

LEGIONELOSE ASSOCIADA A PNEUMOPATIAS EM SÃO PAULO. ESTUDO DA COMPROVAÇÃO ETIOLÓGICA POR ISOLAMENTO E SOROLOGIA (1).

Neusa Augusta de Oliveira MAZIERI (2) & Cid Vieira Franco de GODOY (3).

RESUMO

A presença de *Legionella* sp como patógeno atuante em nosso país não fora bem documentada, embora a literatura refira a importância deste agente em grande número de países.

O presente trabalho teve como objetivo a detecção do microrganismo ou evidenciar sua resposta imunológica em pacientes portadores de pneumopatias infecciosas na cidade de São Paulo.

Para tanto foi introduzida metodologia laboratorial específica para o cultivo e identificação do agente e aplicada reação sorológica para verificação de níveis de anticorpos correspondentes.

Foram estudados pacientes de 2 centros universitários em São Paulo, correspondentes a 100 do Hospital Universitário U.S.P. com pneumopatias infecciosas em geral e 100 do Hospital das Clínicas F.M.U.S.P. com pneumopatias infecciosas previamente selecionados para afastar outras etiologias bacterianas e dentre estes 30 pertencentes a Unidade de Transplante Renal.

O material biológico destinado ao cultivo de *Legionella* sp foi constituído por: escarro, secreção traqueal, líquido pleural, lavado brônquico ou biópsia de tecido pulmonar.

As tentativas de isolamento do agente foram realizadas em meio de BCYE com e sem antibióticos, a identificação das colônias, foram realizadas através de provas de crescimento em placas de BCYE sem cisteína, provas bioquímicas, imunofluorescência direta e soroprecipitação em lâmina. A pesquisa do agente em material biológico foi realizado pelo método de imunofluorescência direta.

A pesquisa de anticorpos específicos para *Legionella pneumophila* sorogrupo 1 foi efetuada pela reação de imunofluorescência indireta. Procedeu-se ainda a estudo sorológico nos comunicantes de pacientes com legionelose para evidenciar possível transmissão do agente.

Em 2 casos obteve-se isolamento em cultura e em 4 casos, somente reação de imunofluorescência direta positiva para *L. pneumophila* sorogrupo 1, à partir do material biológico, representando um total de 6% entre pacientes da comunidade e hospitalares, comprovando desta forma a existência do agente entre nós.

A reação sorológica de imunofluorescência indireta permitiu estabelecer infecção atual ou pregressa por *Legionella pneumophila* sorogrupo 1, em 16 dos 100 pacientes estudados no Hospital das Clínicas e em apenas 1 dos 100 pertencentes ao Hospital Universitário. Pacientes considerados como grupo de risco do Hospital das Clínicas correspondentes a transplantados renais mostraram evidências sorológicas de legionelose atual ou pregressa em 10 dos 30 estudados, isto é 33%, ficando com 8,5% para pacientes da comunidade, 6 dos 70 estudados, sendo 3 destes debilitados por doença sistêmica severa (4,28%). Nos profissionais de saúde comunicantes dos pacientes com legionelose internados no Hospital das Clínicas, apenas 1 em 28 revelou sorologia compatível com infecção pregressa, confirmando dados da literatura de não ser usual a transmissão de pessoa a pessoa.

UNITERMOS: Legionelose em São Paulo; Doença dos Legionários; *Legionella pneumophila*.

(1) Sumário de Tese de Mestrado.

(2) Farmacêutica-Bioquímica, Laboratório de Investigação Médica, Bacteriologia (LIM/54) - HCFMUSP - São Paulo, Brasil.

(3) Prof. Resp. Disc. Patol. Clínica - Departamento de Patologia da FMUSP - LIM/54 e Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, SP, Brasil.

Endereço para correspondência: Neusa Augusta de Oliveira Mazieri. Rua Fernão Dias, 128/191, Pinheiros - CEP 05427-000 - São Paulo, Brasil.

INTRODUÇÃO

Mesmo antes de 1976, quando houve a epidemia em Filadélfia, ocasionada por legionela, outros autores já haviam se deparado com o gênero. Segundo WINN (1988)³⁴ a comunicação de Hugh Tatlock em 1943, durante um surto em Fort Bragg, talvez tenha sido o registro mais antigo de cepa do gênero, a *L. micdadei*. Em 1949, BOZEMAN, no Instituto Nacional de Saúde, EUA, isolou dois microorganismos, sendo que mais tarde um deles tornar-se-ia o primeiro relato sobre o isolamento de *Legionella pneumophila* - a cepa OLDA (McDADE et al., 1979)²³ e o outro a *Legionella bozemanii* - a cepa WIGA (HEBERT et al., 1980)¹⁶. Novamente em 1959, BOZEMAN isolava a cepa HEBA, que nada mais era do que uma cepa da *L. micdadei* (HEBERT et al., 1980)¹⁶.

No Brasil pouco estudos foram realizados para pesquisa da presença de legionela ou comunicação de casos clínicos associados ao agente. O primeiro relato, corresponde a um caso de pneumonia de má evolução com sorologia positiva para *Legionella pneumophila* (realizada nos EUA) embora em apenas uma dosagem, sem referência de título, de BETHLEM & GUSMÃO¹ em 1982. Outros três casos descritos por PEREIRA E SILVA²⁶ em 1985, PORTO et al.²⁹, em 1986 e DE PAULA et al.⁷ em 1986, todos com boa evolução com a introdução da eritromicina, e tiveram diagnóstico firmado nos EUA por imunofluorescência indireta. Não houve entretanto confirmação do isolamento do agente nestes casos.

