr einer Resistenzentwicklung auch nicht empfohlen. Rifampicinresistente Legionellen wurden unter natürlichen Bedingungen bisher nicht beobachtet. Die Monotherapie kann jedoch durchaus erfolgreich sein, wie es sich hier bei einer sehr schweren Erkrankung gezeigt hat, die irrtümlich als exsudative Tuberkulose mit einer Kombination aus INH, Ethambutol und Rifampicin behandelt worden war. Erythromycin und Rifampicin wirken in Monozytenkulturen nicht sicher bakterizid und bewirken eine reversible Hemmung [279].

Erythromycin kann bei intravenöser Gabe schwere Phlebitiden verursachen; Dauerinfusionen mindern die Nebenwirkungen an den Venen. Erythromycin, vor allem aber Rifampicin, wirken hepatotoxisch. Während der Rifampicinbehandlung soll die Leberfunktion überwacht werden. Schwerer wiegt die Interaktion von Erythromycin und Ciclosporin: Erythromycin hemmt die Metabolisierung und bewirkt toxische Spiegel des Ciclosporins, erfordert also die Kontrolle und Anpassung der Ciclosporinspiegel [285, 300, 353]. Rifampicin dagegen kann den Metabolismus steigern, die Ciclosporinspiegel senken und auf diese Weise Absto-

ßungsreaktionen einleiten [327]. Wirksamere und besser verträgliche Therapieformen sind erwünscht. Neue Makrolide wie Roxithromycin, Clarithromycin und andere bringen möglicherweise therapeutische Vorteile [183, 235, 337, 472].

Die wichtigste Alternative zur Standardtherapie bilden derzeit die Fluorchinolone Ciprofloxacin, Ofloxacin und Refloxacin, deren Effizienz experimentell und durch die klinische Erfahrung vielfach erwiesen ist [108, 121, 185, 242, 243, 399, 457, 462, 463]. Kurz nach der Einführung in die Klinik wurden auch die ersten erfolgreichen Behandlungen von Legionelleninfektionen bekannt; doch wurden nur wenige solcher Fälle publiziert.

Ofloxacin führte nach oraler Gabe von 2mal 200 mg bei einer moribund aus Griechenland zurückgebrachten jungen Frau sehr schnell zur Besserung ihrer Pneumonie, wie aus einer Münchner Klinik mitgeteilt wurde. Die orale Monotherapie mit Ofloxacin bewirkte auch in elf weiteren Fällen von Legionellenpneumonie (800 mg täglich bei einem, 2mal 200 mg bei 10 Patienten) die vollständige Heilung [36, 334]. Vier Patienten mit Legionellenpneumonie aus einer multizentrischen Studie wurden durch die orale Gabe von 3mal 200 mg Ofloxacin erfolgreich behandelt [88].

Eine schwere Pneumonie bei einem systemischen Lupus erythematoses besserte sich dramatisch auf die Gabe von 1mal 400 mg Pefloxacin täglich [325].

Ciprofloxacin wurde bei 3 Pneumonien nach Herztransplantation mit täglich 4mal 200 mg iv. erfolgreich angewandt [266]. Von 10 Pneumoniepatienten, die mit einer Kombination von Erythromycin, Rifampicin und Ciprofloxacin behandelt worden waren, wurden 6 geheilt; 4 verstarben, jedoch nicht an der Infektion, sondern an Nierenversagen, Arrhythmie und Lungenembolie [539]. Im Falle einer Legionellenendokarditis versagte die Behandlung mit Erythromycin (4mal 1 g) und Rifampicin (2mal 600 mg); der Patient wurde durch Ciprofloxacin (2mal 300 mg iv.) geheilt [282]. Umgekehrt konnte eine Legionellenpneumonie, die auf Ciprofloxacin (2mal 200 mg iv.) nicht angesprochen hatte, mit Erythromycin beendet werden [321].

Unsere Erfahrungen beruhen auf persönlichen Mitteilungen von vielen Seiten. Zehn Fälle mit Legionellenpneumonie, die mit Ciprofloxacin behandelt worden waren, wurden ausgewertet und veröffentlicht [516]. Alle Patienten hatten auf die vorangegangene Antibiotikatherapie nicht angesprochen; die Infektionen waren durch *L. pneumophila* sg 1, *L. dumoffii*, *L. bozemanii* sg 1 und *L. longbeachae* sg 1 verursacht. Ciprofloxacin wurde in acht Fällen mit 400 mg tgl., in zwei Fällen mit 200 mg tgl. iv. gegeben; die erfolglose Vorbehandlung war in allen Fällen abgebrochen worden. Ciprofloxacin war in 8 von 10 Fällen erfolgreich. Ein Therapieversager hatte bereits auf die Behandlung mit Erythromycin und Rifampicin nicht angesprochen und verstarb im hypoxämischen Lungenversagen; der 2. Patient wurde nach dem Wechsel auf Erythromycin geheilt. Die Behandlung mit Erythromycin und Rifampicin hatte in 3 Fällen versagt; sie erholten sich nach der Umstellung auf Ciprofloxacin.

Die bisherigen Erfahrungen aus der Therapie mit Fluorchinolonen führen zu den folgenden Empfehlungen:

Ciprofloxacin, Ofloxacin und Pefloxacin sind dann indiziert, wenn Erythromycin und Rifampicin nicht angewandt werden können, beispielsweise bei Leberfunktionsstörungen. Bei eindeutig diagnostizierten Legionelleninfektionen soll die Behandlung auf Fluorchinolone umgestellt werden, wenn Erythromycin und Rifampicin versagen.

Bei unklaren Infektionen, die initial erfolgreich mit Fluorchinolonen behandelt worden sind, soll die Behandlung auch dann fortgesetzt werden, wenn die Erkrankung als Legionellose diagnostiziert worden ist.

Angesichts der Nebeneffekte der Standardtherapie mit Erythromycin und Rifampicin sollten eigentlich die Träger von Organtransplantaten unter Ciclosporin von der Therapie mit Fluorchinolonen profitieren, insbesondere die Lebertransplantierten, denen damit eine behandlungsbedingte Belastung der Leberfunktion erspart werden kann [266]. Diese Substanzen interferieren offensichtlich auch nicht mit dem Ciclosporin A, wie Beobachtungen am Ofloxacin ergeben haben [546].

Vergleichende Therapiestudien mit Fluorchinolonen gibt es nicht. Solche Studien lassen sich wegen des weit gestreuten Auftretens der sporadischen Legionellosen kaum nach wissenschaftlichen Kriterien planen und durchführen.

Über zufällige Behandlungserfolge mit anderen Antibiotika wie Imipenem und Amoxicillin/Clavulansäure wurde gelegentlich berichtet [89, 172, 379]. Solche Erfolge dürfen keinesfalls dazu verführen, eine bekannte oder vermutete Legionelleninfektion mit diesen  $\beta$ -Laktamantibiotika zu behandeln.

Das Pontiac-Fieber bedarf keiner antibiotischen Therapie und wird in der Regel bereits abgeklungen sein, bevor, wenn überhaupt, die Ursache gefunden ist.

## 6 Mikrobiologische Diagnostik

Die mikrobiologische Diagnostik der Legionellosen umfaßt so verschiedene Methoden wie die kulturelle Isolierung, den Direktnachweis der Bakterien oder ihrer Abbauprodukte mit immunologischen Verfahren, serologischen Untersuchungen und Nukleinsäuretechniken. Die Evaluierung der einzelnen Verfahren ist nicht unproblematisch, da die Diagnose einer Legionelleninfektion mit klinischen Mitteln allein kaum gestellt werden kann.

Bei Krankheiten niedriger Prävalenz wie der Legionellose kommt einer hohen Testspezifität besondere Bedeutung zu. So beträgt für eine Krankheit mit 5%iger Prävalenz bei einer Sensitivität des Testverfahrens von 80% und einer Spezifität von 90% der positive prädikative Wert, also die Wahrscheinlichkeit, daß das Vorliegen einer Erkrankung richtig angezeigt wird, nur 30%. Bei gleicher Prävalenz und Sensitivität ist auch bei einer guten Spezifität von 98% die Wahrscheinlichkeit, eine zutreffende Aussage zu erreichen, noch immer erst 2:1, d.h. eine von drei Aussagen wird falsch sein.

Auch die umgekehrte Betrachtung ist wichtig. Man muß betonen, daß es gegenwärtig kein Testverfahren mit genügend hoher Sensitivität und Spezifität gibt, welches eine Legionelleninfektion sicher ausschließen könnte [130].

## 6.1 Mikroskopie und Züchtung

Obwohl die Legionellen zu den gramnegativen Stäbchen gehören, nehmen sie die übliche Gegenfärbung mit Safranin nur schlecht auf, so daß sie in klinischen Proben, im Gegensatz zu Kulturausstrichen, kaum zu erkennen sind. Basisches 0,1%iges Fuchsin ist jedoch gut geeignet [107, 341]. Auch mit der Giemsa-Färbung ließen sich Legionellen darstellen [442]. In der Ziehl-Neelsen-Färbung verhält sich *L. pneumophila* nicht säurefest, jedoch konnten säurefeste Stäbchenbakterien im Sputum als *Legionella micdadei* charakterisiert werden [256]. Eine Modifikation der Gimenez-Färbung erwies sich beim Legionellennachweis in Abklatschpräparaten von Lungengewebe als nützlich [221]. Für Paraffinschnitte hat sich die Silberimprägnation nach Dieterle bewährt [164]. Die Legionellen stellen sich dabei im Gewebe als braunschwarze pleomorphe Stäbchen dar. Eine einfachere und schnellere Alternative ist die Silberfärbung nach Warthin-Starry [430, 513].

Der kulturelle Nachweis von Legionellen in Proben vom Kranken hat die höchste Spezifität; daran werden alle anderen Labormethoden gemessen [130].

Die Kolonisation des Oropharynx und der oberen Luftwege, bei vielen bronchopulmonalen Erregern die Vorphase der Infektion, scheint bei den Legionellen nur als seltene Ausnahme vorzukommen [363, 384]. Zwar ließ sich bei 4% von 186 untersuchten Freiwilligen mit dem direkten Immunfluoreszenztest eine oropharyngeale Kolonisation durch *L. pneumophila* nachweisen, die Züchtung gelang jedoch in keinem dieser Fälle [65]. Aus mehr als 22000 Sputen konnten nur 4mal Legionellen gezüchtet werden [199]. In keinem dieser Fälle gab es Hinweise auf Legionelleninfektionen. Diese Studie weist demzufolge einer positiven Kultur die Spezifität von 99,93% zu.

Sehr widersprüchlich sind hingegen die Aussagen über die Sensitivität kultureller Verfahren. Die Züchtung von Legionellen gilt nach Edelstein nicht nur als die spezifischste, sondern auch als die sensitivste aller diagnostischen Techniken, was nicht ohne Widerspruch geblieben ist [131, 154]. Andere Autoren hingegen finden die direkte Immunfluoreszenz wesentlich sensitiver als die Kultur [356]. Jedenfalls hat eine antimikrobielle Therapie vor der Probenahme Einfluß auf den Erfolg der Kultur; deren Empfindlichkeit sinkt ganz erheblich. Für die Isolierung von Legionellen werden sehr unterschiedliche Patientenproben eingesetzt. Sputum hat sich als Material mit der geringsten Nachweiswahrscheinlichkeit für Legionellen erwiesen, dagegen dürften durch endotracheale Aspiration oder bronchoalveoläre Lavage gewonnene Sekrete sehr gut geeignet sein [315].

Vor allem bei schweren Verläufen der Legionärskrankheit wurden immer wieder Bakteriämien nachgewiesen. So fanden sich in einer Studie bei 38% Patienten mit gesicherter Legionellose auch im Blut Erreger. Eine Reihe weiterer Berichte über die Isolierung von Legionellen aus Blutkulturen liegen vor [135, 347, 354].

In anderen Fällen gelang die Züchtung von Legionellen aus den verschiedensten klinischen Materialien wie Knochenmark [280], Aszites [397], Perikarderguss [357], Niere [117], Darm [119], Hautabszessen [4], einem perirektalen Abszess [11], aus einem Hämodialyse-Shunt [294], oder auch Sternalwunden nach

Gebrauch kontaminierten Wassers [344]. Die Kontamination mit legionellenhaltigem Wasser muß auch für Gewebeproben, die durch Autopsie gewonnen wurden, als Ursache von Fehldiagnosen beachtet werden [338].

In histologischen Schnitten sowie in frischem oder formalinfixiertem Lungengewebe lassen sich Legionellen durch Färbung mit Kaninchenhyperimmunsereen, die mit Fluorescein-Isothiocyanat markiert worden sind, gut nachweisen [86]. Über die erfolgreiche Verwendung dieser Methode in Tracheobronchialflüssigkeit sowie in Sputum oder Pleuraflüssigkeit liegen viele Berichte vor [70, 85, 329]. Die Technik der direkten Immunfluoreszenz hat sich auch in unserem Laboratorium gut bewährt.

Ihr größter Vorteil liegt in der Schnelligkeit; bereits wenige Stunden nach dem Eingang des Materials liegt der Befund vor. Positive Befunde haben eine besonders hohe diagnostische Wertigkeit, da für die eindeutige Beurteilung eine große Anzahl von Bakterien in der Probe [ca.  $10^4$ – $10^5$ /ml] erforderlich ist. Nach den Kriterien der Centers for Disease Control (CDC) werden für eine positive Beurteilung in Lungenbiopsien mindestens 25 oder mehr typisch geformte Stäbchenbakterien in der Probe gefordert [240]. Andere Autoren geben mindestens 5 Stäbchen pro Probe oder mindestens je ein Stäbchen in 4 Gesichtsfeldern an [128]. Nach unserer Erfahrung erreicht die Anzahl fluoreszierender Stäbchen in fraglich positiven Proben die genannten Kriterien meist nicht. In solchen Fällen ist eine Legionellose zwar wahrscheinlich, aber nicht gesichert.

Die fluoreszierenden Stäbchenbakterien liegen sowohl extrazellulär als auch in Zellen eingeschlossen. Probleme schafft manchmal die Beurteilung des fluoreszierenden Materials. Die Positivkontrolle erleichtert durch unmittelbaren Vergleich die Identifikation typisch geformter Stäbchen, jedoch findet sich bei Patienten, die antibiotisch vorbehandelt sind, häufig intraphagozytär abgelagertes scholliges fluoreszierendes Material. Zur Unterdrückung der unspezifischen Fluoreszenz empfiehlt sich die Gegenfärbung mit rhodaminmarkiertem Kaninchenserum [85].

Vorsicht ist auch hinsichtlich der Reagenzien gegeben. Alle Lösungen und Puffer müssen legionellenfrei, wegen der ubiquitären Präsenz der Legionellen im Wasser also filtersterilisiert und die Objektträger hiermit nachgewaschen sein.

Die Brauchbarkeit der direkten Immunfluoreszenz hängt hauptsächlich von der Qualität der immunologischen Reagenzien ab. Man kann sie selbst herstellen [85, 240, 364]. Die meisten Laboratorien werden aber auf die im Handel verfügbaren Produkte angewiesen sein. Sie sind teuer, gelegentlich von mäßiger Güte und müssen wegen der Vielfalt der Legionellenspezies und -serogruppen in beachtlicher Zahl vorrätig gehalten werden.

Es gibt zwei Wege, um die Anzahl der nötigen Antiseren zu reduzieren. Aus mehreren monospezifischen Kaninchenantisereen kann ein polyvalentes Serum gemischt werden [511]; die für die einzelnen Immuntypen spezifischen Antiseren verdünnen sich jedoch gegenseitig, was in einer deutlichen Reduktion von Sensitivität und Spezifität des Poolserums resultiert.

Die 2. Möglichkeit ist die Verwendung monoklonaler Antikörper. Ein käuflicher Mausantikörper ist gegen ein speziesspezifisches Epitop von *L. pneumophila* gerichtet, jedoch reagieren damit keineswegs alle Isolate von *L. pneumophila*

[219, 520]. Darüberhinaus gibt es viele Berichte über andere monoklonale Antikörper, deren Nutzen für die Diagnostik aber nicht erwiesen ist [82, 485].

## 6.2 Antikörpernachweis

Serologische Nachweismethoden bilden die Basis der Legionellendiagnostik. Die Mehrzahl aller Legionellosen wird auch heute noch serologisch diagnostiziert. Alle Antikörpernachweise liefern aber weitgehend retrospektive Diagnosen.

Der Nachweis von Antikörpern im indirekten Immunfluoreszenztest (IFT) bildete die erste für die Diagnostik der Legionelleninfektion verfügbare Methode und wird am meisten verwendet, üblicherweise in der vom CDC in Atlanta angegebenen Form [359, 531]. Als Antigene dienen Standardstämme der einzelnen Spezies und Serogruppen, die auf Nährböden gezüchtet und auf verschiedene Weise, mit Formalin, Äther, Phenol oder Hitze, inaktiviert wurden [409, 530]. Zwar ergab die Abtötung der Bakterien mit Formalin eine um 20% geringere Sensitivität als jene mit Hitze, aber die Spezifität der Reaktion war dafür besser [32]. Beide Inaktivierungsverfahren sind gebräuchlich und werden aus unterschiedlichen Gründen bevorzugt [166, 239]. Die Antigene können in Dottersackpräparationen oder auch in Rinderserumalbumin suspendiert werden [328], obwohl dies nach unseren Erfahrungen nicht unerlässlich ist.

Die fixierten und auf dem Objektträger getrockneten Antigene werden anschließend mit einer geometrischen Verdünnungsreihe des zu untersuchenden Serums, beginnend mit 1:16 oder 1:32, überschichtet, inkubiert, gewaschen und mit fluoresceinmarkiertem Antihumanimmunglobulin beschickt. Als Titer wird die höchste Verdünnung angegeben, die noch eine 1+Fluoreszenz (Ausgangswert 4+) von mindestens der Hälfte aller Bakterienzellen pro Gesichtsfeld zeigt. Als signifikant positiv gilt ein mindestens 4facher Titeranstieg auf 1:128 oder darüber. Schwieriger ist die Interpretation von Einzeltitern: solche von 1:256 oder mehr weisen auf eine Legionelleninfektion hin. Tabelle 3 zeigt die Kriterien für die Bewertung serologischer Befunde für *Legionella pneumophila*.

Die Bestimmung der IgM-Antikörper hat keine besondere Bedeutung. So haben auch wir die Erfahrung gemacht, daß Antikörper der IgM-Klasse zwar gelegentlich, aber keineswegs immer eine frische Legionärskrankheit anzeigen. Es

**Tabelle 3.** Diagnostische Kriterien des indirekten Immunfluoreszenztests (IFT) für den Nachweis von Antikörpern

---

### *Einzeltiter*

≤ 1:32	Nicht signifikanter Titer
1:64/128 <sup>a</sup>	Nicht signifikante bis grenzwertige Titer
≥ 1:256	Signifikanter Titer – aktuelle oder frühere Infektion zu unbekannter Zeit Wiederholte Untersuchung angezeigt

---

<sup>a</sup> 4facher Titeranstieg auf 1:128 und mehr in gepaarten Seren – aktuelle oder kurz zurückliegende Infektion (akute Phase, Rekonvaleszenz).

gibt auch Fälle, in denen signifikante Anstiege der Legionellenantikörper ausschließlich der IgG-Klasse angehörten. Eine IgM-Diagnostik ist allenfalls zusätzlich, nicht jedoch als alleinige Methode anzuraten [551].

Die Angaben über den zeitlichen Ablauf der Antikörperbildung sind verschieden. So war in einer Untersuchung kulturell gesicherter Legionelleninfektionen 4 Wochen nach Krankheitsbeginn bei 74% der Patienten eine Serokonversion nachzuweisen, in einer anderen Analyse trat dies nur in 52% der Fälle ein [136, 373, 389]. Einen guten Überblick über den Verlauf im Immunfluoreszenztest gibt eine Auswertung an 100 Patienten mit gesichertem Krankheitsbild [241]. Demnach waren diagnostische Titer nachweisbar 7 Tage nach Erkrankungsbeginn bei 16%, nach 14 Tagen bei 52%, nach 3 Wochen bei 66% und nach 4 Wochen bei 71% der Erkrankten. Das heißt aber auch, daß 3 Wochen nach Erkrankungsbeginn einer von 3 Patienten noch keine Serokonversion zeigt. Die Antikörperbestimmung ermöglicht also keine sichere Ausschlußdiagnostik.

Alternative Testverfahren wurden häufig beschrieben. So soll die Mikroagglutination einfacher und billiger zu vergleichbaren Resultaten führen [174, 175, 339]. Andere serologische Verfahren wie die semiautomatisierte Festphasenimmunfluoreszenzmessung (FIAX), die Hämagglutinationsteste mit erythrozytengebundenen Legionellenantigenen, die Komplementbindungsreaktion oder auch Immundiffusionsteste und die Gegenstromelektrophorese konnten sich in der klinisch-biologischen Diagnostik nicht durchsetzen [142, 263, 481, 504].

Enzymimmunoassays (ELISA) bilden heute die einzige weit verbreitete Alternative und Ergänzung zum Immunfluoreszenztest [174]. Der Vergleich brachte gute Übereinstimmung zwischen beiden Verfahren, wobei sich der Enzymimmunoassay in der Regel als empfindlicher erweist [251, 544].

