

# ***Legionella* kolonizáció terjedése és diverzitása épített vízrendszerekben**

Doktori (Ph.D.) értekezés

**Barna Zsófia**



Eötvös Loránd Tudományegyetem  
Környezettudományi Doktori Iskola  
Környezetbiológia Program

A Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Jánosi Imre, egyetemi tanár  
Programvezető: Prof. Dr. Ács Éva, tudományos tanácsadó  
Témavezető: Dr. Vargha Márta, osztályvezető (OKK-OKI)

Készült az Országos Közegészségügyi Központ  
Országos Környezetegészségügyi Igazgatóságának  
Vízhygiénés Osztályán

Budapest, 2016.



## Tartalomjegyzék

1	Rövidítések jegyzéke .....	1
2	Bevezetés .....	2
3	Irodalmi áttekintés .....	4
3.1	<i>Legionellaceae</i> .....	4
3.2	Legionellosis .....	4
3.2.1	Kórképek .....	5
3.2.2	Rizikócsoportok .....	6
3.3	Patomechanizmus és virulencia faktorok.....	6
3.3.1	Patomechanizmus .....	6
3.3.2	Virulencia faktorok.....	6
3.4	Epidemiológia .....	7
3.4.1	Területen szerzett legionárius megbetegedés .....	9
3.4.2	Utazással összefüggő megbetegedések .....	9
3.4.3	Nosocomiális legionárius betegség .....	10
3.5	Legionellák előfordulása és közegészségügyi jelentősége épített vízrendszerekben ....	10
3.6	Az épített vizes rendszer, különösen a hálózati víz <i>Legionella</i> csíraszámát, illetve a legionellosis kialakulásának kockázatát befolyásoló tényezők .....	13
3.6.1	Hőmérséklet .....	14
3.6.2	Biofilm .....	15
3.6.3	Vízminőség, a vízhálózatok és szerelvények anyaga .....	17
3.6.4	A vízrendszerekben való előfordulás műszaki és egyéb tényezői .....	18
3.6.5	Vízkezelési eljárások/Vízhálózat fertőtlenítése .....	19
3.6.6	Aeroszol-képződés és -eloszlás .....	20
3.7	Legionellák előfordulása és közegészségügyi jelentősége medencés fürdőkben .....	21
3.8	Legionellák környezeti előfordulásának jogszabályi háttere.....	25
3.9	<i>Legionella</i> azonosítási és tipizálási módszerek.....	26
4	Célkitűzések.....	28
5	Anyagok és módszerek.....	29
5.1	A vizsgálatok áttekintése.....	29
5.2	Vízhálózatok és fürdők kiválasztása, jellemzése és mintavételi pontok kiválasztása.....	29
5.2.1	A vizsgált vízhálózatok és medencés fürdők kiválasztása.....	29
5.2.2	Mintavételi pontok kiválasztása a használati vízrendszerben.....	31
5.3	Mintavételi technikák.....	32
5.4	Mintafeldolgozás.....	33
5.4.1	Vízminták feldolgozása.....	33
5.4.2	Törletminták feldolgozása.....	34
5.5	Tenyésztés és az izolátumok azonosítása, vizsgálata .....	34
5.5.1	Tenyésztés .....	34
5.5.2	Izolátumok azonosítása szerológiai vizsgálatokkal.....	34
5.5.3	Molekuláris biológiai vizsgálatok.....	36
5.6	Vízminták <i>Legionella</i> csíraszám határértékei .....	41
5.7	Adatgyűjtés, adatbázis létrehozása és adatelemzés .....	41
5.7.1	Adatgyűjtés és <i>Legionella</i> adatbázis létrehozása .....	41
5.7.2	Statisztikai elemzések.....	42

6	Eredmények és értékelésük .....	44
6.1	Legionellák előfordulása hálózati vízrendszerekben .....	44
6.1.1	Épületek hidegvíz hálózatainak <i>Legionella</i> szennyezettsége .....	45
6.1.2	Legionellák előfordulása épületek használati melegvíz-rendszereiben .....	46
6.1.3	Egészségügyi intézmények vízhálózatának <i>Legionella</i> szennyezettsége.....	49
6.1.4	Szálláshelyek használati hideg- és melegvíz-rendszerének <i>Legionella</i> szennyezettsége .....	51
6.1.5	Legionellák előfordulása oktatási intézmények használati hideg- és melegvizében .....	53
6.1.6	Lakóingatlanok hálózati hidegvizének és melegvizének <i>Legionella</i> szennyezettsége .....	55
6.1.7	Használati vízrendszereket kolonizáló legionellák azonosítása és tipizálása .....	58
6.2	Legionellák előfordulása medencés fürdőkben .....	69
6.3	Intézmények járványügyi érintettsége és járványügyi kivizsgálások eredményei.....	72
6.3.1	Hálózati vízzel összefüggésbe hozható esetek járványügyi kivizsgálása .....	74
6.3.2	Medencés fürdővel összefüggésbe hozható esetek járványügyi kivizsgálása .....	77
6.3.3	Kapcsolat igazolása az emberi- és a környezeti <i>L. pneumophila</i> izolátumok között .....	78
6.3.4	Jelentett legionárius betegség esetek területi megoszlása Magyarországon .....	80
6.4	A hálózati víz <i>Legionella</i> csíraszámát befolyásoló kockázati tényezők.....	81
6.4.1	A vízminták hőmérséklete és <i>Legionella</i> csíraszám közötti összefüggés.....	82
6.4.2	A vízminőségi paraméterek és <i>Legionella</i> csíraszám közötti kapcsolat használati melegvíz vízminták esetén .....	88
6.4.3	Műszaki és egyéb tényezők hatása .....	94
6.4.4	A központi előállítású használati melegvíz <i>Legionella</i> csíraszámát befolyásoló kockázati tényezők hatásának rétegzett vizsgálata.....	103
6.4.5	Kémiai vízminőségi jellemzők és a <i>Legionella</i> csíraszám közötti kapcsolat vizsgálata .....	105
6.5	Kockázatkezelő beavatkozások a hálózati víz <i>Legionella</i> csíraszámának csökkentésére .....	106
7	Megbeszélés és következtetések .....	111
8	Összefoglalás .....	117
9	Summary .....	118
10	Irodalomjegyzék .....	119
11	Publikációs lista .....	138
12	Mellékletek.....	140
12.1	Táblázatok .....	140
12.2	Kérdőív – Használati melegvíz-rendszer <i>Legionella</i> szennyezettségi kockázatbecslése .....	147
12.3	Módszertani levél – Kockázatcsökkentő beavatkozások hálózati vízrendszerek esetén .....	149
12.4	Oldatok és táptalajok .....	150

Köszönetnyilvánítás

## 1 Rövidítések jegyzéke

ACN	acetonitril
ACES-puffer	N-2- acetamido-2 aminoetán-szulfonsav puffer
ARDRA	amplifikált rDNS restrikciós analízis (Amplified rDNA Restriction Analyzis)
BCYE	pufferolt szén élesztő agar (Buffered Charcoal Yeast Extract)
BSA	szarvasmarha szérum albumin (Bovine Serum Albumin)
CHCA	$\alpha$ -ciano-4-hidroxi-fahéjsav
CIP	Pasteur Intézet Törzsgyűjteménye (Collection de l'Institut Pasteur)
CYE	szén-élesztőkivonat táptalaj (Charcol Yeast Extract)
dNTP	dezoxi-ribonukleotid-5-trifoszfát
dot/icm	defective for organelle trafficking/intracellular multiplication
ECDC	Európai Betegségmegelőzési és Járványügyi Központ (European Centre for Disease Prevention and Control)
EDTA	etilén-diamin-tetraecetsav
ELDSNet	Legionárius Megbetegedés Európai Surveillance Rendszere (European Legionnaires' Disease Surveillance Network)
EWGLI	Európai Legionellosis Munkacsoport (The European Working Group for <i>Legionella</i> Infections)
GVPC	glicin-vancomycin-polymicin-B-szulfát-cikloheximid táptalaj
GVPN	glicin-vancomycin-polymicin-B-szulfát-natamycin táptalaj
HPA	Egészségvédelmi Ügynökség (Health Protection Agency)
HMV	használati melegvíz
IU	nemzetközi egység (International Unit)
LLAP	<i>Legionella</i> -szerű amóba patogén ( <i>Legionella</i> -like Amoebal Pathogen)
MALDI -TOF MS	mátrix asszisztált lézer deszorpció/ionizáció repülési idő tömegspektrometria (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation Time of Flight Mass Spectrometry)
<i>mip</i>	makrofág fertőzőképességet erősítő gén (Macrophage Infectivity Potentiator)
MLST	több lókus szekvencia analízis (Multi Locus Sequence Typing)
mtsai	munkatársai
OEK	Országos Epidemiológiai Központ
OKI	Országos Közegészségügyi Központ Országos Környezetegészségügyi Igazgatósága
PCR	polimeráz láncreakció (Polimerase Chain Reaction)
PFGE	pulzáló mezejű gélelektroforézis (Pulse Field Gel Electrophoresis)
<i>pilD</i>	prepilin peptidáz gén (Prepilin Peptidase Gen)
QMRA	kvantitatív mikrobiológiai kockázatbecslés (Quantitative Microbiological Risk Assessment)
REP-PCR	repetitív extragenikus palindrom polimeráz láncreakció (Repetitive Extragenic Palindrom Polymerase Chain Reaction)
ST	szekvencia-típus (Sequence Type)
<i>sp, spp</i>	faj, fajok
TAE	tris - ecetsav - EDTA
TBE	tris - bórsav - EDTA
TFA	trifluor-acetat
TKE	telepképző egység
UPGMA	csoportátlag módszer (Unweighted Pair Group Method of Average)
VBNC	életképes, de nem tenyésztethető (Viable But Non-Culturable)

## 2 Bevezetés

A vízzel terjedő betegségek dinamikája a fejlett országokban az elmúlt évtizedekben jelentős változáson ment át. Míg a klasszikus vízjárványok – mint a kolera, a dizentéria vagy a hastífusz – a szennyvízkezelés elterjedésével és a higiénés viszonyok javulásával gyakorlatilag eltűntek, új kórokozók jelentek meg, amelyek ellenállnak a modern vízkezelő technikáknak. A vízminősítésben használt, úgynevezett fekális indikátorok nem jelzik ezen kórokozók előfordulását, így célzott vizsgálatok nélkül a kockázat egészen a megbetegedések előfordulásáig ismeretlen marad.

A legionellosis egyike korunk újonnan terjedőben lévő betegségeinek. A gyakran súlyos tüdőgyulladással járó legionárius megbetegedés kóroki ágenseként is ismert *Legionella* baktériumok általánosan előforduló szervezetek, alacsony csíraszámban bármilyen természetes vízi környezetben előfordulhatnak, közegészségügyi kockázatot azonban természetes előfordulási helyükön ritkán jelentenek. Amikor a természetes vizekből a legionellák olyan mesterséges vízrendszerekbe kerülnek, ahol a fennmaradásukhoz és szaporodásukhoz szükséges feltételek – optimális hőmérséklet, pangó vizek, biofilmképződés – biztosítottak, kockázatos mértékben elszaporodhatnak.

A betegség terjesztésében a legionellával szennyezett vízből képződő aeroszol belélegzése játssza a fő szerepet, így bárhol fennáll a megbetegedés kockázata, ahol 1-3 µm átmérőjű vízcseppek fordulhatnak elő. Ugyan a köztudatban terjesztő közegként elsősorban a légkondicionáló berendezések, szakmai körökben pedig a hűtőtornyok élnek, egyre több vizsgálat igazolja, hogy alábecsült a hálózati víz, ezen belül is elsősorban a használati melegvíz, továbbá a medencés fürdők szerepe.

A felismert legionellosis esetszám viszonylag alacsony, Európában átlagosan 12 eset/1 millió lakos évente, Magyarországon ennek a fele, és még a *Legionella* kockázattal komolyan számoló országokban is mindössze ennek háromszorosa. Ugyanakkor egységes szakmai álláspont szerint ez töredéke a ténylegesen előforduló eseteknek. A fejlett országokban a tüdőgyulladás a 10. leggyakoribb halálok, és első a fertőző betegségek között. Becsült hazai esetszáma 2000/1 millió lakos, és ezek többségénél a kórokozót nem azonosítják. A kórházban szerzett másodlagos fertőzések között ugyancsak a tüdőgyulladás jelenti a legnagyobb kockázatot. A legionellosis tényleges esetszámának, és a környezeti *Legionella* előfordulás kockázatának felderítése még további vizsgálatokat igényel.

Általánosan jellemző, hogy az országok az első nagyobb járványt követően ismerik fel a probléma jelentőségét, és később rögzítik jogszabályban a környezeti kockázatbecslésre, illetve a környezeti minták határértékeire vonatkozó előírásokat. A *Legionella* kockázatkezeléssel kapcsolatos szabályozásban még Európán belül is nagy különbségek vannak, a legtöbb ország azonban hálózati víz esetén 1000 TKE/l csíraszámra definiálja a beavatkozást igénylő határértéket.

Magyarországon egészen a közelmúltig nem volt kötelező érvényű szabályozás – sem határérték, sem vizsgálati előírás – *Legionella* környezeti előfordulására. Jogszabályi háttér hiányában hazánkban a vízhálózatok üzemeltetői sem voltak rákényszerítve a vízminták *Legionella* vizsgálatára, így jellemzően semmilyen ismerettel nem rendelkeztek az üzemeltetett rendszer kolonizáltságáról, illetve az azt befolyásoló tényezőkről; megfelelő ismeretek hiányában nem törekedhettek a helyes vízbiztonsági gyakorlatra. Ugyanezen okból korábbi adatok a hazai vízrendszerek *Legionella* csíraszámáról csak nagyon korlátozottan álltak rendelkezésre. Jelen munka az e témában készült első átfogó jellegű tanulmány. A szabályozás és az ismeretek hiánya szinte lehetetlenné tette az egészségügyi hatóságok számára, hogy fellépjenek az üzemeltetőkkel szemben, gyakran még megbetegedések előfordulása esetén sem.

A *Legionella* epidemiológiájával foglalkozó szakemberek szinte axiómaként tekintik, hogy a *Legionella* előfordulás elsősorban nem higiénés, hanem műszaki probléma. A hálózati vizeknél és a medencés fürdőknél a helyes tervezés, kialakítás és üzemeltetés valóban elsődleges a *Legionella* kolonizáció megelőzése vagy mérséklése, és a fertőzések megakadályozása szempontjából. A helyes üzemeltetési feltételek (a hazai rendszerekre specifikusan) csak úgy határozhatók meg, ha ismerjük az egyes paraméterek hatását a *Legionella* csíraszámra.

Fentiek miatt szükséges volt pontosabb képet kapni a legionellák hazai, környezeti előfordulásáról, ezzel megalapozva egy hazai szabályozást.

### 3 Irodalmi áttekintés

#### 3.1 Legionellaceae

A  $\gamma$ -proteobaktériumok osztályának *Legionellales* rendjébe tartozó *Legionellaceae* családjába mindösszesen egyetlen nemzetség, a *Legionella* tartozik. A *Legionella* nemzetség tagjai aerob 0,3-0,9  $\mu\text{m}$  széles, 2-20  $\mu\text{m}$  hosszú Gram-negatív poláris, vagy szubpoláris csillóval rendelkező pálcák. Optimális növekedésükhöz L-cisztein és vas-sók szükségesek, így tenyésztésbe is ezen komponenseket tartalmazó táptalajon inkubálva vonhatók (3.1. ábra) [1]. Mint Gram-negatív szervezetek, sejtfaluk rétegzett: a murein réteget lipoprotein kapcsolja a citoplazma-membránhoz és a külső membránhoz is. A külső membránjukba épül bele kívülről a lipopoliszacharid réteg, ami jó antigén karakterrel rendelkezik.



3.1. ábra *L. pneumophila* telepek  
(fotó: Barna Zsófia)

A *Legionella* nemzetséghez jelenleg 71 szerotípussal és három alfajjal összesen 60 ismert faj tartozik, amelyek közül eddig 23 fajról bizonyosodott be, hogy képes emberi megbetegedést okozni (Melléklet, 12.1 táblázat) [2, 3]. A megbetegedésekért legnagyobb arányban jelenleg 16 szerotípusával a *Legionella pneumophila* felelős [2]. A faj egyes szerotípusai tovább bonthatók monoklonális alcsoportokra [4-6].

A *L. pneumophila* különböző vízi mikroorganizmusokkal (pl. egysejtűekkel, *Fischerella spp*-vel és egyéb baktériumokkal) asszociált kórokozó [7-13]. Rowbotham 1980-ban írta le a kapcsolatot amőbák és *L. pneumophila* között, illetve hogy a legionellák fakultatív intracelluláris paraziták [14]. Eddig 14 egysejtű fajról írták le, hogy a legionellák képesek szaporodni bennük [8, 14-16].

A legionellák emberi egészségkockázatának szempontjából jelentőségük van még az ún. *Legionella*-szerű amőba-patogéneknek (LLAP) nevezett baktériumok, amelyek nem képesek a hagyományos *Legionella* specifikus táptalajokon növekedni, így ezen esetekben a betegség diagnosztizálása a szokásosnál is komolyabb kihívást jelent [17].

#### 3.2 Legionellosis

A *L. pneumophila* azonosítására és leírására egy több mint 200 megbetegedéssel és 34 halálos áldozattal járó 1976-os philadelphiai (Amerikai Egyesült Államok) járvány lezajlása után került sor [18]. Azonosítása óta fontos humán patogén szervezetként tartják számon; kóroki



ágensként számolni kell vele mind területen szerzett, mind egészségügyi ellátással összefüggő tüdőgyulladások esetében.

### 3.2.1 Kórképek

A legionellák által létrehozott emberi megbetegedéseket összefoglaló néven legionellosisnak nevezik; két kórformája különíthető el: a nem-pneumóniás forma (Pontiac-láz, Lochgoilhead-láz) és a legionárius betegség [19-21]. A nem-pneumóniás forma 24-36 órás lappangási idő után kevésbé súlyos, influenzaszerű tünetekkel járó, néhány nap alatt spontán gyógyuló betegség; tüdő érintettséggel nem jár és halálos kimenetelű megbetegedést még nem írtak le [20].

A legionárius betegség vezető klinikai tünete a tüdőgyulladás, amely magas lázzal és változatos extrapulmonális tünetekkel társulva gyakran életveszélyes állapot kialakulásához vezet [19]. A betegség 2-10 napos lappangási idő után influenzaszerű tünetekkel kezdődik, majd 12-48 óra múlva hidegrázás, magas láz és fokozódó erősségű, száraz köhögés jelentkezik, ami később nyálkás, gennyes köpetürítéshez vezethet. A megbetegedés korai jele lehet egyes gyomor-bélrendszeri tünetek megjelenése is [22]. A 2-3. naptól kezdődően a tüdőgyulladás tünetei dominálnak. Kialakulhat nehézlégzés, szapora légzés. További jellemzői a megbetegedésnek, hogy gyakoriak a központi idegrendszeri tünetek (fejfájás, tudatzavar) [23]. A legionárius betegségből gyógyult betegek még hónapok múlva is gyengeségről, fáradékonyságról panaszkodhatnak [24]. A diagnózist megnehezíti, hogy a legionárius megbetegedést nehéz elkülöníteni egyéb tüdőgyulladásoktól (főleg a *Pneumococcus* okozta pneumóniától), 100 %-ig specifikus jegyei nincsenek. Ritkábban más extrapulmonális érintettség is előfordulhat: súlyos *Legionella* tüdőgyulladáshoz szívburok-, szívizom-, szívbelhártya-, hasnyálmirigy-, vesemedence-, hashártya-, kötőszövet- és bőrgyulladás is társulhat [22, 25, 26].

Európában és az Amerikai Egyesült Államokban a legtöbb legionárius megbetegedés kóroki ágenseként a *L. pneumophila*-t, annak is jellemzően az 1-es szerotípusát azonosítják, azonban – különösen az egészségügyi ellátással összefüggő megbetegedések esetén – a nemzetség egyéb fajai is okozhatnak megbetegedést. Ugyan nagyjából a nemzetség fajainak egyharmadát (23/60) izolálták már emberi mintákból, Európában mégis a megbetegedések 90-95 %-ának esetében kóroki ágensként egyetlen fajt, a *Legionella pneumophila*-t azonosítják; az összes megbetegedés 70 %-ért a *L. pneumophila* 1-es szerotípusa, 20-25 %-ért a faj egyéb szerotípusai, 5-10 %-ért pedig a nem-*pneumophila* fajok tehetők felelőssé [27]. Ezen területen a *L. micdadei* a legionárius betegség második leggyakoribb kóroki ágense, Ausztráliában a legtöbb jelentett

eset hátterében a *L. longbeachae* a kórokozó [28, 29]. A nehéz kimutatás ellenére LLAP törzset is összefüggésbe hoztak megbetegedéssel [30, 31]. A *Legionella* fajok tünetmentes fertőzést is okozhatnak [32]. Becslések szerint a populáció átfertőzöttsége 1-16 % [33].

### **3.2.2 Rizikócsoportok**

A *Legionella* fertőzés elleni védekezésben a celluláris immunválasznak van elsődleges szerepe. Fokozott veszélynek vannak kitéve a csökkent védekezőképességű személyek és az idült alapbetegségben szenvedők [34]. Veszélyeztetetteknek tekinthetők a krónikus obstruktív tüdőbetegségben, a krónikus szív- és érrendszeri megbetegedésben, a cukorbetegségben, a vese- és májelégtelenségben, a daganatos betegségben szenvedők, a csontvelő- és szervtranszplantáltak, magas dózisú szisztémás szteroid, vagy más immunszuppresszív kezelésben részesülő betegek, illetve a HIV-fertőzöttek [34]. Hajlamosító tényező az 50 évesnél magasabb életkor, a férfi nem, az erős dohányzás, az alkoholizmus, illetve különböző intenzív osztályon történő kezelést igénylő állapotok [35-41]. Gyermekek és fiatal felnőttek ritkán érintettek [42].

## **3.3 Patomechanizmus és virulencia faktorok**

### **3.3.1 Patomechanizmus**

A *Legionella* fertőzési mechanizmusa igen hasonló protozoák és humán makrofágok esetében is, mivel a baktérium azonos géneket és géntermékeket használ mindkét folyamathoz. Az aeroszollal vagy félrenyeléssel a tüdő alveolusaiba kerülő legionellákat a tüdő léghólyagokban található makrofágok kebelezik be, függetlenül attól, hogy az adott mikroorganizmus virulens-e vagy nem. A makrofágokban a virulens baktériumok a bejutásuk utáni percekben megakadályozzák a fagoszóma és a lizoszóma egyesülését [43]. A következő lépésben a baktériumok a fagoszómát durva felszínű endoplazmatikus retikulummal és mitokondriumokkal körülvett sejtszervecskévé alakítják át, amely ideális környezetet biztosít a baktériumok sejten belüli szaporodásához. Az endocitózist követő negyedik órában elkezdődik a legionellák szaporodása, 8-18 órán belül felszakad a fagoszóma membránja és a legionellák a citoplazmába jutnak. A ciklus végső stádiumában a baktériumok apoptózis vagy nekrozis beindításával elpusztítják a gazdasejtet [44-46].

### **3.3.2 Virulencia faktorok**

A legionellák virulenciájával először a *mip* gént (macrophage infectivity potentiator) hozták kapcsolatba. A *mip* gén által kódolt extracelluláris fehérje szükséges mind a hatékony fertőzés

kialakulásához, mind ahhoz, hogy a baktérium a fertőzést követő percekben túléljen [47, 48]. A fertőzés kialakulásához szükségesek a IV. típusú szekréción apparátust kódoló *dot/icm* (defective for organelle trafficking/intracellular multiplication) lókusok is. A két csoportban elhelyezkedő, összesen 24 gén által kódolt apparátusnak feltételezések szerint virulencia faktorok, pl. a fagoszóma endolízisét megakadályozó fehérje szállításában van szerepe [49].

Feltehetően a II típusú szekréción apparátus felelős a korlátlan sejten belüli növekedésért. A pilin fehérjét kódoló *pilE* génnek a sejten belüli növekedésben, valamint a gazdasejthez való kötődésben, a prepilin peptidázt kódoló *pilD* génnek pedig a pilusképzésben van szerepe [49]. A virulencia fokát fenotípusos tulajdonságok is tükrözik: a virulens törzsek csillósok, míg a csilló elvesztése a fertőző- és megbetegítő-képesség csökkenésével jár [50].

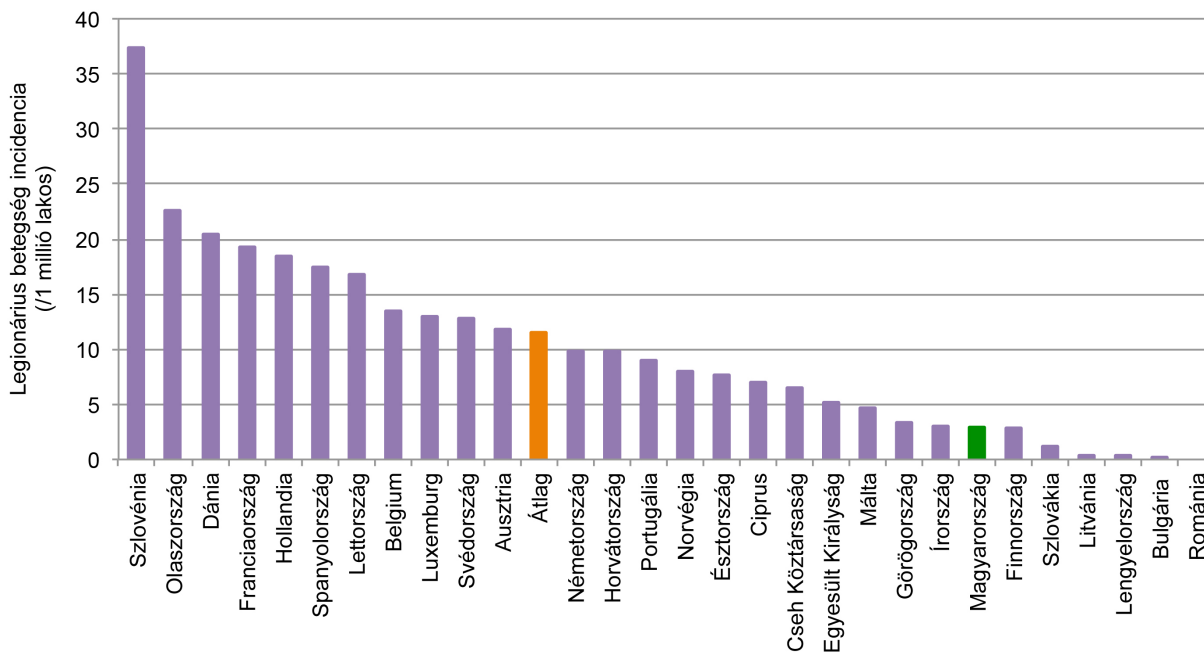
Az egyes *Legionella* fajok és szerotípusok virulenciájának különbségei összefüggésben állnak a lipopoliszacharidok epitópjainak különbségével [51]. A *L. pneumophila* 1-es szerotípusán belül a megbetegedésekkel leggyakrabban összefüggésbe hozott törzsek azonos epitópokkal rendelkeznek, amire a monoklonális tipizálás eredményei is utalnak [52-54]. A legionellák túlélési képessége az aeroszolban, a szaporodási hőmérséklet és a csilló kifejeződése szintén fontos virulencia faktorok [55, 56].

### 3.4 Epidemiológia

A legionárius megbetegedés pontos incidenciája a világon nagyságrendileg sem becsülhető meg, mivel a becslését erősen befolyásolja a diagnózis pontossága, az alkalmazott mikrobiológiai vizsgálat és annak megbízhatósága továbbá a jelentési rend és fegyelem is [49, 57]. A Legionárius Megbetegedés Európai Surveillance Rendszerében (European Legionnaires' Disease Surveillance Network, ELDSNet) regisztrált adatok szerint Európában az egymillió lakosra jutó megbetegedések száma jellemzően 0 és 30 között változik, a különböző országokra jellemző jelentési és kivizsgálási eljárásmódoktól függően [37-41]. A surveillance rendszer az Európai Unió 27 tagországából, illetve Norvégiából valamint Izlandról a 2013. évben 5844 esetet regisztrált (512,3 millió lakosra); a teljes incidencia 11,4/1 millió fő, letalitás 7,7 % volt; a jelentett esetek száma 2008 óta szinte változatlan (3.2. ábra) [38-40]. A 2013-ban az ELDSNet rendszerbe jelentett és tenyésztéssel igazolt esetek 96,0 %-ban (691) a kóroki ágens *L. pneumophila*, 87,0 %-ban annak 1-es szerotípusa volt [40].

A legionárius megbetegedés Európában feltételezhetően jelentősen aluljelentett, aminek hátterében elsősorban a diagnosztikai nehézség, ill. az aktív surveillance hiánya áll. Az Európai Unióban 2012-ban közel 130 ezer ember halt meg tüdőgyulladásban [58]. Ezen halálozási

adatokkal és azon tényel számolva, hogy a halálozási arány tüdőgyulladások esetében kb. 10 %, évente nagyságrendileg kb. 1,3 millió ember szenved tüdőgyulladásban a fenti területen [59]. Azt feltételezve, hogy az összes tüdőgyulladás 4 %-ának háttérében legionárius megbetegedés áll, a számítást folytatva ez kb. 52000 legionárius megbetegedés esetet jelentene, ami kb. tízszer annyi, mint az Európában évente jelentett esetszám [38-40, 59, 60].



3.2. ábra Jelentett legionárius betegség incidenciája: Európai Unió és Norvégia, 2013 (az összes esetszám 512 257 085 lakosra 5844) [40]

Magyarországról a 2012. évben 34, 2013-ban 29, 2014-ben pedig 32 esetet jelentettek (incidencia 3,2/1 millió fő, 3,0/1 millió fő, ill. 3,2/1 millió fő), amely az európai átlagnak mintegy fele-harmada és ötöde-hatoda a legionárius betegség kockázatával komolyan számoló országok jelentett incidenciájának (3.1. táblázat) [38-40]. Az alacsony hazai esetszám felveti a gyanút, hogy Magyarországon jelenleg a legionárius betegség – magas letalitása ellenére – jelentősen aluldiagnosztizált és/vagy aluljelentett. Az alacsony incidencianak ellenére a megbetegedés jelentősége azért figyelemre méltó, mert a halálozási aránya rendkívül magas: az európai surveillance adatok szerint a jól működő figyelőrendszerekben 10-30 % közötti halálozási arányt regisztrálnak [41]. A betegség magyarországi halálozási aránya 1998-2014 között átlagosan 13,8 % volt, 2012-ben azonban meghaladta a 35 %-ot (3.1. táblázat).

A *Legionella* okozta infekciókat az Európai Betegségmegelőzési és Járványügyi Központ (ECDC) expozíció helye szerint is kategorizálja. Ezen csoportosítás alapján megkülönböztet területeken szerzett, utazással és egészségügyi ellátással összefüggő (nosocomiális) megbetegedéseket. Az

ECDC a 2013-ban jelentett esetek közül 5196 esetet kategorizált az expozíció helye szerint: ezek 73 %-a területen szerzett, 19 %-a utazással (11 % külföldi, 8 %-a belföldi utazással) összefüggő, 8 %-a egészségügyi ellátással összefüggő [40].

Év	Bejelentett legionárius betegség esetszámok 1 millió lakosra	Bejelentett legionárius betegség okozta halálozások 1 millió lakosra	Legionárius betegség okozta letalítás 100 megbetegedett személyre
1998	1,8	0,0	0,0
1999	2,7	0,4	14,8
2000	4,0	0,5	11,9
2001	5,0	0,3	5,5
2002	6,0	0,3	4,6
2003	12,0	0,6	4,8
2004	4,0	0,2	5,4
2005	1,0	0,2	15,4
2006	1,0	0,1	8,3
2007	2,0	0,6	30,0
2008	3,0	0,4	14,8
2009	7,0	0,5	7,6
2010	6,0	1,0	18,3
2011	3,7	1,0	27,0
2012	3,4	1,2	35,3
2013	0,3	0,1	24,1
2014	0,3	0,2	6,3

3.1. táblázat Legionárius betegség incidenciája Magyarországon 1998 és 2014 között; összes esetszám: 700 [61-70]

### 3.4.1 Területen szerzett legionárius megbetegedés

A „területen szerzett tüdőgyulladás” kifejezés magában foglalja azon tüdőgyulladásos eseteket, amelyek nem szálláshellyel vagy egészségügyi intézménnyel, hanem valamely egyéb expozíciós forrással hozhatók összefüggésbe. Ugyan a kórházi ellátást igénylő, területen szerzett tüdőgyulladásos esetek mindössze 0,5-10 %-ánál (átlagosan 2 %) diagnosztizáltak legionárius megbetegedést, a betegség megítélését fokozza, hogy a súlyosabb, intenzív ellátást igénylő területen szerzett tüdőgyulladások akár 30 %-ának is valamely *Legionella* faj lehet a kóroki ágense [28, 35, 49, 71-74]. Egyéb területen szerzett tüdőgyulladásokhoz viszonyítva, a legionárius betegség halálozási aránya magasabb [75]. A magas halálozási arány ellenére a sporadikus, területen szerzett megbetegedések gyakran nem kerülnek feltárássra.

### 3.4.2 Utazással összefüggő megbetegedések

Utazással összefüggő eset előfordulásakor a beteg a betegség kezdetét megelőző 2-10 napon belül legalább egy éjszakát otthonán kívül kereskedelmi szálláshelyen töltött (kivételt képeznek ez alól a szivességi magánszálláshelyek) [24]. Európában 2007 és 2013 között minden negyedik-

hatodik legionárius megbetegedés utazással összefüggő esetnek bizonyult (18,1 - 24,0 %) [40]. A surveillance rendszer létjogosultságát bizonyítja, hogy a jelentett esetek kb. 35 %-a éveken át ismételtén ugyanazon szállodákhoz vagy épületekhez kapcsolódó halmozódást mutat [57, 76].

### **3.4.3 Nosocomiális legionárius betegség**

Nosocomiális legionárius megbetegedés esetén a beteg a betegség kezdetét megelőző 10 napban folyamatosan (bizonyosan nosocomiális) vagy 2-9 napon belül (feltételezhetően nosocomiális) fekvő- vagy járóbetegként egészségügyi intézményben tartózkodott és expozíciónak volt kitéve [24]. Annak ellenére, hogy a nosocomiális esetek a jelentett megbetegedések csak kis százalékát teszik ki – 2007 és 2013 között Európában 6,2-9,5 % – a halálozási arányuk lényegesen magasabb, mint a nem-nosocomiális eredetű esetekben [37-41, 77]. Európában 2013-ban a nosocomiális eredetű megbetegedés letalálítása 27,9 % volt, szemben a nem nosocomiális eredetű<sup>1</sup> letalítás 8,9 %-ával [40]. Kórházi tartózkodás során megjelenő tüdőgyulladás esetén mindig gondolni kell nosocomiális eredetű legionárius megbetegedésre, mivel az egészségügyi intézményekben sok a fogékony, legyengült immunrendszerű beteg. A hazai kórházak vizes rendszerei gyakran elhanyagoltak, jogszabályi háttér hiányában a vizes rendszereikre kockázatbecsléssel jellemzően nem rendelkeznek, legionellára nem vizsgálták. A diagnózist megnehezíti, hogy a fertőzés igazolására leggyakrabban használt vizelet antigén teszt csak a *L. pneumophila* 1 szerotípust mutatja ki, holott a legyengült immunállapotú betegek a kevésbé virulens fajokra vagy szerotípusokra is érzékenyek.

### **3.5 Legionellák előfordulása és közegészségügyi jelentősége épített vízrendszerekben**

A *Legionella* nemzetség fajainak természetes előfordulási helye bármilyen nedves, vagy vizes környezet; legionellákat – jellemzően alacsony csíraszámokban – izoláltak többek között tavakból, folyókból, talajból, de a *Legionella* nemzetség több fajtát, köztük *L. pneumophila*-t mutattak ki magas csíraszámokban esőerdőben közel 10 m magasságban gyűjtött vízmintákból [78-83]. Közegészségügyi kockázatot természetes előfordulási helyeiken ritkán jelentenek. Kivételt képeznek ez alól a trópusi területek, ahol a természetes vizek is igen magas csíraszámokban tartalmazhatnak patogén *Legionella* fajokat [80]. A mérsékelt égövi viszonyok mellett a legionellák fő rezervoárja az urbanizációval egyértelműen a mesterséges vízi környezet lett, ahol

---

<sup>1</sup> Nem nosocomiális megbetegedés: területen szerzett, utazással összefüggő és egyéb legionárius megbetegedés.

gyakran biztosítottak a fennmaradásukhoz és szaporodásukhoz szükséges optimális környezeti feltételek (pl. megfelelő hőmérséklet, pangó vizek, élőbevonat képződés, tápanyagok stb.).

A legionellosis kialakulásának mind a legionellák elszaporodása, mind az expozíció szükséges feltétele. A legionellák jelenléte közegészségügyi kockázatot elsősorban azon nyílt rendszerek esetében jelentenek, ahol aeroszol képződhet a legionellát tartalmazó vízből; így kockázatot jelenthetnek többek között a hűtőtornyok, az épületek nedves hűtési technológiával üzemelő légkondicionáló berendezései, rosszul kialakított felületi hűtők (pl. split-klíma), épületek hideg- és melegvíz-rendszerei, szökőkutak, légnedvesítő berendezések, medencés fürdők (kiemelkedően a pezsgőfürdők), kerti locsolók, fogászati egységek stb. [84-94]. Az expozíció megtörténhet többek között a beteg otthonában, szálláshelyen, egészségügyi- és szociális intézményekben, hajókon, így a betegség közegészségügyi jelentőségét az is növeli, hogy a lakosság egésze találkozhat legionellával szennyezett vízzel és a vízből képződött aeroszollal [95-103].

Mivel az első feltárt, és egyben legismertebb, 1976-os philadelphiai (Amerikai Egyesült Államok) járvány esetében a légkondicionáló rendszerben elszaporodó legionellák 34 veterán légiós halálát és összesen 221 megbetegedését okozták, a legionárius megbetegedés úgy terjedt el a köztudatban, mint a „légkondicionálók fertőzése”. Valójában a legnagyobb járványok a nemzetközi gyakorlatban hűtőtornyokhoz és levegőztetett medencés fürdőkhez köthetők, de jelentős kockázati közegeként tartják számon a hálózati vizet is [32, 84, 96, 104-118].

Egy kórházi bennfekvéssel járó tüdőgyulladás aktív surveillance vizsgálat eredménye alapján (Ohio, Amerikai Egyesült Államok) a legionárius megbetegedés incidenciája 7 eset/100 000 lakos/ év értékre becsülhető [119]. Aktív surveillance alkalmazásával kb. 2 eset/100 000 lakos/év esetén azonosították a lakóingatlanok és a nyugdíjas-otthonok használati vizét a megbetegedést okozó legionellák rezervoárjaként [120]. Az első közlemény 1980-ban számolt be arról, hogy vesetranszplantált betegek fertőződtek meg kórház használati vízrendszerében elszaporodó *Legionella* baktériumoktól [121]. Ezen esetek óta számos különböző épület használati vízrendszerét hozták összefüggésbe megbetegedésekkel (3.2. táblázat). Mint ahogy a táblázatból is kitűnik, a legtöbb használati vízrendszer eredetű feltárt járvány/eset kórházakhoz köthető, mivel a területen szerzett legionellosis esetében lényegesen nehezebb a kockázati közeg azonosítása, és a kórházakban halmozottan fordulnak elő a kockázati csoportokba tartozók. Megfelelő kontroll intézkedések hiányában, amennyiben a baktérium kolonizál egy hálózatot, a legionellák kimutathatók a vizes rendszer egészéből (használati víz, zuhanyzó, csapvízzel feltöltött párasító stb.) [122-127].

Viszonylag kevés adat áll rendelkezésre a sporadikus esetekről annak ellenére, hogy a megbetegedések nagy része nem köthető járványokhoz. Korrelációs vizsgálatok eredménye szerint a sporadikus esetek jelentős része területen szerzett és a használati vízzel hozható kapcsolatba [120, 150, 151]. Annak ellenére, hogy a területen szerzett legionárius megbetegedések többsége bizonyítottan hálózati víz eredetű, a használati vízrendszerek kolonizáltságához és a fertőzésnek kitett lakossághoz képest a jelentett esetszám alacsony [152], aminek a magyarázata lehet az a tény is, hogy a zuhanyzók és vízcsapok legionellát tartalmazó vízből csak kis mennyiségben képződik legionellát tartalmazó aeroszol a rutin használat során [153]. A nemzetközi irodalomban megjelent legfontosabb hálózati víz *Legionella* környezeti surveillance vizsgálatokat a Melléklet, 12.8 táblázata foglalja össze. Magyarországon széleskörű környezeti surveillance vizsgálatot ezidáig nem végeztek. 2012-ben 10 szolnoki iskola vízhálózata közül legionellát 4-ből mutattak ki ( $3 \cdot 10^2$ - $2,6 \cdot 10^4$  TKE/l) [154]. Egy munkacsoport pedig egy budapesti kórház vízhálózatából mutatott ki potenciálisan patogén mikroorganizmusokat, köztük *L. pneumophila*-t [155].

Épület típusa	Megbetegedettek száma	Kóroki ágens	Hivatkozás
kórház	2	<i>L. pneumophila</i>	[121]
kórház	11		[128]
kórház	3	<i>L. pneumophila</i> 6	[124]
kórház		<i>L. pneumophila</i>	[100]
kórház	21	<i>L. pneumophila</i> 1 és 10	[129]
lakóingatlan	1, 1	<i>L. pneumophila</i> 1 és 3	[102]
ipari létesítmény	1	<i>L. pneumophila</i>	[130]
szálloda	7	<i>L. pneumophila</i> 1 és 8	[131]
kórház			[132]
lakás, idősotthon, rendelő, üzem	8	<i>L. pneumophila</i> 1	[120]
szálloda	1	<i>L. pneumophila</i> 1	[133]
kórház	12	<i>L. pneumophila</i> 1	[134]
kórház	2	<i>L. pneumophila</i> 6	[135]
kórház		<i>L. bozemanii</i> 1	[136]
szálloda	5	<i>L. pneumophila</i> 1	[137]
kórház	6	<i>L. pneumophila</i> 1	[99]
kórház	5	<i>L. pneumophila</i> 6	[138]
hajó	3	<i>L. pneumophila</i> 1	[95]
kórház	2	<i>L. pneumophila</i> 1	[139]
kórház	12	<i>L. micdadei</i>	[140]
kórház	5	<i>L. pneumophila</i> 6	[125]
kórház		<i>L. pneumophila</i> 5	[141]
lakóingatlan	1	<i>L. pneumophila</i> 1	[142]
szálloda	8	<i>L. pneumophila</i> 1	[143]
lakóingatlan	2	<i>L. pneumophila</i> 1	[144]
szálloda	2, 1, 2, 1, 1	<i>L. pneumophila</i> 1 (mind)	[145]
szálloda	35	<i>L. pneumophila</i> 1	[146]
szálloda	6	<i>L. pneumophila</i> 1	[147]
idősek otthona	5, 5	<i>L. pneumophila</i> 1	[148]
kórház	22	<i>L. pneumophila</i>	[149]
(területen szerzett)	19		[40]

3.2. táblázat Legfontosabb publikált használati vízrendszerekhez köthető legionellosis megbetegedések a fertőzőforrást jelentő épület és kóroki ágens szerint.



### **3.6 Az épített vizes rendszer, különösen a hálózati víz *Legionella* csíraszámát, illetve a legionellosis kialakulásának kockázatát befolyásoló tényezők**

A legionellák elszaporodása miatti veszély értékelésekor célszerű abból a feltételezésből kiindulni, hogy minden vizes környezet magában hordozza a legionellák általi kolonizáció lehetőségét (természetes mikrobiotaként, építkezés, átalakítás, felújítás ill. havária helyzetek, mint pl. csőtörés, során stb.) abban az esetben is, ha a vízrendszer kezelt vízzel üzemel.

A legtöbb mesterséges vizes rendszer ivóvízzel táplált. Számos vizsgálat eredménye bizonyítja, hogy a *Legionella* baktériumok a közművesített vízhálózatban is elszaporodhatnak, illetve alátámasztja azt a feltevést, hogy a vezetett ivóvíz kolonizálhatja kórházak, valamint egyéb nagy épületek vízrendszerét, illetve más ivóvízzel táplált vizes rendszereket [126, 156, 157].

A vizes rendszerekben a legionellák elszaporodását számos tényező befolyásolja. A vízhálózatok szerkezetének, és a befolyásoló tényezők komplexitása miatt olykor egy adott vízrendszeren belül is komoly különbségek lehetnek a *Legionella* csíraszámában. Ezen tényezők egymással erősen összefüggnek, és jelenleg nem lehetséges rangsor, ill. fontossági sorrend felállítása. A kockázati tényezők közé sorolandók a legionellák elszaporodását befolyásoló tényezők mellett azon faktorok is, amelyek – mint pl. az aeroszol képződés – az kitettség mértékét növelik.

A vezetékes vízben a legionellák elszaporodását befolyásoló legfőbb tényezők:

- ivóvíz természetes mikrobiótája,
- rossz vízminőség és vízkezelési hibák,
- a vízrendszer nem megfelelő kialakításából eredő hibák (pl. pangó szakaszok),
- a vízrendszer, ill. a szerelvények anyaga (mikrobiális növekedés, ill. biofilm képződés, szempontjából, úgymint anyagminőség, felület minősége, rozsdásodás, korrózió),
- nem megfelelő, vagy nem elég hatékony vízkezelés, -fertőtlenítés,
- legionellák szaporodásának kedvező víz hőmérséklet,
- tápanyag minősége és mennyisége,
- élőbevonat jelenléte [158-160].

A víz eredetű *Legionella* expozíciót, és a fertőzés kialakulását befolyásoló legfőbb tényezők:

- aeroszol képződés (pl. zuhany),
- aeroszol terjedése,
- az aeroszolban jelenlevő *Legionella* törzs fertőzőképessége,
- az aeroszollal terhelt térben tartózkodó egyének fogékonysága [161].

### 3.6.1 Hőmérséklet

A különböző épített vizes környezetekben a legionellák szaporodását befolyásoló tényezők közül a víz hőmérséklete az egyik legmeghatározóbb [150, 152, 162-171]. Természetes körülmények között a *L. pneumophila* szaporodásához a 25 és 45 °C közötti hőmérséklet kedvez; az optimális hőmérsékleti tartomány 32-42 °C [172]. A legionellák 20 °C alatt nem szaporodnak, azonban hosszú ideig – akár több hónapig is – túlélnek még 5 °C-os csapvízben [156], így azok az ivóvízhálózatot is kolonizálhatják [75, 126]. A *L. pneumophila* tizedelési ideje 50 °C-on 80-124 perc, 60 °C-on 2 perc [173, 174], de izoláltak már *L. pneumophila*-t 70 °C-os melegvízből is [7]. A *L. pneumophila* szaporodási képessége 45 °C felett jelentősen csökken és jellemzően 55 °C felett már nem szaporodik.

Az 55 °C feletti használati melegvíz hőmérséklet jelentős, a legionellák növekedését korlátozó hatásáról számos tanulmány számol be [164, 166, 168, 175]. Összességében egy melegvíz hálózatban a *Legionella* kolonizáció visszaszorításához, illetve kialakulásának megelőzéséhez a rendszer egészében fenntartott állandó 55-60 °C feletti hőmérséklet kellően hatékony megoldást jelenthet [176, 177]. Ezen hőmérsékleti tartományban nem feltétlenül pusztul el valamennyi *Legionella* baktérium, azonban olyan szinten tartható a csíraszámuk, amely esetében a megbetegedés kialakulásának kockázata alacsony. A hidegvíz hálózatok esetében cél a rendszer valamennyi pontján 20 °C alatti hőmérséklet tartása. Ezen tudományos ismeretekkel összhangban az Egészségügyi Világszervezet – és ajánlása nyomán a legtöbb nemzeti szabályozás – az épületre menő használati melegvíz hőmérsékletét min. 60 °C-ra javasolja szabályozni [178].

Magyarországon nincs törvényi szabályozás a használati melegvíz (HMV) hőmérsékletére vonatkozóan. Az „Európai útmutató az utazással összefüggő legionárius betegség felügyeletéhez és megelőzéséhez” c. dokumentum egy ajánlás, amely szerint az épületre menő HMV hőmérséklete legalább 60 °C, a visszatérő cirkulációé legalább 50 °C, ill. a kijelölt mintavételi csapokon egy perces folytatás után a víz legalább 50 °C (lehetőleg 55 °C) hőmérsékletű legyen [176]. Az épületgépész szakma jelentős része a HMV mértékadó hőmérsékletének – egy hatályon kívül helyezett szakmai irányelv, a TSG-81 sorszámú tervezési segédlet szerint – a 45 °C-ot tekinti [179], az MSZ EN 806 szabványsorozat pedig bár a tárolt víz hőmérsékletére legalább 60 °C-ot ír elő, kórházakban 43 °C, oktatási intézményekben 38 °C-os hőmérsékletet javasol a csapolón [180-182].

Ismerve a legionellák hőmérséklet optimumát, felvetődik az a kérdés, hogy a legionellosis kialakulásának kockázata magasabb-e a melegebb szubtrópusi, ill. trópusi területeken. Ezidáig nem

publikáltak olyan vizsgálatot, ami melegebb égőveken a hálózati víz *Legionella* koncentrációját vizsgálta, de erre enged következtetni azon vizsgálat eredménye, amelyben a trópusi régió felszíni vizeiből magas, akár  $10^8$  TKE/l csíraszámokban mutattak ki legionellákat [80]. Európa melegebb éghajlatú déli területein a legionárius betegség incidenciája évről évre jelentősen meghaladja az európai átlagot, és az esetek jelentős része a nyári hónapokra esik [37-40]. Ennek hátterében azonban a melegebb éghajlat, az ebből adódó magasabb átlagos ivóvízhőmérséklet mellett egyéb tényezők is állhatnak. A lakosság számához képest nagyobb a turisták aránya, akik a helyben lakóknál fogékonyabbak az adott országban előforduló kórokozókra, illetve a turizmus gazdasági jelentősége miatt ezek az országok kiemelt jelentőséggel kezelik a kérdést.

A HMV hőmérsékletének szabályozása összetett, az alábbi fő területeket érintő kérdés:

- *Legionella* kolonizáció visszaszorítása,
- épületgépészeti vonatkozások (tervezés, besabályozás),
- energetikai és környezetvédelmi szempontok,
- épület jellegéből adódó sajátosságok (pl. oktatási intézmények szakaszos üzeme),
- magasabb HMV hőmérsékleten fokozódik mind a vízkő-képződés, mind a korrózió,
- forrázás-veszély (kivédhető kényszerkeverők beszerelésével a hálózati végkifolyókon).

A szakirodalom az egyes *Legionella* fajok, ill. *L. pneumophila* szerotípusok eltérő hőmérséklet-érzékenységről számol be. Egyes szerzők szerint a *L. pneumophila* 1-es szerotípusa érzékenyebb a magasabb hőmérsékletre a 2-14-es szerocsoportjához képest [165], ezzel ellentétben mások szerint a *L. pneumophila* 1 képes jobban alkalmazkodni a magasabb hőmérsékletre [164].

### 3.6.2 Biofilm

Úgy becsülik, hogy a vízhálózatban a biomassza teljes tömegének 95 %-át a vezetékek, ill. egyéb műtárgyak felületén kialakult biofilm-réteg adja és csupán 5 % található planktonikus állapotban [183, 184]. A biofilm-réteg menedéket, táplálékot és szaporodási környezetet biztosít a legionellák számára is [185-190]. Az élőbevonat kialakulásának négy fő lépése van: a (1) a planktonikus sejtek elsődleges megkötődése a hordozón, (2) a kötődés irreverzibilissé válása, (3) a biofilm érése, valamint (4) a visszaalakulás/ leválás [191]. A planktonikus sejtek elsődleges megkötődése után a hordozón a legionellák a már kialakult biofilmet kolonizálják, azaz az élőbevonat másodlagos kolonizálói [191-193]. A legionellákat tartalmazó élőbevonat érésének következő lépése a mikrotelepek növekedése.

A biofilm-mátrixban kialakuló tápanyag-, pH- és oxigén-gradiens különböző mikroorganizmusok számára kedvező szaporodási körülményeket nyújt [194, 195]. Az élőbevonatban megtelepedő és szaporodó legionellák lényegesen ellenállóbbak, mint a planktonikus állapotban lévők [196-198]. Az élőbevonatban a legionellák vagy a más élő biofilm-alkotók (pl. algák vagy néhány heterotróf baktérium) által szolgáltatott tápanyagot használják fel, vagy a megfertőzött gazdaszervezet lebomló anyagaiból nyerik tápanyagukat [199]. A legionellák a lebomló szerves anyagokat is képesek hasznosítani [158, 199, 200], amelyek mennyiségét a vízfertőtlenítés megnöveli [201].

A mai napig nyitott kérdés, hogy a legionellák túléléséhez és szaporodásához a biofilmben szükség van-e egysejtű gazdaszervezetre. Egyes szerzők szerint mind extra- mind intracelluláris szaporodás lehetséges – a környezeti körülmények függvényében – azonban a sejten belüli szaporodási út az elsődleges [199, 200, 202]. Egyes vizsgálatok azt mutatják, hogy az élőbevonathoz kötött *L. pneumophila* oligotróf vizes környezetben egysejtűeket (pl. *Hartmannella vermiformis* és *Acanthamoeba castellanii*) használ szaporodásához [203-205] és amőba hiányában csak perzisztál, vagy életképes, de nem tenyészthető (VBNC) állapotba kerül [205].

Élőbevonatok tagjaként a *L. pneumophila* túlélése nemcsak a társ-mikroorganizmusoktól függ, hanem a versenytársaktól is. Bizonyos klórozott ivóvízből izolált heterotróf baktériumok – pl. egyes *Pseudomonas* és *Aeromonas* fajok – gátolják a legionellák növekedését, az inhibíció pontos mechanizmusa azonban még nem tisztázott [206-209]. Még a gazdaszervezetben sejten belül elhelyezkedő *L. pneumophila* sejtek szaporodását is képesek egyes baktériumok – pl. *Pseudomonas aeruginosa* és *Escherichia coli* – jelentősen gátolni, ha azok a *L. pneumophila*-val ugyanazon replikációs vakuólumokban helyezkednek el [210].

A biofilm-képződés mértéke a víz számos fizikai-kémiai tulajdonságától (pl. hőmérséklet, pH, keménység, szervesanyag- és tápanyag-tartalom, fertőtlenítőszer-maradék koncentráció, nehézfémek), az áramlási viszonyoktól, valamint a vízhálózat egyes elemeinek anyagminőségétől és korróziójától, illetve higiéniés állapotától függ [158, 159, 185, 211-213].

A legionellák többféle módon kolonizálhatnak egy vízhálózatot. Egyik módja az élőbevonatról való leszakadásnak az, hogy a legionellával fertőzött, csillóval rendelkező egysejtű leúszik a biofilmről. Másik esetben a fertőzött amőbák belélegezhető méretű vezikulumokat bocsátanak ki magukból, amelyek mindegyike akár 200 *Legionella* sejtet is tartalmazhat [214].

A biofilmből a sejtek leválása két okból történhet: vagy az újonnan növekedett sejtek válnak le tápanyaghiány, illetve *quorum sensing* miatt, vagy nyíróerők hatásától sérül a biofilm [191].

Amennyiben nagyobb élőbevonat darab, vagy *Legionella* sp-t tartalmazó sejt-aggregátum válik le, akkor a víz *Legionella* koncentrációja átmenetileg megnőhet. Az ebből képződött aeroszol belégzésével a legionárius megbetegedés kialakulásának kockázata nő [215]. Mivel a biofilmben megtelepedő és szaporodó legionellák lényegesen ellenállóbbak a biocidokkal szemben [216-218], a vízkezelés biofilmben gazdag vízhálózatban kevésbé hatékony [186, 219]. Az üledék és az élőbevonat mennyiségét csökkenteni szükséges a vizes rendszerek újbóli szennyeződésének elkerülése érdekében [220].

### 3.6.3 Vízhálózatok és szerelvények anyaga

A más mikroorganizmusoktól származó szerves anyagok mellett a víz és a szerelvények is hozzájárulhatnak a legionellák szaporodásához [122, 221-223]. A rendszerben lerakódott üledék mennyisége, a víz összetétele és a vízkezelés módja is összefüggést mutat a kolonizációval [122].

A kevésbé védett vízbázisokból származó vizek jellemzően nagyobb mértékben szennyezettek legionellával [159, 221], rétegvíz eredetű mintákban ritkábban mutatható ki [224]. A nyersvíz eredete és minősége (pl. szervesanyag-tartalma) befolyásolhatja a rendszerben kialakuló élőbevonat populáció-diverzitását és metabolikus aktivitását [225]. A víz típusától (hálózati hideg- vagy melegvíz) és eredetétől függően különbözik a *Legionella* fajok eloszlása is. Talajvízből, valamint ivóvízből nagy arányban izolálnak nem-*pneumophila* *Legionella* fajokat is, míg a *L. pneumophila* a meleg vizes rendszerekhez adaptálódott [167, 226-228].

A hozzáférhető édesvízkészletek fogyása miatt a figyelem középpontjába került alternatív vízforrások (csapadékvíz, szürkevíz) használata (pl. WC-öblítésre, autómosásra) ugyancsak kockázati tényező a *Legionella* kolonizáció szempontjából [229]. A hálózat szintetikus és természetes anyagai (PVC, polibutilén csövek, gumi vagy kóc tömítés) szerves anyag forrást jelentenek [158]. Sokáig úgy tartották, hogy rézcsövek használata ilyen szempontból előnyösebb, mivel a kioldódó réz gátolja a mikroorganizmusok – köztük a legionellák – szaporodását [158, 167, 175, 201, 230]. Legújabb kutatások eredménye szerint azonban 220 napnál hosszabb idő után a hálózati víz mikrobiális összetétele már nem függ a vezetékek anyagától, tehát a réz védő hatása is csak ideiglenes [231].

A fémből készült vízhálózatok – különösen klóros vízfertőtlenítés mellett – korrodálódnak, növelve a felületet, amely kedvez a biofilm kialakulásának [158]. A korróziós termékek és a biofilm reagálhat a fertőtlenítőszerrel, csökkentve annak hatékonyságát [232], valamint a kioldódó fémek is befolyásolják a kolonizációt. Pozitív összefüggést találtak a hálózati víz vas-,

mangán-, kálium- és cink-tartalma valamint a *Legionella* csíraszám között [152, 167, 175, 233]. A vas limitációja a legionellák virulenciájának csökkenéséhez is vezethet [234].

Hálózati víz keménysége és *Legionella* csíraszám között eddigi vizsgálatok egymásnak ellentmondó összefüggéseket találtak [152, 159, 163, 221, 235, 236]. Vízlágyítók használatával ugyan csökken a vízkőképződés, azonban nő a korrózió valószínűsége, illetve a lágyítóknál a pangás és a nagy műanyag felületek miatt fennáll a legionellák elszaporodásának kockázata [237].

A heterotróf összcsíraszám az egyik első vízvizsgálati paraméterként lett a ivóvíz általános mikrobiológiai vízminőség-indikátora [238]. A heterotróf összcsíraszám emelkedett szintje nem kellően hatékony vízkezelést, másodlagos szennyezést, vagy a baktériumok vízhálózatban való elszaporodását jelezheti. A mai napig nyitott kérdés, hogy épületen belül a vízhálózat *Legionella* kolonizációjának indikátoraként, – főleg melegvíz esetén – használható-e ez a paraméter [163, 239, 240], mivel a *Legionella* kolonizáció előfeltétele az élőbevonat kialakulása a rendszerben, amely egyéb szervezetek mellett jelentős mértékben heterotróf baktériumokból áll [240-242].

#### **3.6.4 A vízrendszerekben való előfordulás műszaki és egyéb tényezői**

A legionellák elszaporodásának valószínűsége nagyobb vízrendszerek esetén nő [167, 243]. Jellemző például, hogy a lakóingatlanok esetében a családi házak – amelyekre az egyéni melegvízellátás jellemző – vízrendszerei kevésbé kolonizáltak a társasházakéhoz képest [171, 244].

Amennyiben egy vízhálózat több pontjáról izolálható *Legionella* baktérium, az eredmény arra enged következtetni, hogy a teljes hálózat kolonizált. Az egyes hálózati végkifolyók saját *L. pneumophila* niche-sel is rendelkezhetnek, így a teljes hálózatot nem feltétlenül ugyanazon törzsek kolonizálják, más esetekben egy hálózatot akár egy törzs is kolonizálhat [226, 245]. A vízrendszeren közelmúltban végrehajtott munkálatok növelik a legionárius megbetegedés kialakulásának esélyét [150]. A melegvíz tárolás ténye növeli a használati melegvíz-rendszer *Legionella* szennyezettségének kockázatát [171, 246]. Nagy épületek vízrendszerére jellemző, hogy a használati melegvizet jellemzően egy-három, egymással sorban, vagy párhuzamosan kötött használati melegvíz tartályban tárolják. Számos tanulmány vizsgálta a HMV-rendszer egyes részeinek hatását a melegvíz *Legionella* szennyezettségére, jellemzően egy-egy épületgépészeti elemet kiragadva, és általában nem a rendszer egészét nézve. Növeli a rendszerben a legionellák elszaporodásának valószínűségét, ha a HMV-tároló túlméretezett, ha a tartályon belüli áramlási viszonyok nem megfelelőek [162, 164, 221], illetve ha jelentős üledék rakódik le a tároló alján [122, 221]. Találtak összefüggést a hálózat és a tároló kora, valamint a *Legionella*

kolonizáltságuk között is [162, 164, 221]. Az elzárt csőszakaszok, használaton kívüli ágak, és nem megfelelő áramlási viszonyok növelik a legionellák elszaporodásának valószínűségét [147, 247].

### 3.6.5 Vízkezelési eljárások/Vízhálózat fertőtlenítése

Mivel a legionellák jellemzően már 60 °C-on két perc alatt elpusztulnak, a csíraszám csökkentés legkézenfekvőbb módja a hősokk fertőtlenítés, hiszen az rövid távon visszaszoríthatja a HMV-rendszerekben a *Legionella* csíraszámot [100, 128, 248-250]. Tartós csíraszám csökkenés csak úgy érhető el, ha a HMV-rendszer minden végkifolyóján legalább 30 percig folytatják a 60 °C feletti vizet, ami a gyakorlatban igazán nehezen valósítható meg, és energetikai szempontokat figyelembe véve is kifogásolható [248, 251]. További nehézséget jelent, hogy amennyiben egy vízvezeték már kolonizált legionellával, úgy ugyanazon klón hosszú ideig kimutatható az adott hálózatból a melegvíz hőmérsékletének szélsőséges változása ellenére is, mivel a vízvezetékben kialakult élőbevonat réteg védelmet biztosít a legionellák számára [138, 141]. A hősokk-fertőtlenítés a fentiek miatt elsősorban nagy hálózatok esetén csak rövid távú megoldást jelent, a vízvezeték végleges *Legionella* mentesítésére alkalmatlan módszer [250, 252].

A legionellák visszaszorítása érdekében gyakran használnak kiegészítő vízkezelést többek között szabad klórral, réz- ill. ezüst-ionokkal, klór-dioxiddal, monoklór-aminnal. A hálózati melegvíz *Legionella* koncentrációját 0,4 mg/l-nél magasabb réz- és 0,04 mg/l-nél magasabb ezüst-ion koncentráció már jelentősen csökkentheti [253].

Már 0,4 mg/l szabad aktív klór képes 15 perc alatt a planktonikus állapotú legionellákat inaktíválni [187], azonban a biofilmben megbújó legionellák lényegesen ellenállóbbak a klórral szemben. A legionellák kevésbé érzékenyek a klórra, mint az *E. coli* és a többi coliform baktérium. A *L. pneumophila* csíraszám kontroll alatt tartása érdekében 2-6 mg/l kötött klór-koncentráció folyamatos fenntartása szükséges, amely azonban magasabb a hálózati vízben elfogadható értéknél [254-257]. Sokk-túlklorozást (20-50 mg/l koncentrációban) a rendszer teljes tisztítása és fertőtlenítése esetén lehet alkalmazni [254, 258]. Klór alkalmazása esetén mérlegelni kell a fertőtlenítés hosszú távú hatékonyságát, a fertőtlenítőszer korrozív tulajdonságát, illetve a klórozási melléktermékek, valamint a klór toxikus hatását.

A klór-dioxid is alkalmazható a használati melegvíz mind sokk, mind folyamatos fertőtlenítésére, előbbi esetén 50-80 mg/l klór-dioxid kezeléssel hatékonyan eliminálhatja a legionellákat [259]. Hatékonyan csökkenthető már 0,5-0,7 mg/l klór-dioxid végkoncentrációval mind az egyes minták *Legionella* csíraszám, mind a pozitív minták aránya [260]. A klór-dioxidra is, – mind az összes

oxidatív fertőtlenítőszerre – igaz, hogy erősen lecsökkenhet a koncentrációja olyan helyeken, ahol megnő a hálózati víz tartózkodási ideje (pl. pangó vízszakaszok), a hálózat egyes részein előforduló pangás pedig, – különösen a nem megfelelően beszabályozott rendszerek esetén – igen gyakori jelenség. Ellentétes hatást vált ki és növelheti a megbetegedés kockázatát, hogy klór-dioxid alkalmazása mellett a *L. pneumophila* dominanciája megnőhet [252].

Alternatív megoldást jelenthet a HMV monoklór-aminnal történő kezelése [249]. Előnye, hogy stabilabb, mint a szabad aktív klór, és nem képez klórozási melléktermékeket, azonban kevésbé hatékonyan fertőtlenít, és magasabb hőmérsékleten, ill. a mikrobiális nitrifikáció hatására könnyen bomlik [261]. Hazánkban jelenleg a monoklór-amin nem engedélyezett ivóvíz-fertőtlenítőszer.

Az UV-besugárzással történő vízfertőtlenítés komoly előnye, hogy vegyszerrel nem terhelik a hálózati vizet, így hálózati hideg- és melegvíz fertőtlenítésére egyaránt alkalmazható még a szigorú vízhygiénés szabályokkal rendelkező országokban is (pl. Németország). Hátránya, hogy az UV-berendezés utáni szakasz védtelen marad, így a mikroorganizmusok a vízhálózatban elszaporodhatnak. Emiatt egyre gyakrabban telepítik a végkifolyó (pl. zuhany) közelébe [254]. A legionellák elszaporodásának megakadályozására az UV fertőtlenítést önmagában ritkán, jellemzően inkább egyéb fertőtlenítési eljárásokkal együtt alkalmazzák [262].

A különböző fertőtlenítési eljárások, pl. a vegyszeres és a hőfertőtlenítés alkalmazása esetén sem szabad figyelmen kívül hagyni a tényt, hogy ha a rendszerben pangó szakaszok, vak ágak vannak, vagy ha a cirkuláció nem megfelelően beszabályozott (pl. cirkulációs szivattyú alulméretezett), akkor a vegyszerrel kezelt, vagy magas hőmérsékletű víz a teljes hálózatba nem jut el, és az ott megbújó szervezetek visszafertőzhetik a frissen fertőtlenített hálózatot, komolyan csökkentve ezáltal a fertőtlenítés hosszútávú hatékonyságát és hamis biztonságérzetet adva tovább növeli a közegészségügyi kockázatot [254].