VERONESI et al.³¹, em 1984, realizaram inquérito sorológico em doadores de sangue e trabalhadores de Unidade de Terapia Intensiva (UTI) em três hospitais de São Paulo. Dos 213 soros pesquisados pela técnica de imunofluorescência indireta, apenas um apresentou título de 128, sugestivo de contato prévio com *Legionella pneumophila*.

O primeiro isolamento de *Legionella pneumophila* no Brasil foi descrito por PEREIRA GOMES et al.²⁷, em 1988 (comunicação em congresso) e PEREIRA GOMES et al.²⁸, em 1989 (publicação), obtido a partir de caso clínico de infecção respiratória grave, com insuficiência respiratória aguda.

MATERIAL E MÉTODOS

1 - Grupos de estudo - Grupo (G-1) - 100 pa-

cientes na faixa etária entre 15-60 anos, que se apresentaram ao Serviço de Pronto Atendimento do Hospital Universitário (HU-USP) no período de janeiro a dezembro de 1987. Estes pacientes eram portadores de quadro clínico e radiológico compatível com pneumopatia infecciosa, sem prévio esclarecimento etiológico. Grupo (G-2) - 100 pacientes do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), com quadro clínico compatível com pneumopatia infecciosa, previamente triados para pneumopatias para outras bactérias, admitidos no Serviço de Pronto Socorro (G-2a) e Unidade de Transplante Renal (G-2b), no período de janeiro de 1988 à agosto de 1990, na faixa etária entre 1-78 anos. Grupo (G-3) - que é o grupo controle - 150 indivíduos "normais", sendo formado por doadores do banco de sangue do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo. Grupo (G-4) - 28 indivíduos comunicantes da Unidade de Terapia Intensiva, representado por médicos residentes, enfermeiras, atendentes e serventes. As coletas foram realizadas durante o mês de maio de 1990.

2 - Coleta e processamento do material biológico. Foram colhidas amostras de escarro, secreção traqueal, lavado brônquico ou biópsia, conforme a possibilidade de sua obtenção, e processados de acordo com as recomendações do Centers for Disease Control (WILKINSON, 1987)³².

As sementeiras foram preparadas em duplicatas, utilizando-se placas de BCYE e BCYE com antibióticos e incubadas à 35°C, em ambiente úmido com 2,5-5,0% de CO₂ e examinada diariamente durante 14 dias (EDELSTEIN, 1981; EDELSTEIN, 1985; MAZIERI, 1990; WILKINSON, 1987)^{9,10,22,32}.

A identificação das colônias foi feita por provas de crescimento em meio de BCYE sem cisteína, provas bioquímicas, imunofluorescência direta e soroaglutinação em lâmina (CHERRY & MCKINNEY, 1979; MAZIERI, 1990; THACKER et al., 1985; WILKINSON, 1987)^{5,22,30,32}.

Lâminas diretamente do material biológico, foram preparadas para a reação de imunofluorescência direta (CHERRY & MCKINNEY, 1979; WILKINSON, 1987)^{5,32}. Os reagentes foram cedidos gentilmente por H.W. Wilkinson, do Centers for Disease Control.

Sempre que possível foram colhidas 2 amo-

tras de sangue, sendo a primeira coletada na admissão do paciente, e a segunda após 3 semanas do início dos sintomas clínicos. Contudo, considerando intercorrências na evolução, permanência e retorno dos pacientes, tal esquema não pode ser rigorosamente seguido.

A sorologia para verificação de anticorpos específicos para *Legionella pneumophila* sorogrupo 1 foi realizada pela técnica de imunofluorescência indireta, sendo utilizado conjugado polivalente anti-imunoglobulina humana (IgA, IgM e IgG), marcado com fluoresceína (CHERRY & MCKINNEY, 1979; WILKINSON, 1987)^{5,32}.

RESULTADOS

Do grupo (G-1) dos 100 pacientes do Hospital Universitário, apresentando quadro clínico e radiológico compatível com pneumopatia infecciosa, não se obteve nenhuma cultura positiva. Do grupo (G-2) dos 100 pacientes do Hospital das Clínicas, com quadro clínico compatível com pneumopatia infecciosa, previamente triados para outras bactérias, obtivemos 2 amostras positivas, uma amostra de secreção traqueal e outra de tecido pulmonar, após o cultivo em meio de BCYE com e sem antibióticos. Das lâminas realizadas diretamente do material biológico, foram também positivas para a imunofluorescência direta, 2 amostras de escarro, 1 de lavado brônquico e 1 de líquido pleural, para *Legionella pneumophila* sorogrupo 1. Portanto, a distribuição de positividade dos pacientes do Hospital das Clínicas em relação à cultura e somente com a reação de

imunofluorescência direta é de 2 para 4.

Na verificação de níveis de anticorpos anti-*Legionella pneumophila* sorogrupo 1, observada nos indivíduos pertencentes aos indivíduos normais formados por doadores do banco de sangue (G-3), somente 1 foi igual a 64 e outro a 128.

No grupo (G-1), formado por pacientes portadores de pneumopatia infecciosa do Hospital Universitário, sem prévia triagem, obtivemos somente em 1 paciente a presença de anticorpos com título de 64 na R.I.F.I. (na 1ª amostra) e 256 (na 2ª amostra). Verificamos ainda títulos de anticorpos igual a 64 (nas 1ª e 2ª amostras), em mais 2 pacientes.