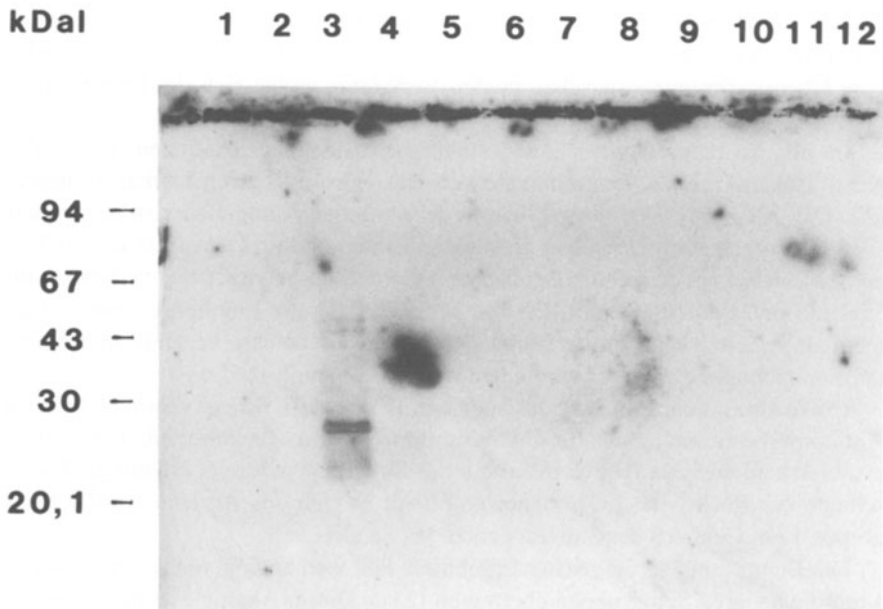
In den ELISAs werden unterschiedliche Antigenpräparationen verwendet: ganze Bakterienzellen, Ultrasonikate von Bakterien oder auch lösliche Antigene [22, 152, 390, 464]. Der Vorteil liegt in der partiellen Automatisierbarkeit; zudem sind die Ergebnisse viel leichter zu standardisieren und im Gegensatz zum IFT ist zur Ablesung kein erfahrener Beobachter erforderlich. Andererseits verhindert die Vielzahl unterschiedlicher ELISA-Methoden bislang die Etablierung eines allgemein akzeptierten Standardverfahrens, so daß die Ergebnisse verschiedener Laboratorien nicht ohne weiteres verglichen werden können.

Hinzu kommt ein Problem, das auch den IFT betrifft. Streng genommen ist die Antikörperbestimmung nur für die Serogruppe 1 von *L. pneumophila* hinreichend evaluiert und auch da gibt es innerhalb der Subgruppen bereits erhebliche Unterschiede der Reaktivität [32]. Daher empfiehlt es sich, als Antigen für die Serogruppe 1 ein Gemisch der Subgruppen zu verwenden.

Die Beurteilung serologischer Ergebnisse läßt sich analog von der Serogruppe 1 auf die anderen Serogruppen übertragen [251]. Dieser Analogieschluß ist jedoch für die Untersuchungen von Non-pneumophila-Spezies nicht erlaubt. Während sich die Spezifität der standardisierten IFT bei *L. pneumophila* 100% nähert, ist sie bei anderen Spezies praktisch unbekannt [450]. Die Ergebnisse solcher Untersuchungen sind deshalb sehr vorsichtig zu interpretieren.

Ein weiteres Problem der Antikörperdiagnostik liegt in der Vielzahl von gepoolten Antigenen verschiedener Serogruppen und Spezies. Die genannten Kriterien einer signifikanten Reaktivität des IFT gelten für monovalente Antigene und können nicht einfach auf gepoolte Antigene übertragen werden. Allgemein akzeptierte Beurteilungskriterien für Poolantigene gibt es nicht.

Die dargestellte Problematik hat uns zur Verwendung einer 3stufigen Antikörperdiagnostik veranlaßt [144]. Als Screeningtest wird ein ELISA unter Verwendung monovalenter Antigene eingesetzt. Jedes im ELISA positive Patientenserum wird in einem 2. Schritt austitriert und gleichzeitig im IFT untersucht. Um die Spezifität der Immunantwort zu sichern, werden ELISA- und IFT-reaktive Seren in einer 3. Stufe mit definierten Zellwandantigenen der betreffenden Spezies im Immunoblotverfahren nachuntersucht. Sowohl definierte Protein- als auch Lipopolysaccharidantigene reagieren und bilden spezifische Muster, die sich auch in Coomassie- oder silbergefärbten SDS-Gelen nachweisen lassen. So hat sich gezeigt, daß vor allem die humane Immunantwort auf Non-pneumophila-Legionellen einer genauen Definition bedarf. ELISA und IFT sind für die Diagnostik von Non-pneumophila-Legionellosen nicht ausreichend spezifisch. Immunoblotuntersuchungen mit definierten Zellwandantigenen erweisen sich deshalb als unabdingbar (Abb. 10).



**Abb. 10.** Immunoblot in der Legionellendiagnostik. Geblottete Antigene: Membranen der Serogruppen 1–12 von *Legionella pneumophila*. Antiserum = Serum einer Patientin mit positivem ELISA 1:1024 und IFA 1:256 gegen Serogruppe 3 von *L. pneumophila*; Detektion:  $^{125}\text{J}$ -Protein A. Autoradiographie



### 6.3 Antigennachweis

Der Nachweis von Legionellenantigenen im Urin wird in einer Reihe von Laboratorien diagnostisch genutzt [177, 270, 460]. Dazu werden der Radioimmunassay (RIA), der Enzymimmunassay (ELISA) und die Latexagglutination verwendet [35, 309, 310, 467, 468]. Bei den nachgewiesenen Antigenen handelt es sich vermutlich um unterschiedlich stark abgebaute Kohlenhydratbestandteile der bakteriellen Zellwand.

Die Latexagglutination war als ca. 16fach weniger empfindlich als die RIA- und ELISA-Methoden. Die vergleichende Auswertung eines kommerziellen Latex-Testes für den Antigennachweis hat nur in 54% der Proben die Resultate des Radioimmunassays bestätigt [333]. Hinzu kam eine erhebliche Anzahl an falsch-positiven Resultaten bei Patienten ohne Hinweis auf Legionelleninfektionen. Zu ähnlichen Ergebnissen führte die Evaluierung eines anderen, in Deutschland vertriebenen Latex-Agglutinationstests. Hier wurden sogar über 50% der positiven Testreaktionen als falsch-positiv bewertet [267].

Für die Sensitivität und Spezifität des Antigennachweises im Urin hat die Qualität der Antikörper essentielle Bedeutung, deren Herstellung eine langwierige Immunisierung der Kaninchen erfordert [468].

Trotz der Berichte über hohe Sensitivität und Spezifität des RIA für den Antigennachweis sind jedoch einige Merkwürdigkeiten erwähnenswert. So wurde über eine Ausscheidung von Legionellenantigenen berichtet, die trotz erfolgreicher Therapie bis zu 326 Tagen andauert hat [311]. Die molekulare Charakterisierung des Antigens steht bis heute aus. Über Kreuzreaktionen des Urinantigens unter verschiedenen Serogruppen wurde berichtet; es liegen aber auch Daten über die Differenzierbarkeit des Antigens der Serogruppe 1 im Urin mit verschiedenen monoklonalen Antikörpern vor, die eine Spezifität für Subserogruppen nahelegen [245, 312, 313]. Dem widerspricht eine Arbeit, die einen „Breitspektrum-ELISA“ für den Nachweis löslicher Antigene von 8 Serogruppen von *L. pneumophila* sowie *L. micdadei*, *L. bozemanii*, *L. dumoffii*, *L. gormanii*, *L. wadsworthii*, *L. oakridgensis*, *L. anisa*, *L. feeleii* und *L. jordanis* präsentiert [496].

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß der Wert des Antigennachweises im Urin für die Diagnostik der Legionelleninfektionen noch nicht eindeutig festliegt. Gelegentlich wird der Antigennachweis als ein Verfahren empfohlen, das andere Methoden überflüssig machen soll. Solange die ausgeschiedenen Antigene molekular nicht klar definiert sind und die Ergebnisse nicht eindeutig mit denen anderer diagnostischer Methoden und den Befunden der Klinik übereinstimmen, scheint diese Euphorie verfrüht.

### 6.4 Molekularbiologische Diagnostik

Die Nutzung des Bakteriengenoms für die Zwecke der mikrobiologischen Diagnostik hat in den letzten Jahren große Fortschritte gemacht. Zwei prinzipiell unterschiedliche Verfahren stehen zur Diskussion: der Einsatz von Gensonden

(„nucleic acid probes“) und die Polymerasekettenreaktion. Der Vorteil von Sonden über die bisher üblichen Methoden der Bakteriologie beruht darauf, daß die genetische Information der Nukleinsäuren unmittelbar für den Nachweis und die Identifizierung von Mikroorganismen genutzt wird. In einer klinischen Probe werden charakteristische Sequenzen der mikrobiellen Nukleinsäure nachgewiesen. Bringt man eine bekannte, dieser Sequenzen komplementäre und markierte Nukleinsäuresequenz (Sonde, „probe“) in das erregerehaltige Untersuchungsmaterial, so läßt sich durch Hybridisierung nachweisen, ob die komplementäre Sequenz in dem zu untersuchenden Material vorhanden ist. Hybridisierung bedeutet in diesem Prozeß die Bildung eines komplementären Doppelstranges aus den beiden verschiedenen Einzelsträngen.

Die beteiligten Stränge können sowohl DNA- als auch RNA-Einzelstränge sein, so daß es möglich wird, DNA-DNA-, RNA-RNA-, aber auch DNA-RNA- oder RNA-DNA-Hybride zu bilden. Auch für diagnostische Sonden können DNA- und RNA-Sequenzen eingesetzt werden. Während die mRNA als Informationsbote für die Proteinbiosynthese dient, bildet die ribosomale RNA (rRNA) einen Strukturbestandteil der Ribosomen, an denen die Proteinsynthese abläuft. Die Wahl der rRNA bietet 3 Vorteile. Die rRNA enthält speziesspezifische Sequenzen, die es zulassen, Mikroorganismen zu identifizieren. Die rRNA liegt meist einzelsträngig vor. Jede Bakterienzelle enthält zahlreiche Kopien, was die Sensitivität des Nachweises erhöht.

Die Polynukleotidsonden lassen sich durch Klonieren, durch Oligonukleotidsynthese oder durch direkte Extraktion der gewünschten Sequenz aus Mikroorganismen präparieren. Mittels radioaktiver Markierung durch das Streptavidin-Biotin-System, die Digoxigeninmarkierung oder die Chemilumineszenz wird die Hybridisierung angezeigt.

Über die Klonierung, Sequenz und Funktion unterschiedlicher Legionellengene gibt es zahlreiche Publikationen. Im Prinzip könnte jede der inzwischen bekannten Nukleotidsequenzen als Ziel für diagnostische Sonden dienen. So wurde das bereits erwähnte immundominante Heat-shock-Protein von *L. pneumophila* in einem 3,2-Kilobasen-Fragment kloniert und später sequenziert [261]. Dabei fand sich auch eine 85%ige Homologie sowohl mit den analogen Proteinen von *E. coli* als auch von *Coxiella burnetii*, und sogar mit dem entsprechenden Heat-shock-Protein von *M. tuberculosis* betrug die Homologie noch 76%. Das mahnt zur Vorsicht bei der Nutzung von Heat-shock-Proteinen für die Diagnostik.

Ebenfalls bekannt ist die DNA-Sequenz des sog. mip-Gens, das für ein Oberflächenprotein von *L. pneumophila* kodiert und mit der Makrophageninfektivität assoziiert ist [156]. Das RecA-Gen von *L. pneumophila* enthält 1044 Nukleotide und spezifiziert ein 37934 Dalton großes Protein, das zu 74,6% Homologie mit dem RecA-Protein von *Pseudomonas aeruginosa* aufweist [550]. Neben der Sequenz einer Protease von *L. pneumophila*, die einer Elastase von *Pseudomonas aeruginosa* homolog ist, sind auch rRNA-Sequenzen von *L. pneumophila* strukturell aufgeklärt [42, 360].

Im Jahre 1985 wurde bereits eine Sonde aus genomischer DNA von *L. pneumophila* beschrieben, die für diese Spezies spezifisch ist [223]. Im folgenden sei

eine Sonde besprochen, die breit evaluiert und auch vielfach für die Legionellen-diagnostik genutzt worden ist [314]. Sie erfaßt alle Spezies des Genus *Legionella* und beruht auf der reversen Transkription der rRNA eines Stammes von *L. pneumophila* Serogruppe 1 unter Verwendung universeller Primer. Gemeinsame Sequenzen mit anderen Bakteriengattungen wurden absorbiert. Die Sonde ist radiojodiniert und bildet RNA-DNA-Komplexe, die an Hydroxylapatit gebunden im Gammazähler gemessen werden. Diese Gen-Probe *Legionella* wurde zunächst für die Identifizierung von Bakterienisolaten verwendet [129, 534]. Die Sonde war in der Lage, alle untersuchten Legionellenspezies von anderen Bakterien zu unterscheiden.

Das günstigste Ergebnis ließ sich auch an Material aus dem Respirationstrakt bestätigen [139]. Die Sensitivität des „Gen-probe-Legionellatests“ wurde im klinischen Material mit 74% und die Spezifität mit 100% angegeben. Eine prospektive Studie in Patientenmaterial kam jedoch zu dem Schluß, daß die Spezifität vom Verhältnis Rauschen/Signal bestimmt wird und daß der Schwellenwert den Quotienten 7,0 überschreiten sollte [113].

Während sich die DNA-Sonde zur Identifikation von Legionellen aus der Kultur und aus Wasserproben eignet, ist sie für Patientenmaterial offenkundig nur bedingt brauchbar [30, 209]. Eine prospektive Untersuchung, in der die Sonde mit Kultur und direkter Immunofluoreszenz (DFT) verglichen wurde, ergab, daß die „niedrige Spezifität der DNA-Sonde zu einem unakzeptablen positiven prädikativen Wert von 60,8% führe“, d.h. daß das positive Ergebnis in mehr als einem Drittel der Fälle zu klinisch falschen Aussagen führt [408]. Eine andere Arbeitsgruppe stellte anhand einer klinischen Studie fest, daß 13 von insgesamt 23 Patienten, für die der DNA-Test positiv verlaufen war, keinerlei Hinweise auf eine Legionellose zeigten [330]. Vor der unkritischen Verwendung dieser DNA-Sonde für die klinisch-mikrobiologische Diagnostik muß also gegenwärtig gewarnt werden.

Die Polymerasekettenreaktion (PCR) ist eine neue Technik, die die praktisch unlimitierte Vermehrung einer gegebenen DNA-Sequenz ermöglicht [350]. Eine Ziel-DNA zwischen 2 gut ausgewählten Primersequenzen kann in einem thermisch kontrollierten Reaktionszyklus unter Verwendung einer thermostabilen DNA-Polymerase („taq-polymerase“) in 20–30 Zyklen millionenfach amplifiziert werden. Die Amplifikationsprodukte lassen sich durch Agarosegelelektrophorese, Southern Blot oder Dot-blot-Hybridisierung mit spezifischen Sonden erkennen.

Einige Autoren haben bereits über erfolgreiche Versuche in der Legionellen-diagnostik berichtet. So wird die speziesspezifische Detektion von *L. pneumophila* in Wasserproben beschrieben [484]. Mit Hilfe der Polymerasekettenreaktion und synthetischer Primer läßt sich die Genamplifikation für die schnelle Sequenzierung der 16 S-rRNA-Domänen aus geringen DNA-Mengen nutzen [53]. So konnten alle Spezies durch die Amplifikation einer Sequenz aus 104 Basenpaaren, die für eine 5 S-rRNA-Region kodiert, identifiziert werden [348]. Alle 14 Serogruppen von *L. pneumophila* ließen sich durch die Amplifikation einer Sequenz, die für das bereits erwähnte mip-Gen kodiert war, nachweisen. Die Empfindlichkeit genügt tatsächlich für die Entdeckung einzelner Bakterienzellen.

Damit stößt die bakteriologische Diagnostik an ihre Grenzen. Gerade bei den Legionellen, die in der Umgebung des Menschen und in der Natur weit verbreitet sind, stellt sich die Frage, inwieweit höchste Sensitivität diagnostisch sinnvoll genutzt werden kann.

## 7 Epidemiologie

### 7.1 Epidemiologische Formen der Legionelosen

Die Legionelleninfektionen treten sowohl sporadisch als auch in Ausbrüchen auf. Ein weiteres Kriterium bildet der Ort, wo eine Legionärskrankheit – sei es sporadisch oder gehäuft – erworben wurde. Erfolgt die Infektion während des Aufenthalts in einer Klinik, so handelt es sich um eine nosokomiale Legionellose, wurde die Erkrankung außerhalb des Krankenhauses erworben, so handelt es sich um eine „community-acquired“, also außerhalb der Klinik erworbene Infektion. Eine Übertragung der Legionellen von Mensch zu Mensch oder vom Tier auf den Menschen wurde bisher nie beobachtet.

Von den pneumonisch verlaufenden Formen klar abzugrenzen ist das sog. Pontiac-Fieber.

### 7.2 Nichtnosokomiale Ausbrüche

Neben der bekannten Epidemie im Bellevue-Stratford-Hotel in Philadelphia wurde über eine Vielzahl vergleichbarer Ausbrüche berichtet. Hotels waren nicht selten Quelle solcher Ausbrüche. So konnte ein Ausbruch im Jahre 1973 mit 86 Erkrankungen und 3 Todesfällen, der von einem Hotel im spanischen Benidorm ausgegangen war, retrospektiv als Legionelloseepidemie geklärt werden [438]. Im selben Hotel kam es dann 1980 erneut zu Legionelleninfektionen bei mindestens 23 britischen Gästen [25].

Während bei dem Ausbruch in Philadelphia vermutlich die Klimaanlage des Hotels der Ausgangspunkt der Erreger war, ließ sich der Ausbruch in Benidorm auf eine mit Legionellen kontaminierte Quelle zurückführen, die das Hotel mit Wasser versorgte.

Im Oktober 1981 erkrankten insgesamt 7 Personen einer Berliner Reisegruppe nach dem Hotelaufenthalt in einer westfälischen Kleinstadt an Pneumonien. Das Hotel war nicht klimatisiert, die Zimmer waren jedoch mit Duschen ausgestattet [323].

Gehäufte Infektionen kamen nicht selten auch im Zusammenhang mit Einkaufszentren zustande. So erkrankten im Sommer 1979 nach dem Besuch in einem Kaufhaus im schwedischen Båstera 68 Menschen [398]. Im australischen Wollongong kam es zu einer Legionelloseepidemie, bei der 44 Menschen erkrankten und neun starben [90]. In diesem Fall wurde der Kühlturm der Klimaanlage als Infektionsquelle erkannt. Da eine direkte Streuung auszuschließen war,

**Tabelle 4.** Epidemische Ausbrüche der Legionärskrankheit

			Erkrankte [n]	Letalität [%]
Washington D.C., USA	1965	Klinik	81	18
Benidorm, Spanien	1968	Hotel	86	4
Philadelphia, USA	1976	Hotel	221	16
Västeras, Schweden	1979	Kaufhaus	68	1,5
Lido di Savio, Italien	1980	Hotel	23	9
Paris, Frankreich	1982/83	Klinik	47	34
Glasgow, U.K.	1984	Klinik	15	33
Stafford, U.K.	1985	Klinikambulanz	163	24
Wollongong, Australien	1987	Einkaufszentrum	44	20
Armavir, GUS	1987	Fabrik	ca. 200	?
London, U.K.	1988	Rundfunkanstalt	43	5

galt die Verbreitung von erregerehaltigen Aerosolen aus dem Kühlturm der Anlage als wahrscheinliche Ursache. Arbeiten in legionellenhaltigem Erdreich waren möglicherweise für den Ausbruch in einem Einkaufszentrum in Maryland im Frühsommer 1987 verantwortlich, der unter 27 erkrankten Besuchern 2 Todesopfer forderte [436].

Gehäufte Infektionen können naturgemäß auch in Industriebetrieben auftreten, wie beispielsweise im März/April 1987 bei 236 Arbeitern einer Gummifabrik in der russischen Stadt Armavir. Die Erreger konnten aus der Warmwasserversorgung des Betriebs isoliert werden [426]. Ein ähnlicher Ausbruch ereignete sich im Mai 1988 in einem Gebäude der BBC am Portland Place in London. Hier erkrankten 43 Personen [444]. Auch aus einer Fleischwarenfabrik wurde über einen Legionelloseausbruch berichtet [404].

Ein weiterer schwerer Ausbruch ereignete sich im Februar/März 1989 in Barcelona. Hierbei erkrankten mindestens 56 Menschen; trotz Erythromycintherapie verstarben sieben davon. Als mögliche Ursache wurden Aushubarbeiten in der Nähe des Hospitals angeführt [81].

Eine Reihe weiterer Ausbrüche von historischem und epidemiologischem Interesse sind in der Tabelle 4 zusammengestellt.

### 7.3 Ausbrüche in Krankenhäusern

Über klinikbedingte Ausbrüche von Legionellenpneumonien gibt es eine Vielzahl von Publikationen. Die Infektionsquellen waren praktisch immer Wasserinstallationen, entweder Kühltürme, von denen erregerehaltige Aerosole abwehten oder

die Warmwasserversorgung der Kliniken direkt. Aber auch von Inhalatoren, Sauerstoffsprudlern und ähnlichen Geräten, die nicht mit sterilem Wasser betrieben wurden, sind nosokomiale Legionellosen ausgegangen.

So gab es im Wadsworth Medical Center in Los Angeles vom Mai 1977 bis November 1981 mindestens 218 Fälle [232]. Die Warmwasserversorgung der Klinik wurde als Quelle angeschuldigt, was aber nicht eindeutig zu bestätigen war. Den ersten Beweis für den Zusammenhang zwischen einer kontaminierten Warmwasseranlage und dem nosokomialen Auftreten der Legionärskrankheit lieferten 1980 Tobin et al., die die Serogruppe 6 von *L. pneumophila* sowohl aus dem Trachealsekret von Patienten als auch aus den Duschen der Station isoliert haben [508].

Im Hospital der Iowa University kam es im Sommer 1981 zu einem Ausbruch mit 24 Erkrankten, von denen 10 Patienten verstarben [248]. Trotz Chlorung des Trinkwassers bis 15 ppm oder Erhitzung auf 64 °C waren die Legionellen nicht aus dem Leitungssystem zu eliminieren. Vergeblich blieben auch die Sanierungsversuche in einer Klinik in Kingston in England, in der es zu einem Ausbruch mit 11 Erkrankten und 2 Todesfällen gekommen war [181]. Die Erreger überstanden die Chlorung auf 2 ppm und die intermittierende Erhitzung des Wassers auf 70 °C.

Der bislang schwerste Ausbruch ereignete sich im April 1985 im englischen Stafford District General Hospital [405]. 163 Patienten waren erkrankt, 39 starben. Die Ursache war ein technischer Defekt in der Klimaanlage eines neu errichteten Gebäudes, durch den legionellenhaltige Aerosole von einem Kühlturm in die Wartehalle der Ambulanz geblasen wurden. Andere Bereiche der Klinik, deren Klimaanlagen unabhängig funktionierten, waren nicht betroffen.