### **3.6.6 Aeroszol-képződés és -eloszlás**

Aeroszol a folyadék felszínét megtörő mechanikai behatásra képződhet pl. permetezéskor, levegő vízbe buborékolatásával, vagy víz kemény felszínnek ütközésével. Legionellákat tartalmazó aeroszokok az épített vizes környezetek teljes spektrumából kimutathatók, így használati vízrendszerek, klímaberendezések, hűtőtornyok, pezsgő- és élményfürdők, szökőkutak, permetezők, kerti locsolók, nagynyomású vizes tisztítók, tűzoltásra alkalmas sprinkler-rendszerek, párástítók, fogászati székek és lélegeztető készülékek is lehetnek a terjesztő közegek [127].



Használati hideg- és melegvíz rendszerek esetén a zuhanyzóval – különösen a víz- és energiatakarékosság miatt elterjedt, erős porlasztással és nagy nyomással működő zuhanyrózsa esetén –, mint expozíciós forrással komolyan számolni kell. Hálózati víz, mint fertőzőforrás esetén a zuhanyzók mellett vízcsapokkal, nem steril ivóvízzel töltött párasítók alkalmazásával, fogászati berendezésekkel, de még WC-öblítéssel összefüggésben is írtak már le megbetegedéseket [229].

A zuhanyfejek jelentősége abban áll, hogy azok képesek többek között akkora átmérőjű, aeroszolt előállítani, amely belélegezhető méretű [153, 263]. Beltérben a víztakarékos zuhanyófejek alkalmazása fokozza a legionárius megbetegedés kialakulásának kockázatát. A zuhanyfejek és vízcsapok kicserélése nem szükségszerűen csökkenti pl. a nosocomiális legionárius megbetegedés kialakulásának kockázatát [250, 264].

### **3.7 Legionellák előfordulása és közegészségügyi jelentősége medencés fürdőkben**

A hűtőtornyok mellett, a legnagyobb legionellosis járványok medencés fürdőkhöz, köztük is elsősorban pezsgőmedencékhez köthetők [111, 114, 265]. A wellness turizmus térhódításával korábban nem tapasztalt népszerűségnek örvendnek az élmény- és pezsgőmedencék szerte a világon, így Magyarországon is. A járványügyi adatok is alátámasztják, hogy az iparág fejlődésével a közegészségügy nem tud lépést tartani. Nem megfelelő üzemeltetés esetén a medencés fürdőkben, főleg a levegőztetett, 30 °C-nál magasabb vizű medencékben, minden feltétel biztosított a legionellák elszaporodásához, úgymint élőbevonat kialakulására alkalmas felületek, pangás, hőmérséklet, tápanyag stb. Ugyanakkor a medencés fürdő eredetű legionárius megbetegedés kialakulásának kockázata alacsony, ha a medencét megfelelően üzemeltetik, illetve fertőtlenítik [237, 266-268]. Több kiállított pezsgőmedencékhez köthető járványról számolt be az irodalom [86, 111, 114, 265, 266, 268, 269], a kiállítási medencékre ugyanis jellemző, hogy – mivel nem fürdenek bennük – fertőtlenítés nélkül, vagy nem megfelelő fertőtlenítéssel üzemelnek. Az elmúlt időben a gyakorlatban üzemelő pezsgőfürdők, vagy más levegőztetett medencék esetén viszont kevés volt a jelentett esetek száma [37, 38].

Nincs pontos adat a medencés fürdőkhöz köthető legionárius megbetegedések számáról. Az ECDC ugyan regisztrálja az európai utazással összefüggő eseteket, de nem csoportosítja őket a kockázati közeg típusa alapján (hálózati víz, hűtőtorny [118], medencés fürdő stb.) [41, 57]. A wellness turizmus térhódításával egyre több szálláshelyen helyeznek különböző pezsgő- és élménymedencéket üzembe. Feltételezhetően ezek jelentik a hálózati víz mellett, az utazás alatt az egyik legnagyobb kockázatot [21, 115, 270-274]. Figyelemre méltó csoportját képezi a

medencés fürdő eredetű utazással összefüggő megbetegedéseknek az utasszállító óceánjáró hajók pezsgő- és élménymedencéi [96, 97, 275, 276].

Az utazással összefüggő esetek mellett a területen szerzett megbetegedések egy része is feltételezhetően a levegőztetett pezsgő- és élménymedencékre vezethető vissza [87, 112, 113, 117, 277-281]. Úszómedencékből is izoláltak már legionellákat, de még egyetlen esetben sem hozták összefüggésbe a baktériumot úszómedence eredetű megbetegedéssel [209]. Ritkán ugyan, de szülészeti medencék is összefüggésbe hozhatók megbetegedéssel [282, 283].

A medencés fürdők, a használati melegvíz-rendszerrel ellentétben, gyakran a *L. pneumophila* mellett a nemzetség egyéb fajaival is kolonizáltak. Mivel a diagnosztikai tesztek döntő többsége a *L. pneumophila* kimutatására alkalmas csak, így sok esetben a megbetegedés nem kerül azonosításra, és a kockázati közeg feltárása sem történik meg. Mindezek ellenére leírtak pezsgőmedence eredetű legionellosis – főleg Pontiac-láz – járványokat, amelyben a kóroki ágens nem *L. pneumophila*, hanem a nemzetség egyéb faja, jellemzően *L. micdadei*, volt [21, 271-273]. Több járványban a pezsgőmedencében elszaporodó legionellák a legionellosis enyhébb formáit, Pontiac- vagy Lochgoilhead-lázat, okozták (3.3 táblázat).

Egy vizsgálat során áttekintették a legjelentősebb, Japánban előforduló, medencés fürdőkhez köthető legionellosis járványokat, és megállapították, hogy a megbetegedéssel összefüggésbe hozható medencék esetében a *Legionella* koncentráció igen tág határok között változott ( $9 \cdot 10^2$ - $1,4 \cdot 10^7$  TKE/l), azaz a csíraszám nincs közvetlen összefüggésben a megbetegedés kialakulásának valószínűségével [284]. Az Armstrong-féle kockázatbecslési modellel számolt kockázat is azt mutatja, hogy alacsony szintű *Legionella* expozíciónak is jelentős közegészségügyi következményei lehetnek [285]. A téma fontosságát mutatja, hogy az Egészségügyi Világszervezet Egészségügyi Világszervezet (WHO) kidolgozott egy útmutatót a biztonságos rekreációs vízi környezetekre [286].

A tápvíz bakteriális szennyezettsége, pl. magas heterotróf összcsíraszám, illetve magas szervesanyag-tartalom fokozza a medencés fürdőkben a biofilm-képződést, így a legionellák elszaporodásának kockázatát [237]. Magyarországon a medencés fürdők gyakran magas ásványianyag-tartalmú vízzel, pl. termálvízzel tápláltak. A műtárgyakra lerakódó vízkőrétegen, ásványi anyagokon fokozott az élőbevonat kialakulásának valószínűsége. Alacsony csíraszámúban a termálvizek is tartalmazhatnak legionellákat [289]. Kockázatot jelent, ha a medencék töltése nem

rendszeres, a tápvíz vezetésére szolgáló tömlőben a pangás miatt a legionellák elszaporodásának esélye megnő. Veszélyes, ha a pangó vizet tartalmazó tömlőt meleg helyen tárolják [237].

Ország, év	Betegség típusa	Rezervoár	Épület jellege	Betegek száma	Kóroki ágens	Hivatkozás
USA, 1981	Pont. l.	pezsgóm.	wellness kp.	34	Lp 6	[113]
USA, 1982	Pont. l.	pezsgóm.	sportklub	14	Lp 6	[112]
Skócia, 1989	Lochg. láz	pezsgóm.	szálloda	170	L. micd.	[21]
EK 1994	Leg. bet.	pezsgóm.	hajó	50	Lp 1	[96]
Svédó., 1999	Pont. l.	pezsgóm.	szálloda	19	L. micd.	[273]
Dánia, 1999	Pont. l.	pezsgóm.	nyaraló	11	Lp 1	[117]
Japán, 1996	Leg. bet.	japán fürdő	japán fürdő	3	Lp 1	[278]
USA, 1996	Leg. bet.	pezsgóm.	üzlet	23	Lp 1	[114]
EK, 2000	Leg. bet.	pezsgóm.	üzlethely.	3	Lp 1	[266]
Japán, 2000	Leg. bet.	japán fürdő	japán fürdő	34	Lp 1	[287]
USA, 1998	Pont. l.	pezsgó- és úszóm.	szálloda	111	L. micd.	[272]
USA, 1999	Pont. l. (22) Leg. bet. (2)	pezsgóm.	szálloda	24	Lp 6	[115]
Hollandia, 1999	Leg. bet.	pezsgóm.	kiállítás	188	Lp	[111]
Belgium, 1999	Leg. bet.	pezsgóm.	kiállítás	93	Lp 1	[265]
USA, 2002	Pont. l.	pezsgóm.	szálloda	31	L. micd.	[271]
Japán, 2002	Pont. l. Leg. bet.	Japán fürdő	japán fürdő	195	Lp 1	[288]
Franciao. 2006	Leg. bet.	pezsgóm.	kiállítás	12	Lp 1	[86]
EK, 2006	Pont. l. (116) Leg. bet. (2)	pezsgóm.	wellness kp.	118	Lp 1	[281]
Japán, 2003	Leg. bet.	pezsgóm.	hajó	2	Lp 5	[97]
Új Zéland, 2003	Leg. bet.	pezsgóm.	üzlethely.	6	Lp 1	[268]
Németo., 2003	Leg. bet.	pezsgóm.	hajó	8	Lp 1	[276]
USA, 2003	Pont. l. (101) Leg. bet. (6)	pezsgóm.	szálloda	107	Lp 1	[274]
EK, 2008	Pont. l.	pezsgóm.	wellness kp.	6	Lp 1	[280]
Franciao., 2010	Leg. bet.	pezsgóm.	fürdő	3	Lp 1	[87]
Hollandia, 2009	Pont. l. (3) Leg. bet. (1)	pezsgóm.	lakóingatlan	4	Lp 1	[277]
EK, 2012	Leg. bet.	pezsgóm.	üzlet	21	Lp 1	[269]
Spanyolo., 2012	Leg. bet.	pezsgóm.	szálloda	18	Lp	[270]

3.3 táblázat Legjelentősebb medencés fürdő eredetű legionellosis járványok

(Pont. l. = Pontiac-láz; Leg. bet. = Legionárius betegség; Lochg. láz = Lochgoilhead láz; pezsgóm. = pezsgómedence; üzlethely = üzlethelyiség; EK = Egyesült Királyság; o = ország; L micd. = *L. micdadei*; Lp = *Legionella pneumophila*, kp. = központ)

A tápvíz mellett a fürdőzőkről is kerülhetnek a rendszerbe tápanyagok. Levegőztetett medencékben, a kialakuló turbulencia miatt, fokozott a fürdőzőkről a tápanyagok – pl. elhalt hámsejtek, kozmetikumok, testápoló szerek – lemosódásának a valószínűsége. Mivel a pezsgó- és élménymedencékben az egyes fürdőzők között vízcsera nem történik, a tápanyagok idővel – nem megfelelő vízforgatás, vagy a medence túlterhelése esetén – felhalmozódhatnak semlegesítve ezáltal a biocidokat és támogatva a mikrobiális növekedést. A fürdőzés előtti zuhanyzás elmulasztásával pedig bélsár és vizelet kerülhet a medencébe, amik tovább fokozzák a rendszer tápanyag-terhelését [290]. A medence térfogata mellett a terheltséget is figyelembe

kell venni a biocid mennyiség számításakor, mivel az alacsony fertőtlenítőszer maradék növeli a kolonizáció és a mikroorganizmusok, köztük a legionellák, elszaporodásának kockázatát [237].

Az alacsonyabb víz hőmérséklet, az aeroszol képződés hiánya és a kisebb fajlagos terhelés miatt úszó-, ill. szauna merülő-medencék használatakor alacsonyabb a megbetegedés kockázata. Az élmény- és pezsgőmedencék esetében növeli a kockázatot a tény, hogy a medencevíz hőmérséklete egybeesik a legionellák hőmérséklet optimumával (30-42 °C) [286].

Mivel a *Legionella* szennyezettség és az aeroszol képződési potenciál miatt a levegőztetett melegvízes medencék fokozott kockázatnak kitett vizes közegek, különösen nagy a megfelelő kialakítás, beszerelés, üzemeltetés, ellenőrzés jelentősége. A pezsgőmedencék esetében az adott térfogatra eső fürdőzők száma is igen magas. A levegőztető rendszer miatt pedig kimagaslóan nagy a vízzel érintkező felület. További nehézség, hogy a csőhálózat egésze, vagy egy része nehezen elérhető és így nehézkes, vagy egyáltalán nem megoldható a tisztítása, fertőtlenítése. A pangás, ill. a nagy műanyag felületek miatt a csövekben, ill. a rendszer egészében fokozott a biofilm képződés esélye. Külön probléma, hogy a légbefúvó rendszerbe fertőtlenítőszer gyakran nem jut el, a környezet azonban párás, így élőbevonat keletkezhet rajta. A pezsgőmedencék egyes gépészeti elemei, mint a kiegyenlítő tartály, vagy a szűrőrendszer, egyáltalán nem, vagy csak nehezen hozzáférhetőek, így tisztításuk, fertőtlenítésük különösen nehéz, vagy egyáltalán nem kivitelezhető [237, 286].

További kockázatot jelent, hogy a medencék túlterheltsége a pH nehéz szabályozhatóságát és az aktív biocid-koncentráció csökkenését okozhatja. Nehezebb kontroll alatt tartani az olyan rendszert, amely esetében szakaszos, vagy manuális a fertőtlenítőszer-adagolás. Kockázatot jelent továbbá, hogy gyakran a személyzet nincs tisztában a vízbiztonsági előírásokkal. Különösen probléma ez az olyan kis egységekben, ahol egyetlen pezsgőmedence üzemel. Gyakori, hogy a nem megfelelő kontroll-mérések, ill. nem megfelelő értékek esetén nem tudják az üzemeltetők, hogy mi a további teendő. Privát használatú medencék esetében a tulajdonosok gyakran alapvető vízbiztonsági ismeretekkel sem rendelkeznek. További probléma, hogy a kültéri medencék még magasabb szervesanyag-terhelésnek lehetnek kitéve; illetve a fokozott légmozgások gyorsabban kihajthatják a vízből a biocidokat [237, 286]. Fokozza a megbetegedés kialakulásának kockázatát, hogy a medencékben az aeroszol közvetlen a fürdőzők arcánál, a légutak közelében képződik, illetve hogy a magas páratartalom a legionellák túlélésének valószínűségét növeli [291, 292].

### 3.8 Legionellák környezeti előfordulásának jogszabályi háttere

Egyes országok szabályozási gyakorlatában a különböző vizes közegek *Legionella* határértékei között jelentős eltérések mutatkoznak. Jellemző továbbá, hogy ezen határértékek nem kockázatbecslés, hanem tapasztalati tények alapján kerültek megállapításra. Míg pl. az Egyesült Királyságban és Hollandiában 100 TKE/l, addig Németországban és Franciaországban 1000 TKE/l a határérték a hálózati víz *Legionella* csíraszámára (3.4. táblázat).

Ország	Határérték [TKE/l]	Megjegyzés	Hivatkozás
Franciaország	1000	Általános határérték	[293]
	100	Határérték nosocomiális legionárius megbetegedés megelőzésére	
	50	Határérték magas kockázati csoportok esetén nosocomiális legionárius megbetegedés megelőzésére	
Németország	1000	általános határérték	[294]
Hollandia	100	irányelvben rögzített határérték	[295]
Egyesült Királyság	100	irányelvben rögzített határérték	[296]
Amerikai Egyesült Államok	10000		[297]

3.4. táblázat Egészségügyi-határértékek hálózati víz *Legionella* csíraszámára (forrás: [237] nyomán)

Magyarországon, számos más országgal ellentétben, egészen a közelmúltig nem volt sem közegészségügyi, sem munkavédelmi kötelező érvényű szabályozás és határérték legionellára semmilyen vizes közeg esetére sem. A 201/2001. (X. 25.) Kormányrendelet az ivóvíz minőségi követelményeiről és az ellenőrzés rendjéről rögzíti ugyan, hogy az ivóvíz emberi egészséget veszélyeztető anyagot vagy szervezetet nem tartalmazhat, azonban az ivóvíz, vagy a használati melegvíz *Legionella* szennyezettségének kérdését külön nem tárgyalja, és a *Legionella* csíraszámára vonatkozó határértéket, vagy figyelmeztetési szintet sem határoz meg [257]. A munkavédelemről szóló 1993. évi XCIII. törvény 33. §. 1. bekezdése szerint pedig a munkahelységben a munkavállalók létszámát, a tevékenység jellegét és a veszélyforrásokat figyelembe véve elegendő mennyiségű és minőségű, egészséget nem károsító levegőt és klímát kell biztosítani, azonban a *Legionella* határértéket ez a jogszabály nem rögzít [298]. A 20/2012. (VIII. 31.) EMMI rendelet előírása szerint, hivatkozva „Az oktatási intézmények tervezési előírásai (1. rész: Óvodák) c. Magyar Szabványra közoktatási intézményekben „a gyermekek által használt vizes berendezések melegvíz-ellátását központilag kevert vízzel kell megoldani” [299-301]. Ez az előírás egyértelműen ellentmond a használati melegvíz eredetű *Legionella* kockázat csökkentése érdekében előírt hőmérséklet-beállítási törekvéseknek.

Folyamatban van a hazai joganyagba ültetése, de hatályba még nem lépett az Európa Parlament és a Tanács 2000/54/EK, a munkájuk során biológiai anyagokkal kapcsolatos

kockázatoknak kitett munkavállalók védelméről szóló irányelvnek [302]. Átdolgozás alatt van továbbá a közfürdők létesítésének és üzemeltetésének közegészségügyi feltételeiről szóló 37/1996. (X. 18.) sz. népjóléti miniszteri rendelet is, amely a jövőben várhatóan tartalmazni fogja a 30 °C-nál melegebb, intenzíven levegőztetett medencék és szűrőik negyedévenkénti *Legionella* vizsgálatát [303].

Az Európai Útmutató volt ezidáig az egyetlen Magyarországra is vonatkoztatható dokumentum, amely különböző vizes közegekre *Legionella* határértéket határozott meg, használati vízrendszerek esetében pl. 1000 TKE/l felett írt elő beavatkozási kötelezettséget, amennyiben ez az érték a vízhálózat több pontján észlelhető volt [176]. Mivel az Európai Útmutató nem jogszabály, az eddigi hatósági gyakorlatban járványügyi intézkedés során az eljáró népegészségügyi hatóság rendkívül nehezen, területenként és esetenként eltérő jogcímeken tudott eljárni. Többek között ezért is jelent komoly előrelépést a témában, hogy 2015. november 6-án – részben jelen kutatás eredményeire alapozva – megjelent és 2016. február 4-én hatályba is lép „A *Legionella* által okozott fertőzési kockázatot jelentő közegekre, illetve létesítményekre vonatkozó közegészségügyi előírásokról” szóló 49/2015. (XI. 6.) sz. EMMI rendelet (továbbiakban: rendelet) [304]. A rendelet kötelező kockázatfelmérést ír elő a legionárius betegséggel kapcsolatban a fokozott veszélyt jelentő épületekben [304]. A rendelet rögzíti a különböző kockázati közegek, – így a használati melegvíz-rendszerek és a medencés fürdők esetében is – a figyelmeztető, a beavatkozási és az azonnali beavatkozási szinteket továbbá a szükséges intézkedéseket. A rendelet külön kezeli és fokozott kockázatként határozza meg a fekvőbeteg ellátást biztosító egészségügyi szolgáltató érzékeny osztályait ellátó használati melegvíz-rendszereket (Melléklet, 12.3 táblázat) és meghatározza a hatósági jogköröket is [304].

### **3.9 *Legionella* azonosítási és tipizálási módszerek**

Mind az emberi, mind a környezeti legionellák azonosításának legelfogadottabb módja a tenyésztés alapú azonosítás. A módszer létjogosultságát fokozza, hogy a kórokozó kitenyésztése a törzs szintű azonosításhoz – és így járványügyi kivizsgálás során a kockázati közeg meghatározásához – a legtöbb jelenleg alkalmazott módszerrel elengedhetetlen.

A molekuláris biológiai módszerek térhódítása ellenére a rutin diagnosztikában a legionellák faji, illetve faj alatti azonosítására, valamint az azonosítás megerősítésére a különböző felületi antigén azonosítás alapú technikák a legelterjedtebbek. Kereskedelmi forgalomban számos szerotipizálásra alkalmas rendszer kapható, amelyek segítségével faji vagy szerotípus szinten

azonosíthatók a legionellák különböző fajai. Monoklonális antitest azonosítással (MAb-tipizálás) *L. pneumophila* faj egyes szerotípusai alatti csoportok is pontosan meghatározhatók, ami már járványügyi érintettség esetén a kóroki ágens és a környezeti rezervoár azonosítására is alkalmassá teheti a módszert [51]. Ugyanakkor a legionellák molekuláris alapú detektálására már rendelkezésre áll egy előszabvány [305].

A járványügyi szempontból összefüggő környezeti és klinikai izolátumok összehasonlításának legelfogadottabb módja a fentiek mellett a genotipizálás, mint pl. a ribotipizálás, a teljes genom pulzáló mezejű gélelektroforézis (PFGE) [306], az amplifikált fragment hossz polimorfizmus (AFLP) [307, 308] vagy a különböző polimeráz lánreakció alapú módszerek, úgymint a repetitív extragenikus palindrom PCR (REP-PCR) [309] és az amplifikált rDNS restrikciós analízis (ARDRA) [310]. Ma már a több lókuszos szekvencia alapú tipizálás (MLST) a legszélesebb körben használt genotipizálási módszer járványügyi kivizsgálásoknál [311].

Egyes gének, mint pl. a háztartási 16s rRNS gén, és a virulencia *mip* gén, szekvencia-analízise a legionellák taxonómiai vizsgálatára használatos módszer [30, 48]. A teljes sejt mátrix asszisztált lézer deszorpció/ionizáció tömegspektrometriás analízis (MALDI-TOF MS) alkalmas módszer, a szekvenálás alapú módszerek alternatívájaként, legionellák azonosítására [312, 313].

## 4 Célkitűzések

A jelen munka célja az volt, hogy pontosabb képet kapjunk a *Legionella* baktérium hazai, környezeti előfordulásáról, és ennek közegészségügyi kockázatáról, feltárva a kockázatkezelés lehetőségeit és megalapozva a hazai szabályozást. Ennek megvalósításához az alábbi részletes célokat tűztük ki:

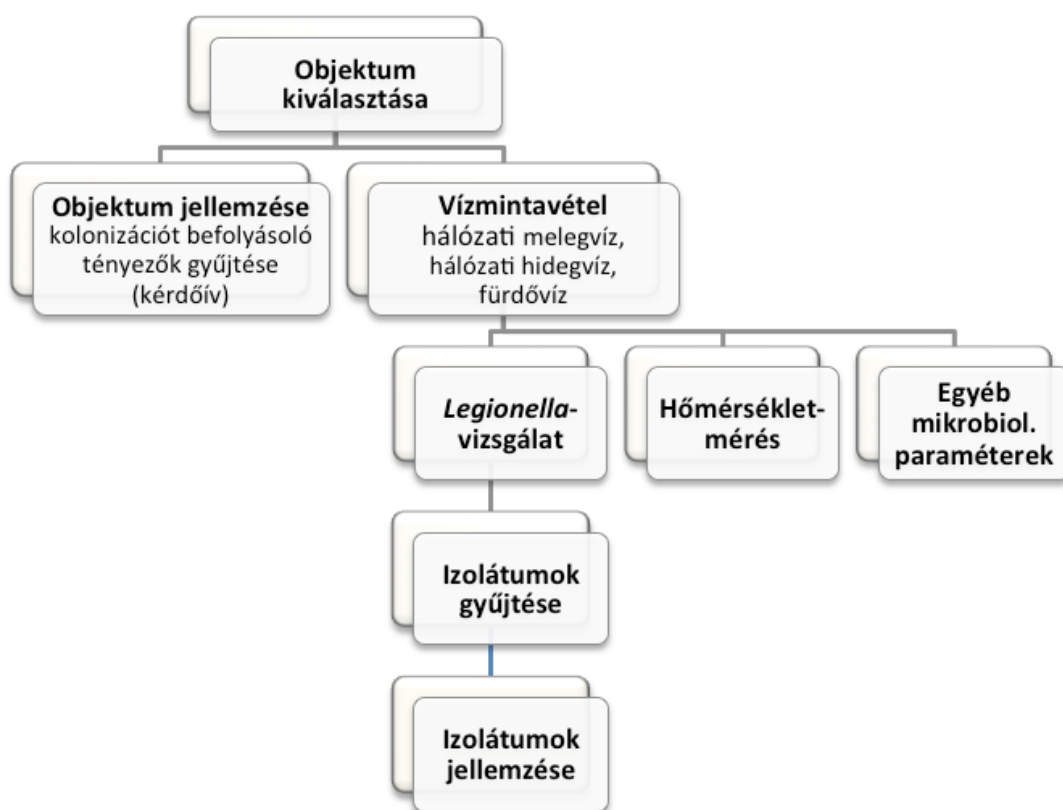
- Mintavétel nagy épületek használati hideg- és melegvíz rendszeréből, valamint medencés fürdőkből, a lehető legnagyobb változatosságot megvalósítva a vizsgálati objektumok kiválasztása során, mind földrajzilag, mint épülettípus szerint.
- Az egyes épülettípusok használati vízrendszerei *Legionella* kolonizáltságának felmérése.
- Az épületek használati vízrendszerét és a fürdőket kolonizáló *Legionella* törzsek jellemzése faji és faj alatti szinten.
- Az egyes törzsek azonosítását, valamint gyors és hatékony elkülönítését lehetővé tevő módszerek beállítása és epidemiológiai célokra való alkalmasságuk tesztelése.
- A *Legionella* kolonizációt befolyásoló tényezők elemzése a vízminták *Legionella* csíraszámának statisztikai elemzésével az alábbi tényezők függvényében:
  - ivóvíz eredete,
  - vízhőmérséklet,
  - műszaki paraméterek (pl. használati melegvíz készítésének módja és tárolása, HMV-rendszeren belüli hőmérsékletesés),
  - biotikus tényezők (heterotróf összcsíraszám, *Pseudomonas aeruginosa*)
  - épület típusa.
- Megbetegedéssel összefüggésbe hozott épületek és fürdők kockázatértékelésének elvégzése.
- Kockázatcsökkentés érdekében elvégzett beavatkozás hatékonyságának ellenőrzése.
- A helyszíni vizsgálatok és a kockázatértékelés alapján, használati melegvíz-rendszerek kockázatfelméréséhez használható kérdőív összeállítása.



## 5 Anyagok és módszerek

### 5.1 A vizsgálatok áttekintése

A munka a következő főbb lépésekből állt: (1) a vízhálózatok és fürdők kiválasztása, jellemzése, (2) a mintavételi pontok meghatározása, (3) a mintavétel, (4) a mintafeldolgozás, (5) a tenyésztés és a *Legionella* izolátumok vizsgálata, jellemzése és szükség szerint összehasonlítása, (6) a rendszerekre jellemző adatok és a vízvizsgálati eredmények rögzítése egy adatbázisban, illetve a statisztikai elemzések elvégzése, A feldolgozás folyamatát az 5.1 ábra foglalja össze.



5.1 ábra A dolgozat során végzett vizsgálatok folyamatábrája. A vizsgálatok a vízmintavétel mellett kiterjedtek a vizsgálati objektumok részletes kérdőíves jellemzésére, a *Legionella* előfordulást befolyásoló tényezők vizsgálatára, a *Legionella* tenyésztésre, a pozitív minták esetén az izolátumok azonosítására és faj alatti szintű jellemzésére (mikrobiol. = mikrobiológiai)

### 5.2 Vízhálózatok és fürdők kiválasztása, jellemzése és mintavételi pontok kiválasztása

#### 5.2.1 A vizsgált vízhálózatok és medencés fürdők kiválasztása

##### 5.2.1.1 Vízhálózatok kiválasztása

A vizsgált épülettípusok kiválasztásánál törekedtünk a legszélesebb változatosságra. Így mintáztunk többek között egészségügyi és oktatás intézményeket, szállodákat, irodaházakat, üzemeket, lakóingatlanokat. Megfelelő számú sportlétesítmény, köztük uszodák és fürdők

használati vízrendszerének felmérésére nem volt lehetőségünk. Jelen munkában jellemzett vízhálózatokat a) vagy kutatási célból, b) vagy járványügyi kivizsgálásokban való érintettségük miatt vizsgáltuk, c) egyes esetekben a mintavételezés és a vízvizsgálat megrendelésre történt. A kutatási célból mintázott vízhálózatok kiválasztásánál törekedtünk a lehető legszélesebb földrajzi változatosságra. Laboratóriumunk elhelyezkedéséből adódóan a legtöbb mintát a Közép-Magyarországi (1684), legkevesebbet a Dél-Alföldi Régióból (37) vettük. Dél-Dunántúlról egyetlen mintavételre sem került sor.

A 2006. január és 2013. június közötti időszakban összesen 238 épület hideg-és/vagy melegvíz-hálózatból nyert 2937 víz- és 47 törletmintát vizsgáltunk *Legionella* jelenlétére. Az elfogadható legkisebb mintaszámot a hálózat mérete alapján határoztuk meg.

Kizártuk azon vízhálózatokat és az azokból származó mintákat, amelyek esetében:

- mintaszám nem reprezentálja a HMV-rendszert megfelelően (63 hálózat, 137 vízminta),
- a vízhálózatból használati hideg- vagy melegvíz minta nem áll rendelkezésre, csak technológiai vízminta került vételre (1 hálózat, 12 vízminta),
- a minták nem reprezentálják a hálózat normál-üzemét külső ok miatt, pl. egy szezonálisan üzemelő szálláshely esetén a mintavétel közvetlenül a feltöltés után történt (1 hálózat, 11 hálózati vízminta, 2 törletminta),
- az épület vízfogyasztási szokások és/vagy az esetleges expozíció jellege miatt az általunk felállított kategóriákba nem sorolható (2 fürdő, 8 vízminta).

Kizártuk továbbá azon mintákat, amelyek esetében:

- egyetlen mintavételi pontról több alkalommal történt mintavétel (55 vízminta), ilyen esetben az első mintavételkor vett minta képezi részét az elemzésnek,
- közvetlenül az adott vízhálózat fertőtlenítése után történt a mintavétel (116 vízminta),
- végponti szűrővel ellátott végkifolyókból történt a mintavétel, mivel ezen mintákból nem lehetett a hálózati víz *Legionella* szennyezettségére következtetni (80 vízminta).

A fentiek alapján a végső elemzésbe 171 épület vízhálózatából vett 2563 minta vizsgálati eredményei kerültek, amely közül 2518 különböző használati vízminta és 45 törletminta volt. Előbbiek közül 2455 minta hálózati víz, 63 különböző technológiákból származó hálózati vízminta volt. A későbbiekben részletesebben tárgyalt 1809 HMV minta közül 1717-et hálózati végkifolyókról, 70-et HMV-tárolókból vettünk, míg 22 HMV eredetű technológiai minta volt. Bevontuk az elemzésbe továbbá két, az osztályunk irányítása alatt végzett tudományos dolgozat

vizsgálati eredményeit is (fenti mintaszámokba beleszámolva): 13 székesfehérvári középiskola 59 vízvizsgálati eredményét [314], 10 szolnoki középiskola 30 vízvizsgálati eredményét [154].

#### 5.2.1.2 A medencés fürdők kiválasztása

A 2006. január és 2013. június között 29 létesítményben, amely közül a legtöbb a szálloda (13; 44,9 %) és lakóingatlan (6; 20,7 %) volt. 46 különböző vízviszaforgatásos medencéből összesen 149 víz- és 9 törletmintát vizsgáltunk *Legionella spp.* jelenlétére. Valamennyi medence fertőtlenítésére klór alapú fertőtlenítést (hipokloritot) használtak. Az elemzésből 3 vízmintát kizártunk, mivel mindhárom esetben a medence vizének fertőtlenítése közvetlenül a mintavétel előtt történt. A vizsgálatba vont 146 medencés fürdővízminta közül 103-at a medencetérből vettünk, továbbá bevontunk az elemzésbe 23 szűrt víz, 5 nyers víz, 5 puffer-tartályból származó, 3 termál kútból, 1 lábmosó medencéből és 6 különböző élményelemekből vett vízmintát.

#### 5.2.2 Mintavételi pontok kiválasztása a használati vízrendszerben

A mintavételi pontok kiválasztása előtt – lehetőség szerint az épületgépészeti rajz alapján – megismertük az adott épület vagy épületek melegvíz előállítását, ill. vízrendszerét. A mintavételi helyek kiválasztásánál törekedtünk arra, hogy azok az egész rendszert jellemezzék. A vízhalózat mintázása az Európai Útmutató az Utazással Összefüggő Legionárius Betegség Felügyeletéhez és Megelőzéséhez c. dokumentum (továbbiakban Európai Útmutató) ajánlása szerint történt [176]. A megrendelésre végzett vízvizsgálatnál is jellemzően befolyással lehettünk a mintavételi pontok kiválasztására.

Az Európai Útmutató az alábbi mintavételi pontokat különbözteti meg:

1. Szisztémás (a rendszer egészét jellemző) mintavételi pontok:
  - az épületbe bejövő hidegvíz, és/vagy hideg tápvíz,
  - a HMV-tartályt elhagyó melegvíz,
  - a rendszerből visszatérő cirkulációs melegvíz,
  - HMV-tartály ürítőcsonkján levett melegvíz,
  - az épületbe belépő melegvízhez legközelebb eső mintavételi pont,
  - a vízhalózatban belüli legtovábbi pont.

2. A járványügyi jelentőségű mintavételi pontok<sup>2</sup>:
  - a szállodai szoba/kórterem, ahol a megbetegedett személy lakott, ill. minden hálózati végkifolyó, amit használhatott.
3. Kiegészítő mintavételi pontok
  - a vízhálózat különböző részeit reprezentáló mintavételi pontok.

### 5.3 Mintavételi technikák

Lehetőség szerint az adott épület hideg- és a melegvízes-rendszeréből egyaránt vettünk mintákat. A mintavételt az Európai Útmutató és a „Vízminőség. Mintavétel mikrobiológiai vizsgálatokhoz” c. szabvány szerint végeztük [315]: a hidegvíz mintákat két perces kifolyatás után vettük le, a melegvíz minták levételére közvetlenül csapnyitáskor és/vagy egy perces kifolyatást követően került sor. Az ún. "csapnyitási" minta a vízvételi hely közvetlen környezetének kolonizációját jellemezi általában, míg a "kifolyatott" minta a rendszerben áramló vízre inkább jellemző. Mintavételkor a hálózati végkifolyókat (csap, zuhanyrózsa stb.) nem fertőtlenítettük, a tartozékokat (pl. perlátor) és tömítéseket nem távolítottuk el annak érdekében, hogy a tényleges emberi expozíciót minél jobban megismerhessük.

Feljegyzésre került a mintavételi pont környezetének higiénés állapota (pl. piszok, vízkő stb.), illetve a kifolyatott víz mintavételkor mért hőmérséklete is. Amennyiben a melegvíz hőmérséklete egyperces kifolyatás után nem állt még be, feljegyeztük kétperces kifolyatás után is. Amennyiben a két percig folyatott hidegvíz hőmérséklete 20 °C alá csökkent, a hidegvíz minták számát csökkentettük a mintavételi tervben rögzített mintaszámhoz képest.

A medencés fürdők mintázása esetén a medencevíz azon részéből vettünk mintát, ahol a szennyezettség várhatóan a legmagasabb (legtávolabb a tápvíz befolyástól), illetve ahol a maradék fertőtlenítőszer-koncentráció várhatóan állandó volt [315]. A mintavétel, szabvány szerint, a vízfelszín alól (10 és 30 cm között) történt. A nátrium-tioszulfát-pentahidrát veszteség elkerülése érdekében az üveget csak a mintavételi vízmélység elérésekor fordítottuk függőleges helyzetbe. A medencék tápvizének, vagy szűrt vizének mintázása mintavételi csapokon keresztül valósult meg [315].

A vízmintákat az idevágó szabvány szerint 0,5 l-es steril műanyag (polipropilén) vagy üveg mintavételi edényzetbe vettük, amely 100 ml üvegtérfogatonként 0,1 ml nátrium-tioszulfát-

---

<sup>2</sup> Csak az épülethez köthető eset járványügyi vizsgálása kapcsán értelmezhető.

pentahidrát oldatot (18 mg/ml) tartalmazott annak érdekében, hogy az oxidálószer (jellemzően klór, vagy klór-dioxid) hatását a mintavétel után megszüntessük [315]. A mintákat hűtött körülmények között ( $5\pm 3$  °C-on) szállítottuk a laboratóriumba és a lehető legrövidebb időn belül (legkésőbb a mintavételtől számított 24 órán belül) feldolgoztuk, feldolgozásig hűtve tároltuk.

Sok esetben a biofilmben megtelepedett *Legionella* kitenyészhető akkor is, ha a vízminta negatív, ezért törletminta vételére került sor a részletesen mintázott hálózati végkifolyók esetében. Csaptelepek esetében a csaptelep belső felületéről, zuhanyrózsák esetében a zuhanyfej belső felszínéről (a tömlőről történő eltávolítás után) vettük steril vattapálcával a törletmintákat. A törletmintákat az ugyanarról a mintavételi pontról származó víz 1- 2 ml-ében, a vízmintákkal megegyező körülmények között szállítottuk és tároltuk a feldolgozásig.

## 5.4 Mintafeldolgozás

### 5.4.1 Vízminták feldolgozása

A vízminták feldolgozása, inkubálása, illetve az eredmények értékelése a „Vízminőség. *Legionella* kimutatása és megszámlálása. 2. rész. Közvetlen membránszűrési módszer kis baktériumszámú vizek esetén” c. szabvány leírása szerint történt [316]. A vízmintákból 100 ml-t vákuumszűrővel fekete színű cellulóz-nitrát membránszűrőn (130006-47-ACR, Sartorius Stedim Biotech, Aubagne Cedex, Franciaország, pórusátmérő 0,45  $\mu\text{m}$ ,  $\varnothing$  47 mm) szűrtünk át. Amennyiben a vízminta szennyezettsége, vagy az előzmények ismeretében indokoltnak láttuk, kisebb mintatérfogatokban is feldolgoztuk a mintát (10 ml, 1 ml, és 0,1 ml). A 0,1 ml mintatérfogatot közvetlenül GVPC és/vagy GVPN táptalajra szélesztettük, vagy nagyobb várható szennyezettség esetén a vízminta 0,5 ml-éhez 0,5 ml az egyéb szervezetek visszaszorítására szolgáló savas puffert (továbbiakban savas puffer) adtunk, az elegyet homogenizáltuk, majd 0,2 ml-t GVPC/GVPN táptalajra szélesztettünk [317].

Mivel a *Legionella spp.* tenyésztésre használatos GVPC/GVPN táptalaj nem kellően szelektív, a vízben található nem-*Legionella* szervezetek visszaszorítása céljából a membránszűrőre a szűrést követően 20 ml savas puffert mértünk, 5 percig állni hagytuk, majd a membránszűrőt 20 ml steril 1:40 Ringer-oldattal átmostuk. Ezt követően a membránszűrőt steril csipesszel GVPC/GVPN táptalajra (SR0152/SR0215, Oxoid, Cambridge, Egyesült Királyság) helyeztük. A lemezeket 37 °C-on, a kiszáradás elkerülése érdekében zárt dobozban 10 napig inkubáltuk. A lemezek leolvasása 3, 5 valamint 10 nap inkubáció után történt. Amennyiben a 3. napi leolvasás alkalmával 500-nál több telep tenyészett ki a táptalajon, szükség szerint kisebb térfogatú

vízminták kerültek feldolgozásra (10 ml, 1 ml és 0,1 ml). Ilyen esetben ugyan a vízminta tárolási ideje meghaladta a vonatkozó szabványban előírtakat (MSZ EN ISO 19548:2007), azonban tárolási kísérlet során meggyőződünk a mintaállandóságról. A heterotróf összcsíraszám és a *Pseudomonas aeruginosa* vizsgálat a vonatkozó szabványok leírása alapján történt [318, 319].

#### **5.4.2 Törletminták feldolgozása**

A vattapálcákat a mintavételi helyről származó víz 1-2 ml-ében rázattuk. Az így nyert szuszpenzió 0,5 ml-éhez 0,5 ml savas puffert adtunk, az elegyet homogenizáltuk, majd az elegy 0,2 ml-ét GVPC/GVPN táptalajra szélesztettük. A lemezeket a „Vízminták feldolgozása” c. pontban (5.4.1) leírtak szerint inkubáltuk.

### **5.5 Tenyésztés és az izolátumok azonosítása, vizsgálata**

#### **5.5.1 Tenyésztés**

A feltételezett *Legionella sp.* telepeket sztereomikroszkóppal (Carl Zeiss, Jena, Németország, NFK mikroszkóp PK 12,5x objektív, 1,0-1,6-os nagyítás) megfigyelt telepmorfológiájuk alapján izoláltuk. A típusos *Legionella sp.* telep kerek, ép szélű, tejfehér, esetenként barnás színű, sztereomikroszkóp alatt tejüveg jellegű, és rózsaszínesen vagy zöldesen irizál.

Egy membránszűrőről három-öt – lehetőség szerint különböző megfigyelt telepmorfológiájú – feltételezett *Legionella* telepet izoláltunk, amelyet párhuzamosan L-cisztein tartalmú és L-cisztein-mentes BCYE (SR0110, Oxoid, Cambridge, Egyesült Királyság) táptalajra szélesztettük.

A megerősített *Legionella* törzsek nem kevesebb, mint 48 óra alatt a L-ciszteint tartalmazó BCYE táptalajon növekedést mutatnak, a legionellákra jellemző telepmorfológiájuk, de növekedést a L-cisztein-mentes BCYE táptalajon nem mutatnak [316].

#### **5.5.2 Izolátumok azonosítása szerológiai vizsgálatokkal**

A szerológiai vizsgálatokat kettős célból végeztük: az identifikálás megerősítésére, valamint az izolátumok faj szintű azonosítására, illetve faj alatti elkülönítésére.

##### **5.5.2.1 Szerocsoport meghatározás latex agglutinációval**

Az MSZ EN ISO 11731-2:2008 szabvány szerint a legionellák azonosítása specifikus, L-ciszteint és vas(III)-ion tartalmú pufferezt aktiv szén-élesztőkivonat agaron való növekedés valamint telepmorfológia, illetve L-cisztein auxotrófiája alapján történik. A szabvány az azonosításhoz a

szerotipizálást nem követeli meg, mindössze járványügyi érintettség esetén ajánlja. A szubkultúra minden teleptípusát legalább három reprezentatív teleppel erősítettük meg és szerotipizáltuk.

Vizsgálatainkhoz „*Legionella latex* teszt”-et (DR0800, Oxoid, Cambridge, Egyesült Királyság) használtunk. A teszt reagensei latex szemcsékhez kötött szerocsoport specifikus nyúl antitesteket tartalmaznak. A teszt monovalens savójával a *L. pneumophila* 1 szerotípusa, egy polivalens savóval a *L. pneumophila* 2-14 szerocsoportja, egy másik polivalens savóval pedig egyéb, a *L. pneumophila* fajon kívül megbetegedéseket legnagyobb arányban okozó, *Legionella* fajok (*L. lonbeachae*, *L. bozemanii*, *L. dumoffii*, *L. gormanii*, *L. jordanis*, *L. micdadei*, *L. anisa*) mutathatók ki. A fel nem sorolt *Legionella* fajok ill. *L. pneumophila* szerotípusok kimutatására a teszt nem alkalmas.

Egy kacsnyi *Legionella* sejtéből 100 µl foszfát-pufferben (pH 7,2) szuszpenziót készítettünk. A szobahőmérsékletű latex reagensekből 10-10 µl-t a reakciólapra mértünk, hozzáadtunk 20-20 µl sejtsuszpenziót és összekevertük. A reakciólapot egy percreg körkörösön mozgattuk.

Pozitív az eredmény, amennyiben valamely reagenssel egy percren belül agglutinációt észlelünk, és a latex kontrol esetében agglutinációt nem tapasztalunk. Negatívnak az eredmény akkor tekinthető, amennyiben egy percren belül agglutináció nem következik be. Nem értelmezhető az eredmény, amennyiben a latex kontroll is agglutinációt mutat (5.1. táblázat). Amennyiben az agglutináció eredménye mindhárom savóban negatív volt, azt feltételeztük, hogy vagy a *L. pneumophila* egyéb szerotípusaiba (*L. pneumophila* 15, 16) tartozott a törzs, vagy nem szerotipizálható *L. pneumophila* fajt izoláltunk, illetve lehetséges, hogy olyan nem-*pneumophila Legionella* fajról volt szó, aminek az azonosítására a teszt „*Legionella species*” nevű savója nem alkalmas. Mindhárom esetben „egyéb *Legionella* fajként” azonosítottuk az izolátumot (5.1. táblázat). Figyelembe véve a teszt szenzitivitását és specifitását, valószínűsíthető, hogy az egyéb *Legionella* fajként azonosított törzsek között *L. pneumophila* fajok is szerepelnek [6].

Agglutináció	Eredmény megadása
„ <i>L. pneumophila</i> 1” savó teszt pozitív	<i>L. pneumophila</i> 1
„ <i>L. pneumophila</i> 2-14” savó teszt pozitív	<i>L. pneumophila</i> 2-14
„ <i>Legionella species</i> ” savó teszt pozitív	egyéb <i>Legionella</i> faj
Mindhárom savó teszt negatív	egyéb <i>Legionella</i> faj
2 vagy 3 savó teszt eredménye pozitív	nem értékelhető eredmény

5.1. táblázat A *Legionella latex* teszttel (DR0800, Oxoid, Cambridge, Egyesült Királyság) végzett agglutinációs vizsgálatok eredményének megadása a vonatkozó szabvány szerint [316]

#### 5.5.2.2 Szerotípus meghatározás mikroagglutinációs módszerrel

Mikroagglutinációs vizsgálatainkat szintén kereskedelmi forgalomban kapható teszttel (294623, Denka-Seiken, Tokió, Japán) végeztük. *L. bozemanii*, *L. dumoffii*, *L. gormanii*, *L. micdadei*

határozhatók meg vele faji, illetve a *L. pneumophila* az 1-15 szerotípus szinten. Szuszpenziót készítettünk 1000 µl foszfát-pufferben kétkacsnyi tiszta *Legionella* tenyészetből, majd a szuszpenziót egy órán keresztül forraltuk. A sejtsuszpenziókat 9000 g sebességgel két percig centrifugáltuk, a felülúszó eltávolítása után a sejteket 1 ml foszfát-pufferben mostuk. A mosási lépést kétszer megismételtük. Újabb centrifugálás és felülúszó eltávolítása után a üledéket 100 µl foszfát-pufferrel vettük vissza. A reagensekből 10-10 µl-t reakciólapra mértünk, hozzáadtunk a sejtsuszpenzióból 10-10 µl-t, majd az elegyeket összekevertük. A reakciólapot egy percig körkörösén mozgattuk. Pozitív az eredmény, ha valamely reagenssel egy percen belül agglutinációt észleltünk. Negatívnak azt az eredmény tekintettük, ha egy percen belül agglutináció nem következett be. Keresztreakció esetén az eredmény nem elfogadható.

### 5.5.2.3 MAb-tipizálás

Foszfát-pufferben 1,5 ml hőkezelt (10 perc, 95 °C-on) baktérium-suszpenziót (McFarland 1, ami hozzávetőleg  $3 \cdot 10^8$  sejt/ml koncentrációnak felel meg) küldtünk szobahőmérsékleten postai úton Németországba a Drezdai Műszaki Egyetem Orvosi Mikrobiológiai és Higiéniai Intézetébe, ahol 267 hálózati vízminta és 8 medencés fürdő minta eredetű *Legionella* izolátum tipizálását végezték el a Drezdai-Panellal [6]. Eredményként a *L. pneumophila* szerotípusokat, az esetleges MAb 3/1 pozitivitásra vonatkozó adatokat (MAb 3/1-pozitív vagy -negatív), a *L. pneumophila* 1, 4 és 5 izolátumok esetében a MAb alcsoportokat, illetve a törzsek egyes monoklonális antitest pozitivitást/negativitást (MAb 40/4, MAb 26/1, MAb3, MAb 3/1; nem minden törzs esetén), továbbá nem szerotipizálható *L. pneumophila*-k esetén az azonosított típusokat (C-, D-, E-, G-, H-típusok) kaptuk meg.

### 5.5.3 Molekuláris biológiai vizsgálatok

#### 5.5.3.1 DNS izolálás

A DNS-t Pure Link™ Genomic DNA Mini Kit (K1820, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) felhasználásával két napos tenyészetekből vontuk ki.

Sejtlizátum készítés: Kétkacsnyi baktériumból 200 µl steril desztillált vízben szuszpenziót készítettünk. Centrifugálás után (10000 g) a felülúszót eltávolítottuk. A sejtüledéket 180 µl emésztő-pufferben vettük fel. A mintához 20 µl Proteináz-K (20 mg/ml) enzimet adtunk, homogenizáltuk, majd 30 percig 55 °C-os vízfürdőben inkubáltuk. Ezt követően a mintához 20 µl RNáz A enzimet (20 mg/ml) adtunk, majd homogenizálás után a mintát szobahőmérsékleten két



percig inkubáltuk. 200 µl kötő-puffer hozzáadása után a szuszpenziót homogenizáltuk. Végül 200 µl 96 %-os etanol hozzáadása után a mintát 5 másodpercig homogenizáltuk.

DNS kötés: A teljes sejtlizátumot átmértük egy szilika-mátrix oszloppal ellátott gyűjtőcsőbe, 10000 g sebességgel egy percig centrifugáltuk, majd az oszlopot egy új gyűjtőcsőbe helyeztük.

Mosás: Az oszlopra 500 µl mosópuffert („1”) pipettáztunk, 10000 g sebességgel egy percig centrifugáltuk, majd az oszlopot új gyűjtőcsőbe helyeztük. Az oszlopra mértünk 200 µl mosópuffert („2”), majd három percig 10000 g sebességgel centrifugáltuk.

Leoldás: Az oszlopot steril 1,5 ml-es centrifuga csőbe helyeztük, majd 100 µl leoldó-puffert mértünk rá. Egy perc szobahőmérsékleten történő inkubálást követően 10000 g sebességgel három percig centrifugáltuk. A DNS-t felhasználásig -20 °C-on tároltuk.

DNS izolálásra mindössze a *mip* gén szekvenálásához volt szükség (10 Izolátum). Az egyéb molekuláris biológiai vizsgálatok során templátként sejtsuszpenziót használtunk (*Legionella* nemzetség specifikus PCR, REP-PCR, univerzális PCR). A módszerek ismertetésével az következő, az 5.5.3.2 fejezet (PCR-vizsgálatok) foglalkozik.

#### 5.5.3.2 PCR-vizsgálatok

A PCR reakciók elvégzésére Thermo Hybaid PX2 (Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, USA), valamint ABI 2720 Thermal Cycler típusú PCR (Applied Biosystems, Foster, CA, USA) készülékeket használtunk. A PCR-eket legtöbb esetben sejtsuszpenzióból készítettük: BCYE táptalajon, zárt dobozban 37 °C-on 2-3 napig tenyésztettük a tiszta *Legionella* izolátumokat.

*Legionella* nemzetség specifikus PCR: A *Legionella* nemzetség kimutatására Cloud és mtsai. módszerét használtuk [320]. A reakció során a 16S rDNS 451-837 bázis közötti szakaszának (termék 386 bp) felszaporítására került sor. A módszert alkalmazó cikk szerint valamennyi (a közzétételig, 2001-ig leírt 44) *Legionella* faj kimutatására alkalmas. A reakció specifitása és szelektivitását 50 környezeti izolátum, 11 típusörzs és 18 nem *Legionella* törzs vizsgálatával ellenőriztük (Melléklet, 12.2 táblázat).

Repetitív Extragénikus Palindrom (REP) PCR ERIC-primerpárral: A *Legionella* izolátumok faj alatti szintű tipizálása REP-PCR-rel történt [309]. A reakcióban extragénikus repetitív elemekre tervezett primerek felhasználásával különböző hosszúságú DNS molekulákat szaporítottunk fel. Az izolátumokat a kapott mintázatuk alapján hasonlítottuk össze.

PCR univerzális eubakteriális primerekkel: A reakcióban a 16S rDNS 8-1387 bp közötti régióját szaporítottuk fel. A PCR termék 1379 bp hosszúságú. A termék restrikciós emésztéshez vagy szekvenálásra került felhasználásra.

PCR a *mip* (macrophage infectivity potentiator) génre tervezett primerekkel [48]: A *mip* gén által kódolt immunofilin egy extracelluláris fehérje, amely a legionellák intracelluláris ciklusában játszik szerepet. A termék, a hipervariábilis régiók jelenlététől és méretétől függően, 661-715 bp. A legionellák azonosításának a *mip* gén ezen szakaszának szekvenálása egy elterjedt módja.

Szekvenáló reakciók: A felszaporított *mip* gént, vagy a 16S rDNS 8-1387 bp közötti szakaszát használtuk templátként. A szekvenáló reakcióhoz PCR Advanced™ PCR Clean Up System rendszerrel (Viogene, Sijhih, Tajvan), annak leírása szerint tisztított PCR-terméket használtunk.

A reakcióelegyek leírását, valamint a reakciókörülményeket az 5.2. táblázat, az alkalmazott primereket és azok szekvenciáit pedig az 5.3. táblázat foglalja össze.

PCR / paraméter		nemzettség spec. PCR	REP-PCR	univerzális PCR	mip-PCR	szekvenáló PCR
<b>reakcióelegy/ minta</b>	nukleáz. desztillált víz <sup>3</sup>	27,4 µl	33,2 µl	34,4 µl	38,1 µl	6,4 µl
	5x szekvenáló puffer <sup>4</sup>	-	-	-	-	3 µl
	10x PCR puffer <sup>5</sup>	5 µl	5 µl	5 µl	5 µl	-
	MgCl <sub>2</sub> , 25 mM <sup>6</sup>	6 µl	6 µl	5 µl	3 µl	-
	primer forw. <sup>1</sup>	5 µl (10µM)	2 µl (25µM)	2 µl (20µM)	1 µl (20µM)	1,6 µl (20µM)
	primer rev. <sup>1</sup>	5 µl (10µM)	2 µl (25µM)	2 µl (20µM)	1 µl (20µM)	-
	dNTP, 100 mM <sup>1</sup>	0,4 µl	0,4 µl	0,4 µl	0,4 µl	-
	DNS polimeráz, 5 U/µl <sup>3</sup>	0,2 µl	0,4 µl	0,2 µl	0,5 µl	-
	Big Dye <sup>4</sup>	-	-	-	-	2 µl
	Templát DNS	1 µl	1 µl	1 µl	1 µl	7 µl
<b>reakció- körülmény</b>	kezdeti denaturáció	95 °C, 5 perc	94 °C, 5 perc	95 °C, 5 perc	96 °C, 3 perc	-
	denaturálás	94 °C, 1 perc	94 °C, 1 perc	94 °C, 1 perc	94 °C, 1 perc	96 °C, 10 s
	kapcsolódás	54 °C, 1 perc	54 °C, 1 perc	55 °C, 1 perc	58 °C, 2 perc	50 °C, 5 s
	lánchosszabbítás	72 °C, 2 perc	72 °C, 2 perc	72 °C, 2 perc	72 °C, 2 perc	60 °C, 4 perc
	ciklusszám	38	45	36	35	28
	végző extenzió	72 °C, 10 perc	72 °C, 10 perc	72 °C, 10 perc	72 °C, 5 perc	-
	<b>Kontrollok</b>	pozitív kontroll	Lp. 1	-	Lp. 1	Lp. 1
negatív kontroll	P. aer.	-	-	P. aer.	-	

5.2. táblázat A PCR reakcióelegyeinek összetétele és a reakciókörülményei (rövidítés: Lp: *L. pneumophila* 1 CIP 103854, nukleáz.:: nukleázmentes. P. aer.: *Pseudomonas aeruginosa* HNCMB 170554, forw.: forward, rev.: reverse)

<sup>3</sup>Invitrogen, Carlsbad, CA, USA

<sup>4</sup>Applied Biosystems, Foster, CA, USA

<sup>5</sup>100mM Tris, 500mM KCl, 1 % Triton X-100, Fermentas, Glen Burnie, USA

<sup>6</sup>Fermentas Glen Burnie, USA

PCR	primer neve	primer szekvencia
<b>Legionella</b> nemzetség specifikus PCR	JFP (forward)	5'- AGG GTT GAT AGG TTA AGA GC - 3'
	JRP (reverse)	5'- CCA ACA GCT AGT TGA CAT CG - 3'
REP-PCR	ERIC1R	5'- ATG TAA GCT CCT GGG GAT TCA C - 3'
	ERIC2	5'- AAG TAA GTG ACT GGG GTG AGC G - 3'
univerzális PCR	16S-8V (forward)	5'- GTT TGA TCC TGG CTC AGA - 3'
	16S-1387 R (reverse)	5'- GGG CGG TGT GTA CAA GGC - 3'
mip-PCR	Legmip_f (forward)	5'- GGG RAT TVT TTA TGA AGA TGA RAY TGG - 3'
	Legmip_r (reverse)	5'- TCR TTN GGD CCD ATN GGN CCD CC - 3'
mip-PCR (szekvenálás)	Legmip_fs (forward)	5'- TTT ATG AAG ATG ARA YTG GTC RCT GC - 3'

5.3. táblázat A PCR reakciókhoz alkalmazott primerek és a primerek szekvenciája

### 5.5.3.3 Amplifikált Riboszómális DNS Restriktációs Analízise (ARDRA)

A vizsgálathoz az univerzális eubakteriális primerekkel végzett PCR termékét használtuk. A felszaporított terméket *AluI*, *Hinfi*, *HaeIII*, *HaeII* és *HhaI* enzimekkel emésztettük (5.4. táblázat). Reakcióelegy összetétel: 10x restriktációs puffer 1 µl, restriktációs endonukleáz (10 U/µl) 0,5 µl, BSA (20 mg/ml) 1 µl, univerzális PCR termék, termékmennyiségtől függően, 5-8,5 µl. Végtérfigat 10µl.

Enzim neve	Hasítási helye	BSA-t tart. puffer	Inkubációs idő (óra)	Restriktációs enzim gyártója
<i>AluI</i>	5'...AG↓CT...3' 3'... TC↑GA...5'	+	4	Fermentas, Glen Burnie, USA
<i>Hinfi</i>	5'...G↓ANTC...3' 3'...CTNA↑G...5'	+	4	Fermentas, Glen Burnie, USA
<i>HaeIII</i>	5'...GG↓CC...3' 3'...CC↑GG...5'	+	4	New England Biolabs, Ipswich, USA
<i>HaeII</i>	5'...RGCGC↓Y...3' 3'...Y↑CGCGR...5'	-	1	New England Biolabs, Ipswich, USA
<i>HhaI</i>	5'...GCG↓C...3' 3'...C GCG...5'	-	4	New England Biolabs, Ipswich, USA

5.4. táblázat Az ARDRA-hoz alkalmazott restriktációs endonukleázok (rövidítés: tart.: tartalom)

### 5.5.3.4 PCR- és ARDRA-termékek kimutatása

A PCR- és ARDRA-termékek kimutatása horizontális elektroforézissel történt. A gélhez az agarózt (SeaKem®LE Agarose, Cambrex BioScience Rockland, MA, USA) TBE-, vagy TAE-pufferben szuszpendáltuk, melegítve oldottuk. Kb. 55 °C-ra való visszahűlés után a gélhez etidium-bromid oldatot (végkoncentráció 0,5 µg/ml, Continental Lab Products, San Diego, CA, USA), vagy GelRed™-et (x10000, Biotium Hayward, CA, USA) adtunk, és gélt öntöttünk (5.5. táblázat). A gél zsebeibe felvittük a DNS-oldat és a loading puffer (6x Loading Dye-t, Fermentas, Glen Burnie, USA) 6:1 arányú keverékét, majd elindítottuk az elektroforézist (PSE 300/300 Biocenter, Magyarország). Az egyedi körülményeket és reagenseket a 5.5. táblázat részletezi. A jelzett DNS szakaszokat áteső UV fényben detektáltuk (Molecular Imager Gel Doc System; Quantity One Software, verziószám: 4.6.5 mindkettő BioRad, Philadelphia, PA, USA).

Termék neve	Gél agaróz konc. [w/v %]	Puffer	Futtatási feszültség [V]	Futtatási idő [óra]	Molekulaméret marker	Gél-térfogat [ml]
16S rDNS PCR	1,0	1,0 % TAE	100	0,5	λ DNA/ <i>Hind</i> III	100
Nemz. spec. PCR	1,0	1,0 % TAE	100	0,5	100 bp	100
<i>mip</i> gén PCR	1,0	1,0 % TAE	100	0,5	100 bp	100
rep-PCR	1,5	0,5 % TBE	130	3,5	100 bp	750
ARDRA	2,0	0,5 % TBE	100	1,0	100 bp	100

5.5. táblázat A termékek futtatásának pontos körülményei (rövidítés: konc.: koncentráció, nemz.: nemzetség, spec.:specifikus)

### 5.5.3.5 Szekvenciaelemzés

A szekvenáló reakcióban nyert PCR-termékeket etanolos kicsapatással tisztítottuk: a tisztítandó mintát 3 µl nátrium-acetát, 14,5 µl desztillált víz és 62,5 µl tömény etanol elegyében mértük, majd 15 percig szobahőmérsékleten inkubáltuk. Ezt követően az elegyet 20 percig 4 °C-on centrifugáltuk (11000 g). A felülúszó eltávolítása után 250 µl 70 %-os etanolt mértünk a maradékhoz, majd 4 °C-on, 10 percig centrifugáltuk (11000 g), majd a felülúszó eltávolítása után a terméket lamináris áramú fülkében szárítottuk.

A szekvenaciaelemzést az MTA Szegedi Biológiai Központban (Szeged, Magyarország) és a Biomi Kft-nél (Gödöllő, Magyarország) végezték. A *mip* gén szekvenciákat a HPA (Health Protection Agency, London, Egyesült Királyság) *Legionella mip* gén szekvenacia-adatbázisában található típusörzs szekvenciákkal hasonlítottuk össze ([www.hpa.org.uk](http://www.hpa.org.uk)).

### 5.5.3.6 Mintaelőkészítés és MALDI-TOF MS vizsgálat

A BCYE táptalajon, 3 napig tartó 37 °C-os inkubációval felnevesztett tiszta *Legionella* tenyészetekből egy nagy kacsnyi mennyiséget 100 µl steril ioncserélt vízbe szuszpendáltunk [313]. A korábbi izolátumokat, -18 °C-on tárolt ioncserélt vízben készült szuszpenzióból oltottuk ki a vizsgálat előtt. A MALDI-TOF vizsgálat során kétrétegű mintafelviteli eljárást alkalmaztunk. Az elkészített szuszpenziókból 1-1 µl mennyiséget a mintahordozó lemezre vittünk fel, majd a felvitt mintákat levegőn szárítottuk. A mátrix oldat elkészítéséhez 10 mg CHCA (α-ciano-4-hidroxifahéjsav, Waters Corporation, Milford, MA, USA) mátrixot ACN (acetonitril, Merck, Darmstadt, Németország) : ioncserélt víz : TFA (trifluor-acetát, Merck, Darmstadt, Németország) 49:49:2 arányú keverékének 1 ml-ében feloldottunk, majd a mintalemezre rászárított mintákra 1-1 µl mennyiséget mértünk. Ismételt levegőn való szárítás után a mintákat a tömegspektrométerbe (N2 lézerrel ellátott Waters MALDI micro MX; Waters Corporation, Milford, MA, USA) helyeztük, és a nyert spektrumokat 2000 - 20000 m/z tartományban, lineáris,

pozitív ion módban vettük fel. Egy-egy minta spektruma közel 100 spektrum átlagaként adódik. Minden törzsről 4 párhuzamos mérést végeztünk 200-250 lézerintenzitás tartományban.

#### 5.5.3.7 A spektrumok kiértékelése

A spektrumok minőségének kiértékelését a maximális intenzitás és a jel/zaj arány alapján MassLynx 4.0 programcsomag segítségével végeztük. A mintázatok összehasonlításához a relatív intenzitás alapján normalizált spektrumokat alkalmaztunk, amelyeket Microsoft® Office Excel 2003 programmal készítettünk elő az elemzés további lépéseihez. A statisztikai értékelés Past 1.99 és SPSS programcsomaggal történt, a 3000 és 20000 Da, illetve a 2000 és 15000 Da közötti tömegtartomány figyelembevételével. A *Legionella* spektrumok alapján kapott dendrogramot összehasonlítottuk ugyanazon izolátumok REP-PCR mintázataival, valamint az izolátumok szerotípusaival.

### 5.6 Vízminták *Legionella* csíraszám határértékei

A használati hideg- és melegvíz-rendszerek és a medencés fürdők kolonizációjának jellemzése során az alábbi viszonyítási értékeket vettük figyelembe: a minta pozitív, vagyis a *Legionella* csíraszám a kimutatási határ felett van (hálózati víz és medencés fürdővíz esetén ez >10 TKE/l), a minta csíraszám meghaladja a közegészségügyi határértéket (1000 TKE/l felett van hálózati víz és 100 TKE/l felett medencés fürdő esetén), vagy hálózati víz esetén meghaladja az azonnali beavatkozást igénylő határértéket (10000 TKE/l) [321]. Utóbbi két szintet hálózati víz esetében az Európai Útmutató definiálja, medencés fürdőre azonban nem rögzít határértéket [176]. Előbbi a hamarosan hatályba lépő EMMI rendelet alapján figyelmeztető, utóbbi beavatkozást igénylő szintet jelent [304].

### 5.7 Adatgyűjtés, adatbázis létrehozása és adatelemzés

#### 5.7.1 Adatgyűjtés és *Legionella* adatbázis létrehozása

A mintázott épületekről és vízhálózatokról beszereztük a *Legionella* kockázat szempontjából lényegesnek tartott adatokat, többek között az épület és a hálózat korára, a HMV-termelés módjára, az épület és a HMV-rendszer komplexitására, tagoltságára, nagyságára vonatkozó információkat. Ezen adatokat, illetve az izolált törzsek jellemzőit egy ún. *Legionella* adatbázisban rögzítettük (Melléklet, 12.4. táblázat és 12.5 táblázat).

Az adatbázis négy munkalapon, táblázatok formájában tárol információkat: 1) épületek munkalap, 2) vízminták munkalap, 3) törzs munkalap, 4) település munkalap.

## 5.7.2 Statisztikai elemzések

A statisztikai elemzésekhez, – köztük a leíró statisztikai számításokhoz – és egyes ábrák elkészítéséhez az IBM® SPSS® programcsomagot használtuk.

### Legionella csíraszámok jellemzése – leíró statisztika:

A *Legionella* csíraszám értékeket – jellegükből adódó rendkívül nagy szórásuk és a normáltól extrém módon eltérő eloszlásuk miatt – értelmezni nagy körültekintéssel lehet. A *Legionella* csíraszámok leírására a következő mérőszámokat választottuk: 25 és 75 %-os percentilis, medián és maximális csíraszám.