No grupo dos comunicantes (G-4), obtivemos 2 soros com títulos igual a 64 e somente 1 com 128.

No grupo (G-2), dividido nos seus subgrupos (G-2a e G-2b) dos pacientes do Hospital das Clínicas, após prévia triagem para outras bactérias, que correspondem respectivamente pacientes da comunidade e pacientes hospitalares, temos na Tabela 1 o nº de pacientes com níveis de anticorpos para *L. pneumophila* sorogrupo 1, das amostras de soros, com ou sem conversão, com títulos ≥ 256 , na reação de imunofluorescência indireta.

Níveis de anticorpos para *L. pneumophila* sorogrupo 1, expressos em títulos na reação de imunofluorescência indireta de pacientes com infecção atual e pregressa, da comunidade (G-2a) e hospitalares (G-2b), intervalo entre o início dos sintomas e a coleta das amostras encontram-se nas

Tabela 1

Número de pacientes do grupo (G-2), com níveis de anticorpos para *L. pneumophila* sorogrupo 1, expressos em títulos ≥ 256 na RIFI, de acordo com o número de amostras.

	Nº de pacientes (G-2)	2 amostras com soro - conversão	2 amostras sem soro - conversão	Amostra única	TOTAL
(G-2a) comunidade	70	3	0	3	6 (8,5%)
(G-2b) hospitalar	30	5	2	3	10 (33%)
TOTAL	100	8	2	6	16 (16%)

Obs: para diagnóstico de doença dos Legionários atual, somente foram considerados pacientes com soroconversão ou com amostra única, mas com cultura positiva. Títulos acima de 256, sem soroconversão ou cultura, foram considerados como diagnóstico ou infecção pregressa (WILKINSON, H.W., 1987)³².

Tabelas 2 e 3, obtendo-se 9 pacientes com infecção atual e 7 pacientes com infecção progressa.

ção de 0,850489 e o de determinação 72,33%, sendo $p < 0,00001$.

A Figura 1, mostra com o auxílio do programa Statgraphics, a análise de regressão, entre o log (1 + título) e o tempo de sintomatologia em semanas desses 9 pacientes, mostrando uma correlação fortemente positiva, com um coeficiente de correla-

Para o estudo de distribuição dentro da faixa etária dos pacientes com diagnóstico de Doença dos Legionários atual e progressa no grupo (G-2), foram considerados 8 faixas etárias, conforme Figura 2.

Tabela 2

Níveis de anticorpos anti-*L. pneumophila* sorogrupo 1, obtidos dos pacientes com infecção atual do grupo (G-2) e seus subgrupos, pela R.I.F.I., de acordo com o intervalo entre o início dos sintomas e a coleta das amostras.

Grupo (G-2)	1ª Amost. (dias)	RIFI ^c	2ª Amost. (dias)	RIFI	3ª Amost. (dias)	RIFI	4ª Amost. (dias)	RIFI
(G-2a) Comunidade								
HC-1 ^a	7	128	18	1024	28	4096	41	8192
HC-32	3	64	11	512	21	1024	NC ^a	
HC-88	7	64	19	2048	NC			
(G-2b) Hospitalar								
HC-14	3	64	25	4096	39	4096	NC	
HC-39 ^b	12	256	NC					
HC-42	3	256	20	2048	39	1024	NC	
HC-43	3	256	33	2048	180	32	NC	
HC-73	1	32	14	2048	NC			
HC-74	9	256	26	2048	NC			

a - NC - amostras não coletadas (alta ou óbito)

b - cultura positiva

c - RIFI - resultado da reação de imunofluorescência indireta, expresso em título.

Tabela 3

Níveis de anticorpos anti-*L. pneumophila* sorogrupo 1, obtidos dos pacientes com infecção progressa do grupo (G-2) e seus subgrupos (G-2a e G-2b), pela R.I.F.I., de acordo com intervalo entre o início dos sintomas e a coleta das amostras.

Grupo (G-2)	1ª Amost. (dias)	RIFI ^a	2ª Amost. (dias)	RIFI
(G-2a) Comunidade				
HC-19	20	1024	NC ^b	
HC-37	28	1024	NC	
HC-94	18	2048	NC	
(G-2b) Hospitalar				
HC-40	11	4096	31	2048
HC-57	5	1024	NC	
HC-68	8	1024	24	1024
HC-79	300	512	NC	

a - RIFI - resultado da reação de imunofluorescência indireta, expresso em título.

b - NC - amostras não coletadas (alta ou óbito)

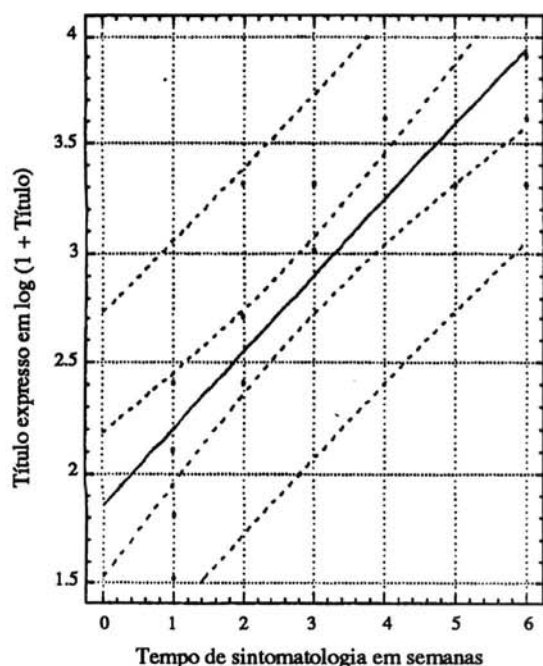
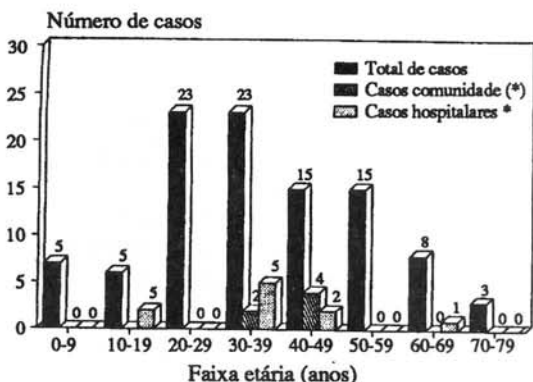