Im Winter 1983/84 traten in einem Krankenhaus mit 960 Betten in Paris 47 Legionelleninfektionen auf [226]. Die Chlorung des Leitungswassers mit 2 ppm und Erhitzung des Warmwassers auf 60 °C konnte die Kette der Erkrankungen nicht unterbrechen. In Deutschland gab es beim Ausbruch in einer Rehabilitationsklinik in Nordbayern bei 10 Fällen 2 Todesopfer [149]. Das Warmwassersystem der Klinik wurde eindeutig als Quelle erkannt. Eine Klinik in Westdeutschland mit 700 Betten hatte 1988 eine Epidemie mit 24 Erkrankten und 7 Todesopfern [269]; außerdem wurde ein Ausbruch in einer psychiatrischen Klinik in Nordrhein-Westfalen beschrieben [162].

#### **7.4 Sporadische Fälle und Häufigkeit**

Während die epidemischen Ausbrüche erhebliche Publizität finden, tritt die Mehrzahl aller Legionelleninfektionen sporadisch, also in Einzelfällen und meist ohne epidemiologisch faßbare Zusammenhänge auf.

Sehr schwer ist die Frage nach der Häufigkeit von Legionellosen zu beantworten. Eine oft zitierte amerikanische Studie aus dem Jahre 1980 hält ungefähr 3% der 800000 Pneumonien ohne bekannte Genese pro Jahr in den USA für legionellenbedingt [189]. Eine andere Untersuchung rechnet für die USA mit jährlich 25000 Legionellenpneumonien [188]. Die Häufigkeit in der Bundesrepublik

Deutschland wird nicht selten aus diesen amerikanischen Zahlen auf die deutsche Bevölkerung umgerechnet, das ergibt 6000–7000 Fälle pro Jahr in den alten Bundesländern [387]. Reingold gibt eine umfassende Analyse der Häufigkeit von Legionelleninfektionen [439].

Vieles spricht dafür, daß die schwere Verlaufsform der Legionellenpneumonien nur die Spitze eines Eisbergs darstellt, daß also die meisten Legionellainfektionen subklinisch verlaufen und der ätiologischen Diagnostik entgehen. Amerikanische Autoren halten die ohne Pneumonie verlaufenden Legionellosen für 100mal häufiger als die pulmonalen Infektionen [43]. Das wird auch in dem Bericht vom Ausbruch in einer Familie deutlich, bei dem eins von den 4 Mitgliedern schwer, 2 weitere mit dem Bild des Pontiac-Fiebers erkrankten und eine signifikante Serokonversion zeigten, während das 4. gesund und seronegativ blieb. Unter den 76 Rückkehrern von einer Pilgerreise nach Rom, die wir 1981 untersucht haben, mußte ein älteres Ehepaar wegen Pneumonie klinisch behandelt werden; 37 weitere Teilnehmer hatten grippeartige Erscheinungen, Husten und kurzzeitig weitere Serokonversion mit Titern bis zu 1:4096.

Nach guten Schätzungen gehören die Legionellen in die Spitzengruppe der Erreger für schwere Pneumonien, die klinischer Behandlung bedürfen. Nach einer Studie aus Nottingham, U.K., sind 36% der schweren, außerhalb des Krankenhauses erworbenen Pneumonien durch Legionellen verursacht [543]. In einer anderen Erhebung aus England werden Legionellen mit 25% als zweithäufigster Pneumonieerreger nach den Pneumokokken angegeben [361]. Zwei Studien liegen mit 22,5% und 25% im gleichen Bereich [548]. Eine andere prospektive Studie aus Frankreich hat Legionellen als Erreger von ungefähr 10% aller Pneumonien bestimmt [51]. Mit 9,5% der klinikbedürftigen Pneumonien kamen wir auf ähnliche Zahlen [343]. In unserem Laboratorium wurden in 10 Jahren 12754 Proben untersucht und in 379 Fällen signifikante Hinweise auf Infektionen gefunden; die daraus errechneten 3% sind aber sehr stark von den Indikationen der Einsender bestimmt. In einer Arbeit aus Spanien werden die Legionellen mit 6,2% an 3. Stelle nach den Pneumokokken und Mykoplasmen gezählt [14]. Eine amerikanische Studie nennt Legionellen in 6,7% aller ätiologisch geklärten Pneumonien als Erreger [169].

Die zitierten Ergebnisse sind durch die untersuchten Gruppierungen wie auch die diagnostischen Methoden geprägt; sie beweisen aber alle die Bedeutung der Legionellen und die Notwendigkeit einer gründlichen Diagnostik.

## 7.5 Natürliche Standorte und Erregerreservoir

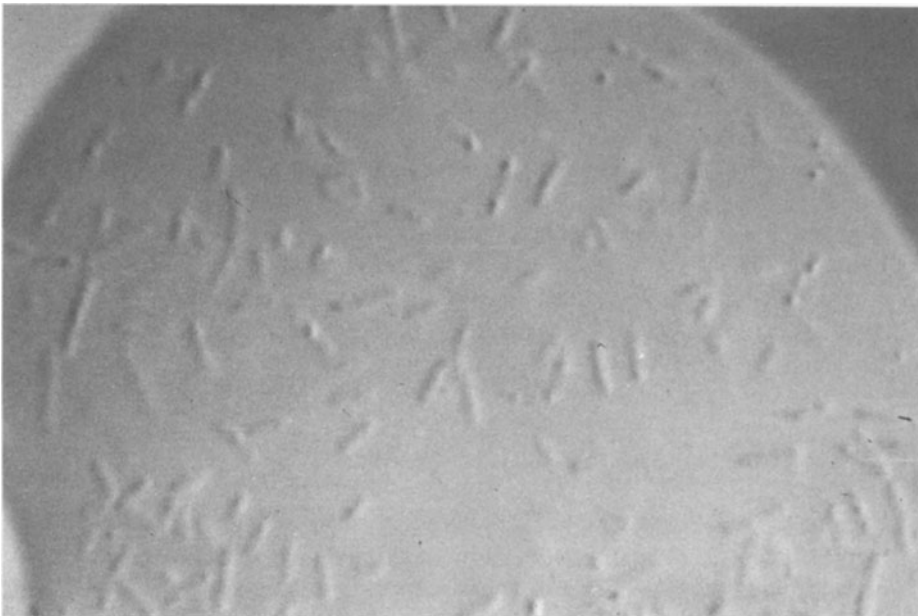
Legionellen finden sich in Oberflächengewässern. Im allgemeinen gehen hiervon keine Erkrankungen aus, wenn auch in Einzelfällen durch die Aspiration legionellenhaltigen Wassers eine Pneumonie ausgelöst worden ist [118, 171, 331, 503]. Auch uns sind solche Erkrankungen bekannt geworden.

Die öffentliche Wasserversorgung bildet sicherlich das primäre Reservoir für die Besiedelung technischer Anlagen. Das wurde in einer Untersuchung von

„Thames Water“, der Organisation, die für die Londoner Wasserversorgung zuständig ist, zusammen mit 9 weiteren regionalen Unternehmen besonders gut belegt. Da auch in der Bundesrepublik Deutschland die meisten Legionelleninfekte von der Wasserversorgung ausgehen dürften, sollen die Sachverhalte näher betrachtet werden.

Der wichtigste Faktor ist die Temperatur des Warmwassers, die im Bereich zwischen 37,7 und 48,8 °C die Vermehrung der Bakterien begünstigt und bei diesen Temperaturen signifikant mit der Zahl der Legionellen korreliert [525]. Von Bedeutung sind daneben die in den Installationen verwendeten Werkstoffe. Entsprechende Untersuchungen zeigen, daß in den Rohren aus Polyvinylchlorid, Polyethylen, Polytetrafluorethylen, aber auch in Silikon oder Gummi hohe Keimzahlen lange erhalten bleiben, während Rohre aus Edelstahl, Glas oder auch Kupfer das Wachstum nicht fördern [471] (Abb. 11).

Doch spielen auch mikroökologische Interaktionen eine wichtige Rolle. Andere Wasserorganismen stellen essentielle Nährstoffe für das Wachstum der Legionellen bereit. So ist bekannt, daß photosynthetische Cyanobakterien und heterotrophe Bakterien oder Amöben, Flagellaten und Ziliaten die Vermehrung fördern [454]. Da die photosynthetisch aktiven Cyanobakterien Licht benötigen, werden sie in Warmwasseranlagen keine besondere Rolle spielen. Freilebende Amöben der Gattungen *Acanthamoeba* und *Naegleria* sowie Ziliaten der Gattung *Tetrahymena* lassen sich mit Legionellen infizieren und tolerieren oder fördern die intrazelluläre Vermehrung [262].



**Abb. 11.** *Legionella pneumophila* im Wasserleitungsnetz. Rohroberfläche Kunststoff B.1.2. x 3750



Zahlreiche Untersuchungen befassen sich mit den Legionellen in Warmwasseranlagen. In einer für die Bundesrepublik Deutschland repräsentativen Studie wurden Legionellen in 70% aller untersuchten Krankenhäuser und in 18% der Hotels gefunden [231]. Die Wasserproben enthielten meistens Mengen von  $10^1$ – $10^3$ /ml, einige sogar  $10^5$ /ml. Im Münchner Raum ließen sich in vier von fünf untersuchten Kliniken Legionellen nachweisen. Eine Studie des Bundesgesundheitsamtes ergab Legionellen in etwa der Hälfte aller untersuchten Warmwasserproben [475]. Man kann deshalb bei der Beurteilung nosokomialer Infektionen, wenigstens bis das Gegenteil erwiesen ist, von einer Kontamination der Warmwasseranlage ausgehen.

Die Frage nach dem Infektionsrisiko hat mehrere Aspekte, die auch in gewissem Maße die Höhe des Risikos abschätzen lassen. So ist es wichtig, welcher Legionellentyp vorliegt; zwar wurden Infektionen durch viele Legionellenspezies beobachtet, die Serogruppe 1 von *L. pneumophila* besitzt jedoch die bei weitem höchste Virulenz. Alle größeren Ausbrüche sowie die meisten sporadischen Pneumonien werden durch diese Gruppe und oft durch deren besonders virulenten Subtyp Pontiac, verursacht.

Die Gefährdung ergibt sich aber auch aus der Anzahl der Erreger. So wurde geschätzt, daß bei  $10^3$  Legionellen je ml Wasser beim Duschen ein Aerosol entsteht, daß nur einen Erreger im Kubikmeter enthält: ein Mensch müßte 5 h duschen, um eine Bakterienzelle einzusatmen [110]. Ein nennenswertes Risiko für Infektionen wird dennoch schon bei Keimzahlen von mehr als  $10^4$  KBE/l angenommen. Die Gefährdung an den Keimzahlen im Wasser zu messen, ist kaum möglich. Solche Befunde brauchen aber eine Interpretation; dazu sind die Vorschläge von Exner gut geeignet, die breite Anerkennung finden [161]. Diese Kriterien sind in der Tabelle 5 wiedergegeben. Der Nachweis des Subtyps Pontiac von *L. pneumophila* deutet auch bei niedriger Keimzahl auf ein erhöhtes Risiko. Bei der gezielten Applikation von Aerosolen, beispielsweise in medizinischen Verneblern, sind vermutlich schon niedrigere Zahlen bedenklich.

## 7.6 Sanierungsmaßnahmen

Viele virulente Legionellen bringen eine hohe Gefährdung. Wenn sich aus der Virulenz eines Legionellenstamms und der Keimzahl ein hohes Risiko für die Patienten ergibt, stellt sich die Frage nach Gegenmaßnahmen. Eine Erkrankung beweist, daß die äußeren Voraussetzungen für die Infektion bestehen.

Während für die Desinfektion von Kühltürmen und ähnlichen Anlagen mikrobizide chemische Stoffe eingesetzt werden können, stehen zur Sanierung von Trinkwasseranlagen Verfahren zur Verfügung, die im folgenden kurz dargestellt werden sollen. Es handelt sich um die UV-Bestrahlung, die Erhöhung der Temperatur und/oder die Chlorierung des Wassers.

Mit der UV-Bestrahlung kann die Zahl der Legionellen im Wasser stark reduziert werden. Unter experimentellen Bedingungen wurden mit Mindestbestrahlungsdosen zwischen 15 und 19 mWs/cm<sup>2</sup> eine Reduktion von 99,9999% erreicht.

**Tabelle 5.** Kriterien für die Beurteilung der Wasserbefunde und notwendige Maßnahmen. (Vereinfacht nach Exner et al. (162))

Kategorie	Mikrobiologische Kriterien	Notwendige Maßnahmen
I-1	Transplantationseinheiten Bereiche für Immunsupprimierte Intensivstationen Haushalte von Immunsupprimierten	- Eingeschränkte Verwendung (keine Reinigung med. Geräte, Atemwegsanfeuchtung, Raumluft- befeuchtung, kein Duschen)
I-2	Krankenhäuser Altenheime Hotels und große Wohnkomplexe <sup>c</sup> Betriebe mit Duschräumen	- Vorläufige Sanierung (thermisch, Hochchlorung) Temperatur auf > 60 °C anheben - Wöchentliche Kontrollen
II	Krankenhäuser Altenheime Hotels und große Wohnkomplexe <sup>c</sup> Betriebe mit Duschräumen	- Eingeschränkte Verwendung (keine Reinigung von Geräten, Atemwegsanfeuchtung, Raumluft- befeuchtung) - Technische Sanierung (Entschlammung von Kesseln, Sperrten nicht genutzter Leitungen) - Kontrolle nach 6 Monaten
III	Wie Kategorie II	- Sanierung nicht erforderlich. Kontrollen nach 1 Jahr.

<sup>a</sup> KBE = Koloniezahl. <sup>b</sup> L. pneumophila sg 1, Subgruppe Pontiac. <sup>c</sup> Mit zentraler Warmwasserversorgung.

Dennoch wurde der praktische Einsatz von UV-Strahlen zur Desinfektion von Leitungswasser bisher nicht empfohlen [355]. Beim praktischen Einsatz der UV-Bestrahlung war kein meßbarer Effekt auf die kontaminierte Warmwasseranlage einer Klinik festzustellen [473].

Das Bundesgesundheitsamt hat in seinen „Empfehlungen zur Verminderung eines Legionellainfektionsrisikos“ (1987) empfohlen, die Wassertemperatur auf mindestens 60 °C einzustellen. Dieser Empfehlung ist prinzipiell zuzustimmen, doch bleibt zu bedenken, ob die Temperatur von 60 °C im Warmwasserbereiter ausreicht oder ob damit nicht in den peripheren und stagnierenden Teilen des Leitungsnetzes günstige Bedingungen für Legionellen geschaffen werden. In einer Modellstudie wurden Temperaturen von 66 °C als untere Grenze für die thermische Sanierung gemessen [54]. Diese Temperatur muß auch an den entferntesten Zapfstellen genügend lange einwirken können; der Heißwasserbereiter muß also bei wesentlich höherer Temperatur gefahren werden, um das zu erreichen. Dabei ist auch an die Verbrühungsgefahr für Patienten und Mitarbeiter zu denken; heißes Wasser von 60 °C verursacht schon in 6 sec eine Verbrennung 3. Grades [483].

Wie die Erfahrung lehrt, reichen die technischen und organisatorischen Voraussetzungen meistens nicht aus, um die thermische Sanierung zu erreichen. Andererseits ist die Erhöhung der Wassertemperatur in den meisten Gebäuden die einzige Dekontaminationsmethode, die sich ohne aufwendige Installationen verwirklichen läßt. Aus rechtlichen Gründen wird deshalb geraten, den genannten Empfehlungen des Bundesgesundheitsamts zu folgen [75].

Die Hochchlorung allein oder in Kombination mit thermischen Maßnahmen kann im Sonderfall nötig werden. Aber auch die Chlorung mit Konzentrationen, die die übliche Trinkwasserbehandlung um das 10fache und mehr übersteigen (0,5 mg/l), schafft Probleme. Neben der Geruchsbelästigung ist die Bildung potentiell karzinogener Trihalomethane zu befürchten. Zwar werden Trihalomethane in kaltem Wasser nur in sehr geringem Maße gebildet, in warmem Wasser jedoch steigt die Rate auf das 5fache. Hohe Chlorkonzentrationen beschleunigen die Korrosion des Rohrnetzes erheblich.

Ein Patentrezept für die Bekämpfung der Legionellen gibt es nicht. Jede Situation erfordert eigene Wege; im Einzelfall müssen deshalb die technischen, mikrobiologischen und medizinischen Sachverhalte analysiert werden. Ökologische Fragen der Legionellen in Wasserinstallationen werden in einer Monographie von Müller ausführlich erörtert (s. weiterführende Literatur).

## 7.7 Epidemiologische Typisierung

Mit den bereits dargestellten Methoden ist es in der Regel möglich, ein Legionellenisolat sowohl einer Spezies als auch einer Serogruppe zuzuordnen. Die Aufklärung von Infektionsquellen ist damit meist jedoch noch nicht möglich, da die überwiegende Anzahl der Erkrankungen, insbesondere bei epidemischem Auftreten, durch die Serogruppe 1 von *L. pneumophila* ausgelöst wird. Da diese Serogruppe jedoch aus einer Vielzahl zwar ähnlicher, aber nicht identischer Stämme

besteht, ist die Isolierung jeweils eines Stammes der Serogruppe 1 von *L. pneumophila* aus Patientenproben und einem Umweltreservoir wie der Wasserleitung keineswegs gleichbedeutend mit der Identifizierung einer Infektionsquelle. Es könnten hier leicht 2 epidemiologisch nicht in Relation stehende Stämme der gleichen Serogruppe isoliert worden sein.

Deshalb sind Methoden erforderlich, um die klonale Identität einzelner Stämme zu definieren. Einige dieser Methoden wurden im folgenden dargestellt.

Eine Reihe von Autoren hat das Vorkommen von Plasmiden in Legionellen beschrieben und für die Untersuchung epidemiologischer Zusammenhänge genutzt [73, 366, 368]. Maher und Mitarbeiter fanden neben einer Mehrheit plasmidfreier Stämme der Serogruppe 1 von *L. pneumophila* einzelne mit Plasmiden zwischen 43 und 85 Megadalton [349]. Bestimmte Plasmidmuster ließen sich Stämmen aus den Wasserleitungen verschiedener Kliniken zuordnen und somit innerhalb einer Serogruppe verschiedene Stämme definieren.

Neben Hybridisierungsmethoden lassen sich Plasmide durch ihre elektrophoretische Mobilität in Agarosegelen charakterisieren [72, 395]. Bakterien können Plasmide erwerben und auch verlieren; der Verlust von Plasmiden scheint allerdings bei Legionellen auch nach wiederholter Agarpassage kaum vorzukommen [349], so daß die Plasmidanalyse als Hilfsmittel der Epidemiologie dienen kann. Da jedoch viele Stämme keine Plasmide tragen, ist der Nutzen der Methode begrenzt.

Dank ihrer hohen Spezifität können monoklonale Antikörper auch für die epidemiologische Typisierung gebraucht werden. Die derzeit am weitesten verbreitete Methode zur Typisierung der Serogruppe 1 von *L. pneumophila* wurde von Joly und Mitarbeitern 1986 vorgestellt [289]. Auch andere Autoren haben monoklonale Antikörper für epidemiologische Untersuchungen eingesetzt [50, 147, 423].

Häufig werden hierfür die Immunperoxidasefärbung oder die Immunfluoreszenz eingesetzt. In zunehmendem Maße findet jedoch auch das einfachere Verfahren des Immuno-Dot-Blots Verwendung, bei dem sich nach entsprechender Markierung der an einem Träger Nitrozellulose gebundene Immunkomplex als Fleck nachweisen läßt.

Die Typisierungsmöglichkeiten von Legionellen mit Hilfe monoklonaler Antikörper werden durch Anzahl und Verfügbarkeit der Antiseren begrenzt. Das von Joly angegebene Schema umfaßt 10 Subtypen für die Serogruppe 1 von *L. pneumophila*. Die erforderlichen zehn Antikörper stehen komplett nur in wenigen Laboratorien zur Verfügung [289].

Obwohl Stämme der Serogruppe 1 häufig in der Umgebung des Menschen zu finden sind, ist die manifeste Infektion selten, sogar bei Menschen mit hohem Risiko. Eine mögliche Erklärung liegt in der unterschiedlichen Virulenz der Stämme.

Eigene Untersuchungen haben gezeigt, daß fast alle Stämme, die wir aus den Lungen isoliert haben, mit Hilfe eines monoklonalen Antikörpers einer definierten Subgruppe der Serogruppe 1 von *L. pneumophila* zuzuordnen waren, während diese Subgruppe bei Wasseruntersuchungen kaum zu finden war [147]. Ähnliche

Erfahrungen wurden auch von anderen Autoren berichtet, die 83% der Patiententämme, aber nur 13% der Umweltstämmen dem Subtyp Pontiac zuordnen konnten [66]. Dournon et al. fanden den Subtyp Pontiac in 121 von 129 Infektionsfällen als Erreger und schließt daraus, daß mit dem entsprechenden Antikörper ein Marker für besonders virulente Stämme von *L. pneumophila* zur Verfügung steht [120]. Auch Stout et al. beschrieben den Subtyp Pontiac als vorherrschend bei klinischen Isolaten [492]. Alle größeren Ausbrüche sind auf den Subtyp Pontiac zurückzuführen, wie Analysen der CDC zeigten.

In den letzten Jahren wurden zunehmend molekularbiologische Techniken, vor allem die Spaltung genomischer DNA durch Restriktionsendonukleasen, benutzt, um epidemiologische Zusammenhänge aufzuklären. Bei dieser auch für Legionellen häufig verwendeten Methode macht man sich die Heterogenität der Spaltstellen der DNA bei verschiedenen Stämmen zunutze. Die Auftrennung der entstandenen Fragmente mittels Elektrophorese erlaubt es dann, die Stämme nach Identität oder Unterschiedlichkeit zu beurteilen. So konnten wir bei einem Ausbruch in einer bayerischen Klinik anhand der identischen DNA-Fragmente den epidemiologischen Zusammenhang von Legionellenstämmen aus der Lunge und aus dem Warmwasser belegen.

Mit Techniken wie der Analyse von Alloenzymen, der molekularbiologischen Untersuchung von Restriktionsfragment-Längenpolymorphismen oder durch den Einsatz der Pulsed-Field-Elektrophorese lassen sich die Typisierungsverfahren weiter ergänzen. Hervorzuheben bleibt, daß auf jeden Fall die Kombination von 2 Typisierungsverfahren eine klonale Identifizierung von Legionellenstämmen für die Aufklärung epidemiologischer Zusammenhänge ermöglicht.