A minták *Legionella* csíraszám-eloszlásának grafikus megjelenítésére boxplot, vagy három kategóriába ( $x < 10$ ,  $10 \leq x < 1000$ ,  $1000 \leq x$ ) sorolt gyakorisági ábrát használtunk.

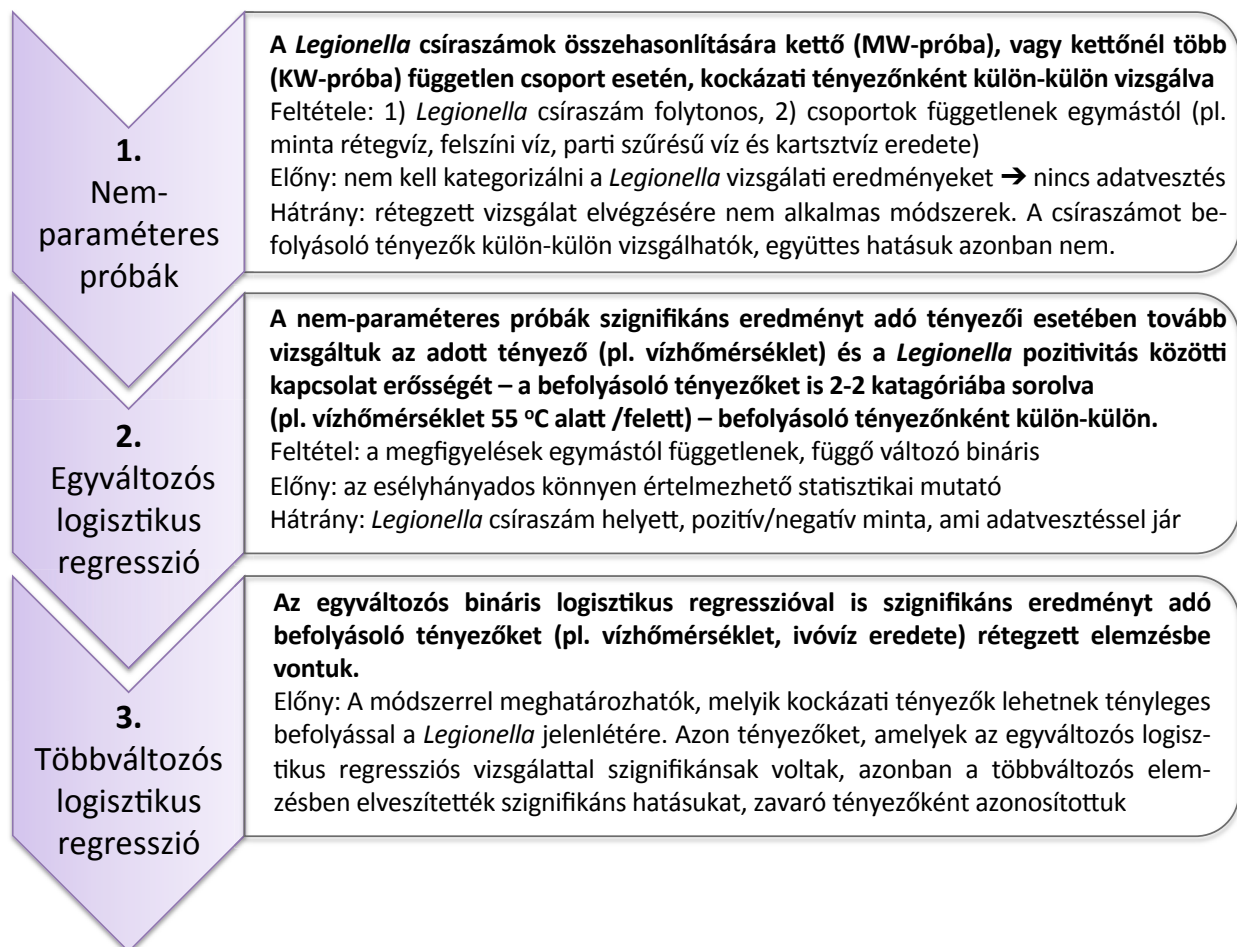
### Különböző csoportok Legionella csíraszámának összehasonlítása nem-paraméteres próbákkal:

- Mann-Whitney próba: *Legionella* csíraszámok összehasonlítására két egymástól független csoport esetén (pl. hidegvíz és melegvíz minták, vagy csapnyitási és kifolyatott minták *Legionella* csíraszámának összehasonlítása). A függő változó, a *Legionella* csíraszám folytonos.
- Kruskal-Wallis próba: *Legionella* csíraszámok összehasonlítására kettőnél több egymástól független csoport esetén (pl. ivóvíz eredete, úgymint felszíni víz, parti szűrésű víz, karsztvíz és rétegvíz minták *Legionella* csíraszámának összehasonlítása). A függő változó, a *Legionella* csíraszám folytonos.

Különböző csoportok Legionella faji összetételének vizsgálata statisztikai próbákkal: Chi<sup>2</sup>-próba és Fisher-féle egzakt próba: kategorikus változók, pl. *Legionella* fajok és szerocsoportok és más kategorikus változók, pl. ivóvíz eredete (4 kategória) közötti kapcsolat erősségének mérésére. Fisher-féle egzakt próbát akkor alkalmaztuk, ha a felállított kontingencia táblázatoknál az egyes cellák esetében a minták száma nem érte el az ötöt, vagy az összes megfigyelések száma a húszat.

Kémiai vízminőségi paraméterek és a Legionella csíraszám közötti kapcsolat vizsgálata lineáris regresszióval: A kémiai vízminőségi paraméterek (folytonos független változók) és a *Legionella* csíraszám (folytonos függő változó) közötti kapcsolat vizsgálatára lineáris regressziót alkalmaztunk. Annak érdekében, hogy a *Legionella* csíraszám értékek közelítsék a normál eloszlást, a csíraszám adatokat a lineáris regresszió-számításhoz transzformáltuk [ $\log_{10}(x+1)$ ].

Központi előállítású HMV Legionella szennyezettségét befolyásoló független kockázati tényezők azonosítása:<sup>7</sup> Az 5.2 ábra foglalja össze a független kockázati tényezők azonosításához használt statisztikai módszereket és azok egymáshoz való viszonyát.



5.2 ábra A központi előállítású HMV Legionella szennyezettségét befolyásoló független kockázati tényezők azonosítására alkalmazott statisztikai módszerek egymásra épülése

Valamennyi statisztikai próba eredményét  $p < 0,05$  esetén statisztikailag szignifikánsnak tekintettük ( $p < 0,01$  erősen szignifikáns,  $p < 0,001$  igen erősen szignifikáns).

Dendrogram készítés: A REP-PCR eredményeképpen kapott mintázatok összehasonlítására az FPQuest™ Software programot (verziószám: 4.5, BioRad, Philadelphia, PA, USA) használtuk. A dendrogramok készítéséhez UPGMA távolságszámítást alkalmaztunk Dice hasonlósági indexszel.

<sup>7</sup>A logisztikus regressziós modellekben enter módszert használtunk, az illesztés jellemzésére a Nagelkerke  $R^2$ -érték eredményeit vettük figyelembe. A Nagelkerke  $R^2$ -érték megmutatja, hogy a független változók kombinációi mekkora részt magyaráznak meg a függő változó varianciájából.

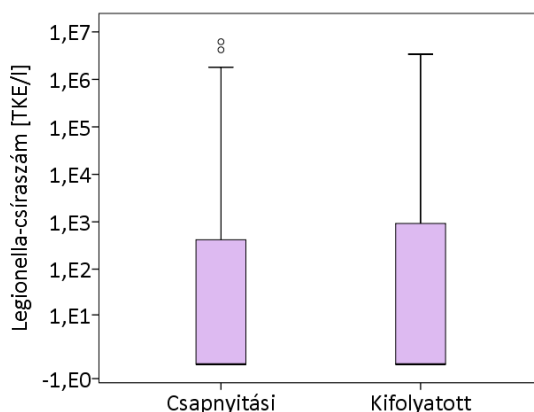
## 6 Eredmények és értékelésük

### 6.1 Legionellák előfordulása hálózati vízrendszerekben

Az 2518 hálózati vízminta közül legionellát 1054 (41,9 %) mintából mutattunk ki (Melléklet, 12.9 táblázat). A *Legionella* csíraszám  $10^3$  TKE/l felett volt a minták 23,2 %-ában (584),  $10^4$  TKE/l felett 10,9 %-ában (274),  $10^5$  TKE/l felett 1,9 %-ában (47),  $10^6$  TKE/l felett 0,2 %-ában (6). A végkifolyókról (mosdók, zuhanyzók) vett 45 törletminta közül 13 volt pozitív.

A 171 épület használati vízrendszere közül *Legionella* 105-ből (61,4 %) volt kimutatható és 84-ből (49,1 %) vettünk olyan vízmintát, amelynek *Legionella* csíraszámja 1000 TKE/l felett volt. Az Európai Útmutatóban rögzített határértéket vettük figyelembe, ami 1000 TKE/l-ben határozza meg azt a csíraszámot, amely már közegészségügyi kockázatot jelent, így beavatkozást igényel [176]. A vizsgált vízvezeték hálózatok 31,0 %-ból (51)  $10^4$  TKE/l, 8,2 %-ból (14)  $10^5$  TKE/l, 3,5 %-ból (6)  $10^6$  TKE/l vagy feletti *Legionella* csíraszámú vízmintát is vettünk.

A csapnyitási és a kifolyatott minták egy alapsokaságból származtak; a mediánjaik között – más szerzők tapasztalataival ellentétben –, szignifikáns különbség nem volt, külön elemzésben vizsgálva az összes mintát ( $N_{\text{csapny.}}=478$ ,  $N_{\text{kif.}}=1688$ ), ill. a legionellára nézve pozitív mintákat ( $N_{\text{csapny.poz}}=179$ ,  $N_{\text{kif.poz}}=755$ ) (Mann-Whitney próba,  $p=0,15$ , ill.  $p=0,37$ ), így a csapnyitási és a kifolyatott mintákat egyetlen további elemzésekben sem kezeltük külön (6.1. ábra) [167].



6.1. ábra A csapnyitási és a kifolyatott vízminták *Legionella* csíraszámának eloszlása ( $N_{\text{csapnyitási}}=478$ ,  $N_{\text{kifolyatott}}=1688$ )

Az épületeken belül a HMV és a hidegvíz hálózatok külön rendszert alkotnak. Így a két rendszerből vett minták vizsgálati eredményeit külön értékeltük. A minták egy részéről nem volt eldönthető, hogy azok ivóvíz, vagy HMV eredetűek-e, így ezeket a további elemzésekből kizártuk (260). Ez olyan esetekben fordulhatott elő, ha keverő csaptelepről vettük a mintát és a csap áteresztett, azaz a melegvízhez hideg is keveredhetett, illetve ha a víz hőmérséklete, vagy egyéb tényezők, pl. az épületgépészeti elemek vizsgálata utalt arra, hogy a két hálózatot valahol összekötötték.



### 6.1.1 Épületek hidegvíz-hálózatainak *Legionella* szennyezettsége

Az épületek hidegvíz-hálózatainak *Legionella* kolonizáltsága alacsony volt; 97 rendszerből vettünk ivóvíz mintát, közülük *Legionella* 35-ből volt kimutatható (36,1 %) és 17 épületből vettünk legalább 1 olyan mintát, aminek csíraszám meghaladta az 1000 TKE/l-es értéket (17,5 %). Egyetlen olyan épületet sem mintáztunk, amelynek csak a hidegvíz hálózata volt szennyezett.

A 449 hidegvíz mintából *Legionella* 139-ből volt kitenyészthető (30,1 %) és 38 vízminta (8,5 %) csíraszám haladta meg az 1000 TKE/l-t. A legmagasabb csíraszámot egy egészségügyi intézmény gépházából vett hidegvíz mintából mértünk ( $3,4 \cdot 10^6$  TKE/l). A hidegvíz minták mediánja és 25 %-os percentilise 0; 75 %-os percentilise 40 TKE/l volt.

A hidegvíz minták csíraszám-értékei jellegében, eloszlásában nem különböztek a melegvíz-mintákétól, azonban a használati melegvízhez képest a hidegvíz minták kisebb arányból tenyésztett ki a baktérium (30,1 % és 46,1 %), valamint a pozitív minták mediánjai is alacsonyabbak ( $300$  és  $1,9 \cdot 10^3$  TKE/l) voltak, mindkét eredmény igen erősen szignifikáns volt (Mann-Whitney próba,  $p < 0,001$ , 6.1. táblázat).

	Összes vízminta		Pozitív vízminták	
	Meleg	Hideg	Meleg	Hideg
Mintaszám [db]	1809	449	835	139
Pozitív vízminták [db]	833 (46,1 %)	139 (30,1 %)	-	-
1000 TKE/l feletti minták [db]	504 (27,9 %)	38 (8,5 %)	-	-
25 %-os percentilis [TKE/l]	0	0	300	500
Medián [TKE/l]	0	0	$1,9 \cdot 10^3$	300
75 %-os percentilis [TKE/l]	$1,4 \cdot 10^3$	40	$1,2 \cdot 10^4$	$1,1 \cdot 10^3$
Maximum [TKE/l]	$6,2 \cdot 10^6$	$3,4 \cdot 10^6$	$6,2 \cdot 10^6$	$3,4 \cdot 10^6$

6.1. táblázat A használati hideg- és melegvíz-minták csíraszámainak jellemző értékei

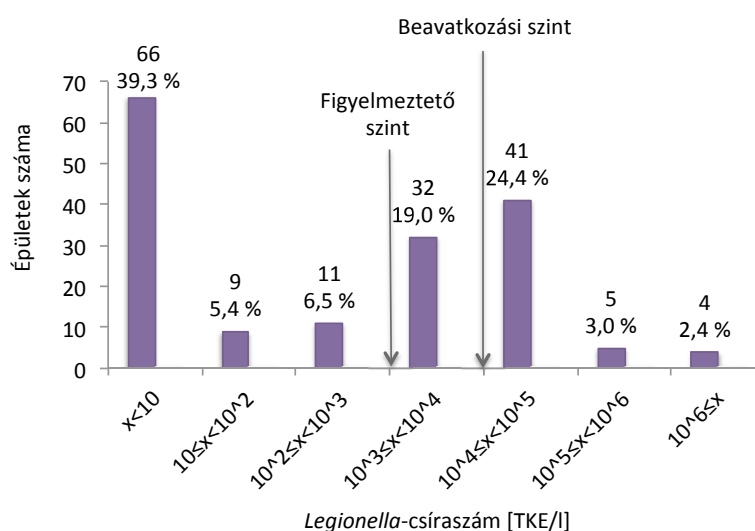
Mivel közel minden harmadik hidegvíz mintából kimutattunk legionellát, illetve egyes minták csíraszámja kiemelkedően magas volt annak ellenére, hogy a hidegvíz hőmérséklete általában kevésbé kedvező a szaporodásuk számára, illetve ezekben a rendszerekben nincs cirkuláció, ezért kisebb a különböző ágak keresztszennyezésének esélye is. Eredményeink alátámasztották számos nemzetközi kutatás tapasztalatát, miszerint az épületek hidegvíz-hálózatai is lehetnek erősen szennyezettek legionellával [139, 322-324] és a melegvízhez képest ritkábban ugyan, de írtak már le hidegvízhez köthető legionárius megbetegedéseket is [139, 322]. Eredményeink részletesebb összevetésére az irodalmi adatokkal az egyes épülettípusok szennyezettségét elemző fejezeteknél kerül sor (6.1.3 - 6.1.6. fejezet). Eredményeink arra utalnak, hogy a *Legionella* kockázatkezelő intézkedések tervezésénél nem elég csupán a HMV-rendszerekre koncentrálni, annak ellenére,

hogy a legtöbb nemzetközi ajánlás nem írja elő a hidegvíz *Legionella* csíraszám ellenőrzését, attól az esettől eltekintve, ha a víz hőmérséklete a rendszer egyes pontjain meghaladja a 25 °C-ot [177]. A 2015 novemberében megjelent rendelet sem rendelkezik a hálózati hidegvíz *Legionella* csíraszám ellenőrzéséről, és csak a fokozott kockázatot jelentő közegekre és létesítményekre koncentrál [304].

Az eredményeink szerint a hidegvíz hálózatok kolonizáltsága alacsonyabb volt a melegvízéhez képest. Az alacsonyabbnak ítélt kockázat miatt pedig a hidegvíz-hálózatok mind a törvényhozók, mind az üzemeltetők részéről kisebb figyelmet kapnak. Azt tapasztaltuk azonban, hogy az odafigyelés hiánya miatt könnyebben szennyeződhetnek legionellával és nőhet meg a hidegvíz eredetű megbetegedések kialakulásának kockázata.

### 6.1.2 Legionellák előfordulása épületek használati melegvíz-rendszereiben

A 168 épület HMV-rendszere közül legionellát 102-ből mutattunk ki (60,7 %, 6.2. ábra). A pozitív minták aránya mellett az épületen belüli legmagasabb csíraszám is jól jellemezi a rendszer kolonizációjának mértékét: a legmagasabb mért csíraszám az épületek közel felében (48,8 %, 82/168) haladta meg az 1000 TKE/l-es közegészségügyi határértéket és 30 %-ában (29,8 %, 50/168,) az azonnali beavatkozási határértéket (10000 TKE/l, 6.2. ábra). Négy épület – köztük egy egészségügyi intézmény – HMV-rendszeréből mutattunk ki kritikusan magas,  $10^6$  TKE/l értéket meghaladó koncentrációban *Legionella* baktériumot.



6.2. ábra Az épületek megoszlása a *Legionella* kolonizáltság mértéke szerint az adott épület használati melegvíz-rendszeréből mért legmagasabb csíraszám alapján (darabszámok és százalék (N=168))

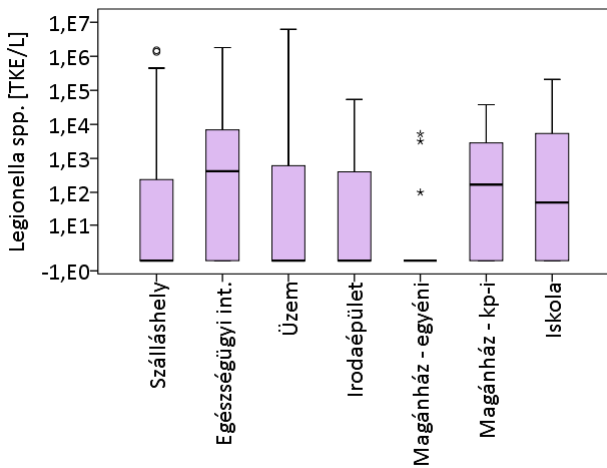
Az 1809 használati melegvíz minta közül 835 (46,1 %) volt pozitív legionellára nézve, és 504 (27,9 %) vízminta *Legionella* csíraszámát haladta meg az 1000 TKE/l-es értéket. A melegvíz minták mediánja és 25 %-os percentilise 0; 75 %-os percentilise  $1,4 \cdot 10^3$  TKE/l volt.

Külön vizsgáltuk a jellege, használata alapján különböző típusú épületek *Legionella* szennyezettségét, mivel jelentős eltérés lehet mind a vízhasználati szokásokban, mind az expozíció módjában és gyakoriságában. Így vizsgálva továbbá könnyebbé válik az eredmények összehasonlítása a nemzetközi hasonló kutatásokkal (6.2. táblázat). Az egyéni melegvízellátású lakóingatlanok kivételével valamennyi épülettípus HMV-rendszerének nagyfokú *Legionella* szennyezettségét állapítottuk meg (6.2. táblázat). A legmagasabb csíraszám alapján a legnagyobb arányban az egészségügyi intézmények (91,7 %), az üzemek (77,1 %), ill. a szállodák (71,5 %) HMV rendszerei voltak kolonizáltak. Ugyanezen épülettípusok esetén volt a legmagasabb azon épületek aránya is, amelyek használati vízrendszeréből 1000 TKE/l feletti csíraszámokban is izoláltunk legionellát (sorrendben 75,0 %, 71,4 % és 66,7 %; 6.2. táblázat).

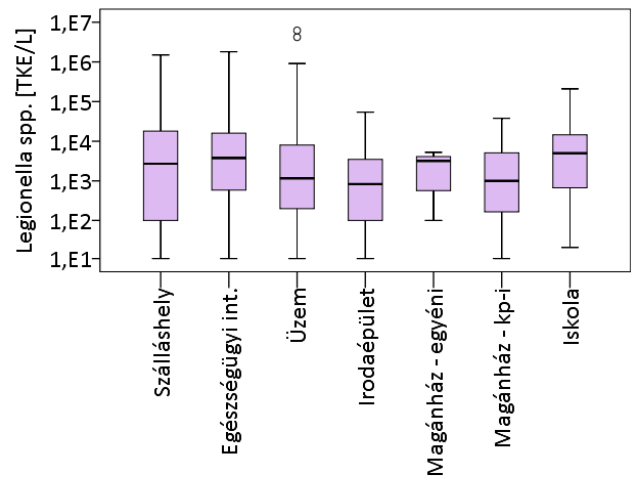
INTÉZMÉNY FAJTÁJA	INTÉZMÉNYEK SZÁMA			Összes vizsgált intézmény
	<i>Legionella</i> csíraszám [TKE/l]			
	$x < 10$ (1)	$10 \leq x < 10^3$ (2)	$10^3 \leq x$ (3)	
Egészségügyi intézmény	2 (8,3 %)	4 (16,7 %)	18 (75,0 %)	24
Irodaház	4 (40,0 %)	0 (0,0 %)	6 (60,0 %)	10
Lakóingatlan egyéni HMV-ellátással	24 (92,4 %)	1 (3,8 %)	1 (3,8 %)	26
Lakóingatlan központi HMV-ellátással	10 (38,4 %)	8 (30,8 %)	8 (30,8 %)	26
Oktatási intézmény	12 (46,2 %)	3 (11,5 %)	11 (42,3 %)	26
Üzem	8 (22,9 %)	2 (5,7 %)	25 (71,4 %)	35
Szálloda	6 (28,6 %)	1 (4,8 %)	14 (66,7 %)	21
<b>ÖSSZES ÉPÜLET</b>	<b>66 (39,3 %)</b>	<b>19 (11,3 %)</b>	<b>83 (49,4 %)</b>	<b>168</b>

6.2. táblázat Különböző típusú épületek megoszlása a *Legionella* kolonizáltság mértéke szerint (N=168) (az adott épület használati melegvíz-hálózatából mért legmagasabb csíraszámok alapján)

Az egyéni HMV-termelővel rendelkező lakóingatlanok kivételével az összes vizsgált épülettípus esetén 50,0 % feletti szennyezettségi arányt tapasztaltunk. A lakóingatlanok és az oktatási intézmények kivételével pedig az összes épülettípus esetében a hálózatok legalább feléből mutattunk ki legionellát 1000 TKE/l feletti csíraszámokban. (6.2. táblázat) A HMV-minták *Legionella* csíraszámát az egészségügyi intézményekben volt a legmagasabb (medián 420 TKE/l). A központi melegvíz-ellátású lakóingatlanokból 170 TKE/l, oktatási intézményekből pedig 50 TKE/l volt a HMV-minták *Legionella* csíraszámának mediánja,; a többi épülettípusban a mediánok értéke nulla volt (6.3 ábra). A pozitív vízminták *Legionella* csíraszámának mediánja az irodaházak kivételével minden típus esetén meghaladta a 1000 TKE/l értéket, legmagasabb az oktatási intézmények esetén volt (5000 TKE/l; 6.4 ábra).



6.3 ábra Az egyes épülettípusokból vett HMV-minták *Legionella* csíraszám eloszlása, gyakorisági elemzése (N=1809)



6.4 ábra Az egyes épülettípusokból vett pozitív HMV-minták *Legionella* csíraszám eloszlása, gyakorisági elemzése (N=835)

Az eredményekből arra következtethetünk, hogy Magyarországon jelentős a használati melegvíz-rendszerek *Legionella* kolonizáltsága, ami azonban nemzetközi viszonylatban nem egyedülálló. A legtöbb külföldi vizsgálat a HMV-rendszerek hasonló mértékű szennyezettségéről számolt be [101, 152, 159, 162, 164, 171, 175, 221, 226, 243, 244, 246]. Eredményeink részletesebb összevetésére az irodalmi adatokkal az különböző épülettípusok csíraszámait elemző fejezeteknél külön-külön kerül sor (6.1.3 - 6.1.6. fejezet), mivel a vízhasználat, az expozíció típusa és gyakorisága, illetve a gyenge immunállapotú egyének aránya eltérő lehet a különböző típusú épületek esetében, így az azonos mértékű kolonizáció eltérő szintű kockázatot jelenthet.

A hazai prevalencia adatok megismerése azért is érdekes, mert Magyarországon – ellentétben a kérdést jogszabályi rendszerrel korábban is szabályozó országokkal, – a megrendelésre történő vizsgálatok kivételével, a legtöbb üzemeltető a vízmintavétel előtt nem ismerte a legionellosis hálózati vízhez köthetőségének problematikáját, így az általunk vizsgált vízhálózatok nagytöbbségét a *Legionella* kolonizáció kockázatának figyelmen kívül hagyásával üzemeltették.

Ugyanakkor az összes üzem vizsgálata megrendelésre történt, amiből arra következtettünk, hogy ott a vevő találkozott már a kérdéssel. Ennek ellenére a vizsgált üzemek HMV-rendszereinek háromnegyede (77,1 %) szennyezett volt legionellával. Az eredményeink arra utalnak, hogy az üzemeltetők bár ismerik a problémát, hatékony és tartós kockázatcsökkentést nem érnek el és a rendszerek *Legionella* csíraszámát nagyon nehezen csökkentik. Ez egybevág a nemzetközi adatokkal, hiszen olyan országokban sem alacsonyabb a HMV-rendszerek szennyezettsége, ahol a kérdést jogszabály kezeli [171, 175]. A nemzetközi tulajdonú cégek anyavállalatai – a jogszabályi háttér hiányának ellenére – gyakran előírták a *Legionella*

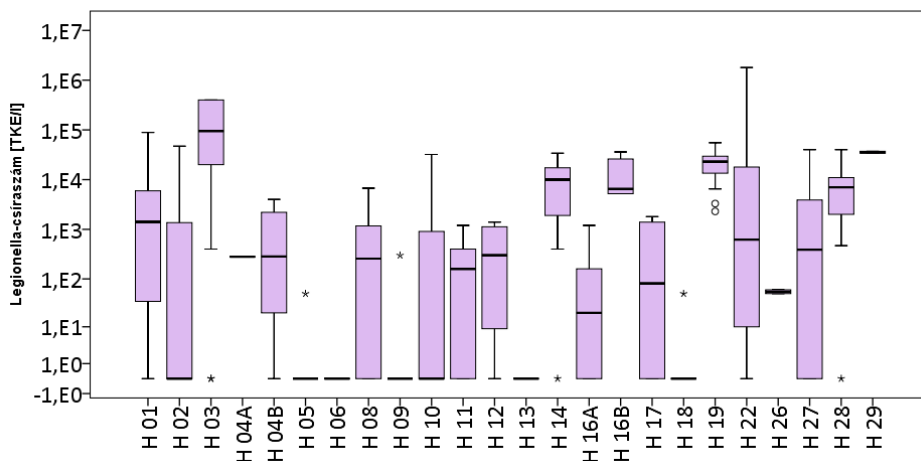
vizsgálatot. Belső határértékek azonban nem álltak rendelkezésre, így nem ritkán a rossz vízvizsgálati eredmény birtokában sem történt kockázatcsökkentő beavatkozás. Hosszú távon kivétel nélkül láttunk azonban törekvéseket az üzemeltetők részéről a kockázat csökkentésére.

### 6.1.3 Egészségügyi intézmények vízhálózatának *Legionella* szennyezettsége

A kórházban kezelt, gyakran gyenge immunállapotú betegek különösen fogékonyak a legionárius betegségekre [161], így jelen munka közegészségügyi szempontból egyik legfontosabb része a kórházi vízhálózatok *Legionella* szennyezettségének felmérése volt.

Húsz fekvő- és két járóbeteg szakellátó egészségügyi intézmény, összesen 24 HMV-hálózatát vizsgáltuk. Egy esetben a pavilon rendszerű kórház két önálló hőközponttal és használati melegvíz-hálózattal rendelkezett (H 16A és B), egy másik esetben pedig egyetlen többemeletes kórházi épületen belül két teljesen különálló HMV-rendszer üzemelt (H 04A és B). A kórházakból 636 hálózati vízmintát vettünk, amely közül 128 hideg, 441 meleg, 67 pedig kevert minta volt.

A kórházi hidegvíz minták eredményei hasonlítottak az összes épülettípusból származó minták eredményére (6.1.1 fejezet): a 128 minta mediánja 0, a pozitív minták aránya 38,3 % (49/128), az 1000 TKE/l feletti vízminták aránya 8,6 % (11/128), a legmagasabb csíraszám  $3,4 \cdot 10^6$  TKE/l volt.



6.5. ábra Egészségügyi intézmények használati melegvíz-hálózataiból származó vízminták *Legionella* csíraszámának eloszlása, vízhálózatonként ( $N_{H01}=64, N_{H02}=48, N_{H03}=33, N_{H04A}=1, N_{H04B}=6, N_{H05}=8, N_{H06}=8, N_{H08}=10, N_{H09}=14, N_{H10}=24, N_{H11}=14, N_{H12}=4, N_{H13}=16, N_{H14}=15, N_{H16A}=6, N_{H16B}=5, N_{H17}=8, N_{H18}=8, N_{H19}=23, N_{H22}=36, N_{H26}=2, N_{H27}=72, N_{H28}=14, N_{H29}=2; N_{\text{összes}}=441$ )

A 24 HMV-rendszer közül *Legionella* mindössze kettőből nem volt kimutatható (8,3 %), öt továbbiában pedig a vízminták mediánja 0 TKE/l volt. A 24 kórházi vízhálózat közül 4 esetben (16,7 %) elérte, vagy meghaladta a minták csíraszámának mediánja a  $10^4$  TKE/l, további 3 esetben pedig a  $10^3$  TKE/l (12,5 %) értéket (6.5. ábra). A legnagyobb mértékben a „H 03” kórház melegvíz-hálózata volt szennyezett. Ebben az esetben a minták csíraszámának mediánja közel  $10^5$  TKE/l

volt ( $9,5 \cdot 10^4$  TKE/l), de a „H 22”-es kórház esetében is kiugróan magas értékeket mértünk. Ezen kórház egyik kórterméből  $1,7 \cdot 10^6$  TKE/l csíraszámban mutattunk ki legionellákat. Tovább súlyosbította a helyzetet, hogy a kórteremben legyengült immunállapotú betegek kezelése folyt.

Az Európában mértékadó francia szabályozás szerint a kritikus pontokon, azaz minden olyan mosdón, zuhanyzón, amit fertőző betegségekre fokozott fogékonyságú páciensek használhatnak, ill. azok közelében fekszik a beteg, a cél a hálózati vízminták 100 TKE/l alatti csíraszám elérése [293]. Ilyen kritikus pontok pl. az intenzív osztályok, a transzplantált betegek környezete, a hematológiai és a kemoterápiás osztályok. Nem találtunk szignifikáns különbséget a kritikus pontokról vett (140) és az általános kórházi HMV-minták (301) csíraszám között (Mann-Whitney próba,  $p=0,447$ ; 6.3. táblázat). Ez nem meglepő, mivel azt tapasztaltuk, hogy a kórházak jellemzően semmilyen helyi kockázatcsökkentő megoldást sem alkalmaztak ezeken a kritikus pontokon, mivel a kritikus pontokra vonatkozó szigorú elvárásokkal és ajánlásokkal az üzemeltetők és a higiénikusok általában csak a mintavételkor találkoztak, ami gyakran (11 esetben) nosocomiális legionárius megbetegedés járványügyi kivizsgálás alkalmával történt.

A hazai kórházak hálózati vizének *Legionella* vizsgálataiból származó eredmények elemzésekor nem szabad figyelmen kívül hagyni, hogy az egészségügyi intézmények felében (11/22) a mintavételezés egészségügyi ellátással összefüggő legionellosis járványügyi kivizsgálásának részeként történt. Mivel az ilyen jellegű megbetegedések nagy részében az expozíciós forrás a kórházi vízhálózat, az eredményeink értékelésekor figyelembe kell venni, hogy az adatok pozitív irányba torzíthatnak, amit vizsgálati eredményeink is megerősítenek (6.3. fejezet). Mivel az Országos Közegészségügyi Központ az Állami Népegészségügyi és Tisztiorvosi Szolgálat része, a kórházak esetenként a környezeti *Legionella* vizsgálatára és az azzal összefüggő kockázatbecslésre – tartva a hatósági ellenőrzéstől – csak mérsékelten voltak nyitottak.

	Általános pont	Kritikus pont
<b>Minta [db]</b>	301	140
<b>Pozitív vízminták [db]</b>	204 (67,8 %)	83 (59,3 %)
<b>1000 TKE/l feletti minták [db]</b>	68 (22,6 %)	83 (16,4 %)
<b>25 %-os percentilis [TKE/l]</b>	0	0
<b>Medián [TKE/l]</b>	500	290
<b>75 %-os percentilis [TKE/l]</b>	$6,4 \cdot 10^3$	$8,1 \cdot 10^3$
<b>Maximum [TKE/l]</b>	$4,0 \cdot 10^5$	$1,8 \cdot 10^6$

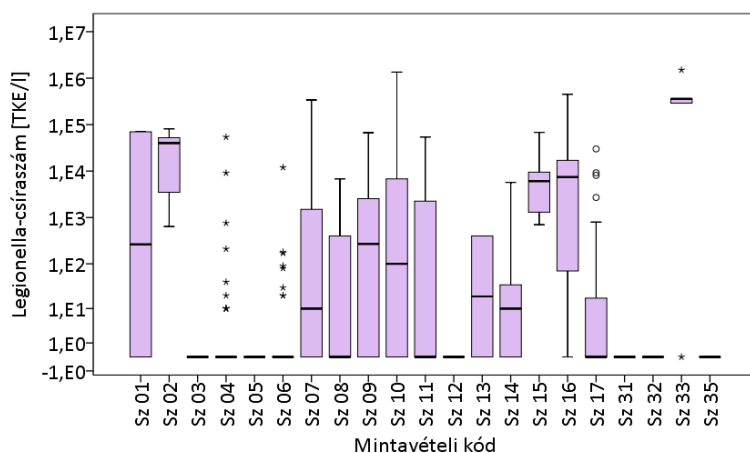
6.3. táblázat Az egészségügyi intézmények általános, illetve kritikusként azonosított mintavételi pontjairól vett használati melegvíz minták *Legionella* csíraszámainak jellemző értékei ( $N_{\text{összes}}=441$ )

A legnagyobb egészségügyi ellátással összefüggő legionellózis járványok mind hűtőtornyokhoz köthetők [105], ennek ellenére a nosocomialis legionárius megbetegedés elsődleges rezervoárjának a szakirodalom mégis a kórházi vízhálózatot tekinti [89, 99, 125, 128, 129, 134, 138, 140, 325, 326]. Vizsgálataink szerint a hazai egészségügyi intézmények használati vízrendszereinek *Legionella* szennyezettsége a nemzetközi adatokkal összevetve is magas. A külföldi prevalencia vizsgálatokban a kórházi vízrendszerek kolonizáltsága 12 % és 91,7 % között változott [221, 244, 325-331]. A 12 %-os kolonizáltságot (2/17 kórház) az Egyesült Királyságban [327], az eredményeinkhez hasonló 91,7 %-ost (11/12 kórház) az Amerikai Egyesült Államokban [331] mértek. Utóbbi esetben azonban nem volt reprezentatív a vizsgálat, mivel a felmérésbe csak az előzetes vizsgálat eredménye szerint legionellára pozitív vízhálózatú kórházakat vonták be. A hasonló mintaszámokkal elvégzett surveillance vizsgálatok a kórházi vízhálózatok 60-70 %-os kolonizáltsági arányát találták (Kanada, Amerikai Egyesült Államok, Tajvan) [325, 329, 330]. Az egészségügyi ellátással összefüggő legionárius betegség előfordulási gyakorisága az utóbbi években Magyarországon kevesebb, mint 1/1 millió lakos/év volt [40]. A kórházi hálózatok nagyfokú szennyezettségét feltáró eredményeink alátámasztották azt a feltételezésünket, hogy a valós előfordulási arány alábecsült. Figyelembe véve, hogy a fekvőbetegellátó intézetekben a gyenge immunállapotú egyének aránya az átlag populációhoz képest magasabb, a hazai kórházi vízhálózatok vizsgálati eredményei azonnali kockázatcsökkentő beavatkozást tennének szükségessé.

#### **6.1.4 Szálláshelyek használati hideg- és melegvíz-rendszerének *Legionella* szennyezettsége**

A vizsgált magyarországi szálláshelyek (22) erősen kolonizáltak voltak legionellával, kevesebb, mint egynegyedükből (5 szálloda, 22,7 %) nem tudtunk csupán legionellát kimutatni (6.6. ábra). A 21 szálloda közül 9 esetében (42,9 %) a melegvíz minták több mint fele pozitív volt és 4 (19,0 %) esetben a minták több mint fele 1000 TKE/l feletti csíraszámokban tartalmazott legionellát. A 340 HMV minta mediánja 0, 75 %-os percentilise 255 TKE/l volt. A hálózati hidegvíz minták (77) mediánja szintén 0 TKE/l volt, azonban a 75 %-os percentilise (0 TKE/l) is alacsonyabb volt a melegvíz mintákénál.

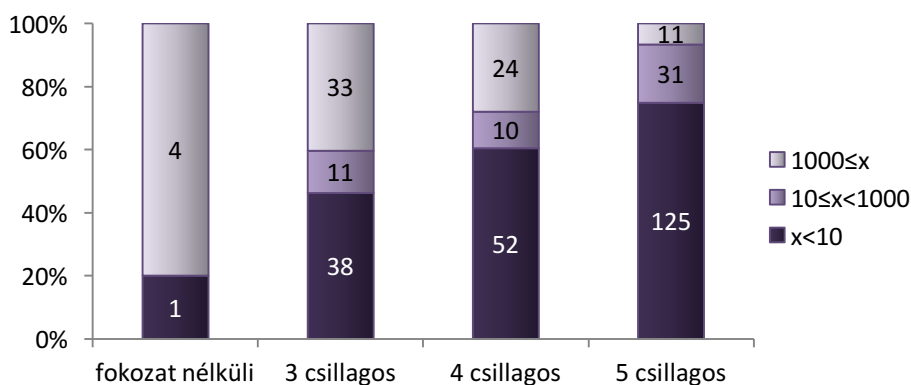
Legsúlyosabb mértékben a „Sz 02” és az „Sz 33” kódszámú két szálláshely HMV-rendszere bizonyult kolonizáltnak. Ezen szálláshelyekről vett használati melegvíz minták mediánjai  $4,0 \cdot 10^4$  és  $3,3 \cdot 10^5$ , legmagasabb csíraszámokai  $8,1 \cdot 10^4$  és  $3,6 \cdot 10^5$  TKE/l voltak. Mindkét szálláshely alsóbb kategóriás: egy kisvárosi panzió („Sz 02”), és egy szezonálisan üzemelő vadászház („Sz 33”), mindkettőt járványügyi kivizsgálás kapcsán vizsgáltuk.



6.6. ábra A szálláshelyek használati melegvíz-rendszereiből származó vízminták *Legionella* csíraszámának eloszlása, szálláshelyenként kategorizálva ( $N_{Sz01}=4$ ,  $N_{Sz02}=7$ ,  $N_{Sz03}=12$ ,  $N_{Sz04}=45$ ,  $N_{Sz05}=4$ ,  $N_{Sz06}=54$ ,  $N_{Sz07}=10$ ,  $N_{Sz08}=6$ ,  $N_{Sz09}=23$ ,  $N_{Sz10}=41$ ,  $N_{Sz11}=24$ ,  $N_{Sz12}=11$ ,  $N_{Sz13}=2$ ,  $N_{Sz14}=11$ ,  $N_{Sz15}=10$ ,  $N_{Sz16}=10$ ,  $N_{Sz17}=36$ ,  $N_{Sz31}=8$ ,  $N_{Sz32}=11$ ,  $N_{Sz33}=5$ ,  $N_{Sz35}=6$ ;  $N_{összes}=340$ )

A szálláshelyek komfortfokozatának növekedésével csökkent a pozitív és az 1000 TKE/l feletti csíraszámú minták aránya is (6.7. ábra), a különbség igen erősen szignifikáns volt (Kruskal-Wallis próba,  $p < 0,001$ ).

Európában a jelentett legionárius megbetegedések negyede-ötöde utazással összefüggő [57, 76], és a feltárt esetek többségében a szálláshelyek különböző vizes rendszereit azonosítják expozíciós forrásként [37]. Ez az arány arra enged következtetni, hogy az utazás közbeni kockázat magasabb a megszokott lakókörnyezeténél, mivel a legtöbb európai ember nem tölti idejének 20-25 %-át szálláshelyen.



6.7. ábra A különböző fokozatú szálláshelyekről vett használati melegvíz-minták megoszlása a *Legionella* csíraszám alapján ( $N=340$ )

A 21 szálláshely közül 15 HMV-rendszeréből mutattunk ki legionellát (71,5 %) és ezek 2/3-ából vettünk legalább egy olyan mintát, aminek csíraszámja meghaladta az 1000 TKE/l-es értéket. A 21 szálloda közül 5 vizes rendszerét járványügyi kivizsgálás keretén belül mintáztuk (3/5 pozitív).



Magyarországon az utazással összefüggő legionárius betegség aránya az európai átlaghoz képest alacsonyabb (10 % ill. 20-25 %) [39, 40]. Ehhez képest a hazai szálláshelyek HMV-rendszereinek nagyfokú, 71,5 %-os kolonizáltsága meghaladja a többi ország prevalencia-szintjeit, amelyek a szállodák HMV-hálózatának 21 % - 75 %-os kolonizáltságát mutatták [164, 165, 235, 243, 332].

A szálláshelyek esetében a kockázatkezelés során számolni kell azzal, hogy a használaton kívüli, nem lakott szobákhoz tartozó fürdőszobák vizes rendszereiben hosszabb ideig tartó pangás alakulhat ki, ami növeli a legionellák elszaporodásának kockázatát. Ez a vízcsapok kifolytatásával megelőzhető, amit a munkavédelmi előírások betartása mellett legalább a szállóvendégek beköltözése előtt – de lehetőleg a lakatlan időszakban rendszeresen – el kell végezni.

A szállodák esetében a hálózati vízrendszer mellett a medencés fürdők, különösen a pezsgőmedencék fokozott kockázatot jelentenek (0 fejezet).

Erős negatív összefüggést tapasztaltunk a szálláshelyek komfortfokozata (csillagok száma) és a HMV-rendszereiknek *Legionella* szennyezettsége között. Ennek hátterében az is állhat, hogy a magasabb szolgáltatási színvonalú szállodák esetében az egyre tudatosabb szállóvendégek elvárása már a közegészségügyi kockázat – beleértve a *Legionella* kockázat – csökkentése is. Így ezen szállodák egy részében rendszeresen végeztettek *Legionella* vizsgálatot és nem-megfelelőség esetén általában azonnali kockázatcsökkentő intézkedést alkalmaztak.

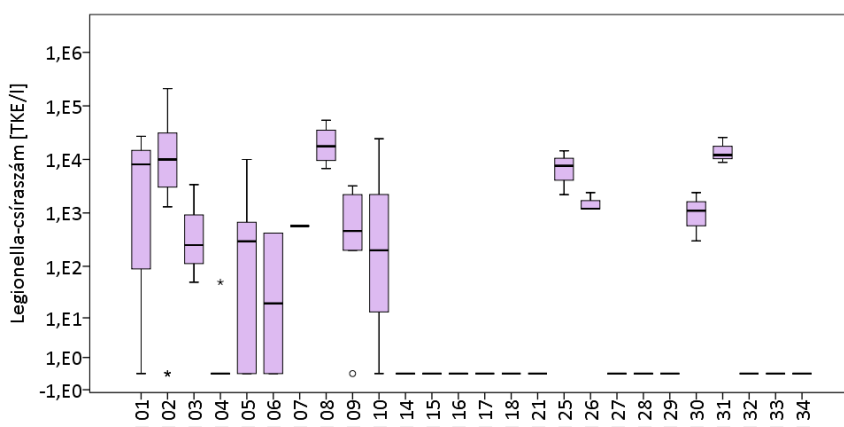
#### **6.1.5 Legionellák előfordulása oktatási intézmények használati hideg- és melegvizében**

Összesen 26 oktatási intézményt – köztük legnagyobb arányban középiskolákat – mintáztunk (1 óvoda, 12 általános- és középiskola, 22 középiskola és 1 felsőoktatási intézmény). Az oktatási intézmények csoportja homogén volt: egy községi óvoda kivételével mind több emeletes, jellemzően összetett vízhálózatú épület volt, épületen belüli, központi melegvíz-ellátással, mérsékelt melegvíz-fogyasztással (egyik sem volt bentlakásos intézmény).

Az oktatási intézményekből 13-ból került sor hidegvíz minta vételére (17 minta). A 17 mintából összesen három intézményből hat minta volt pozitív legionellára nézve. Egyetlen hidegvíz minta kivételével („I 02”, 9100 TKE/l) az ivóvízminták *Legionella* csíraszámra mérsékeltnek bizonyult (medián 0 TKE/l, legmagasabb csíraszám 330 TKE/l).

A 26 oktatási intézmény HMV-rendszeréből *Legionella* 14-ből (53,9 %) volt kimutatható, és 11-ből (42,3 %) vettünk 1000 TKE/l feletti koncentrációban legionellát tartalmazó mintát (6.8. ábra). Az oktatási intézmények HMV rendszerei egységes csoportot alkottak, azaz

nagyságrendileg azonos méretű épületek és gyakran túlméretezett, nem megfelelően beszabályozott, önálló hőközponttal és HMV-előállítással rendelkező, zömében korszerűtlen használati melegvíz rendszerek jellemezték ezt a kategóriát. Az egységes épületgépészeti jellemzők ellenére az oktatási intézmények HMV-rendszereinek *Legionella* szennyezettsége tág határok között mozgott. Az egyéni melegvízellátású lakóingatlanok (6.1.6 fejezet) után az oktatási intézmények alkották a legkevésbé szennyezett csoportot. Ezzel ellentétben azonban három intézmény esetében a minták mediánja („I 02”, „I 08” és „I 31”) meghaladta a  $10^4$  TKE/l-es csíraszám értéket. Egyetlen iskola 3 melegvíz mintájából is  $10^5$  TKE/l vagy afeletti csíraszámúban tenyésztett ki *Legionella* baktérium. Ezen 3 minta hőmérséklete egy perces kifolytatás után is kritikusan alacsony maradt (23,2 - 35,8 °C) és beavatkozás hiányában a kiugró mértékű szennyezettség éveken keresztül fennállt.



6.8. ábra Az oktatási intézmények használati melegvíz-hálózataiból származó vízminták *Legionella* csíraszámának eloszlása, az oktatási intézményenként kategorizálva ( $N_{I01}=3$ ,  $N_{I02}=27$ ,  $N_{I03}=3$ ,  $N_{I04}=7$ ,  $N_{I05}=18$ ,  $N_{I06}=2$ ,  $N_{I07}=1$ ,  $N_{I08}=4$ ,  $N_{I09}=5$ ,  $N_{I10}=3$ ,  $N_{I14}=2$ ,  $N_{I15}=5$ ,  $N_{I16}=3$ ,  $N_{I17}=3$ ,  $N_{I18}=5$ ,  $N_{I21}=4$ ,  $N_{I25}=3$ ,  $N_{I26}=3$ ,  $N_{I27}=3$ ,  $N_{I28}=3$ ,  $N_{I29}=3$ ,  $N_{I30}=3$ ,  $N_{I31}=3$ ,  $N_{I32}=3$ ,  $N_{I34}=3$ ;  $N_{összes}=125$ )

2007-ben 13 székesfehérvári, 2012-ben 10 szolnoki középiskola mintázására került sor [154, 314]. Nem találtunk különbséget a két megyeszékhely középiskoláinak HMV-rendszereiből (47 és 30) vett vízminták *Legionella* csíraszámában között (Mann-Whitney próba,  $p=0,744$ ). A legnagyobb különbség a két csoport vízellátása között volt; míg a székesfehérvári iskolák karsztvíz, addig a szolnokiak felszíni víz eredetű ivóvízzel tápláltak, azonban ez a különbség nem jelent meg a vízvizsgálati eredményekben.

A hálózati víz *Legionella* prevalencia vizsgálatok jellemzően nem terjedtek ki az oktatási intézményekre, nincs tudomásunk ilyen jellegű nemzetközi felmérésről sem. Ennek az állhat a hátterében, hogy a gyermekek és a fiatal felnőttek nem tartoznak a legionellosis kockázati csoportjába. Szakirodalmi adatok szerint a legionellosisban érintett gyermek ill. fiatal betegek  $\frac{3}{4}$ -e rendelkezett valamilyen legyengült immunállapotot eredményező alapbetegséggel a

fertőzés kialakulásakor [42]. Az oktatási intézményeket, mint lehetséges expozíciós forrást figyelmen kívül hagyó vizsgálatok nem számoltak azonban azzal, hogy egyre nagyobb arányban legyengült immunállapotú betegek is lehetnek oktatási intézmények tanulói, illetve hogy az ismert esetek ¼-ében egészséges fiatalok voltak érintettek, továbbá hogy a hálózati víz *Legionella* szennyezettsége munkavédelmi kérdés is. Sőt, az iskolákhoz tartozó sportlétesítményeket tanítás után akár a kockázati csoportba tartozó idősebb korúak is igénybe vehetik. A tény, hogy nincs tudomásunk oktatási intézményben szerzett legionárius betegségről feltételezhetően arra vezethető vissza, hogy területen szerzett megbetegedés esetén különösen nehéz az expozíció forrásának azonosítása, illetve a járványügyi kivizsgálások során a szakemberek az oktatási intézmények hálózati vizével, mint lehetséges expozíciós forrással egyáltalán nem is számolnak.

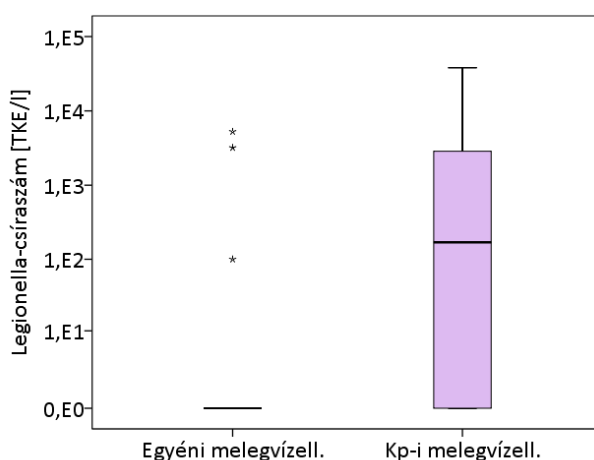
Az oktatási intézmények vízrendszerei tipikus rezervoárjai lehetnek a legionelláknak: az iskolák jellemzően nagy épületek, hosszú és gyakran túlméretezett vízhálózattal, többnyire korlátozott anyagi lehetőségekkel. Fokozhatja a legionellák elszaporodásának esélyét az a tény is, hogy a hosszabb szünetek alkalmával, a rendszer egészében vagy egyes részein pangás alakulhat ki, ami kedvező feltételt jelenthet a legionellák elszaporodásához. Másik probléma, hogy óvodákban, iskolákban, gyakran a forrázás elkerülése érdekében a használati melegvíz hőmérsékletét alacsony, a legionellák szaporodásának kedvező hőmérsékleten tartják [300]. Az igen nagymértékben kolonizált „I 02” kódszámú oktatási intézményben például a forrázás-veszélyre hivatkozva nem kerestek hosszú éveken keresztül megoldást a *Legionella* szennyezettség kérdésére. Vizsgálati eredmények ismeretében valószínűsíthető, hogy egy-egy sporadikus eset hátterében oktatási intézmények használati melegvize áll expozíciós forrásként.

#### **6.1.6 Lakóingatlanok hálózati hidegvizének és melegvizének *Legionella* szennyezettsége**

A lakóingatlanok közül két lakás (2/24, 8,3 %; „ME 49” és „MK 56”) hidegvíz mintájából mutattunk ki alacsony csíraszámú legionellát (50 TKE/l és 60 TKE/l). Mindkét esetben a használati melegvíz minta is pozitívnak bizonyult legionellára nézve, ami felveti a kérdést, hogy a pozitív hidegvíz minták esetén a mintázott csap biztosított-e rezervoárt a legionelláknak. Ennek ellentmond az, hogy egy esetben („ME 49”) a hidegvízből egyéb, nem-*pneumophila Legionella* faj, a melegvízből *L. pneumophila* 2-14 tenyésztett ki. Lehetséges magyarázat lehet még, hogy a végkifolyóhoz közeli csőszakaszban, vagy a csapban pangó vízben elszaporodó legionellák kolonizálták a hálózat csap

feletti szakaszát, de nem zárható ki az sem, hogy az ivóvízhálózat is kolonizált volt legionellával, és a kitenyészett legionellák valóban hidegvíz eredetűek.

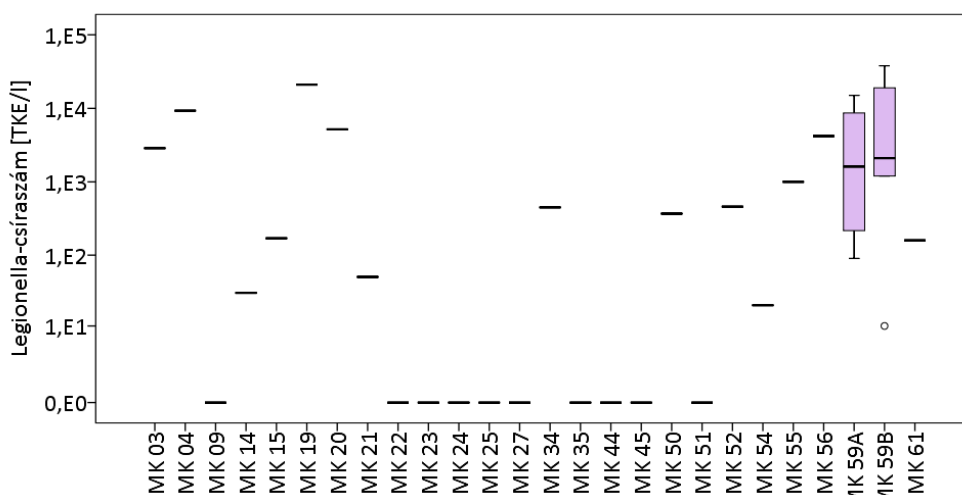
A lakóingatlanokat – használati melegvíz ellátásuk alapján a *Legionella* kockázat szempontjából – két nagy csoportba bontottuk: az egyedi (26), ill. a központi melegvíz-termelővel ellátott épületek csoportjába (26). Általánosan elfogadott, hogy a  $0,4 \text{ m}^3$ -nél kisebb HMV-tárolók, vagy az átfolyós rendszerek a legionellák elszaporodása szempontjából alacsony kockázatot jelentenek (Izd. 6.4.3.2. fejezet) [165, 294, 333]. Előbbi csoportba azon lakások kerültek, amelyek esetében a melegvíz-termelés a lakáson belül történt, azaz egy otthon látott el a rendszer. Utóbbiba a távhő által szolgáltatott melegvízzel, vagy házközpontú melegvíz-ellátással rendelkező lakások kerültek.



6.9. ábra A lakóingatlanok használati melegvíz-hálózataiból származó vízminták *Legionella* csíraszámának eloszlása, a használati melegvíz-termelés alapján kategorizálva ( $N_{\text{egyéni melegvízell.}}=36$ ,  $N_{\text{Kp-i melegvízell.}}=33$ ,  $N_{\text{összes}}=69$ )

Várakozásainknak megfelelően az egyéniekhez képest (36 minta, medián 0 TKE/l) a központi HMV-ellátású lakásokból vett melegvíz minták (33 minta, medián 170 TKE/l) csíraszama magasabb volt, az eredmény igen erősen szignifikáns volt (Mann-Whitney próba,  $p < 0,001$ ; 6.9. ábra).

Az egyedi HMV-termelővel rendelkező otthonok közül két lakásból vett melegvíz mintából (2/26; 7,7 %) mutattunk ki legionellát: egy tároló nélkül működő, kombi gázkazános lakás melegvízes rendszeréből alacsony csíraszámú (100 TKE/l), amely esetén a hidegvíz is pozitív volt, magas csíraszámú pedig ( $3,2 \cdot 10^3$  és  $5,3 \cdot 10^3$  TKE/l) egy, a vízfogyasztási igényekhez képest túlméretezett, alacsony hőmérsékletre ( $45 \text{ }^\circ\text{C}$ ) állított villanybojlerből. A központi HMV-ellátású épületek csoportjába (26) tartozó 16 (61,5 %) lakásból vett vízmintából izoláltunk legionellát, közülük 8 (30,8 %) rendszerből 1000 TKE/l, 3-ból  $10^4$  TKE/l csíraszámot meghaladó értékben (6.10. ábra). A legmagasabb csíraszám  $3,8 \cdot 10^4$  TKE/l volt.



6.10. ábra A központi melegvíz-ellátású lakások HMV-hálózataiból származó vízminták *Legionella* csíraszámának eloszlása, HMV-rendszereként kategorizálva ( $N_{MK03}=1$ ,  $N_{MK04}=1$ ,  $N_{MK09}=1$ ,  $N_{MK14}=1$ ,  $N_{MK15}=1$ ,  $N_{MK19}=1$ ,  $N_{MK20}=1$ ,  $N_{MK21}=1$ ,  $N_{MK22}=1$ ,  $N_{MK23}=1$ ,  $N_{MK24}=1$ ,  $N_{MK25}=1$ ,  $N_{MK27}=1$ ,  $N_{MK34}=1$ ,  $N_{MK35}=1$ ,  $N_{MK44}=1$ ,  $N_{MK45}=1$ ,  $N_{MK50}=1$ ,  $N_{MK51}=1$ ,  $N_{MK52}=1$ ,  $N_{MK54}=1$ ,  $N_{MK55}=1$ ,  $N_{MK56}=1$ ,  $N_{MK59A}=4$ ,  $N_{MK59B}=5$ ,  $N_{MK61}=1$ ,  $N_{összes}=33$ )

A lakóingatlanok HMV-rendszerei fontos kockázati tényezői a területen szerzett legionárius megbetegedéseknek [150, 334-338]. Prospektív klinikai vizsgálatok közvetlen összefüggést találtak a lakóingatlanok hálózati vizében előforduló legionellák jelenléte és a legionárius megbetegedés előfordulása között [102]. A területen szerzett megbetegedésekre jellemző módon, a lakóingatlanokhoz kötött megbetegedések esetében is ritkán azonosítják az expozíciós forrást. Az esetek általában sporadikusak; járványokat ritkán azonosítanak [102, 142, 144]. Annak ellenére, hogy egyes szerzők szerint a lakóingatlanok használati vízrendszerei nem jelentenek veszélyt a legionárius megbetegedés szempontjából, eredményeink arra utalnak, hogy a központi melegvíz-ellátású lakóingatlanok melegvízes rendszerei egyéb, hasonló méretű épülettípusokéhoz képest nem jelentenek lényegesen kisebb kockázatot [152].

A különböző publikációk a lakóingatlanok HMV-rendszereinek 6,2-32,7 %-ának pozitívitásáról számoltak be [101, 152, 159, 244]. Eredményeink szerint a vizsgált otthonokból vett vízminták 34,0 %-a volt pozitív legionellára nézve (18/53). A pozitívitási arány azonban erősen függött a HMV-termelés módjától, ill. a rendszer nagyságától. Egy német vizsgálatban a többlakásos társasházakban (beleértve a panelházakat is) található lakásokból vett melegvíz minták 65 %-a volt pozitív [226]. Egy másik német vizsgálatban a távhő által biztosított hővel melegített vízzel ellátott otthonok feléből mutattak ki legionellát, míg az egyedi melegvíz-termelővel biztosított melegvíz minták negatívak voltak [171]. A hazai eredmények ezen vizsgálatokkal összhangban állnak, hiszen a központi-termelésű melegvízzel ellátott lakások 61,4 %-a volt pozitív.

Kevés tanulmány különböztette meg a lakóingatlanokat a melegvíz-termelés módja szerint. Az egyedi melegvíz-termelésű lakóingatlanok esetében a magyar rendszerek kolonizáltsága

használati vízrendszerek eredményéhez [171, 243]. Több tanulmány lényegesen magasabb kolonizáltsági arányt talált az egyedi melegvíz-termelők esetében a tárolós rendszereknél (tárolós villany-, vagy gázbojler) az átfolyósakhoz képest [171, 246]. Ez az összefüggés eredményeink alapján nem vizsgálható, mivel egy-egy rendszer volt csupán pozitív.

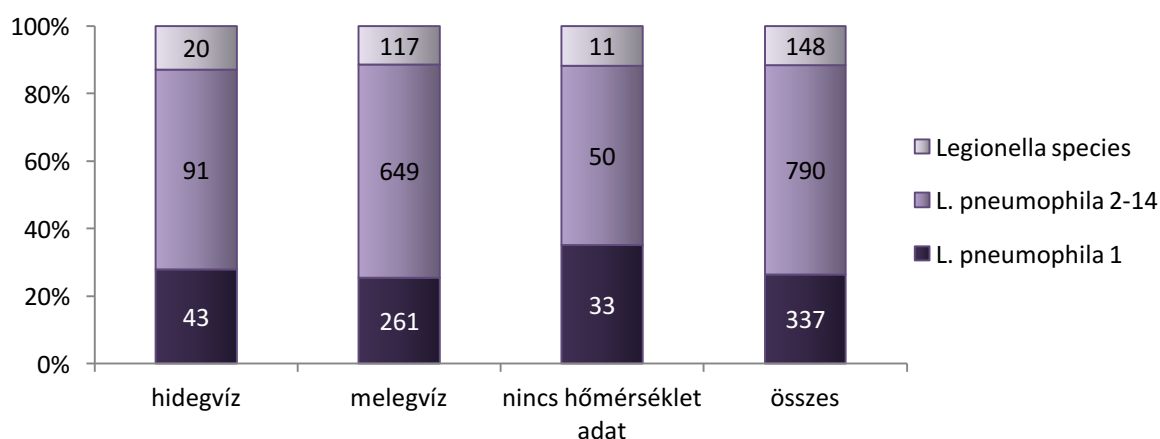
### 6.1.7 Használati vízrendszereket kolonizáló legionellák azonosítása és tipizálása

#### 6.1.7.1 Antigén reakción alapuló tipizálás

A legionellára nézve pozitív 1054 vízminta közül 337 (32,0 %) mintából mutattunk ki *L. pneumophila* 1-es, 790 mintából (75,0 %), *L. pneumophila* 2-14 szerotípusú baktériumot Oxoid latex teszttel vizsgálva és 148 vízmintából (14,0 %) izoláltunk olyan legionellákat, amelynek faji szintű azonosítása az Oxoid latex teszttel nem történt meg (egyik savóban sem agglutinált).

Irodalmi adatok szerint a hálózati hideg- és melegvíz faji összetétele lényegesen különbözhet; a legtöbb vizsgálat eredménye szerint a hálózati hidegvízben a *Legionella spp.* a domináns [164, 227, 228], míg a használati melegvízben a *L. pneumophila*, főleg 2-14 szerocsoportjának túlsúlyáról számoltak be a kutatások [164, 226, 228]. Az irodalmi adatokkal ellentétben nem találtunk különbséget a különböző hálózati vízmintákból izolált legionellák faji- és szerotípus-eloszlása között (Chi<sup>2</sup>-próba, p=0,275), így a továbbiakban az összes legionellára nézve pozitív vízmintát egy halmazként kezeltük a faji- ill. szerotípus eloszlás-elemzésekben a hálózati vízminta jellegétől (hidegvíz, használati melegvíz, ill. egyéb) függetlenül (6.11. ábra).

Az 1054 legionellára nézve pozitív vízminta közül az Oxoid latex agglutinációs teszttel homogén, csak *L. pneumophila* 1, 2-14, vagy egyéb *Legionella* fajt tartalmazó, 843 vízminta volt (80,0 %). Legalább két fajt, vagy szerotípust 201 mintából (19,1 %) azonosítottunk, *L. pneumophila* 1-et és 2-14-t, illetve legalább egy nem-*pneumophila* legionellát 10 mintából (0,9 %) mutattunk ki.



6.11. ábra A legionellára nézve pozitív vízminták faj és szerotípus százalékos eloszlása Oxoid latex agglutinációs teszttel vizsgálva a hálózati vízminták jellege szerint kategorizálva (N<sub>összes</sub>=1054)

Épülettípusonként külön vizsgálva a legionellák faj- és szerotípus-eloszlását, az egészségügyi intézmények pozitív vízmintáiban volt a legnagyobb a *L. pneumophila* 1 izolátumok aránya (48,1 %, 176 minta)<sup>8</sup>. Ez azért különösen veszélyes, mert a *L. pneumophila* 1-es szerotípus fertőzőképessége a legnagyobb a legionellák közül, és a kórházakban lényegesen több a fogékony ember, mint az átlag populációban, ami fokozza a megbetegedés kockázatát [161].

Irodalmi adatokkal összhangban a pozitív minták legnagyobb részéből *L. pneumophila* 2-14 szerocsoportot azonosítottunk [164, 226, 243]; legnagyobb arányban a központi melegvízellátású lakóingatlanok (95,8 %) és az irodaházak (94,1 %), legalacsonyabb arányban a szállodák (64,0 %) pozitív vízmintái tartalmazták a kimutatási határ felett ezt a szerocsoportot. A nem-*pneumophila* fajokat tartalmazó minták aránya 3,9 % (oktatási intézmény) és 23,5 % (szálloda) között változott az összes pozitív mintához képest. A 22 legionellára nézve pozitív egészségügyi intézmény közel háromnegyedéből (16/22) mutattuk ki *L. pneumophila* 1-et szerotípust, de a pozitív üzemek és irodaházak fele is (14 és 3) kolonizált *L. pneumophila* 1 szerotípussal.

A használati vízrendszerekben a *L. pneumophila* 2-14 dominanciáját mutatja az is, hogy a pozitív épületek vízhálózatainak, az egyéni melegvízzel ellátott lakóingatlanok kivételével, legalább 2/3-ból azonosítottuk ezt a szerocsoportot. Egyéb *Legionella* faj a *L. pneumophila* 1-hez hasonló gyakorisággal kolonizálta a különböző épületek használati vízrendszereit (6.4. táblázat).