Figura 1 - Curva de regressão linear entre os logaritmos das recíprocas das diluições séricas +1, pela RIFI, e o tempo de sintomatologia em semanas nos 9 pacientes com infecção atual de Doença dos Legionários do grupo (G-2).

A análise estatística, através do método Qui-Quadrado, relativo ao sexo no grupo (G-2), não demonstrou diferenças significativas entre os dois sexos (Tabela 4).

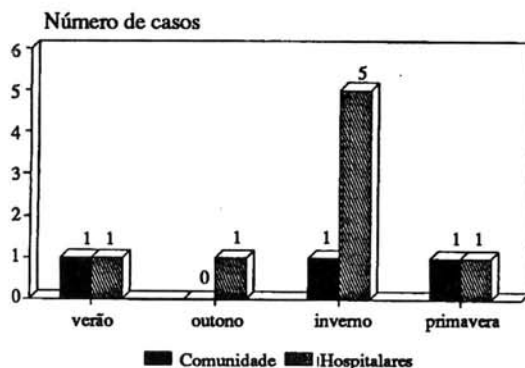
Dos 16 pacientes com títulos significativos na



Total de 100 casos com pneumopatia infecciosa: 70 casos da comunidade e 30 casos hospitalares.

Figura 2 - Distribuição de 100 casos com pneumopatia infecciosa do grupo (G-2), de acordo com a faixa etária, e nº de casos com infecção atual e progressa para Doença dos Legionários nos subgrupos (G-2a e G-2b).

Para análise de sazonalidade em pacientes com infecção atual e progressa de Doença dos Legionários no grupo (G-2) consideramos o período de 18 de janeiro de 1988 à 18 de janeiro de 1990, levando-se em consideração a data do início dos sintomas, para sua distribuição dentro das estações do ano (Figura 3).



52 casos de comunidade e 14 hospitalares no período de 01/88 a 01/90.

Figura 3 - Distribuição sazonal de 12 casos de pacientes com infecção atual e progressa de Doença dos Legionários, num total de 66 casos com pneumopatia infecciosa do grupo (G-2), durante o período de jan/88 a jan/90.

Tabela 4

Distribuição dos pacientes do grupo (G-2), de acordo com o sexo, e positividade para Doença dos Legionários.

Sexo	Doença dos Legionários		Total
	(+)	(-)	
Masculino	12	51	63
Feminino	4	33	37
Total	16	84	100

$$X^2 = 1,1766869 \quad p = 0,2780315$$

reação de imunofluorescência indireta, com infecção atual e progressa, tratados ou não com eritromicina, estão na Tabela 5 e Figura 4.

DISCUSSÃO

No Brasil poucos estudos foram realizados com a finalidade de avaliar a participação da legionelose em pneumopatias infecciosas (BETHLEM & GUSMÃO, 1982; DE PAULA et

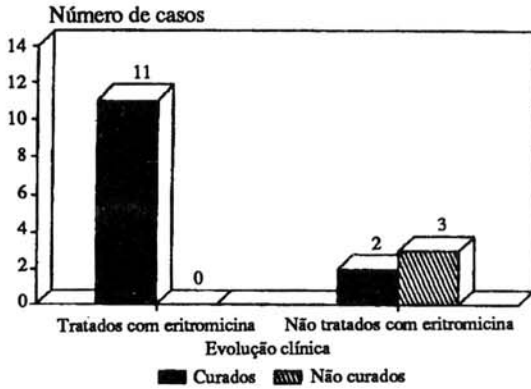


Figura 4 - Evolução clínica de 16 pacientes com Doença dos Legionários (atual e progressa) do grupo (G-2), tratados ou não com eritromicina.

al., 1986; PEREIRA E SILVA, 1985; PORTO et al., 1986 e VERONESI et al., 1984)^{1,7,26,29,31}, bem como a comprovação de *Legionella* sp em nosso meio e sua frequência.

Neste sentido o isolamento bem sucedido associado a quadro clínico grave com insuficiência respiratória aguda e comprovação sorológica (Tabelas 2 e 3) permitiu evidências de atuação deste patógeno em nosso meio (PEREIRA GOMES et al., 1989)²⁸. Ampliando nossos estudos em grupos da comunidade com infecção pulmonar lobar ou intersticial e em transplantados renais com medicação imunossupressora, foi possível evidenciar frequência expressiva nestes grupos, particularmente da *L. pneumophila* sorogrupo 1 (MAZIERI, 1990)²².

Na metodologia empregada destaca-se como de importância para a comprovação laboratorial etiológica alguns fatores a seguir discutidos.