*Danksagungen:* Wir danken an dieser Stelle den vielen klinischen Kollegen, die uns ihre Daten zur Verfügung gestellt haben. Im besonderen gilt unser Dank Herrn Prof. Dr. H. Lydtin, der die Publikation der Röntgenbilder genehmigt hat.

Unsere besondere Anerkennung gilt Frau Petra Schulz und Herrn Peter Pfaller für ihre Arbeit am Manuskript und Literaturregister.

## Literatur

1. Allam AA, Kamholz SL (1989) Legionella pneumonia and AIDS. *Chest* 95:707–708
2. Allen MB, Ray SG, Leitch AG, McHardy GJ (1988) Legionella pneumophila complicating Wegener's granulomatosis. *Chest* 94:1101–1103
3. Allen TP, Fried JS, Wiegmann TB, Hodges GR, Dixon AY, Lee SH, McDougall ML (1985) Legionnaires' disease associated with rash and renal failure. *Arch Intern Med* 145:729–730
4. Ampel NM, Rubin FL, Norden CW (1985) Cutaneous abscess caused by Legionella micdadei in an immunosuppressed patient. *Ann Intern Med* 102:630–632
5. Anand CM, Skinner AR, Malic A, Kurtz JB (1983) Interaction of Legionella pneumophila and a free living amoebae (*Acanthamoeba palestinensis*). *J Hyg (Camb)* 91:167–178

6. Andersen RD, Bergan T, Halvorsen K, Kallings I, Orstavik I (1981) Legionnaires' disease combined with erythema multiforme in 3-year old boy. *Acta Paediatr Scand* 70:427-430
7. Andersen RD, Lauer BA, Fraser DW, McIntosh K (1981) Infections with *Legionella pneumophila* in children. *J Infect Dis* 143:386-390
8. Anderson BB, Sogaard J (1987) Legionnaires' disease and brain abscess. *Neurology* 37:333-334
9. Anhalt JP (1985) Assays for antimicrobial agents in body fluids. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 4th edn. American Society for Microbiology, Washington DC, pp 1009-1014
10. Arneborn P, Kallings J (1985) Acute pancreatitis possibly caused by *Legionella micdadei*. *Scand J Infect Dis* 17:229-231
11. Arnow PM, Boyko EJ, Friedman EL (1983) A rectal abscess caused by *Legionella pneumophila* and mixed anaerobic bacteria. *Ann Intern Med* 98:184-185
12. Arnow PM, Chou T, Weill D, Shapiro EN, Kretzschmar C (1982) Nosocomial Legionnaires' disease caused by aerosolized tap water from respiratory devices. *J Infect Dis* 146:460-467
13. Aubert G, Bornstein N, Rayet J, Pozzetto B, Lenormand PH (1990) Nosocomial infection with *Legionella pneumophila* serogroup 1 and 8 in a neonate. *Scand J Infect Dis* 22:367-370
14. Ausina V, Coll P, Sambeat M et al. (1988) Prospective study on the etiology of community-acquired pneumonia in children and adults in Spain. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 7:343-347
15. Bacheson MA, Friedman HM, Benson CE (1981) Antimicrobial susceptibility of intracellular *Legionella pneumophila*. *Antimicrob Agents Chemother* 20:691-692
16. Baine WB (1985) Cytolytic and phospholipase C activity in *Legionella* species. *J Gen Microbiol* 131:1383-1391
17. Baine WB, Rasheed JK (1979) Aromatic substrate specificity of browning by cultures of the Legionnaires' disease bacterium. *Ann Intern Med* 90:619-620
18. Banford JM, Hakin RN (1982) Chorea after Legionnaires' disease. *Br Med J* 284:1232-1233
19. Bangsberg JM, Collins MT, Hoiby N, Hinderson P (1989) Cloning and expression of the *Legionella micdadei* „common antigen,, in *Escherichia coli*. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand [B]* 97:14-22
20. Barbaree JM, Sanchez A, Sanden G (1983) Tolerance of *Legionella* species to sodium chloride. *Curr Microbiol* 9:1-5
21. Barendregt JN, Kullberg BJ, Wenning JJ, Van Es LA, Van der Woude FJ (1988) Legionella infection with acute renal failure on thrombocytopenia mimicking allograft rejection. *Transpl Int* 1:222-225
22. Barka N, Tomasi JP, Stadtsbaeder S (1986) ELISA using whole *Legionella pneumophila* cell as antigen. Comparison between monovalent and polyvalent antigens for the serodiagnosis of human legionellosis. *J Immunol Methods* 93:77-81
23. Barker JE, Farrell ID (1990) The effect of single and combined antibiotics on the growth of *Legionella pneumophila* using time-kill studies. *J Antimicrob Chemother* 26:45-53
24. Bartlett CLR (1979) Sporadic cases of Legionnaires' disease in Great Britain. *Ann Intern Med* 90:592-595
25. Bartlett CLR, Swann RA, Casal J, Canada Royo L, Taylor AG (1984) Recurrent Legionnaires' disease from a hotel water system. In: Thornsberry C, Balows A, Feeley JC, Jakubowski W (eds) *Legionella*. Proc 2nd Int Symposium, American Society for Microbiology, Washington DC, pp 237-239
26. Baskerville A, Dowsett AB, Fitzgeorge RB, Hambleton P, Broster M (1983) Ultrastructure of pulmonary alveoli and macrophages in experimental Legionnaires' disease. *J Pathol* 140:77-90

27. Baskerville A, Fitzgeorge RB, Broster M, Hambleton P (1983) Histopathology of experimental Legionnaires' disease in guinea pigs, rhesus monkeys and marmosets. *J Pathol* 139:349–362
28. Baskerville A, Fitzgeorge RB, Conlan JW, Ashworth LA, Gibson DH, Morgan CP (1983) Studies on protective immunity to aerosol challenge with *Legionella pneumophila*. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg [A]* 255:150–155
29. Bassett F, Ferrans VJ, Soler P, Takemura T, Fukuda Y, Crystal RG (1986) Intraluminal fibrosis in intestinal lung disorders. *Am J Pathol* 122:443–461
30. Bauer R, Hahn T, Botzenhart K (1990) Der Nachweis von Legionellen im Wasserleitungsnetz mittels Gen-Sonden-Technik und Kulturverfahren. *Zentralbl Hyg Umweltmed* 190:78–83
31. Bellinger-Kawahara CG, Horwitz MA (1987) The major outer protein is a prominent acceptor molecule for complement component C3 on *Legionella pneumophila*. *Clin Res* 35:468A
32. Benson RF, Malcolm GB, Pine L, Harrell WK (1983) Factors influencing the reactivity of *Legionella* antigens in immunofluorescence tests. *J Clin Microbiol* 17:909–917
33. Benson RF, Thacker WL, Wilkinson HW, Fallon RJ, Brenner DJ (1988) *Legionella pneumophila* serogroup 14 isolated from patients with fatal pneumonia. *J Clin Microbiol* 26:382
34. Bercovier H, Steigerwalt AG, Derhi-Cochin M, Moss CW, Wilkinson HW, Benson RF, Brenner DJ (1986) Isolation of legionellae from oxidation ponds and fishponds in Israel and description of *Legionella israelensis* sp. nov.. *Int J Syst Bacteriol* 36:368–371
35. Berdal BP, Farshy CE, Feeley JC (1979) Detection of *Legionella pneumophila* antigen in urine by enzyme-linked immunospecific assay. *J Clin Microbiol* 9:575–578
36. Bertrand A, Janbon F, Despaux E, Jonquet O, Reynes J (1987) L'ofloxacin (RU 43280). Etude clinique. *Pathol Biol (Paris)* 35:629–633
37. Best M, Yu VL, Stout J, Goetz A, Muder RR, Taylor F (1983) Legionellaceae in the hospital water-supply. Epidemiological link with disease and evaluation of a method for control of nosocomial Legionnaires' disease and Pittsburgh pneumonia. *Lancet* 2:307–310
38. Beyer P, Kahn D, Horbach J, Schmid H, Graf W, Weber B (1984) Unusual progression of a *Legionella pneumophila* infection in a young child. *Eur J Pediatr* 141:173–175
39. Bhardwaj N, Horwitz MA (1988) Interferon-gamma and antibiotics fail to act synergistically to kill *Legionella pneumophila* in human monocytes. *J Interferon Res* 8:283–293
40. Bhardwaj N, Nash T, Horwitz MA (1986) Interferon-gamma-activated human monocytes inhibit the intracellular multiplication of *Legionella pneumophila*. *J Immunol* 137:2662–2669
41. Bishop DHL, Pandya KP, King HK (1962) Ubiquinone and vitamin K in bacteria. *Biochem J* 83:606–614
42. Black WJ, Quinn FD, Tompkins LS (1990) *Legionella pneumophila* zinc metalloprotease is structurally and functionally homologous to *Pseudomonas aeruginosa* elastase. *J Bacteriol* 172:2608–2613
43. Blackmon JA, Chandler FW, Cherry WB et al. (1981) Legionellosis. *Am J Pathol* 103:429–465
44. Blackmon JA, Harley RA, Hicklin MD, Chandler FW (1979) Pulmonary sequelae of acute Legionnaires' disease pneumonia. *Ann Intern Med* 90:552–554
45. Blanchard DK, Djeu JY, Klein TW, Friedman H, Stewart WE 2nd. (1988) Protective effects of tumor necrosis factor in experimental *Legionella pneumophila* infections of mice via activation of PMN function. *J Leukocyte Biol* 43:429–435

46. Blanchard DK, Friedman H, Stewart WE II., Klein TW, Djeu JY (1988) Role of gamma interferon in induction of natural killer activity by *Legionella pneumophila* in vitro and in an experimental murine infection model. *Infect Immun* 56:1187–1193
47. Blanchard DK, Friedman H, Klein TW, Djeu JY (1989) Induction of interferon-gamma and tumor necrosis factor by *Legionella pneumophila*: augmentation of human neutrophil bactericidal activity. *J Leukocyte Biol* 45:538–545
48. Blander SJ, Horwitz MA (1989) Vaccination with the major secretory protein of *Legionella pneumophila* induces cell-mediated and protective immunity in a guinea pig model of Legionnaires' disease. *J Exp Med* 169:691–705
49. Bollin GE, Plouffe JF, Para MF, Hackman B (1985) Aerosols containing *Legionella pneumophila* generated by shower heads and hot-water faucets. *Appl Environ Microbiol* 50:1128–1131
50. Bollin GE, Plouffe JF, Para MF, Prior RB (1985) Difference in virulence of environmental isolates of *Legionella pneumophila*. *J Clin Microbiol* 21:674–677
51. Bornstein N, Fleurette J, Bebear C, Chabanon G (1987) Bacteriological and serological diagnosis of community-acquired acute pneumonia, specially Legionnaires' disease. Multicentric prospective study of 274 hospitalized patients. *Zentralbl Bakteriell Mikrobiol Hyg [A]* 264:93–101
52. Bornstein N, Mercatello A, Marmet D, Sugot M, Deveaux Y, Fleurette J (1989) Pleural infection caused by *Legionella anisa*. *J Clin Microbiol* 27:2100–2101
53. Bottger EC (1989) Rapid determination of bacterial ribosomal RNA sequences by direct sequencing of enzymatically amplified DNA. *FEMS Microbiol Lett* 53:171–176
54. Botzenhart K, Heizmann W, Sedaghat S, Heeg P, Hahn T (1986) Bacterial colonization and occurrence of *Legionella pneumophila* in warm and cold water, in faucet aerators, and in drains of hospitals. *Zentralbl Bakteriell Mikrobiol Hyg [B]* 183:79–85
55. Boucree MC (1988) Legionnaires' disease and acute renal failure: a case report and literature review. *J Natl Med Assoc* 80: 1065–1071
56. Boyd JF, McWilliams E (1982) Immunoperoxidase staining of *Legionella pneumophila*. *Histopathology* 6:191–196
57. Brabender W, Hinthorn DR, Asher M, Lindsey NJ, Lin C (1983) *Legionella pneumophila* wound infection. *JAMA* 250:3091–3309
58. Brady MT (1989) Nosocomial Legionnaires' disease in a children's hospital. *J Pediatr* 115:46–50
59. Breiman RF, Horwitz MA (1987) Guinea pigs sublethally infected with aerosolized *Legionella pneumophila* develop humoral and cell-mediated immune responses and are protected against lethal aerosol challenge. *J Exp Med* 165:799–811
60. Brenner DJ (1986) Classification of Legionellaceae. Current status and remaining questions. *Isr J Med Sci* 22:620–632
61. Brenner DJ, Steigerwalt AG, Gorman GW et al. (1980) *Legionella bozemanii* sp. nov. and *Legionella dumoffii* sp. nov.: classification of two additional species of *Legionella* associated with human pneumonia. *Curr Microbiol.* 4:111–116
62. Bridge JA, Edelstein PH (1983) Oropharyngeal colonization with *Legionella pneumophila*. *J Clin Microbiol* 18:1108–1112
63. Brenner DJ, Feeley JC, Weaver RE (1984) Legionellaceae. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Baltimore, London, pp 279–288
64. Brenner DJ, Steigerwalt AG, Gorman GW et al. (1985) Ten new species of *Legionella*. *Int J Syst Bacteriol* 35:50–59
65. Brenner DJ, Steigerwalt AG, Epple P et al. (1988) *Legionella pneumophila* serogroup Lansing 3 isolated from a patient with fatal pneumonia, and descriptions of *L. pneumophila* subsp. *pneumophila* subsp. nov., *L. pneumophila* subsp. *fraseri* subsp. nov., and *L. pneumophila* subsp. *pascullei* subsp. nov.. *J Clin Microbiol* 26:1695–1703
66. Brindle RJ, Stannett PJ, Tobin JO (1987) *Legionella pneumophila*: monoclonal antibody typing of clinical and environmental isolates. *Epidemiol Infect* 99:235–239



67. Brivet F, Pham-Van T, Petitpretz P, Delfraissy JF (1984) Rhabdomyolysis – acute renal failure and Legionnaires' disease. *Chest* 86:943–944
68. Brooks RG, Hofflin JM, Jamieson SW, Stinson EB, Remington JS (1985) Infectious complications in heart-lung transplant recipients. *Am J Med* 79:412–422
69. Broome CV, Fraser DW (1979) Epidemiological aspects of legionellosis. *Epidemiol Rev* 1:1–16
70. Broome CV, Cherry WB, Winn WC jr., McPherson BR (1979) Rapid diagnosis of Legionnaires' disease by direct immunofluorescent staining. *Ann Intern Med* 90:1–4
71. Broome CV, Goings SAJ, Thacker SB, Vogt RL, Beaty HL, Fraser DW (1979) The Vermont epidemic of Legionnaires' disease. *Ann Intern Med* 90:573–577
72. Brown A, Vickers RM, Elder EM, Lema M, Garrity GM (1982) Plasmid and surface antigen markers of endemic and epidemic *Legionella pneumophila* strains. *J Clin Microbiol* 16:230–235
73. Brown A, Lema M, Ciesielski CA, Blaser MJ (1985) Combined plasmid and peptide analysis of clinical and environmental *Legionella pneumophila* strains associated with a small cluster of Legionnaires' Disease cases. *Infection* 13:163–166
74. Bull DW, Scott JP, Breathnach SM (1987) Henoch-Schoenlein purpura associated with Legionnaires' disease. *Br Med J Clin Res* 294:220
75. Bundesgesundheitsamt (1987) BGA: Empfehlungen des Bundesgesundheitsamtes zur Verminderung eines *Legionella*-Infektionsrisikos. *Bundesgesundheitsblatt* 30:252–253
76. Canaud B, Beraud JJ, Mion C, Baldet P, Minran A (1989) Successful treatment of *Legionella*-associated haemolytic uraemic syndrome with acute renal failure and malignant hypertension by prostacyclin (epoprostenol). *Nephrol Dial Transplant* 4:996–999
77. Carlson NC, Kuskie MR, Dobyns EL, Wheeler MC, Roe MH, Abzug MJ (1990) Legionellosis in children: an expanding spectrum. *Pediatr Infect Dis J* 9:133–137
78. Castellani-Pastoris M, Nigro G, Mazzotti MF, Midulla M (1984) *Legionella pneumophila* infection associated with arrhythmia or myocarditis in children without pneumonia. In: Thornsberry C, Balows A, Feeley JC, Jakubowski W (eds) *Legionella*. Proc 2nd Int Symposium, American Society for Microbiology, Washington DC, pp 14–15
79. Castellani-Pastoris M, Vigano EF, Passi C (1988) A family cluster of *Legionella pneumophila* infections. *Scand J Infect Dis* 20:489–493
80. Catrenich CE, Johnson W (1988) Virulence conversion of *Legionella pneumophila*: a one-way phenomenon. *Infect Immun* 56:3121–3125
81. Cayla JA, Sala MR, Plasencia A, Beneyto V, Sureda V, Llorens M, Batalla J (1989) A community outbreak of Legionnaires' disease in Barcelona: epidemiologic and environmental study. *Med Clin (Barc)* 93:526–530
82. Cercenado E, Edelstein PH, Gosting LH, Sturge JC (1987) *Legionella micdadei* and *Legionella dumoffii* monoclonal antibodies for laboratory diagnosis of *Legionella* infections. *J Clin Microbiol* 25:2163–2167
83. Chandler FW, Roth IL, Callaway CS, Bump JL, Thomason BM, Weaver RE (1980) Flagella on Legionnaires' disease bacteria: ultrastructural observations. *Ann Intern Med* 93:711–714
84. Chastre J, Raghu G, Soler P, Brun P, Bassel F, Gibert C (1987) Pulmonary fibrosis following pneumonia due to acute Legionnaires' disease. *Chest* 91:57–62
85. Cherry WB, McKinney RM (1978) Detection in clinical specimens by direct immunofluorescence. In: Legionnaires', the disease, the bacterium and methodology. Jones JL, Hébert GA (eds). Centers for Disease Control, Atlanta, pp 130–145
86. Cherry WB, Pittman B, Harris PP, Hebert GA, Thomason BM, Thacker WL, Weaver RE (1978) Detection of Legionnaires' disease bacteria by direct immunofluorescent staining. *J Clin Microbiol* 8:329–338

87. Chester B, Poulos EG, Demaray MJ, Albin E, Prilucic T (1983) Isolation of *Legionella pneumophila* serogroup 1 from blood with non-supplemented blood culture bottles. *J Clin Microbiol* 17:195–197
88. Chidiac C, Leroy O, Beuscart C, Le Chevalier B, Beaucaire G, Mouton Y and Group Study (1989) Efficacy and safety of oral ofloxacin for treatment of pneumonia. *Rev Infect Dis* 11 [suppl]:1223–1224
89. Chiodini PL, Barker J (1984) Successful treatment of *Legionella* pneumonia with imipenem. *Lancet* 1:401
90. Christopher PJ, Noonan LM, Chiew R (1987) Epidemic of Legionnaires' disease in Wollongong. *Med J Aust* 147:127–128
91. Cianciotto NP, Eisenstein BI, Mody CH, Toews GB, Engleberg NC (1989) A *Legionella pneumophila* gene encoding a species-specific surface protein potentiates the initiation of intracellular infection. *Infect Immun* 57:1255–1262
92. Cohen ML, Broome CV, Paris AL, Martin WT, Allen JR (1979) Fatal nosocomial Legionnaires' disease: clinical and epidemiologic characteristics. *Ann Intern Med* 90:611–613
93. Colbourne JS, Pratt DJ, Smith MG, Fisher-Hoch SP, Harper D (1984) Water fittings as sources of *Legionella pneumophila* in a hospital plumbing system. *Lancet* 1:210–213
94. Collins MT, Jones D (1981) Distribution of isoprenoid quinone structural types in bacteria and their taxonomic implications. *Microbiol. Rev* 45:316–354
95. Collins MT, Espersen F, Hoiby N, Cho SN, Friis-Moller A, Reif JS (1983) Cross-reactions between *Legionella pneumophila* (serogroup 1) and twenty-eight other bacterial species, including other members of the family Legionellaceae. *Infect Immun* 39:1441–1456
96. Conlan JW, Ashworth LA (1986) The relationship between the serogroup antigen and lipopolysaccharide of *Legionella pneumophila*. *J Hyg (London)* 96:39–48
97. Copeland JG, Mammana RB, Fuller JK, Campbell DW, McAleer MJ, Sailer JA (1984) Heart transplantation: four years' experience with conventional immunosuppression. *JAMA* 251:1563–1566
98. Cordes LG, Wiesenthal AM, Gorman GW et al. (1981) Isolation of *Legionella pneumophila* from hospital shower heads. *Ann Intern Med* 94:195–197
99. Corpier CL, Jones PH, Suki WN, Lederer ED, Quinones MA, Schmidt SW, Young JB (1988) Rhabdomyolysis and renal injury with lovastatin use. Report of two cases in cardiac transplant recipients. *JAMA* 260:239–241
100. Cossar JH, Dewar RD, Fallon RJ, Grist NR, Reid D (1982) *Legionella pneumophila* in tourists. *Practitioner* 226:1543–1548
101. Cossar JH, Reid D, Fallon RJ et al. (1990) A cumulative review of studies on travelers, their experience of illness and the implications of these findings. *J Infect* 21:27–42
102. Cutz E, Thorne PS, Rao CP, Toma S, Gold R, Gelfand EW (1982) Disseminated *Legionella pneumophila* infection in an infant with severe combined immunodeficiency. *J Pediatr* 100:760–762
103. Daisy JA, Benson CE, McKittrick J, Friedman HM (1981) Intracellular replication of *Legionella pneumophila*. *J Infect Dis* 143:460–464
104. Davis GS, Winn WC Jr, Gump DW, Beaty HN (1983) The kinetics of early inflammatory events during experimental pneumonia due to *Legionella pneumophila* in guinea pigs. *J Infect Dis* 148:823–835
105. De Truchis P, Dourmon E, Gluckman E, Touboul JL, Mayaud C, Akoun G (1988) Maladie des legionnaires avec pancytopenie et isolement de legionelles par hemocultures et cultures de moelle osseuse. *Presse Med* 17:34–35
106. De Vivo F, Pond GD, Rhenman B, Icenogle TB, Vasu MA, Copeland JG (1988) Transtracheal aspiration and fine needle aspiration biopsy for the diagnosis of