INTÉZMÉNY FAJTÁJA	LEGIONELLÁRA NÉZVE POZITÍV INTÉZMÉNYEK SZÁMA				
	<i>L. pneumophila</i> 1	<i>L. pneumophila</i> 2-14	Egyéb <i>Legionella</i>	Több típus	Összes pozitív
Üzem (összes)	14 (50,0 %)	26 (92,9 %)	13 (46,4 %)	17 (60,7 %)	28
Egészségügyi intézmény	16 (72,7 %)	18 (81,8 %)	16 (72,7 %)	16 (72,7 %)	22
Irodaház	3 (50,0 %)	6 (100 %)	3 (50,0 %)	5 (83,3 %)	6
Lakóingatlan - egyéni melegv.	2 (100 %)	0 (0 %)	1 (50,0 %)	1 (50,0 %)	2
Lakóingatlan - kp-i melegv.	2 (12,5 %)	15 (93,8 %)	2 (12,5 %)	3 (18,8 %)	16
Okatási intézmény	6 (42,9 %)	9 (64,3 %)	3 (21,4 %)	3 (21,4 %)	14
Szálloda	7 (41,2 %)	12 (70,6 %)	7 (41,2 %)	8 (47,1 %)	17
<b>ÖSSZESEN</b>	<b>50 (47,6 %)</b>	<b>86 (81,9 %)</b>	<b>45 (42,9 %)</b>	<b>53 (50,5 %)</b>	<b>105</b>

6.4. táblázat A legionellára nézve pozitív intézmények vízhálózatainak százalékos megoszlása az alapján, hogy a vízhálózatból kimutattunk-e *L. pneumophila* 1-t, *L. pneumophila* 2-14-t és/vagy egyéb *Legionella* fajt, illetve intézmény-fajtánként azon épületek száma, amelyek vízhálózatából több típusú legionellát azonosítottunk az Oxoid latex agglutinációs teszttel (N=105), rövidítés: melegv.: melegvízellátás

A vizsgált épületek vízhálózatainak többségét nem egy *Legionella* törzs kolonizálta. Már a kevésbé differenciáló Oxoid agglutinációs teszt is a legionellára nézve pozitív 105 vízhálózat közül 53 (50,5 %) esetében több különböző fajt, vagy szerotípust azonosított (6.4. táblázat). Annak ellenére,

<sup>8</sup> Az egyéni melegvízellátású lakóingatlanok faji diverzitás-vizsgálatának az eredményét a vízminták alacsony pozitivitása miatti torzítás okán figyelmen kívül hagytuk.

hogy mintánként több (legalább 3-5) törzset is izoláltunk és a fenotípusos elkülönítésre is törekedtünk, nagy csíraszámú ( $>10^4$  TKE/l) minták esetén lehetetlen feladat volt a mintában előforduló valamennyi faj és típus izolálása és azonosítása.

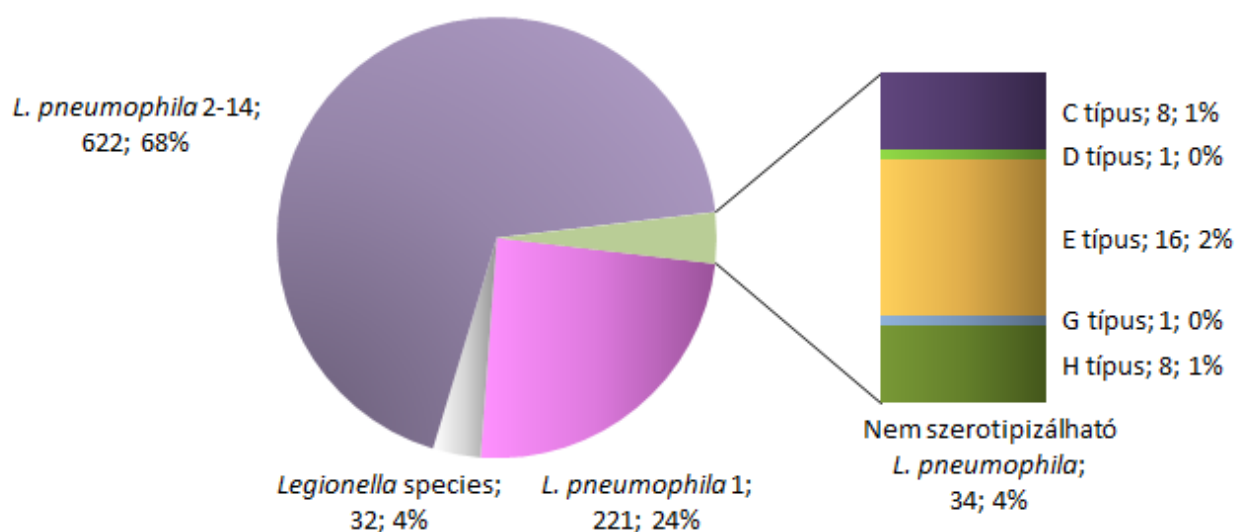
Eredményeink összhangban vannak az irodalmi adatokkal, miszerint a használati vízrendszerek *L. pneumophila* kolonizációja a domináns. A legtöbb pozitív mintából *L. pneumophila* 2-14 volt kimutatható (épülettípusonként 64,0 - 95,8 %), de a *L. pneumophila* 1-gyel való szennyezettségi arány is magas volt (8,3 - 48,1 %). A különböző kutatások eredményei azonban az egyes szerotípusok előfordulási gyakorisága közötti különbségről számoltak be. A legtöbb prevalencia-vizsgálat a *L. pneumophila* 2-14 dominanciáját írta le [164, 167, 243, 339, 340], míg más szerzők a legnagyobb arányban *L. pneumophila* 1-es szerotípusú baktériumokat izoláltak hálózati vízmintákból [152, 171, 329, 331, 338]. A környezeti dominanciája ellenére a *L. pneumophila* 2-14 az európai megbetegedések mindössze 10-15 %-ban állt kóroki ágensként a háttérben, tehát a *Legionella* fajok és szerotípusok klinikai megoszlása nem felelt meg a környezeti eloszlásuknak, ami közvetve igazolta a *L. pneumophila* 1 fokozott fertőzőképességét [37, 38, 41, 339].

A többi épülettípushoz képest nagyobb arányban izoláltunk kórházi használati vízrendszerekből *L. pneumophila* 1-es szerotípusú baktériumokat (48,1 %). A jelentési és a diagnosztizálási módszerek sajátosságain túl talán ez is magyarázhatja a jelentett legionárius megbetegedések közül az egészségügyi ellátással összefüggő esetek nagy arányát hazánkban [63, 66], hiszen a csíraszám mellett a vízhálózatot szennyező legionellák faji megoszlása is növeli a megbetegedés kialakulásának kockázatát [89, 120, 341]. Mem hagyható figyelmen kívül azonban az egészségügyi intézmények esetében a járványügyi szempontból érintett kórházak felülreprezentáltsága.

Az 1054 pozitív hálózati vízmintából 909 törzset vetettünk alá további szerológiai vizsgálatoknak, amelyek közül 877-et *L. pneumophila*-ként azonosítottunk. Sem az Oxoid, sem a Denka-Seiken agglutinációs rendszerrel nem tudtunk 32 izolátumot azonosítani, ezeket egyéb *Legionella* fajként rögzítettük az adatbázisban. A Drezdai-Panel 34 törzset nem szerotipizálható *L. pneumophila*-ként azonosított, ezek nagyrésztét (28/34; 82,4 %) az Oxoid *Legionella* latex agglutinációs teszt *L. pneumophila* 2-14 szerocsoportként identifika (6.12. ábra). Irodalmi adatok szerint a Drezdai-Panel teszt szenzitivitása és specificitása magasabb az Oxoid tesztnél, így ezen törzsek esetében a Drezdai-Panel eredményét vettük figyelembe [342], így az izolátumok C, D, E, G, vagy H típusú *L. pneumophila*-ként (nem *L. pneumophila* 2-14 szerocsoportba tartozó) kerültek azonosításra (6.12. ábra). Feltételezhetően az atípusos *L. pneumophila* prevalenciája a használati vízrendszerekben 4 %-nál valójában magasabb, mivel a véletlenszerűen kiválasztott, részletesen vizsgált és MAb-



tipizált 267 törzs 12,7 %-a (34) atípusos *L. pneumophila*. A 267 törzs a teljes vizsgálat során izolált és szerotipizált legionellák kb. 8 %-a volt. Az így becsült atípusos *L. pneumophila* hazai prevalenciája (kb. 13 %) magasabb volt a németországi vizsgálat eredményénél (3 %) [342].



6.12. ábra A hálózati vízmintákból összeállított *Legionella* gyűjtemény izolátumainak faji, ill. szerotípus szintű azonosításának eredménye (N=909)

A hálózati vízmintákból izolált törzsekből álló gyűjtemény 596 *L. pneumophila* törzsét azonosítottuk legalább szerotípus (562) vagy típus (34) szinten. Eredményeink összhangban voltak a korábbi hasonló német vizsgálatával, miszerint a hálózati vízmintákból nyert törzsekből összeállított gyűjteményünk leggyakoribb izolátuma a *L. pneumophila* 1., illetve a *L. pneumophila* 6, 10 és 3 volt (6.5. táblázat). Az utóbbi szerotípusokat is számos, főleg nosocomialis megbetegedéssel hozták már összefüggésbe (Irodalmi áttekintés, 3.2. táblázat) [6].

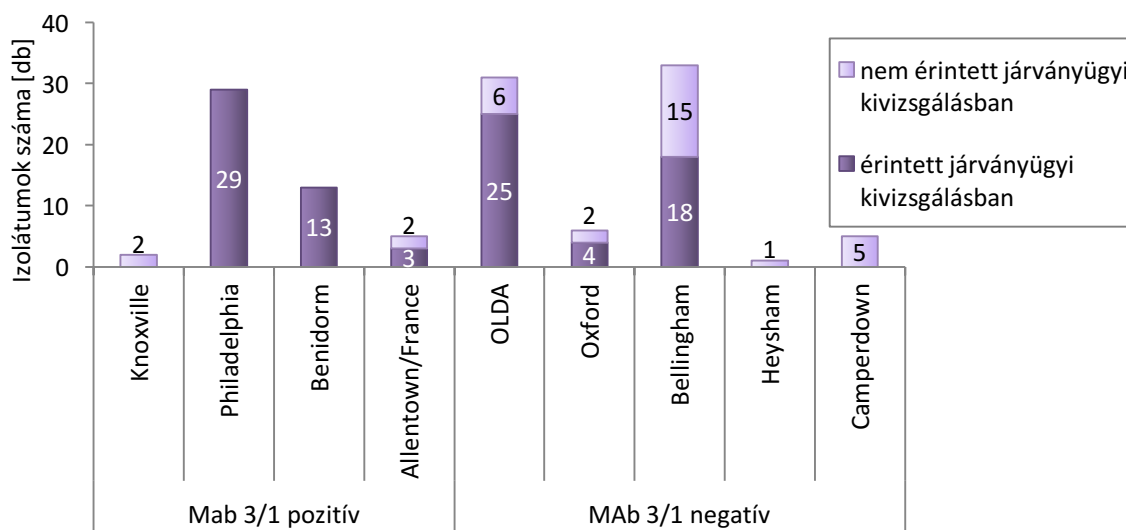
Szerotípus vagy típus	Izolátumok száma (%)	Szerotípus vagy típus	Izolátumok száma (%)
<i>L. pneumophila</i> 1	218 (36,6 %)	<i>L. pneumophila</i> 10	97 (16,3 %)
<i>L. pneumophila</i> 2	7 (1,2 %)	<i>L. pneumophila</i> 12	7 (1,2 %)
<i>L. pneumophila</i> 3	77 (12,9 %)	<i>L. pneumophila</i> C-típus	8 (1,3 %)
<i>L. pneumophila</i> 4	17 (2,9 %)	<i>L. pneumophila</i> D-típus	1 (0,2 %)
<i>L. pneumophila</i> 5	6 (1,0 %)	<i>L. pneumophila</i> E-típus	16 (2,7 %)
<i>L. pneumophila</i> 6	113 (19,0 %)	<i>L. pneumophila</i> G-típus	1 (0,2 %)
<i>L. pneumophila</i> 8	12 (2,0 %)	<i>L. pneumophila</i> H-típus	8 (1,3 %)
<i>L. pneumophila</i> 9	8 (1,3 %)		
<b>ÖSSZESEN</b>	<b>596 (100,0 %)</b>		

6.5. táblázat A hálózati vízmintákból izolált *Legionella* törzsekből összeállított gyűjtemény szerotípus, vagy típus-szinten azonosított izolátumainak gyakorisága és százalékos megoszlása (N=596)

A gyűjtemény tartalmazott 127 olyan törzset, amelyet az Oxoid latex teszttel *L. pneumophila* 2-14-ként azonosítottunk, viszont a Denka-Seiken módszerrel nem adott pozitív eredményt. A 127 törzs közül 58-at a Drezdai-Panel azonosított, de 69 izolátum szerotípusát meghatározni nem tudtuk (ezeket a Drezdai-Panellel nem vizsgáltuk). Az 58 Drezdai-Panellel azonosított izolátum

közül 48-at a *L. pneumophila* faj különböző szerotípusaiként azonosítottunk, úgymint 3-as (1), 6-os (3) és 10-es szerotípus (44). Eredményeink arra engednek következtetni, hogy a Denka-Seiken mikroagglutinációs módszer nem elég szenzitív.

A gyűjtemény 218 *L. pneumophila* 1 izolátuma közül 125 MAb-tipizálása alapján 76 MAb 3/1-negatív és 49 MAb 3/1-pozitív (utóbbi csak *L. pneumophila* 1 lehet) volt. A jelentett esetek legnagyobb arányáért a MAb 3/1-pozitív *L. pneumophila* 1-es izolátumok tehető felelőssé világszerte [341, 343]. A hálózati vízmintákból nyert törzsekből összeállított gyűjteményünk leggyakoribb *L. pneumophila* 1 izolátuma a MAb 3/1-negatív „Bellingham” (26,4 %) és „OLDA” (24,8 %) és a MAb 3/1-pozitív „Philadelphia” (23,2 %) voltak (6.13. ábra). Az ECDC surveillance jelentése szerint 2011-ben Európában a MAb-tipizált 87 emberi *L. pneumophila* 1-es szerotípusú izolátum 71 %-a MAb 3/1-pozitív; 29 %-a „Allentown/France” és 22 %-a „Philadelphia” [38] volt. A „Philadelphia” típus előfordulása gyakori mind az emberi, mind a környezeti *L. pneumophila* izolátumok között [38, 344, 345]. A hazai hálózati vízmintákból leggyakrabban izolált „Bellingham” típus az európai megbetegedést okozó törzsek 10, az „OLDA” típus a 7 %-át adta a 2011. évben [38]. A járványügyi érintettséggel bővebben a 6.3 fejezet foglalkozik.



6.13. ábra A hálózati vízmintákból nyert MAb-tipizált *L. pneumophila* 1 törzsek MAb-típus szerinti gyakorisága; külön ábrázolva a MAb 3/1-pozitív és a negatív törzseket, és a törzsek járványügyi érintettségét (N=125)

Mivel a Drezdai-Panel szenzitivitása és specificitása magasabb az általunk használt két szerológiai vizsgálatnál, az alkalmazása hasznos eszköz mind járványügyi kivizsgálások, mind prevalencia vizsgálatok esetén [311, 342, 346]. Mindazonáltal mivel a vízminták *Legionella* vizsgálatára vonatkozó szabvány a legionellák faji, ill. faj alatti szintű azonosítását nem követeli meg, a rutin diagnosztikában a Drezdai-Panel módszerének bevezetése nem indokolt, helyette szükség esetén PCR alapú módszereket használtunk [316]. A *L. pneumophila* izolátumok túlsúlya miatt azt

feltételeztük, hogy a szabványos szűrési/tenyésztési módszer szelektál a *L. pneumophila* irányába. A membránszűrő korlátozhatja ugyan a nem-*pneumophila* fajok növekedését, azonban szerintünk nem ez áll a háttérben, mert a hálózati vízből közvetlenül táptalajra szélesztett minták esetén sem volt nagyobb az azonosított nem-*pneumophila* fajok aránya, illetve más, pl. fürdővíz mintából, nagyobb arányban mutattunk ki egyéb *Legionella* fajokat. A tenyésztés önmaga szelektál [235, 347, 348], de alkalmazásának számos előnye van (pl. járványügyi kivizsgálásoknál törzsek összehasonlítása, prevalencia eredményeik összehasonlítási nemzetközi adatokkal, szükség esetén antibiotikum rezisztencia vizsgálat stb.).

A latex agglutinációt – a fent részletezett korlátok ellenére – alkalmasnak találtuk a legjelentősebb csoportok elkülönítésére, így a rutin vizsgálatok során a továbbiakban elsődlegesen erre támaszkodtunk. A mikroagglutinációs módszer rutin alkalmazását nem találtuk szükségesnek. Csak olyan esetekben alkalmaztuk a továbbiakban, ha a járványügyi kivizsgálás során a klinikai mintából nem 1-es szerotípusú *L. pneumophila*-t azonosítottak.

#### 6.1.7.2 DNS alapú *Legionella* azonosító és tipizáló módszerek

##### *Legionella* nemzetség specifikus PCR

DNS alapú azonosításra *Legionella* nemzetség specifikus PCR-vizsgálatot vezettünk be. A fenotípusosan, a szabvány szerint legionellaként azonosított és nemzetség specifikus PCR-rel tovább vizsgált izolátumok mindegyike pozitív eredményt adott a PCR-vizsgálattal, azaz az összes törzs esetén 386 bp hosszúságú PCR-terméket mutattunk ki. Így a PCR-vizsgálat megerősítette, hogy a gyűjteményünk összes izolátuma a *Legionella* nemzetségbe tartozott. A negatív kontroll törzsek egyike esetén sem képződött termék.

A továbbiakban a nemzetség specifikus PCR-t a következő esetekben végeztünk: a) fenotípusos identifikáció megerősítésére olyan esetekben, amikor a fenotípusos megjelenés alapján kétség merült fel az azonosítás pontosságát illetően és/vagy a latex teszttel végzett szerológiai vizsgálat (Oxoid) negatív eredményt adott b) járványügyi kivizsgálások esetén, hogy a hatóság tájékoztatására minél hamarabb sor kerülhessen (a cisztein-auxotrófia vizsgálat eredménye előtt) és az identifikáció megerősítésére. A módszer előnye, hogy közvetlenül a kitenyésztett telepekből is elvégezhető az azonosítás, míg az agglutinációs vizsgálatok esetén elengedhetetlen a tiszta tenyészet és amiatt az előzetes felnevelés, amely legalább további 3 napot vesz igénybe.

## ARDRA

Azon törzsek jellemzésére, amelyeket az agglutinációs módszer nem azonosított, megvizsgáltuk a fajok elválasztására az ARDRA módszerének alkalmazhatóságát 32 izolátumon: a hálózati vízmintákból izolált, szerotipizálással nem azonosított *Legionella* izolátum két gyakran hasító enzimmel (*AluI* és *HinfI*) 25 izolátum esetében azonos (*L. pneumophila* referenciatörzssel megegyező), míg 6 törzs esetén eltérő hasítási képet adott. A 6 izolátumot összesen 3 vízhálózatból izoláltuk. A módszer korlátozott számú mintán alkalmas eszköznek bizonyult a *L. pneumophila* az egyéb legionelláktól való elválasztására, csoportosítására, ami elsősorban járványügyi kivizsgálások esetén lehet hasznos eszköz. Mivel a faj alatti egyéb tipizáló módszerek egyszerűbb módon, nagyobb felbontású azonosítást tesznek lehetővé, a továbbiakban az ARDRA módszert rutinszerűen nem alkalmaztuk.

## Mip gén alapú azonosítás

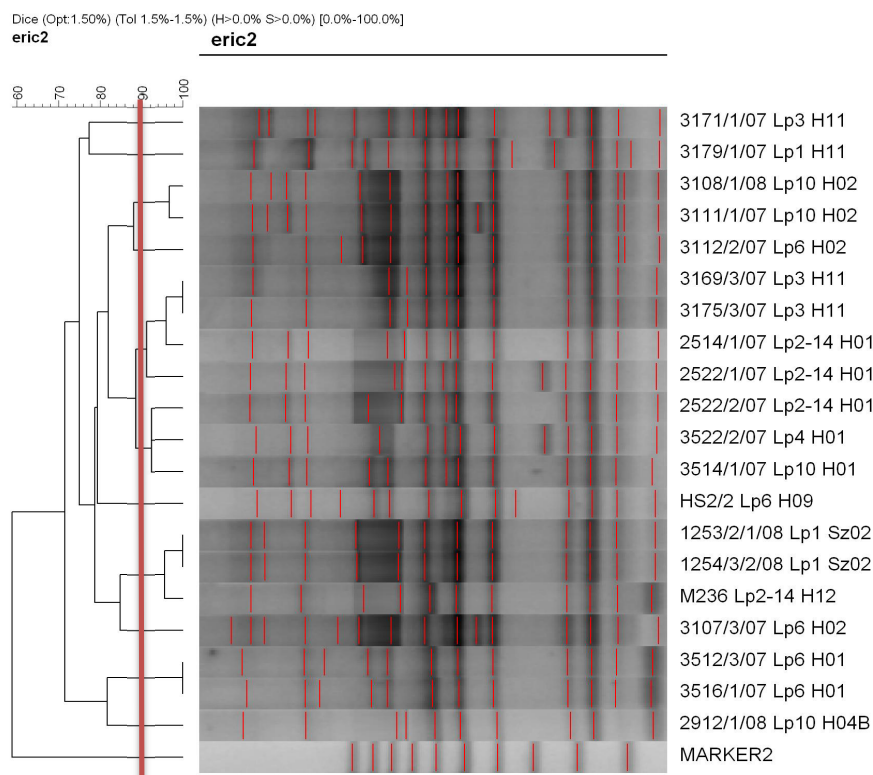
Szakirodalmi adatok szerint, amelyet saját tapasztalataink is megerősítettek, a 16S rDNS szekvenciája alapján a *Legionella* fajok nem választhatóak el kellő megbízhatósággal, ezért a faj szintű azonosításra a *mip* gén szekvencia-analízisét javasolják. Jelen munka során a szerotipizálással nem azonosított *Legionella* izolátum REP-PCR csoportjainak reprezentánsait (10 minta, lsd. alább) vetettük alá *mip* gén vizsgálatán alapuló szekvencia-analízisnek [349]. Az Egészségvédelmi Ügynökség (HPA, Egyesült Királyság) ajánlása szerint faj szintű azonosítás akkor lehetséges, ha a vizsgált törzs a típussekvenciához 95 %-nál nagyobb hasonlóságot mutat. Valamennyi izolátum esetén a három legmagasabb arányú egyezés az adatbázis különböző *L. pneumophila* törzseivel ill. szerotípusaival mutatott (Melléklet, 12.6 táblázat). A vizsgált izolátumok közül hat törzs szekvenciájának hasonlósága volt 95 % feletti. Az elemzés minden izolátum esetében több *L. pneumophila* szerotípushoz is közel azonos hasonlósági értéket mutatott, így faji szintnél pontosabb meghatározást ezen törzsek esetében ugyan a módszerrel nem kaptunk, faj szintű azonosításuk azonban megtörtént, a törzseket *L. pneumophila*-ként azonosította a módszer. A vizsgálat megerősítette a mikroagglutinációs vizsgálatok során tapasztaltakat, miszerint a latex agglutináció nem azonosítja faji szinten valamennyi *L. pneumophila* törzset. Mivel a vízhálózatokból származó törzsek között a nem-*pneumophila* fajok elenyésző kisebbségben vannak, a faji szintű identifikációval kapcsolatosan további vizsgálatokat jelen munka keretében nem folytattunk.

## REP-PCR

Járványügyi kivizsgálás környezeti mintavétele során egy-egy intézményből jellemzően 20-50 minta levételére kerül sor. A hazai prevalencia adatokkal számolva, mintánként 3-5 pozitív telep identifikálása mellett ez intézményenként akár 100 izolátumot is jelenthet. A szerológiai vizsgálatokkal történő azonosításán túl célunk volt egy érzékenyebb, – legalább a szerotípus szintűvel megegyező – differenciáló tipizálási módszer beállítása, amellyel az izolátumok gyors előzetes szűrése vált lehetővé. A szerotipizálás az előszűrésre is kiválóan alkalmas módszernek bizonyult ugyan, de a szerotípus szintű meghatározás kereskedelmi forgalomban kapható tesztekkel rendkívül komoly humán- és anyagi erőforrást igénylő technika.

A genetikai ujjlenyomat-jellegű tipizáló módszerek számos taxon esetén alkalmasak faj alatti rokonsági fokok elemzésére. A jelen vizsgálat során előkísérletek alapján az REP-PCR-t ítéltük ígéretesnek. Elvégeztük 12 intézményi vízhálózatból vett, a gyűjteményben tárolt valamennyi izolátum (355), illetve a rendelkezésünkre álló típustörzsek (11 db, Melléklet, 12.2 táblázat) REP-PCR vizsgálatát. Egy-egy dendrogramon ábráztuk egyazon intézményből izolált törzsek REP-PCR mintázatuk alapján felállított hasonlósági viszonyait, majd összevetettük a közegészségügyi előírásokról különböző intézményekből izolált jellemző, csoportreprezentáns törzsek REP-PCR mintázatait egymással (6.14 ábra). Az összes vizsgált izolátum REP-PCR mintázatai alapján 12 nagyobb csoportba váltak szét. Az intézményi vízhálózatokból izolált minták REP-PCR képeiből készített dendrogramok többségénél az egyes szerotípusok jól elkülönültek egymástól, a 90 %-os hasonlóságnál választott határvonal esetén jellemzően szerotípusokkal megegyező, vagy az alatti felbontást kaptunk, azaz egy szerotípushoz többféle REP-PCR mintázat is tartozott. Ezzel szemben egy intézmény vízhálózatából nyert törzsek esetében a 90 %-os határ mentén kijelölt REP-PCR csoportok különböző szerotípusokat is képviseltek. Az eredményeink alapján a REP-PCR faj alatti szinten a szerotipizással egyenértékű, de attól eltérő eredményt adó csoportosítási módszer. Mivel a két tipizáló módszer teljesen más jellemzőkön (felszínen kifejezett antigének polimorfizmusán, illetve ismétlődő genetikai elemek előfordulásán) alapul, érthető, hogy eltérő csoportokat képeznek. Klonális törzsek esetén mindkét módszer azonos eredményt ad. Vagyis a REP-PCR, bár a szerotipizálás kiváltására nem alkalmas, de megfelelő eszköz az izolátumok gyors és költséghatékony csoportosítására, aminek különösen járványügyi érintettség esetén van komoly közegészségügyi jelentősége. A módszert *Legionella* fajok vizsgálatára nem használják kiterjedten, bár korábbi tanulmányok is megerősítették alkalmasságát [350]. A felbontása az esetek többségében alacsonyabb volt, mint a PFGE vizsgálaté (adatot nem mutatjuk), amelyet a

szekvencia-alapú tipizálás elterjedése előtt elsődlegesen alkalmaztak, de annál lényegesen gyorsabb, olcsóbb és kevesebb biomasszából elvégezhető, ami a legionellák lassú növekedése miatt kritikus szempont.



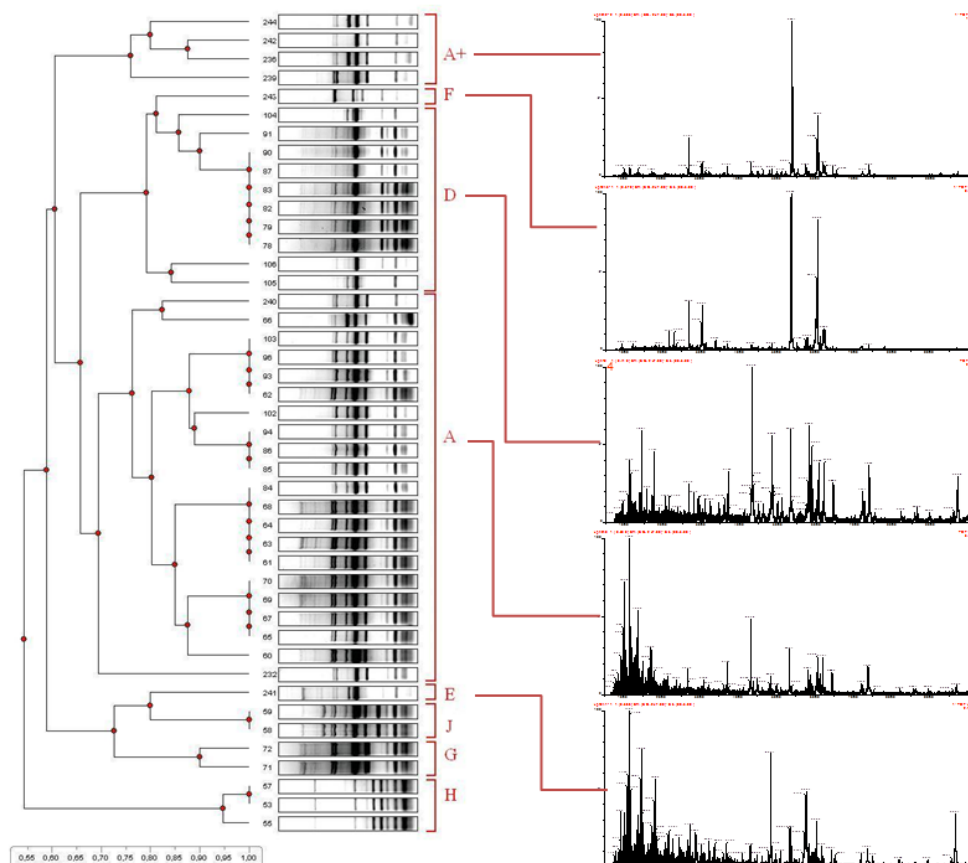
6.14 ábra Különböző intézményi vízhálózatokból izolált *Legionella spp.* izolátumok REP-PCR mintázata alapján készített dendrogram

### 6.1.7.3 MALDI-TOF MS

Korábbi tapasztalatok szerint a MALDI-TOF MS egyes baktériumcsoportok esetén alkalmas lehet faj alatti szintű tipizálásra is. A jelen vizsgálatok során összesen 45 környezeti izolátum és 11 típusörzs alapján megállapítható volt, hogy az irodalmi adatokkal összhangban a különböző vízmintákból izolált, különböző fajokhoz tartozó törzsek MALDI tömegspektrumai egyértelműen különböző mintázatot adtak, így az egyes fajok vizuálisan is elkülöníthetőek voltak [312]. A vizsgálatokhoz alkalmazott készülék rendelkezett ugyan baktériumazonosítást célzó könyvtárral, ez azonban nem volt kellően specifikus az általunk vizsgált *Legionella* fajok felismeréséhez. Jelenleg már elérhető olyan adatbázis, amely 30 *Legionella* faj és 73 altípus azonosítását teszi lehetővé, de a jelen vizsgálatok idején még ez nem állt rendelkezésre.

A kereskedelmi forgalomban kapható rendszereknek a faji szintű azonosítás az elsődleges célja, míg az általunk végzett vizsgálatok során azt a feltevést vizsgáltuk, hogy alkalmazható-e a MALDI-TOF MS a *Legionella* törzsek faj alatti elkülönítésére, és ezáltal segítségünkre lehet-e pl.

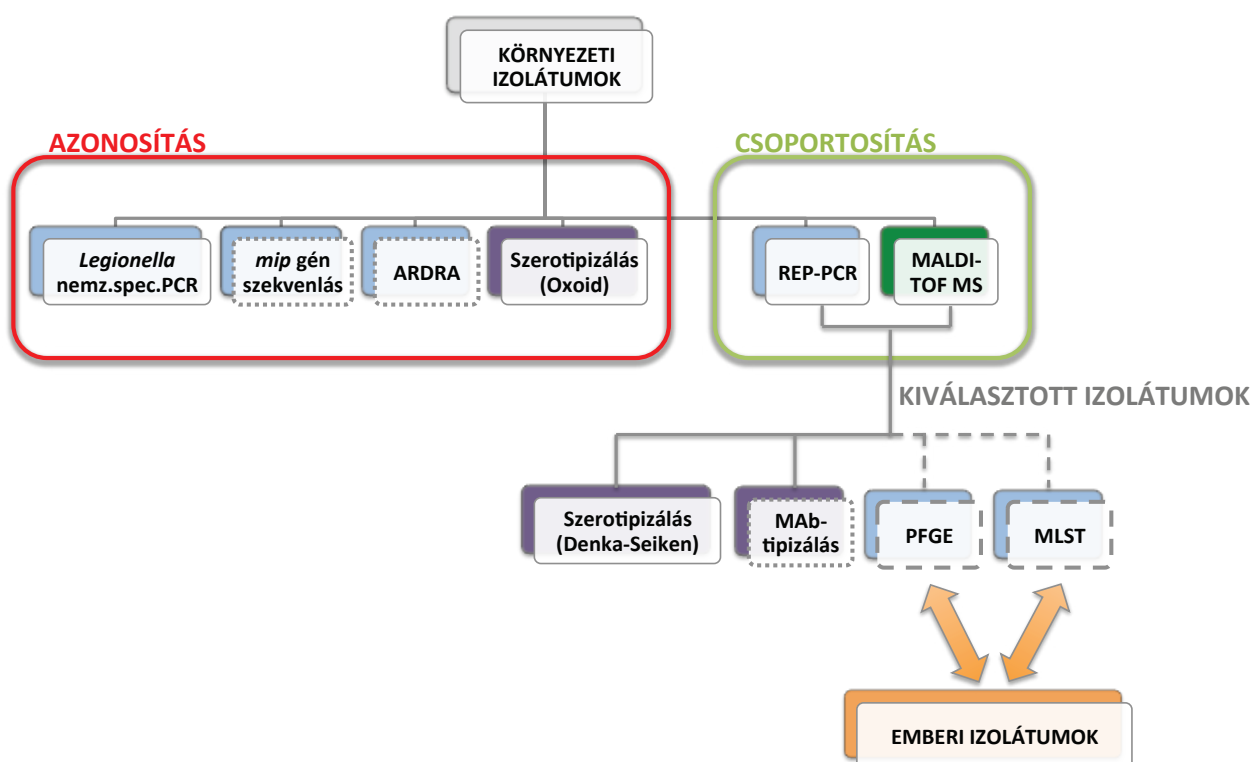
járványok felderítése során a fertőzőforrás azonosításában. A vizsgált izolátumok esetében a *L. pneumophila* fajon belül több csoport (8) is elkülöníthető volt egymástól, tehát a módszer alkalmasnak bizonyult faj alatti szintű tipizálásra (6.15. ábra). Az elkülönített csoportok száma alapján a módszer felbontása legalább a szerotipizálással egyenértékű volt, azonban a MALDI mintázatok alapján kapott csoportok nem egyeztek meg a szerotipizálás eredménye szerinti csoportokéval, így annak kiváltására nem volt alkalmazható. Eredményeink összhangban voltak egy párhuzamosan folytatott nemzetközi vizsgálatával [351]. Ugyanakkor a módszer, a REP-PCR-hez hasonlóan, kiválóan alkalmazhatónak bizonyult járványügyi kivizsgálás esetén a törzsek gyors csoportosítására, mind előszűrésre, mind a megbetegedést okozó törzs rezervoárjának azonosítására. Pillanatnyilag az MLST az általánosan elfogadott módszer a klonális leszármazás igazolására, azonban a MALDI-TOF MS alkalmas lehet előszűrésre, mivel előnye olcsó alkalmazhatósága mellett, hogy néhány perc alatt ad jól reprodukálható ujjlenyomatot a vizsgált törzsről.



6.15. ábra A *L. pneumophila* izolátumok REP-PCR mintázatuk alapján készült dendrogramja, illetve a főbb csoportokhoz rendelt reprezentáns MALDI-TOF MS spektrumok

#### 6.1.7.4 A használati vízrendszereket kolonizáló legionellák azonosítására és tipizálására kiválasztott módszerek összefoglalása

Az egyes *Legionella* fajok, valamint a faj alatti típusok között jelentős különbség lehet a fertőzőképességük tekintetében, ezért szükségesnek ítéltük annak vizsgálatát, hogy az egyes vízrendszereket mely fajok, illetve típusok kolonizálják. Járványügyi kivizsgálások során a fertőzés forrásának azonosításához a lehető legnagyobb felbontású módszerrel elvégzett tipizálásra van szükség. Mivel a hazai gyakorlatban korábban ilyen jellegű vizsgálat nem történt, a rutin vizsgálatokhoz és a járványügyi kivizsgálás elvégzéséhez a tesztelt módszerekből állítottuk össze a legeredményesebb kombinációt (6.16 ábra).



6.16 ábra A rutin vizsgálatokhoz és a járványügyi kivizsgálás elvégzése során alkalmazott és tesztelt vizsgálati módszerek összefoglalása. Szín- és jelmagyarázat: világoskék színnel a DNS alapú, sötétlila színnel az antigén reakción alapuló, sötétzöld színnel a tömegspektrometriás azonosító és tipizáló módszereket jelöltük. A piros vastag vonal az azonosításra, a világoszöld vastag vonal az izolátumok csoportosítására (tipizálására) használt módszereket jelzi. Pöttyözött körvonal: kiválasztott törzseken tesztelt, de a rutin diagnosztikába nem bevezetett módszerek. Szaggatott vonal: a módszerbeállítás nem témája a dolgozatnak. (Rövidítések: nemz.: nemzetség; spec.: specifikus)

A kiválasztott módszerek a következők voltak: a környezeti *Legionella* izolátumok azonosítására nemzetség szinten *Legionella* nemzetség specifikus PCR-t, a *L. pneumophila* faj esetében faji szinten<sup>9</sup> pedig antigén alapú azonosítást, Oxoid latex agglutinációs tesztet használtuk. Utóbbi

<sup>9</sup>Faji szinten: *Legionella pneumophila*, szerotípus szinten: *Legionella pneumophila* 1-es szerotípus (6.1.7.1 fejezet)



módszert minden izolátummal rutinszerűen elvégeztünk. A fajszerű azonosításra használható *mip* gén szekvenálás és ARDRA módszerek sem a rutin diagnosztikában, sem járványügyi kivizsgálásoknál nem kerültek a kiválasztott és a gyakorlatban alkalmazott módszerek közé. Mivel járványügyi kivizsgálások alkalmával nem ritkán 100, szélsőséges esetben akár több száz *Legionella* törzs izolálására is sor kerül egy épületből, az izolátumok csoportosítása nélkülözhetetlen. A csoportosításra kiválasztott REP-PCR-rel és/vagy MALDI-TOF tömegspektrometriás módszerekkel kijelölt csoportrepresentánsokat a latex agglutinációnál (Oxoid) érzékenyebb, azonban nagyobb emberi- és anyagierőforrás igényes antigén alapú tipizálási módszerekkel (Denka-Seiken szerotipizálás és/vagy MAb-tipizálás) vizsgáltuk tovább, illetve a járványügyi érintettségű törzseket a humán izolátumokkal PFGE és/vagy MLST módszerekkel hasonlítottuk össze a fertőzés forrásának és a járványt okozó *Legionella* törzs pontos azonosítása érdekében (utóbbi két módszer beállítása nem képezi jelen dolgozat tárgyát) (6.16 ábra).

## 6.2 Legionellák előfordulása medencés fürdőkben

Ellentétben a használati vízrendszerekkel, a medencés fürdőkből vett minták nem reprezentálják a hazai medencés fürdőket. A medencés fürdők vizsgálata és a hazai prevalencia megismerése a dolgozatnak elsődleges célja nem volt. Mivel sok esetben – különösen a járványügyi kivizsgálások tapasztalatai szerint – a medencés fürdő és a hálózati víz, mint kockázati közegek élesen nem különíthetők el egymástól (a medencék többsége ivóvízzel táplált, melegvízhez hasonló hőmérsékletű, a vízzel érintkező anyagok is azonosak stb.), fontosnak tartottuk a medencés fürdő vizsgálati eredményeink bemutatását is.

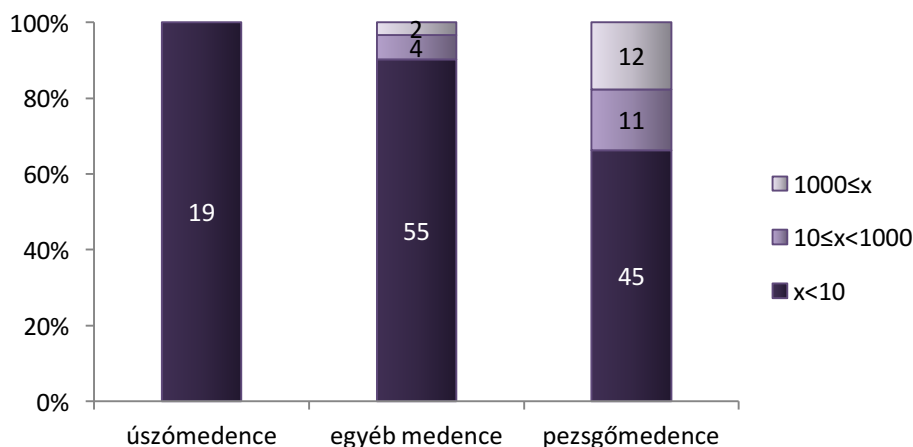
A 46 medencés fürdőből vett vízmintákat két nagy csoportra bontva vizsgáltuk: úszó- és egyéb (pl. termál-, gyermek-, vagy élmény-) medencékből, illetve pezsgőmedencékből<sup>10</sup> vett minták. Az úszó- és egyéb medencékből, illetve azok gépészeti egységeiből vett minták közül 6-ból (6/80; 7,5 %) tenyésztett ki *Legionella* baktérium; közülük 1 medencevíz, 1 élményelemből vett és 4 szűrt víz minta volt. Mind a hat pozitív mintát egyetlen szálloda wellness-részlegéből vettük. Az előző csoporthoz képest a kisebb víztérfogatú és jellemzően nagyobb terhelésnek kitett pezsgőmedencék esetében a medencevíz pozitivitási aránya lényegesen magasabb volt: 68 minta közül *Legionella* 23 (33,8 %) mintából volt kimutatható. A pezsgőmedencék víztestéből vett vízminta 35,0 %-ából (21/60) izoláltunk legionellákat szemben az úszó- és egyéb medencék víztestének 2,7

---

<sup>10</sup> Peczsgőmedencék: víztérfogatúakból adódóan inkább űlve használatosak, maximum 6 személy befogadásra méretezettek, levegőztetettek, 30 °C-nál melegebb vízzel űzemeinek valamint szűrő-fogató rendszerrel ellátottak.

%-ához (2) képest. A pezsgőmedencék vízteste és a gépészeti elemek is nagyobb arányban voltak kolonizáltak legionellával az egyéb medencetípusoknál; mindkét vizsgálat eredménye igen erősen szignifikáns volt (Mann-Whitney próba,  $p < 0,001$ ; 6.17. ábra). A mintázott medencék negyedében (26,1 %, 12/46) a medence vízből, vagy a gépészeti rendszerből vettünk legalább egy pozitív mintát. Legalább egy pozitív mintát vettünk 6/13 (46,2 %) szálloda fürdőrészlégéből, 2/6 (33,3 %) magánmedencéből és 1/7 (14,3 %) fürdő létesítményből.

A vizsgált medencék közül 11-ből vettünk medence és szűrt víz mintát is. A 11 mintapár közül 7 mindkét tagja negatív, 2 mindkét tagja pozitív volt (medencevíz 100 TKE/l, szűrt víz 200 TKE/l), 2 esetben pedig a negatív medencevíz ellenére a szűrt vízből magas csíraszámban ( $4,7 \cdot 10^3$  és  $2,0 \cdot 10^3$  TKE/l) tenyésztettünk ki legionellákat.

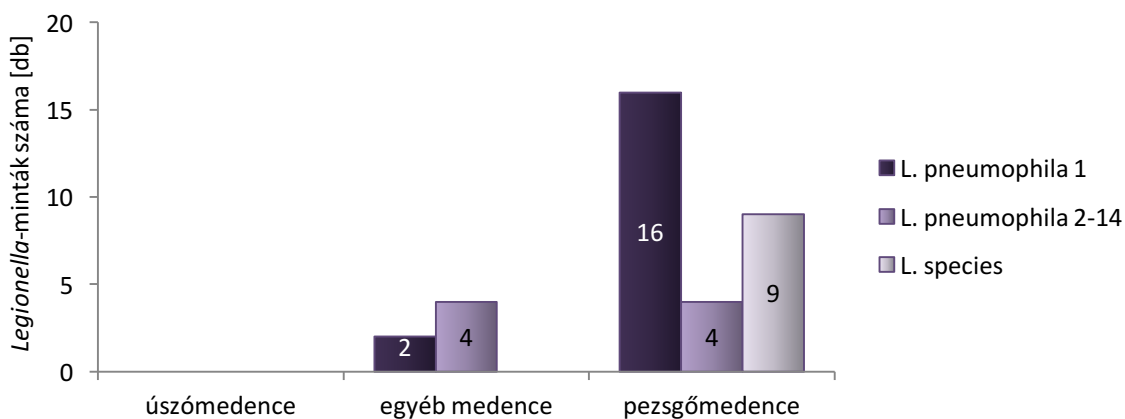


6.17. ábra A különböző típusú (úszó-, pezsgő- és egyéb medencék) medencés fürdőkből vett vízminták megoszlása az egyes medencékből vett vízminták maximális csíraszám alapján *Legionella* csíraszám alapján ( $N_{\text{úszómedence}}=19$ ,  $N_{\text{egyéb medence}}=61$ ,  $N_{\text{pezsgőmedence}}=68$ ;  $N=148$ )

A 9 törletmintából mindössze egy bizonyult pozitívnak legionellára nézve. A 9 mintát úgy is megvizsgáltuk, hogy egyazon medencéből egy-egy vízmintát rendeltünk hozzá. Három esetben nem azonos eredményt kaptunk a mintapár két tagja között: egy esetben egy élményelemből vett törletminta pozitív, a vízminta negatív volt, egy pezsgőmedence esetén pedig a medencevíz pozitív volt ugyan, de a törletminta negatívnak bizonyult. Egy járványügyi érintettségű medencében a mintapár mindkét tagja pozitív volt ugyan, de nem ugyanazon fajok és szerotípusok tenyészttek ki a mintából (medencevíz *L. pneumophila* 1 és 2-14, törletminta *L. pneumophila* 1 és egyéb *Legionella* faj). Fenti eredmények tükrében úgy véljük, járványügyi érintettség esetén érdemes mintapárokat venni és nem elegendő csupán a vízminta vizsgálata.

Az izolált törzsek tekintetében is komoly különbséget találtunk az egyes medencetípusok faji- és szerotípus szintű eloszlásában (6.18. ábra). Az úszómedencék negatívak voltak legionellára nézve,

így ezekből törzset nem izoláltunk. Az egyéb medencék (61) és a pezsgőmedencék (68) között legnagyobb különbséget a *L. pneumophila* 1-es szerotípus megoszlási gyakoriságában találtunk. Míg az egyéb medencék közül mindössze 2-ből (3,3 %), a pezsgőmedencék közül 16-ból (23,5 %) izoláltunk *L. pneumophila* 1-es szerotípusú baktériumot. Érdekes továbbá, hogy míg az egyéb medencékből nem-*pneumophila* fajokat nem tudtunk kimutatni, addig a pezsgőmedencék 13,2 %-ból izoláltunk ilyeneket (9). A *L. pneumophila* 2-14 gyakoriságában nem találtunk különbséget a két medencetípus között (pezsgőmedencék 5,9 %, egyéb medencék 6,6 %).



6.18. ábra A különböző típusú medencékből vett vízminták *Legionella* faji és szerotípus megoszlása ( $N_{\text{összes}}=35$ )

Összesen négy fürdőben (jellemzően szállodák wellness részlegei) vettünk hálózati- (55) és medencevíz (19 pezsgő- és 48 egyéb medence) mintát is. Az 55 hálózati vízmintából legionellát mindössze kettőből mutattunk ki és csak egy esetben haladta meg a csíraszám a 1000 TKE/l-es értéket (8000 TKE/l). A saját eredményeink megegyeztek a szakirodalomban leírtakkal, miszerint a medencés fürdők a *L. pneumophila* mellett a nemzetség egyéb fajával gyakrabban voltak kolonizáltak, mint a használati vízrendszerek, és a pezsgőmedencéket a *L. pneumophila* 1 szerotípusa gyakrabban szennyezte, mint a faj egyéb szerotípusai [209, 352]. Eredményeinkkel – feltehetően az alacsony ilyen jellegű vizsgálati objektumszám miatt – közvetlenül nem tudtuk alátámasztani, hogy hagyományos úszás során, mint azt egyes szerzők vélik, nagyobb kockázatot jelent-e a zuhanyzó, mint a medence használata [209]. Ismerve azonban a hazai hálózati víz szennyezettségi adatait nem zárható ki, hogy az úszás alkalmával valóban a hálózati víz használatával (zuhanyzással) nő meg az expozíció veszélye.

Medencés fürdőket a népesség széles köre látogatja, egyes típusokat pl. kifejezetten a kockázati csoportba tartozó idősek. Irodalmi adatokkal egybevágunk a saját eredményeink is, miszerint a medencés fürdők közül legkevésbé az úszómedencék [209, 353], legnagyobb arányban egyértelműen a pezsgőmedencék szennyezettek legionellával, amely egyben expozíció szem-

pontjából is a legnagyobb kockázatot jelenti [93, 290, 354]. Ehhez hozzájárulhat a magasabb vízhőmérséklet, a pezsgőmedencék nagyobb fajlagos terhelése, amely növeli a szervesanyag bevitelt, valamint a pezsgőmedencék víz- és légbefúvását biztosító több 10 méteres, kis átmérőjű műanyag csővezeték, amely felületet biztosít az élőbevonat képződéshez.

Számos járványleírás során számoltak be arról, hogy a medencés fürdők esetében igen nagy a vízminták *Legionella* csíraszám értékeinek a szórása [93, 284]. Mivel a feltételezett expozíció és a mintavétel között a legkörültekintőbb járványügyi intézkedés ellenére is hosszú idő, több nap, akár hét telik el, szinte lehetetlen feladat a medence expozíció idején fennálló *Legionella* koncentrációra következtetni. Mindazonáltal a legionellával nagymértékben kolonizált medencék nagyobb valószínűséggel okoznak megbetegedést [284].

### **6.3 Intézmények járványügyi érintettsége és járványügyi kivizsgálások eredményei**

Az OEK és az OKI közös Módszertani levele a Legionárius Betegségről és Megelőzéséről bizonyosan nosocomialis eset sporadikus előfordulásakor, vagy feltételezett utazással összefüggő esetben esethalmozódáskor környezeti mintavétellel egybekötött helyszíni vizsgálatot ír elő [24].

Magyarországon 2008. január és 2013. május között 16 környezeti mintavétellel egybekötött járványügyi kivizsgálás zajlott le összesen 10 utazással összefüggő és 31 nosocomialis megbetegedés kivizsgálásával kapcsolatban (6.6. táblázat és 6.7. táblázat). A környezeti mintavételt minden esetben az OKI végezte, 2012. április 15. után már jogszabályi rendelkezés alapján [355]. A mintavétel kiterjedt a beteg által potenciálisan használt és vele érintkezésbe került vizes közegek mindegyikére, amelyek jellemzően a használati vízrendszerek, valamint – amennyiben az érintett létesítmény rendelkezett velük – a medencés fürdők, a légkondicionáló és a tűzvíz rendszerek, továbbá a szökőkutak voltak. A kivizsgálások alkalmával a 31 nosocomialis és 10 utazással összefüggő eset kapcsán 11 kórház és 5 szálláshely, illetve egy termálfürdő vizes rendszereit tekintettük át és mintáztuk (6.6. táblázat és 6.7. táblázat).

Az összes kórházban és az ötből két szálláshelyen a hálózati vizet azonosítottuk a szemle során a legionellák potenciális rezervoárjaként, mivel légkondicionáló-rendszer, vagy szökőkút az érintett időszakban nem üzemelt. A kórházakban gyógymedencét egyetlen beteg sem használt, a két szálláshelyen medencés fürdő nem volt. A tűzvíz rendszerek minden esetben zártként működtek. Nedves hűtőtorony, vagy evaporatív kondenzátor egyetlen létesítmény területén sem üzemelt.

Kórház kódja	Régió	Jelentett esetszámok	HMV-minták gyakorisága <sup>1</sup>			Max. csírasz. <sup>2</sup> [TKE/l]	Szerotípus	MAB-tipizálás Lp 1 törzsek	HMV hőm. [°C]
			x<10	10≤x<1000	1000≤x				
H 01	Budapest	1 bizonyosan nosoc. legionárius megbet.	26	13	38	8,9.10 <sup>4</sup>	Lp 1,2,3, L. spec	OLDA, Oxford	29-54
H04	A Közép-dunántúli r.		0	2	0	280	Lp 1	OLDA	25
			B	4	5	4	2,0.10 <sup>4</sup>	Lp 1, Lp 2-14, L spec	OLDA
H 08	Észak-magyarországi r.	1 bizonyosan nosoc. legionárius megbet.	17	18	7	6,8.10 <sup>4</sup>	Lp 1	Bellingham	42-52,5
H 14	Közép-magyarországi r.	1 bizonyosan nosoc. legionárius megbet.	7	6	15	3,4.10 <sup>4</sup>	Lp 1,2, L spec	Philadelphia	28,7-50
H16	A Közép-dunántúli r.	1 bizonyosan nosoc. legionárius megbet.	7	7	4	4,0.10 <sup>3</sup>	Lp 1,2,3, L spec	-	24,5-51,1
			B	1	2	9	3,9.10 <sup>4</sup>	Lp 1,2, L spec	-
H 17	Közép-dunántúli r.		7	5	6	7,8.10 <sup>3</sup>	Lp 1,2, L spec	OLDA	31,7-61
H 18	Közép-dunántúli r.	1 bizonyosan nosoc. legionárius megbet.	16	2	0	50	Lp 2		28,9-55,3
H 19	Észak-alföldi r.	13 feltételezhetően nosoc. eset (2 legionárius megbet., 11 Pontiac-láz)	10	4	27	7,0.10 <sup>4</sup>	Lp 1,2, L spec	Philadelphia, OLDA, Oxford	32-54,2
H 22	Közép-magyarországi r.	1 feltételezhetően nosoc. legionárius megbet.	7	17	15	1,8.10 <sup>6</sup>	Lp 1, Lp 2-14	-	28,6-51,8
H 27	Közép-magyarországi r.	3 bizonyosan nosoc. legionárius megbet. 5 feltételezhetően nosoc. legionárius megbet.	33	22	34	4,0.10 <sup>4</sup>	Lp 1,2, L spec	-	26,9-60
H 28	Közép-magyarországi r.	4 feltételezhetően nosoc. legionárius megbet.	1	1	16	1,6.10 <sup>5</sup>	Lp 1, Lp 2-14	-	25,2-44,5

6.6. táblázat 2008. január 1. és 2013. május 31. közötti egészségügyi ellátással összefüggő legionellosis járványügyi kivizsgálások; <sup>1</sup>A *Legionella* csíraszám alapján, <sup>2</sup>Legmagasabb *Legionella* csíraszám [TKE/l] (Rövidítések: csírasz.=csíraszám megbet.=megbetegedés, nosoc.=nosocomiális, konc.=koncentráció, max.: maximális, Lp = *L. pneumophila*, hőm=hőmérséklet, r = régió)

Szállás-hely kódja	Régió	Jelentett esetszámok	Feltételezett expozíciós forrás	Hálózati vízmint. gyakoriság <sup>1</sup>			Használati víz		Medence			Kapcsolat igazolása
				x<10	10≤x<1000	1000≤x	Max. konc. <sup>2</sup>	Szerotíp.	Max. konc. <sup>2</sup>	Pozitív minták	Szerotíp.	
Sz 02	Észak-magyarországi r	1 utazással összefüggő legionárius megbet.	használati melegvíz-rendsz.	2	1	7	8,1.10 <sup>4</sup>	Lp 1 <sup>3</sup> Lp 2-14	-	-	-	PFGE MAB Benidorm
Sz 31	Közép-dunántúli r.	2 utazással összefüggő legionárius megbet.	medencés fürdő	13	0	0	-	-	4,7.10 <sup>3</sup>	8/42 (19,0 %)	Lp 1 Lp 2-14	PFGE és MAB Knoxville (1)
Sz 32	Budapest	3 utazással összefüggő legionárius megbet.	medencés fürdő	15	1	0	20	L. spec	1,9.10 <sup>3</sup>	5/16 (31,3 %)	Lp 1 L. spec	ST 42 (2)
Sz 33	Nyugat-dunántúli r.	1 utazással összefüggő legionárius megbet.	használati melegvíz-rendsz.	2	1	4	1,5.10 <sup>6</sup>	Lp 1	-	-	-	ST 42 MAB Benidorm
Sz 35	Nyugat-dunántúli r.	3 utazással összefüggő legionárius megbet.	medencés fürdő	7	0	0	-	-	1,5.10 <sup>6</sup>	1/1 (100 %)	Lp 1 Lp 2-14	-
Termál-fürdő <sup>4</sup>				0	0	1	8.10 <sup>3</sup>	Lp 2-14	<10	0/5 (0 %)	-	-

6.7. táblázat 2008. január 1. és 2013. május 31. közötti utazással összefüggő legionellosis járványügyi kivizsgálások; <sup>1</sup>A *Legionella* csíraszám alapján; <sup>2</sup>Legmagasabb *Legionella* csíraszám [TKE/l], <sup>3</sup>*L. pneumophila* 1 Allentown/France és Benidorm, <sup>4</sup>Nincs bent a vizsgált intézmények adatbázisában. (Rövidítések: megbet.=megbetegedés, rendsz.=rendszer, konc.=koncentráció, Lp = *L. pneumophila*. max.: maximális, r = régió, spec = egyéb *Legionella* faj, ST = szekvenciátípus, szerotip.= szerotípus)

Számos járvány, köztük minden idők legnagyobb kórházi legionárius betegség járványa hűtőtornyokhoz köthető [105], és veszélyt jelenthetnek nem csak az adott intézmény saját berendezései, de az egészségügyi intézmények és szálláshelyek közelében üzemelő hűtőtornyok is. Nehezíti az expozíciós forrás azonosítását, hogy Magyarországon a hűtőtornyok előfordulásáról nincs központi nyilvántartás. A közelben, de a kórház vagy a szálláshely területén kívül működő hűtőtornyokról a személyzet, ill. a területileg illetékes népegészségügyi hatóság egyetlen esetben sem tudott tájékoztatást adni. A vonatkozó rendelet előkészítése során – a jelen tapasztalatok alapján – tettünk javaslatot a hűtőtornyok hatósági regisztrációjára, amely 2016 februárjától lesz kötelező [304]. Három szálláshelyen a hálózati víz mellett a szálloda medencés fürdői is számításba jöhettek potenciális rezervoárként.

A vizsgált 24 egészségügyi intézmény közül 11 (45,8 %) volt járványügyi szempontból érintett. Két esetben a beteg a lappangási időszakban két-két kórházban is ellátásban részesült, így mindkét kivizsgálásnál valamennyi a beteg által felkeresett kórházat mintáztuk. A szálláshelyek járványügyi érintettsége kisebb volt: a 22 közül 5 (22,7 %) volt megbetegedéssel összefüggésbe hozható.

A vizsgált intézmények legfőbb közös jellemzője az volt, hogy az üzemeltetők a legionellosis hálózati víz és/vagy medencés fürdő eredetével sehol sem voltak tisztában, a rendszerek üzemeltetése így nem a *Legionella* kockázatcsökkentés ismeretével történt. Közös jellemző, hogy a használati melegvíz hőmérséklete minden intézmény esetében kritikusan alacsony volt (átlag 44,5 °C), a medencés fürdők rendszeres fertőtlenítőszer szint ellenőrzése hiányzott, amiből egyenesen adódott a medencevíz nem elégséges biocid-koncentrációja.

### **6.3.1 Hálózati vízzel összefüggésbe hozható esetek járványügyi kivizsgálása**

Valamennyi járványügyileg érintett egészségügyi intézmény (11) és szálloda (2) potenciális kockázati közegeként azonosított hálózati vízrendszere szennyezett volt legionellával<sup>11</sup>. Az egészségügyi intézmények és a szállodák esetében a megbetegedésekkel összefüggésbe hozott létesítmények nagyobb arányban voltak kolonizáltak legionellával, és a vett vízminták csíraszámai is magasabbak voltak a nem érintett építményekhez viszonyítva, annak ellenére, hogy a két csoportban az épületek kora, szerkezete, főbb épületgépészeti jellemzőik, beleértve a használati melegvíz előállítását és tárolását is, hasonlóak voltak. Az eredmény valamennyi esetben igen erősen szignifikáns volt (Mann-Whitney próba,  $p < 0,001$ ; 6.8. táblázat).

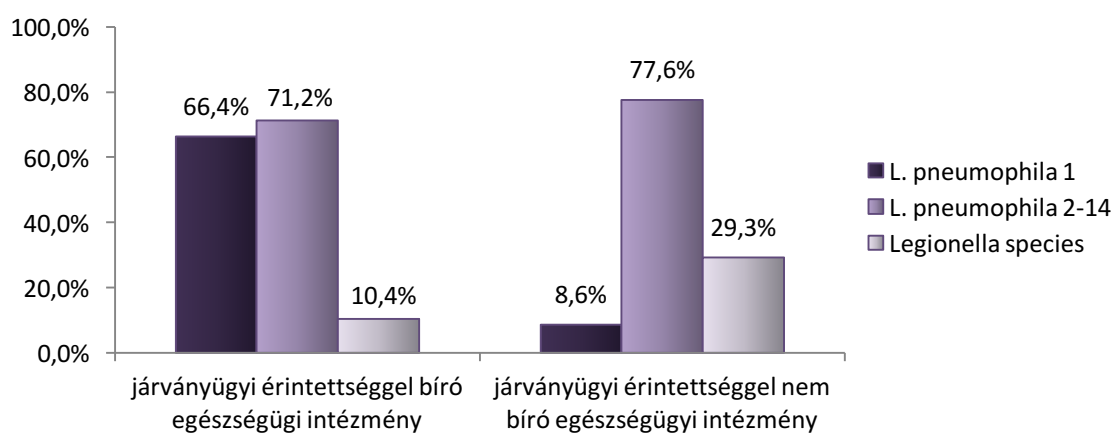
---

<sup>11</sup> Azon szállodákat vontuk elemzésbe, amelyek esetében nem volt igazolható egyéb, pl. medencés fürdő érintettség.

	Egészségügyi intézmény		Szálláshely	
	Érintett	Nem érintett	Érintett	Nem érintett
Kolonizált/összes rendszer [db] (Épületek kolonizáltsági aránya)	11/11 (100 %)	9/13 (69,2 %)	2/2 (100 %)	15/20 (75,0 %)
Pozitív/összes vízminta [db] (pozitív vízminta %-os aránya)	250/368 (67,9 %)	116/268 (43,3 %)	13/17 (76,5 %)	148/514 (28,8 %)
Szignifikancia-szint	p<0,001*		p<0,001*	
25 %-os percentilis [TKE/I]	1	0	25	0
Medián [TKE/I]	490	0	4.10 <sup>4</sup>	0
75 %-os percentilis [TKE/I]	6,5.10 <sup>3</sup>	7,3.10 <sup>2</sup>	1,9.10 <sup>5</sup>	20
Maximum [TKE/I]	1,8.10 <sup>6</sup>	3,4.10 <sup>6</sup>	1,5.10 <sup>6</sup>	1,4.10 <sup>6</sup>

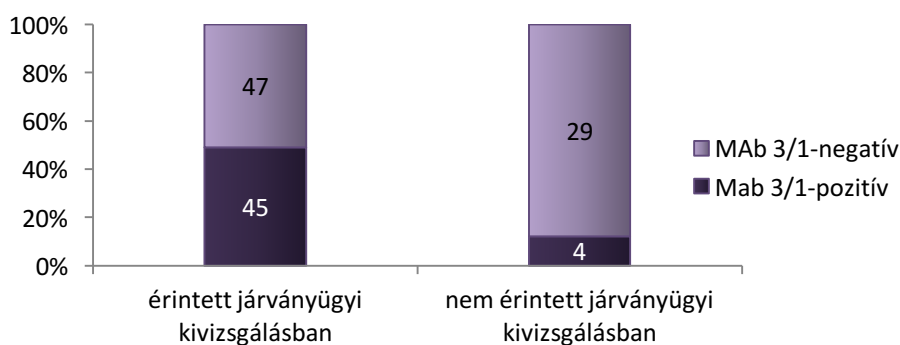
6.8. táblázat Járványügyi kivizsgálásban érintett és nem érintett szálláshelyek és egészségügyi intézmények *Legionella* kolonizáltsága, illetve a vett vízminták csíraszámainak jellemzése. Szálláshelyek közül azok kerültek az elemzésbe, amelyek esetén nem volt igazolt egyéb érintettség; \*: igen erősen szignifikáns

A nosocomialis esetet jelentő, ill. nem jelentő egészségügyi intézményekből vett vízminták faji összetétele jelentősen eltért egymástól; az esetet jelentő kórházak izolátumainak 66,4 %-hoz (166/250) képest az esetet nem jelentők nagyságrendileg alacsonyabb arányát, 8,6 %-át (10/116) azonosítottuk *L. pneumophila* 1-ként (Chi<sup>2</sup>-próba, p<0,001; 6.19. ábra). Továbbá az érintett kórházak nagyobb arányából, 76,9 %-ból (10/13) mutattunk ki *L. pneumophila* 1-es szerotípusú baktériumot az esetet nem jelentők 54,5 %-ához (6/11) képest. Egészségügyi intézmény hálózati vizéből vett 81 *L. pneumophila* 1 izolátum MAb-tipizálási eredménye szerint a virulensebb MAb 3/1-pozitív típusú törzseket csak járványügyi érintettségű kórházakból izoláltuk (2 kórházból, „Philadelphia” típus), MAb 3/1-negatív típusú törzseket mindkét csoport vízhálózatából azonosítottunk. Szálláshelyek HMV-rendszerét a vizsgálati időszakban (2008-2013) két esetben hozták bizonyítottan összefüggésbe utazással összefüggő legionárius megbetegedéssel. Mindkét esetben a betegmintából kitenyésztett izolátum mellett a vízmintából nyert *L. pneumophila* 1 törzs is „Benidorm” MAb-típus volt (3/1-pozitív).



6.19. ábra Az esetet jelentő és nem jelentő egészségügyi intézményekből vett pozitív vízminták faji diverzitása. Egyes esetekben egy vízmintából több különböző *Legionella* baktériumot is azonosítottunk; N<sub>érintett\_pozitív</sub>=250, N<sub>nem érintett\_pozitív</sub>=116

Kapcsolatot találtunk a járványügyi érintettség és a hálózati vízből izolált *L. pneumophila* 1 izolátumok (N=125) típusa között: a MAb 3/1-pozitív *L. pneumophila* 1 gyakrabban volt izolálható járványügyi kivizsgálásban érintett vízhálózatokból vett mintákból, az eredmény igen erősen szignifikáns volt (Fisher-féle egzakt próba,  $p < 0,001$ , becsült relatív kockázat 1,49; 6.20. ábra). Az eredmények megítélésénél figyelembe kell venni, hogy MAb 3/1-pozitív és -negatív *L. pneumophila* 1 izolátumot csupán 3-3 járványügyi szempontból érintett és nem érintett épületből izoláltunk. Az alacsony mintaszám ellenére a markáns eltérések az izolátumok MAb 3/1 típusában arra engedtek következtetni, hogy fontos a hálózatot kolonizáló törzs fertőzőképessége.