A terapêutica antimicrobiana (HAFIZ et al., 1989)¹⁵ aos pacientes e a presença inibidora da microbiota oral (FLESHER et al., 1980)¹² atuantes no crescimento da *L. pneumophila*, podem em parte explicar a dificuldade no seu isolamento e por consequência a baixa frequência de positividade em relação a sorologia em nosso trabalho.

A ausência de crescimento das cepas em meio de BCYE sem cisteína, foi de grande auxílio no sentido de nos alertar que uma espécie do gênero *Legionella*, fora provavelmente isolada (WILKINSON, 1987)³².

A introdução de provas bioquímicas, como

Tabela 5

Evolução clínica de 16 pacientes com Doença dos Legionários (atual ou progressa) do grupo (G-2), tratados ou não com eritromicina.

Nº de pacientes	Tratamento	Evolução clínica
HC-01	Amicacina Clindamicina Ceftriaxone	alta
HC-19	Clindamicina Amicacina	óbito
HC-32	Eritromicina	alta
HC-37	Clindamicina Vancomicina	óbito
HC-88	Eritromicina	alta
HC-94	Eritromicina	alta
HC-14	Eritromicina	alta
HC-39	STA*	óbito
HC-40	Eritromicina	alta
HC-42	Eritromicina	alta
HC-43	Eritromicina	alta
HC-57	Ceftriaxone	alta
HC-68	Eritromicina	alta
HC-73	Eritromicina	alta
HC-74	Eritromicina	alta
HC-79	Eritromicina	alta

* STA - Sem terapêutica antimicrobiana

identificação presuntiva de espécie foi de valia pela utilização ou não de carboidratos, eliminando possibilidade de tratar-se de cepa isolada de *Francisella tularensis* ou *Francisella novicida* (BERGEY'S, 1984 e EDELSTEIN, 1985)^{2,10}.

A confirmação de espécie isolada foi feita através da I.F.D., com conjugado homólogo para *L. pneumophila* sorogrupo 1, e soroaglutinação em lâmina (MAZIERI, 1990)²². Houve maior facilidade na interpretação dos resultados na I.F.D., restando somente o inconveniente na aquisição do conjugado que não existe em nosso meio. Outra vantagem da I.F.D. compreende sua aplicação no material biológico, para pesquisa de antígenos do agente "in loco" contribuindo para a rapidez diagnóstica. Com o mesmo intuito de detecção direta de antígeno no material biológico

gico, tentou-se a implantação da soroaglutinação em lâmina, como descrito para a detecção de antígenos solúveis e células associadas à *L. pneumophila* sorogrupo 1, mas não obtivemos boa reprodutibilidade (WILKINSON & FIKES, 1981)³³.

Segundo estudos realizados pelo C.D.C. (WILKINSON, 1987)³², a sensibilidade da cultura é superior ao da I.F.D. Tal fato não ocorreu em nosso trabalho (Tabela 1), onde obtivemos 2 casos de cultura positiva para 4 de I.F.D. Considerações pertinentes foram descritos por HAFIZ et al. (1989)¹⁵, concluindo que em países onde o uso de antibióticos é extensivo (p.e. Paquistão), a sensibilidade da I.F.D. é superior ao da cultura, o que parece ocorrer em nosso meio.

A dosagem de níveis de anticorpos anti-*L. pneumophila* sorogrupo 1, pela reação de imunofluorescência indireta, propiciou em nosso trabalho, maior sensibilidade, com 16 casos positivos, incluindo infecções atuais e progressas (Tabela 2 e 3).

Para verificarmos a especificidade desta reação, o grupo (G-3) foi incluído, comportando-se como previsto pela literatura (WILKINSON, 1987)³², indicando boa especificidade.

No grupo (G-1), sem haver triagem para pneumonias lobares clássicas, não foi possível firmar o diagnóstico de infecção atual por *L. pneumophila* sorogrupo 1, no único caso com título igual a 256, pois não houve diferença de 4 títulos entre a primeira e segunda amostra, como o recomendado pelo C.D.C. (WILKINSON, 1987)³².

A preocupação com os comunicantes dos pacientes, dentro da Unidade de Transplante Renal, onde foi constatada a alta incidência de casos (33%), no grupo (G-2b) (Tabelas 2 e 3), levou-nos a realizar um estudo sorológico neste grupo. Nossos resultados confirmam o descrito em literatura, da importância do fator imunossupressão, quando o número de células do microrganismo presente é baixo, e que sua transmissão não se faz pessoa à pessoa (MARRIE et al., 1986; VERONESI et al., 1984; YU et al., 1983)^{21,31,36}. Ressaltamos que em áreas nosocomiais, onde não há somente fonte de infecção, mas também populações de alto risco para adquirir a infecção, deve-se aplicar cuidados especiais, como os recomendados pela Organização Mundial de Saúde (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1990)³⁵.

A constatação de 9 casos com diagnóstico de Doença dos Legionários atual (Tabela 2) e 7 casos com infecção progressa (Tabela 3) do grupo (G-2), alertou-nos para a importância do intervalo entre a coleta das amostras. Neste sentido verificamos pelo gráfico de correlação linear, a forte correspondência entre o nível de anticorpos anti-*L. pneumophila* sorogrupo 1, e o tempo de sintomatologia, levando-nos a concluir, que se a 1ª amostra for coletada nos primeiros dias da fase aguda e a 2ª amostra, entre a 2ª e 3ª semana, já teremos uma soroconversão, com 4 títulos de diferença, com um limite de confiança de 95%.