- pulmonary infection in heart transplant patients. *J Thorac Cardiovasc Surg* 96:696–699
107. De-Freitas JL, Borst J, Meenhorst PL (1979) Easy visualisation of *Legionella pneumophila* by „half-a-gram„ stain procedure. *Lancet* 1:270–271
  108. Deforges L, Fournet MP, Soussy CJ, Duval J (1986) In vitro antibacterial activity of the quinolones against twenty strains of *Legionella pneumophila*. *Pathol Biol (Paris)* 34:631–633
  109. Denning D, Thomas P, Harries M, Wall R (1987) Whole blood exchange as treatment for legionellosis. *Lancet* 1:227
  110. Dennis PJJ, Wright AE, Ruther DA (1984) *Legionella pneumophila* in aerosols from showerbaths. *J Hyg (Camb)* 93:349
  111. Dieterle RR (1927) Method for demonstration of *Spirocheata pallida* in single microscopic sections. *Arch Neurol Psychiatry* 18:73–80
  112. Dietrich PA, Johnson RD, Fairbank JT, Walke JS (1978) The chest radiograph in Legionnaires' disease. *Radiology* 127:577–582
  113. Doebbeling BN, Bale MJ, Koontz FP, Helms CM, Wenzel RP, Pfaller MA (1988) Prospective evaluation of the gen-probe assay for detection of legionellae in respiratory specimens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 7:748–752
  114. Doebbeling BN, Ishak MA, Wade BH et al. (1989) Nosocomial *Legionella micdadei* pneumonia: 10 years experience and a case control study. *J Hosp Infect* 13:289–298
  115. Domingo C, Roig J, Seres J (1989) Pericardial effusion as a clinical sign of Legionnaires' disease. *Int J Cardiol* 23:407–409
  116. Dondero TJ, Rendtorff RC, Mallison GF, Weeks RM, Levy JS, Wong EW, Schaffner W (1980) An outbreak of Legionnaires' disease associated with a contaminated air-conditioning cooling tower. *New Engl J Med* 302:365–370
  117. Dorman SA, Hardin NJ, Washington CW (1980) Pyelonephritis associated with *Legionella pneumophila* serogroup 4. *Ann Intern Med* 93:835–837
  118. Dournon E, Bure A, Desplaces N, Carette MF, Mayaud CH (1982) Legionnaires' disease related to gastric lavage with tap water. *Lancet* 1:797–798
  119. Dournon E, Bure A, Kemeny J, Pourriat JL, Valeyre D (1982) *Legionella pneumophila* peritonitis. *Lancet* 2:1363
  120. Dournon E, Bibb WF, Rajagopalan P, Desplaces N, McKinney RM (1988) Monoclonal antibody reactive as a virulence marker for *Legionella pneumophila* serogroup 1 strains. *J Infect Dis* 157:496–501
  121. Dournon E, Mayaud C, Wolff M, Schlemmer B, Samuel D, Sollet JP, Levasseur-Rajagopalan P (1990) Comparison of the activity of three antibiotic regimens in severe Legionnaires' disease. *J Antimicrob Chemother* 26 [Suppl B]:129–139
  122. Dowling JN, Kroboth FJ, Karpf M, Yee RB, Pasculle AW (1983) Pneumonia and multiple lung abscesses caused by dual infection with *Legionella micdadei* and *Legionella pneumophila*. *Am Rev Respir Dis* 127:121–125
  123. Dowling JN, McDevitt DA, Pasculle AW (1985) Isolation and preliminary characterization of erythromycin-resistant variants of *Legionella micdadei* and *Legionella pneumophila*. *J Antimicrob Agents Chemother* 27:272–274
  124. Dreyfus LA, Iglewski BH (1986) Purification and characterization of an extracellular protease of *Legionella pneumophila*. *Infect Immun* 51:736–743
  125. Dummer JS, Bahnson HT, Griffith BP, Hardesty RL, Thompson ME, Ho M (1983) Infections in patients on cyclosporine and prednisone following cardiac transplantation. *Transplant Proc* 15:2779–2781
  126. Dworzack DL, Ferry JJ, Clark RB (1989) Co-infection with *Legionella pneumophila* and *Pneumocystis carinii* in a patient with chronic lymphocytic leukemia. *Nebr Med J* 74:73–75
  127. Edelstein PH (1981) Improved semiselective medium for isolation of *Legionella pneumophila* from contaminated clinical and environmental specimens. *J Clin Microbiol* 14:298–303

128. Edelstein PH (1985) Legionella. In: Manual of Clinical Microbiology, 4th edn, American Society for Microbiology. Washington DC, pp 373–381
129. Edelstein PH (1986) Evaluation of the gen-probe DNA probe for the detection of legionellae in culture. *J Clin Microbiol* 23:481–484
130. Edelstein PH (1987) The laboratory diagnosis of Legionnaires' disease. *Semin Respir Infect* 2:235–241
131. Edelstein PH (1987) Laboratory diagnosis of infections caused by legionellae. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 6:4–10
132. Edelstein PH, Edelstein MAC (1991) In vitro activity of azithromycin against clinical isolates of Legionella species. *Antimicrob Agents Chemother* 35:180–181
133. Edelstein PH, Meyer RD (1980) Susceptibility of Legionella pneumophila to twenty antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 18:403–408
134. Edelstein PH, Meyer RD (1984) Legionnaires' disease. A review. *Chest* 85:114–120
135. Edelstein PH, Meyer RD, Finegold SM (1979) Isolation of Legionella pneumophila from blood. *Lancet* 1:750–751
136. Edelstein PH, Meyer RD, Finegold SM (1980) Laboratory diagnosis of Legionnaires' disease. *Am Rev Respir Dis* 121:317–327
137. Edelstein PH, Brenner DJ, Moss CW, Steigerwalt AG, Francis EM, George WL (1982) Legionella wadsworthii species nova: a cause of human pneumonia. *Ann Intern Med* 97:809–813
138. Edelstein PH, Calarco K, Yasui VK (1984) Antimicrobial therapy of experimentally induced Legionnaires' disease in guinea pigs. *Am Rev Respir Dis* 130:849–856
139. Edelstein PH, Bryan RN, Enns RK, Kohne DE, Kacian DL (1987) Retrospective study of Gen-Probe rapid diagnostic system for detection of legionellae in frozen clinical respiratory tract samples. *J Clin Microbiol* 25:1022–1026
140. Edelstein PH, Gaudet EA, Edelstein MA (1989) In vitro activity of lomefloxacin (NY-198 or SC 47111), ciprofloxacin and erythromycin against 100 clinical Legionella strains. *Diagn Microbiol Infect Dis* 12:93S–95S
141. Edelstein PH, Edelstein MAC, Weidenfeld J, Dorr MB (1990) In vitro activity of sparfloxacin (CI-978; AT-4140) for clinical Legionella isolates, pharmacokinetics in guinea pigs, and use to treat guinea pigs with Legionella pneumophila pneumonia. *Antimicrob Agents Chemother* 34:2122–2127
142. Edson DC, Stiefel HE, Wentworth BB, Wilson DL (1979) Prevalence of antibodies to Legionnaires' disease. A seroepidemiologic survey of Michigan residents using the hemagglutination test. *Ann Intern Med* 90:691–693
143. Edwards R, Feltham RKA (1983) Taxonomic implication of the cellular fatty acid content of the Legionellaceae and possibly related species. *FEMS Microbiol Lett* 17:251–255
144. Ehret W (1989) Methoden und Probleme der Legionellendiagnostik. *Immun Infekt* 17:4–12
145. Ehret W, Ruckdeschel G (1983) Species specific membrane proteins of Legionellaceae. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg [A]* 255:33–38
146. Ehret W, Ruckdeschel G (1985) Membrane proteins of legionellaceae. I. Membrane proteins of different strains and serogroups of Legionella pneumophila. *Zentralbl Bakteriol Hyg [A]* 259:433–445
147. Ehret W, Von Specht JH, Ruckdeschel G (1986) Discrimination between clinical and environmental strains of Legionella pneumophila by a monoclonal antibody. *Isr J Med Sci* 22:715–723
148. Ehret W, Jacob K, Ruckdeschel G (1987) Identification of clinical and environmental isolates of Legionella pneumophila by analysis of outer-membrane proteins, ubiquinones and fatty acids. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg [A]* 266:261–275
149. Ehret W, Klatt J, Ruckdeschel G, Anding G (1991) Identifikation des Trinkwassernetzes als Quelle eines nosokomialen Ausbruchs der Legionärskrankheit mittels

- Analyse genomischer Fragmente und anderer Typisierungsverfahren. Arbeitstagung der DGHM, Berlin: 14.–15. März, Abstract Nr.:43
150. Eisenstein TK, Tamade R, Meissler J, Flesher A, Oels HC (1984) Vaccination against *Legionella pneumophila*: serum antibody correlates with protection induced by heat-killed or acetone-killed cells against intraperitoneal but not aerosol infection in guinea pigs. *Infect Immun* 45:685–691
  151. Eitrem R, Forsgren A, Nilsson C (1987) Pneumonia and acute pancreatitis most probably caused by a *Legionella longbeachae* infection. *Scand J Infect Dis* 19:381–382
  152. Elder EM, Brown A, Remington JS, Shonnard J, Naot Y (1983) Microenzyme-linked immunosorbent assay for detection of immunoglobulin G and immunoglobulin M antibodies to *Legionella pneumophila*. *J Clin Microbiol* 17:112–121
  153. Elliott JA, Johnson W (1982) Virulence conversion of *Legionella pneumophila* serogroup 1 by passage in guinea pigs and embryonated eggs. *Infect Immun* 35:943–946
  154. Ellner PD, Johnson E, Hosmer M, Rodriguez E (1985) Rarity of *Legionella* species in routine sputum specimens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 4:425
  155. England AC, Fraser DW, Plikaytis BD, Tsai TF, Storch G, Broome CV (1981) Sporadic legionellosis in the United States: the first thousand cases. *Ann Intern Med* 94:164–170
  156. Engleberg NC, Carter C, Weber DR, Cianciotto NP, Eisenstein BI (1989) DNA sequence of *mip*, a *Legionella pneumophila* gene associated with macrophage infectivity. *Infect Immun* 57:1263–1270
  157. Engleberg NC, Drutz DJ, Eisenstein BI (1984) Cloning and expression of *Legionella pneumophila* antigens in *Escherichia coli*. *Infect Immun* 44:222–227
  158. Engleberg NC, Pearlman E, Eisenstein BI (1984) *Legionella pneumophila* surface antigens cloned and expressed in *Escherichia coli* are translocated to the host cell surface and interact with specific anti-*Legionella* antibodies. *J Bacteriol* 160:199–203
  159. Engleberg NC, Pearlman E, Dixon D, Eisenstein BI (1986) Antibodies isolated by using cloned surface antigens recognize antigenically related components of *Legionella pneumophila* and other *Legionella* species. *J Immunol* 136:1415–1417
  160. Evans AF, Oakley RH, Whitehouse GH (1981) Analysis of the chest radiograph in Legionnaires' disease. *Clin Radiol* 32:361–365
  161. Exner M (1991) Verhütung, Erkennung und Bekämpfung von Legionelleninfektionen im Krankenhaus. *Das Krankenhaus* 10:460–523
  162. Exner M, Jung KD, Haardt B (1990) Nosokomiale Legionellen-Infektion im Zusammenhang mit einer systemischen Legionellen-Kontamination des Hausinstallationssystems und Erfahrungen zur Sanierung. *Forum Städte-Hygiene* 41:289–293
  163. Faine S (1965) Silver staining of spirochaetes in single tissue sections. *J Clin Pathol* 18:381–382
  164. Faine S, Edelstein PH, Kirby BD, Finegold SM (1979) Rapid presumptive bacteriological diagnosis of Legionnaires' disease. *J Clin Microbiol* 10:104–105
  165. Fairbank JT, Mamourian AC, Dietrich PA, Girod JC (1983) The chest radiograph in Legionnaires' disease. Further observations. *Radiology* 147:33–34
  166. Fallon RJ, Abraham WH (1982) Polyvalent heat-killed antigen for the diagnosis of infection with *Legionella pneumophila*. *J Clin Pathol* 35:434–438
  167. Fallon RJ, Rowbotham TJ (1990) Microbiological investigations into an outbreak of Pontiac fever due to *Legionella micdadei* associated with use of a whirlpool. *J Clin Pathol* 43:479–483
  168. Fang DG, Yu VL, Vickers RM (1989) Disease due to the Legionellaceae (other than *Legionella pneumophila*). *Medicine (Baltimore)* 68:116–132
  169. Fang DG, Fine M, Orloff J et al. (1990) New and emerging etiologies for community-acquired pneumonia with implications for therapy. A prospective multicenter study of 359 cases. *Medicine (Baltimore)* 69:307–316

170. Farr BM, Kaiser DL, Harrison BD, Connolly CK (1989) Prediction of microbial aetiology at admission to hospital for pneumonia from the presenting clinical features. *Thorax* 44:1031–1035
171. Farrant JM, Drury AE, Thompson RP (1988) Legionnaires' disease following immersion in a river. *Lancet* 2:460
172. Farrell ID, Barker J, Chiodini PL, Hutchison JGP, Geddes AM (1985) The activity of imipenem on *Legionella pneumophila*, with a note on the treatment of two cases. *J Antimicrob Chemother* 16:61–65
173. Farrington M, French GL (1983) *Legionella pneumophila* seen in Gram stains of respiratory sections and recovered from conventional blood cultures. *J Infect* 6:123–127
174. Farshy CE, Klein GC, Feeley JC (1978) Detection of antibodies to Legionnaires' disease organism by microagglutination and micro-enzyme-linked immunosorbent assay tests. *J Clin Microbiol* 7:327–331
175. Farshy CE, Cruce DD, Klein GC, Wilkinson HW, Feeley JC (1979) Immunoglobulin specificity of the microagglutination test for the Legionnaires' disease bacterium. *Ann Intern Med* 90:690
176. Feeley JC, Gorman GW, Weaver RE, Mackel DC, Smith HW (1978) Primary isolation media for Legionnaires' disease bacterium. *J Clin Microbiol* 8:320–325
177. Fehrenbach FJ, Horbach I, Ruf B, Schürmann D, Pohle HD (1986) Rapid detection of *Legionella* antigen in tissues and body fluids. *Isr J Med Sci* 22:706–710
178. Fenstersheib MD, Miller M, Diggins C et al. (1990) Outbreak of Pontiac fever due to *Legionella anisa*. *Lancet* 1:35–37
179. Fergusson RJ, Mine LT (1986) Legionnaires' disease and IgA nephropathy. *Scott Med J* 31:114–116
180. Fields BS, Shotts EB Jr, Feeley JC, Gorman GW, Martin WT (1984) Proliferation of *Legionella pneumophila* as an intracellular parasite of the ciliated protozoan *Tetrahymena pyriformis*. *Appl Environ Microbiol* 47:467–471
181. Fisher-Hoch SP, Bartlett CL, Tobin JO et al. (1981) Investigation and control of an outbreak of Legionnaires' disease in a district general hospital. *Lancet* 1:932–936
182. Fitzgeorge RB (1985) The effect of antibiotics on the growth of *Legionella pneumophila* in guinea-pig alveolar phagocytes infected in vivo by an aerosol. *J Infect* 10:189–193
183. Fitzgeorge RB, Featherstone ASR (1989) Roxithromycin of experimental airborne Legionnaires' disease. *J Antimicrob Chemother* 23:462–463
184. Fitzgeorge RB, Baskerville A, Broster M, Hambleton P, Dennis PJ (1983) Aerosol infection of animals with strains of *Legionella pneumophila* of different virulence: comparison with intraperitoneal and intranasal routes of infection. *J Hyg (London)* 90:81–89
185. Fitzgeorge RB, Gibson DH, Jepras R, Baskerville A (1985) Studies on ciprofloxacin therapy of experimental Legionnaires' disease. *J Infect* 10:194–203
186. Floyd-Reising S, Hindler JA, Young LS (1987) In vitro activity of A-56268 (TE-031), a new macrolide antibiotic, compared with that of erythromycin and other antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 31:640–642
187. Fogliani J, Domenget JF, Hohn B, Merignargues G, Bornstein N (1982) Maladie des legionnaires avec localisation digestive. Une observation. *Presse Med* 36:2699–2702
188. Foy HM, Broome CV, Hayes PS, Allan I, Cooney MK, Tobe R (1979) Legionnaires' disease in a prepaid medical-care group in Seattle 1963–75. *Lancet* 1:767–770
189. Fraser DW (1980) Legionnaires' disease: four summers' harvest. *Am J Med* 68:1–2
190. Fraser DW, Tsai RF, Orenstein W et al (1977) Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia. *N Engl J Med* 297:1189–1197
191. Fraser DW, Wachsmuth IK, Bopp C, Feeley JC, Tsai TF (1978) Antibiotic treatment of guinea-pigs infected with agent of Legionnaires' disease *Lancet* 1:175–177

192. Fraser DW, Deubner DC, Hill DL, Gilliam DK (1979) Non-pneumonic, short-incubation-period legionellosis (Pontiac fever) in men who cleaned a steam turbine condenser. *Science* 205:690–691
193. Freedman AP, Coodley E, Johnston RF, Goodman L, Katz SM (1982) Loculated pleural effusion caused by *Legionella pneumophila*. *Thorax* 37:79–80
194. Friedland L, Snyderman DR, Weingarden AS, Hedges TR 3rd., Brown R, Busky M (1984) Ocular and pericardial involvement in legionnaires' disease. *Am J Med* 77:1105–1107
195. Friedman HM, Widen R, Lee J, Klein T (1983) Cellular immunity to *Legionella pneumophila* in guinea pigs assessed by direct and indirect migration inhibition reactions *in vitro*. *Infect Immun* 41:1132–1137
196. Friedman S, Spitalny K, Barbaree J, Faur Y, McKinney R (1987) Pontiac fever outbreak associated with a cooling tower. *Am J Public Health* 77:568–572
197. Fu KP, Neu HC (1979) Inactivation of betalactam antibiotics by *Legionella pneumophila*. *Antimicrob Agents Chemother* 16:561–564
198. Fuchs GJ 3rd, La Rocco M, Robsinson A, Kohl S (1986) Fatal Legionnaires' disease in an infant. *Pediatr Infect Dis J* 5:377–379
199. Fukunaga H, Akagi K, Yabuuchi E (1990) Asymptomatic infection of *Legionella pneumophila* in four cases with pulmonary diseases. *Nippon Saikingaku Zasshi* 45:833–840
200. Fuller J, Levinson MM, Kline JR, Copeland J (1985) Legionnaires' disease after heart transplantation. *Am Thorac Surg* 39:308–311
201. Fumorola D, Miragliotta C, Logroscino G, Castellani-Pastoris M (1984) Simultaneous infection with *Legionella pneumophila* and *Legionella micdadei* in an immunologically intact host. A case report. *Boll Ist Sieroter Milan* 63:165–166
202. Gabay JE, Blake M, Niles WD, Horwitz MA (1985) Purification of *Legionella pneumophila* major outer membrane protein and demonstration that it is a porin. *J Bacteriol* 162:85–91
203. Garbe PL, Davis BJ, Weisfeld JS, Markowitz L, Miner P, Garrity F, Barbaree JM, Reingold AL (1985) Nosocomial Legionnaires' disease – epidemiologic demonstration of cooling towers as a source. *JAMA* 254:521–524
204. Garrity GM, Brown A, Vickers RM (1980) *Tatlockia* and *Fluoribacter*: two new genera of organisms resembling *Legionella pneumophila*. *Int J Syst Bacteriol* 30:609–614
205. Gasper TM, Farudon PA, Davies R (1978) Thrombocytopenia associated with Legionnaires' disease. *Br Med J* 273:1611–1612
206. Gatell JM, Miro JM, Sasal M, Ferrer O, Rodriguez M, Garcia-San-Miguel J (1981) *Legionella pneumophila* antigen in brain. *Lancet* 2:202–203
207. Gea J, Rodriguez-Roisin R, Torres A, Augusti-Vidal A (1988) Lung function changes following Legionnaires' disease. *Eur Respir J* 1:109–114
208. George JR, Pine L, Reeves MW, Harrell WK (1980) Amino acid requirements of *Legionella pneumophila*. *J Clin Microbiol* 11:286–291
209. Geuenich HH, Ly TMC, Müller HE (1988) Die Anwendung der Gen-Sonden-Technik zum Nachweis von Legionellen in Wasserproben. Sonderdruck aus *Lab med* 12:410–413
210. Gibson DH, Baskerville A, Ashworth LA, Fitzgeorge RB (1985) Non-specific protection against pulmonary *Legionella pneumophila* infection in guinea pigs immunized and challenged with mycobacteria. *Br J Exp Pathol* 66:333–344
211. Girod JC, Reichman RC, Winn WC Jr, Klaucke DN, Vogt RL, Dolin R (1982) Pneumonic and non-pneumonic forms of legionellosis. The result of a common-source exposure to *Legionella pneumophila*. *Arch Intern Med* 152:545–547
212. Glavin FL, Winn WC Jr, Craighead JE (1979) Ultrastructure of lung in Legionnaires' disease – observations of three biopsies done during the Vermont epidemic. *Ann Intern Med* 90:555–559