6.20. ábra A gyűjtemény *L. pneumophila* 1 szerotípusú törzseinek százalékos megoszlása MAb 3/1-pozitívításuk, illetve -negatívításuk szerint a járványügyi érintettségük alapján felállított két kategóriában (N=125)

Eredményeink arra utalnak, hogy a legionellák csíraszámának és fertőzőképességének egyaránt függvénye, hogy az adott épület vízhálózatát kolonizáló *Legionella* baktériumok okoznak-e megbetegedést, ugyanis a csíraszám mellett a hálózatot kolonizáló legionellák faji és faj alatti szintű megoszlása is befolyással lehet a legionellosis kialakulására [342]. Az általunk csak járványügyi érintettségű kórházakból izolált *L. pneumophila* 1 „Philadelphia” MAb-típus hozták például összefüggésbe a legtöbb pán-európai legionárius megbetegedéssel [341]. Mindezek mellett kóroki ágensként nosocomialis legionellosis esetén a MAb 3/1-negatív típusú izolátumokkal is komolyan számolni kell [345]. Japánban az esetek közel felét, Európában az egyötödét hozták kapcsolatba az utazással összefüggő két kivizsgálás során kitenyésztett „Benidorm” MAb-típusú *L. pneumophila* baktériummal [341, 343].

Az eredmények megítélésénél figyelembe kell venni, hogy a betegek egy része (2 eset) a lappangási időben több kórházban is ellátásban részesült, és a betegek által felkeresett összes intézményben elvégeztük a környezeti mintavételt, annak ellenére, hogy a fertőzés az egyikben történt (a pozitív vízvizsgálati eredmények alapján azonban egyik intézmény érintettsége sem volt kizárható). Tehát a határvonal ezen oknál fogva sem volt éles az esetet jelentő és nem jelentő vízhálózatok között. A másik – talán még fontosabb – torzító tényező az volt, hogy az eltérő



diagnosztizálás, a kórházak nagy többsége által gyakorolt aktív surveillance hiánya és a jelentési fegyelem különbségei miatt feltételezhetően az esetet nem jelentő kórházak egy részében is előfordult nosocomialis legionellosis, azonban arról a népegészségügyi hatóság nem értesült.

### **6.3.2 Medencés fürdővel összefüggésbe hozható esetek járványügyi kivizsgálása**

A vizsgálati időszakban három olyan utazással összefüggő legionárius megbetegedés esethalmozódást jelentettek (7 beteg, 2 haláleset), amelyekben legnagyobb valószínűséggel hazai szállodák medencés fürdői voltak a megbetegedést okozó *L. pneumophila* 1 törzsek rezervoárjai (6.3 fejezet, 6.7. táblázat). Mindhárom szálláshely esetében a hálózati hideg- és melegvíz minták legionellára nézve negatívnak bizonyultak, annak ellenére, hogy két szállodában a HMV hőmérséklete kritikusan alacsony volt. A megbetegedések előtt egyik szálloda vizes rendszereit sem vizsgálták legionellára nézve. A harmadik szállodából az eseteket hosszabb, több mint egy éves időintervallum alatt jelentették, a szálloda vizes rendszereit már az első eset után is átvizsgálták, és a HMV-rendszert megfelelően beszabályozták és éjszakai felfűtéssel is védték.

Az egyik járványban az érintett betegek a szálláshely melletti termálfürdőt is meglátogatták. A termálfürdő medencéi *Legionella*-negatívak voltak, a medencetérben az előfürdőhöz használható zuhanyzóból vett HMV-mintából azonban *L. pneumophila* 2-14 tenyésztett ki. A megbetegedést okozó törzs azonban *L. pneumophila* 1-es szerotípusú volt, így – a szerotípusok különbözősége és a negatív vízminták miatt – a termálfürdőt kizártuk az expozíció lehetséges forrásai közül.

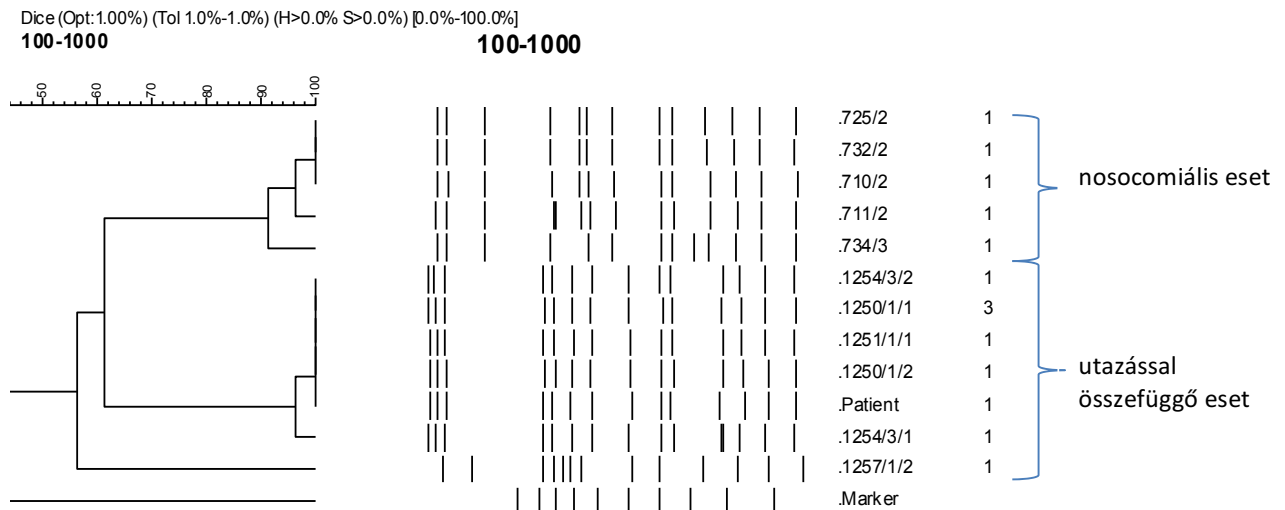
Mindhárom járvány közös jellemzője egyértelműen a medencék nem megfelelő üzemeltetése volt. Két esetben tovább növelte a rendszer kolonizációjának kockázatát a medencék nem megfelelő, közforgalom miatti emelkedett terheléssel nem számoló kialakítása is. Az egyik szállodában mindezek mellett a medence illegálisan, a hatóság tudtán kívül, üzemelési szabályzat nélkül működött. Az expozíció feltételezett idejében a szabad aktív klórszint valószínűsíthetően mindhárom esetben kritikusan alacsony volt. Komoly üzemeltetési hibaként értékeltük, hogy ahol egyáltalán történt biocid mérés, ott is jellemzően közvetlenül a fertőtlenítőszer adagolás után, és nem a biocid-koncentráció minimuma esetén került rá sor. További problémát jelentett, hogy a személyzet általában nem volt megfelelően képzett. Az átdolgozott üzemelési szabályzatban foglaltak betartásával és a három kérdéses pezsgőmedence közül kettőben a papírszűrők, a nagyobb terhelésre tervezett homokszűrőkre cserélésével a *Legionella* kockázat mindhárom szálloda esetén csökkent. Továbbgondolásra ad okot, hogy az egyik járvány esetén ugyan a szálloda valamennyi medencéjének vize negatívnak bizonyult

legionellára nézve, azonban a vonatkozó rendelet szerint egyéb vízhygiénés paraméterekre sem mintázandó homoksűrőt kolonizálta a baktérium. Így csak a puffertartályokból vett mintákból mutattuk ki a szintén emberi patogén *P. aeruginosa* mellett a *L. pneumophila* 1-et [356].

Eredményeink arra utalnak, hogy a medencék üzemeltetésével kapcsolatos – akár időszakos – hiányosságok és/vagy a nem közforgalomra tervezett konstrukció közfürdőként való használata elégséges a legionellák kockázatot jelentő mértékű elszaporodásához. Problémát jelent továbbá, hogy mivel hazánk idegenforgalmában egyre nagyobb teret kap a wellness-turizmus, azon létesítményekből is „wellness-szállodát” alakítanak ki, amelyekben az ehhez szükséges minimális közegészségügyi és egyéb feltételek sem biztosítottak. Jogszabályi háttér hiányában az üzemeltetők a medencevíz *Legionella* vizsgálatára nem voltak kötelezettek. Mivel rögzített határérték nem volt, a hatósági intézkedés is gyakran nehézségekbe ütközött és gyakran a népegészségügyi hatóság rátermettségén múlt, talál-e jogalapot az üzemeltetés felfüggesztésére [355, 356]. Az átdolgozás alatt álló medencés fürdő rendelet a jövőben várhatóan tartalmazni fogja a 30 °C-nál melegebb, levegőztetett medencék negyedévenkénti *Legionella* vizsgálati kötelezettségét, amely az előzetes tervek szerint kiterjed a szűrő után vett minták vizsgálatára is. A megfelelő vízvizsgálati eredmény ellenére is figyelni kell a lehető legjobb üzemeltetésre, mert amennyiben a rendszer valamely pontja kolonizált patogénnel, átmeneti üzemzavar, pl. a fertőtlenítőszer szint csökkenése esetén a medencevízben is már egészségkockázatot jelentő csíraszámokban jelenhetnek meg a baktériumok. A WHO a közfürdőkre – megfelelő üzemeltetés, szűrés és terheltség mellett – legalább 1 mg/l-es szabad aktív klór koncentrációt javasol [286]. Ennél alacsonyabb ( $\leq 0,5$  mg/l) abban az esetben elégséges csak, amennyiben a klór mellett kiegészítő fertőtlenítést is alkalmaznak, pl. ózont vagy UV-fertőtlenítést. A nagyobb terheltség és a magasabb hőmérséklet miatt pezsgőfürdőkre magasabb, de kevesebb mint 2-3 mg/l aktív klór koncentrációt ír elő ugyanazon irányelv. Ez azonban a vonatkozó hazai jogszabályba ütközik, amely 1 mg/l-ben maximálja a szabad aktív klór koncentrációját a medencevízben [303].

### **6.3.3 Kapcsolat igazolása az emberi- és a környezeti *L. pneumophila* izolátumok között**

Az utazással összefüggő kivizsgálások közül összesen négy alkalommal – két esetben PFGE-, másik két esetben MLST-vizsgálattal – találtunk kapcsolatot a szálláshely valamely vizes rendszere (HMV-rendszer vagy medencés fürdő) és az emberi *L. pneumophila* 1-es szerotípusú izolátumok között. Nosocomiális megbetegedéssel kapcsolatban, bár a kórházi vizes rendszerekből a megbetegedést is okozó *L. pneumophila* 1-es törzset – gyakran magas – csíraszámokban kimutattuk, emberi izolátum hiányában az összefüggést igazolni egyetlen esetben sem tudtuk.



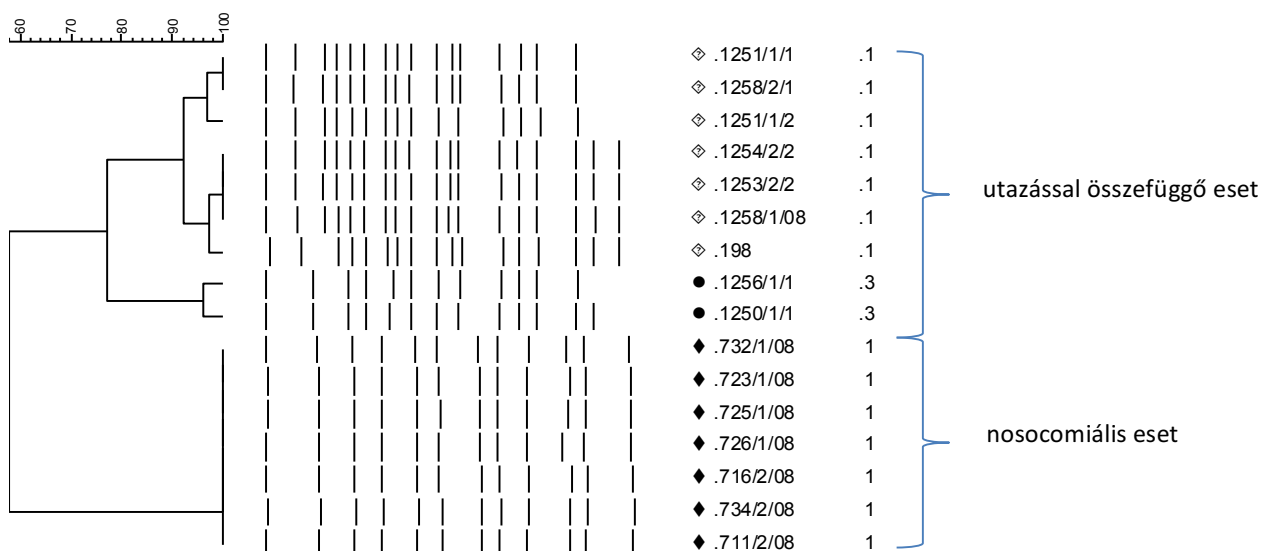
6.21. ábra A 2. számú szálláshelyről és a 8. számú egészségügyi intézményből vett vízmintákból kitenyészett *Legionella* izolátumok REP-PCR vizsgálat eredménye alapján készített dendrogram; „patient”: emberi izolátum (N=12), Marker: 100bp DNS molekulaméret marker

Amennyiben emberi izolátum is rendelkezésre állt – a kapcsolat igazolására a szerotipizálás után előszűrésre használt ERIC primerpárral végzett REP-PCR vizsgálat eredményei alapján – szelektáltuk a környezeti törzseket a további (PFGE és/vagy MLST) vizsgálatokra. Példaként bemutatjuk egy nosocomiális („H 08”) és egy utazással összefüggő eset („Sz 02”) kapcsán a környezeti és emberi izolátumokból (összesen 51 izolátum) nyert REP-PCR mintázatok alapján hasonlósági elemzés céljából készített dendrogramot (6.21. ábra). A kórházi izolátumok között a genetikai hasonlóság nagyfokú volt, amely arra enged következtetni, hogy a vízhálózatot egyetlen törzs kolonizálta. A szálláshelyről származó izolátumok REP-PCR mintázatauk alapján két nagy csoportba különültek el. A két csoport egyikébe tartozott az emberi izolátum is („patient”).

Az előszelektálásra használt REP-PCR vizsgálat eredményei alapján kiválasztott 27 környezeti és 1 emberi izolátumot az Országos Epidemiológiai Központ Fágtypizálási és Molekuláris Epidemiológiai Osztálya teljes genom PFGE-vizsgálatnak vetette alá (alkalmazott restrikciós endonukleáz: *Sfi*I) [306]. A 6.21. ábra 12 törzs összehasonlító elemzését szemlélteti. A kórházból származó izolátumok PFGE-mintázata 100 %-ban megegyezett (N=11), ami alátámasztotta a REP-PCR vizsgálat eredményét, hogy a kórház vízhálózatát egyetlen törzs kolonizálta (6.22. ábra).

Az utazással összefüggő eset PFGE-vizsgálatának eredménye szerint a vízmintákból (N=11, a dendrogramon szemléltetésül mindössze 6) és egy emberi mintából származó *L. pneumophila* 1 szerotípusú törzsek egy PFGE-típusba tartoztak. Ezen humán és víz eredetű törzsek között a genetikai hasonlóság 90 %-nál magasabb volt (96 %), ezért a közös eredet nem volt kizárható. A *L. pneumophila* 3-as szerotípusú 4 törzs egy másik PFGE típusba tartozott (6.22. ábra).

Dice (Opt:1.00%) (Tol 1.0%-2.0%) (H>0.0% S>0.0%) [0.0%-100.0%]  
**Legionella\_9812** **Legionella\_9812**



6.22. ábra A 2. számú szálláshelyről és a 8. számú egészségügyi intézményből vett vízmintákból kitenyészett *Legionella* izolátumok, REP-PCR vizsgálattal kiválogatott izolátumok PFGE-vizsgálat eredménye alapján készített dendrogram; „198”: emberi izolátum (N=16)

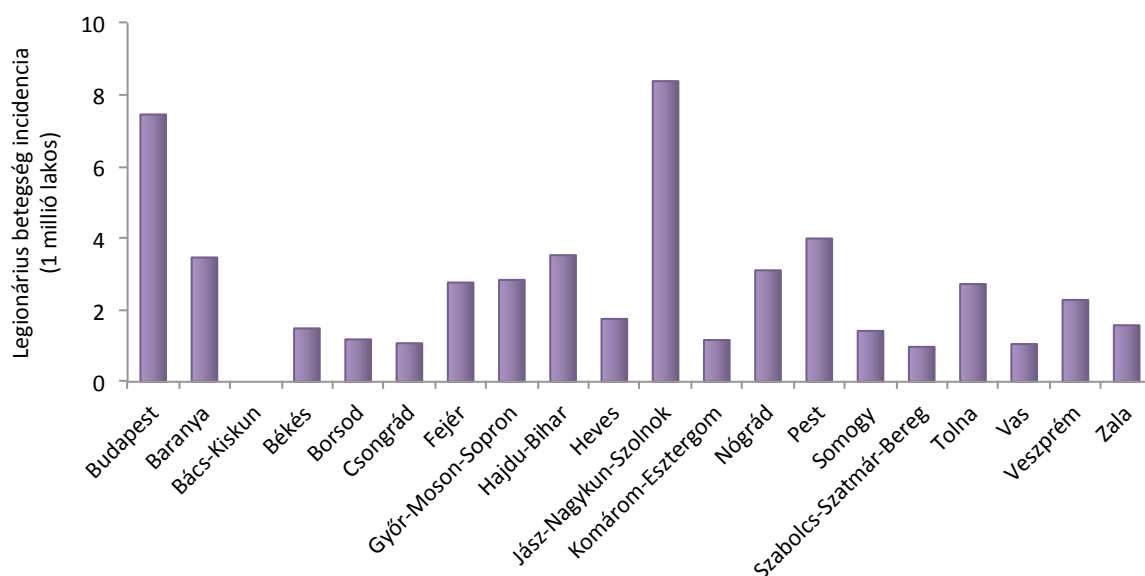
Két medencés fürdővel összefüggésbe hozható járvány esetében egy-egy betegből tenyésztett ki *L. pneumophila* 1, ezen esetekben a humán és a környezeti törzsek összehasonlító elemzése megtörtént. Az egyik járványban az emberi és a medencék puffer-tartályaiból vett vízből kitenyészett *L. pneumophila* 1 izolátumok PFGE-vel vizsgálva azonosnak bizonyultak, a MAb-tipizálási eredményeik szerint „Knoxville” típusúak (MAb 3/1-pozitív). A másik járvány esetében a svéd állampolgárságú betegek miatt a Svédországban (Swedish Institute for Communicable Disease Control) elvégzett szekvencia alapú tipizálás (MLST) eredménye szerint az emberi és a környezeti izolátumok azonosak voltak (ST 42; 6.7. táblázat). A fenti módszerek hasznos eszközt jelenthetnek olyan esetekben, amikor több létesítmény, ill. vizes rendszer (hálózati víz, medencés fürdő, hűtőtorony stb.) esetén merül fel, hogy a megbetegedést okozó baktérium rezervoárja lehet.

#### 6.3.4 Jelentett legionárius betegség esetek területi megoszlása Magyarországon

Az esetet jelentett kórházak területi eloszlása, régióként vizsgálva nem egyenletes és nem arányos a fekvőbeteg-ágyak országos eloszlásával [357]. Bár a szálláshelyek az ország különböző részeiből kerültek ki, azonban az eseteket jelentő területek megoszlása még a kórházakhoz viszonyítva is kevésbé homogén. Két szálláshely esetében a megbetegedett személyek külföldi állampolgárok, az eseteiket az Európai Betegségmegelőzési és Járványügyi Központ EDLSNet rendszerén keresztül regisztrálták. A másik három utazással összefüggésbe hozható esetben azonban összesen hat belföldi szállóvendég betegedett meg és mind a hat megbetegedést a közép-magyarországi régióban diagnosztizálták. Ez az egyenetlen eloszlás alátámasztani látszik a

feltevést, hogy a jelentési feyelem nem csak Európa különböző országai között, de az országon belül is erősen inhomogén, mivel prevalencia-vizsgálat eredményeink szerint a vizes rendszerek kolonizáltsága az országban ekkora eltérést nem mutat (bemutatásra nem kerülő adat).

Volt olyan megye, ahonnan 2004 és 2014 közötti időszakban ( $N_{\text{összes}}=367$ ) egyetlen legionárius megbetegedést sem jelentettek (6.23 ábra) [61-67, 69, 70]. Ez azért különösen veszélyes, mert a csíraszám mellett legionellák fertőzőképessége a megbetegedések kialakulásának fő kockázati tényezője, így ha az adott rendszer csíraszámát ellenőrzik is ugyan (aminek a jelen gyakorlatban szintén csekély a valószínűsége), az üzemeltető számára – mivel jelentett esetek hiányában nem tud a rendszere által nyújtott veszélyről – csupán a csíraszámok ismerete hamis biztonságérzetet nyújthat, ami tovább növelheti a megbetegedések kialakulásának kockázatát.



6.23 ábra Jelentett legionárius betegség incidenciája Magyarországon a 2004 és 2014 közötti időszakban, megyénkénti bontásban ( $N_{\text{összes}}=367$ ) [61-67, 69, 70]

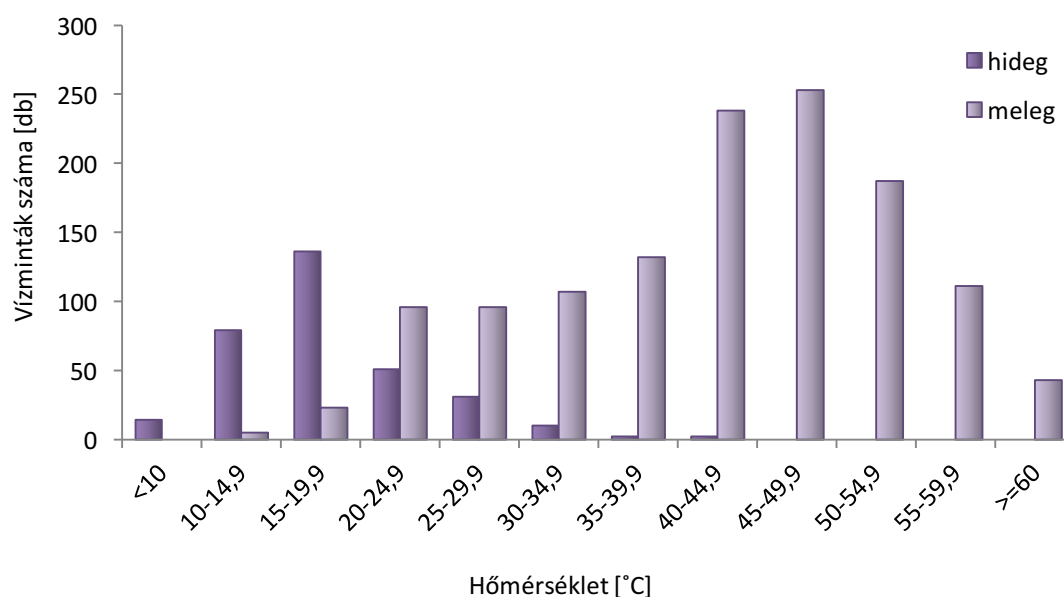
#### 6.4 A hálózati víz *Legionella* csíraszámát befolyásoló kockázati tényezők

A csíraszámot befolyásoló tényezőkkel kapcsolatos elemzésbe azon tényezőket vontuk, amelyek irodalmi adatok és/vagy saját megfigyeléseink alapján befolyással lehetnek a csíraszámra. Egyes tényezők (pl. a vízhálózat anyaga) esetében az üzemeltetőktől kapott adatok nem bizonyultak kellően megbízhatónak, így azokra az elemzéseket nem végeztük el. Az elemzésénél jellemzően csak a HMV-rendszerből származó eredményeket használtuk fel, mivel épületen belül a HMV- és az ivóvíz-hálózat teljesen két egymástól elszigetelt rendszer, az adatok, ha azokat egy egységként kezelnénk torzíthatnának. Az elemzéseket, ahol értelmezhető, az ivóvíz adatokra is elvégeztük, terjedelmi problémák miatt azonban mindkét elemzést nem tudjuk bemutatni. Ahol említésre érdemes különbség van a HMV- és az ivóvíz-vizsgálati eredmények között, azt külön jeleztük.

#### 6.4.1 A vízminták hőmérséklete és *Legionella* csíraszámja közötti összefüggés

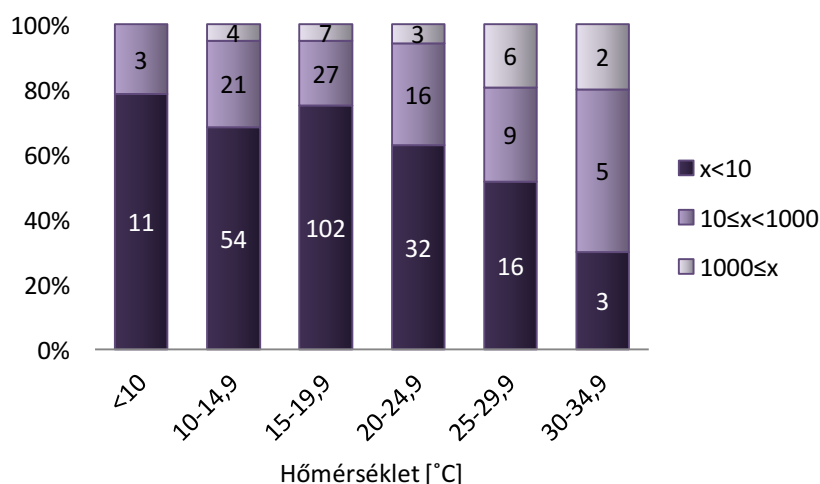
Az 1616 hőmérséklet adattal rendelkező vízminta közül 325-öt (20,1 %) hálózati hidegvíz, 1291-et (79,9 %) HMV-rendszerből vettünk (6.24. ábra). Jellemzően a csapnyitási mintákról és a HMV tárolók ürítőcsonkjáról vett mintákból nem állt rendelkezésre hőmérséklet adat.

A tudományos publikációk, a hatóságok és az épületgépészeti szakemberek nemzetközi viszonylatban is egyetértenek abban, hogy a legionellák nagymértékű elszaporodását megakadályozandó a hálózati hidegvíz hőmérsékletének 20 °C alatt, a használati melegvizének 50 vagy 55 °C felett kell lennie [173, 221, 251]. A hazai hálózatok a tapasztalataink alapján nem feleltek meg ennek az alapelvnek: a 325 hálózati hidegvíz-minta közül közel 30 %-nak (96/325) hőmérséklete volt magasabb 20 °C-nál. A hálózati hidegvíz-minták hőmérsékletének átlaga 18,0 °C, mediánja 17,0 °C, 25 %-os percentilise 14,0, 75 %-os percentilise 20,6 °C volt. A 20 °C feletti hidegvíz minták *Legionella* csíraszámja a 20 °C alattiakhoz viszonyítva magasabb, az eredmény erősen szignifikáns volt (Mann-Whitney próba,  $p=0,003$ ). Négy (1,2 %) hálózati „hidegvíz” minta hőmérséklete 35 °C felett volt. A 20 °C alatti minták 4,8 %-ának, 25 °C alatti minták 5,0 %-ának csíraszámja meghaladta az 1000 TKE/l-es értéket (6.25. ábra).



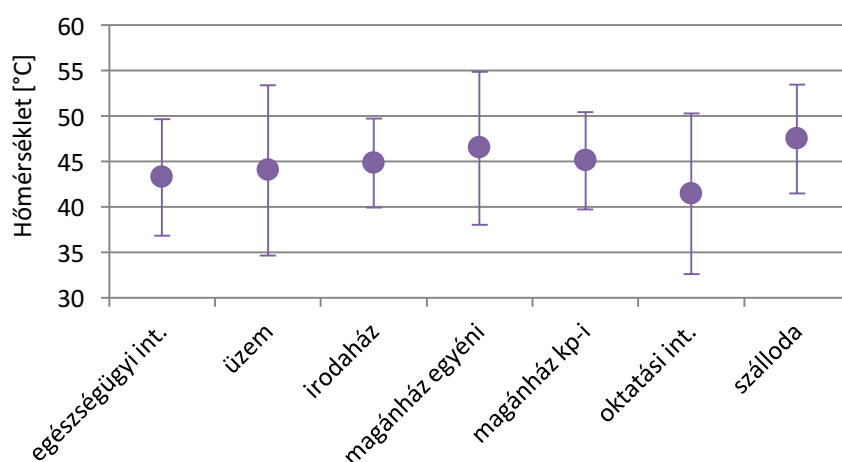
6.24. ábra A hálózati hideg- és melegvíz-minták gyakorisága hőmérséklet-kategóriánként ( $N_{\text{hideg}}=325$ ,  $N_{\text{meleg}}=1291$ )

A pozitív ivóvíz minták aránya minden 20 °C alatti, 5 °C-ként tagolt hőmérséklet-kategóriában nagyjából állandó (21,4-31,6 %) volt, a 20-25 °C közötti tartománytól kezdve azonban folyamatosan emelkedett a pozitív minták aránya. A 25-29,9 °C közötti kategóriában már 48,3 %, a 30-34,9 °C közötti kategóriában pedig 70 % volt a pozitív hidegvíz minták aránya (6.25. ábra).



6.25. ábra A hidegvíz-minták százalékos megoszlása a mintavételkor mért vízhőmérséklet és a *Legionella* csíraszám alapján, 5 °C-ként kategóriákba sorolva (N=321)

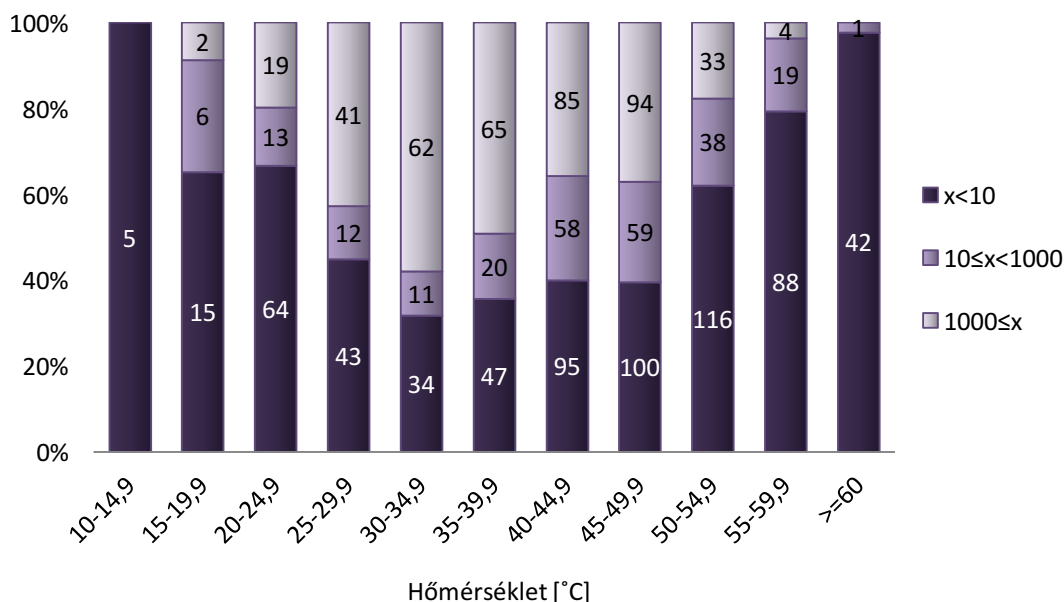
A HMV hőmérséklete tág határok között mozgott: vettünk olyan mintát, ami kifolytatás után mindössze 10 °C-os volt, de 85 °C-os vízhőmérsékletet is mértünk. A HMV minták 2,2 %-ának (28) hőmérséklete 1 perc folytatást követően is 20 °C alatt volt. A HMV-minták mediánja 44 °C volt, ami 11 °C-kal alacsonyabb az elvárt értéktartomány alsó határánál (55 °C). Az 1291 HMV minta közül mindössze 154 (11,9 %) hőmérséklete volt 55 °C-nál magasabb. Az épületenkénti átlagait vizsgálva, a kolonizált<sup>12</sup> épületek HMV-mintáinak átlaghőmérséklete közel 3 °C-kal alacsonyabb volt (N=90; 43,4 °C) a nem kolonizált épületekhez képest (N=51; 46,3 °C), de az eredmény nem szignifikáns (Mann-Whitney próba, p=0,129). Az épületek HMV hőmérsékletének átlaga szállodák (47,5 °C) esetében a legmagasabb, és az oktatási és egészségügyi intézmények (41,4 és 43,3 °C) esetében pedig a legalacsonyabb volt. Az egyes épülettípusok hőmérséklet átlaga a kritikus hőmérséklet-tartományon belül egy szűk határon (41,4 - 46,1 °C) belül változott (6.26. ábra).



6.26. ábra Az épületekből vett vízminták hőmérsékletének átlaga épülettípusonként átlagolva, szórással (N=141)

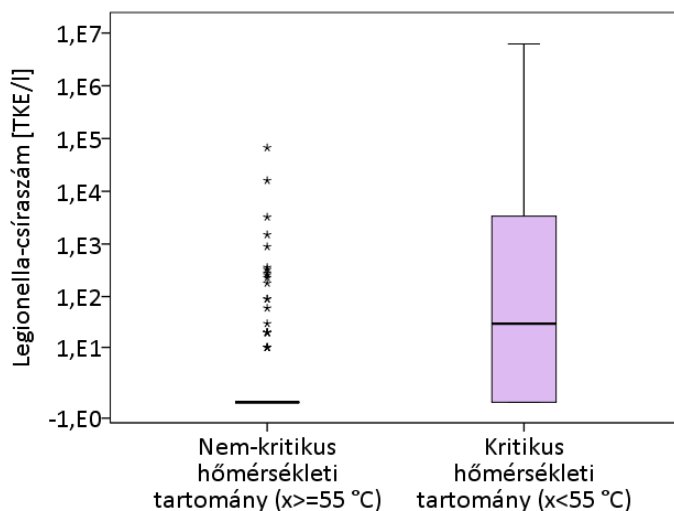
<sup>12</sup> Kolonizáltak azt a hálózatot tekintettük, amelyből legalább egy legionellára nézve pozitív vízmintát vettünk.

A 30-34,9 °C közötti hőmérséklet-tartományban volt a legmagasabb mind a pozitív (68,2 %; 73/107), mind az 1000 TKE/l feletti vízminták aránya (57,9 %; 62/107). Az alacsonyabb és a magasabb hőmérséklet felé is kategóriáról kategóriára egyenletesen csökkent a pozitív minták aránya. Egyetlen 60 °C feletti hőmérsékletű mintából azonosítottunk csak legionellát (6.27. ábra).



6.27. ábra A melegvíz-minták százalékos megoszlása a mintavételkor mért vízhőmérséklet és a *Legionella* csíraszám alapján, 5 °C-ként kategorizálva (N=1291)

A kritikus hőmérséklet-tartományba eső 1137 vízminta *Legionella* csíraszám magasabb volt, a normál tartományéhoz képest, az eredmény igen erősen szignifikáns volt (Mann-Whitney próba,  $p < 0,001$ , 6.28. ábra). A pozitív minták aránya 3,5-szerese (54,5 % vs. 15,6 %), az 1000 TKE/l feletti minták aránya pedig 13,4-szerese (34,9 % vs. 2,6 %) volt a kritikus hőmérsékleti tartományban a nem-kritikus tartományéhoz képest.

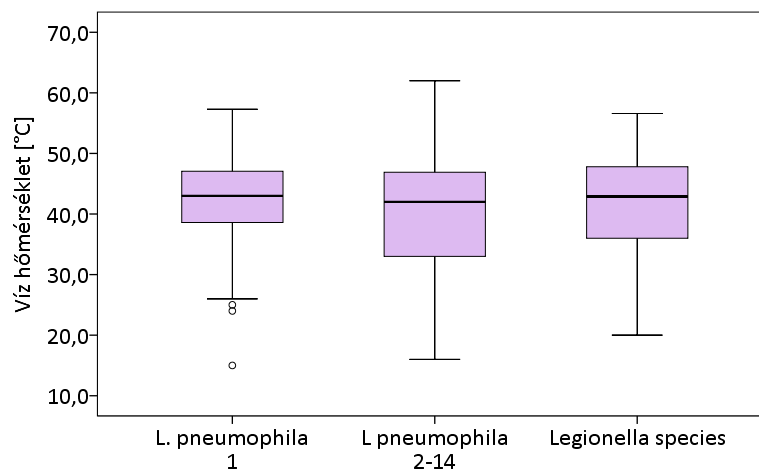


6.28. ábra A kritikus hőmérsékleti tartományba és az azon kívül eső vízminták *Legionella* csíraszámjai ( $N_{\text{összes}}=1291$ ,  $N_{\text{nem-kritikus}}=154$ ,  $N_{\text{kritikus}}=1137$ )



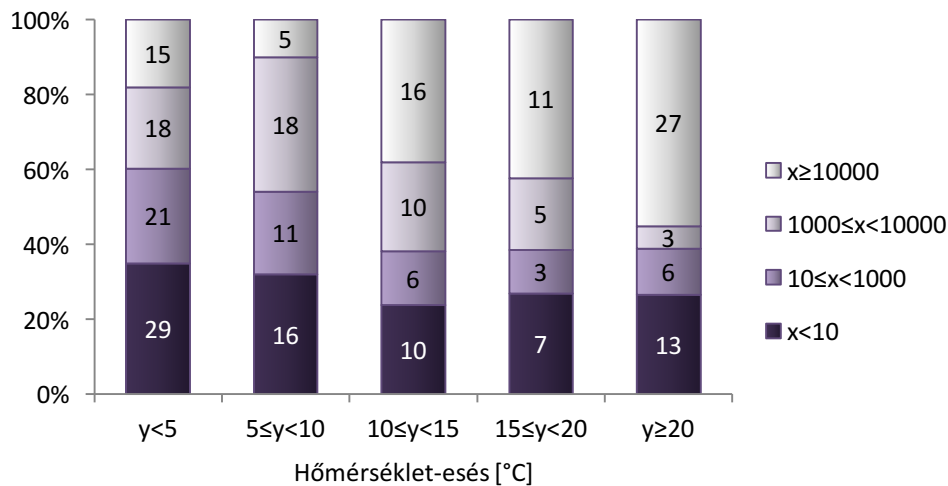
Mivel a hazai használati melegvíz hőmérséklete ritkán – az általunk vett minták mindössze 12,0 %-ában – érte el az 55 °C-ot és az ismert okok – úgymint energetikai megfontolások, forrázástól való félelem és hálózat műszaki állapotának megóvása – miatt az üzemeltetők jellemzően ennél alacsonyabb hőmérsékletet tartottak elfogadhatónak, megvizsgáltuk, hogy az 50 °C feletti melegvíz hőmérséklet is védelmet jelent-e a legionellák elszaporodása ellen a vízhálózatban. Annak ellenére, hogy az 50 és 55°C közötti hőmérséklettartományban a minták közel 40 %-a pozitív volt és 55°C felett ez a pozitivitási arány mindössze 16 % volt, mégis megfigyelhető volt már az 50 °C feletti hőmérséklet védő hatása is; az 50 °C alatti hőmérsékletű vízminták *Legionella* csíraszám magasabbnak bizonyult ugyanezen hőmérséklet felettiékhöz képest, az eredmény igen erősen szignifikáns volt (Mann-Whitney próba,  $p < 0,001$ ).

Nem találtunk szignifikáns eltérést a melegvíz hőmérséklete és az egyes *Legionella* fajok és a *L. pneumophila* szerocsoportok előfordulási gyakorisága között (Kruskal-Wallis próba,  $p = 0,149$ ; 6.29. ábra). A legmelegebb (62 °C) pozitív mintából 890 TKE/l *L. pneumophila* 2-14 tenyésztett ki. A *L. pneumophila* 1-es szerotípusra pozitív minta közül a legmelegebb hőmérséklete 59,9 °C volt.



6.29. ábra A vízminták hőmérséklet-eloszlási gyakoriság a kitenyészthető *Legionella* típus szerint ( $N_{L. pneumophila\ 1}=120$ ,  $N_{L. pneumophila\ 2-14}=449$ ,  $N_{L. species}=82$ ,  $N_{összes}=651$ )

A hőmérsékletesés – azaz egy mintavétel alkalmával a hálózatból vett legmagasabb és legalacsonyabb hőmérsékletű minták hőmérsékletének különbsége – jó indikátora a cirkuláció hatékonyságának ellenőrzésére központi előállítású használati melegvízzel ellátott hálózatokban. Mindössze a vízhálózatok felénél (53,2 %) volt a szakmai előírásoknak megfelelő, 10 °C-nál kisebb hőmérsékletesés megfigyelhető (6.30. ábra) [176]. A legalacsonyabb a kisebb hőmérsékletesést mutató hálózatokban volt a *Legionella* csíraszám (Kruskal-Wallis próba,  $p < 0,001$ , 6.30. ábra). Öt esetben (az összes hasonló mintavétel 2,0 %-ában) a rendszeren belüli hőmérsékletcsökkenés 35 °C-nál is több volt.



6.30. ábra Az egyes épületekből vett vízminták maximum és minimumából számolt hőmérsékletesés függvényében ábrázolva mintavételi időpontonként külön a maximális csíraszám értékeket kategorizálva ( $N_{\text{mintavételi alkalmak}}=250$ )

A különböző szabályozó dokumentumok, köztük az Európai Útmutató szerint is a HMV-hálózaton belül a rendszer besabályozásakor arra kell törekedni, hogy a hőmérsékletesés 5 °C alatt legyen, de semmiképp ne haladja meg a 10 °C-ot. Nem találtunk különbséget azon hálózatokból vett vízminták *Legionella* csíraszám értékei között, amelyek esetében a rendszeren belüli hőmérsékletesés 5 °C alatt ill. 5 és 10 °C között volt (Mann-Whitney próba,  $p=0,859$ ). A 10 °C-nál magasabb hőmérsékletesés a rendszeren belül azonban egyértelműen megnövelte a legionellák csíraszámát (Mann-Whitney próba,  $p<0,001$ ), az eredmény igen erősen szignifikáns volt.

Egy-két településtől eltekintve, Magyarországon a vezetett víz hőmérséklete jellemzően 10-18 °C körül változik, viszonylag ritka, hogy hazai viszonyok között az épületre menő víz hőmérséklete 20 °C felett legyen. Az ivóvíz jellemzően az épületen belül melegedett fel. Feltételezhetően a rossz rendszerkialakításból és az üzemeltetési körülményekből eredően egyes ivóvízminták hőmérséklete kritikusan magas volt, ami a hidegvíz-hálózat izolációjának teljes hiányára utalt. Tény azonban, hogy a csaptelepek nem ritkán áteresztettek, ami elsősorban a keverőcsapok esetében jelentkező probléma volt, ez pedig torzíthatta az eredményeket, illetve magyarázatul szolgálhatott egyes kiugró hőmérséklet-értékeknek is<sup>13</sup>.

A legtöbb ajánlás és jogszabály szerint is, amennyiben az ellenőrző csapokon a hidegvíz hőmérséklete 20 vagy 25 °C alatt van (ajánlástól függően), nem kell vizsgálni a hidegvizet *Legionella* irányába [176, 304]. Ez pedig hamis biztonságérzetet adhat, mivel ugyan jellemzően magasabb a 20 °C feletti hidegvíz minták *Legionella* csíraszám a 20 °C alattiakhoz képest, még a 20 °C alatti minták esetében is találtunk olyat amelyeknek a *Legionella* csíraszám a 1000 TKE/l

<sup>13</sup> Azon mintákat, ahol egyértelműen áteresztett a keverőcsap, kizártuk az elemzésekből.

felett volt. A rendszerkialakításból és az üzemeltetési körülményekből eredő problémák gyakran a mintavétel idején történő hőmérsékletmérés alkalmával nem kerülhettek feltárára, mivel a mintavétel jellemzően munkaidőben történt, amikor az épületek vízfogyasztása általában a legmagasabb, és a pangás csekélyebb volt [324].

A használati melegvíz végpontokon mért hőmérsékletét elsősorban a beállított hálózatra menő hőmérséklet és a – rendszer beszabályozottságát jellemző – hálózaton belüli hőmérsékletesés határozza meg. Egyes szerzők a használati melegvíz rendszerekben 60 °C feletti hőmérsékletet tartanak megfelelőnek, amihez egyes országok (pl. Németország, Ausztria és Hollandia) jogi előírásai is alkalmazkodtak [164, 168, 175, 358]. Mások már 50 °C-os használati melegvíz hőmérséklet esetén is a *Legionella* kolonizáció szignifikáns csökkenését tapasztalták [236]. Jelentősen alacsonyabb csíraszámot tapasztaltunk az 50-55 °C közötti vízmintákban, mint az alacsonyabb hőmérsékleti-kategóriákban. Eredményeink alátámasztják az Európai Útmutató ajánlását, miszerint a HMV-nek 55 °C felett kell lennie a legionellák visszaszorítása érdekében, de már az 50 °C-os víz is csökkenti elszaporodásuk kockázatát [176]. Tény, hogy a szabadon élő legionellák 55 °C-on rövid idő alatt elpusztulnak, azonban más szerzőkhöz hasonlóan ennél magasabb hőmérsékletű vízből is izoláltunk legionellákat [168, 170, 171, 173, 242]. Ennek hátterében az állhat, hogy a baktérium vagy az élőbevonat extracelluláris mátrixában, vagy egyéb szervezetek által védettséget kap és így áll ellen a magasabb hőmérsékletnek [188, 189].

Az épületekre menő használati melegvíz hőmérsékletét a vízkőképződés, a korrózió mérséklése, és a forrázás-veszély elkerülése érdekében, illetve energetikai és gazdasági megfontolásokból gyakran alacsonyan tartják. A fenti szempontok a közintézményekben fokozottan érvényesülhetnek; az egészségügyi- és az oktatási intézmények jellemző HMV-hőmérséklete alacsonyabb volt az egyéb épülettípushoz képest. Valójában mindegyik vizsgált épülettípus esetén kritikusan alacsony volt a HMV hőmérsékletének átlaga, messze elmaradva a kockázat-csökkentés szempontjából elégséges minimális 50 °C (55 °C)-tól. Bár a kolonizált épületek hőmérséklet-átlaga alacsonyabb volt, a nem kolonizált épületek átlaghőmérséklete is a kockázatot jelentő tartományba esett, vagyis önmagában a hőmérséklet nem magyarázza a legionellák megtelepedését.

Az eredményeink alátámasztották, hogy az épületekre menő megfelelően magas HMV-hőmérséklet mellett a 10 °C-nál nem nagyobb hőmérsékletesés is elfogadható lehet. Ennek a megfigyelésnek komoly gyakorlati jelentősége lehet, mivel tapasztalataink szerint a hazai viszonylatban kevés olyan épület volt, ahol a hőmérsékletesés 5 °C alatti, ugyanakkor az 5-10 °C közötti különbség reálisan megvalósítható. A hálózati víz hőmérséklete igen jelentős hatással van a *Legionella*

szennyezettségre, így a hálózati vízrendszerek hőmérséklet-kontrollja elsődleges a legionellák visszaszorítása szempontjából. A hőmérsékletellenőrzés előnye, hogy könnyen, laboratóriumi háttér nélkül is kivitelezhető, valamint a víz hőmérséklet az épületgépészeti sajátságokkal és limitációkkal (vízhálózat anyag, vízkőképződési-potenciál, beszabályozottság, beszabályozhatóság) számolva viszonylag könnyen változtatható.

Azon vízhálózatok esetében, amelyekben a kívánt hőmérsékleti viszonyok a hálózat egészében vagy egy részében nem érhetőek el, ott alternatív fertőtlenítési megoldásról kell gondoskodni [176]. Magyarországon a jogi szabályozás és a legionellával kapcsolatos veszélyérzelet hiányában ez idáig nem volt elterjedt gyakorlat, amin valószínűsíthetően a 2016. februárjában hatályba lépő EMMI rendelet változtatni fog [304].

#### 6.4.2 A vízminőségi paraméterek és *Legionella* csíraszám közötti kapcsolat használati melegvíz vízminták esetén

##### 6.4.2.1 Hagyományos vízmikrobiológiai indikátorok

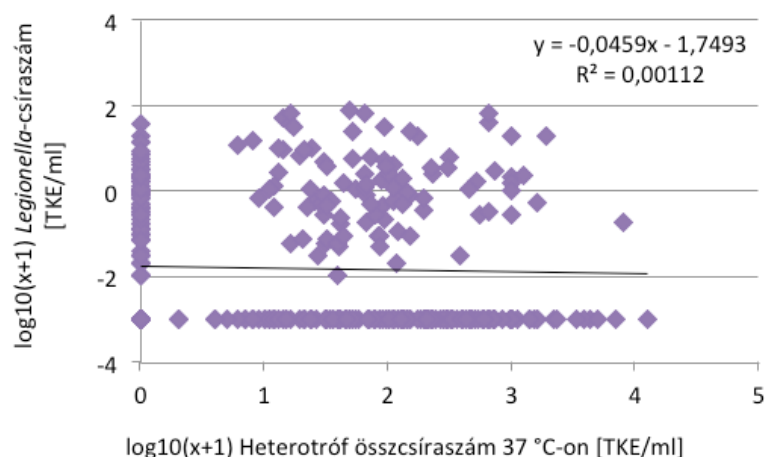
Közegészségügyi szempontból fontos kérdés, hogy a rutin vízvizsgálatok során vizsgált paraméterek jelzik-e a minta *Legionella* szennyezettségét. A minták egy részénél ezért két hőfokos heterotróf összcsíraszám (37 °C-on 396, 22 °C-on 371 minta), illetve *P. aeruginosa* (617 minta) vizsgálatot is végeztünk.

A 37 °C-on és a 22 °C-on tenyésztett heterotróf összcsíraszám vizsgálat eredményei egymással szorosan összefüggtek ( $R^2=0,829$ ); mediánjaik nagyságrendileg azonosak voltak (24 és 12 TKE/ml, 6.9. táblázat). A legújabb kutatási eredményekkel ellentétben nem találtunk összefüggést a 37 °C-on és a 22 °C-on tenyésztett heterotróf összcsíraszám és a *Legionella* csíraszám között ( $R^2_{37°C}=0,00112$  és  $R^2_{22°C}=0,00211$ , 6.31 ábra) [163, 175, 239].

	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> [TKE/ml]	Heterotróf összcsíraszám 37 °C-on [TKE/ml]	Heterotróf összcsíraszám 22 °C-on [TKE/ml]
Mintaszám [db]	617	396	371
Pozitív vízminták [db]	127 (20,6 %)	249 (62,9 %)	371 (56,1 %)
25 %-os percentilis	0	0	0
Medián	0	24	12
75 %-os percentilis	0	150	110
Maximum	10	$1,2 \cdot 10^4$	$5,0 \cdot 10^3$

6.9. táblázat A vízminták *Pseudomonas aeruginosa*, illetve 37 °C-on, valamint 22 °C-on tenyésztett heterotróf összcsíraszám eredményeit jellemző adatok

*Legionella* csíraszám pozitivitása alapján vizsgálva a heterotróf összcsíraszám valamint a *P. aeruginosa*-értékeket, nem találtunk szignifikáns eltérést a legionellára nézve pozitív és negatív csoport összcsíraszám- és *P. aeruginosa*-értékei között (Mann-Whitney próba, 6.10. táblázat).



6.31 ábra A vízminták *Legionella* csíraszám koncentrációjának 10-es alapú logaritmus-értékei [ $\log_{10}(x+1)$ ] a 37 °C-os heterotróf összcsíraszám hasonló módon transzformál értékeinek függvényében ábrázolva (N=396), illesztett egyenessel és annak egyenletével, illetve  $R^2$ -értékével

A *P. aeruginosa* irányába is vizsgált, zömében (71,3 %) kórházi vízhálózatból vett 617 vízminta közül a baktérium 127-ből (20,6 %) tenyésztett ki, amely közül 57 (44,9 %) volt pozitív legionellára nézve is. Ez az arány nagyjából megegyezett az összes vízminta *Legionella* pozitívítási arányával (41,9 %). Mindhárom vízvizsgálati paraméter esetében igaz volt, hogy a *Legionella* pozitív vízminták csíraszám értékei, csekély mértékben ugyan, de alacsonyabbak voltak a *Legionella* negatív minták hasonló értékeihez képest (medián, 75 %-os percentilis; 6.10. táblázat).

	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> [TKE/ml]		Heterotróf összcsíraszám 37 °C-on [TKE/ml]		Heterotróf összcsíraszám 22 °C-on [TKE/ml]	
	<i>Legionella</i> pozitív	<i>Legionella</i> negatív	<i>Legionella</i> pozitív	<i>Legionella</i> negatív	<i>Legionella</i> pozitív	<i>Legionella</i> negatív
<b>Minták száma/</b>	299/617	318/617	159/396	237/396	154/371	217/371
<b>összes minta (%)</b>	(48,5 %)	(51,5 %)	(40,2 %)	(59,8 %)	(41,5 %)	(58,5 %)
<b>25 %-os percentilis</b>	0	0	0	0	0	0
<b>Medián</b>	0	0	22	30	10	16
<b>75 %-os percentilis</b>	0	0	72	190	92	220
<b>p-érték</b>	<b>0,281</b>		<b>0,084</b>		<b>0,111</b>	

6.10. táblázat Mintaszámok és jellemző *P. aeruginosa*, valamint 37, és 22 °C-os heterotróf összcsíraszám-értékek a hálózati vízben előforduló *Legionella* jelenléte vagy hiánya alapján, illetve a csoportok mediánjai közötti különbség értelmezésére szolgáló, Mann-Whitney próba eredményeként kapott p-értékek

Használati vízben a heterotróf összcsíraszám és a *Legionella* csíraszám közötti kapcsolat és ennek háttere egyelőre nem teljesen feltárt. Egyes szerzők szerint a heterotróf összcsíraszám a biofilm-képződés, így közvetve a *Legionella spp.* indikátora lehet [165]. Mások szerint a heterotróf összcsíraszám függ az *Acanthamoeba spp.* jelenléttől/hiánytól [44, 196, 223]. A nemzetközi kutatások következtetései egymással gyakran ellentmondók: egyes vizsgálatok igen, mások nem találtak összefüggést a heterotróf összcsíraszám és a *Legionella spp.* jelenléte között [163, 165, 170, 175, 239]. Jelen eredményeink alapján sem a 22 °C-os, sem a 37 °C-os

heterotróf összcsíraszám értékből nem lehet következtetni a víz *Legionella* koncentrációjára, de pozitívására sem. A pseudomonasokat összefüggésbe hozták az élőbevonat jelenlétével és a legionellák vízhálózat-kolonizációjával [208], azonban a témában megjelent tudományos munkák eredményei nem támasztják alá konzekvensen, hogy a *P. aeruginosa* jelenléte kedvez-e, vagy gátolja a legionellák szaporodását [170, 208, 209, 242].

A *Legionella* kolonizáció ökológiája szempontjából jelentős biotikus tényezők rendkívül komplexek, a jelen vizsgálatnak ezek feltárása nem képezte tárgyát. Az indikátorokkal való összevetés csak azt célozta, hogy a költséges *Legionella* vizsgálat helyett valamelyik rutin paraméter jelenthet-e előzetes indikációt a kolonizációra. Mivel azonban semmilyen kapcsolatot nem tudunk igazolni, így eredményeink megerősítik korábbi feltételezésünket, hogy a *Legionella* szempontjából kockázatot jelentő vizes rendszerek vizsgálata esetében a rutin közegészségügyi vízvizsgálati paraméterekkel nem helyettesíthető a *Legionella* vizsgálat.

#### 6.4.2.2 Az ivóvíz eredetének hatása

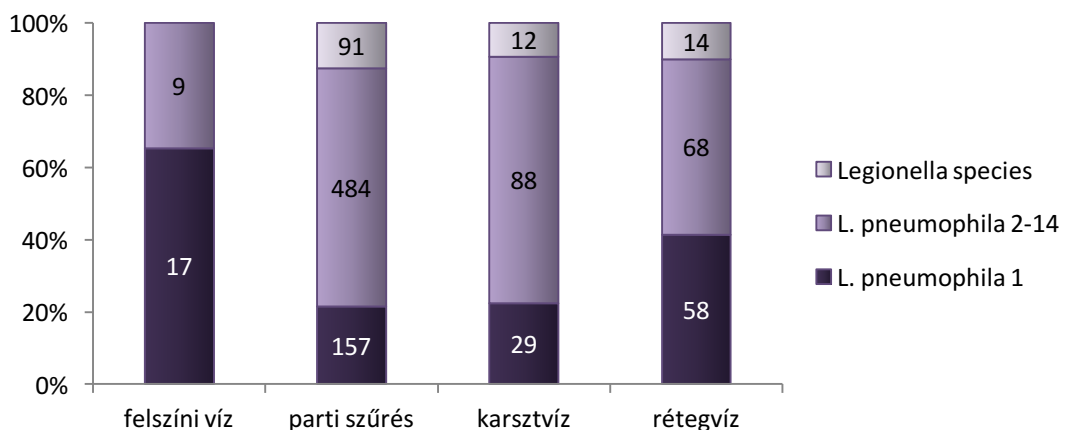
Az ivóvíz eredete jelentős mértékben meghatározhatja a hálózati víz kémiai és mikrobiológiai minőségét, amely közvetlen, vagy közvetett hatással is lehet a *Legionella* csíraszámra. Az 1809 használati melegvíz minta 61,8 %-a (1118) parti szűrésű víz, 22,7 %-a (411) rétegvíz, 13,0 %-a (235) karsztvíz és mindössze 2,5 %-a (45) felszíni vízkivételből származó volt (6.11. táblázat). Ez a megoszlás nagyjából tükrözte a hazai, lakossági felhasználás szerinti adatokat. Limitációt jelentett, hogy a felszíni víz csoport az alacsony mintaszám mellett homogén is volt: a minták jellemzően egy város (Szolnok), azonos típusú épületeiből (iskolákból) származtak.

Legmagasabb a parti szűrésű HMV-minták esetében volt a pozitívítási arány; a minták 52,4 %-ából (586/1118) mutattunk ki legionellákat, közel azonos volt a felszíni víz és a karsztvíz eredetű minták pozitívítási aránya (44,4 és 47,7 %), az eredmény nem volt szignifikáns (Kruskal-Wallis próba,  $p=0,145$ ). Kimutatható csíraszámokban a rétegvíz eredetűek ezzel szemben kisebb arányban tartalmaztak legionellát, az eredmény igen erősen szignifikáns volt (Kruskal-Wallis próba,  $p<0,001$ ).

	Felszíni víz	Parti szűrésű víz	Karsztvíz	Rétegvíz
<b>Minta</b>	45	1118	235	411
<b>Pozitív vízminták [db]</b>	20 (44,4 %)	586 (52,4 %)	112 (47,7 %)	115 (28,0 %)
<b>1000 TKE/l feletti minták [db]</b>	17 (37,8 %)	492 (44,1 %)	92 (39,1 %)	94 (22,9 %)
<b>25 %-os percentilis [TKE/l]</b>	0	0	0	0
<b>Medián [TKE/l]</b>	0	$1,0 \cdot 10^1$	0	0
<b>75 %-os percentilis [TKE/l]</b>	$5,9 \cdot 10^3$	$2,1 \cdot 10^3$	$1,3 \cdot 10^3$	$3,0 \cdot 10^2$
<b>Maximum [TKE/l]</b>	$8,1 \cdot 10^4$	$1,8 \cdot 10^6$	$6,2 \cdot 10^6$	$1,5 \cdot 10^6$

6.11. táblázat Mintaszámok és jellemző *Legionella* csíraszám értékek a használati melegvíz minták esetében a melegvíz alapjául szolgáló ivóvíz eredete szerint kategorizálva (N=1809)

A különböző eredetű ivóvízzel ellátott HMV-rendszerekben a legionellák diverzitását vizsgálva különbséget találtunk azok megoszlásában, az eredmény igen erősen szignifikáns volt (Chi<sup>2</sup>-próba, p<0,001; 6.32. ábra). A felszíni víz eredetű HMV-mintákból nagyobb arányban izoláltunk *L. pneumophila* 1-et. A parti szűrésű és a karsztvíz eredetű minták faji diverzitása között nem találtunk különbséget (Chi<sup>2</sup>-próba, p=0,581). Figyelembe kell venni, hogy a megoszlási arány némiképp torzít, mivel a felszíni víz minták száma – így e csoportban a legionellára nézve pozitív minták száma is – jóval a többi csoport mintaszáma alatt maradt. A feltételezhetően torzító felszíni vízminták eredményeit figyelmen kívül hagyva, csak a parti szűrésű, a karszt- és a rétegvíz mintákat vizsgálva, szintén szignifikáns különbséget találtunk a *Legionella* fajok és szerocsoportok eloszlásában (*L. pneumophila* 1, 2-14 és egyéb *Legionella* fajok; p<0,001, Chi<sup>2</sup>-próba). A rétegvíz mintákban magasabb volt a *L. pneumophila* 1 és alacsonyabb a *L. pneumophila* 2-14 aránya.

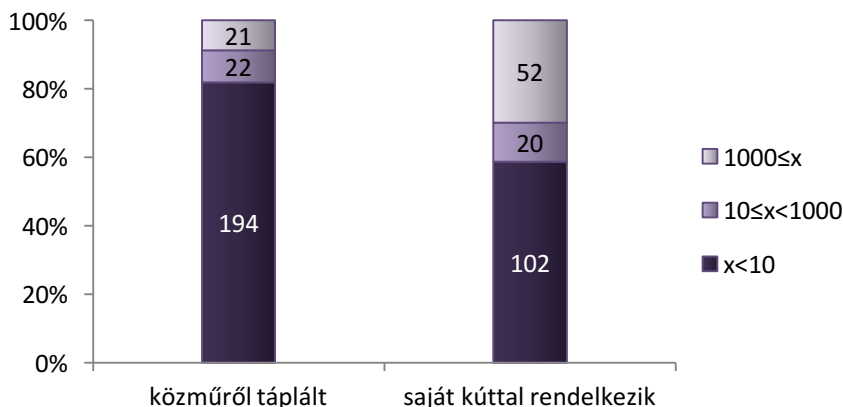


6.32. ábra A víz eredete szerinti csoportokban a használati melegvíz-minták *Legionella* megoszlása

A 168 mintázott létesítményből 13 esetében saját, mélyfúrású kútból nyert rétegvízzel táplálták a használati melegvíz-rendszert. A HMV minták 10 %-a (180/1809) származott ilyen egyéni ivóvízellátású rendszerből. Az egyedi ivóvízellátással rendelkező létesítmények esetében a *Legionella* szennyezettség nem különbözött a települési vezetett vízzel táplált épületekhez képest (Mann-Whitney próba, p=0,904), annak ellenére, hogy minden egyedi ivóvízellátású létesítmény esetén rétegvíz került a rendszerbe, ami pedig az összes mintát együtt vizsgálva alacsonyabb kolonizáltságot jelentett a másik 3 típushoz képest.

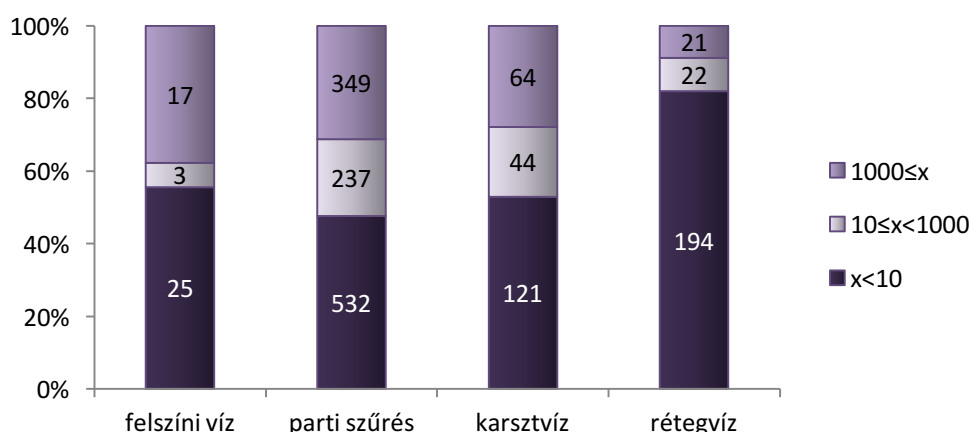
A 411 rétegvíz eredetű HMV minta közül 237 közműből, 174 pedig saját kúttal rendelkező rendszerből származott (57,7 és 42,3 %). A közműről táplált rétegvíz eredetű minták *Legionella* csíraszámja lényegesen alacsonyabb volt az egyéni kútból tápláltakhoz képest, az eredmény igen erősen szignifikáns (Mann-Whitney teszt, p<0,001). A közműről táplált minták esetében a *Legionella* pozitív minták aránya kevesebb, mint fele, 18,1 % (43/237) volt a saját kúttal

rendelkező minták 41,4 %-ához (72/174) képest (6.33. ábra). Chi<sup>2</sup>-próbával vizsgálva nem találtunk különbséget a közmű által szolgáltatott, illetve saját kútból nyert rétegvíz eredetű minták *Legionella* diverzitása között (p=0,439).



6.33. ábra A közműről táplált és a saját kúttal rendelkező rétegvíz eredetű ivóvíz eredetű használati melegvíz-minták százalékos megoszlása a *Legionella* csíraszám alapján felállított kategóriák szerint (N=411)

A saját kútból nyert rétegvíz eredetű minták ily mértékű torzításának ismeretében megvizsgáltuk újból a vízminták *Legionella* csíraszámait az ivóvíz eredete szerint úgy, hogy csak a közműről táplált vízmintákat vettük az elemzésbe, kihagyva az egyéni rendszerekből vett melegvíz mintákat. A rétegvíz eredetű közműves ivóvízzel táplált melegvíz-hálózatok esetén lényegesen alacsonyabb volt a legionellára nézve pozitív minták aránya az egyéb eredetű vizekéhez képest (18,1 vs. 51,2 %, Kruskal-Wallis próba, p<0,001, 6.34. ábra).



6.34. ábra A víz eredete szerinti csoportokban a közműről táplált használati melegvíz-minták *Legionella* csíraszámainak eloszlása a vízminták *Legionella* koncentrációja alapján kategorizálva (N=1629)

Eddig kevés publikáció vizsgálta a kapcsolatot a víz eredete és a *Legionella* csíraszama között [152, 159, 167, 175, 359]. Jelen vizsgálathoz hasonlóan széleskörű, többféle eredetű vizet vizsgáló *Legionella* prevalencia vizsgálat még nem készült. Nem vizsgálták eddig a parti szűrésű és a karsztvíz hatását sem a *Legionella* kolonizációra, mivel a korábbi kutatások jellemzően csak



rétegvíz és felszíni víz vizsgálatára terjedtek ki. Eredményeink összhangban voltak a megjelent tudományos publikációkkal, miszerint a felszíni vízben a rétegvízhez képest magasabb volt a *Legionella* pozitívitás aránya [159, 359], míg más szerzők nem találtak egyértelmű kapcsolatot a víz eredete és *Legionella* pozitívitása között [152, 167, 175]. A legionellák természetes élőhelyükről, a környezetből könnyen, átjutva a vízkezelési és víztisztítási technológiákon, bekerülnek az ivóvíz-hálózatba, különösen a kevésbé védett vízbázisok esetén (felszíni-, parti szűrésű és karsztvíz). A hasonló vizsgálatokban a vízminták jellemzően egy földrajzi egységről származtak, így a minták eredete általában azonos, de számos munka értékelésében szerepel, hogy a talált *Legionella* prevalencia mögött az ivóvíz eredete is lehet egy magyarázó tényező. Azt vártuk, hogy az egyéni rendszerek, mivel kisebbek, legionellával kevésbé kolonizáltak, nagy rendszerekben ugyanis a kiülepedés, a pangó és korrodált szakaszok aránya nagyobb lehet. Ezzel ellentétben egyéni rendszerekhez képest a közművesített hálózatból származó vízminták *Legionella* csíraszám értékei bizonyultak alacsonyabbnak, ami megegyezett egy amerikai kutatás eredményeivel, miszerint az egyéni ivóvíz-ellátás több mint kétszeresére növelte a legionárius megbetegedés kialakulásának veszélyét [150]. Ennek háttérében az a tény állhat, hogy a nagyobb vízművek komolyabb ivóvízbiztonsági-gyakorlattal rendelkeznek és nagyobb technológiai fegyelemmel üzemelnek a kisebb vízművekhez, illetve az egyes létesítmények (pl. kórházak, üzemek stb.) saját víznyerő és vízkezelő rendszereihez képest, ahol a műszaki személyzet egyéb teendői mellett látja el a létesítményi vízmű üzemeltetését.