A maior incidência de legionelose deu-se dentro de uma faixa etária entre 30-50 anos (Figura 2). Embora idade e sexo (ENGLAND et al., 1981; HELMS et al., 1984; KIRBY et al., 1980)^{11,18,19}, sejam considerados como fatores de risco, mesmo com a alta frequência encontrada para o sexo masculino no grupo (G-2), tanto para pneumonias infecciosas como legionelose (Tabela 4), não foi possível demonstrar diferenças significativas pelo método Qui-quadrado.

A alta incidência de Doença dos Legionários no período de inverno, leva-nos a pensar na possibilidade da contaminação estar vinculada ao maior uso de água quente no sistema hospitalar (G-2b), e um histórico de contato prévio com água nos casos de comunidade (G-2a), nos períodos de verão, outono e primavera (Figura 3) (BOLLIN et al., 1985; DENNIS et al., 1984; DONDERO et al., 1980; KLAUCHE et al., 1984; MITCHELL et al., 1990 e MUDER et al., 1986)^{3,6,8,20,24,25}.

Dos 16 casos de Doença dos Legionários com infecção atual e progressa, 10 eram pacientes hospitalares (G-2b), sendo 9 da Unidade de Transplante Renal com medicação imunossupressora e 1 com doença de base (leucemia) e 6 pacientes da comunidade (G-2a). Entre estes 6 últimos, 2 apresentavam lupus eritematoso, 1 lepra, 2 sofreram contato prévio com água, e 3 deles eram tabagistas. Do total de 16 pacientes infectados com *Legionella pneumophila* sorogrupo 1 (Tabela 5 e Figura 4), 11 foram tratados com eritromicina (BROOME et al., 1979; FRASER et al., 1977; GUMP et al., 1979; HELMS et al., 1984; KIRBY et al., 1980)^{4,13,14,18,19} levando-os à boa evolução clínica. Dos 5 remanescentes não tratados com eritromicina, 3 foram à óbito e 2 foram curados, após terapêutica com ceftriaxone. Sendo que 1 dos pacientes foi tratado com uma associação de

amicacina, clindamicina e ceftriaxone, pertencente à comunidade (PEREIRA GOMES et al., 1989)²⁸ e o outro somente com ceftriaxone, pertencente ao grupo dos pacientes com infecção hospitalar (MAZIERI, 1990)²².

Durante o tempo dedicado à execução deste projeto foi possível adquirir em nosso laboratório a experiência necessária para a implantação de métodos reprodutíveis de diagnóstico laboratorial de legionelose na comunidade Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina USP. Com metodologia dirigida à pesquisa de *Legionella* sp foi possível verificar a presença do patógeno entre nós. Ficou também evidente sua característica de microorganismo oportunista em grupos de risco tais como transplantados renais submetidos a medicação imunossupressora e pacientes debilitados em consequências de doenças sistêmicas severas. Considerando-se a boa evolução clínica com a introdução precoce de antibioticoterapia específica, recursos laboratoriais para o diagnóstico etiológico são de fundamental importância.

CONCLUSÕES

De acordo com os resultados deste trabalho foi possível elaborar as seguintes conclusões: 1 - Foi comprovada a existência de *Legionella pneumophila* sorogrupo 1 em nosso meio associada a casos clínicos com pneumopatias infecciosas, por isolamento e sorologia. 2 - A incidência de infectados por *L. pneumophila* sorogrupo 1 em pacientes com pneumopatias infecciosas no grupo do Hospital das Clínicas da FMUSP (G-2), de acordo com o grupo selecionado e resultados deste trabalho foi de 16%. 3 - No subgrupo (G-2b) dos pacientes com infecção hospitalar, a incidência de infectados por *L. pneumophila* sorogrupo 1 foi de 33,3% e no subgrupo (G-2a) dos pacientes da comunidade de 8,5%. 4 - Nos pacientes com pneumopatias infecciosas sem outra seleção, correspondente ao grupo do Hospital Universitário USP (G-1), apenas 1% apresentou evidência sorológica para *L. pneumophila* sorogrupo 1, sem isolamento do agente.

SUMMARY

Legionellosis associated to pneumopatias in São Paulo. Etiological confirmation by means of isolations and sorology.

The role of *Legionella* sp as an important pathogen, although reported in many countries, had not been well documented in Brazil. The main objective of the present study is to detect this organism or its immunological response in patients with pulmonary infections in the city of São Paulo. For this purpose, specific laboratory methodology was introduced to cultivate the agent and demonstrate specific antibodies by serology.

Patients from two University centers in São Paulo were studied: 100 from the Hospital Universitario, University of São Paulo with general pulmonary infections and 100 from Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, University of São Paulo. The latter were selected to exclude pulmonary infections of other bacterial aetiology, and 30 of these were selected from the Renal Transplant Unit.

Clinical specimens for cultures included sputum tracheal secretion, pleural, fluid, bronchial washing or lung tissue biopsy. Isolation of *Legionella* sp was attempted in BCYE medium with and without antibiotics, presumptive diagnosis by biochemical methods and identification through direct immunofluorescence staining and slide agglutination test. Direct evidence of the organism in tissue was attempted by direct immunofluorescence staining.

Specific antibodies for *Legionella pneumophila* serogrupo 1 were tested by the indirect immunofluorescence assay. Serology was also carried out in specimens from human contacts with Legionnaires' Disease.