213. Glick TH, Gregg MB, Berman B, Mallison G, Rhodes WW Jr, Kassanoff J (1978) Pontiac fever: an epidemic of unknown etiology in a health department. I. Clinical and epidemiological aspects. *Am J Epidemiol* 107:149–160
214. Glupczynski Y, Labbe M, Yourassowsky E (1984) Cross-reactivity of environmental bacterial with fluorescent-antibody conjugates for *Legionella pneumophila*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 3:215
215. Goldman JM (1986) Neurogenic bladder in Legionnaires' disease. *Am J Med* 80:A65
216. Golub RJ, Feinsilver SH (1988) Hematuria and *Legionella pneumonia*. *Ann Intern Med* 108:489
217. Gombert ME, Josephson S, Goldstein EJC, Smith PR, Butt KM (1984) Cavitory legionella pneumonitis: nosocomial infection in renal transplant recipients. *Am J Surg* 147:402–405
218. Gorman GW, Yu VL, Brown A, Hall JA, Corcoran LK, Martin WT, Bibb WF, Morris GK, Magnussen MH, Fraser DW (1980) Isolation of Pittsburgh pneumonia agent from nebulizers used in respiratory therapy. *Ann Intern Med* 93:572–573
219. Gosting LH, Cabrian K, Sturge JC, Goldstein LC (1984) Identification of a species-specific antigen in *Legionella pneumophila* by a monoclonal antibody. *J Clin Microbiol* 20:1031–1035
220. Granados A, Podzamecz D, Gudiol F, Mauresa F (1989) Pneumonia due to *Legionella pneumophila* and pneumococcal pneumonia: similarities and differences on presentation. *Eur Respir J* 2:130–134
221. Greer PW, Chandler FW, Hicklin MD (1980) Rapid demonstration of *Legionella pneumophila* in unembedded tissue. An adaptation of the Gimenez stain. *Am J Clin Pathol* 73:788–790
222. Griffith ME, Lindquist DS, Benson RF, Thacker WL, Brenner DJ, Wilkinson HW (1988) First isolation of *Legionella gormanii* from human disease. *J Clin Microbiol* 26:380–381
223. Grimont PA, Grimont F, Desplaces N, Tchen P (1985) DNA probe specific for *Legionella pneumophila*. *J Clin Microbiol* 21:431–437
224. Grommek F (1992) Das klinische Bild der Legionelleninfektion in Deutschland. Inaugural-Diss., München
225. Gross D, Willens H, Zeldis SM (1981) Myocarditis in Legionnaires' disease. *Chest* 79:232–234
226. Guiget M, Pierre J, Brun P, Bertholet G, Gottot S, Gibert C, Valleron AJ (1987) Epidemiological survey of a major outbreak of nosocomial legionellosis. *Int J Epidemiol* 16:466–471
227. Guillemain JL, Chapon F, Viader F, Guillo-Lohan A, Lechevalier B (1987) Legionellose pulmonaire avec syndrome cerebelleux et pseudo-bulbaire. *Presse Med* 16:538
228. Gump DW, Frank RO, Winn WC Jr, Foster RS Jr, Broome CV, Cherry WB (1979) Legionnaires' disease in patients with associated serious disease. *Ann Intern Med* 90:538–542
229. Gutzeit MF, Lauer SJ, Durme WM Jr, Kelly KJ, Chusid MJ (1987) Fatal *Legionella pneumonitis* in a neutropenic leukemic child. *Pediatr Infect Dis J* 6:68–69
230. Habicht W, Müller HE (1986) Über das Vorkommen von Legionellen in Warmwasserproben aus Krankenhäusern und Hotels. *Hyg Med* 11:233–237
231. Habicht W, Müller HE (1988) Occurrence and parameters of frequency of *Legionella* in warm water systems of hospitals and hotels in Lower Saxony. *Zentralbl Bakteriell Mikrobiol Hyg [B]* 186:79–88
232. Haley CE, Cohen ML, Halter J, Meyer RD (1979) Nosocomial Legionnaires' Disease: a continuing-common source epidemic at Wadsworth Medical Center. *Ann Intern Med* 90:583–586
233. Hall SL, Wasserman M, Dall L, Schubert T (1983) Acute renal failure secondary to myoglobinuria associated with Legionnaires' disease. *Chest* 84:633–635



234. Hamedani P, Juzar A, Hafeez S et al. (1991) The safety and efficacy of clarithromycin in patients with legionella pneumonia. *Chest* 100:1503–1506
235. Hara K, Suyama N, Yamaguchi K, Kohno S, Saito A (1987) Activity of macrolides against organisms responsible for respiratory infection with emphasis on *Mycoplasma* and *Legionella*. *J Antimicrob Chemother* 20 [Suppl B]:75–80
236. Harris LF (1981) Legionnaires' disease associated with acute encephalomyelitis. *Arch Neurol* 38:462–463
237. Harris LF (1981) Legionnaires' disease associated with massive pericardial effusion. *Arch Intern Med* 141:1385
238. Harris P, Ralph P (1985) Human leukemic models of myelomonocytic development: a review of the HL60 and U937 cell lines. *J Leukocyte Biol* 37:407–422
239. Harrison TG, Taylor AG (1982) Diagnosis of *Legionella pneumophila* infections by means of formalised yolk sac antigens. *J Clin Pathol* 35:211–214
240. Harrison TG, Taylor AG (1988) Identification of legionellae by serological methods. In: Harrison TG, Taylor AG (eds) *A Laboratory Manual for Legionella*. Wiley & Son, New York, pp 57–69
241. Harrison TG, Taylor AG (1988) Timing of seroconversion in Legionnaires' disease. *Lancet* 1:795
242. Havlichek D, Pohlod D, Saravolatz L (1987) Comparison of ciprofloxacin and rifampicin in experimental *Legionella pneumophila* pneumonia. *J Antimicrob Chemother* 20:875–881
243. Havlichek D, Saravolatz L, Pohlod D (1987) Effect of quinolones and other antimicrobial agents on cell-associated *Legionella pneumophila*. *Antimicrob Agents Chemother* 31:1529–1534
244. Heath PD, Booth L, Leigh PN, Turner AM (1986) *Legionella* brain stem encephalopathy and peripheral neuropathy without preceding pneumonia (letter). *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 49:216–218
245. Helbig JH, Lück PC, Pilz C, Witzleb W (1990) Common epitope on urinary antigen derived from different *Legionella pneumophila* serogroup 1 strains recognized by a monoclonal antibody. *Int J Med Microbiol* 273:478–480
246. Helms CM, Viner JP, Sturm RH, Renner ED, Johnson W (1979) Comparative features of pneumococcal, mycoplasmal and Legionnaires' disease pneumonia. *Ann Intern Med* 90:543–547
247. Helms CM, Johnson W, Donaldson MF, Corry RJ (1981) Pretibial rash in *Legionella pneumophila* pneumonia. *JAMA* 245:1758–1759
248. Helms CM, Massanari RM, Zeitler R et al. (1983) Legionnaires' disease associated with a hospital water system: a cluster of 24 nosocomial cases. *Ann Intern Med* 99:172–178
249. Helms CM, Viner JP, Weisenburger DD, Chiu LC, Renner ED, Johnson W (1984) Sporadic Legionnaires' disease: clinical observations on 87 nosocomial and community-acquired cases. *Am J Med Sci* 288:2–12
250. Hendrickson DA (1985) Reagents and stains. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 4th edn. American Society for Microbiology, Washington DC, pp 1093–1107
251. Herbrink P, Meenhorst PL, Groothuis DG, Munckhof HV, Bax R, Meijer CJ, Lindeman J (1983) Detection of antibodies against *Legionella pneumophila* serogroups 1 to 6 and the Leiden-1 strain by micro ELISA and immunofluorescence assay. *J Clin Pathol* 36:1246–1252
252. Hernandez FJ, Kirby BD, Stanley TM, Edelstein PH (1980) Legionnaires' disease. Postmortem pathologic findings of 20 cases. *Am J Clin Pathol* 73:488–495
253. Hervas JA, Lopez P, De la Fuente A, Alomar P (1988) Multiple organ system failure in an infant with *Legionella* infection. *Pediatr Infect Dis J* 7:671–673
254. Herwaldt LA, Gorman GW, Hightower AW et al. (1984) Pontiac fever in an automobile engine assembly plant In: Thornsberry C, Balows A, Feeley JC, Jakubowski W

- (eds) Legionella. Proc 2nd Int Symposium, American Society for Microbiology, Washington DC, pp 246–247
255. Hillebrand G, Castro LA, Land W, Ruckdeschel G (1982) Legionnaires' disease following renal transplantation. *Transplant Proc* 14:49–50
  256. Hilton E, Freedman RA, Cintron F, Isenberg HD, Singer C (1986) Acid-fast bacilli in sputum: a case of Legionella micdadei pneumonia. *J Clin Microbiol* 24:1102–1103
  257. Hiraishi A, Hoshino Y, Kitamura H (1984) Isoprenoid quinone composition in the classification of Rhodospirillaceae. *J Gen Appl Microbiol* 30:197–210
  258. Hofflin JM, Potasman J, Baldwin JC, Oyer PE, Stinson EB, Remington JS (1987) Infectious complications in heart transplant recipients receiving cyclosporine and corticosteroids. *Ann Intern Med* 106:209–216
  259. Hoffmann PS, Pine L, Bell S (1983) Production of superoxide and hydrogen peroxide in medium used to culture Legionella pneumophila: catalytic decomposition by charcoal. *Appl Environ Microbiol* 45:784–791
  260. Hoffman PS, Butler CA, Quinn FD (1989) Cloning and temperature-dependent expression in Escherichia coli of a Legionella pneumophila gene coding for a genus-common 60-kilodalton antigen. *Infect Immun* 57:1731–1739
  261. Hoffmann PS, Houston L, Butler CA (1990) Legionella pneumophila htpAB heat shock operon: nucleotide sequence and expression of the 60-kilodalton antigen in Legionella pneumophila-infected HeLa cells. *Infect Immun* 58:3380–3387
  262. Holden EP, Winkler HH, Wood DO, Leinbach ED (1984) Intracellular growth of Legionella pneumophila within Acanthamoeba castellanii Neff. *Infect Immun* 45:18–24
  263. Holliday MG (1980) The diagnosis of Legionnaires' disease by counterimmunoelectrophoresis. *J Clin Pathol* 33:1174–1178
  264. Holliday OL, Cullis PA, Gilroy J (1982) Motor neuropathy in a patient with Legionnaires' disease. *Ann Neurol* 12:493–494
  265. Holt P (1981) Legionnaires' disease and abscess of appendix. *Br Med J* 282:1035–1036
  266. Hooper TL, Gould FK, Swinburn CR et al. (1988) Ciprofloxacin: a preferred treatment for Legionella infections in patients receiving cyclosporin A. *J Antimicrob Chemother* 22:952–953
  267. Horbach I (1991) Comparison of two tests for the detection of Legionella urinary antigen. 6th Meeting of the European Working Group on Legionella Infections. Elsinore, Denmark, May 27–29. Supplementary report
  268. Horbach I, Naumann D, Fehrenbach FJ (1988) Simultaneous infections with different serogroups of Legionella pneumophila investigated by routine methods and Fourier transformation infrared spectroscopy. *J Clin Microbiol* 26:1106–1110
  269. Horbach I, Fehrenbach FJ, Jürgens D (1990) An outbreak of Legionnaires' disease in a West-German hospital. 5. EW GLI-Meeting, Moskau (GSU) 16–18 May
  270. Horbach I, Jürgens D, Fehrenbach FJ (1990) Zur Diagnostik der Legionellose. *Bundesgesundheitsblatt* 9:375–379
  271. Horwitz MA (1983) The Legionnaires' disease bacterium (Legionella pneumophila) inhibits phagosome-lysosome fusion in human monocytes. *J Exp Med* 158:2108–2126
  272. Horwitz MA (1983) Cell-mediated immunity in Legionnaires' disease. *J Clin Invest* 71:1686–1697
  273. Horwitz MA (1983) Formation of a novel phagosome by the Legionnaires' disease bacterium (Legionella pneumophila) in human monocytes. *J Exp Med* 158:1319–1331
  274. Horwitz MA (1984) Phagocytosis of the Legionnaires' disease bacterium (Legionella pneumophila) occurs by a novel mechanism: engulfment within a pseudopod coil. *Cell* 36:27–33
  275. Horwitz MA (1989) The sequestering of legionellae. *ASM-News* 55:407–408

276. Horwitz MA, Maxfield FR (1984) *Legionella pneumophila* inhibits acidification of its phagosome in human monocytes. *J Cell Biol* 99:1936–1943
277. Horwitz MA, Silverstein SC (1980) Legionnaires' disease bacterium (*Legionella pneumophila*) multiples intracellularly in human monocytes. *J Clin Invest* 66:441–450
278. Horwitz MA, Silverstein SC (1981) Interaction of the Legionnaires' disease bacterium (*Legionella pneumophila*) with human phagocytes. I. *L. pneumophila* resists killing by polymorphonuclear leukocytes, antibody, and complement. *J Exp Med* 153:386–397
279. Horwitz MA, Silverstein SC (1983) Intracellular multiplication of Legionnaires' disease bacteria (*Legionella pneumophila*) in human monocytes is reversibly inhibited by erythromycin and rifampin. *J Clin Invest* 71:15–26
280. Humayun HM, Bird TJ, Daugirdas JT, Fruin RC, Shawky MM, Ing TS (1981) Legionnaires' disease bacillus in bone marrow. *Can Med Assoc J* 125:1084–1085
281. Hurter T, Schlegel J, Lorenz J, Rumpelt JH (1990) Persistierende Alveolitis nach Legionella-Pneumonie. *Dtsch Med Wochenschr* 115:1188–1192
282. Israelski DM, Tucker RM, Baldwin JC, Pohlod DJ, Saravolatz LD, Remington JS (1989) Ciprofloxacin for the treatment of endocarditis due to *Legionella pneumophila*. *Rev Infect Dis* 2 [suppl 5]:1203–1204
283. Jacobs RF, Liesnard C, Goldstein JP, Struelens MJ, Primo G, Leclerc JL, Thys JP (1990) Asymptomatic *Legionella pneumophila* infections in heart transplant recipients. *Transplantation* 50:174–175
284. Jacox RF, Stuard JD (1978) Legionnaires' disease in a patient with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 21:976–977
285. Jensen CWB, Flechner SM, Van Vuren CT, Frazier OH, Cooley DA, Lorber MJ, Kahan BD (1987) Exacerbation of cyclosporine toxicity by concomitant administration of erythromycin. *Transplantation* 43:263–270
286. Johnson DA, Wagner KF, Blanks J, Slater J (1985) False-positive direct fluorescent antibody testing for *Legionella*. *JAMA* 253:40–41
287. Johnson JD, Raff MJ, Van Arsdall JA (1984) Neurologic manifestations of Legionnaires' disease. *Medicine (Baltimore)* 63:303–310
288. Johnson PE, Lynch SR, Park CH (1982) Myelosuppression in Legionnaires' disease. *Arch Intern Med* 142:1377–1378
289. Joly JR, Winn WC Jr (1984) Correlation of subtypes of *Legionella pneumophila* defined by monoclonal antibodies with epidemiological classification of cases and environmental sources. *J Infect Dis* 150:667–671
290. Jones JL, Hébert GA (eds) (1979) Legionnaires', the disease, the bacterium, and methodology. Centers for Disease Control, Atlanta.
291. Jones RN (1991) Activity of sparfloxacin (AT-4140), PD 127391 and PD 131628 against *Legionella* spp. *J Antimicrob Chemother* 27:389–390
292. Jones RN, Barry AL, Thornsberry C (1983) In vitro evaluation of three new macrolide antibiotic agents, Ru 28965, Ru 29065, and Ru 29702, and comparisons with other orally administered drugs. *Antimicrob Agents Chemother* 24:109–215
293. Jones RN, McDougal LK, Thornsberry C (1984) Inhibition and hydrolysis studies of beta-lactamases found in *Legionella* species: antimicrobial activity of new macrolides on legionellae. In: Thornsberry C, Balows A, Feeley JC, Jakubowski W (eds) *Legionella*. Proc 2nd Int Symposium, American Society for Microbiology, Washington DC, pp 100–103
294. Jalweit WH, Winn WC Jr, Rocco TA Jr, Girod JC (1982) Hemodialysis fistula infections caused by *Legionella pneumophila*. *Ann Intern Med* 96:173–175
295. Kalz SM, Matus JP (1984) Febrile illness produced in guinea pigs by oral inoculation of *Legionella pneumophila*. In: Thornsberry C, Balows A, Feeley JC, Jakubowski W (eds) *Legionella*. Proc 2nd Int Symposium, American Society for Microbiology, Washington DC, pp 124–127

296. Karr DE, Bibb WF, Moss CW (1982) Isoprenoid quinones of the genus *Legionella*. *J Clin Microbiol* 15:1044–1048
297. Katz SM, Hashemi S (1982) Electron microscopic examination of the inflammatory response to *Legionella pneumophila* in guinea pigs. *Lab Invest* 46:24–32
298. Kaufmann AF, McDade JE, Patton CM et al. (1981) Pontiac fever: isolation of the etiologic agent (*Legionella pneumophila*) and demonstration of its mode of transmission. *Am J Epidemiol* 114:337–347
299. Keen MG, Hoffman PS (1989) Characterization of a *Legionella pneumophila* extracellular protease exhibiting hemolytic and cytotoxic activities. *Infect Immun* 57:732–738
300. Kessler M (1986) Interaction between cyclosporin and erythromycin in a kidney transplant patient. *Eur J Clin Pharmacol* 30:633–634
301. Khardori N, Haron E, Rolston K (1987) *Legionella micdadei* pneumonia in the acquired immune deficiency syndrome. *Am J Med* 83:600–601
302. Kilvington S, Price J (1990) Survival of *Legionella pneumophila* within cysts of *Acanthamoeba polyphaga* following chlorine exposure. *J Appl Bacteriol* 68:519–525
303. King JW, May JS (1980) Cold agglutinin disease in a patient with Legionnaires' disease. *Arch Intern Med* 140:1537–1538
304. Kirby BD, Harris AA (1987) Nosocomial Legionnaires' disease. *Semin Respir Infect* 2:255–261
305. Kirby BD, Peck H, Meyer RD (1979) Radiographic features of Legionnaires' disease. *Chest* 76:562–565
306. Kirby BD, Snyder KM, Meyer RD, Finegold SM (1980) Legionnaires' disease: report of sixty-five nosocomially acquired cases and review of the literature. *Medicine (Baltimore)* 59:188–205
307. Kitsukawa K, Hara J, Saito A (1991) Inhibition of *Legionella pneumophila* in guinea pig peritoneal macrophages by new quinolone, macrolide and other antimicrobial agents. *J Antimicrob Chemother* 27:343–353
308. Klein TW, Newton CA, Blanchard DK, Widen R, Friedman H (1987) Induction of interleukin 1 by *Legionella pneumophila* antigens in mouse and human mononuclear leukocyte cultures. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg [A]* 265:462–471
309. Kohler RB, Wheat LJ (1982) Rapid diagnosis of pneumonia due to *Legionella pneumophila* serogroup 1. *J Infect Dis* 146:444
310. Kohler RB, Zimerman SE, Wilson E, Allen SD, Edelstein PH, Wheat LJ, White A (1981) Rapid radioimmunoassay diagnosis of Legionnaires' disease: detection and partial characterization of urinary antigen. *Ann Intern Med* 94:601–605
311. Kohler RB, Winn WC Jr, Wheat LJ (1984) Onset and duration of urinary antigen excretion in Legionnaires' disease. *J Clin Microbiol* 20:605–607
312. Kohler RB, Wheat LJ, French ML, Meenhorst PL, Winn WC Jr, Edelstein PH (1985) Cross-reactive urinary antigens among patients infected with *Legionella pneumophila* serogroups 1 and 4 and the Leiden 1 strain. *J Infect Dis* 152:1007–1012
313. Kohler RB, Wilde C 3rd., Johnson W, Joly J, Wheat LJ, Baker R, Misfeldt M (1988) Immunologic diversity among serogroup 1 *Legionella pneumophila* urinary antigens demonstrated by monoclonal antibody enzyme-linked immunosorbent assays. *J Clin Microbiol* 26:2059–2063
314. Kohne DE, Steigerwalt AG, Brenner DJ (1984) Nucleic acid probe specific for members of the genus *Legionella*. In: Thornsberry C, Balows A, Feeley JC, Jakubowski W (eds) *Legionella*. Proceedings of the 2nd International Symposium. Washington DC, American Society for Microbiology, pp 107–108
315. Kohorst WR, Schonfeld SA, Macklin JE, Whitcomb ME (1983) Rapid diagnosis of Legionnaires' disease by bronchoalveolar lavage. *Chest* 84:186–190
316. Korvick J, Yu VL (1988) Simultaneous infection with *Cryptococcus neoformans* and *Legionella pneumophila*. In vivo expression of common defects in cell-mediated immunity. *Respiration* 53:132–136

317. Kovatch AL, Jardine DS, Dowling JN, Yee RB, Pasculle AW (1984) Legionellosis in children with leukemia in relapse. *Pediatrics* 73:811–815
318. Kroboth FJ, Yu VL, Reddy S, Yu AC (1983) Clinicoradiographic correlations with the extent of Legionnaires' disease. *AJR* 141:263–268
319. Kugler JW, Armitage JO, Helms CM et al. (1983) Nosocomial Legionnaires' disease occurrence in recipients of bone marrow transplants. *Am J Med* 74:281–288
320. Kundsinn RB, Walter CW (1988) Legionella prosthetic-valve endocarditis. *N Engl J Med* 319:581
321. Kurz RW, Graninger W, Egger T, Pichler H, Tragl KH (1988) Failure of treatment of legionella pneumonia with ciprofloxacin. *J Antimicrob Chemother* 22:389–391
322. Kusne S, Dummer JS, Singh N et al. (1988) Infections after liver transplantation. An et al. analysis of 101 consecutive cases. *Medicine (Baltimore)* 67:132–143
323. L'age M, Horbach I, Ulmrich W, Weyer H, Fehrenbach FJ (1983) Legionärskrankheit bei einer Inland-Reisegruppe. *Dtsch Med Wochenschr* 108:288–292
324. Lake KB, Van Dyke JJ, Gerberg E, Browne PM (1979) Legionnaires' disease and pulmonary cavitation. *Arch Intern Med* 139:485–486
325. Landau Z, Konichesky S, Boxemboim P, Eisenberg E, Bentwich Z (1989) Pefloxacin as therapy for Legionnaires' disease. *Rev Infect Dis* 11 [suppl]:S 1141
326. Landes BW, Pogson GW, Beauchamp GD, Skillman RK, Brewer JH (1982) Pericarditis in a patient with Legionnaires' disease. *Arch Intern Med* 142:1234–1235
327. Langhoff E, Madsen S (1983) Rapid metabolism of cyclosporine and prednisone in kidney transplant patients receiving tuberculostatic treatment. *Lancet* 2:1031
328. Lattimer GL, Cepil BA (1980) Legionnaires' disease serology. Effect of antigen preparation on specificity and sensitivity of the indirect fluorescent antibody test. *J Clin Pathol* 33:585–590
329. Lattimer GL, McCrone C, Galgon J (1978) Diagnosis of Legionnaires' disease from transtracheal aspirate by direct fluorescent-antibody staining and isolation of the bacterium. *N Engl J Med* 299:1172–1173
330. Laussucq S, Schuster D, Alexander WJ, Thacker WL, Wilkinson HW, Spika JS (1988) False-positive DNA probe test for Legionella species associated with a cluster of respiratory illnesses. *J Clin Microbiol* 26:1442–1444
331. Lavocat MP, Berthier JC, Rousson A, Bornstein N, Hartemann E (1987) Legionellose pulmonaire chez un enfant apres noyade en eau douce. *Press Med* 16:780
332. Lawson JH (1978) Legionnaires' disease – the Benidorm episode. *Scott Med J* 23:121–124
333. Leland DS, Kohler RB (1991) Evaluation of the L-CLONE Legionella pneumophila serogroup 1 urine antigen latex test. *J Clin Microbiol* 29:2220–2223
334. Leroy O, Bencart C, Chidiac C, Sivery B, Senneville E, Vincent-du-Laurier M, Mouton Y (1989) Traitement des pneumonies dues aux legionelles, myoplasmes, Chlamydiae et rickettsies par l'ofloxacin. *Pathol Biol (Paris)* 37:1137–1140
335. Lewin S, Brettman LR, Goldstein EJ et al. (1979) Legionnaires' disease: a cause of severe abscess-forming pneumonia. *Am J Med* 67:339–342
336. Lewis VJ, Thacker WL, Shepard CC, McDade JE (1978) In vivo susceptibility of the Legionnaires' disease bacterium to ten antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 13:419–422
337. Liebers DM, Balth AL, Smith RP, Hammer MC, Conroy JV (1989) Susceptibility of Legionella pneumophila to eight antimicrobial agents including four macrolides under different assay conditions. *J Antimicrob Chemother* 23:37–41
338. Lightfoot NF, Richardson IR, Shrimanker J, Farrell DJ (1991) Post-mortem isolation of legionella due to contamination (letter). *Lancet* 1:376
339. Lind K, Collins MT, Aalund O (1984) Comparison of a micro-agglutination test and the indirect immunofluorescence test for Legionella antibodies in patients. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand [B]* 92:195–199