#### 6.4.2.3 Az ivóvíz fertőtlenítésének hatása

A saját kúttal rendelkező létesítmények közül nyolc esetében rendelkezünk információval a nyers rétegvíz fertőtlenítésével kapcsolatban. A 71 HMV minta közül 22 nem volt fertőtlenített (4 rendszer), 49 (4 rendszer) klórozással volt kezelt. A nem-fertőtlenített vízminták *Legionella* csíraszám magasabb volt (Mann-Whitney próba,  $p=0,003$ ), az eredmény erősen szignifikáns volt. Az ismeretlen minták csíraszám hasonlóan magas volt, mint a nem fertőtlenített mintáké. A fenti okok miatt ezen eredményből is nehéz pontos következtetést levonni.

A közműves ivóvízzel ellátott és központi HMV-ellátással rendelkező létesítmények közül 85-ben az ivóvizet a vízműben folyamatosan, 7 esetében időszakosan fertőtlenítették. A vizsgált épületek közül nem volt olyan, amelyet olyan vízmű látott el ivóvízzel, amelyben semmilyen vízfertőtlenítési eljárást nem alkalmaztak. A vízfertőtlenítés módja általában hipoklorit (79 épület), ritkább esetben klórgáz (12 épület) volt. Az 1298 HMV mintát vizsgálva, amelyek mindegyikét központi melegvízellátású épületből vettük, nem találtunk szignifikáns különbséget

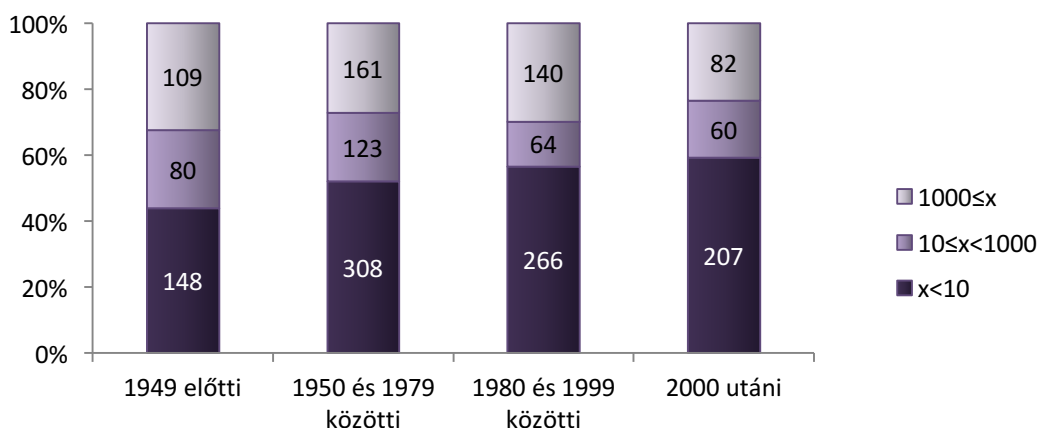
az alapján, hogy az ivóvizet szolgáltató vízműben folyamatosan (1120 minta), vagy időszakosan alkalmazott (178 minta) fertőtlenítést használtak-e (Mann-Whitney próba,  $p=0,368$ ). Nem találtunk különbséget továbbá az alapján sem, hogy hipokloritot (1263 minta) vagy klórgázt (35 minta) használtak az ivóvíz fertőtlenítésére (Mann-Whitney próba,  $p=0,452$ ).

Eredményeink is arra utalnak, hogy a legtöbb vízi kórokozóval ellentétben a legionellák, különösen a *L. pneumophila* kevésbé érzékenyek a hagyományos vízkezelési eljárásokra, így a vízfertőtlenítésre is [360], mivel a klórgázzal vagy hipoklorittal fertőtlenített ivóvízből előállított használati melegvíz minták *Legionella* csíraszámára nem tért el a nem, vagy csak időszakosan fertőtlenített mintákétól.

### 6.4.3 Műszaki és egyéb tényezők hatása

#### 6.4.3.1 Az épület és a használati melegvíz-rendszer kora

Az épületek teljes körű felújítása esetén is ritka, hogy a teljes vízhálózatot kicserélik, így a HMV-rendszer (hőközpont, vezetékek stb.) mellett az épület korát is vizsgáltuk, mint a legionellák elszaporodását befolyásoló egyik potenciális tényezőt. A 154 épületet (1748 vízminta), amelyek koráról információval rendelkezünk, az építés éve alapján 4, nagyságrendileg megegyező mintaszámú csoportba soroltuk (6.35. ábra). A legújabb épületek a legkevésbé kolonizáltak, a pozitív minták aránya 56,1 %-ról (189/337) 46,9 %-ra (142/349) csökkent a régebbi épületekből a fiatalabb épületek irányába; az eredmény szignifikáns volt (Kruskal-Wallis próba,  $p=0,021$ ).



6.35. ábra Az épületek építési éve szerinti csoportokban a használati melegvíz-minták *Legionella* csíraszámainak eloszlása a vízminták *Legionella* koncentrációja alapján kategorizálva (N=1748)

Míg az épület építésének ideje viszonylag könnyen behatárolható volt, a vízhálózat korának meghatározása már számos esetben nehézségekbe ütközött a rendszer egészét, vagy egy részét érintő átalakítási munkálatok miatt. Ritka volt az olyan átalakítás, amely a teljes rendszert

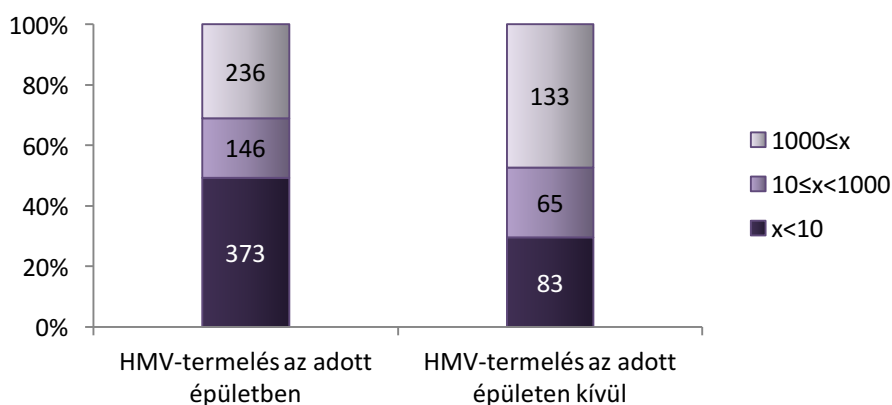
érintette, mert az alapvezetékek kicserélése a legritkább esetben történik meg a hazai gyakorlatban. A kilenc éves vagy annál fiatalabb hálózatokból vett minták (171 minta) *Legionella* csíraszám alacsonyabb volt a 9 évnél idősebbekéhez képest (1638 minta), az eredmény szignifikáns volt (Mann-Whitney próba,  $p=0,042$ ). Az öt évesnél nem régebbi vízhálózatból (4) vett 15 minta közül *Legionella* csak egyből tenyésztett ki (400 TKE/l) annak ellenére, hogy a 15 minta hőmérséklet-értékei alacsonyak voltak (átlag 46,1 °C). Az eredmények megítélésakor figyelembe kell venni, hogy mindkét számításnál a csoportok mintaszáma jelentősen eltért egymástól.

Feltételeztük, hogy minél régebbi egy épület, a valószínűsíthető több átalakítás miatt, annál több lehet a nem használt, pangó csőszakasz, ahonnan egy egyébként megfelelően üzemelő rendszer is könnyen visszaszennyeződhet a baktériummal. Emellett a szocializmus idejében készült HMV-termelő rendszerekre jellemző volt a túlméretezés és a nem szabályozott cirkulációs hálózat, és az ebből adódó nagy hőmérsékletesés a hálózaton belül. A régi rendszerek esetében fokozza a legionellák elszaporodásának kockázatát az előrehaladottabb korrózió és vízkőképződés, ami felületet biztosíthat élőbevonat kialakulásának, ezzel együtt a legionellák elszaporodásának.

A modernebb hálózatok általában könnyebben szabályozhatók és jobban szabályozottak. A legrégebbi rendszerekben egyes esetekben részben, vagy egészben hiányozhat akár a cirkulációs hálózat is. Tapasztalataink szerint mivel a legionellák elszaporodásának fő meghatározója a víz hőmérséklete, így ha az épületre menő HMV hőmérséklete nem kellően magas, akkor akár mennyire jól szabályozott egy rendszer, az alacsony vízhőmérséklet miatt a legionellák akár rövid idő alatt is szennyezhetik a hálózatot. Számolni kell továbbá az építkezés alatti, pl. talaj, csapadék és antropogén eredetű szennyeződés lehetőségével is. Eredményeink összhangban vannak a nemzetközi irodalommal, miszerint a vízhálózat kora is nagymértékben befolyásolhatja a *Legionella* szennyezettséget [162, 164], az új épületek HMV-rendszerei legionellával kevésbé szennyezettek, de a rendszer kolonizációja nem megfelelő üzemeltetés esetén bármikor megtörténhet, így a legújabb hálózatok esetén is számolni kell a legionellák elszaporodásának kockázatával [147, 164, 167, 171].

#### 6.4.3.2 Használati melegvíz-rendszer nagysága

A HMV-rendszer nagysága nehezen definiálható, így a *Legionella* csíraszámot elsősorban az épület emeleteinek száma, illetve összetettsége függvényében vizsgáltuk. Ahol lehetőségünk volt, feljegyeztük, hogy egy adott hőközpont ill. HMV-rendszer egy, vagy több épületet lát-e el, illetve hogy az adott épület hőközpontja az épületen belül, vagy azon kívül kapott-e helyet.

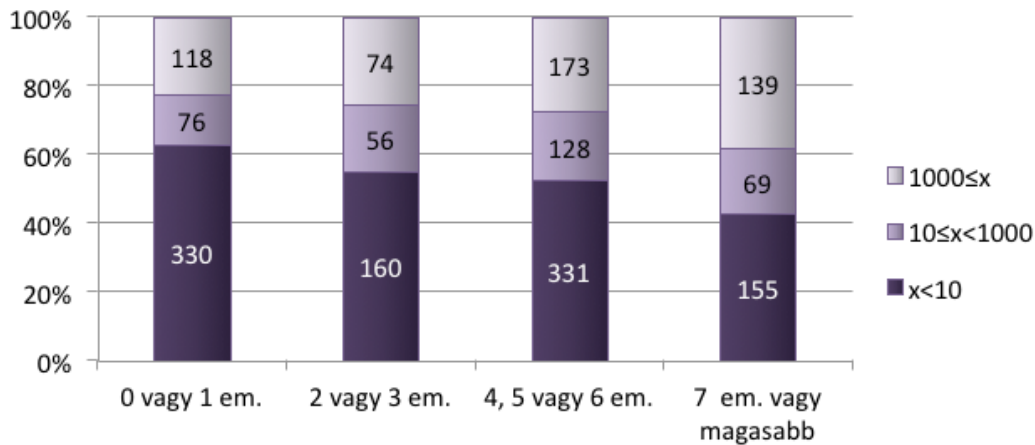


6.36. ábra A HMV-termelés helysége szerint csoportosítva a használati melegvíz-minták *Legionella* csíraszámainak eloszlása a vízminták *Legionella* koncentrációja alapján kategorizálva (N=1036)

Nem találtunk szignifikáns különbséget a minták *Legionella* csíraszámá között aszerint, hogy egy HMV-rendszeren egy (979), vagy több épület (746) osztozott-e (Mann-Whitney próba,  $p=0,528$ ). Megkülönböztettük a mintákat az alapján, hogy a használati melegvizet előállító hőközpont az adott épületben (755 minta), vagy az épületen kívül (281 minta) található-e. A pozitív minták alacsonyabb arányát (50,6 % vs. 70,5 %) találtuk az olyan épületekből vett minták esetében, amelyek HMV-termelése az épületen belül történt. Az eredmény igen erősen szignifikáns volt (Mann-Whitney próba,  $p<0,001$ ; 6.36. ábra). Az összetettebb, pl. több szárnyú épületekből (534) vett vízminták *Legionella* csíraszámá magasabb volt, az egyszerűbb, kevésbé tagolt (442) épületekhez képest. Az eredmény igen erősen szignifikáns volt (Mann-Whitney próba,  $p<0,001$ ).

Minél több emeletes egy épület, annál nagyobb volt mind a legionellára nézve pozitív, mind az 1000 TKE/l feletti minták aránya (6.37. ábra). A legalacsonyabb épületek 37,0 %-os (194/524) pozitivitása egészen a 7 emeletes, vagy annál magasabb épületek 57,3 %-os (208/363) pozitív arányáig nőtt. A csoportok csíraszámának középértéke eltért egymástól, az eredmény igen erősen szignifikáns volt (Kruskal-Wallis próba,  $p<0,001$ ).

Fentieknek látszólag ellentmondó eredményt kaptunk a 328 szállodai használati melegvíz *Legionella* vizsgálati eredményeit elemezve: a legkisebb szálláshelyek alacsony pozitív arányát kivéve, a legmagasabb a 100-200 szobás szállodák (a 2. legkisebb szálláshely csoport) esetében volt a pozitív minták aránya (72,1 %) és az ennél nagyobb, több szobával rendelkező szállodák esetén folyamatosan csökkent mind a pozitív, mind az 1000 TKE/l feletti minták aránya. A 300 feletti szobaszámú szállodákban már csupán a vízminták 27,2 %-a volt pozitív.



6.37. ábra Az épületek emeletei szerint csoportosítva a használati melegvíz-minták *Legionella* csíraszámainak eloszlása a vízminták *Legionella* koncentrációja alapján kategorizálva. Rövidítés: em.=emelet (N=1809)

Eredményeink összhangban álltak a nemzetközi irodalomban leírtakkal, miszerint a nagy épületek és HMV-rendszerek legionellával erősebben szennyezettebbek [171, 226]. A nagy épületek HMV-rendszere nehezebben szabályozható, több lehet a pangó szakasz, illetve nagyobb lehet a hőmérsékletesés is. Amennyiben a HMV-termelés nem az adott épületben történik, már az épületbe lépő HMV hőmérséklete is lényegesen alacsonyabb lehet, mint a termelt használati melegvízé, főleg téli időszakban és olyan rendszerek esetén, ahol nem épületeken belül jut el a HMV a hőközponttól a fogyasztóig. Annak az ellenmondásnak, hogy a szállodák esetében a szobák számának növekedésével csökken a *Legionella* szennyezettség, az állhat a háttérben, hogy a nagy szállodák már általában Magyarországon is rendelkeznek jól működő *Legionella* kockázatkezelési gyakorlattal. Az eredmények megítélésénél figyelembe kell venni, hogy a nagy épületek HMV-ellátása általában központi, míg a kis rendszerek (pl. lakóingatlanok) esetében gyakori az egyéni hőtermelők (bojler, kombi gázkazán) alkalmazása, aminek kapcsolatát a *Legionella* szennyezettséggel a következő fejezet tárgyalja.

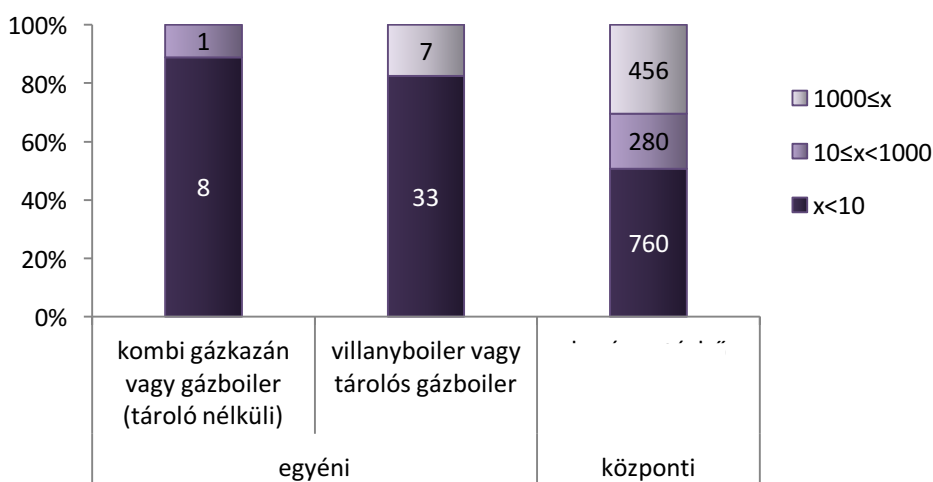
#### 6.4.3.3 Használati melegvíz-termelés módja

A HMV-termelés alapján többféleképpen voltak csoportosíthatók a vett vízminták, úgymint 1) egyéni<sup>14</sup>, vagy központi a melegvíz-előállítás, illetve 2) volt-e HMV-tárolás vagy átfolyós volt a rendszer. Az egyéni vízmelegítők a melegvíz tárolása alapján átfolyós (úgymint pl. kombi gázkazán, átfolyós gázbojler, vagy átfolyós villany-melegítő), illetve tárolós rendszerűek (pl. tárolós gáz- vagy villanybojler) voltak. A nagyobb egységeket ellátó ún. központi használati melegvíz-termelők esetében a primer melegvizet biztosíthatta távhő, vagy kazán (ált. gáz-, vagy

<sup>14</sup> Egyéni HMV-termelőknek azon berendezéseket nevezik, amelyek mindössze egy lakást, vagy végkifolyót látnak el használati melegvízzel

gőzkazán). A központi HMV-termelő rendszerek többségében volt HMV tárolás (direkt vagy közvetett fűtésű tárolók), ritkábban fordult elő, hogy a hőcserélő után HMV-tárolás nem volt, és a szekunder (használati) melegvíz közvetlenül a hálózatra ment.

Egyéni, a felhasználás helyén történő HMV-termelés általában a kis rendszerekre, így a lakóingatlanokra volt jellemző. Ezekon kívül egy szállodából, egy üzemből és két iskolából vettünk még egyéni termelésű HMV-mintát (összesen 49). A központi termelésű HMV-minták (1760) *Legionella* csíraszámja lényegesen magasabb volt, az eredmény igen erősen szignifikáns (Mann-Whitney próba,  $p < 0,001$ ) volt, azonban az eredmények megítélésénél figyelembe kell venni, hogy a két csoport mintaszám nagymértékben eltért egymástól (6.38. ábra).



6.38. ábra A HMV-termelés módja szerint a használati melegvíz-minták *Legionella* csíraszámainak eloszlása a vízminták *Legionella* koncentrációja alapján kategorizálva (N=1545)

Az egyéni vízmelegítők közül a *Legionella* kockázat szempontjából a tárolós rendszerek érdemelnek nagyobb figyelmet. Az átfolyós vízmelegítővel előállított minták közül mindössze egy volt pozitív (11,1 %), a tárolós rendszerek esetében a pozitivitási arány 17,5 % (7/40) volt, ami előbbinek ugyan másfélszerese, de lényegesen alacsonyabb volt, mint a központi rendszerek esetében a 49,2 %-os arány. A szennyezett egyéni tárolókból vett minták hőmérséklete 26,0 °C és 46,2 °C, csíraszámja  $3,2 \cdot 10^3$  és  $1,5 \cdot 10^6$  TKE/l között változott. Minden pozitív egyéni, tárolós HMV-termelőből vett vízmintából a megbetegedésekkel leggyakrabban összefüggésbe hozott *L. pneumophila* 1 tenyésztett ki, egyéb fajt és szerotípust nem azonosítottunk.

Magyarországon a központi melegvíz előállításához szükséges primer hőt általában távhő biztosítja, vagy gőz- vagy gázkazánnal állítják elő. A hőátadás jellemzően a tárolón kívüli vagy belüli hőcserélőn keresztül történik. A központi rendszerekben általában 1-3, egymással sorban, még gyakrabban párhuzamosan kötött, általában álló, ritkábban fekvő HMV-tárolót használnak. A központi HMV-ellátású épületek hazánkban jellemzően cirkulációs hálózattal ellátottak.

Az 1347 központi előállítású HMV minta esetében hasonlítottuk össze a primer hőt távhővel vagy kazánnal biztosító minták *Legionella* csíraszámait (153 és 1194 minta). Előbbi esetében magasabb a minták csíraszámja, az eredmény igen erősen szignifikáns volt (Mann-Whitney próba,  $p < 0,001$ ). Csak a lakóingatlanokra szűkítve a vizsgálatot (33 minta), nem találtunk jelentős különbséget a távhővel, ill. a házközponti termelésű melegvízzel ellátott lakásokból vett HMV-minták *Legionella* csíraszámja között (Mann-Whitney próba,  $p = 0,219$ ).

Feltételeztük, hogy egy HMV-rendszerben a hőközponttól távolodva növekszik a kolonizáció mértéke. Az egyes végkifolyókat a hőközponttól való távolság alapján rangsorolva azonban nem találtunk összefüggést a *Legionella* csíraszámával.

A központi HMV-előállítású épületek esetében a cirkuláció meglétének, illetve hiányának hatását a vízminták *Legionella* csíraszámára nem tudtuk vizsgálni, mivel a vizsgált épületek közül mindössze kettő (1,2 %) nem rendelkezett cirkulációs hálózattal.

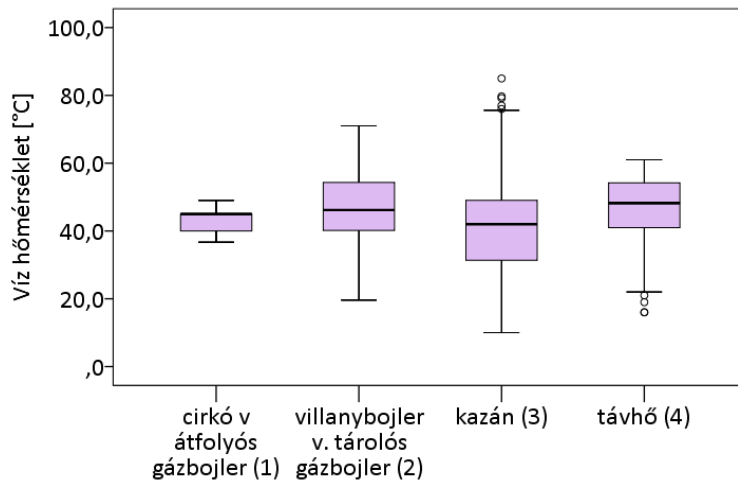
Az egynél több HMV-tároló és a  $2,5 \text{ m}^3$ -nél nagyobb térfogatban tárolt melegvíz növelte a minták *Legionella* csíraszámát, az eredmények erősen szignifikánsak voltak (Mann-Whitney próba,  $p < 0,001$  mindkét esetben, 6.12. táblázat). Az, hogy egy HMV-tároló álló<sup>15</sup>, vagy fekvő elhelyezkedésű jelentős hatással nem volt a rendszer *Legionella* kolonizációjára. A fekvő tárolóval felszerelt rendszerből vett vízminták csíraszámja magasabb volt ugyan, de az eredmény nem volt szignifikáns (6.12. táblázat). A tároló alján vett minta hőmérséklete – főleg az álló HMV-tartályok esetén – gyakran  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ -kal is alacsonyabb volt, mint az épületre menő melegvízé. Nem találtunk jelentős különbséget a vízminták *Legionella* csíraszámában az alapján, hogy a HMV-tartályok egymással sorosan, vagy párhuzamosan kötöttek (Mann-Whitney teszt,  $p = 0,086$ , 6.12. táblázat).

Vizsgált paraméter	Változó	VÍZMINTÁK SZÁMA ( $x = \text{Legionella}$ csíraszám [TKE/l])				p-érték
		$x < 10$	$10 \leq x < 1000$	$x \leq 1000$	Összesen	
tárolók száma	1 db	56 (37,6 %)	31 (20,8 %)	62 (41,6 %)	149	$p < 0,001^*$
	több (2-4)	64 (26,7 %)	41 (17,1 %)	135 (56,3 %)	240	
tárolók kapcsolása	sorban	17 (30,9 %)	11 (20,0 %)	27 (49,1 %)	55	$p = 0,086$
	párhuzamos	16 (17,0 %)	15 (16,0 %)	63 (67,0 %)	94	
tárolók elhelyezkedése	álló	102 (32,5 %)	51 (16,2 %)	161 (51,3 %)	314	$p = 0,592$
	fekvő	24 (22,4 %)	33 (30,8 %)	50 (46,7 %)	107	
tárolt HMV térfogata	$x < 2,5 \text{ m}^3$	38 (40,0 %)	22 (23,2 %)	35 (36,8 %)	95	$p < 0,001^*$
	$x \geq 2,5 \text{ m}^3$	72 (25,5 %)	50 (17,7 %)	160 (56,7 %)	282	

6.12. táblázat A használati melegvíz-tárolás különböző jellemzői szerint a vízminták eloszlása a *Legionella* csíraszám 3 kategóriájában, illetve p-értékek (Mann-Whitney próba);

\*: igen erősen szignifikáns

<sup>15</sup> Állónak azon HMV-tárolót neveztük, amely esetében a tároló magassága meghaladja a szélességet, míg a fekvő tárolóknál a szélesség haladja meg a magasságot.



6.39. ábra A különböző típusú termelők által előállított használati melegvíz-minták hőmérséklet értékei (N<sub>1</sub>= 9, N<sub>2</sub>= 40, N<sub>3</sub>= 1194, N<sub>4</sub>=153; N<sub>összes</sub>=1396)

Lényeges különbséget nem találtunk a különböző termelők – beleértve az egyéni és központi rendszereket – által szolgáltatott HMV hőmérsékletei között (1396 minta). A hőmérséklet-értékek mediánjai 42,0 °C (kazán) és 48,2 °C (távhő) között változtak (6.39. ábra).

Tároló nélküli egyéni rendszerből mindössze 9 HMV-mintát vettünk, mivel az irodalmi adatok szerinti alacsony kockázat miatt nem láttuk indokoltnak ezen típusok szélesebb körű vizsgálatát [162]. Kockázatot a tároló nélküli egyéni HMV-termelők csak abban a ritka esetben jelentenek, ha a HMV-termelés alapjául szolgáló ivóvíz erősen szennyezett legionellával és a HMV hőmérséklete nem elég magas a legionellák visszaszorításához. Az egyéni melegvíz-termelők közül a tárolós rendszerűek lehetséges *Legionella* szennyezettségével azonban feltétlenül számolni kell annak ellenére, hogy a nemzetközi jogszabályok és ajánlások, valamint a szakirodalom szerint is a 0,4 m<sup>3</sup>-nél kisebb tárolók a legionellák elszaporodása szempontjából alacsony kockázatot jelentenek [165, 294, 333]. Ez az alacsony kockázat azonban kis térfogatú tartályok esetén is csak akkor áll fenn, ha a tartályban nem alakul ki pangás. Az ilyen vízminták pozitív aránya a mi eredményeink szerint is alacsony volt ugyan, különösen a központi rendszerek eredményeihez képest. Valamennyi szennyezett tároló esetében azonban igen magas csíraszámokat mértünk. A legionellára nézve pozitív egyéni, tárolós HMV-termelőkből vett vízminták hőmérséklete mind kritikusan alacsony volt. Így a nemzetközi ajánlásokkal azon kitétel rögzítése esetén értünk egyet, hogy az egyéni, tárolós rendszerű HMV-termelők akkor jelentenek alacsony *Legionella* kockázatot, amennyiben a tárolt víz hőmérséklete a legionellák szaporodását gátló módon megfelelően magas (≥55 °C).

Az eredményeink alátámasztják tehát a korábbi tapasztalatokat, miszerint a nagy épületek HMV-rendszerei szennyezettebbek a legnagyobb mértékben legionellával [165, 167, 330]. Ered-



ményeink szerint fokozta a rendszer *Legionella* szennyezettségét, ha a hőcseréhez szükséges hőt (gőzt vagy forró vizet) távhő biztosította. Hőcsere esetén azonban a *Legionella* szennyezettségre csak a primer oldal hőmérséklete lehet közvetlen befolyással, mivel a hőcsere során csak energiaátadás történik, a primer- és szekunderoldali víz nem találkozik egymással. A távhős rendszerekből vett minták hőmérséklete azonban magasabb volt a gáz- vagy gőzkazános rendszerekből vett mintákéhoz képest. Mivel a víz hőmérséklete a *Legionella* szennyezettség legfőbb meghatározója illetve a két csoport (távhő és gáz- vagy gőzkazán csoportok) mintaszámai között igen nagy eltérés volt, így feltételezhetően ez egy torzító tényező volt csupán a jelen vizsgálatban. Ezt a feltételezést támasztja alá a rétegzett vizsgálat eredménye is (ld. 6.4.4 fejezet). Ez a különbség el is tűnt, ha csak a lakóingatlanokból vett mintákra szűkítettük a vizsgálatot. Annak, hogy nem találtunk különbséget a távhővel ill. a házközpontú melegvízellátású lakóingatlanokból vett HMV minták *Legionella* csíraszámá között, állhat az a háttérben, hogy a távhős rendszerek esetén Budapesten jellemzően épületenként, vidéken általában épületek kis csoportjaként üzemel egy hőközpont hőcserélővel, így a hőcserélőről lejövő szekunder melegvíz (a használati melegvíz) jellemzően nem áramlik nagyobb hálózatban, mint a házközponti termeléses rendszer esetében. Kivételt képeznek ez alól egyes vidéki városok (pl. Dunakeszi, Székesfehérvár) nagyobb lakótelepei. Ilyen épületekből azonban nem vettünk mintát.

Fokozta a szennyezettséget, ha egynél több HMV-tárolóval üzemelt a rendszer, illetve ha a tárolt víz térfogata meghaladta a 2,5 m<sup>3</sup>-t. Nagy tárolt víztérfogat esetén, ami adódhatott az egyes tárolók nagy térfogatából, vagy az összekapcsolt tartály számából, szinte elkerülhetetlen volt a jelentős pangás és az ebből kialakuló hőmérséklet-különbség.

Ellentétben egy korábbi kutatás eredményeivel, a jelen vizsgálat során a rendszer különböző pontjairól vett vízminták *Legionella* csíraszámát nem befolyásolja, hogy a HMV tárolására fekvő, vagy álló tárolókat használtak [221]. A fekvő tárolók általában régebbiek és nagyobb térfogatúak, emiatt nagyobb mértékű lehet az üledéklerakódás is, viszont kisebb a tárolón belüli hőmérsékletkülönbség. Az utóbbi tényező csökkenti a kolonizáció kockázatát, míg az előbbiek növelik. A tároló típusa (álló/fekvő) mellett fontos kockázati tényező – elsősorban a lerakódások és a tárolt víz hőmérséklete miatt – a tartályon belüli áramlási viszony, amely a tároló típusán kívül elsősorban inkább a különböző víz ki- és bevezető csonkok elhelyezkedésétől függ [221]. A tárolón belüli pangásra utalt, hogy a tároló aljából vett vízminta hőmérséklete sok esetben alig haladta meg a 30-40 °C-ot és a tároló aljáról vett vízminta hőmérséklete több esetben 20 °C-kal is alacsonyabb hőmérsékletű volt, mint az épületre menő HMV hőmérséklete.

A nagyobb energetikai- és költséghatékonyság, és közvetve a *Legionella* kockázat csökkentése érdekében HMV-termelő rendszerekben soros helyett párhuzamos tárolók alkalmazandók [361]. Kutatásunk azonban ezt nem támasztotta alá.

Eredményeink indirekt módon utalnak arra, hogy a cirkuláció megléte nem csökkenti egyértelműen a *Legionella* szennyezettség kockázatát, pozitív hatása azonban közvetetten érvényesülhet, mivel a jól szabályozott cirkulációval csökken a hálózaton belüli hőmérsékletesés, ami viszont megfelelő hőmérsékletű épületre menő HMV mellett, csökkenti a legionellák elszaporodásának kockázatát. Abban az esetben, ha a víz legionellával szennyezett, a cirkuláció hozzájárulhat ellenben, hogy az az egész hálózatot kolonizálja; hiányában a baktérium csak a végkifolyó irányába szennyez.

Az 1990-es években az ivóvíz díja Magyarországon reálértéken számolva is lényegesen alacsonyabb volt, mint napjainkban, így a vízfelhasználás – a Magyar Víziközmű Szövetség adatai szerint – a mai kétszerese volt. Emiatt az 1990 előtt tervezett vízrendszerek a jelenlegi, racionálisabb vízfogyasztási viszonyokhoz képest erősen túlméretezettek, ami növeli a kialakuló pangás miatt a legionellák elszaporodásának kockázatát. A rendszer átméretezése után könnyebben kontrollálható a legionellák csíraszám. Az utóbbi években számos épület HMV-előállító rendszerét felújították, ez a *Legionella* kontroll szempontjából is kedvező fejlemény.

A nagy rendszerekben a vízhálózat hossza is megnöveli a legionellák elszaporodásának kockázatát, a nagyobb felület mellett a szállítás miatti hőveszteség, a hibás szabályozásból és a nem megfelelő szigetelésből adódó hőmérsékletesés, valamint a megnövekedett vízzel borított felületek miatt. A fenti tényezők miatt a kórházi vízhálózatok gyakran biztosítanak kedvező feltételeket a legionellák elszaporodásához: a mintázott kórházak döntő többsége régi, nagy, összetett szerkezetű, gyakran pavilon rendszerű volt, ill. nem volt ritka, hogy több épület osztozott egyetlen HMV-rendszeren. Az elavult épületgépészeti megoldások (túlméretezett HMV-rendszerek, nem megfelelően szabályozott cirkuláció stb.) a kórházakban is jellemzőek.

Összefoglalva a tapasztalatokat, a használati melegvíz-rendszerek esetében a legionellák elszaporodásának megakadályozása érdekében a legfontosabb lépés a vízrendszer megfelelő kialakítása és szabályozása. Cél a lehető legrövidebb és legegyszerűbb, a környezettől megfelelően izolált vízhálózat létrehozása, az esetleges tárolókban a tartózkodási idő minimalisra csökkentése, valamint a rendszer megfelelő szabályozása a hőmérsékletesés csökkenése és a szennyeződések kiülepedésének megelőzése érdekében.

#### 6.4.4 A központi előállítású használati melegvíz *Legionella* csíraszámát befolyásoló kockázati tényezők hatásának rétegzett vizsgálata

A központi előállítású HMV minták esetében a 6.4.1- 6.4.3 fejezetek alapján szignifikáns kockázati tényezőket (6.13. táblázat „A” oszlopa) egyváltozós bináris logisztikus regresszióval vizsgáltuk tovább (794 minta, 6.13. táblázat „B” oszlopa). Ehhez a függő változót, a *Legionella* csíraszámot binárisra alakítottuk (*Legionella* pozitív és negatív minta). A HMV hálózat korát leszámítva valamennyi kockázati tényezőre ezen vizsgálattal is szignifikáns eredményt kaptunk (6.13. táblázat „B” oszlopa), így a hálózat kora kivételével valamennyi tényezőt bevontuk a többváltozós logisztikus regressziós elemzésbe is (6.13. táblázat „C” oszlopa).

Az egyváltozós logisztikus regressziós vizsgálat szerint 55 °C-os hőmérséklet alatt a víz *Legionella* pozitívitasának esélye több mint hatszoros (EH=6,4, 6.13. táblázat „B” oszlop). A többváltozós logisztikus regressziós vizsgálat eredménye szerint még egyértelműbb, hogy a HMV hőmérséklete a *Legionella* csíraszám legfőbb meghatározója: 13,3-szoros az esélye, hogy egy minta pozitív, ha a hőmérséklete 55 °C alatti (p<0,001, 6.13. táblázat „C” oszlop). Az ivóvíz meghatározhatja a hálózati víz kémiai és mikrobiológiai minőségét, amely befolyással lehet a *Legionella* csíraszámra. A felszíni, a parti szűrésű víz és a karszvíz eredetű HMV minták *Legionella* csíraszámuk között nem találtunk különbséget, a rétegvíz eredetű minták csíraszámuk azonban jelentősen alacsonyabb volt (6.4.2.2 fejezet és 6.13. táblázat „A” oszlop). Az egy- és többváltozós logisztikus regressziós vizsgálat eredménye szerint is közel négyszeres (EH=3,6) a pozitív minták esélye, ha a HMV-termelés alapja nem rétegvíz eredetű ivóvíz (6.13. táblázat „B” és „C” oszlop), az eredmény igen erősen szignifikáns. Szintén szignifikánsan növeli a pozitív minták esélyét, ha a HMV előállítás nem az épületben történik (egy- és többváltozós logisztikus regressziós vizsgálat: EH=2,0; p<0,001 és p=0,002, (6.13. táblázat „B” és „C” oszlop).

Jellemzők	Mann-Whitney próba p-érték (A)	Egyváltozós logisztikus regresszió EH (95 % KI) (B)	Többváltozós logisztikus regresszió EH (95 % KI) (C)
HMV hőmérséklete: < 55 °C	<0,001	6,4 (4,0-10,0) <sup>1</sup>	13,3 (7,6-23,4) <sup>1</sup>
Víz eredete: nem rétegvíz	<0,001	3,6 (2,7-4,9) <sup>1</sup>	3,6 (2,0-6,6) <sup>1</sup>
Épület épült: < 2000	0,012	1,6 (1,2-2,1) <sup>2</sup>	1,1 (0,7-1,7)
Épület emeleteinek száma: ≥ 4	<0,001	1,5 (1,2-1,9) <sup>1</sup>	0,9 (0,6-1,2)
Tagolt, összetett épület	<0,001	1,4 (1,1-1,9) <sup>3</sup>	1,2 (0,8-1,8)
HMV előállítás az épületen kívül	<0,001	2,0 (1,5-2,8) <sup>1</sup>	2,0 (1,3-3,0) <sup>2</sup>
HMV hálózat kora: ≥ 9 év	0,042	0,9 (0,6-1,2)	-
HMV előállításra használt primer hő: távhő	<0,001	1,7 (1,2-2,4) <sup>2</sup>	1,5 (0,9-2,4)

6.13. táblázat Különböző változók és a *Legionella* csíraszám közötti összefüggés (többváltozós logisztikus regressziós elemzés, N=794, Nagelkerke R<sup>2</sup>-érték=0,229)<sup>1</sup> p <0,001, <sup>2</sup>p < 0,005, rövidítések: EH: esélyhányados, KI: konfidencia-intervallum, C oszlop szignifikáns eredményei aláhúzva

Mivel a hőmérséklet a *Legionella* pozitívitas legfőbb befolyásolója, megvizsgáltuk ugyanezen adathalmazt úgy, hogy a mintákat hőmérsékletük alapján 50 °C-nál osztottuk két csoportra. Ugyanezen három tényező eredménye lett szignifikáns, mint az előző elemzésnél; ebben az esetben 7,2-szer nagyobb az esélye, hogy a használati melegvíz legionellára nézve pozitív, amennyiben a hőmérséklete 50 °C-nál alacsonyabb ( $p < 0,001$ )<sup>16</sup>.

A HMV-termelés módjáról részletes adattal 335 vízminta esetében rendelkezünk. Ezen HMV-minták adatait az előző vizsgálat szignifikáns befolyásoló tényezőivel (víz hőmérséklete, víz eredete és a HMV termelés helye) vontuk egy- és többváltozós logisztikus regressziós elemzésbe (6.14. táblázat „B” és „C” oszlop). Ezen változtatásokkal is fennáll továbbra is az erős összefüggés az 55 °C alatti HMV-hőmérséklet és a *Legionella* pozitívitas között (EH=8,4;  $p < 0,001$ , 6.15. táblázat „C” oszlop). Kétszeres a *Legionella* pozitívitas esélye, ha az épületen kívül van a hőközpont, az eredmény erősen szignifikáns (EH=2,2;  $p = 0,017$ , 6.15. táblázat „C” oszlop). A többi befolyásoló tényező esetében nem találtunk szignifikáns összefüggést a vizsgált paraméter és a minták *Legionella* pozitívitas között a többváltozós vizsgálatban, tehát növeli a minták pozitívitasának esélyét, ha a HMV tárolására egynél több tárolót használnak és a tárolt víz térfogata meghaladja a 2,5 m<sup>3</sup>-t, az eredmények azonban nem szignifikánsak (6.15. táblázat „C” oszlop).

Jellemzők	Mann-Whitney próba p-érték (A)	Egyváltozós logisztikus regresszió EH (95 % KI) (B)	Többváltozós logisztikus regresszió EH (95 % KI) (C)
HMV hőmérséklete: < 55 °C	<0,001	6,4 (4,0-10,0) <sup>1</sup>	8,4 (3,6-19,6) <sup>1</sup>
Víz eredete: nem rétegvíz	<0,001	3,6 (2,7-4,9) <sup>1</sup>	1,8 (0,8-4,0)
HMV előállítás az épületen kívül	<0,001	2,0 (1,5-2,8) <sup>1</sup>	2,2 (1,1-4,0) <sup>2</sup>
HMV tárolók száma: > 1	<0,001	2,1 (1,3-3,5) <sup>2</sup>	1,7 (1,0-3,1)
Tárolt víz térfogata: ≥ 2,5 m <sup>3</sup>	<0,001	1,9 (1,2-3,0) <sup>3</sup>	1,1 (0,5-2,1)

6.15. táblázat Különböző változók és a *Legionella* csíraszám közötti összefüggés (többváltozós logisztikus regressziós elemzés, N=335, Nagelkerke R<sup>2</sup>-érték=0,199) <sup>1</sup>  $p < 0,001$ , <sup>2</sup>  $p < 0,05$ ; EH: esélyhányados, KI: konfidencia-intervallum, C oszlop szignifikáns eredményei aláhúzva

Az eredmények értelmezése körültekintést igényel: a logisztikus regresszió figyelmen kívül hagyja a csíraszámot és mindössze a minták *Legionella* pozitívitasával számol, ami adatvesztést okozhat. A 6.15. táblázatban bemutatott elemzést csak korlátozott számú mintán vizsgáltuk. Nem szabad továbbá figyelmen kívül hagyni, hogy a vizsgáltakon kívül feltételezhetően számos tényező rendelkezhet befolyással a *Legionella* csíraszámra (pl. víz mikrobiális összetétele stb.). Egyes tényezők esetén gyűjtöttünk ugyan adatokat (pl. hálózat anyaga), de az adatok megbízhatósága nem volt megfelelő, így azokat az elemzésbe nem vontuk be.

<sup>16</sup> Az eredményeket részletesen nem ismertetjük.

A rétegzett vizsgálat három szignifikáns eredményt adó paramétere (víz hőmérséklete, eredete és a HMV előállítás helye) közül a minták hőmérséklete összehasonlítható volt a járványügyi érintettség szerint két csoportra osztott kórházak között. Az esetet jelentett és nem jelentett kórházakból vett HMV minták hőmérséklete nem különbözött (mediánjak 42,7 °C és 41,6 °C, Mann-Whitney próba,  $p=0,521$ ). A víz eredete és a hőközpont elhelyezkedése szerint a minták megoszlása szintén nem tért el lényegesen a két csoport esetében: az esetet jelentő kórházakból vett minták 27,9 %-a, az esetet nem jelentőknek pedig 18,0 %-a volt rétegvíz eredetű, a minták 55,0 és 62,0 %-át vettük olyan kórházból, amelyek esetében a hőközpont nem a mintázott épületben helyezkedett el.

A rétegzett vizsgálat megerősíti korábbi észrevételeinket, miszerint az 55 °C feletti használati melegvíz hőmérséklet egyértelmű védő tényező a *Legionella* szennyezettség szempontjából. További jelentős hatással a HMV alapjául szolgáló ivóvíz eredete, illetve a hőközpont elhelyezkedése mutatkozott a HMV *Legionella* pozitívására, azonban ezen tényezőkre a rendszer üzemeltetője nem lehet hatással, a hatás jó üzemelési gyakorlattal sem befolyásolható.

#### **6.4.5 Kémiai vízminőségi jellemzők és a *Legionella* csíraszám közötti kapcsolat vizsgálata**

Mivel a HMV-termelés alapjául szolgáló ivóvíz eredete és a *Legionella* csíraszám között erős összefüggést találtunk, felmerült a kérdés, hogy ez az ivóvíz összetételével van-e összefüggésben. Mivel a mintavétel alkalmával kémiai vizsgálatok nem történtek, az elemzésbe vont vízminőségi jellemzőkre az országos ivóvíz adatbázis vízellátó rendszert jellemző adatait használtuk. Csak olyan egyszerű vízminőség jellemzőket vontunk be a vizsgálatba, amelyek a vízellátó-rendszeren belül nem változnak (Mellékletek, 12.7 táblázat).

Egyváltozós lineáris regressziós elemzésben a legtöbb vizsgált vízminőségi paraméter szignifikáns összefüggést mutatott a minták *Legionella* csíraszámával: míg az ammónium, a vas, a mangán, a vezetőképesség és a pH esetében negatív, a kémiai oxigén-igény tekintetében pozitív, addig az összes keménység esetében nem találtunk kapcsolatot. Az esetleges zavaró tényezők hatásának csökkentése érdekében, minden, az egyváltozós lineáris regressziós vizsgálatban szignifikáns eredményt adó kémiai és fizikai vízminőségi tényezőt, illetve a többváltozós logisztikus regresszió eredménye szerint a *Legionella* csíraszámra jelentős hatással rendelkező tényezőt (HMV hőmérséklete, víz eredete, HMV-előállítás helye, 6.4.4. fejezet) együtt vontuk többváltozós lineáris regresszió elemzésbe (6.16 táblázat). A kémiai oxigénigény, a mangán pozitív, az ammónium-ion és a vezetőképesség negatív összefüggést mutatott a *Legionella* csíraszámával a vizsgálatban.

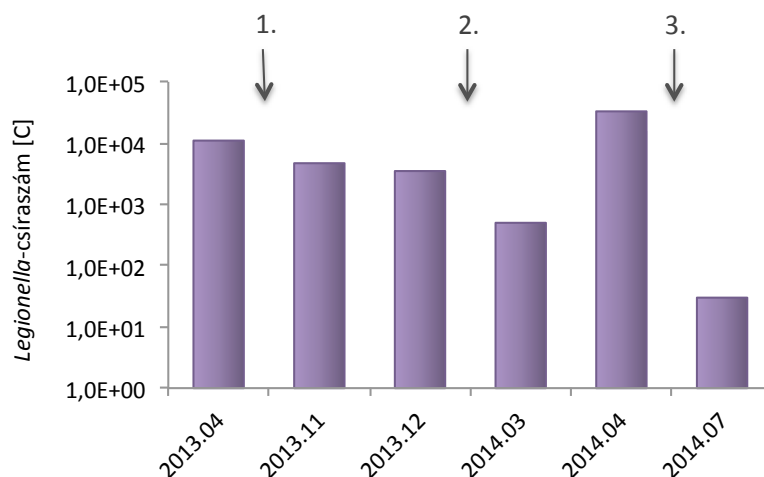
Változó	Standardizált regressziós együttható (95,0 %-os konfidencia intervallummal)
Ammónium (mg/l)	-0,413 ( -10,314 - -4,847) <sup>1</sup>
Kémiai oxigénigény (mg/l O <sub>2</sub> )	0,271 ( 2,003 - 5,125) <sup>1</sup>
Vas (µg/l)	-0,081 ( -0,034 - 0,006)
Mangán (µg/l)	0,304 ( 0,074 - 0,225) <sup>1</sup>
Vezetőképesség (µS/cm)	-0,110 ( -0,007 - -0,001) <sup>2</sup>
pH	0,007 ( -2,346 - 2,74)
Nátrium (mg/l)	-0,094 ( -0,066 - 0,011)
HMV hőmérséklete: < 55 °C	0,334 ( 1,411 - 2,058) <sup>1</sup>
Víz eredete: nem rétegvíz	0,067 ( -0,32 - 1,278)
HMV előállítás az épületen kívül	0,138 ( 0,288 - 0,818) <sup>1</sup>

6.16 táblázat Többváltozós lineáris regressziós vizsgálat, <sup>1</sup>p < 0,001, <sup>2</sup>p < 0,01

Ezek közül a kémiai oxigénigény, amely elsődlegesen a szervesanyagok mennyiségét jellemzi (bár torzíthatja az oxidálható fémionok, így a vas és mangán jelenléte), a növekedéshez szükséges tápanyagok biztosítása révén segítheti elő a kolonizációt. A mangán nagy koncentráció esetén kicsapódhat az ivóvízből, és az így keletkező lerakódások is hozzájárulhatnak az élőbevonat kialakulásához. Az ammónium-ion és a vezetőképesség "védő" hatásához nehezebb biológiai magyarázatot fűzni, de az is hangsúlyozandó, hogy valamennyi paraméter viszonylag szűk határok között változott a vizsgált területen. Összességében – bár statisztikailag szignifikánsak az összefüggések – az eredmények alapján valószínűtlen, hogy a kémiai összetétel különbsége állna a különböző forrásból nyert ivóvizek között tapasztalt eltérések mögött.

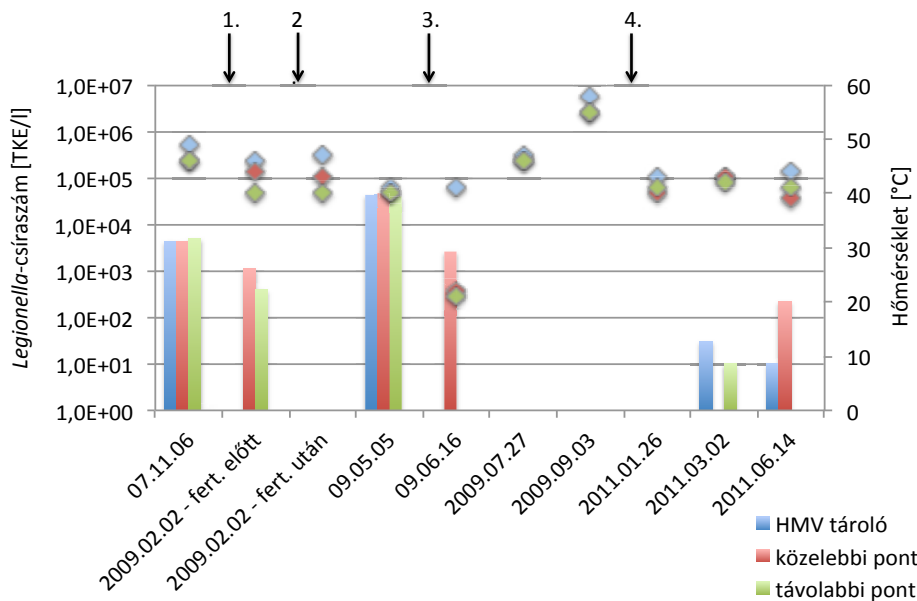
### 6.5 Kockázatkezelő beavatkozások a hálózati víz *Legionella* csíraszámának csökkentésére

Az első nem kielégítő vízvizsgálati eredmények után a legtöbb vizsgált létesítményben kockázatkezelő beavatkozásokat vezettek be, úgymint pl. a használati melegvíz hőmérsékletének megemelése, a hőfertőtlenítés, a vízhalózat felújítása, vagy egyéb műszaki megoldások alkalmazása, egyszeri vegyszeres sokk-fertőtlenítés, folyamatos vegyszeradagolás, vagy pl. végponti szűrők használata a fokozott kockázatot jelentő kórházi osztályokon. A *Legionella* csíraszám visszaszorítására sokan ajánlják a használati melegvíz hőmérsékletének 55 °C fölé emelése mellett az 1-3 havonkénti hősokk kezelését. Utóbbit, általában nosocomialis legionárius megbetegedés jelentése utáni kockázatcsökkentő beavatkozás első lépéseként, összesen nyolc egészségügyi intézményben végezték el egy-egy alkalommal, vagy rendszeresen. Eredményeink szerint a hősokk alkalmazása a kockázatkezelés egy megfelelő módja lehet, azonban hatása csak időleges, így rendszeres ismétlése szükséges, amelynek azonban komoly az energia- és a humán erőforrás-igénye, illetve felgyorsíthatja a műtárgyak korrózióját és korszerűtlenebb, régi hálózatokban megnöveli a csőtörések kialakulásának valószínűségét, így alkalmazása inkább csak azonnali kockázat-csökkentésre javasolt és folyamatos használata kerülendő (6.40 ábra).



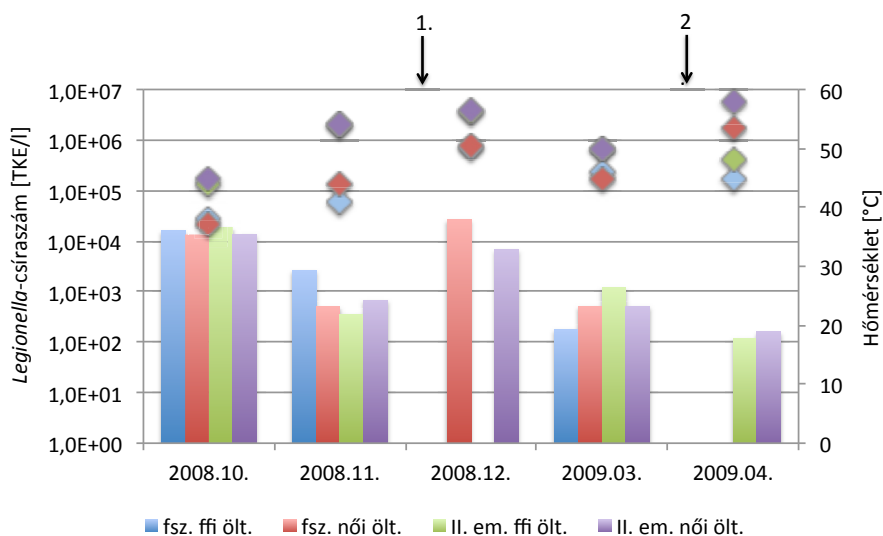
6.40 ábra Egy egészségügyi intézményben (H 27) hőszokk fertőtlenítés hatása a használati melegvíz *Legionella* csíraszámára. A számozott nyilak a hőszokk beavatkozásokat jelzik.

Egy olyan egészségügyi intézményben, amelynek a HMV-hálózata jelentősen túlméretezett első lépésként a HMV-tartályt cserélték le kisebbre (2007. december), majd a használati melegvízhez egyszeri alkalommal magas koncentrációban klór-dioxidot adagoltak (kb. 600 mg/l végkoncentrációban, 2009. február.; 6.41. ábra), ami legalább 24 órát a rendszerben maradt, a végkoncentrációja ekkor 10 mg/l volt. A fertőtlenítés után közvetlenül *Legionella* nem volt ugyan a hálózathoz kimutatható, azonban három hónappal a beavatkozás után a baktérium koncentrációja közel két nagyságrenddel meghaladta a fertőtlenítés előtti értéket. Feltehetően a klór-dioxid a lebegő állapotú mikroorganizmusokat elpusztította ugyan, de a hálózat falán kialakult élőbevonatban a legionellák menedékre leltek, és a fertőtlenítésre érzékenyebbek azonban rövid idő alatt minden korábbi meghaladó mértékben elszaporodhattak. Mivel az egyszeri vegyszeres sokk-fertőtlenítés nem bizonyult sikeresnek, folyamatos vegyszerezést állítottak be (2009. június, hatóanyag: hidrogén-peroxid és ezüst; előbbi koncentrációja kb. 10 mg/l). Ezzel egyidőben az épületre menő HMV hőmérsékletét is megemelték. A HMV hőmérséklete két éven belül visszacsökkent ugyan a kritikus tartományba, a folyamatos vegyszeres kezelés azonban elégséges védelmet jelentett a víz *Legionella* koncentrációjának a figyelmeztető szint alatt tartásában (6.41. ábra).



6.41. ábra Egy egészségügyi intézményben (H 02) a kockázatkezelő beavatkozások hatása a HMV *Legionella* csíraszámra. Oszlopdiaagramon a *Legionella* csíraszám, pontdiagramon a HMV hőmérséklet. Jelmagyarázat: 1. HMV-tartály cseréje és rendszer besabályozása, 2. klór-dioxidos sokk-fertőtlenítés, 3. folyamatos vegyszeres fertőtlenítés és a HMV hőmérsékletének megemlése, 4. folyamatos vegyszeres fertőtlenítés mellett a vízhőmérséklet lecsökkent a kritikus tartományba. Rövidítések: fert.: fertőtlenítés, em.: emelet

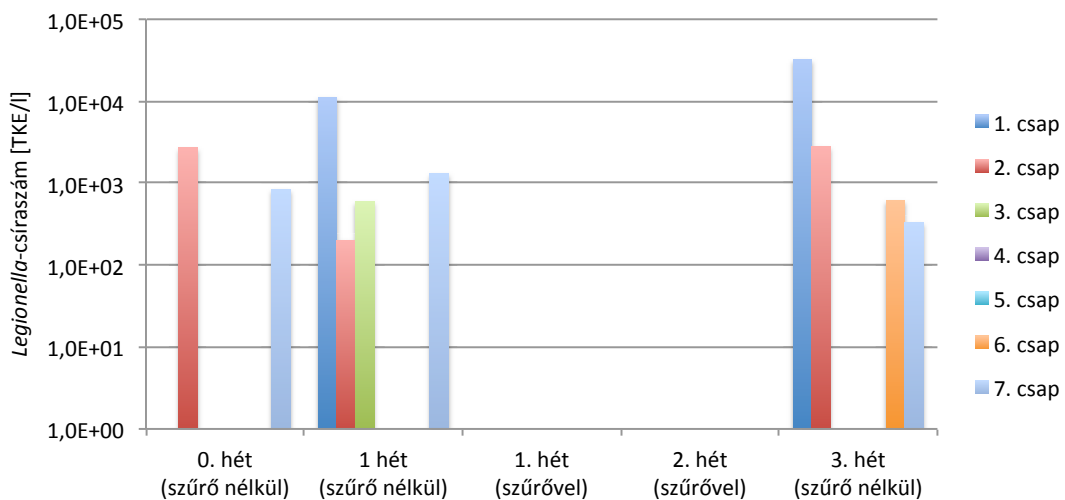
Hősokk fertőtlenítést alkalmaztak egy gyáregység egyetlen, önálló HMV-ellátású új épületén. Az épület jellegzetessége, hogy a vízfogyasztás rendkívül alacsony volt, egyes csapokat akár hetekig nem használtak. A 80 °C-os vízzel történő átmosatás, megfelelő áramlási viszonyok biztosítása nélkül nem jelentett önmagában megoldást a csíraszám csökkentésére. A hősokk fertőtlenítés sikertelensége után besabályozták a hálózatot, többek között kicserélték az alumíniumozott cirkulációs szivattyút is. A cirkuláció besabályozása, a rendszeres hősokk és a HMV hőmérsékletének felemelése együtt járultak hozzá a sikeres kockázatkezeléshez (6.42. ábra).



6.42. ábra *Legionella* kockázatkezelő beavatkozások (hőfertőtlenítés és műszaki felülvizsgálat) hatása a HMV *Legionella* csíraszámára egy üzemben (F 04). Oszlopdiaagramon a *Legionella* csíraszám, pontdiagramon a HMV hőmérséklet. Jelmagyarázat: 1. hősokk, 2. hősokk, a HMV hőmérsékletének felemelése és a rendszer besabályozása. Rövidítések: fert.: fertőtlenítés, em.: emelet, ffi.: férfi, fsz.: földszint



A legionellosis kockázatával komolyan számoló országok egészségügyi intézményeiben széles körben alkalmaznak helyi csíraszám csökkentő megoldást, ahol a teljes rendszerben nem biztosítható a szigorú határérték, pl. kritikus kórházi zuhanyzókon, mosdókon (végkifolyó közelébe szerelt UV-fertőtlenítő rendszer, vagy végponti szűrő). Ez a hazai gyakorlatban is egyre elterjedtebb. A 22-ből mindössze 4 kórházban talákoztunk kórtermi csapra szerelt végponti szűrővel (80 vízminta). Három esetben az első vizsgálatunk eredményeként kapott magas *Legionella* csíraszám érték után került beszerelésre eldobható végponti szűrő. Egy esetben, egy égési intenzív terápiás osztályon üzemelt ugyan az első mintavételezésünk előtt többször használatos végponti szűrő, de nem a forgalmazó előírásainak megfelelő gyakorisággal cserélve és fertőtlenítve. Vizsgálati eredményeink arra engednek következtetni, hogy ez esetben feltételezhetően maga a szűrő biztosított rezervoárt a legionellák számára, ugyanis az adott ponton  $1,1 \cdot 10^4$  volt a szűrő nélküli,  $3,3 \cdot 10^4$  TKE/l a szűrőn át vett HMV minta csíraszám. A végponti szűrőket alkalmazó kórházak („H 10”, „H 14”, „H19”, „H 27”) szűrő nélküli végkifolyóiról vett kifolyatott HMV-minták (50) csíraszámja lényegesen magasabb volt az ugyanazon kórházak szűrőkkel ellátott végkifolyóiról vett kifolyatott mintáihoz képest (27), az eredmény igen erősen szignifikáns volt (Mann-Whitney próba,  $p < 0,001$ ; minták mediánja 0 ill. 420 TKE/l).



6.43 ábra Használati melegvíz minták *Legionella* csíraszámának változása kórházi intenzív terápiás osztályon egyszerűhasználatos végponti szűrők alkalmazásának időszakában, illetve előtte és utána

Egy egyetemi klinika intenzív terápiás osztályán részletesen vizsgáltuk végponti szűrők infekciókontrollban történő alkalmazásának hatékonyságát (6.43 ábra). Az osztály történetében a vizsgálat megkezdéséig bizonyosan nosocomiális legionárius megbetegedést nem azonosítottak, egészségügyi ellátással összefüggésbe hozható *Pseudomonas aeruginosa* fertőzések azonban régóta problémát jelentettek az osztályon. Így a végponti szűrők hatékonyságát a hálózati víz

*Legionella sp.* és *P. aeruginosa* csíraszámának ellenőrzése mellett közvetve a *P. aeruginosa* fertőzések számának változásával is nyomon tudtuk követni. A nosocomiális *P. aeruginosa* fertőzések incidenciája a szűrők alkalmazásának időszakában 2,71-ről 0 eset/100 betegnapra csökkent. A szűrők alkalmazása előtt mind legionellát, mind *P. aeruginosa*-t az osztály hét vízcsapja közül ötből mutattunk ki. A szűréssel a kimutathatósági határ alá csökkent mindkét baktérium jelenléte a vízmintákban, a szűrők alkalmazása utáni időszakban a víz szennyezettsége megegyezett a vizsgálat előttivel (6.43 ábra).

Tapasztalataink szerint a rendszer egészét érintő *Legionella* kockázatcsökkentő beavatkozásoknak, azaz az általunk is vizsgált rendszeres hőfertőtlenítésnek, folyamatos, vagy alkalmoszerű vegyszeres-fertőtlenítésnek, illetve az épületre menő HMV hőmérsékletének megemelésének csak akkor van tényleges kockázatcsökkentő hatása, ha a rendszert a kockázatkezelés során be szabályozzák; azaz megszüntetik a pangó vízszakaszokat, optimalizálják a cirkulációt és a tárolt melegvíz térfogatát, csökkentve ezáltal a rendszeren belüli hőmérsékletesést és pangást. Ezen intézkedések tudatos és átgondolt alkalmazásával elérhető, hogy a rendszer egyetlen pontján se essen HMV hőmérséklete a legionellák elszaporodásához kedvező tartományba, illetve hogy vegyszeres fertőtlenítés esetén a biocid a hálózat minden pontjára eljuthasson.

## 7 Megbeszélés és következtetések

Magyarországon még szakmai körökben is kevésbé ismert, hogy a legionellák az épített vizes környezetben széles körben előfordulnak és a legionárius betegség is jellemzően csak mint a „klíma-betegség” terjedt el a köztudatban. Nemzetközi tapasztalat az mutatja, hogy a legionellosis nagyobb járványok után kerül csak az érdeklődés középpontjába. Hazai példa erre még nem volt, az előforduló esetek túlnyomó része nem is kerül a nyilvánosság elé. A probléma léptékét kevésbé tükrözi az évente jelentett néhány tíz eset, de ez minden bizonnyal csak a töredékét jelenti a valós esetszámnak. Sem a területen szerzett, sem az egészségügyi ellátással összefüggő tüdőgyulladás esetek többségében nem kerül azonosításra a kóroki ágens, így még becsülni sem lehet, hogy ezek mekkora hányadát okozza *Legionella*. Az egészségkockázat helyes megítélését és kezelését – olykor még megbetegedések esetén is – elhomályosítják a gazdasági érdekek, vagy az érdektelenség és a tájékozatlanság.

A valós helyzet feltárását az is nehezíti, hogy az adott épülethez kötött megbetegedés, esetleg járvány – különösen a kiemelten érintett kórházak és szállodák esetén – komoly negatív reklám, amit az üzemeltetők szeretnének lehetőség szerint elkerülni. A közelmúltban komoly sajtónyilvánosságot kapott, hogy a pécsi egyetemi klinika vízhálózatában *Legionella* baktériumot találtak. Az esetnek jelentős visszhangja volt annak ellenére, hogy az általunk feltárt hálózati víz *Legionella* prevalencia adatok alapján kisebb azon kórházak aránya ma Magyarországon, amelyek vízhálózatából nem mutatható ki *Legionella* baktérium. Míg a *Legionella* előfordulása a vizes rendszerekben a megbetegedések előfordulásáig gyakorlatilag észrevétlen maradhat, addig a kockázatcsökkentő beavatkozások gyakran látványosak: így például Pécsen először a teljes vízhálózat, majd csak a melegvíz használatát függesztették fel a kockázatcsökkentő beavatkozások elvégzéséig, emiatt került az eset nyilvánosságra.

Ezidáig, jogszabály hiányában a népegészségügyi hatóság sokszor nehéz helyzetben volt, hogy a kockázatcsökkentő beavatkozásokat kikényszerítse, de még így is hátrányba kerültek azok az intézmények, amelyek aktívan tettek az esetleges megbetegedések vagy a kockázat feltárásáért.

Mivel a *Legionella* előfordulás kockázatát – ahogy ezt vizsgálataink is megerősítették – elsősorban műszaki paraméterek határozzák meg, a kockázatkezelés valójában már az épület tervezési fázisában kezdődik. Mivel a kockázattal gyakran a tervezők sincsenek tisztában, a mai napig épülnek olyan kórházak, amelyeknek használati melegvíz hálózatának egészében tervezetten 43 °C-os hőmérsékletű víz kering.