Legionella pneumophila serogrupo 1 was isolated from two patients, demonstrating the presence of the pathogen in this country. Serology was able to establish present or past infection with the agent in 16 of the 100 patients from Hospital das Clínicas and in only one from Hospital Universitário. In patients considered as high risk groups from Hospital das Clínicas with renal transplantation, serology for present or past Legionellosis was positive in 33% and in 8.5% for community acquired infections. Serology in specimens from Medical personnel in contact with patients of Legionnaires' disease was positive for past infection in one single subject, confirming information already published that direct transmission from person to person is unusual.

The introduction of specific methods for laboratorial evidence of *Legionella* sp infections at

the Hospital das Clínicas - Faculdade de Medicina USP community has permitted diagnosis in able time to allow use of specific anti-microbial therapy, with good results.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Heitor Franco de Andrade Júnior, responsável pela seção de apoio visual em computação, do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo; as Dras. Ana Cristina Hablitzel e Anna Sara Shafferman Levin, pela ajuda na coleta do material e dados clínicos dos pacientes, respectivamente, do HU-USP e HC-FMUSP; ao Dr. Dahir Ramos de Andrade, responsável pelo Laboratório de Investigação Médica LIM/54.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BETHLEM, N. & GUSMÃO, J.M. - Descrição de um caso de pneumonia por *Legionella pneumophila*. *J. Pneumol.*, 8 (supl): 207, 1982.
2. BERGEY'S *Manual of systematic bacteriology*. 9 ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1984. v. 1.
3. BOLLIN, G.E.; PLOUFFE, J.F.; PARA, M.F. & HACKMAN, B. - Aerosols containing *Legionella pneumophila* generated by shower heads and hot-water faucets. *Appl. environ. Microbiol.*, 50: 1128-1131, 1985.
4. BROOME, C.V.; GOING, S.A.; THACKER, S.B.; VOGT, R.L.; BEATY, H.N. & FRASER, D.W. - The Vermont epidemic of Legionnaires' disease. *Ann. Intern. Med.*, 90: 573-577, 1979.
5. CHERRY, W.B. & MCKINNEY, R.M. - Detection of Legionnaires' disease bacteria in clinical specimens by direct immunofluorescence. In: JONES, A.L.; HE, A.L. & HERBERT, G.A., ed. *Legionnaires: the disease, the bacterium and methodology*. Atlanta, Centers for Disease Control, 1979. p. 91-103.
6. DENNIS, P.J.; GREEN, D. & JONES, B.P. - A note on the temperature tolerance of *Legionella*. *J. appl. Bact.*, 56: 349-350, 1984.
7. DE PAULA, A.B.; CALAZANS, C.A.C.; VILELA, A.L. & FERREIRA, E. - Doença dos Legionários em Itatinga, M.G. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE INFECTOLOGIA, 3., Petrópolis, RJ, 1986. *Anais*. p. 79.
8. DONDERO Jr., T.J.; RENDTORFF, R.C.; MALLISON, G.F.; WEEKS, R.M.; LEVY, J.S.; WONG, E.W. & SCHAFFNER, W. - An outbreak of Legionnaires' disease associated with a contaminated air-conditioning cooling tower. *New Engl. J. Med.*, 302: 365-370, 1980.
9. EDELSTEIN, P.H. - Improved semiselective medium for

isolation of *Legionella pneumophila* from contaminated clinical and environmental specimens. *J. clin. Microbiol.*, 14: 298-303, 1981.

10. EDELSTEIN, P.H. - *Legionella*. In: LENNETTE, E.H.; BALOWS, A.C.; HAUSLER Jr., W.J. & SHADOMI, H.J., ed. *Manual of clinical microbiology*. 4 ed. Washington, American Society for Microbiology, 1985. p. 373-381.
11. ENGLAND, A.C.; FRASER, D.W.; PLIKAYTIS, B.D.; TSAL, T.F.; STORCH, G. & BROOME, C.V. - Sporadic legionellosis in the United States: the first thousand cases. *Ann. Intern. Med.*, 94: 164-170, 1981.
12. FLESHER, A.R.; KASPER, D.L.; MODERN, P.A. & MASON Jr., E.O. - *Legionella pneumophila*: Growth inhibition by human pharyngeal flora. *J. infect. Dis.*, 142: 313-317, 1980.
13. FRASER, D.W.; TSAI, T.R.; ORENSTEIN, W.; PARKIN, W.E.; BEECHAM, H.J.; SHARRAR, R.G.; HARRIS, J.; MALLISON, G.F.; MARTIN, S.M.; McDADE, J.E.; SHEPARD, C.C. & BRACHMAN, P.S. - Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia. *New Engl. J. Med.*, 297: 1189-1197, 1977.
14. GUMP, D.W.; FRANK, R.O.; WINN Jr., W.C.; FOSTER Jr., R.S.; BROOME, C.V. & CHERRY, W.B. - Legionnaires' disease in patients with associated serious disease. *Ann. Intern. Med.*, 90: 538-542, 1979.
15. HAFIZ, S.; HAMEDANI, P.; LYALL, N.; ALI, J.; MEMON, R.; ALI, S. & ALI, M. - *Legionella pneumophila*: laboratory in developing countries like Pakistan. *J. Pak. med. Ass.*, 39: 229-230, 1989.
16. HEBERT, G.A.; MOSS, C.W.; McDOUGAL, L.K.; BOZEMAN, F.M.; MCKINNEY, R.M. & BRENNER, D.J. - The rickettsia-like organisms TATLOCK (1943) and HEBA (1959): bacteria phenotypically similar to but genetically distinct from *Legionella pneumophila* and the WIGA bacterium. *Ann. Intern. Med.*, 92: 45-52, 1980.
17. HELMS, C.M.; MASSANARI, R.M.; ZEITLER, R.; STREED, S.; GILCHRIST, M.J.; HALL, N.; HAUSTER Jr., W.J.; JOHNSON, W.; WINTERMEYER, L. & HIERHOLZER Jr., W.J. - Legionnaires' disease associated with a hospital water system: a cluster of 24 nosocomial cases. *Ann. Intern. Med.*, 99: 172-178, 1983.
18. HELMS, C.M.; VINER, J.P.; WEISENBURGER, D.D.; CHIU, L.C.; RENNER, E.D. & JOHNSON, W. - Sporadic Legionnaires' disease: clinical observations on 87 nosocomial and community-acquired cases. *Amer. J. med. Sci.*, 288: 2-12, 1984.
19. KIRBY, B.D.; SNYDER, K.M.; MEYER, R.D. & FINEGOLD, S.M. - Legionnaires' disease: report of sixty-five nosocomially acquired cases of review of the literature. *Medicine (Baltimore)*, 59: 188-205, 1980.
20. KLAUCKE, D.N.; VOGT, R.L.; LaRUE, D.; WITHERELL, L.E.; ORCIARI, L.A.; SPITALNY, K.C.; PELLETIER, R.; CHERRY, W.B. & NOVICK, L.F. - Le-