340. Littrup P, Madsen JK, Lind K (1987) Aortic valve endocarditis associated with *Legionella* infection after *Mycoplasma pneumoniae*. *Br Heart J* 58:431–436
341. Liu F, Wright DN (1984) Gram stain in Legionnaires' disease. *Am J Med* 77:549–550
342. Lochner JE, Friedman RL, Bigley RH, Iglewski BH (1983) Effect of oxygen-dependent antimicrobial systems on *Legionella pneumophila*. *Infect Immun* 39:487–489
343. Lode H, Kemmerich B, Schäfer H, Grothe R, Hartmann R, Ehret W, Ruckdeschel G (1987) Significance of non-pneumophila *Legionella* species in adult community-acquired and nosocomial pneumonia. *Klin Wochenschr* 65:463–468
344. Lowry PW, Blankenship RJ, Gridley W, Troup NJ, Tompkins LS (1991) A cluster of *Legionella* sternal-wound infections due to postoperative topical exposure to contaminated tap water. *N Engl J Med* 324:109–113
345. Lück PC, Helbig JH, Wunderlich E, Foelske H, Selbitschka M, Wenzel D, Patzold L, Witzleb W (1989) Isolation of *Legionella pneumophila* serogroup 3 from pericardial fluid in a case of pericarditis. *Infection* 17:388–390
346. Mackenzie C (1987) Communication disorders in Legionnaires' disease. *Br J Disord Commun* 22:253–262
347. Macrae AD, Greaves PW, Platts P (1979) Isolation of *Legionella pneumophila* from blood culture. *Br Med J* 2:1189–1190
348. Mahbubani MH, Bej AK, Miller R, Haff L, DiCesare J, Atlas RM (1990) Detection of *Legionella* with polymerase chain reaction and gene probe methods. *Mol Cell Probes* 4:175
349. Maher WE, Plouffe JF, Para MF (1983) Plasmid profiles of clinical and environmental isolates of legionella pneumophila serogroup 1. *J Clin Microbiol* 18:1422–1423
350. Maiwald M, Zöller L (1991) Möglichkeiten und Grenzen der Polymerase-Kettenreaktion in der bakteriologischen Diagnostik. *Klin Lab* 37:194–200
351. Marrie TF, Martin RS (1988) Persistent *Legionella pneumophila* bacteraemia in an immunocompromised host. *J Infect* 16:203–204
352. Marshall W, Foster RS, Winn WC Jr (1981) Legionnaires' disease in renal transplant patients. *Am J Surg* 141:423–429
353. Martell R, Heinrichs D, Stiller CR, Jenner M, Keown PA, Dupre J (1986) The effects of erythromycin in patients treated with cyclosporine. *Ann Intern Med* 104:660–661
354. Martin RS, Marrie TJ, Best L, Sumarah RK, Peppard R (1984) Isolation of *Legionella pneumophila* from the blood of a patient with Legionnaires' disease. *Can Med Assoc J* 131:1085–1087
355. Martiny H, Seidel K, Ruden H (1989) Anwendung von UV-Strahlen zur Desinfektion von Wasser. III. Mitteilung: UV-Sensibilität von *Legionella pneumophila* unterschiedlichen Alters in kaltem und warmem Trinkwasser. *Zentralbl Hyg Umweltmed* 188:35–46
356. Mathys W, Junge E, Sobek-Pfeiffer C, Bosenberg H, Von Eiff M (1988) The importance of different laboratory methods in legionella diagnosis in medical care. *Zentralbl Bakteriell Mikrobiol Hyg [A]* 270:122–130
357. Maycock R, Skale B, Kohler RB (1983) *Legionella pneumophila* pericarditis proved by culture of pericarditis fluid. *Am J Med* 75:534–536
358. McCabe RS, Baldwin JC, McGregor CA, Miller DC, Vosti KL (1984) Prosthetic valve endocarditis by *Legionella pneumophila*. *Ann Intern Med* 100:525–527
359. McDade JE, Shepard CC, Fraser DW, Tsai TF, Redus MA, Dowdle WR (1977) Legionnaires' disease: isolation of a bacterium and demonstration of its role in other respiratory disease. *N Engl J Med* 297:1197–1203
360. McDonnell MT, Colwell RR (1987) The nucleotide sequence of the 5S rRNA from *Legionella pneumophila*. *Nucleic Acids Res* 15:1335
361. McFarlane JT, Finch RG, Ward MJ, Macrae AD (1982) Hospital study of adult community-acquired pneumonia. *Lancet* 2:255–258

362. McFarlane JT, Miller AC, Roderick-Smith WH, Morris AH, Rose DH (1984) Comparative radiographic features of community-acquired Legionnaires' disease, pneumococcal pneumonia, mycoplasma pneumonia, psittacosis. *Thorax* 39:28–33
363. McKellar PP (1985) Treatment of community-acquired pneumonias. *Am J Med* 79:25–31
364. McKinney RM (1985) Diagnosis: direct immunofluorescent antibody test. In: *Legionellosis 2*. Moriber Katz S (ed.) CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, pp 23–32
365. Meletis J, Arlet G, Dournon E et al. (1987) Legionnaires' disease after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2:307–313
366. Mellado A, Aguero J, Seoane A, Rodriguez-Solorzano LM (1986) Plasmid profiles of Legionella pneumophila strains isolated in Spain. *Eur J Epidemiol* 2:63–66
367. Meyer RD (1983) Legionella infections: a review of five years of research. *Rev Infect Dis* 5:258–278
368. Mikesell P, Ezzell JW, Hudson GB (1981) Isolation of plasmids in Legionella pneumophila and Legionella-like organisms. *Infect Immun* 31:1270–1272
369. Miller AC (1979) Early clinical differentiation between Legionnaires' disease and other sporadic pneumonias. *Ann Intern Med* 90:526–528
370. Millunduck EW, Floyd J, Blanks J (1981) Legionnaires' disease in an immunologically normal child. *Am J Dis Child* 135:1065–1066
371. Mintz CS, Chen JX, Shuman HA (1988) Isolation and characterization of auxotrophic mutants of Legionella pneumophila that fail to multiply in human monocytes. *Infect Immun* 56:1449–1455
372. Mody CH, Paine R, Simon R, Toews GB (1989) Legionella pneumophila replicates in alveolar type II cells. *Clin Res* 37:480A
373. Monforte R, Estruch R, Vidal J, Cervera R, Urbano-Marquez A (1988) Delayed seroconversion in Legionnaires' disease. *Lancet* 2:513
374. Moore EH, Webb WR, Gamsu G, Golden JA (1984) Legionnaires' disease in the renal transplant patient: *Radiology* 153:589–593
375. Morrill WE, Barbaree JM, Fields BS, Sanden GN, Martin WT (1990) Increased recovery of Legionella micdadei and Legionella bozemanii on buffered charcoal yeast extract agar supplemented with albumin. *J Clin Microbiol* 28:616–618
376. Moss CW (1981) Gas-liquid chromatography as an analytical tool in microbiology. *J Chromatogr* 203:337–347
377. Moss CW, Weaver RE, Dees SB, Cherry WB (1977) Cellular fatty acid composition of isolates from Legionnaires' disease. *J Clin Microbiol* 6:140–143
378. Moss CW, Kai A, Lambert MA, Patton C (1984) Isoprenoid quinone content and cellular fatty acid composition of Campylobacter species. *J Clin Microbiol* 19:772–776
379. Motte S, Jacobs F, Thys JP, Seoruys E, Gelin M, Adler M (1988) Legionella pneumonia treated with imipenem. *Diagn Microbiol Infect Dis* 9:65–66
380. Muder RR, Yu VL, Vickers RM, Rihs J, Shonnard J (1983) Simultaneous infection with Legionella pneumophila and Pittsburgh pneumonia agent – clinical feature and epidemiological implications. *Am J Med* 74:609–614
381. Muder R, Reddy S, Yu VL, Kroboth FJ (1984) Pneumonia caused by Pittsburgh pneumonia agent: radiologic manifestations. *Radiology* 150:633–637
382. Muder RR, Yu VL, Woo AH (1986) Mode of transmission of Legionella pneumophila. A critical review. *Arch Intern Med* 146:1607–1612
383. Muder RR, Yu VL, Parry MF (1987) The radiologic manifestations of legionella pneumonia. *Semin Respir Infect* 2:242–254
384. Muder RR, Yu VL, Fang GD (1989) Community-acquired Legionnaires' disease. *Semin Respir Infect* 4:32–39
385. Muldoon RL, Jaecker MS, Kiefer HK (1981) Legionnaires' disease in children. *Pediatrics* 67:329–332

386. Müller E, Knoch M, Holtermann W, Lennartz H (1989) ARDS bei Legionellen-Pneumonie – erfolgreiche Behandlung mit dem extrakorporalen CO<sub>2</sub>-Eliminationsverfahren. *Anästh Intensivther Notfallmed* 24:177–180
387. Müller HE (1983) Häufigkeit der Legionärskrankheit und Infektion durch Leitungswasser. *Hyg Med* 8:45
388. Myerowitz RL, Pasculle AW, Dowling JN et al. (1979) Opportunistic lung infection due to „Pittsburgh Pneumonia Agent,“. *N Engl J Med* 301:959–961
389. Nagington J, Wreghitt TG, Tobin JO, Macrae AD (1979) The antibody response in Legionnaires' disease. *J Hyg (London)* 83:377–381
390. Naot Y, Brown A, Elder EM, Shonnard J, Luft BJ, Remington JS (1982) IgM und IgG antibody response in two immunosuppressed patients with Legionnaires' disease. Evidence of reactivation of latent infection. *Am J Med* 73:791–794
391. Nash TW, Libby D, Horwitz MA (1984) Interaction between the Legionnaires' disease bacterium (*Legionella pneumophila*) and human alveolar macrophages. Influence of antibody, lymphokines, and hydrocortisone. *J Clin Invest* 74:771–782
392. Nelson DP, Rensimer ER, Burke CM, Raffin TA (1984) Cardiac legionellosis. *Chest* 86:807–808
393. Newsome AL, Baker RL, Miller RD, Arnold RR (1985) Interactions between *Naegleria fowleri* and *Legionella pneumophila*. *Infect Immun* 50:449–452
394. Nigro G, Pastoris MC, Fantasia MM, Midulla M (1983) Acute cerebellar ataxia in pediatric legionellosis. *Pediatrics* 72:847–849
395. Nolte FS, Conlin CA, Roisin AJ, Redmond SR (1984) Plasmids as epidemiological markers in nosocomial Legionnaires' Disease. *J Infect Dis* 149:251–256
396. Nolte FS, Conlin CA, Motley MA (1986) Electrophoretic and serological characterization of the lipopolysaccharides of *Legionella pneumophila*. *Infect Immun* 52:676–681
397. Nomura S, Hatta K, Iwata T, Aihara M (1989) *Legionella pneumophila* isolated in pure culture from the ascites of a patient with systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 86:833–834
398. Nordström K, Kallings J, Dahnsjö H, Clemens F (1983) An outbreak of Legionnaires' disease in Sweden: report of sixty-eight cases. *Scand J Infect Dis* 15:43–55
399. Nowicki M, Paucod JC, Bornstein N, Meugnier H, Isoard P, Fleurette J (1988) Comparative efficacy of five antibiotics on experimental airborne legionellosis in guinea pigs. *J Antimicrob Chemother* 22:513–519
400. Nunniuk JC, Gallagher JG, Yates JW (1986) Legionnaires' disease in patients with cancer. *Med Pediatr Oncol* 14:81–85
401. Oldham LJ, Rodgers RG (1985) Adhesion, penetration and intracellular replication of *Legionella pneumophila*: an in vitro model of pathogenesis. *J Gen Microbiol* 131:697–706
402. Orenstein WA, Overturf GD, Leedom JM et al. (1981) The frequency of *Legionella* infection prospectively determined in children hospitalized with pneumonia. *J Pediatr* 99:403–406
403. Orrison LH, Bibb WF, Cherry WB, Thacker WL (1983) Determination of antigenic relationships among legionellae and non-legionellae by direct fluorescent-antibody and immunodiffusion tests. *J Clin Microbiol* 17:332–337
404. Osterholm MT, Chin TD, Osborne DO et al. (1983) A 1957 outbreak of Legionnaires' disease associated with a meat packaging plant. *Am J Epidemiol* 117:60–67
405. O'Mahony MC, Stanwell-Smith RE, Tillett HE et al. (1990) The Stafford outbreak of Legionnaires' disease. *Epidemiol Infect* 104:361–380
406. Parker MM, Macher AM, Shelhamer JH, Balow JE, Gill V, Parrillo JE (1983) Unresponsiveness of *Legionella bozemanii* pneumonia to erythromycin administration despite in vitro sensitivity. *Am Rev Respir Dis* 128:955–956
407. Pasculle AW, Dowling JN, Weyant RS, Sniffen JM, Cordes LG, Gorman GM, Feeley JC (1981) Susceptibility of Pittsburgh pneumonia agent (*Legionella micdadei*) and



- other newly recognized members of the genus *Legionella* to nineteen antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 20:793–799
408. Pasculle AW, Veto GE, Krystofiak S, McKelvey K, Vrsalovic K (1989) Laboratory and clinical evaluation of a commercial DNA probe for the detection of *Legionella* spp.. *J Clin Microbiol* 27:2350–2358
  409. Pastoris MC, Ciarrhocchi S, Di-Capua A, Temperanza AM (1984) Comparison of phenol- and heat-killed antigens in the indirect immunofluorescence test for serodiagnosis of *Legionella pneumophila* group 1 infections. *J Clin Microbiol* 20:780–783
  410. Pau CP, Plikaytis BB, Carlone GM, Warner IM (1988) Purification, partial characterization, and seroreactivity of a genuswide 60-kilodalton *Legionella* protein antigen. *J Clin Microbiol* 26:67–71
  411. Pavy MD, Johnson AH (1981) Possible recurrence of Legionnaires' disease. *South Med J* 74:997–999
  412. Paya CV, Hermans PE, Washington JA II., Smith TF, Anhalt JP, Wiesner RH, Krom RAF (1989) Incidence, distribution, and outcome of episodes of infection in 100 orthotopic liver transplantations. *Mayo Clin Proc* 64:555–564
  413. Payne NR, Horwitz MA (1987) Phagocytosis of *Legionella pneumophila* is mediated by human monocyte complement receptors. *J Exp Med* 166:1377–1389
  414. Pearlman E, Jiwa AH, Engleberg NC, Eisenstein BI (1988) Growth of *Legionella pneumophila* in a human macrophage-like (U937) cell line. *Microbiol Pathogen* 5:87–95
  415. Peerless AG, Liebhafter M, Anderson S, Lehrer R, Stiehm ER (1985) *Legionella* pneumonia in chronic granulomatous disease. *J Pediatr* 106:783–785
  416. Peliowsky A, Finer NN (1986) Intractable seizures in Legionnaires' disease. *J Pediatr* 109:657–658
  417. Peterson PK, Ferguson R, Fryd DS, Balfour HH Jr, Rynasiewicz J, Simmons RL (1982) Infectious diseases in hospitalized renal transplant recipients: a prospective study of a complex and evolving problem. *Medicine (Baltimore)* 61:360–372
  418. Pine L, George JR, Reeves MW, Harrell WK (1979) Development of a chemically defined liquid medium for growth of *Legionella pneumophila*. *J Clin Microbiol* 9:615–626
  419. Pine L, Hoffman PS, Malcolm GB, Benson RF, Gorman GW (1984) Whole-cell peroxidase test for identification of *Legionella pneumophila*. *J Clin Microbiol* 19:286–290
  420. Pine L, Hoffman PS, Malcolm GB, Benson RF, Keen MG (1984) Determination of catalase, peroxidase, and superoxide dismutase within the genus *Legionella*. *J Clin Microbiol* 20:421–429
  421. Pine L, Hoffman PS, Malcolm GB, Benson RF, Franzus MJ (1986) Role of keto acids and reduced-oxygen-scavenging enzymes in the growth of *Legionella* species. *J Clin Microbiol* 23:33–42
  422. Platzek C, Förster EC, Schneider MV et al. (1990) Enzephalitis bei *Legionella bozemanii*-Pneumonie. *Dtsch Med Wochenschr* 115:1956–1959
  423. Plouffe JF, Para MF, Maher WE, Hackman B, Webster L (1983) Subtypes of *Legionella pneumophila* serogroup 1 associated with different attack rates. *Lancet* 2:649–650
  424. Pohlod DJ, Saravolatz LD, Quinn EL, Somerville MM (1980) Effect of clavulanic acid on minimal inhibitory concentrations of 16 antimicrobial agents tested against *Legionella pneumophila*. *Antimicrob Agents Chemother* 18:353–354
  425. Pohlod DJ, Saravolatz LD, Somerville MM (1988) Inhibition of *Legionella pneumophila* multiplication within human macrophages by fleroxacin. *J Antimicrob Chemother* 22 [suppl D]:49–54

426. Pokrovskii VI, Prozorovskii SV, Tartakovskii IS, Belen'kii SN, Akulov KN (1988) An outbreak of *Legionella* infection in Armavire. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol* 10:24–27
427. Posner MR, Candill MA, Brass R, Ellis E (1980) Legionnaires' disease associated with rhabdomyolysis and myoglobinuria. *Arch Intern Med* 140:848–850
428. Potasman J, Liberson A, Krimerman S (1990) Legionella infection mimicking herpes encephalitis. *Crit Care Med* 18:453–454
429. Poulter N, Gabriel R, Porter KA, Bartlett C, Kershaw M, McKendrick GD, Venkataraman R (1981) Acute interstitial nephritis complicating Legionnaires' disease. *Clin Nephrol* 15:216–220
430. Pounder DJ (1983) Warthin-Starry for *Legionella*. *Am J Clin Pathol* 80:276
431. Power KJ, Bowen DJ (1986) Intensive care aspects of severe *Legionella* pneumonia. *Anaesthesia* 41:620–622
432. Raffi F, Mahe M, Caillon J, Grolleau JY (1988) Maladie des legionnaires avec agranulocytose d'evolution favorable. *Presse Med* 17:649
433. Rand KH, Pollard RB, Merigan TC (1978) Increased pulmonary superinfection in cardiac transplant patients undergoing primary cytomegalovirus infection. *N Engl J Med* 298:951–953
434. Randolph KA, Beckman JH (1979) Legionnaires' disease presenting with empyema. *Chest* 75:404–406
435. Rechnitzer C, Tvede M, Döring G (1989) A rapid method for purification of homogeneous *Legionella pneumophila* cytotoxic protease using fast protein liquid chromatography. *FEMS Microbiol Lett* 59:39–44
436. Redd SC, Lin FY, Fields BS et al. (1990) A rural outbreak of Legionnaires' disease linked to visiting a retail store. *Am J Public Health* 80:431–434
437. Redd SC, Schuster DM, Quan J, Plikaytis BD, Spika JS, Cohen ML (1988) Legionellosis in cardiac transplant recipients: results of a nationwide survey. *J Infect Dis* 158:651–653
438. Reid D, Grist NR, Najera R (1978) Illness associated with „package tours,“: a combined Spanish-Scottish study. *Bull WHO* 56:117–122
439. Reingold AL (1988) Role of legionellae in acute infections of the lower respiratory tract. *Rev Infect Dis* 10:1018–1028
440. Reingold AL, Thomason BM, Brake BJ, Thacker WL, Wilkinson HW, Kuritsky JN (1984) *Legionella* pneumonia in the United States: the distribution of serogroups and species causing human illness. *J Infect Dis* 149:819
441. Reisenleiter M, Linassier C, Colombat P, Lemaire B, Lamagnere JP (1988) Legionellose au cours d'une leucemie a tricholeucocytes. *Presse Med* 17:1541
442. Reitano M, Engler HD, Bottone EJ (1988) *Legionella pneumophila*: initial detection through evaluation of Giemsa-stained smears of a bronchial aspirate. *Diagn Microbiol Infect Dis* 10:125–129
443. Renner ED, Helms CM, Hierholzer WJ Jr et al. (1979) Legionnaires' disease in pneumonia patients in Iowa: a retrospective seroepidemiologic study, 1972–1977. *Ann Intern Med* 90:603–606
444. Richards NC, McKinley KP (1989) A severe case of Legionnaires' disease connected to the BBC outbreak in 1988. *J R Nav Med Serv* 75:117–120
445. Riggs SA, Wray NP, Waddell CC, Rossen RD, Gyorkey F (1982) Thrombotic thrombocytopenic purpura complicating Legionnaires' disease. *Arch Intern Med* 142:2275–2280
446. Rihs JD, Yu VL, Zuravlett JJ, Gretz A, Muder RR (1985) Isolation of *Legionella pneumophila* from blood with the BACTEC system: a prospective study yielding positive results. *J Clin Microbiol* 22:422–424
447. Rodgers FG, Greaves PW, Macrae AD, Lewis MJ (1980) Electron microscopic evidence of flagella and pili on *Legionella pneumophila*. *J Clin Pathol* 33:1184–1188