A fentiek miatt rendkívül fontos lenne, hogy a tényleges prevalencia adatok minél szélesebb körben hozzáférhetőek legyenek. Emellett mind a hatóság munkatársainak, mind az épületek üzemeltetőinek tisztában kell lenni azzal, hogy a legionellák ökológiája és fertőzési módja, valamint a kockázatcsökkentés lehetősége teljesen eltér a többi, jellemzően széklet-száj úton fertőző, vízzel terjedő kórokozótól, mivel a legionellák ellenállnak a modern vízkezelő eljárásoknak és a hagyományos, vízminősítésben használt indikátor szervezetek (pl. fekális *Enterococcus*, *E. coli* stb.) sem jelzik ezen baktériumok előfordulását.

Jogsabályi háttér, megfelelő szabványok és jó-gyakorlatokat bemutató útmutatók nélkül még a vízvizsgálati eredményeik értelmezése is nehézséget jelenthetett az üzemeltetők számára, és egészen a közelmúltig nem állt rendelkezésre megfelelő iránymutatás a kockázatcsökkentés lehetőségeire vonatkozóan sem. A népegészségügyi és a munkavédelmi szakemberekre hárult a felelősség, hogy ebben támogassák az üzemeltetőket, aminek első lépése a módszertani útmutatókkal kiegészített hazai joganyag kidolgozása volt. Jelen munka egyik legfőbb eredménye, hogy részben tapasztalataira alapozva készült el a rendelet és az azt kiegészítő, megjelenés előtt álló módszertani útmutató.

A *Legionella* kockázat feltárásának és kezelésének a baktérium jelenlétének laboratóriumi igazolása mellett számos fontos nézőpontja van. A vizes rendszerek vizsgálata során nyert tapasztalatok alapján ezért készítettünk egy kockázatbecslési kérdőívet, amely kiterjed minden olyan közegre, amelyben a legionellák elszaporodhatnak és fennáll az aeroszol képződés lehetőségével a megbetegedés kialakulásának kockázata. A kérdőív hálózati vízre és medencés fürdőkre vonatkozó részét a Melléklet 12.2 alfejezete mutatja be. Az így elvégzett kockázatbecslés alapján tervezhetőek a kockázatcsökkentő beavatkozások. A Melléklet 12.3 alfejezete a módszertani útmutató a *Legionella* által okozott fertőzési kockázatot jelentő hálózati víz kockázatértékelésével és a kockázatcsökkentés lehetőségeivel foglalkozó részét ismerteti.

Jelen munka fontos elemét képezte a használati víz és medencés fürdő eredetű legionellosis megbetegedés kialakulását befolyásoló tényezők vizsgálata. Összefoglalásul saját tapasztalataink és irodalmi adatok alapján a kockázati tényezőket, példákkal szemléltetve a 7.1. táblázat mutatja be. A környezeti eredetű legionárius megbetegedés kockázatbecslése esetén a legfőbb limitációt a kockázatbecslés dózis-válasz összefüggésének meghatározása jelenti. Mivel ezen tényezők közül csak az expozíció forrása és a víz *Legionella* koncentrációja becsülhető meg viszonylag egzakt módon, a *Legionella* kockázatbecslési gyakorlat jelenleg ezen tényezőkre koncentrál.

A FERTŐZÉS KIALAKULÁSÁT BEFOLYÁSOLÓ LEGFŐBB TÉNYEZŐK	HOL ÁLL FENN A MEGBETEGEDÉS KOCKÁZATA?
<p><b>1. EXPOZÍCIÓ</b>  <b>1/A. – HASZNÁLATI VÍZ EREDETŰ EXPOZÍCIÓ</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– zárt rendszer – nincs kapcs. a használati vízzel</li> <li>– öntözés</li> <li>– autómosás, egyéb nagynyomású mosó haszn.</li> <li>– WC öblítése</li> <li>– fogorvosi szék</li> <li>– mosdó / fürdőkád használata</li> <li>– fúvókákkal ellátott fürdőkád használata</li> <li>– zuhanyzó használata</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– szálloda, irodaház, gyárak/üzemek</li> <li>– mezőgazdaság, lakóingatlan</li> <li>– autómosó, lakóingatlan</li> <li>– bárhol</li> <li>– fogorvosi rendelő (személyzet, beteg)</li> <li>– bárhol</li> <li>– szálloda, lakóingatlan, gyógyfürdő</li> <li>– zuhanyzás nem jellemző, de előfordulhat: oktatási intézmény (kivéve tornaterem v. bentlakásos int.), irodaház, közintézmény, rendelőintézet</li> <li>– zuhanyzás gyakori: kórház, idősek otthona, bentlakásos oktatási intézmény, egyes munkahelyek, lakóingatlan, szálláshely, sport- és wellness-centrum (beleértve a medencés fürdők használatához köthető zuhanyzási esemény során bekövetkező expozíciót)</li> </ul>
<p><b>1/B. – MEDENCÉS FÜRDŐ EREDETŰ EXPOZÍCIÓ</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– szauna merülőmedence</li> <li>– hidroterápiás medence</li> <li>– gyógymedence (töltő-ürítő)</li> <li>– úszómedence</li> <li>– élménymedence (+ élményelemek)</li> <li>– pezsgőmedence</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– szálloda, uszoda, sport- és wellness-centrum</li> <li>– gyógyfürdő, -szálloda, kórház, rendelőintézet, nappali kh.</li> <li>– gyógyfürdő, gyógyszálloda, nappali kórház</li> <li>– uszoda, szálloda, sport- és wellness-centrum, lakóingatlan, társasház, oktatási intézmény</li> <li>– sport- és wellness-centrum, szálloda, uszoda, gyógyfürdő</li> <li>– sport- és wellness-centrum, szálloda, uszoda, gyógyfürdő, lakóingatlan, szórakozóhely, kiállított, nem kezelt medence</li> </ul>
<p><b>2. ÉRINTETT POPULÁCIÓ ÉRZÉKENYSÉGE</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– <b>Hajlamosító tényezővel rendelkezők:</b> &gt; 50 év, férfi nem, erős dohányosok, alkoholisták</li> <li>– <b>Rizikócsoportokba tartozók:</b> csökkent védekezőképességű és idült alapbetegségben szenvedők (lsd. 3.2.2 fejezet).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– oktatási intézmény általában csak mint foglalkozási megbetegedés érintett</li> <li>– lakóingatlanok, szálláshelyek, idősek otthona, közintézmények</li> <li>– kórházak</li> <li>– kórházak krikus pontjai: intenzív terápiás, hematológiai, transzplantációs osztályai</li> </ul>
<p><b>3. LEGIONELLA KONCENTRÁCIÓ</b>  <b>3/1. HÁLÓZATI VÍZ LEGIONELLA KONCENTRÁCIÓJA</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– kis vízhálózatról táplált, helyi, tároló nélküli HMV-előállítással rendelkező egyszerű, kis vízhálózatok, amelyekben a pangás csekély, ill. a HMV hőmérséklete minden ponton &gt; 55 °C</li> <li>– nagy vízhálózatokról táplált, központi, gyakran tárolós HMV-előállítással rendelkező összetett vízhálózatok, alacsony vízfogyasztással és/vagy a cirkulációs rendszerbe nem megfelelően bekötött hálózat-szakaszok vannak, vagy gyakran az épületre menő HMV hőmérséklete sem éri el a 60 °C-ot, így több ponton nem éri el az 55 °C-ot.</li> </ul>
<p><b>3/2. MEDENCÉS FÜRDŐVÍZ LEGIONELLA KONCENTRÁCIÓJA</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Nagy víztérfogatú, alacsony terhelésű, és vízhőmérsékletű (≤ 28 °C), nem levegőztetett medence. A megfelelően képzett és a legionellosis kockázatával tisztában levő személyzet tudatos vízkezelést alkalmaz és dokumentációt vezet. Jogszabálynak megfelelő biocid-koncentráció és tudatos adagolás. A biocid-koncentráció mérése a legalacsonyabb várható szint esetén történik. Megfelelő tisztítás/fertőtlenítés. Hatóságilag ellenőrzött létesítmény, megfelelő vízvizsgálati eredményekkel.</li> <li>– Kis víztérfogatú, nagy terhelésű, &gt; 28 °C hőmérsékletű, levegőztetett medence. A személyzet a legionellosis kockázatával és a helyes medence-üzemeltetési gyakorlattal nincs tisztában és dokumentációt nem, vagy nem megfelelően vezet. A vízkezelés nem tudatos. A biocid-koncentráció jogszabályi előírásoknak nem megfelelő és mérése nem megfelelő időpontban történik. Nem elégséges tisztítás/fertőtlenítés. Hatóságilag nem ellenőrzött létesítmény és vízvizsgálati eredmények.</li> </ul>
<p><b>4. A VIZES RENDSZERT KOLONIZÁLÓ LEGIONELLÁK FERTŐZŐKÉPESSÉGE</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– nem kolonizált a rendszer</li> <li>– nem-<i>pneumophila Legionella</i> faj kolonizálja</li> <li>– <i>L. pneumophila</i>-val kolonizált (kiv. <i>L. pn. 1</i>)</li> <li>– <i>L. pneumophila</i> 1 kevésbé virulens MAB altípusaival kolonizált</li> <li>– <i>L. pneumophila</i> legvirulensebb MAB altípusaival kolonizált</li> </ul>

7.1. táblázat Legionárius megbetegedés kockázatát befolyásoló legfőbb tényezők (kockázat fentről lefelé nő az egyes cellákban)

## Legfontosabb eredmények

- Közép-Európában elsőként végeztünk kiterjedt hálózati víz *Legionella* prevalencia felmérést, amely léptékében világszinten is élvonalba tartozik. A legtöbb hasonló vizsgálattal ellentétben nem korlátoztuk a vizsgálatokat egy-egy épülettípusra, hanem mintáztunk minden olyan létesítményt, ahol fennáll a hálózati víz eredetű *Legionella* expozíció kockázata. Így vizsgáltunk oktatási intézményeket, irodaházakat és üzemeket is, amelyek átfogó prevalencia vizsgálatára vonatkozó tanulmány a szakirodalomban nem található. A felmérés nem csak az általában vizsgált használati melegvíz- hanem a hidegvíz-rendszerre is kiterjedt.
- Igazoltuk a hazai ivó- és használati melegvíz-hálózatok jelentős, nemzetközi tapasztalatokkal egyező, vagy azt meghaladó mértékű kolonizációját egészségügyi intézményekben, szálláshelyeken és lakóépületekben.
- Az oktatási intézményekben, üzemekben és irodaházakban, amelyekre a korábbi prevalencia vizsgálatok általában nem terjedtek ki, hasonlóan magas kolonizáltságot találtunk, így ezek sem hanyagolhatók el a kockázat értékelése során.
- Megerősítettük, hogy a központi előállítású melegvízzel ellátott épületek kolonizáltsága minden épülettípus esetében magas, így a megbetegedés kialakulásának kockázatát elsősorban az expozíció valószínűsége és jellege, illetve az épületben megforduló emberek fogékonysága határozza meg.
- Eredményeink szerint a kórházak többségében azonnali kockázatcsökkentő beavatkozás szükséges a kolonizáltság a többi épülettípust meghaladó szintje és a betegek fokozott érzékenysége miatt.
- Bár összességében megerősítettük, hogy az egyéni melegvíztermelők a központinál kisebb kockázatot jelentenek, egyes tárolós egyéni rendszerek esetében kiugróan magas csíraszámokban azonosítottuk a baktériumot, így a nemzetközi ajánlásokkal ellentétben azt vélelmezzük, hogy a tárolós egyéni melegvíz-termelők jelenthetnek *Legionella* emberi egészségkockázatot és a kockázatfelmérésnek ezen rendszerekre is ki kell terjedni.
- A hazai gyakorlatban elsőként vezettünk be egy kimutatási, azonosítási és tipizálási metodika rendszert, amellyel járványügyi környezeti kivizsgálásoknál gyorsan és mind humán-erőforrás, mind anyagi szempontból hatékonyan csoportosíthatók az izolátumok, azonosítható a megbetegedést okozó törzs és amennyiben rendelkezésre áll, összevethető a klinikai izolátumokkal.

- Vizsgálatainkkal hazai viszonylatban is megerősítettük, hogy a használati vízrendszerekben *L. pneumophila* 2-14 dominancia található. A hálózatok többségét nem egyetlen *Legionella* törzs kolonizálja. A *L. pneumophila* törzs mikroagglutinációs típusai közül a régióban leggyakoribb típusok voltak túlsúlyban: *L. pneumophila* 6, 10 és 3, illetve a *L. pneumophila* 1, ezen belül is a MAb 3/1-negatív „Bellingham” és „OLDA”, valamint a MAb 3/1-pozitív „Philadelphia”.
- A kórházi használati vízrendszerek mintáiból többi épülettípushoz képest nagyobb arányban izoláltunk *L. pneumophila* 1-es szerotípusú baktériumokat. Összehasonlító elemzés alapján ez kiemelten igaz azon kórházakra, amelyekből legionellosis esetet jelentettek, így ez megerősítetten jelentős kockázati tényező.
- Megerősítettük – nem reprezentatív felmérés során – hogy a medencés fürdők közül a pezsgőmedencék jelentik a legnagyobb kockázatot, nem csak expozíciós szempontból, hanem a kolonizáltság mértéke alapján is. Kimutattuk, hogy a medencevíz negatív eredménye nem jelenti, hogy a rendszer nem kolonizált, ezért ajánlást tettünk a medencék szűrt vízének rendszeres vizsgálatára.
- Nemzetközi viszonylatban is kiemelkedő léptékű elemzést végeztünk a *Legionella* csíraszámot befolyásoló tényezők hatásáról a használati melegvíz-rendszerek esetében.
- A központi előállítású melegvíz-hálózatok esetében a legionellák elszaporodásának fő okaként a HMV hőmérsékletét azonosítottuk. Igazoltuk, hogy legnagyobb biztonságot az 55 °C feletti víz hőmérséklet nyújt, de már az egész rendszerben az 50 °C-ot meghaladó hőmérséklet is jelentősen csökkenti a kockázatot.
- Ez az első olyan széleskörű *Legionella* prevalencia vizsgálat, amely négyféle különböző eredetű ivóvíz esetében is vizsgálja a kapcsolatot a víz eredete és a HMV minta *Legionella* csíraszám között. Elsőként vizsgáltuk a parti szűrésű és a karsztvíz hatását a *Legionella* kolonizációra. Igazoltuk, hogy a rétegvíz eredetű ivóvízzel előállított használati melegvíz alacsonyabb kockázatot jelent a kevésbé védett vízbázisokból származónál. Ez a hatás inkább a ivóvíz mikrobiológiájától, mint a kémiai összetételétől függ, mivel utóbbinak csekély hatását találtuk. Hipotézisünk szerint a nyers vízben jelenlévő legionellák túlélnek a vízkezelést nagyon alacsony koncentrációban és kedvező körülmények között szaporodni kezdenek. Ez a különbség független a vízkezeléstől és a fertőtlenítéstől.
- A HMV-elosztórendszer nagyságát elsőként hoztuk összefüggésbe a hálózat *Legionella* kolonizáltságával. Rétegzett vizsgálatban is szignifikáns eredményt kaptunk.

- A hatóság munkáját támogatva a kutatási eredmények figyelembevételével végeztük el a megbetegedésekkel összefüggésbe hozott épületek és fürdők kockázatértékelését. Összesen négy alkalommal találtunk kapcsolatot valamely vizes rendszer (HMV-hálózat vagy medencés fürdő) és emberi *L. pneumophila* 1-es szerotípusú izolátumok között.
- Jelen munka eredményei alapján segítettük „A *Legionella* által okozott fertőzési kockázatot jelentő közegekre, illetve létesítményekre vonatkozó közegészségügyi előírásokról” szóló rendelet és az azt kiegészítő módszertani levél előkészítését. A módszertani levél ajánlásokat tartalmaz az érintett létesítmények számára a kockázat csökkentő beavatkozásokra. Az utókövetett létesítményekben a beavatkozások jellemzően sikeresek voltak, a kiválasztott épületek mindegyikében csökkent a hálózati víz *Legionella* csíraszám.



## 8 Összefoglalás

A gyakran súlyos tüdőgyulladással járó legionárius megbetegedés kórokozójaként ismert *Legionella* baktériumok minden vízi környezetben előfordulhatnak, közegészségügyi kockázatot általában csak azon mesterséges vízrendszerekben jelentenek, ahol a szaporodásukhoz szükséges feltételek biztosítottak, és egyben fennáll a legionellákat tartalmazó vízcseppek belégzésének lehetősége. A hazai megbetegedések epidemiológiai háttere szerint a legnagyobb kockázatot az épületek használati hideg- és melegvíz rendszerei és egyes medence típusok jelentik.

PhD munkám célja az volt, hogy pontosabb képet alkossunk a *Legionella* baktérium hazai, környezeti előfordulásáról, és ennek közegészségügyi kockázatáról, feltárva a kockázatkezelés lehetőségeit, és megalapozva a hazai szabályozást.

A vizsgálatba összesen 2518 hálózati víz- és 146 fürdővíz minta *Legionella* vizsgálati eredményei kerültek. Az izolátumokat szerotípus szinten azonosítottuk, és – főként járványügyi érintettség esetén – molekuláris módszerekkel is tipizáltuk. A vízrendszerek műszaki paramétereit és a *Legionella* kockázatot befolyásoló egyéb tényezőket statisztikai módszerekkel (pl. Mann-Whitney próba, logisztikus regresszió) vetettük össze a minták *Legionella* csíraszámával.

A hazai vízrendszerek *Legionella* szennyezettsége igen jelentős; legnagyobb mértékben az egészségügyi intézmények (91,7 %), legkevésbé az egyéni HMV-termelővel rendelkező lakóingatlanok (7,4 %) kolonizáltak legionellával. Medencés fürdők közül a pezsgőmedencék a leginkább szennyezettek legionellával (33,8 %), és ezek esetén legmagasabb az expozíció kockázata is.

Eredményeink szerint a rosszul beszabályozott és túlméretezett HMV-rendszerrel (alacsony hőmérséklet, nagy hőmérsékletesítés) működő nagy épületek jelentik a legnagyobb közegészségügyi kockázatot. A HMV-rendszerek esetében a víz hőmérséklete a *Legionella* kolonizáltság fő meghatározója, de rétegzett vizsgálatban is szignifikáns összefüggést találtunk még a *Legionella* csíraszám és az ivóvíz eredete, illetve a HMV-rendszer nagysága között.

Mind a használati vízrendszerekben, mind a pezsgőmedencékben a *L. pneumophila* dominanciája egyértelmű. Összefüggést találtunk a jelentett esetek és a megbetegedésekért leggyakrabban felelős *L. pneumophila* 1 előfordulási gyakorisága között. A beállított módszerek alkalmasnak bizonyultak az egyes törzsek gyors és hatékony elkülönítésére, amelyek többek között alkalmasak epidemiológiai vizsgálatok esetében emberi és környezeti izolátumok közötti kapcsolat igazolására.

A kolonizált épületek esetében ajánlást tettünk kockázatcsökkentő beavatkozásokra, amelyek többségében sikeresnek bizonyultak. Vizsgálati eredményeink feltárták a környezeti *Legionella* kockázatbecslés és -kezelés szükségességét és segítséget nyújtottak a hazai törvényi szabályozás megalkotásához.

## 9 Summary

*Legionella* bacteria, the etiological agent of Legionnaires' disease, a condition often associated with severe pneumonia, occur in all aquatic environments. Usually, however, they only pose a risk to public health in artificial water systems, where the necessary conditions for their multiplication are provided, and, at the same time, there is a possibility of inhaling the water droplets containing the bacteria. According to the epidemiological background of the disease in Hungary, potable water systems of buildings and spa pools pose the greatest threats.

The aim of my PhD research was to create a more accurate picture of the environmental occurrence and public health risk of *Legionella* in Hungary, exploring the possibilities of risk management and providing scientific support for the national regulation.

In total, the analysis discusses 2518 potable water samples and 146 bathing water samples, which were tested for *Legionella*. The isolates were serotyped and – especially in cases of epidemiological associations – typed with different molecular methods. Technical parameters and other factors affecting the risk of *Legionella* in the examined water systems were statistically compared with the *Legionella* counts of the samples (e.g. Mann-Whitney test, logistic regression).

The *Legionella* contamination of Hungarian potable water systems is very serious; the most heavily colonised buildings are health care facilities (91,7 %), while the least are private residences with individual hot water supply (7,4 %). From the different types of spa pools, hot tubs are the most heavily contaminated (33,8 %), and they also pose the highest risk of exposure because of elevated aerosol production.

It is clear from our results that large buildings with poorly balanced and oversized hot water systems (i.e. low temperature and high temperature drop) represent the greatest public health risk. As for hot water systems, water temperature is the major determinant of *Legionella* contamination. However, significant correlation was found between the *Legionella* count and the source of water, the age and size of the building and its water system, the production of hot water, as well as the number of hot water storage tanks and the volume of stored hot water.

Both in potable water systems and in hot tubs, the dominance of *L. pneumophila* is clear. We found a correlation between the reported cases and the prevalence of *L. pneumophila* 1, the serotype responsible for the majority of the infections. Our selected methods proved to be suitable for the rapid and efficient separation of individual strains, and, therefore, can be used in epidemiological studies to demonstrate the relationship between human and environmental isolates. In the colonized buildings, the operator was advised on potential risk management interventions, which were mostly successful. Our results demonstrate the need for environmental *Legionella* risk assessment and management and served as a basis for the development of a national legal regulation.

## 10 Irodalomjegyzék

1. Feeley JC, Gibson RJ, Gorman GW, Langford NC, Rasheed JK, Mackel DC, et al. Charcoal-yeast extract agar: primary isolation medium for *Legionella pneumophila*. J Clin Microbiol. 1979;10: 437-41.
2. Diederer BMW. *Legionella* spp. and Legionnaires' disease - review. Journal of Infection. 2008; 56(1):1-12.
3. <http://www.bacterio.net/legionella.html>. 2015. szeptember 11-én.
4. Barbaree JM. Selecting a subtyping technique for use in investigations of legionellosis epidemics. In: Barbaree JM, Breiman RF, Dufour AP, editors. *Legionella*. Washington, D.C: American Society for Microbiology; 1993. p. 169-72.
5. Joly JR, McKinney RM, Tobin JO, Bibb WF, Watkins ID, Ramsay D. Development of a standardized subgrouping scheme for *Legionella pneumophila* serogroup 1 using monoclonal antibodies. J Clin Microbiol. 1986;23(4):768-71.
6. Helbig JH, Kurtz JB, Pastoris MC, Pelaz C, Lück PC. Antigenic lipopolysaccharide components of *Legionella pneumophila* recognized by monoclonal antibodies: possibilities and limitations for division of the species into serogroups. J Clin Microbiol. 1997;35(11):2841-5.
7. Fliermans CB, Soracco RJ, Pope DH. Measure of *Legionella pneumophila* activity *in situ*. Curr Microbiol. 1981;6(2):89-94.
8. Wadowsky RM, Yee RB. Effect of non-*Legionellaceae* bacteria on the multiplication of *Legionella pneumophila* in potable water. Appl Environ Microbiol. 1985;49(5):1206-10.
9. Tesh MJ, Miller RD. Amino acid requirements for *Legionella pneumophila* growth. J Clin Microbiol. 1981;13(5):865-9.
10. Bohach GA, Snyder IS. Characterization of surfaces involved in adherence of *Legionella pneumophila* to *Fischerella* species. Infect Immun. 1983;42(1):318-25.
11. Wadowsky RM, Yee RB. Satellite growth of *Legionella pneumophila* with an environmental isolate of *Flavobacterium breve*. Appl Environ Microbiol. 1983;46(6):1447-9.
12. Rowbotham TJ. Current views on the relationships between amoebae, legionellae and man. Isr J Med Sci. 1986;22(9):678-89.
13. Grimes D. Ecology of estuarine bacteria capable of causing human disease: A review. Estuaries. 1991;14(4):345-60.
14. Rowbotham TJ. Preliminary report on the pathogenicity of *Legionella pneumophila* for freshwater and soil amoebae. J Clin Pathol. 1980;33(12):1179-83.
15. Tison DL, Pope DH, Cherry WB, Fliermans CB. Growth of *Legionella pneumophila* in association with blue-green algae (cyanobacteria). Appl Environ Microbiol. 1980;39(2):456-9.
16. Fields BS, Fields SRU, Loy JNC, White EH, Steffens WL, Shotts EB. Attachment and Entry of *Legionella pneumophila* in *Hartmannella vermiformis*. J Infect Dis. 1993;167(5):1146-50.
17. Rowbotham TJ. *Legionella*-like amoebal pathogens. In: Barbaree JM, Breiman RF, Dufour AP, editors. *Legionella: current status and emerging perspectives*. Washington, D.C: American Society for Microbiology; 1993. p. 137-40.
18. Fraser DW, Tsai TR, Orenstein W, Parkin WE, Beecham HJ, Sharrar RG, et al. Legionnaires' Disease. N Engl J Med. 1977;297(22):1189-97.
19. McDade JE, Shepard CC, Fraser DW, Tsai TR, Redus MA, Dowdle WR, et al. Legionnaires' disease. Isolation of a bacterium and demonstration of its role in other respiratory disease. N Engl J Med. 1977;297:1197-203.
20. Glick TH, Gregg MB, Berman B, Mallison G, Rhodes WWJ, Kassanoff I. Pontiac fever. An epidemic of unknown etiology in a health department: I. Clinical and epidemiologic aspects. Am J Epidemiol. 1978;107(2):149-60.

21. Goldberg DJ, Wrench JG, Collier PW, Emslie JA, Fallon RJ, Forbes GI, et al. Lochgoilhead fever: outbreak of non-pneumonic legionellosis due to *Legionella micdadei*. Lancet. 1989;1(8633):316-8.
22. Tsai TF, Finn DR, Plikaytis BD, McCauley W, Martin SM, Fraser DW. Legionnaires' disease. clinical features of the epidemic in Philadelphia. Ann Intern Med. 1979;90(4):509-17.
23. Morelli N, Battaglia E, Lattuada P. Brainstem involvement in Legionnaires' disease. Infection. 2006;34(1):49-52.
24. Az Országos Epidemiológiai Központ és az Országos Környezetegészségügyi Intézet Módszertani Levele a Legionárius Betegségről és Megelőzéséről. Meller, M. Dura, Gy. Budapest, Magyarország: Országos Epidemiológiai Központ. 14. évfolyam. 3. különszám; 2007. július 30.
25. Lowry PW, Tompkins LS. Nosocomial legionellosis: A review of pulmonary and extrapulmonary syndromes. Am J Infect Control. 1993;21(1):21-7.
26. Pedro-Botet ML, Sabria M. Legionellosis. Semin Respir Crit Care Med. 2005;26(6):625-34.
27. Joseph C. Surveillance of Legionnaires disease in Europe. In: Marre R, Kwaik YA, Bartlett C, Cianciotto NP, Fields BS, Frosch M, et al., editors. *Legionella*. 311-320. Washington D. C.: ASM Press; 2002.
28. Fang GD, Yu VL, Vickers RM. Disease due to the *Legionellaceae* (other than *Legionella pneumophila*). Historical, microbiological, clinical, and epidemiological review [published erratum appears in Medicine Baltimore, 1989, 68(4):209]. Medicine Baltimore. 1989;68(2):116-32.
29. Steele TW, Lanser J, Sangster N. Isolation of *Legionella longbeachae* serogroup 1 from potting mixes. Appl Environ Microbiol. 1990;56(1):49-53.
30. Fry NK, Rowbotham TJ, Saunders NA, Embley TM. Direct amplification and sequencing of the 16S ribosomal DNA of an intracellular *Legionella* species recovered by amoebal enrichment from the sputum of a patient with pneumonia. FEMS Microbiol Lett. 1991;83(2):165-8.
31. Marrie TJ, Durant H, Yates L. Community-Acquired Pneumonia Requiring Hospitalization: 5-Year Prospective Study. Rev Infect Dis. 1989;11(4):586-99.
32. Boshuizen HC, Neppelenbroek SE, van Vliet H, Schellekens JFP, Boer JWd, Peeters MF, et al. Subclinical *Legionella* Infection in Workers Near the Source of a Large Outbreak of Legionnaires Disease. J Infect Dis. 2001;184(4):515-8.
33. Paszko-Kolva CC, Shahamat M, Keiser J, Colwell RR. Prevalence of antibodies against *Legionella* species in healthy and patient populations. In: Barbaree MJ, Breiman RF, Dufour AP, editors. *Legionella: current status and emerging perspectives*. 24-26. Washington D.C.: American Society for Microbiology; 1993.
34. Edelstein PH. Clinical features of Legionnaires' Disease: a selected review. In: *Legionella: state of the art 30 years after its recognition*. In: Cianciotto NP KY, Edelstein PS, Fields BS, Geary DF, Harrison TG, et al., editor. Washington, D.C. : American Society for Microbiology; 2006. p. 3-7.
35. Marston BJ, Lipman HB, Breiman RF. Surveillance for Legionnaires' Disease: Risk Factors for Morbidity and Mortality. Arch Intern Med. 1994;154(21):2417-22.
36. Broome CV, Fraser DW. Epidemiologic aspects of legionellosis. Epidemiol Rev. 1979;1:1-16.
37. ECDC. Legionnaires' disease in Europe 2010. 1st ed. Stockholm, Sweden: European Centre for Disease Prevention and Control; 2012.
38. ECDC. Legionnaires' disease in Europe, 2011. 1st ed. Stockholm, Sweden: European Centre for Disease Prevention and Control; 2013.
39. ECDC. Legionnaires' disease in Europe, 2012. 1st ed. Stockholm, Sweden: European Centre for Disease Prevention and Control; 2014.
40. ECDC. Legionnaires' disease in Europe, 2013. 1st ed. Stockholm, Sweden: European Centre for Disease Prevention and Control; 2015.

41. ECDC. Legionnaires' disease in Europe 2009. 1st ed. Stockholm, Sweden: European Centre for Disease Prevention and Control; 2011.
42. Greenberg D, Chiou CC, Famigilletti R, Lee TC, Yu VL. Problem pathogens: paediatric legionellosis-implications for improved diagnosis. *Lancet Infect Dis.* 2006;6(8):529-35.
43. Horwitz MA. Formation of a novel phagosome by the Legionnaires' disease bacterium (*Legionella pneumophila*) in human monocytes. *J Exp Med.* 1983;158(4):1319-31.
44. Bozue JA, Johnson W. Interaction of *Legionella pneumophila* with *Acanthamoeba castellanii*: uptake by coiling phagocytosis and inhibition of phagosome-lysosome fusion. *Infect Immun.* 1996;64(2):668-73.
45. Horwitz MA. Phagocytosis of the Legionnaires' disease bacterium (*Legionella pneumophila*) occurs by a novel mechanism: engulfment within a pseudopod coil. *Cell.* 1984;36:27-33.
46. Garduno RA, Garduno E, Hiltz M, Allan D, Hoffman PS. Morphological and physiological evidence for a development cycle in *Legionella pneumophila*. In: Marre R, Kwaik YA, Bartlett C, Cianciotto NP, Fields BS, Frosch M, et al., editors. *Legionella*. 82-86. Washington D. C.: ASM Press; 2002.
47. Cianciotto NP, Eisenstein BI, Mody CH, Toews GB, Engleberg NC. A *Legionella pneumophila* gene encoding a species-specific surface protein potentiates initiation of intracellular infection. *Infect Immun.* 1989;57(4):1255-62.
48. Ratcliff RM, Lanser JA, Manning PA, Heuzenroeder MW. Sequence-Based Classification Scheme for the Genus *Legionella* Targeting the *mip* Gene. *J Clin Microbiol.* 1998;36(6):1560-7.
49. Fields BS, Benson RF, Besser RE. *Legionella* and Legionnaire's disease: 25 years of investigation. *Clin Microbiol Rev.* 2002;15(3):506-26.
50. Stout JE, Yu VL. Legionnaires' Disease. *N Engl J Med.* 1998;338(3):200-1.
51. Helbig JH, Lück PC, Knirel YA, Witzleb W, Zähringer U. Molecular characterization of a virulence-associated epitope on the lipopolysaccharide of *Legionella pneumophila* serogroup 1. *Epidemiol Infect.* 1995;115(01):71-8.
52. Watkins ID, Tobin JO, Dennis PJ, Brown W, Newnham R, Kurtz JB. *Legionella pneumophila* serogroup 1 subgrouping by monoclonal antibodies - an epidemiological tool. *J Hyg (Lond).* 1985;95(2):211-6.
53. Ehret W, von Specht BU, Ruckdeschel G. Discrimination between clinical and environmental strains of *Legionella pneumophila* by a monoclonal antibody. *Isr J Med Sci.* 1986;22(10):715-23.
54. Dournon E. Isolation of legionellae from clinical specimens. In: Harrison TG, Taylor AG, editors. *A laboratory manual for Legionella*. London, United Kingdom: John Wiley & Sons Ltd.; 1988. p. 13-30.
55. Mauchline WS, James BW, Fitzgeorge RB, Dennis PJ, Keevil CW. Growth temperature reversibly modulates the virulence of *Legionella pneumophila*. *Infect Immun.* 1994;62(7):2995-7.
56. Bosshardt SC, Benson RF, Fields BS. Flagella are a positive predictor for virulence in *Legionella*. *Microbial Pathogenesis.* 1997;23(2):107-12.
57. Beaute J, Zucs P, de Jong B. Legionnaires disease in Europe, 2009-2010. *Euro Surveill.* 2013;18(10):20417.
58. Eurostat. Causes of death in the EU in 2012 (respiratory diseases, 153/2015) <http://ec.europa.eu/eurostat/documents/2995521/6980739/3-10092015-AP-EN.pdf/bc1e347e-9895-4131-9972-4ef718869c22>, 2015. szeptember 15.
59. File TM. Community-acquired pneumonia. *Lancet Infect Dis.* 2003;362(9400):1991-2001.
60. Marrie TJ, MacDonald S, Clarke K, Haldane D. Nosocomial legionnaires' disease: lessons from a four-year prospective study. *Am J Infect Control.* 1991;19(2):79-85.
61. Magyarország 2001. évi járványügyi helyzete. *Epinfo* 9 évfolyam 7 különszám. 2002.
62. Magyarország 2005. évi járványügyi helyzete. *Epinfo* 14 évfolyam 2 különszám. 2007.

63. Magyarország 2010. évi járványügyi helyzete. *Epinfo*. 2011;26-27.
64. Magyarország 2009. évi járványügyi helyzete. *Epinfo* 18 évfolyam 7 különszám. 2011.
65. Magyarország 2004. évi járványügyi helyzete. *Epinfo* 13 évfolyam 3 különszám 2006.
66. Magyarország 2011. évi járványügyi helyzete. *Epinfo*. 2012;25(19):289-304.
67. Magyarország 2012. évi járványügyi helyzete. *Epinfo*. 2013;25:281-8.
68. Az Országos Epidemiológiai Központ előzetes jelentése a 2013. évben bejelentett fertőző megbetegedésekről. *Epinfo*. 2014;21(27):309-32.
69. Magyarország 2013. évi járványügyi helyzete. *Epinfo*. 2014;27:309-26.
70. Az Országos Epidemiológiai Központ előzetes jelentése a 2014. évben bejelentett fertőző megbetegedésekről. *Epinfo*. 2015;22(28):315-38.
71. Mandell LA, Marrie TJ, Grossman RF, Chow AW, Hyland RH. Canadian guidelines for the initial management of community-acquired pneumonia: an evidence-based update by the Canadian Infectious Diseases Society and the Canadian Thoracic Society. The Canadian Community-Acquired Pneumonia Working Group. *Clin Infect Dis*. 2000;31(2):383-421.
72. Kramer MH, Ford TE. Legionellosis: ecological factors of an environmentally 'new' disease. *Zentralbl Hyg Umweltmed*. 1994;195(5-6):470-82.
73. Sarjomaa M, Urdahl P, Ramsli E, Borchgrevink-Lund CF, Ask E. Prevention of Legionnaires' disease in hospitals. *Tidsskr Nor Laegeforen*. 2011;131(16):1554-7.
74. Parthuisot N, Binet M, Tournon-Bodilis A, Pougard C, Lebaron P, Baudart J. Total and viable *Legionella pneumophila* cells in hot and natural waters as measured by immunofluorescence-based assays and solid-phase cytometry. *Appl Environ Microbiol*. 2011;77(17):6225-32.
75. Wullings BA, Bakker G, van der Kooij D. Concentration and diversity of uncultured *Legionella* spp. in two unchlorinated drinking water supplies with different concentrations of natural organic matter. *Appl Environ Microbiol*. 2011;77(2):634-41.
76. Joseph CA, Ricketts KD. Legionnaires' disease in Europe 2007-2008. *Euro Surveill*. 2010;15: 1.8.
77. Ghrairi T, Chaftar N, Jarraud S, Berjeaud JM, Hani K, Frere J. Diversity of legionellae strains from Tunisian hot spring water. *Res Microbiol*. 2013;164(4):342-50.
78. Fliermans CB, Cherry WB, Orrison LH, Smith SJ, Tison DL, Pope DH. Ecological distribution of *Legionella pneumophila*. *Appl Environ Microbiol*. 1981;41(1):9-16.
79. Fliermans CB, Cherry WB, Orrison LH, Thacker L. Isolation of *Legionella pneumophila* from nonepidemic-related aquatic habitats. *Appl Environ Microbiol*. 1979;37(6):1239-42.
80. Ortiz-Roque CM, Hazen TC. Abundance and distribution of *Legionellaceae* in Puerto Rican waters. *Appl Environ Microbiol*. 1987;53(9):2231-6.
81. Carvalho FR, Vazoller RF, Foronda AS, Pellizari VH. Phylogenetic study of *Legionella* species in pristine and polluted aquatic samples from a tropical Atlantic forest ecosystem. *Curr Microbiol*. 2007;55(4):288-93.
82. Hsu B-M, Lin C-L, Shih F-C. Survey of pathogenic free-living amoebae and *Legionella* spp. in mud spring recreation area. *Water Res*. 2009;43(11):2817-28.
83. Parthuisot N, West NJ, Lebaron P, Baudart J. High diversity and abundance of *Legionella* spp. in a pristine river and impact of seasonal and anthropogenic effects. *Appl Environ Microbiol*. 2010;76(24):8201-10.
84. Brown CM, Nuorti PJ, Breiman RF, Hathcock AL, Fields BS, Lipman HB, et al. A community outbreak of Legionnaires' disease linked to hospital cooling towers: an epidemiological method to calculate dose of exposure. *Int J Epidemiol*. 1999;28(2):353-9.
85. Engelhart S, Pleischl S, Lück C, Marklein G, Fischnaller E, Martin S, et al. Hospital-acquired legionellosis originating from a cooling tower during a period of thermal inversion. *Int J Hyg Environ Health*. 2008;211(3-4):235-40.

86. Alsibai S, Bilo de Bernardi P, Janin C, Che D, Lee JV. Outbreak of legionellosis suspected to be related to a whirlpool spa display, September 2006, Lorquin, France. *Euro Surveill.* 2006;11(10):E061012 3.
87. Campese C, Roche D, Clement C, Fierobe F, Jarraud S, de Waelle P, et al. Cluster of Legionnaires' disease associated with a public whirlpool spa, France, April-May 2010. *Euro Surveill.* 2010;15(26):pii=19602.
88. Garcia-Nunez M, Sopena N, Ragull S, Pedro-Botet ML, Morera J, Sabria M. Persistence of *Legionella* in hospital water supplies and nosocomial Legionnaires' disease. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2008;52(2):202-6.
89. Joly J, Alary M. Occurrence of nosocomial Legionnaires' disease in hospitals with contaminated potable water supply. In: Barbaree JM, Breiman RF, Dufour AP, editors. *Legionella: current status and emerging perspectives.* Washington DC, USA: American Society for Microbiology; 1993. p. 39-40.
90. Lepine LA, Jernigan DB, Butler JC, Pruckler JM, Benson RF, Kim G, et al. A recurrent outbreak of nosocomial legionnaires' disease detected by urinary antigen testing: evidence for long-term colonization of a hospital plumbing system. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1998;19(12):905-10.
91. Atlas RM, Williams JF, Huntington MK. *Legionella* contamination of dental-unit waters. *Appl Environ Microbiol.* 1995;61(4):1208-13.
92. Kumar S, Atray D, Paiwal D, Balasubramanyam G, Duraiswamy P, Kulkarni S. RETRACTED: Dental unit waterlines: source of contamination and cross-infection. *J Hosp Infect.* 2010;74(2): 99-111.
93. Heng BH, Goh KT, Ng DL, Ling AE. Surveillance of legionellosis and *Legionella* bacteria in the built environment in Singapore. *Ann Acad Med Singapore.* 1997;26(5):557-65.
94. Fenstersheib MD, Miller M, Diggins C, Liska S, Detwiler L, Werner SB, et al. Outbreak of Pontiac fever due to *Legionella anisa*. *Lancet.* 1990;336(8706):35-7.
95. Castellani Pastoris M, Lo Monaco R, Goldoni P, Mentore B, Balestra G, Ciceroni L, et al. Legionnaires' disease on a cruise ship linked to the water supply system: clinical and public health implications. *Clin Infect Dis.* 1999;28(1):33-8.
96. Jernigan DB, Hofmann J, Cetron MS, Genese CA, Nuorti JP, Fields BS, et al. Outbreak of Legionnaires' disease among cruise ship passengers exposed to a contaminated whirlpool spa. *Lancet.* 1996;347(9000):494-9.
97. Kura F, Amemura-Maekawa J, Yagita K, Endo T, Ikeno M, Tsuji H, et al. Outbreak of Legionnaires' disease on a cruise ship linked to spa-bath filter stones contaminated with *Legionella pneumophila* serogroup 5. *Epidemiol Infect.* 2006;134(2):385-91.
98. Goutziana G, Mouchtouri VA, Karanika M, Kavagias A, Stathakis NE, Gourgoulisanis K, et al. *Legionella* species colonization of water distribution systems, pools and air conditioning systems in cruise ships and ferries. *BMC Public Health.* 2008;8:390.
99. Berthelot P, Grattard F, Ros A, Lucht F, Pozzetto B. Nosocomial legionellosis outbreak over a three-year period: investigation and control. *Clin Microbiol Infect.* 1998;4(7):385-91.
100. Best M, Yu VL, Stout J, Goetz A, Muder RR, Taylor F. *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.* 1983;2(8345):307-10.
101. Arnow PM, Weil D, Para MF. Prevalence and Significance of *Legionella pneumophila* Contamination of Residential Hot-Tap Water Systems. *J Infect Dis.* 1985;152(1):145-51.
102. Stout JE, Yu VL, Muraca P. Legionnaires' disease acquired within the homes of two patients. Link to the home water supply. *JAMA.* 1987;257(9):1215-7.
103. Ishikawa A, Okada J, Kondo H, Takayama Y, Sunagawa K, Enari T, et al. *Legionella pneumonia* which occurred in a private whirlpool bath user. *Kansenshogaku Zasshi.* 2004;78(10):898-904.

104. Sabria M, Alvarez J, Dominguez A, Pedrol A, Sauca G, Salleras L, et al. A community outbreak of Legionnaires' disease: evidence of a cooling tower as the source. *Clin Microbiol Infect.* 2006;12(7):642-7.
105. García-Fulgueiras A, Navarro C, Fenoll D, García J, González-Diego P, Jiménez-Buñuales T, et al. Legionnaires' disease outbreak in Murcia, Spain. *Emerg Infect Dis.* 2003;9(8):915-21.
106. Kirrage D, Reynolds G, Smith GE, Olowokure B. Investigation of an outbreak of Legionnaires' disease: Hereford, UK 2003. *Respir Med.* 2007;101(8):1639-44.
107. Jansa JM, Cayla JA, Ferrer D, Gracia J, Pelaz C, Salvador M, et al. An outbreak of Legionnaires' disease in an inner city district: importance of the first 24 hours in the investigation. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2002;6(9):831-8.
108. Nguyen TMN, Illef D, Jarraud S, Rouil L, Campese C, Che D, et al. A Community-Wide Outbreak of Legionnaires Disease Linked to Industrial Cooling Towers - How Far Can Contaminated Aerosols Spread? *J Infect Dis.* 2006;193(1):102-11.
109. Nygård K, Werner-Johansen Ø, Rønsen S, Caugant DA, Simonsen Ø, Kanestrøm A, et al. An Outbreak of Legionnaires Disease Caused by Long-Distance Spread from an Industrial Air Scrubber in Sarpsborg, Norway. *Clin Infect Dis.* 2008;46(1):61-9.
110. Greig JE, Carnie JA, Tallis GF, Ryan NJ, Tan AG, Gordon IR, et al. An outbreak of Legionnaires' disease at the Melbourne Aquarium, April 2000: investigation and case-control studies. *Med J Aust.* 2004;180(11):566-72.
111. den Boer JW, Yzerman EP, Schellekens J, Lettinga KD, Boshuizen HC, Van-Steenbergen JE, et al. A large outbreak of Legionnaires' disease at a flower show, the Netherlands, 1999. *Emerg Infect Dis.* 2002;8:37-43.
112. Mangione EJ, Remis RS, Tait KA, McGee HB, Gorman GW, Wentworth BB, et al. An outbreak of Pontiac fever related to whirlpool use, Michigan 1982. *JAMA.* 1985;253(4):535-9.
113. Spitalny KC, Vogt RL, Orciari LA, Witherell LE, Etkind P, Novick LF. Pontiac fever associated with a whirlpool spa. *Am J Epidemiol.* 1984;120(6):809-17.
114. Benkel DH, McClure EM, Woolard D, Rullan JV, Miller GB, Jenkins SR, et al. Outbreak of Legionnaires' disease associated with a display whirlpool spa. *Int J Epidemiol.* 2000;29(6):1092-8.
115. Benin AL, Benson RF, Arnold KE, Fiore AE, Cook PG, Williams LK, et al. An Outbreak of Travel-Associated Legionnaires Disease and Pontiac Fever: The Need for Enhanced Surveillance of Travel-Associated Legionellosis in the United States. *J Infect Dis.* 2002;185(2):237-43.
116. Borella P, Bargelini A, Pergolizzi S, Mazzuconi R, Gesu G, Vaiani R, et al. Surveillance of legionellosis within a hospital in northern Italy: May 1998 to September 1999. *Euro Surveill.* 1999;4(11):118-20.
117. Luttichau HR, Vinther C, Uldum SA, Moller J, Faber M, Jensen JS. An outbreak of Pontiac fever among children following use of a whirlpool. *Clin Infect Dis.* 1998;26(6):1374-8.
118. Surveillance for waterborne disease outbreaks associated with drinking water and other nonrecreational water - United States, 2009-2010. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2013;62(35):714-20.
119. Marston BJ, Plouffe JF, File TM, Jr., Hackman BA, Salstrom SJ, Lipman HB, et al. Incidence of community-acquired pneumonia requiring hospitalization. Results of a population-based active surveillance Study in Ohio. The Community-Based Pneumonia Incidence Study Group. *Arch Intern Med.* 1997;157(15):1709-18.
120. Stout JE, Yu VL, Muraca P, Joly J, Troup N, Tompkins LS. Potable water as a cause of sporadic cases of community-acquired legionnaires' disease. *N Engl J Med.* 1992;326(3):151-5.
121. Tobin JO, Beare J, Dunnill MS, Fisher-Hoch S, French M, Mitchell RG, et al. Legionnaires' disease in a transplant unit: isolation of the causative agent from shower baths. *Lancet.* 1980;2(8186):118-21.



122. Stout JE, Yu VL, Best MG. Ecology of *Legionella pneumophila* within water distribution systems. *Appl Environ Microbiol.* 1985;49(1):221-8.
123. Arnow PM, Chou T, Weil D, Shapiro EN, Kretzschmar C. Nosocomial Legionnaires' disease caused by aerosolized tap water from respiratory devices. *J Infect Dis.* 1982;146 (4):460-7.
124. Cordes LG, Wiesenthal AM, Gorman GW, Phair JP, Sommers HM, Brown A, et al. Isolation of *Legionella pneumophila* from hospital shower heads. *Ann Intern Med.* 1981;94(2):195-7.
125. Campins M, Ferrer A, Callis L, Pelaz C, Cortes PJ, Pinart N, et al. Nosocomial Legionnaire's disease in a children's hospital. *Pediatr Infect Dis J.* 2000;19(3):228-34.
126. Stojek NM, Dutkiewicz J. *Legionella* and other gram-negative bacteria in potable water from various rural and urban sources. *Ann Agric Environ Med.* 2006;13(2):323-36.
127. Winn WC. Legionnaires disease: historical perspective. *Clin Microbiol Rev.* 1988;1(1):60-81.
128. Fisher-Hoch SP, Bartlett CL, Tobin JO, Gillett MB, Nelson AM, Pritchard JE, et al. Investigation and control of an outbreaks of legionnaires' disease in a district general hospital. *Lancet.* 1981;1(8226):932-6.
129. Meenhorst PL, Reingold AL, Groothuis DG, Gorman GW, Wilkinson HW, McKinney RM, et al. Water-related nosocomial pneumonia caused by *Legionella pneumophila* serogroups 1 and 10. *J Infect Dis.* 1985;152(2):356-64.
130. Muraca PW, Stout JE, Yu VL, Yee YC. Legionnaires' disease in the work environment: implications for environmental health. *Am Ind Hyg Assoc J.* 1988;49(11):584-90.
131. Alexiou SD, Antoniadis A, Papapaganagiotou J, Stefanou T. Isolation of *Legionella pneumophila* from hotels of Greece. *Eur J Epidemiol.* 1989;5(1):47-50.
132. Struelens MJ, Maes N, Rost F, Deplano A, Jacobs F, Liesnard C, et al. Genotypic and phenotypic methods for the investigation of a nosocomial *Legionella pneumophila* outbreak and efficacy of control measures. *J Infect Dis.* 1992;166(1):22-30.
133. Muhlenberg W. Fatal travel-associated *Legionella* infection caused by shower aerosols in a German hotel. *Gesundheitswesen.* 1993;55(12):653-6.
134. Colville A, Crowley J, Dearden D, Slack RC, Lee JV. Outbreak of Legionnaires' disease at University Hospital, Nottingham. *Epidemiology, microbiology and control. Epidemiol Infect.* 1993;110(1):105-16.
135. Venezia RA, Agresta MD, Hanley EM, Urquhart K, Schoonmaker D. Nosocomial Legionellosis Associated with Aspiration of Nasogastric Feedings Diluted in Tap Water. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1994;15(8):529-33.
136. Luck PC, Helbig JH, Hagedorn HJ, Ehret W. DNA fingerprinting by pulsed-field gel electrophoresis to investigate a nosocomial pneumonia caused by *Legionella bozemanii* serogroup 1. *Appl Environ Microbiol.* 1995;61(7):2759-61.
137. Joseph C, Morgan D, Birtles R, Pelaz C, Martin-Bourgon C, Black M, et al. An international investigation of an outbreak of Legionnaires disease among UK and French tourists. *Eur J Epidemiol.* 1996;12(3):215-9.
138. Visca P, Goldoni P, Luck PC, Helbig JH, Cattani L, Giltri G, et al. Multiple types of *Legionella pneumophila* serogroup 6 in a hospital heated-water system associated with sporadic infections. *J Clin Microbiol.* 1999;37(7):2189-96.
139. Hoebe CJ, Cluitmans JJ, Wagenvoort JH, van Leeuwen WJ, Bilkert-Mooiman MA. Cold tap water as a source of fatal nosocomial pneumonia due to *Legionella pneumophila* in a rehabilitation center. *Ned Tijdschr Geneesk.* 1999;143(20):1041-5.
140. Knirsch CA, Jakob K, Schoonmaker D, Kiehlbauch JA, Wong SJ, Della-Latta P, et al. An outbreak of *Legionella micdadei* pneumonia in transplant patients: evaluation, molecular epidemiology, and control. *Am J Med.* 2000;108(4):290-5.

141. Perola O, Kauppinen J, Kusnetsov J, Heikkinen J, Jokinen C, Katila ML. Nosocomial *Legionella pneumophila* serogroup 5 outbreak associated with persistent colonization of a hospital water system. *APMIS*. 2002;110(12):863-8.
142. Chen YSC, Lin WRL, Liu YCL, Chang CLC, Gan VLG, Huang WKH, et al. Residential Water Supply as a Likely Cause of Community-Acquired Legionnaires' Disease in an Immuno-compromised Host. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2002;21(10):706-9.
143. CDC. Legionnaires disease associated with potable water in a hotel-Ocean City, Maryland, October 2003-February 2004. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2005;54(7):165-8.
144. Krojgaard LH, Krogfelt KA, Albrechtsen HJ, Uldum SA. Cluster of Legionnaires disease in a newly built block of flats, Denmark, December 2008 - January 2009. *Euro Surveill*. 2011;16(1).
145. Maini R, Naik F, Harrison T, Mentasti M, Spala G, Velonakis E, et al. Travel-associated Legionnaires disease in residents from England and Wales travelling to Corfu, Greece, August to October 2011. *Euro Surveill*. 2012;17(32).
146. Silk BJ, Moore MR, Bergtholdt M, Gorwitz RJ, Kozak NA, Tha MM, et al. Eight years of Legionnaires' disease transmission in travellers to a condominium complex in Las Vegas, Nevada. *Epidemiol Infect*. 2012;140(11):1993-2002.
147. Erdogan H, Arslan H. Evaluation of a *Legionella* outbreak emerged in a recently opening hotel. *Mikrobiyol Bul*. 2013;47(2):240-9.
148. Silk BJ, Foltz JL, Ngamsnga K, Brown E, Munoz MG, Hampton L, et al. Legionnaires' disease case-finding algorithm, attack rates, and risk factors during a residential outbreak among older adults: an environmental and cohort study. *BMC Infect Dis*. 2013;13(1):291.
149. Demirjian A, Lucas CE, Garrison LE, Kozak-Muiznieks NA, States S, Brown EW, et al. The importance of clinical surveillance in detecting legionnaires' disease outbreaks: a large outbreak in a hospital with a *Legionella* disinfection system-Pennsylvania, 2011-2012. 2015(1537-6591).
150. Straus WL, Plouffe JF, File TM, Jr., Lipman HB, Hackman BH, Salstrom SJ, et al. Risk factors for domestic acquisition of legionnaires disease. Ohio legionnaires Disease Group. *Arch Intern Med*. 1996;156(15):1685-92.
151. Craun GF, Brunkard JM, Yoder JS, Roberts VA, Carpenter J, Wade T, et al. Causes of Outbreaks Associated with Drinking Water in the United States from 1971 to 2006. *Clin Microbiol Rev*. 2010;23(3):507-28.
152. Stout JE, Yu VL, Yee YC, Vaccarello S, Diven W, Lee TC. *Legionella pneumophila* in residential water supplies: environmental surveillance with clinical assessment for Legionnaires' disease *Epidemiol Infect*. 1992;109:49-57.
153. Bollin GE, Plouffe JF, Para MF, Hackman B. Aerosols containing *Legionella pneumophila* generated by shower heads and hot-water faucets. *Appl Environ Microbiol*. 1985;50(5):1128-31.
154. Kenyeres K. *Legionella* baktérium kimutatása szolnoki középiskolákból. Diplomadolgozat, Eötvös Loránd Tudományegyetem, Budapest, Magyarország. 2012.
155. Felföldi T, Heéger Z, Vargha M, Márialigeti K. Detection of potentially pathogenic bacteria in the drinking water distribution system of a hospital in Hungary. *Clin Microbiol Infect*. 2010;16(1):89-92.
156. Hsu SC, Martin R, Wentworth BB. Isolation of *Legionella* species from drinking water. *Appl Environ Microbiol*. 1984;48(4):830-2.
157. States SJ, Conley CF, Kuchta JM, Wolford RS, Wadowsky RM, Yee RB. Chlorine, pH, and control of *Legionella* in hospital plumbing systems. *JAMA*. 1989;261(13):1882-3.
158. Rogers J, Dowsett AB, Dennis PJ, Lee JV, Keevil CW. Influence of temperature and plumbing material selection on biofilm formation and growth of *Legionella pneumophila* in a model potable water system containing complex microbial flora. *Appl Environ Microbiol*. 1994;60(5):1585-92.

159. Zacheus OM, Martikainen PJ. Occurrence of legionellae in hot water distribution systems of Finnish apartment buildings. *Can J Microbiol.* 1994;40(12):993-9.
160. Atlas RM. *Legionella*: from environmental habitats to disease pathology, detection and control. *Environ Microbiol.* 1999;1(4):283-93.
161. Exner M, Kramer A, Lajoie L, Gebel J, Engelhart S, Hartemann P. Prevention and control of health care-associated waterborne infections in health care facilities. *Am J Infect Control.* 2005;33(5, Supplement):S26-S40.
162. Alary M, Joly JR. Risk factors for contamination of domestic hot water systems by legionellae. *Appl Environ Microbiol.* 1991;57(8):2360-7.
163. Kusnetsov J, Torvinen E, Perola O, Nousiainen T, Katila M-L. Colonization of hospital water systems by legionellae, mycobacteria and other heterotrophic bacteria potentially hazardous to risk group patients. *APMIS.* 2003;111(5):546-56.
164. Borella P, Montagna MT, Stampi S, Stancanelli G, Romano-Spica V, Triassi M, et al. *Legionella* Contamination in Hot Water of Italian Hotels. *Appl Environ Microbiol.* 2005;71(10):5805-13.
165. Mouchtouri V, Velonakis E, Tsakalof A, Kapoula C, Goutziana G, Vatopoulos A, et al. Risk Factors for Contamination of Hotel Water Distribution Systems by *Legionella Species*. *Appl Environ Microbiol.* 2007;73(5):1489-92.
166. Darelid J, Lofgren S, Malmvall BE. Control of nosocomial Legionnaires' disease by keeping the circulating hot water temperature above 55 degrees C: experience from a 10-year surveillance programme in a district general hospital. *J Hosp Infect.* 2002;50(3):213-9.
167. Borella P, Montagna MT, Romano-Spica V, Stampi S, Stancanelli G, Triassi M, et al. *Legionella* infection risk from domestic hot water. *Emerg Infect Dis.* 2004;10(3):457-64.
168. Hrubá L. The colonization of hot water systems by *Legionella*. *Ann Agric Environ Med.* 2009;16(1):115-9.
169. Blanc DS, Carrara P, Zanetti G, Francioli P. Water disinfection with ozone, copper and silver ions, and temperature increase to control *Legionella*: seven years of experience in a university teaching hospital. *J Hosp Infect.* 2005;60(1):69-72.
170. Serrano-Suarez A, Dellunde J, Salvado H, Cervero-Arago S, Mendez J, Canals O, et al. Microbial and physicochemical parameters associated with *Legionella* contamination in hot water recirculation systems. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2013.
171. Mathys W, Stanke J, Harmuth M, Junge-Mathys E. Occurrence of *Legionella* in hot water systems of single-family residences in suburbs of two German cities with special reference to solar and district heating. *Int J Hyg Environ Health.* 2008;211(1-2):179-85.
172. Yee RB, Wadowsky RM. Multiplication of *Legionella pneumophila* in unsterilized tap water. *Appl Environ Microbiol.* 1982;43(6):1330-4.
173. Dennis PJ, Green D, Jones BP. A note on the temperature tolerance of *Legionella*. *J Appl Bacteriol.* 1984;56:349-50.
174. Schulze-Röbbecke R, Rödder M, Exner M. Multiplication and killing temperatures of naturally occurring *Legionellae*. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg+.* 1987;184:495-500.
175. Bargellini A, Marchesi I, Righi E, Ferrari A, Cencetti S, Borella P, et al. Parameters predictive of *Legionella* contamination in hot water systems: Association with trace elements and heterotrophic plate counts. *Water Res.* 2011;45(6):2315-21.
176. Az Európai Legionellosis Munkacsoport és az Utazással Összefüggő Legionárius Betegség Európai Surveillance Rendszere összeállításában: Európai útmutató az utazással összefüggő legionárius betegség felügyeletéhez és megelőzéséhez. Országos Epidemiológiai Központ és Országos Környezetegészségügyi Intézet. Budapest, 2008. Elérhető online: [http://oki.antsz.hu/documents/EWGLIGuideHU\\_20080401.pdf](http://oki.antsz.hu/documents/EWGLIGuideHU_20080401.pdf).
177. Deutscher Verein des Gas- und Wasserfaches (DVGW). Arbeitsblatt W 551. Trinkwasser-erwärmungs- und Leitungsanlagen; Technische Maßnahmen zur Verminderung des Legionellen-

- wachstums; Planung, Errichtung, Betrieb und Sanierung von Trinkwasser-Installationen. Germany: Deutscher Verein des Gas- und Wasserfaches; 2004.
178. *Legionella*. In: Guidelines for Drinking Water. Addendum: Microbiological Agents in Drinking Water, 2nd edn. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2002.
179. TSG-81. Gépészeti Tervezési Segédlet használati melegvíz rendszerek kialakításához. Típustervező Intézet, Budapest, Magyarország.
180. MSZ EN 806-1:2001. Épületeken belüli, emberi fogyasztásra szánt vizet szállító vezetékek követelményei. 1. rész: Általános követelmények. Magyar Szabványügyi Testület. Budapest, Magyarország.
181. MSZ EN 806-1:2000/A1:2003. Épületeken belüli, emberi fogyasztásra szánt vizet szállító vezetékek követelményei. 1. rész: Általános követelmények. Magyar Szabványügyi Testület. Budapest, Magyarország.
182. MSZ EN 806-5:2012. Épületeken belüli, emberi fogyasztásra szánt vizet szállító berendezések műszaki előírásai. 5. rész: Üzemeltetés és karbantartás. Magyar Szabványügyi Testület. Budapest, Magyarország.
183. Wadowsky RM, Butler LJ, Cook MK, Verma SM, Paul MA, Fields BS, et al. Growth-supporting activity for *Legionella pneumophila* in tap water cultures and implication of hartmannellid amoebae as growth factors. *Appl Environ Microbiol.* 1988;54(11):2677-82.
184. Flemming H-C, Percival SL, Walker JT. Contamination potential of biofilms in water distribution systems. *Water Supply.* 2002;2(1):271-80.
185. Green PN. Efficacy of biocides on laboratory-generated *Legionella* biofilms. *Lett Appl Microbiol.* 1993;17(4):158-61.
186. Wright JB, Ruseska I, Costerton JW. Decreased biocide susceptibility of adherent *Legionella pneumophila*. *J Appl Bacteriol.* 1991;71(6):531-8.
187. Yabuchi E, Wang L, Yamayoshi T, Arakawa M, Yano I. Bactericidal effect of chlorine on strains of *Legionella* species. *Kansenshogaku Zasshi.* 1995;69(2):151-7.
188. Muraca P, Stout JE, Yu VL. Comparative assessment of chlorine, heat, ozone, and UV light for killing *Legionella pneumophila* within a model plumbing system. *Appl Environ Microbiol.* 1987;53(2):447-53.
189. Skaliy P, Thompson TA, Gorman GW, Morris GK, McEachern HV, Mackel DC. Laboratory studies of disinfectants against *Legionella pneumophila*. *Appl Environ Microbiol.* 1980;40(4):697-700.
190. Barbeau J, Gauthier C, Payment P. Biofilms, infectious agents, and dental unit waterlines: a review. *Can J Microbiol.* 1998;44(11):1019-28.
191. Donlan RM. Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerg Infect Dis.* 2002;8(9):881-90.
192. Watnick P, Kolter R. Biofilm, city of microbes. *J Bacteriol.* 2000;182(10):2675-9.
193. Rogers J, Keevil CW. Immunogold and fluorescein immunolabelling of *Legionella pneumophila* within an aquatic biofilm visualized by using episcopic differential interference contrast microscopy. *Appl Environ Microbiol.* 1992;58(7):2326-30.
194. Wimpenny J, Manz W, Szewzyk U. Heterogeneity in biofilms. *FEMS Microbiol Rev.* 2000;24(5):661-71.
195. Allison DG. The biofilm matrix. *Biofouling.* 2003;19(2):139-50.
196. Barker J, Brown MR, Collier PJ, Farrell I, Gilbert P. Relationship between *Legionella pneumophila* and *Acanthamoeba polyphaga*: physiological status and susceptibility to chemical inactivation. *Appl Environ Microbiol.* 1992;58(8):2420-5.
197. Cargill KL, Pyle BH, Sauer RL, McFeters GA. Effects of culture conditions and biofilm formation on the iodine susceptibility of *Legionella pneumophila*. *Can J Microbiol.* 1992;38(5):423-9.

198. Santegoeds CM, Schramm A, de Beer D. Microsensors as a tool to determine chemical microgradients and bacterial activity in wastewater biofilms and flocs. *Biodegradation*. 1998;9(3-4):159-67.
199. Declerck P. Biofilms: the environmental playground of *Legionella pneumophila*. *Environ Microbiol*. 2010;12(3):557-66.
200. Temmerman R, Vervaeren H, Noseda B, Boon N, Verstraete W. Necrotrophic growth of *Legionella pneumophila*. *Appl Environ Microbiol*. 2006;72(6):4323-8.
201. Van der Kooij D, Veenendaal HR, Scheffer WJH. Biofilm formation and multiplication of *Legionella* in a model warm water system with pipes of copper, stainless steel and cross-linked polyethylene. *Water Res*. 2005;39(13):2789-98.
202. Lau HY, Ashbolt NJ. The role of biofilms and protozoa in *Legionella* pathogenesis: implications for drinking water. *J Appl Microbiol*. 2009;107(2):368-78.
203. Murga R, Forster TS, Brown E, Pruckler JM, Fields BS, Donlan RM. Role of biofilms in the survival of *Legionella pneumophila* in a model potable-water system. *Microbiology*. 2001;147(Pt 11):3121-6.
204. Kuiper MW, Wullings BA, Akkermans ADL, Beumer RR, van der Kooij D. Intracellular proliferation of *Legionella pneumophila* in *Hartmannella vermiformis* in aquatic biofilms grown on plasticized polyvinyl chloride. *Appl Environ Microbiol*. 2004;70(11):6826-33.
205. Declerck P, Behets J, Margineanu A, van Hoef V, De Keersmaecker B, Ollevier F. Replication of *Legionella pneumophila* in biofilms of water distribution pipes. *Microbiological Research*. 2009;164(6):593-603.
206. Guerrieri E, Bondi M, Sabia C, de Niederhäusern S, Borella P, Messi P. Effect of bacterial interference on biofilm development by *Legionella pneumophila*. *Curr Microbiol*. 2008;57(6):532-6.
207. Toze S, Sly L, MacRae I, Fuerst J. Inhibition of growth of *Legionella* species by heterotrophic plate count bacteria isolated from chlorinated drinking water. *Current Microbiology*. 1990;21(2):139-43.
208. Ribas F, Perramon J, Terradillos A, Frias J, Lucena F. The *Pseudomonas* group as an indicator of potential regrowth in water distribution systems. *J Appl Microbiol*. 2000;88(4):704-10.
209. Leoni E, Legnani PP, Bucci Sabattini MA, Righi F. Prevalence of *Legionella* spp. in swimming pool environment. *Water Res*. 2001;35(15):3749-53.
210. Declerck P, Behets J, Delaedt Y, Margineanu A, Lammertyn E, Ollevier F. Impact of non-*Legionella* bacteria on the uptake and intracellular replication of *Legionella pneumophila* in *Acanthamoeba castellanii* and *Naegleria lovaniensis*. *Microb Ecol*. 2005;50(4):536-49.
211. Walker JT, Roberts AD, Lucas VJ, Roper MA, Brown RG. Quantitative assessment of biocide control of biofilms including *Legionella pneumophila* using total viable counts, fluorescence microscopy, and image analysis. *Methods Enzymol*. 1999;310:629-37.
212. Walker JT, Sonesson A, Keevil CW, White DC. Detection of *Legionella pneumophila* in biofilms containing a complex microbial consortium by gas chromatography-mass spectrometry analysis of genus-specific hydroxy fatty acids. *FEMS Microbiol Lett*. 1993;113(2):139-44.
213. Keevil CW. Rapid detection of biofilms and adherent pathogens using scanning confocal laser microscopy and episcopic differential interference contrast microscopy. *Water Sci Technol*. 2003;47(5):105-16.
214. Berk SG, Ting RS, Turner GW, Ashburn RJ. Production of respirable vesicles containing live *Legionella pneumophila* cells by two *Acanthamoeba* spp. *Appl Environ Microbiol*. 1998;64(1):279-86.
215. Storey MV, Ashbolt J, Stenström TA. Biofilms, thermophilic amoebae and *Legionella pneumophila* - a quantitative risk assessment for distributed water. *Water Science Technology*. 2004;50(10):77-82.