- gionnaires' disease: the epidemiology of two outbreaks in Burlington. Vermont, 1980. *Amer. J. Epidemiol.*, 119: 382-391, 1984.
21. MARRIE, T.J.; GEORGE, J.; MACDONALD, S. & HAASE, D. - Are health care workers at risk for infection during an outbreak of nosocomial Legionnaires' disease? *Amer. J. Infect. Control*, 14: 209-213, 1986.
 22. MAZIERI, N.A.O. - Legionelose associada a pneumopatias em São Paulo. Estudo da comprovação etiológica por isolamento e sorologia. São Paulo, 1990. (Dissertação de mestrado - Instituto de Ciências Biomédicas USP).
 23. McDADE, J.E.; BRENNER, D.J. & BOZEMAN, F.M. - Legionnaires' disease bacterium isolated in 1947. *Ann. Intern. Med.*, 90: 659-661, 1979.
 24. MITCHELL, E.; O'MAHONY, M.; WATSON, J.M.; LYNCH, D.; JOSEPH, C.; QUIGLEY, C.; CONSTABLE, G.N.; FARRAND, R.J. & MAXWELL, S. - Two outbreaks of Legionnaires' disease in Boston Health District. *Epidem. Infect.*, 104: 159-170, 1990.
 25. MUDER, R.R.; YU, V.L. & WOO, A.H. - Mode transmission of *Legionella pneumophila*. A critical review. *Arch. Intern. Med.*, 146: 1607-1612, 1986.
 26. PEREIRA E SILVA, J.L. - Doenças dos legionários: relato do primeiro caso do Brasil. *J. Pneumol.*, 11: 26-30, 1985.
 27. PEREIRA GOMES, J.C.; GODOY, C.V.F.; MAZIERI, N.A.O. & ROCHA, A.S. - Síndrome do desconforto respiratório do adulto (SIDRA) por *Legionella pneumophila* comprovada por isolamento e sorologia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA, 24, Curitiba, 1988.
 28. PEREIRA GOMES, J.C.; MAZIERI, N.A.O.; GODOY, C.V.F. & ROCHA, A.S. - *Legionella Pneumophila* associada a insuficiência respiratória aguda. Primeiro isolamento no Brasil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 31: 368-376, 1989.
 29. PORTO, N.S.; PALOMBINI, B.C.; PETRILLO, V.F. & ALVES, M.R.A. - Pneumonia por *Legionella pneumophila* - relato do segundo caso brasileiro. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 28: 368-370, 1986.
 30. THACKER, W.L.; PLIKAYTIS, B.B. & WILKINSON, H.W. - Identification of 22 *Legionella* species and 33 serogroups with the slide agglutination test. *J. Clin. Microbiol.*, 21: 779-782, 1985.
 31. VERONESI, R.; BARBOSA, S.F.C.; COSCINA, A.L. & LIMA, A.C.C. - Legionelose no Brasil. Inquérito sorológico entre doadores de sangue e trabalhadores em unidades de terapia intensiva de três hospitais de São Paulo. *Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. S. Paulo*, 39: 257-259, 1984.
 32. WILKINSON, H.W. - Hospital-Laboratory diagnosis of *Legionella* infections. Atlanta, Centers for Disease Control, 1987. p. 1-42.
 33. WILKINSON, H.W. & FIKES, B.J. - Detection of cell-associated or soluble antigens of *Legionella pneumophila* serogroups 1 to 6, *L. bozemanii*, *Legionella dumoffii*, *Legionella gormanii*, and *Legionella micdadei* by staphylococcal coagglutination tests. *J. Clin. Microbiol.*, 14: 322-325, 1981.
 34. WINN, W.C., Jr. - Legionnaires disease: historical perspective. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1: 60-81, 1988.
 35. WORLD HEALTH ORGANIZATION. - Epidemiology, prevention and control of legionellosis: Memorandum from a WHO meeting. *Bull. Wild. Hlth. Org.*, 68: 155-164, 1990.
 36. YU, V.L.; ZURAVLEFF, J.J.; GAVILIK, L. & MAGNUSSEN, M.H. - Lack of evidence for person-to-person transmission of Legionnaires' disease. *J. Infect. Dis.*, 147: 362, 1983.

Recebido para publicação em 10/06/1992
Aceito para publicação em 06/10/1992