448. Rodgers FG, Macrae AD (1979) Immunoferritin electronmicroscopy in legionellosis. *Lancet* 1:786
449. Rodgers FG, Oldham LJ (1984) Glycocalyx and ruthenium red labeling of *Legionella pneumophila*. *J Clin Microbiol* 20:1228–1229
450. Rodgers FG, Pasculle AW (1991) *Legionella*. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 5th edn. American Society for Microbiology, Washington DC, pp 442–453
451. Rolstad B, Berdal BP (1981) Immune defenses against *Legionella pneumophila* in rats. *Infect Immun* 32:805–812
452. Rosmini F, Castellani-Pastoris M, Mazzotti MF et al. (1984) Febrile illness in successive cohorts of tourists at a hotel on the Italian Adriatic coast: evidence for a persistent focus of *Legionella* infection. *Am J Epidemiol* 119:124–134
453. Rowbotham TJ (1981) Preliminary report on the pathogenicity of *Legionella pneumophila* for fresh-water and soil amoebae. *J Clin Pathol* 33:1179–1183
454. Rowbotham TJ (1983) Isolation of *Legionella pneumophila* from clinical specimens via amoebae, and the interaction of those and other isolates with amoebae. *J Clin Pathol* 36:978
455. Rubin RH, Tolkoff-Rubin NE (1988) Opportunistic infections in renal allograft-recipients. *Transplant Proc* 20:12–18
456. Ruckdeschel G, Ehret W, Ahl A (1984) Susceptibility of *Legionella* spp. to imipenem and 27 other  $\beta$ -lactam antibiotics. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 3:463–467
457. Ruckdeschel G, Ehret W, Ahl A (1984) Susceptibility of *Legionella* spp. to quinolone derivatives and related organic acids. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 3:373
458. Ruckdeschel G, Klammert R, Ehret W (1990) Untersuchungen zur Empfindlichkeit von Legionellen gegen Makrolide. *Fortschr Antimikr Chemother* 9–1:65–74
459. Ruf B, Schürmann D, Horbach J, Seidel K, Pohle HD (1988) Nosocomial legionella pneumonia: demonstration of potable water as the source of infection. *Epidemiol Infect* 101:647–654
460. Ruf B, Schürmann D, Horbach I, Fehrenbach FJ, Pohle HD (1990) Prevalence and diagnosis of *Legionella* pneumonia: a 3-year prospective study with emphasis on application of urinary antigen detection. *J Infect Dis* 162:1341–1348
461. Ryan ME, Feldman S, Pruitt B, Fraser DW (1979) Legionnaires' disease in a child with cancer. *Pediatrics* 64:951–953
462. Saito A, Sawatari K, Fukuda Y et al. (1985) Susceptibility of *Legionella pneumophila* to ofloxacin in vitro and experimental *Legionella* pneumonia in guinea pigs. *Antimicrob Agents Chemother* 28:15–20
463. Saito A, Koga H, Shigeno H et al. (1986) The antimicrobial activity of ciprofloxacin against *Legionella* species and the treatment of experimental *Legionella* pneumonia in guinea pigs. *J Antimicrob Chemother* 18:251–260
464. Sampson JS, Wilkinson HW, Tsang VC, Brake BJ (1983) Kinetic-dependent enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies to *Legionella pneumophila*. *J Clin Microbiol* 18:1340–1344
465. Saravolatz LD, Burch KH, Fisher E, Madhavan T, Kiani D, Neblett T, Quinn EL (1979) The compromised host and Legionnaires' disease. *Ann Intern Med* 90:533–537
466. Saravolatz LD, Pohlod DJ, Quinn EL (1979) In vitro susceptibility of *Legionella pneumophila*, sergroups I–IV. *J Infect Dis* 140:251
467. Sathapatayavongs B, Kohler RB, Wheat LJ, White A, Winn WC Jr (1983) Rapid diagnosis of Legionnaires' disease by latex agglutination. *Am Rev Respir Dis* 127:559–562
468. Sathapatayavongs B, Kohler RB, Wheat LJ, White A, Winn WC Jr, Girod JC, Edelstein PH (1982) Rapid diagnosis of Legionnaires' disease by urinary antigen detection. Comparison of ELISA and radioimmunoassay. *Am J Med* 72:576–582

469. Schlanger G, Lutwick LI, Kurzman M, Hoch B, Chandler FW (1984) Sinusitis caused by *Legionella pneumophila* in a patient with the acquired immune deficiency syndrome. *Am J Med* 77:957-960
470. Schmidt T, Pfeiffer A, Ehret W, Keiditsch E, Ruckdeschel G, Kaess H (1989) *Legionella* infection of the colon presenting as acute attack of ulcerative colitis. *Gastroenterology* 97:751-755
471. Schoenen D, Schulze-Röbbecke R, Schirdewahn N (1988) Mikrobielle Kontamination von Wasser durch Rohr- und Schlauchmaterialien. 2. Mitteilung: Wachstum von *Legionella pneumophila*. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg [B]* 186:326-332
472. Schönwald S, Gunjaca M, Kolacny-Babic L, Car V, Gosev M (1990) Comparison of azithromycin and erythromycin in the treatment of atypical pneumonias. *J Antimicrob Chemother* 25 [Suppl A]:123-126
473. Schulze-Röbbecke R, Jung KD, Pullmann H, Hundgeburth J (1990) Sanierung eines mit *Legionella pneumophila* kontaminierten Krankenhaus-Warmwassersystems. *Zentralbl Hyg Umweltmed* 190:84-100
474. Schürmann D, Ruf B, Pfannkuch F, Horbach J, Pohle HD (1988) Fatal legionellosis in patients with malignant hematologic diseases. *Blut* 56:27-31
475. Seidel K, Börnert W, Bäß G, Blenkenburg A, Alexander I (1986) Vorkommen von *Legionella pneumophila* in Grundwasser sowie kalten und warmen Trinkwässern. *Vom Wasser* 67:39-48
476. Senecal JL, St. Antoine P, Beliveau C (1987) *Legionella pneumophila* lung abscess in a patient with systemic Lupus erythematosus. *Am J Med* 293:309-314
477. Sharrar RG, Friedman HM, Miller WT, Yanak MJ, Abrutyn E (1979) Summertime pneumonias in Philadelphia in 1976. An epidemiologic study. *Ann Intern Med* 90:577-580
478. Simpson RM, Cogswell JJ, Mitchell ER (1980) Legionnaires' disease in an infant. *Lancet* 2:2740-2741
479. Skrobot BJ, Gillen JC, Rudisill JR, John PG (1986) Recurrent legionnaires' disease: a case report. *Fam Pract Res J* 6:67-71
480. Soper DE, Melone PJ, Conover WB (1986) Legionnaires' disease complicating pregnancy. *Obstet Gynecol* 67:10S-12S
481. Soriano F, Aguilar L, Gomez-Garces JL (1982) Simple immunodiffusion test for detecting antibodies against *Legionella pneumophila* serotype 1. *J Clin Microbiol* 15:330-331
482. Spano C, Menozzi M (1982) Legionnaires' disease in Palermo and possible involvement of *Legionella pneumophila* in cases of pericardial effusion (letter). *Infection* 10:103-104
483. Stanwick RS (1986) Balancing the risks: *Legionella pneumophila* and tap water scalds in the home. *Can Med Assoc J* 135:1251-1252
484. Starnbach MN, Falkow S, Tompkins LS (1989) Species-specific detection of *Legionella pneumophila* in water by DNA amplification and hybridization. *J Clin Microbiol* 27:1257-1261
485. Steinmetz I, Rheinheimer C, Hubner I, Bitter-Suermann D (1991) Genus-specific epitope on the 60-kilodalton legionella heat shock protein recognized by a monoclonal antibody. *J Clin Microbiol* 29:346-354
486. Stiehm ER, Chin TW, Haas A, Peerless AG (1986) Infectious complications of the primary immunodeficiencies. *Clin Immunol Immunopathol* 40:69-86
487. Stokes DH, Slocombe B, Sutherland R (1989) Bactericidal effects of amoxicillin/clavulanic acid against *Legionella pneumophila*. *J Antimicrob Chemother* 23:43-51
488. Storch GA, Sagel SS, Baine WB (1981) The chest roentgenogram in sporadic cases of Legionnaires' disease. *JAMA* 245:587-590
489. Stout JE, Yu VL, Vickers RM, Shonnard J (1982) Potable water supply as the hospital reservoir for Pittsburgh pneumonia agent. *Lancet* 1:471-472

490. Stout JE, Yu VL, Vickers RM et al. (1982) Ubiquitousness of *Legionella pneumophila* in the water supply of a hospital with endemic Legionnaires' disease. *N Engl J Med* 306:466–468
491. Stout JE, Best M, Yu VL, Rihs JD (1986) A note on symbiosis of *Legionella pneumophila* and *Tatlockia micdadei* with human respiratory flora. *J Appl Bacteriol* 60:297–299
492. Stout JE, Joly J, Para M, Plouffe J, Ciesielski C, Blaser MJ, Yu VL (1988) Comparison of molecular methods for subtyping patients and epidemiologically linked environmental isolates of *Legionella pneumophila*. *J Infect Dis* 157:486–495
493. Strikas R, Seifert MR, Lentino JR (1983) Autoimmune hemolytic anemia and *Legionella pneumophila* pneumonia. *Ann Intern Med* 99:345
494. Sturm R, Staneck JL, Myers JP (1981) Pediatric Legionnaires' disease: diagnosis by direct immunofluorescent strains of sputum. *Pediatrics* 68:539–543
495. Svendsen JH, Jonsson V, Niebuhr U (1987) Combined pericarditis and pneumonia caused by *Legionella* infection. *Br Heart J* 58:663–664
496. Tang PW, Toma S (1986) Broad-spectrum enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Legionella* soluble antigens. *J Clin Microbiol* 24:556–558
497. Tatlock H (1982) Classification of the cause of Fort Bragg fever (pretibial fever). *Rev Infect Dis* 4:157–158
498. Tenover FC, Edelstein PH, Goldstein LC, Sturge JC, Plorde JJ (1986) Comparison of cross-staining reactions by *Pseudomonas* spp. and fluorescein-labeled polyclonal and monoclonal antibodies directed against *Legionella pneumophila*. *J Clin Microbiol* 23:647–649
499. Thacker SB, Bennett JV, Tsai TF et al. (1978) An outbreak in 1965 of severe respiratory illness caused by the Legionnaires' disease bacterium. *J Infect Dis* 138:512–519
500. Thacker WL, Benson RF, Staneck JL, Vincent SR, Mayberry WR, Brenner DJ, Wilkinson HW (1988) *Legionella cincinnatiensis* sp. nov. isolated from a patient with pneumonia. *J Clin Microbiol* 26:418–420
501. Thacker WL, Plikaytis BB, Wilkinson HW (1985a) Identification of 22 *Legionella* species and 33 serogroups with the slide agglutination test. *J Clin Microbiol* 21:779–782
502. Thomason BM, Chandler FW, Hollis DG (1979) Flagella on Legionnaires' disease bacteria: an interim report. *Ann Intern Med* 91:224–226
503. Thomason BM, Harris PP, Hicklin MD, Blackman JA, Moss CW, Matthews FA (1979) A legionella-like bacterium related to WIGA in a fatal pneumonia. *Ann Intern Med* 91:673–676
504. Thompson TA, Wilkinson HW (1982) Evaluation of a solid-phase immunofluorescence assay for detection of antibodies to *Legionella pneumophila*. *J Clin Microbiol* 16:202–204
505. Thornsberry C, Kirven LA (1978) Beta-lactamase of Legionnaires' bacterium. *Curr Microbiol* 1:51–54
506. Thornsberry C, Baker CN, Kirven LA (1978) In vitro activity of antimicrobial agents on Legionnaires' disease bacterium. *Antimicrob Agents Chemother* 13:78–80
507. Tison DL, Pope DH, Cherry WB, Fliermans CB (1981) Growth of *Legionella pneumophila* in association with bluegreen algae. *Appl Environ Microbiol* 39:456–459
508. Tobin JO, Beare J, Dunnill MS et al. (1980) Legionnaires' disease in a transplant unit: isolation of the causative agent from shower baths. *Lancet* 2:118–121
509. Tompkins LS, Rossler BJ, Redd SC, Markowitz LE, Cohen ML (1988) *Legionella* prosthetic valve-endocarditis. *N Engl J Med* 318:530–535
510. Traub WH, Spohr M (1984) In vitro antibiotic susceptibility of legionellaceae: search for alternative antimicrobial drugs. *Chemother* 30:182–187

511. Troup N, Morton A, Munro S et al. (1990) Comparison of genus specific immunofluorescent reagent with culture for detection of *Legionella*. American Society for Microbiology-Meeting, New Orleans, Abstract C 186
512. Tsai TF, Finn DR, Plikaytis BB (1979) Legionnaires' disease: clinical features of the epidemic in Philadelphia. *Ann Intern Med* 90:509-517
513. Tseng CH, Renner ED (1983) A new staining method for *Legionella pneumophila*. *Am J Clin Pathol* 79:377-378
514. Tyndall RL, Domingue EL (1982) Cocultivation of *Legionella pneumophila* and free-living amoebae. *Appl Environ Microbiol* 44:954-959
515. Tzianabos AO, Rodgers F (1989) Pathogenesis and chemotherapy of experimental *Legionella pneumophila* infection in the chick embryo. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg [A]* 271:293-303
516. Unertl KE, Lenhart FP, Forst H, Vogler G, Wilm V, Ehret W, Ruckdeschel G (1989) Brief report: ciprofloxacin in the treatment of legionellosis in critically ill patients including those cases unresponsive to erythromycin. *Am J Med* 87:128S-131S
517. Ürlings A, Lütticken R, Höffler U (1986) Vorkommen von Legionellen in Wässern von Klimageanlagen und Naßzellen im Bereich Nordrhein. *Off Gesundheitswes* 48:325-328
518. Van Orden AE, Greer PW (1977) Modification of Dieterle spirochete stain. *J Histo-technol* 1:51-53
519. Vereerstraeten P, Stolar JC, Schoutens-Servuys E et al. (1986) Erythromycin prophylaxis for Legionnaires' disease in immunosuppressed patients in a contaminated hospital environment. *Transplantation* 41:52-54
520. Vickers RM, Stout JE (1990) Diagnostic monoclonal immunofluorescent reagent fails to detect *Legionella pneumophila* in environmental samples. American Society for Microbiology-Meeting, New Orleans, Abstract Q 78
521. Vilde JL, Dournon E, Rajagopalan P (1986) Inhibition of *Legionella pneumophila* multiplication within human macrophages by antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 30:743-748
522. Villoslada C, Vilchez JJ, Redon J, Pascual JM, Cabello A (1985) Legionnaires' disease-associated neuropathy. *Arch Neurol* 42:733
523. Viner J, Helms C, Sturm R, Renner E (1978) Legionnaires' disease among pneumonias with elevated cold agglutinin titers. *Clin Res* 26:676 A
524. Voiritot P, Melet M, Aymard JP et al. (1987) Legionnaires' disease in hairy cell leukemia. 2 new cases. *Ann Med Interne (Paris)* 138:287-288
525. Wadowsky RM, Wolford R, McNamara AM, Yee RB (1985) Effect of temperature, pH, and oxygen level on the multiplication of naturally occurring *Legionella pneumophila* in potable water. *Appl Environ Microbiol* 49:1197-1205
526. Wegmüller E, Weidmann P, Hess T, Reubi FC (1985) Rapidly progressive glomerulonephritis accompanying Legionnaires' disease. *Arch Intern Med* 145:1711-1713
527. Weir AD, Bone J, Kennedy DH (1982) Neurological involvement in legionellosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 45:603-608
528. Westblom TV, Hamory BH (1988) Acute pancreatitis caused by *Legionella pneumophila*. *South Med J* 81:1200-1201
529. Widen R, Klein T, Friedman H (1984) Enhanced susceptibility of cyclophosphamide-treated mice to infection with *Legionella pneumophila*. *J Infect Dis* 149:1023-1024
530. Wilkinson HW, Brake BJ (1982) Formalin-killed versus heat-killed *Legionella pneumophila* serogroup 1 antigen in the indirect immunofluorescence assay for legionellosis. *J Clin Microbiol* 16:979-981
531. Wilkinson HW, Fikes BJ, Cruce DD (1979) Indirect immunofluorescence test for serodiagnosis of Legionnaires' disease: evidence for serogroup diversity of Legionnaires' disease bacterial antigens and for multiple specificity of human antibodies. *J Clin Microbiol* 9:379-383

532. Wilkinson HW, Reingold AL, Brake BJ, McGiboney DL, Gorman GW, Broome CV (1983) Reactivity of serum from patients with suspected legionellosis against 29 antigens of legionellaceae and Legionella-like organisms by indirect immunofluorescence assay. *J Infect Dis* 147:23–31
533. Wilkinson HW, Thacker WL, Brenner DJ, Ryan KJ (1985) Fatal Legionella maceachernii pneumonia. *J Clin Microbiol* 22:1055
534. Wilkinson HW, Sampson JS, Plikaytis BB (1986) Evaluation of a commercial gene probe for identification of Legionella cultures. *J Clin Microbiol* 23:217–220
535. Wilkinson HW, Thacker WL, Benson RF et al. (1987) Legionella birminghamensis sp. nov. isolated from a cardiac transplant recipient. *J Clin Microbiol* 25:2120–2122
536. Wilkinson IJ, Sangster N, Ratcliff RM, Mugg PA, Davos DE, Lanser JA (1990) Problems associated with identification of Legionella species from the environment and isolation of six possible new species. *Appl Environ Microbiol* 56:796–802
537. Winn WC Jr (1988) Legionnaires' disease: historical perspective. *Clin Microbiol Rev* 1:60–81
538. Winn WC Jr, Myerowitz RL (1981) The pathology of the Legionella pneumonias: a review of 74 cases and the literature. *Hum Pathol* 12:401–422
539. Winter JH, McCartney C, Bingham J, Telfer M, White LO, Fallon RJ (1988) Ciprofloxacin in the treatment of severe Legionnaires' disease. *Rev Infect Dis* 10 [Suppl 1]:218–219
540. Wong MC, Ewing EP Jr, Callaway CS, Peacock WL Jr (1980) Intracellular multiplication of Legionella pneumophila in cultured human embryonic lung fibroblasts. *Infect Immun* 28:1014–1018
541. Woo AH, YU VL, Goetz A (1986) Potential in-hospital modes of transmission of Legionella pneumophila. Demonstration experiments for dissemination by showers, humidifiers, and rinsing of ventilation bag apparatus. *Am J Med* 80:567–573
542. Woodhead MA, McFarlane JT (1987) Comparative clinical and laboratory features of legionella with pneumococcal and mycoplasma pneumonias. *Br J Dis Chest* 81:133–139
543. Woodhead MA, McFarlane JT, Macrae AD, Pugh SF (1986) The rise and fall of Legionnaires' disease in Nottingham. *J Infect* 13:293–296
544. Wreghitt TG, Nagington J, Gray J (1982) An ELISA test for the detection of antibodies to Legionella pneumophila. *J Clin Pathol* 35:657–660
545. Wright JB, Athar MA, Van Olm TM, Wortliff JS, Costerton JW (1989) Atypical legionellosis: isolation of Legionella pneumophila from a patient with aspiration pneumonia. *J Hosp Infect* 13:187–190
546. Wynckel A, Toupance O, Melin JP et al. (1991) Traitement des légionelloses par ofloxacin chez le transplanté rénal. Absence d'interférence avec ciclosporine A. *Presse Med* 20:291–293
547. Yoshida S, Mizuguchi Y (1984) Antibiotic susceptibility of Legionella pneumophila Philadelphia-1 in cultured guinea pig peritoneal macrophages. *J Gen Microbiol* 130:901–906
548. Yu VL, Kroboth FJ, Shonnard J, Brown A, McDearman S, Magnussen M (1982) Legionnaires' disease: new clinical perspectives from a prospective pneumonia study. *Am J Med* 73:357–361
549. Zazzo JF, Mercat A, Wolff M, Letulzo Y, Regnier B (1988) ARDS associated with nosocomial legionellosis: dramatic effect of indomethacin. *Intensive Care Med* 14:679–680
550. Zhao X, Dreyfus LA (1990) Expression and nucleotide sequence analysis of the Legionella pneumophila recA gene. *FEMS Microbiol Lett* 70:227–232

551. Zimmermann SE, French ML, Allen SD, Wilson E, Kohler RB (1982) Immunoglobulin M antibody titers in the diagnosis of Legionnaires' disease. *J Clin Microbiol* 16:1007–1011
552. Zuravleff J, Yu VL, Shonnard JW, Rihs JD, Best M (1983) Legionella pneumophila contamination of a hospital humidifier: demonstration of aerosol transmission and subsequent subclinical infection in exposed guinea pigs. *Am Rev Respir Dis* 128:657–661

### Weiterführende Literatur

- Balows A, Fraser DW (1979) International Symposium on Legionnaires' Disease. *Ann Intern Med* 90:491–714
- Barbaree JM, Breiman RF, Dufour AP (1993) Legionella. Current Status and Future Trends. American Society for Microbiology, Washington DC
- Bartlett CLR, Macrae AD, Macfarlane JT (1986) Legionella infections. Edward Arnold, London
- Brundrett GW (1992) Legionella and building services. Butterworth – Heinemann
- Exner M (1991) Verhütung, Erkennung und Bekämpfung von Legionelleninfektionen im Krankenhaus. *Das Krankenhaus* 10:460–523
- Harrison TG, Taylor AG (1988) A Laboratory Manual for Legionella. Wiley & Sons, New York
- Johnson JD, Raff MJ, Van Arsdall JA (1984) Neurologic manifestations of Legionnaires' disease. *Medicine (Baltimore)* 63:303–310
- Lattimer GL, Ormsbee RA Legionnaires' disease. Dekker, New York
- Müller HE, Dünleder W, Mühlenberg W, Ruckdeschel G (1992) Legionellen – ein aktuelles Problem der Sanitärhygiene. Expert-Verlag
- Sarosi GA (ed) (1987) Legionnaires' disease. *Sem Respir Infect* 2:89–284
- Thornsberry C, Balows A, Feeley JC, Jakubowski W (1984) Legionella. Proceedings of the 2nd International Symposium. American Society for Microbiology, Washington DC
- Weir AD, Bone J, Kennedy DH (1982) Neurological involvement in legionellosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 45:603–608
- Winn WC Jr (1988) Legionnaires' disease: historical perspective. *Clin Microbiol Rev* 1:60–81