216. Ridgway HF, Olson BH. Chlorine resistance patterns of bacteria from two drinking water distribution systems. *Appl Environ Microbiol.* 1982;44(4):972-87.
217. Kuchta JM, States SJ, McGlaughlin JE, Overmeyer JH, Wadowsky RM, McNamara AM, et al. Enhanced chlorine resistance of tap water-adapted *Legionella pneumophila* as compared with agar medium-passaged strains. *Appl Environ Microbiol.* 1985;50(1):21-6.
218. King CH, Shotts EB, Jr., Wooley RE, Porter KG. Survival of coliforms and bacterial pathogens within protozoa during chlorination. *Appl Environ Microbiol.* 1988;54(12):3023-33.
219. LeChevallier MW, Cawthon CD, Lee RG. Inactivation of biofilm bacteria. *Appl Environ Microbiol.* 1988;54(10):2492-9.
220. Bentham RH, Broadbent CR. A model for autumn outbreaks of Legionnaires' disease associated with cooling towers, linked to system operation and size. *Epidemiol Infect.* 1993;111(02):287-95.
221. Vickers RM, Yu VL, Hanna S, Muraca P, Diven W, Carmen N, et al. Determinants of *Legionella pneumophila* contamination of water distribution systems: 15-hospital prospective study. *Infect Control.* 1987;8(9):357-63.
222. Barbaree JM, Fields BS, Feeley JC, Gorman GW, Martin WT. Isolation of protozoa from water associated with a legionellosis outbreak and demonstration of intracellular multiplication of *Legionella pneumophila*. *Appl Environ Microbiol.* 1986;51(2):422-4.
223. Anand CM, Skinner AR, Malic A, Kurtz JB. Interaction of *L. pneumophila* and a free living amoeba (*Acanthamoeba palestinensis*). *J Hygiene.* 1983;91:167-78.
224. Brooks T, Osicki R, Springthorpe V, Sattar S, Filion L, Abrial D, et al. Detection and identification of *Legionella* species from groundwaters. *J Toxicol Environ Health.* 2004;67(20-22):1845-59.
225. Obst U, Schwartz T. Microbial Characteristics of Water Distribution: Compiled Investigations in a German Drinking Water Distribution System. *Practice Periodical of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste Management.* 2007;11(2):78-82.
226. Lück PC, Leupold I, Hlawitschka M, Helbig JH, Carmienke I, Jatzwauk L, et al. Prevalence of *Legionella* species, serogroups, and monoclonal subgroups in hot water systems in south-eastern Germany. *Zentralbl Hyg Umweltmed.* 1993;193(5):450-60.
227. Lye D, Fout GS, Crout SR, Danielson R, Thio CL, Paszko-Kolva CM. Survey of ground, surface, and potable waters for the presence of *Legionella* species by EnviroAmpR PCR *Legionella* Kit, culture, and immunofluorescent staining. *Water Research.* 1997;31(2):287-93.
228. Emtiazi F, Schwartz T, Marten SM, Krolla-Sidenstein P, Obst U. Investigation of natural biofilms formed during the production of drinking water from surface water embankment filtration. *Water Res.* 2004;38(5):1197-206.
229. Albrechtsen HJ. Microbiological investigations of rainwater and graywater collected for toilet flushing. *Water Science Technology.* 2002;46(6-7):311-6.
230. Gordon AS, Howell LD, Harwood V. Responses of diverse heterotrophic bacteria to elevated copper concentrations. *Can J Microbiol.* 1994;40(5):408-11.
231. Chaudhuri IS. Biofilm formation potential of PEX, available online: [http://www.documents.dgs.ca.gov/bsc/prpsd\\_chngs/documents/2007/pex/PEX\\_309\\_Chaudhuri\\_Ishrat\\_2008.doc](http://www.documents.dgs.ca.gov/bsc/prpsd_chngs/documents/2007/pex/PEX_309_Chaudhuri_Ishrat_2008.doc). ENSR Memorandum. 2008.
232. Zhang Z, Stout JE, Yu VL, Vidic R. Effect of pipe corrosion scales on chlorine dioxide consumption in drinking water distribution systems. *Water Res.* 2008;42(1-2):129-36.
233. States SJ, Conley LF, Ceraso M, Stephenson TE, Wolford RS, Wadowsky RM, et al. Effects of metals on *Legionella pneumophila* growth in drinking water plumbing systems. *Appl Environ Microbiol.* 1985;50(5):1149-54.

234. James BW, Mauchline WS, Fitzgeorge RB, Dennis PJ, Keevil CW. Influence of iron-limited continuous culture on physiology and virulence of *Legionella pneumophila*. *Infect Immun*. 1995;63(11):4224-30.
235. Bonetta S, Ferretti E, Balocco F, Carraro E. Evaluation of *Legionella pneumophila* contamination in Italian hotel water systems by quantitative real-time PCR and culture methods. *J Appl Microbiol*. 2010;108(5):1576-83.
236. Lasheras A, Boulestreau H, Rogues A-M, Ohayon-Courtes C, Labadie J-C, Gachie J-P. Influence of amoebae and physical and chemical characteristics of water on presence and proliferation of *Legionella* species in hospital water systems. *Am J Infect Control*. 2006;34(8):520-5.
237. World Health Organization. *Legionella* and the prevention of legionellosis. Bartram J, Chartier Y, Lee JV, Pond K, Surman-Lee S, editors. Geneva, Switzerland: World Health Organization Press; 2007.
238. Heterotrophic Plate Counts and Drinking-water Safety. In: The Significance of HPCs for Water Quality and Human Health. Bartram J, Cotruvo J, Exner M, Fricker C, Glasmacher A, editors. London, United Kingdom: World Health Organization, Geneva, IWA Publishing; 2003.
239. Edagawa A, Kimura A, Doi H, Tanaka H, Tomioka K, Sakabe K, et al. Detection of culturable and nonculturable *Legionella* species from hot water systems of public buildings in Japan. *J Appl Microbiol*. 2008;105(6):2104-14.
240. Moritz MM, Flemming H-C, Wingender J. Integration of *Pseudomonas aeruginosa* and *Legionella pneumophila* in drinking water biofilms grown on domestic plumbing materials. *Int J Hyg Environ Health*. 2010;213(3):190-7.
241. Bagh LK, Albrechtsen H-J, Arvin E, Ovesen K. Distribution of bacteria in a domestic hot water system in a Danish apartment building. *Water Res*. 2004;38(1):225-35.
242. Borella P, Guerrieri E, Marchesi I, Bondi M, Messi P. Water ecology of *Legionella* and protozoan: environmental and public health perspectives. *Biotechnol Annu Rev*. 2005;11:355-80.
243. Leoni E, De Luca G, Legnani PP, Sacchetti R, S. S, Zanetti F. *Legionella* waterline colonization: detection of *Legionella* species in domestic, hotel and hospital hot water systems. *J Appl Microbiol*. 2005;98:373-9.
244. Marrie T, Green P, Burbridge S, Bezanson G, Neale S, Hoffman PS, et al. *Legionellaceae* in the potable water of Nova Scotia hospitals and Halifax residences. *Epidemiol Infect*. 1994;112(1):143-50.
245. Marrie TJ, Haldane D, Bezanson G, Peppard R. Each water outlet is a unique ecological niche for *Legionella pneumophila*. *Epidemiol Infect*. 1992;108(2):261-70.
246. Martinelli F, Caruso A, Moschini L, Turano A, Scarcella C, Speziani F. A comparison of *Legionella pneumophila* occurrence in hot water tanks and instantaneous devices in domestic, nosocomial, and community environments. *Curr Microbiol*. 2000;41(5):374-6.
247. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15(2):167-93.
248. Best M, Goetz A, Yu VL. Heat eradication measures for control of nosocomial Legionnaires' disease. Implementation, education, and cost analysis. *Am J Infect Control*. 1984;12(1):26-30.
249. Marchesi I, Cencetti S, Marchegiano P, Frezza G, Borella P, Bargellini A. Control of *Legionella* contamination in a hospital water distribution system by monochloramine. *Am J Infect C*. 2011.
250. Chen Y-s, Liu Y-c, Lee SS-j, Tsai H-c, Wann S-r, Kao C-h, et al. Abbreviated duration of superheat-and-flush and disinfection of taps for *Legionella* disinfection: Lessons learned from failure. *Am J Infect Control*. 2005;33(10):606-10.
251. Stout JE, Best MG, Yu VL. Susceptibility of members of the family *Legionellaceae* to thermal stress: implications for heat eradication methods in water distribution systems. *Appl Environ Microbiol*. 1986;52(2):396-9.

252. Marchesi I, Marchegiano P, Bargellini A, Cencetti S, Frezza G, Miselli M, et al. Effectiveness of different methods to control *Legionella* in the water supply: ten-year experience in an Italian university hospital. *J Hosp Infect.* 2011;77(1):47-51.
253. Liu Z, Stout JE, Tedesco L, Boldin M, Hwang C, Diven WF, et al. Controlled evaluation of copper-silver ionization in eradicating *Legionella pneumophila* from a hospital water distribution system. *J Infect Dis.* 1994;169(4).
254. Lin YE, Stout JE, Yu VL, Vidic RD. Disinfection of water distribution systems for *Legionella*. *Seminar in Respiratory Infections.* 1998;13(2):147-59.
255. Lin YE, Vidic RD, Stout JE, Yu VL. *Legionella* in water distribution systems. *Journal of the American Water Works Association.* 1998;1998(90):112-21.
256. Bonadonna L, Briancesco R, Della Libera S, Lacchetti I, Paradiso R, Semproni M. Microbial characterization of water and biofilms in drinking water distribution systems at sport facilities. *Cent Eur J Public Health.* 2009;17(2):99-102.
257. 201/2001. (X. 25.) Korm. rendelet az ivóvíz minőségi követelményeiről és az ellenőrzés rendjéről. Országgyűlés, Budapest, Magyarország.
258. Muraca PW, Yu VL, Goetz A. Disinfection of water distribution systems for *Legionella*: a review of application procedures and methodologies. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1990;11(2):79-88.
259. Walker JT, Mackerness CW, Mallon D, Makin T, Williets T, Keevil CW. Control of *Legionella pneumophila* in a hospital water system by chlorine dioxide. *J Ind Microbiol.* 1995;15(4):384-90.
260. Zhang Z, McCann C, Hanrahan J, Jencson A, Joyce D, Fyffe S, et al. *Legionella* Control by Chlorine Dioxide in Hospital Water Systems. *Journal AWWA.* 2009;101(5).
261. Pintar KDM, Slawson RM. Effect of temperature and disinfection strategies on ammonia-oxidizing bacteria in a bench-scale drinking water distribution system. *Water Res.* 2003;37(8):1805-17.
262. Kim BR, Anderson JE, Mueller SA, Gaines WA, Kendall AM. Literature review - efficacy of various disinfectants against *Legionella* in water systems. *Water Res.* 2002;36(18):4433-44.
263. Dennis PJ, Wright AE, Rutter DA, Death JE, Jones BP. *Legionella pneumophila* in aerosols from shower baths. *J Hyg (Lond).* 1984;93(2):349-53.
264. Schoen ME, Ashbolt NJ. An in-premise model for *Legionella* exposure during showering events. *Water Res.* 2011;45(18):5826-36.
265. De Schrijver K, Dirven K, Van Bouwel K, Mortelmans L, Van Rossom P, De Beukelaar T, et al. An outbreak of Legionnaire's disease among visitors to a fair in Belgium in 1999. *Public Health.* 2003;117(2):117-24.
266. McEvoy M, Batchelor N, Hamilton G, MacDonald A, Faiers M, Sills A, et al. A cluster of cases of legionnaires' disease associated with exposure to a spa pool on display. *Commun Dis Public Health.* 2000;3(1):43-5.
267. Brousseau N, Levesque B, Guillemet TA, Cantin P, Gauvin D, Giroux JP, et al. Contamination of public whirlpool spas: factors associated with the presence of *Legionella* spp., *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*. *Int J Environ Health Res.* 2013;23(1):1-15.
268. Ruscoe Q, Hill S, Blackmore T, McLean M. An outbreak of *Legionella pneumophila* suspected to be associated with spa pools on display at a retail store in New Zealand. *N Z Med J.* 2006;119(1243):U2253.
269. Coetsee N, Duggal H, Hawker J, Ibbotson S, Harrison TG, Phin N, et al. An outbreak of Legionnaires' disease associated with a display spa pool in retail premises, Stoke-on-Trent, United Kingdom, July 2012. *Euro Surveill.* 2012;17(37):pii=20271.
270. Vanaclocha H, Guiral S, Morera V, Calatayud MA, Castellanos M, Moya V, et al. Preliminary report: outbreak of Legionnaires disease in a hotel in Calp, Spain, update on 22 February 2012. *Euro Surveill.* 2012;17(8):pii=20093.



271. Huhn GD, Adam B, Ruden R, Hilliard L, Kirkpatrick P, Todd J, et al. Outbreak of travel-related pontiac fever among hotel guests illustrating the need for better diagnostic tests. *J Travel Med.* 2005;12(4):173-9.
272. Fields BS, Haupt T, Davis JP, Arduino MJ, Miller PH, Butler JC. Pontiac fever due to *Legionella micdadei* from a whirlpool spa: possible role of bacterial endotoxin. *J Infect Dis.* 2001;184(10):1289-92.
273. Gotz HM, Tegnell A, De Jong B, Broholm KA, Kuusi M, Kallings I, et al. A whirlpool associated outbreak of Pontiac fever at a hotel in Northern Sweden. *Epidemiol Infect.* 2001;126(2):241-7.
274. Burnsed LJ, Hicks LA, Smithee LM, Fields BS, Bradley KK, Pascoe N, et al. A large, travel-associated outbreak of legionellosis among hotel guests: utility of the urine antigen assay in confirming Pontiac fever. *Clin Infect Dis.* 2007;44(2):222-8.
275. Sanitation on ships. Compendium of outbreaks of foodborne and waterborne diseases and Legionnaires' disease associated with ships 1970-2000. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2001.
276. Beyrer K, Lai S, Dreesman J, Lee JV, Joseph C, Harrison T, et al. Legionnaires' disease outbreak associated with a cruise liner, August 2003: epidemiological and microbiological findings. *Epidemiol Infect.* 2007;135(5):802-10.
277. Euser SM, Pelgrim M, den Boer JW. Legionnaires' disease and Pontiac fever after using a private outdoor whirlpool spa. *Scand J Infect Dis.* 2010;42(11-12):910-6.
278. Nakadate T, Yamauchi K, Inoue H. An outbreak of Legionnaire's disease associated with a Japanese spa. *Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi.* 1999;37(8):601-7.
279. Fallon RJ, Rowbotham TJ. Microbiological investigations into an outbreak of Pontiac fever due to *Legionella micdadei* associated with use of a whirlpool. *J Clin Pathol.* 1990;43(6):479-83.
280. Modi A, Gardner J, Lighton L, Coetzee N. Pontiac fever outbreak associated with a spa-pool, United Kingdom, April 2008. *Euro Surveill.* 2008;13(30).
281. Foster K, Gorton R, Waller J. Outbreak of legionellosis associated with a spa pool, United Kingdom. *Euro Surveill.* 2006;11(38):pii=3053.
282. Nagai T, Sobajima H, Iwasa M, Tsuzuki T, Kura F, Amemura-Maekawa J, et al. Neonatal sudden death due to *Legionella pneumonia* associated with water birth in a domestic spa bath. *J Clin Microbiol.* 2003;41(5):2227-9.
283. Franzin L, Scolfaro C, Cabodi D, Valera M, Tovo PA. *Legionella pneumophila pneumonia* in a newborn after water birth: a new mode of transmission. *Clin Infect Dis.* 2001;33(9):e103-e4.
284. Kuroki T, Ishihara T, Ito K, Kura F. Bathwater-associated cases of legionellosis in Japan, with a special focus on *Legionella* concentrations in water. *Jpn J Infect Dis.* 2009;62(3):201-5.
285. Armstrong TW, Haas CN. Quantitative microbial risk assessment model for Legionnaires' disease: assessment of human exposures for selected spa outbreaks. *J Occup Environ Hyg.* 2007;4(8):634-46.
286. World Health Organization. Guidelines for safe recreational water environments; volume 2: Swimming pools and similar environments. Geneva, Switzerland: WHO; 2006.
287. Nakamura H, Yagyu H, Kishi K, Tsuchida F, Oh-Ishi S, Yamaguchi K, et al. A large outbreak of Legionnaires' disease due to an inadequate circulating and filtration system for bath water - epidemiologic manifestations. *Intern Med.* 2003;42(9):806-11.
288. Okada M, Kawano K, Kura F, Amemura-Maekawa J, Watanabe H, Yagita K, et al. The largest outbreak of legionellosis in Japan associated with spa baths: epidemic curve and environmental investigation. *Kansenshogaku Zasshi.* 2005;79(6):365-74.
289. Martinelli F, Carasi S, Scarcella C, Speziani F. Detection of *Legionella pneumophila* at thermal spas. *The New Microbiologica.* 2001;24(3):259-64.
290. Barna Z, Kadar M. The risk of contracting infectious diseases in public swimming pools. A review. *Ann Ist Super Sanita.* 2012;48(4):374-86.

291. Hambleton P, Broster M, Dennis P, Henstridge R, Fitzgeorge R, Conlan J. Survival of virulent *Legionella pneumophila* in aerosols. J Hygiene. 1983;90:451-60.
292. Berendt RF. Survival of *Legionella pneumophila* in aerosols: effect of relative humidity. J Infect Dis. 1980;141(5):689.
293. Ministère de la Sante et des Solidarités. L'eau dans les Établissements de Santé - guide technique, France ([http://www.sante.gouv.fr/htm/dossiers/eau\\_etabs/accueil.htm](http://www.sante.gouv.fr/htm/dossiers/eau_etabs/accueil.htm)). 2005.
294. TrinkwV. Verordnung über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch - Trinkwasserverordnung in der Fassung der Bekanntmachung vom 28. November 2011 (BGBl. I S. 2370), die durch Artikel 4 Absatz 22 des Gesetzes vom 7. August 2013 (BGBl. I S. 3154) geändert worden ist. 2001.
295. VROM. The Netherlands Ministry of Housing. Modelbeheersplan Legionellapreentie in Lidingwater Distribution No. 16827. 2002.
296. Legionnaires' Disease - A Guide for Employers. (<http://www.hse.gov.uk/pubns/iacl27.pdf>). London. United Kingdom: Health and Safety Executive 2004.
297. North Carolina Department of Labor (<http://www.dol.state.nc.us/osha/osh.htm>): Occupational Safety and Health Division; 2005.
298. 1993. évi XCIII. törvény a munkavédelemről. Budapest, Országgyűlés, 1993. XI. 3.
299. MSZ 24203-1:2012. Oktatási intézmények tervezési előírásai. 1. rész: Óvodák. Magyar Szabványügyi Testület. Budapest, Magyarország.
300. 19/2002. (V. 8.) OM rendelet a közoktatási intézmények elhelyezésének és kialakításának építészeti-műszaki követelményeiről, Oktatási Minisztérium, Budapest, Magyarország.
301. 20/2012. (VIII. 31.) EMMI rendelet a nevelési-oktatási intézmények működéséről és a köznevelési intézmények névhasználatáról. Emberi Erőforrások Minisztériuma. Budapest, Magyarország.
302. Az Európai Parlament és a Tanács 2000/54/EK irányelve. (2000. szeptember 18.) a munkájuk során biológiai anyagokkal kapcsolatos kockázatoknak kitett munkavállalók védelméről. Strasbourg, Franciaország.
303. 37/1996. (X. 18.) NM rendelet a közfürdők létesítésének és üzemeltetésének közegészségügyi feltételeiről. Népjóléti Minisztérium, Budapest, Magyarország.
304. Az emberi erőforrások minisztere 49/2015. (XI. 6.) EMMI rendelete a *Legionella* által okozott fertőzési kockázatot jelentő közegekre, illetve létesítményekre vonatkozó közegészségügyi előírásokról. Emberi Erőforrások Minisztériuma, Budapest, Magyarország.
305. International Organization for Standardization. ISO/TS 12869:2012. Water quality - Detection and quantification of *Legionella* spp. and/or *Legionella pneumophila* by concentration and genic amplification by quantitative polymerase chain reaction (qPCR). Geneva, Switzerland: 2012.
306. Schoonmaker D, Heimberger T, Birkhead G. Comparison of ribotyping and restriction enzyme analysis using pulsed-field gel electrophoresis for distinguishing *Legionella pneumophila* isolates obtained during a nosocomial outbreak. J Clin Microbiol. 1992;30(6):1491-8.
307. Valsangiacomo C, Baggi F, Gaia V, Balmelli T, Peduzzi R, Piffaretti JC. Use of amplified fragment length polymorphism in molecular typing of *Legionella pneumophila* and application to epidemiological studies. J Clin Microbiol. 1995;33(7):1716-9.
308. Fry NK, Bangsborg JM, Bernander S, Etienne J, Forsblom B, Gaia V, et al. Assessment of intercentre reproducibility and epidemiological concordance of *Legionella pneumophila* serogroup 1 genotyping by amplified fragment length polymorphism analysis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2000;19(10):773-80.
309. Van Belkum A, Maas H, Verbrugh H, Van Leeuwen N. Serotyping, ribotyping, PCR-mediated ribosomal 16S-23S spacer analysis and arbitrarily primed PCR for epidemiological studies on *Legionella pneumophila*. Res Microbiol. 1996;147(5):405-13.

310. Lu JJ, Perng CL, Lee SY, Wan CC. Use of PCR with universal primers and restriction endonuclease digestions for detection and identification of common bacterial pathogens in cerebrospinal fluid. *J Clin Microbiol.* 2000;38(6):2076-80.
311. Gaia V, Fry NK, Afshar B, Lück PC, Meugnier H, Etienne J, et al. Consensus Sequence-Based Scheme for Epidemiological Typing of Clinical and Environmental Isolates of *Legionella pneumophila*. *J Clin Microbiol.* 2005;43(5):2047-52.
312. Gaia V, Casati S, Tonolla M. Rapid identification of *Legionella* spp. by MALDI-TOF MS based protein mass fingerprinting. *Systematic and Applied Microbiology.* 2011;34(1):40-4.
313. Körtvélyessyné Győri I. A MALDI-TOF tömegspektrometria alkalmazása *Legionella* baktériumok tipizálásában. Diplomadolgozat, Eötvös Loránd Tudományegyetem, Budapest, Magyarország. 2010.
314. Nyerges Ákos. Legionellák Székesfehérvár középiskoláinak melegvíz-hálózataiban. Tudományos Diákkörök VIII Országos Konferenciája (TUDOK), Gödöllő, Magyarország. 2008.
315. MSZ EN ISO 19458:2007. Vízhőminőség. Mintavétel mikrobiológiai vizsgálatokhoz (ISO 19458:2006). Magyar Szabványügyi Testület. Budapest, Magyarország.
316. MSZ EN ISO 11731-2:2008. Vízhőminőség. *Legionella* kimutatása és megszámlálása. 2. rész. Közvetlen membránszűrési módszer kis baktériumszámú vizek esetén (ISO 11731-2:2004). Magyar Szabványügyi Testület. Budapest, Magyarország.
317. International Organization for Standardization (ISO). ISO 11731:1998. Water quality - Detection and enumeration of *Legionella*. Geneva, Switzerland: ISO; 1998.
318. MSZ EN ISO 16266:2008. Vízhőminőség. *Pseudomonas aeruginosa* kimutatása és megszámlálása. Membránszűrési módszer (ISO 16266:2006). Magyar Szabványügyi Testület. Budapest, Magyarország.
319. MSZ EN ISO 6222:2000. Vízhőminőség. Tenyészthető mikroorganizmusok számának meghatározása. Telepszám-meghatározás agar táptalaj beoltásával (ISO 6222:1999). Magyar Szabványügyi Testület. Budapest, Magyarország.
320. Cloud JL, Carroll KC, Pixton P, Erali M, Hillyard DR. Detection of *Legionella* species in respiratory specimens using PCR with sequencing confirmation. *J Clin Microbiol.* 2000;38(5):1709-12.
321. MSZ 15234:2012. Fürdőmedencék vízkezelése vízforgatással. Budapest: Magyar Szabványügyi Testület.
322. Johansson PJ, Andersson K, Wiebe T, Schalen C, Bernander S. Nosocomial transmission of *Legionella pneumophila* to a child from a hospital's cold-water supply. *Scand J Infect Dis.* 2006;38(11-12):1023-7.
323. Graman PS, Quinlan GA, Rank JA. Nosocomial legionellosis traced to a contaminated ice machine. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1997;18(9):637-40.
324. Arvand M, Jungkind K, Hack A. Contamination of the cold water distribution system of health care facilities by *Legionella pneumophila*: Do we know the true dimension? *Euro Surveill.* 2011;16(16).
325. Stout JE, Muder RR, Mietzner S, Wagener MM, Perri MB, DeRoos K, et al. Role of environmental surveillance in determining the risk of hospital-acquired legionellosis: A national surveillance study with clinical correlations. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2007;28(7):818-24.
326. Sabria M, Modol JM, Garcia-Nunez M, Reynaga E, Pedro-Botet ML, Sopena N, et al. Environmental cultures and hospital-acquired Legionnaires' disease: a 5-year prospective study in 20 hospitals in Catalonia, Spain. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2004;25(12):1072-6.
327. Liu WK, Healing DE, Yeomans JT, Elliott TS. Monitoring of hospital water supplies for *Legionella*. *J Hosp Infect.* 1993;24(1):1-9.

328. Patterson WJ, Hay J, Seal DV, McLuckie JC. Colonization of transplant unit water supplies with *Legionella* and protozoa: precautions required to reduce the risk of legionellosis. *J Hosp Infect.* 1997;37(1):7-17.
329. Yu P-Y, Lin YE, Lin W-R, Shih H-Y, Chuang Y-C, Ben R-J, et al. The high prevalence of *Legionella pneumophila* contamination in hospital potable water systems in Taiwan: implications for hospital infection control in Asia. *Int J Infect Dis.* 2008;12(4):416-20.
330. Alary M, Joly JR. Factors contributing to the contamination of hospital water distribution systems by legionellae. *J Infect Dis.* 1992;165(3):565-9.
331. Kool JL, Bergmire-Sweat D, Butler JC, Brown EW, Peabody DJ, Massi DS, et al. Hospital characteristic associated with colonization of water system by *Legionella* and risk of nosocomial Legionnaires' disease: a cohort study of 15 hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1999;20:798-805.
332. Borella P, Montagna MT, Romano-Spica V, Stampi S, Stancanelli G, Triassi M, et al. Environmental diffusion of *Legionella* spp and legionellosis frequency among patients with pneumonia: preliminary results of a multicentric Italian survey. *Ann Ig.* 2003;15(5):493-503.
333. Bates MN, Maas E, Martin T, Harte D, Grubner M, Margolin T. Investigation of the prevalence of *Legionella* species in domestic hot water systems. *N Z Med J.* 2000;113(1111):218-20.
334. Bornstein N, Vieilly C, Nowicki M, Paucod JC, Fleurette J. Epidemiological evidence of legionellosis transmission through domestic hot water supply systems and possibilities of control. *Isr J Med Sci.* 1986;22(9):655-61.
335. Lim WS, Slack R, Goodwin A, Robinson J, Lee JV, Joseph C, et al. Community-acquired Legionnaires' disease in Nottingham - too many cases? *Epidemiol Infect.* 2003;131(3):1097-103.
336. Roig J, Sabria M, Pedro-Botet ML. *Legionella* spp.: community acquired and nosocomial infections. *Curr Opin Infect Dis.* 2003;16(2):145-51.
337. Verhoef LP, Yzerman EP, Bruin JP, Den Boer JW. Domestic exposure to legionellae for Dutch Legionnaires' disease patients. *Arch Environ Health.* 2004;59(11):597-603.
338. Pedro-Botet ML, Stout JE, Yu VL. Legionnaires' disease contracted from patient homes: the coming of the third plague? *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2002;21(10):699-705.
339. Doleans A, Aurell H, Reyrolle M, Lina G, Freney J, Vandenesch F, et al. Clinical and environmental distributions of *Legionella* strains in France are different. *J Clin Microbiol.* 2004;42(1):458-60.
340. Franzin L, Stella M, Zaccaria T, Cabodi D, Castellani Pastoris M. One-year surveillance of legionellosis in burned patients and *Legionella* environmental monitoring. *Burns.* 2005;31(1):50-4.
341. Helbig JH, Bernander SB, Castellani Pastoris MCP, Etienne JE, Gaia VG, Lauwers SL, et al. Pan-European Study on Culture-Proven Legionnaires' Disease: Distribution of *Legionella pneumophila*; Serogroups and Monoclonal Subgroups. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2002;21(10):710-6.
342. Helbig JH, Benson RF, Pelaz C, Jacobs E, Lück PC. Identification and serotyping of atypical *Legionella pneumophila* strains isolated from human and environmental sources. *J Appl Microbiol.* 2007;102(1):100-5.
343. Amemura-Maekawa J, Kura F, Helbig JH, Chang B, Kaneko A, Watanabe Y, et al. Characterization of *L. pneumophila* isolates from patients in Japan according to serogroups, monoclonal antibody subgroups and sequence types. *J Med Microbiol.* 2010;59(Pt 6):653-9.
344. Lück PC, Helbig JH, Ehret W, Marre R, Witzleb W. Subtyping of *Legionella pneumophila* serogroup 1 strains isolated in Germany using monoclonal antibodies. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg.* 1992;277(2):179-87.

345. Stout JE, Joly J, Para M, Plouffe J, Ciesielski C, Blaser MJ, et al. Comparison of molecular methods for subtyping patients and epidemiologically linked environmental isolates of *Legionella pneumophila*. J Infect Dis. 1988;157(3):486-95.
346. Fry NK, Alexiou-Daniel S, Bangsberg JM, Bernander S, Castellani Pastoris M, Etienne J, et al. A multicenter evaluation of genotypic methods for the epidemiologic typing of *Legionella pneumophila* serogroup 1: results of a pan-European study. Clin Microbiol Inf. 1999;5(8):462-77.
347. Buchbinder S, Trebesius K, Heesemann J. Evaluation of detection of *Legionella* spp. in water samples by fluorescence in situ hybridization, PCR amplification and bacterial culture. Int J Med Microbiol. 2002;292(3-4):241-5.
348. Dusserre E, Ginevra C, Hallier-Soulier S, Vandenesch F, Festoc G, Etienne J, et al. A PCR-Based Method for Monitoring *Legionella pneumophila* in Water Samples Detects Viable but Noncultivable Legionellae That Can Recover Their Cultivability. Appl Environ Microbiol. 2008;74(15):4817-24.
349. Health Protection Agency - [http://www.hpa.org.uk/web/HPAweb&HPAwebStandard/HPAweb\\_C/1195733805138](http://www.hpa.org.uk/web/HPAweb&HPAwebStandard/HPAweb_C/1195733805138).
350. Haroon A, Koide M, Higa F, Hibiya K, Tateyama M, Fujita J. Repetitive element-polymerase chain reaction for genotyping of clinical and environmental isolates of *Legionella* spp. Diagn Microbiol Infect Dis. 2010;68(1):7-12.
351. Gaia V, Benagli C, Casati S, Tonolla M. Evaluation of Whole Cell MALDI-TOF Mass Spectrometry (WCMS) fingerprinting for rapid subtyping of *L. pneumophila* strains. 26<sup>th</sup> Meeting of the European Working Group for *Legionella* Infections (EWGLI), Vienna, Austria. 2011.
352. Huang S-W, Hsu B-M, Wu S-F, Fan C-W, Shih F-C, Lin Y-C, et al. Water quality parameters associated with prevalence of *Legionella* in hot spring facility water bodies. Water Res. 2010;44(16):4805-11.
353. Papadopoulou C, Economou V, Sakkas H, Gousia P, Giannakopoulos X, Dontorou C, et al. Microbiological quality of indoor and outdoor swimming pools in Greece: Investigation of the antibiotic resistance of the bacterial isolates. Int J Hyg Environ Health. 2008;211(3-4):385-97.
354. Kuroki T, Sata S, Yamai S, Yagita K, Katsube Y, Endo T. Occurrence of free-living amoebae and *Legionella* in whirlpool bathes. Kansenshogaku Zasshi. 1998;72(10):1056-63.
355. 18/1998. (VI. 3.) NM rendelet a fertőző betegségek és a járványok megelőzése érdekében szükséges járványügyi intézkedésekről. Népjóléti Minisztérium, Budapest, Magyarország.
356. 37/1996. (X. 18.) NM rendelet a közfürdők létesítésének és üzemeltetésének közegészségügyi feltételeiről. Népjóléti Minisztérium, Budapest, Magyarország.
357. Kórházi Ellátás, Működő Kórházi Ágyak Száma (2000-2011), Forrás: Egészségügyi, Szociális és Családügyi Minisztérium; Központi Statisztikai Hivatal. [http://www.ksh.hu/docs/hun/xstadat/xstadat\\_eves/i\\_fek006.html](http://www.ksh.hu/docs/hun/xstadat/xstadat_eves/i_fek006.html). letöltve: 2013 július 14.
358. Volker S, Schreiber C, Kistemann T. Drinking water quality in household supply infrastructure - A survey of the current situation in Germany. Int J Hyg Environ Health. 2010;213(3):204-9.
359. Szewzyk R, Stenström T. Kartläggning av förekomsten av *Legionella* i svenska vattensystem. Stockholm: Statens råd för byggnadsforskning. 1993.
360. Loret JF. Free-living amoebae: Biological by-passes in water treatment. 2010(1618-131X).
361. Szánthó Z. Párhuzamosan kapcsolt használati melegvíz tárolók alkalmazása. Magyar Épületgépészet. 2012;LXI. évfolyam(2012/7-8. szám).
362. Rakic A, Peric J, Foglar L. Influence of temperature, chlorine residual and heavy metals on the presence of *Legionella pneumophila* in hot water distribution systems. Ann Agric Environ Med. 2012;19(3):431-6.
363. Ditommaso S, Giacomuzzi M, Gentile M, Moiraghi AR, Zotti CM. Effective environmental sampling strategies for monitoring *Legionella* spp contamination in hot water systems. Am J Infect Control. 2010;38(5):344-9.

## 11 Publikációs lista

### ***Témához közvetlenül kapcsolódó közlemények referált folyóiratban:***

Barna Z., Kadar M.: The risk of contracting infectious diseases in public swimming pools. A review. *Ann Ist Super Sanita*, 48(4) 374-386, 2012. (DOI: 10.4415/ANN\_12\_04\_05.), **IF: 0,343**

Barna Z., Antmann K., Pásztai J., Bánfi R., Kádár M., Szax A., Németh M., Szegő E., Vargha M.: Infection control by point-of-use water filtration in an intensive care unit – a Hungarian case study. *J Water Health*, 12(4):858-67, 2014. (DOI: 10.2166/wh.2014.052.), **IF: 1,458**

Barna Z., Kádár M., Kálmán E., Scheirich Szax A., Róka E., Vargha M.: *Legionella* prevalence and risk of legionellosis in Hungarian hospitals. *Acta Microbiol Immunol Hung*. 62 (4) pp. 477-499, 2015. (DOI: 10.1556/030.62.2015.4.11.), **IF: 0,778**

Barna Z., Kádár M., Kálmán E., Scheirich Szax A., Vargha M.: Prevalence of *Legionella* in premise plumbing in Hungary, *Water Res*, online elérhető 2015.12.10, (DOI: 10.1016/j.watres.2015.12.004), **IF: 5,528**

### ***Témához közvetetten kapcsolódó közlemények referált folyóiratban:***

Kiss C., Barna Z., Vargha M., Török J.K.: Incidence and molecular diversity of *Acanthamoeba* species isolated from public baths in Hungary. *Parasitol Res*, 113(7):2551-7, 2014. (doi: 10.1007/s00436-014-3905-x.), **IF: 2,098**

### ***Témához kapcsolódó közlemények egyéb folyóiratban:***

Barna Zs., Bánfi R., Horváth J. K., Kádár M., Szax A., Vargha M.: *Legionella* előfordulása különböző eredetű hálózati vízmintákban. *Egészségtudomány*, 2(LV.), 2011.

Szax A., Barna Zs., Bánfi R., Ferenczné Paluska I., Horváth J. K., Kádár M., Krisztián E., Pásztai J., Sári K., Vargha M.: Utazással összefüggő halmozott legionárius megbetegedések kivizsgálása (esettanulmány). *Egészségtudomány*, 2(LVI.), 2012.

### ***Témához közvetlenül vagy közvetetten kapcsolódó jelentősebb nemzetközi konferenciák:***

Vargha M., Barna Zs., Illés E., Varga D., Kádár M.: Tracing *Legionella* in a hospital's hot water system by rep-PCR and intact cell MALDI-TOF MS. *International Symposium on Microbial Ecology*, Bécs, Ausztria, 2006.08 – poszter

Barna Zs., Bognár Cs., Horváth J K., Kalácska J., Kádár M., Vargha M.: Prevalence of *Legionella* types in Hungarian water samples by different typing methods. *22nd Meeting of European Working Group for Legionella Infections*, Stockholm, Svédország, 2007.06 - poszter

Barna Zs., Kádár M., Vargha M.: Fingerprinting *Legionellae* – challenge and alternatives – 15th international congress of the Hungarian Society for Microbiology, Budapest, Magyarország 2007.07. – előadás

Barna Zs.; Bognár Cs.; Kádár M.; Kalácska J., Szax A.; Vargha M.: Current status of environmental *Legionella* prevalence in Hungary. *23th Meeting of European Working Group for Legionella Infections*, Madrid, Spanyolország, 2008.05 – poszter

Barna Zs., Antmann K., Pásztai J, Németh M., Bánfi R., Vargha M.: Tap water as a potential source of nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* infections in an intensive care unit. *19th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, Helsinki, Finnország, 2009.05 – poszter

Barna Zs., Bognár Cs., Horváth J. K., Kádár M., Szax A., Vargha M.: Prevalence of *Legionella* in water distribution systems, spas and cooling towers in Hungary. Second Central European Forum for Microbiology, Keszthely, 2009.10 – előadás

Barna Zs., Bognár Cs., Horváth J. K., Kádár M., Szax A., Vargha M.: Prevalence of *Legionella* in different aquatic environments in Hungary. „*Legionella* 2009”, Párizs, Franciaország, 2009.10 – poszter

Barna Zs., Bánfi R., Horváth J. K., Kádár M., Szax A., Vargha M.: Effect of external factors on *Legionella* prevalence in Hungarian water distribution systems; 25th Conference European Working Group for *Legionella* Infections, Koppenhága, Dánia, 2010.09. – poszter

Barna Zs., Szax A., Kádár M., Bánfi R., Vargha M.: Risk factors attributing to *Legionella* colonization and serotype distribution in potable water systems; 4th Congress of European Microbiologists (FEMS 2011), Genf, Svájc, 2011.06. – poszter

Barna Zs., Horváth J. K., Kádár M., Szax A., Vargha M.: Emerging pathogens in water supplies – *Legionella* colonization patterns in the light of external factors and management practices. 16th International Congress of the Hungarian Society for Microbiology, Budapest, Magyarország, 2011.07 – poszter

Szax A., Barna Zs., Bánfi R., Paluska I., Horváth J. K., Kádár M., Krisztián E., Pászti J., Sári K., Vargha M.: Investigation of a travel associated legionnaires' disease cluster. 16th International Congress of the Hungarian Society for Microbiology, Budapest, Magyarország, 2011.07 – poszter

## 12 Mellékletek

### 12.1 Táblázatok

<i>Legionella</i> fajok	Szere- típusok	Összefüggésbe hozható-e megbetegedéssel	<i>Legionella</i> fajok	Szere- típusok	Összefüggésbe hozható-e megbetegedéssel
<i>L. adelaidensis</i>		nem ismert	<i>L. londiniensis</i>	2	nem ismert
<i>L. anisa</i>		igen	<i>L. longbeachae</i>	2	igen
<i>L. beliardensis</i>		nem ismert	<i>L. lytica</i>		nem ismert
<i>L. birminghamensis</i>		igen	<i>L. maceachernii</i>		igen
<i>L. bozemanii</i>	2	igen	<i>L. massiliensis</i>		nem ismert
<i>L. brunensis</i>		nem ismert	<i>L. micdadei</i>		igen
<i>L. busanensis</i>		nem ismert	<i>L. moravica</i>		nem ismert
<i>L. cardiaca</i>		igen	<i>L. nagasakiensis</i>		igen
<i>L. cherrii</i>		nem ismert	<i>L. nautarum</i>		nem ismert
<i>L. cincinnatiensis</i>		igen	<i>L. norrlandica</i>		nem ismert
<i>L. drancourtii</i>		nem ismert	<i>L. oakridgensis</i>		igen
<i>L. dresdenensis</i>		nem ismert	<i>L. parisiensis</i>		igen
<i>L. drozanskii</i>		nem ismert	<i>L. pneumophila</i>	16	igen
<i>L. dumoffii</i>		igen	<i>L. quateirensis</i>		nem ismert
<i>L. erythra</i>	2	igen	<i>L. quinlivanii</i>	2	nem ismert
<i>L. fairfieldensis</i>		nem ismert	<i>L. rowbothamii</i>		nem ismert
<i>L. fallonii</i>		nem ismert	<i>L. rubrilucens</i>		nem ismert
<i>L. feeleii</i>	2	igen	<i>L. sainthelensi</i>	2	igen
<i>L. geestiana</i>		nem ismert	<i>L. santicrucis</i>		nem ismert
<i>L. genomospecies 1</i>		nem ismert	<i>L. shakespearei</i>		nem ismert
<i>L. gratiana</i>		nem ismert	<i>L. spiritensis</i>	2	nem ismert
<i>L. gormanii</i>		igen	<i>L. steelei</i>		igen
<i>L. gresilensis</i>		nem ismert	<i>L. steigerwaltii</i>		nem ismert
<i>L. hackeliae</i>	2	igen	<i>L. taurinensis</i>		nem ismert
<i>L. impletisoli</i>		nem ismert	<i>L. tucsonensis</i>		igen
<i>L. israelensis</i>		nem ismert	<i>L. tunisiensis</i>		nem ismert
<i>L. jamestowni</i>		nem ismert	<i>L. wadsworthii</i>		igen
'Candidatus <i>L. jeonii</i> '		-	<i>L. waltersii</i>		nem ismert
<i>L. jordanis</i>		igen	<i>L. worsleiensis</i>		nem ismert
<i>L. lansingensis</i>		igen	<i>L. yabuuchiae</i>		nem ismert

12.1 táblázat A *Legionella* nemzetség fajai, szerotípusai, illetve szerepei kóroki ágensként [3]

Törzsközponti szám	Típustörzs	Törzsközponti szám	Típustörzs
CIP 103870	<i>Legionella anisa</i>	HNCMB 140001	<i>Alcaligenes faecalis</i>
CIP 103877	<i>Legionella feeleii</i>	HNCMB 160001	<i>Acinetobacter baumannii</i>
CIP 103878	<i>Legionella feeleii</i>	HNCMB 170554	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
CIP 103880	<i>Legionella longbeachae</i>	HNCMB 173004	<i>Burkholderia cepacia</i>
CIP 103881	<i>Legionella longbeachae</i>	HNCMB 173006	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
CIP 103884	<i>Legionella oakridgensis</i>	HNCMB 186001	<i>Aeromonas hydrophila</i>
CIP 103847	<i>Legionella parisiensis</i>	HNCMB 250002	<i>Azotobacter agile</i>
CIP 103858	<i>Legionella pneumophila sp. fraseri</i>	HNCMB 35033	<i>Escherichia coli</i>
CIP 103859	<i>Legionella pneumophila sp. fraseri</i>	HNCMB 47001	<i>Citrobacter freundii</i>
CIP 103854	<i>L. pneumophila sp. pneumophila 1</i>	HNCMB 61369	<i>Proteus mirabilis</i>
CIP 103870	<i>Legionella anisa</i>	HNCMB 80171	<i>Enterococcus faecalis</i>
HNCMB 10032	<i>Salmonella Derby</i>	ATCC 52134	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
HNCMB 105019	<i>Clostridium perfringens</i>	ATCC 173001	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
HNCMB 110012	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	HNCMB 115001	<i>Micrococcus luteus</i>
HNCMB 112002	<i>Staphylococcus aureus</i>		

12.2 táblázat Felhasznált típustörzsek neve és törzsközponti száma; Rövidítések: ATCC: American Type Culture Collection (Manassas, USA), CIP: Collection de l'Institut Pasteur (Párizs Franciaország), HNCMB: Orvosi Baktériumok Magyar Nemzeti Gyűjteménye (Budapest, Magyarország)



Közeg	Figyelmeztető szint	Beavatkozási szint	Azonnali beavatkozási szint
<b>HASZNÁLATI MELEGVÍZ-RENDSZEREK</b>			
<b>Határérték</b>	a <i>Legionella</i> koncentráció 1000 TKE/l feletti legalább egy mintában, de kevesebb, mint a minták 50 %-ában, és egyben sem magasabb 10000 TKE/l-nél	a <i>Legionella</i> koncentráció 1000 TKE/l-nél magasabb több, mint a minták 50 %-ában, vagy 10000 TKE/l feletti legalább egy mintában	a <i>Legionella</i> koncentráció 10000 TKE/l feletti a minták több mint felében
<b>Szükséges intézkedések</b>	Kockázatbecslés és üzemelés felülvizsgálata, és a szükséges helyesbítő tevékenységek elvégzése	Kockázatbecslés és üzemelés felülvizsgálata, és a szükséges helyesbítő tevékenységek elvégzése; Azonnali újramintázás Újbóli hasonlóan magas csíraszám esetén kockázatcsökkentő beavatkozás	Kockázatbecslés és üzemelés felülvizsgálata, és a szükséges helyesbítő tevékenységek elvégzése; azonnali kockázatcsökkentő beavatkozás; Azonnali újramintázás
<b>HMV-RENDSZEREK A FEKVŐBETEG ELLÁTÁST BIZTOSÍTÓ EÜ-I SZOLGÁLTATÓ ÉRZÉKENY OSZTÁLYAIN</b>			
<b>Határérték</b>	a <i>Legionella</i> koncentráció 100 TKE/l feletti legalább 1 mintában, de kevesebb, mint a minták 50 %-ában, és egyben sem magasabb 1000 TKE/l-nél	a <i>Legionella</i> koncentráció 100 TKE/l-nél magasabb több, mint a minták felében, vagy 1000 TKE/l feletti legalább 1 mintában	a <i>Legionella</i> koncentráció 1000 TKE/l feletti a minták több mint felében
<b>Intézkedések</b>	Kockázatbecslés és üzemelés felülvizsgálata, és a szükséges helyesbítő tevékenységek elvégzése	Kockázatbecslés és üzemelés felülvizsgálata, és a szükséges helyesbítő tevékenységek elvégzése, Azonnali újramintázás, Aktív tüdőgyulladás surveillance	Kockázatbecslés és üzemelés felülvizsgálata, és a szükséges helyesbítő tevékenységek elvégzése, Azonnali újramintázás, Aktív tüdőgyulladás surveillance és kötelező vizeletvizsgálat; Azonnali kockázatcsökkentő beavatkozás, vagy az érintett kórterem/osztály bezárása
<b>AEROSZOL ELŐÁLLÍTÓ MELEG VIZŰ MEDENCÉK (&gt; 30 °C)</b>			
<b>Határérték</b>	a <i>Legionella</i> koncentráció egyszeri 100 TKE/l feletti eredménye (medencevíz)	a <i>Legionella</i> koncentráció ismételt 100 TKE/l feletti, vagy egyszeri 1000 TKE/l feletti eredménye	a <i>Legionella</i> koncentráció ismételt 1000 TKE/l feletti eredménye (medencevíz/szűrt víz)
<b>Intézkedések</b>	Kockázatbecslés és üzemelés felülvizsgálata, és a szükséges helyesbítő tevékenységek elvégzése	Kockázatbecslés és üzemelés felülvizsgálata, és a szükséges helyesbítő tevékenységek elvégzése; Azonnali újramintázás, szűrő után is; 20 m <sup>3</sup> víztérfogatúnál kisebb medence tisztítása és fertőtlenítése	Kockázatbecslés és üzemelés felülvizsgálata és a szükséges helyesbítő tevékenységek elvégzése; Azonnali kockázatcsökkentő intézkedés; Azonnali újramintázás, szűrő után is; Medence tisztítása és fertőtlenítése; Medence üzemeltetésének felfüggesztése a figyelmeztető szintet meg nem haladó vizsgálati eredmények eléréséig.

12.3 táblázat A *Legionella* által okozott fertőzési kockázatot jelentő közegekre, illetve létesítményekre vonatkozó közegészségügyi előírásokról szóló emberi erőforrások miniszteri rendelet 2. sz. mellékletének kivonata a kockázati közegekről és az intézkedési szintekről [304]

„Épület”	„Vízminták”	„Törzsek”	„Település”
<b>Mintavételi kód (kulcs!) **</b> (pl. H 02)	<b>Mintavételi kód (kulcs!) **</b>	<b>Minta azonosító (kulcs!) **</b>	<b>Helyiség (kulcs!) **</b> (pl. Gödöllő stb.)
<b>Helyiség (kulcs!) **</b>	<b>Minta azonosító (kulcs!) **</b>	<b>Törzs azonosítója</b>	<b>Régió</b>
<b>Mintavételi hely</b> (intézmény neve, címe)	<b>Mintavétel dátuma</b> (év. hónap. nap)	<b>Latex (Oxoid) szerotipizálás</b>	<b>Település jogállása</b> (pl. község stb.)
<b>Építmény jellege*</b> (pl. eü. intézmény) - kat	<b>Mintavételi pont pontosan</b> (pl. 3 em. férfi öltöző, zuhany)	<b>Mikroagglutináció eredménye</b>	<b>Népesség száma a településen - kat +*</b>
<b>Épület építésének éve</b> (évtizedre kerekítve) - kat +*	<b>Távolság a hőközponttól</b> (1 – 10)	<b>Drezdai-Panel vizsg. eredménye</b>	
<b>Épület szintjeinek száma</b> (0, 1, 2 stb.) - kat +*	<b>Mintavételi alkalmak száma</b> (1. mintavétel stb.)	<b>MAB 3/1</b> (pozitív/negatív)	
<b>Vízhálózat kialakítása (év)</b> (évtizedre kerekítve) kat*	<b>Minta jellege</b> (pl. HMV-tartály stb.) - kat*	<b>L. pneumophila MAb-típus</b>	
<b>Komplexum mérete</b> kat: egy/több épületet	<b>Volt vízkezelés közvetlenül a mintavétel előtt? (igen/nem)</b>	<b>L. pneumophila típus (pl. C-típus)</b>	
<b>HMV-termelés módja 1.</b> (egyéni/központi) - kat	<b>Víz jellege</b> (hideg/meleg) - kat	<b>Konszenzus szerotípus</b>	
<b>HMV-termelés módja 2.</b> (pl. kazán, távhő stb.) - kat*	<b>Mintavétel módja</b> (csapnyitási/kifolyatott)		
<b>Hőközpont nem az adott épületben van (igen/nem)</b>	<b>Víz hőmérséklete [ °C]</b> (5 °C-os kat) - kat +		
<b>Az érintett-e járványügyi kivizsgálásokban (igen/nem)</b>	<b>Legionella spp. csíraszám</b> [TKE/l] - kat +*		
<b>Az épület ivóvízellátása (pl. mélyfúrású kút) - kat*</b>	<b>Detektált faj/szerotípus</b> (Oxoid teszt eredménye)		
<b>Saját ivóvízkúttal rendelkezik-e (igen/nem)</b>	<b>Pseudomonas aeruginosa</b> [TKE/100 ml]		
<b>Lakóingatlan esetén jelleg (pl. családi ház stb.) - kat*</b>	<b>Heterotróf összcsíraszám</b> <b>37 °C-on</b> [TKE/1ml]		
<b>Szálloda esetén szolgáltatás színvonala (csillagok) - kat*</b>	<b>Heterotróf összcsíraszám</b> <b>22 °C-on</b> [TKE/1ml]		
<b>Szállodai szobák száma (pl. 121, 345 stb.) - kat +*</b>	<b>Eü-i intézményben kritikus pont-e (igen/nem) - kat</b>		
<b>Rendszeren belül fertőtlenítés - kat*</b>			
<b>Ivóvíz-tárolás (igen/nem)</b>			
<b>Volt-e valaha kieg. vízkezelés legionellák ellen (igen/nem)</b>			
<b>HMV-tároló száma (pl. 1) - kat (kat: egy/több)</b>			
<b>HMV-tároló térfogata (m<sup>3</sup>)</b>			
<b>HMV-tároló kapcsolása (soros/párhuzamos) - kat</b>			
<b>HMV-tároló elhelyezkedése (álló/fekvő) - kat</b>			
<b>Kazán típusa (gázkazán/gőzkazán) - kat</b>			
<b>Cirkuláció (van/nincs) - kat</b>			
<b>Vezeték anyaga (pl. réz)</b>			

12.4. táblázat MS Office Excel alapú ún. *Legionella* adatbázis fő tulajdonságai (kat = kategorizált adatok; \*: kategóriák a 12.5 táblázatban; kat +: folytonos változóként is és kategorizált adatként is), \*\*: A kulcsok segítségével kapcsolathatók össze az adatbázis négy munkalapján található adatok lekérdezés létrehozásakor.

Munkalapok	Tulajdonságok	Változók
„Épület” munkalap	Építmény jellege	egészségügyi intézmény irodaház lakóingatlan egyéni melegvízzel lakóingatlanok központi melegvízzel oktatási intézmény szálloda üzem
	Épület építésének éve	1949 előtti 1950 és 1979 közötti 1980 és 1999 közötti 2000 utáni
	Épület szintjeinek száma	0 és 1 emelet 2 és 3 emelet 4, 5 és 6 emelet 7 emelet és felette
	Vízhálózat kialakításának	1979 előtti 1980 és 1999 közötti 2000 utáni
	HMV-termelés módja	kombi gázkazán/gázbojler (nem tárolós) villanybojler/tárolós gázbojler kazán távhő
	Szálloda esetén szolgáltatás színvonala	fokozat nélküli 3 4 5
	Szállodai szobák száma	100 alatt 200 alatt 300 alatt 300 felett
	Az épület ivóvízellátása	felszíni víz karsztvíz rétegvíz parti szűrés
	Lakóingatlan jellege	családi ház panellakás többlakásos társasház
	„Vízminták” munkalap	Minta jellege
<i>Legionella spp.</i> csíraszám		$x < 10$ $10 \leq x < 1000$ $1000 \leq x$
Település jogállása		főváros község város
„Település” munkalap	Népesség	10000 alatt 10000-49000 50000-99999 100000-999999 1000000 felett

12.5 táblázat A *Legionella* adatbázis fő tulajdonságai  
Az MS Office Excel alapú ún. *Legionella* adatbázis fő tulajdonságainak kategóriái

Izolátum jelzése	Legközelebbi találat	Százalék [%]	Izolátum jelzése	Legközelebbi találat	Százalék [%]
2514/1/07	<i>L. pneumophila</i> 10	97,82	M236	<i>L. pneumophila</i> 10	96,13
	<i>L. pneumophila</i> D-15	97,64		<i>L. pneumophila</i> D-15	95,95
	<i>L. pneumophila</i> Wads	97,64		<i>L. pneumophila</i> Wads	95,95
M51	<i>L. pneumophila</i> D-15	97,21	M243	<i>L. pneumophila</i> 3	94,29
	<i>L. pneumophila</i> Wads	97,21		<i>L. pneumophila</i> 4	94,08
	<i>L. pneumophila</i> 10	96,87		<i>L. pneumophila</i> 10	93,88
M135	<i>L. pneumophila</i> 10	97,16	M241	<i>L. pneumophila</i> 2	93,84
	<i>L. pneumophila</i> D-15	96,96		<i>L. pneumophila</i> LC1329	93,66
	<i>L. pneumophila</i> 9	96,96		<i>L. pneumophila</i> 10	93,13
3522/1/07	<i>L. pneumophila</i> 10	96,77	M229	<i>L. pneumophila</i> 10	92,41
	<i>L. pneumophila</i> 9	96,77		<i>L. pneumophila</i> D-15	92,22
	<i>L. pneumophila</i> D-15	96,54		<i>L. pneumophila</i> Wads	92,22
110/1/08	<i>L. pneumophila</i> 10	96,28	M136	<i>L. pneumophila</i> 10	90,42
	<i>L. pneumophila</i> D-15	96,10		<i>L. pneumophila</i> 91-033	90,22
	<i>L. pneumophila</i> Wads	96,10		<i>L. pneumophila</i> D-15	90,22

12.6 táblázat Szekvencia-analízis eredmények  
A vizsgált izolátumok szekvencia-analízisének eredményei

Kémiai vízminőségi jellemzők	Medián	Minimum	Maximum
Ammónium (mg/l)	0,02	0,01	0,74
Nitrit (mg/l)	0,02	0,01	0,11
Nitrát (mg/l)	10	0	20
Kémiai oxigénigény (mg/l O <sub>2</sub> )	0,6	0,3	1,2
Összes szerves szén (mg/l)	1,1	0,1	4,4
Vas (µg/l)	25	8	160
Mangán (µg/l)	7	4	104
Összes keménység (mg/l CaO)	149	111	271
Vezetőképesség (µS/cm)	508	387	826
pH	7,5	7,2	8,0
Nátrium (mg/l)	16	3	72

12.7 táblázat Vizsgált HMV-minták kémiai és fizikai vízminőségi jellemzőik (N=1809)

Ország/ publikálás éve	Vizsgált épület típusa	Minta típusa	Poszítív épületek aránya (%) (pozítív/összes épület)	Poszítív minták aránya (%) (pozítív/összes minta)	Jellemző <i>Legionella</i> csíraszám	L. p aránya*	Hiv.
USA, 1985	lakóingatlan (95)		épület 32 % (30)	-	-	100,0 %	[101]
USA, 1991	lakóingatlan (211)	M	épület: 37,2 % (69/211)	-	mértani átlag: 18,3 TKE/ml	96,3 %	[162]
USA, 1992	lakóingatlan (218)	M	6,4 % (14/218)	-	pozítív m.: $1 \cdot 10^4$ - $6 \cdot 10^5$ TKE/l	85,7 %	[152]
Kanada, 1992	kórház (84)	M	67,9 % (57/84)	-	épületek 26,2 % >30 % poz.	-	[330]
EK, 1993	kórház (17)	H és M	épület: 2/17 (11,8 %)	-	-	-	[327]
Németo., 1993	különböző épületek (72)	M	eü int.: 80,1 % (21/26) közintézmény: 85 % (6/7) lakóingatlan : 65 % 11/17 fogászat: 52,2 % (13/24)	28,3 % (186/661)	jellemző: $10^3$ - $10^5$ TKE/l max.: $4 \cdot 10^6$ TKE/l	93,5 %	[226]
Finno., 1994	lakóingatlan (49) iroda (12), ipari lét. (6)	M	épület 29,9 % (20/67)	-	átlag $2,7 \cdot 10^3$ TKE/l $0-3,2 \cdot 10^5$ TKE/l	100,0 %	[159]
Kanada, 1994	kórház (39) lakóingatlan (90)	M	kórház: 23,1 % (9/39) lakóingatlan : 11,1 % (10/90)	kórház: 4,5 % (24/539) lakóingatlan: 6,2 % (14/225)	-	-	[244]
USA, 1997	szervtranszplant. részl.	H és M	55,1 % (38/69)	-	-	81,6 %	[328]
USA, 1999	kórház (16)	M	68,8 % (11/16)	-	-	-	[331]
Horváto., 2002	lakóingatlan, szálloda	M	9,4 % (12/127)	-	pozítív m. medián: 450 TKE/l	-	[362]
Olaszo., 2002	privát ház (146)	M	22,6 % (33/146)	22,6 % (33/146)	pozítív m. átlaga: $1,17 \cdot 10^3$ TKE/l	75,8 %	[167]
Olaszo., 2003	lakóingatlan, szálloda	M	22,6 %, 54,6 %	-	mértani átlag: $1,85 \cdot 10^3$ TKE/l	-	[332]
Olaszo., 2005	szálloda (40)	M	75,0 % (30/40)	60 % (71/119)	jellemzően $>10^3$ TKE/l	87 %	[164]
Olaszo., 2005	kórház (41)	M	-	32 % (1251/3910)	-	-	[363]
Olaszo., 2005	lakóingatlan (59), szálloda (11), kórház (5)	M	-	összes: 40,0 % (55/137) kórház: 93,7 % (30/32) szálloda: 60,9 % (28/46) kp-i lakóing.: 41,9 % (13/31) egyéni lakóing. : 3,6 % (1/28)	mértani átlagok: kórház: $2,4 \cdot 10^3$ TKE/l szálloda: 127 TKE/l kp-i magánh: 31 TKE/l egyéni lakóingatlan : -	93,7 %	[243]
Franciao., 2006	kórház (10)	M	-	63,2 % (67/106)	-	-	[236]
Görögo., 2007	szálloda (385)	H és M	20,8 % (80/385)	M: 27,0 % (260/962) H: 6,4 % (8/124)	épületek 6,5 %-a (25/385) $>10^4$ TKE/l	87,0 %	[165]
USA, 2007	kórház (20)	M	70,0 % (14/20)	29,3 % (198/676)	-	84,1 %	[325]
Németo., 2008	lakóingatlan (452)	M	-	12 % (54/452)	pozítív m. átlaga $3,9 \cdot 10^3$ TKE/l,	93,9 %	[171]
Tajvan, 2008	kórház (16)	H és M	62,5 % (10/16)	17,9 % (54/302)	-	100,0 %	[329]
Olaszo., 2010	szálloda (19)	M	63,2 % (12/19)	32 % (19/59)	$2 \cdot 10^2$ - $3,7 \cdot 10^4$ TKE/l	100,0 %	[235]
Olaszo., 2011	kórház (4), szálloda (32) lakóingatlan (88)	M	-	47,5 % (194/408)	mértani átlaga $4,5 \cdot 10^3$ TKE/l ( $25-1,25 \cdot 10^6$ TKE/l)	92,8 %	[175]

12.8 táblázat Legjelentősebb publikált nemzetközi használati víz *Legionella* surveillance vizsgálat fontosabb eredményei, (rövidítések: H: hidegvíz, M: melegvíz, L. p. *Legionella pneumophila*, lét.: létesítmény, o.: ország, részl.: részleg, max.: maximum, m: minta, h.: ház, poz.: pozitív, kp-i: központi, eü. int.: egészségügyi intézmény)

	Egészségü. intézmény	Irodaház	Lakóingatlan egyéni HMV	Lakóingatlan központi HMV	Oktatási intézmény	Üzem	Szálloda	Összes
Mintázott épületek (rendszerek) száma [db]	24	10	27	26	26	36	22	171
Legionellára nézve pozitív épületek [db]	22	6	2	16	14	28	17	105
Vízminták száma (összes) [db]	636	213	47	46	150	895	531	2518
HMV-tárolóból származó minta [db]	20	4	0	3	5	8	30	70
Hálózati vízmintha [db]	616	209	47	43	145	857	468	2385
Technológiai vízmintha [db]	0	0	0	0	0	30	33	63
Legionella pozitív vízminták száma [db]	366	85	4	24	77	337	161	1054
Legionella pozitív vízminták aránya [%]	57,5 %	39,9 %	8,5 %	52,2 %	51,3 %	37,7 %	30,3 %	41,9 %
≥ 1000 TKE/l Legionella csíraszámú vízminták száma [db]	222	36	2	12	52	169	91	584
≥ 1000 TKE/l Legionella csíraszámú vízminták aránya [%]	34,9 %	16,9 %	4,3 %	26,1 %	34,7 %	18,9 %	17,1 %	23,2 %
Vízminták Legionella csíraszámának mediánja [TKE/l]	61	0	0	0	21	0	0	0
Vízminták Legionella csíraszámának szórása [TKE/l]	1,6.10 <sup>5</sup>	8,2.10 <sup>3</sup>	8,9.10 <sup>2</sup>	7,1.10 <sup>3</sup>	2,7.10 <sup>4</sup>	3,4.10 <sup>4</sup>	9,7.10 <sup>4</sup>	1,8.10 <sup>5</sup>
Vízminták Legionella csíraszámának maximuma [TKE/l]	3,4.10 <sup>6</sup>	5,4.10 <sup>4</sup>	5,3.10 <sup>3</sup>	3,8.10 <sup>4</sup>	2,1.10 <sup>5</sup>	6,2.10 <sup>6</sup>	1,5.10 <sup>6</sup>	6,2.10 <sup>6</sup>
Legionella pozitív vízminták L csíraszámának mediánja [TKE/l]	2,2.10 <sup>3</sup>	7,3.10 <sup>2</sup>	1,7.10 <sup>3</sup>	7,6.10 <sup>2</sup>	3,2.10 <sup>3</sup>	1.10 <sup>3</sup>	2,7.10 <sup>3</sup>	1,3.10 <sup>3</sup>
Legionella pozitív vízminták L csíraszámának szórása [TKE/l]	2,1.10 <sup>5</sup>	1,2.10 <sup>4</sup>	2,5.10 <sup>3</sup>	9,3.10 <sup>3</sup>	3,6.10 <sup>4</sup>	4,1.10 <sup>5</sup>	1,7.10 <sup>5</sup>	2,7.10 <sup>5</sup>
Melegvíz minták száma [db]	441	152	36	33	125	682	340	1809
Legionella pozitív melegvíz minták száma [db]	287	66	3	23	65	267	124	831
Legionella pozitív melegvíz minták aránya [%]	65,1 %	43,4 %	8,3 %	69,7 %	52,0 %	39,1 %	36,5 %	45,9 %
≥ 1000 TKE/l Legionella csíraszámú melegvíz minták [db]	196	32	2	12	48	144	72	505
≥ 1000 TKE/l Legionella csíraszámú melegvíz minták aránya [%]	44,4 %	21,1 %	5,6 %	36,4 %	38,4 %	21,1 %	21,2 %	27,9 %
Melegvíz minták Legionella csíraszámának mediánja [TKE/l]	420	0	0	170	50	0	0	0
Hidegvíz minták száma [db]	132	44	11	13	17	155	77	449
Legionella pozitív hidegvíz minták [db]	51	16	1	1	6	54	10	139
Legionella pozitív hidegvíz minták aránya [%]	38,6 %	36,4 %	9,1 %	7,7 %	35,3 %	34,8 %	13,0 %	31,0 %
≥ 1000 TKE/l Legionella csíraszámú hidegvíz minták [db]	11	4	0	0	1	18	4	38
≥ 1000 TKE/l Legionella csíraszámú hidegvíz aránya [%]	8,3 %	9,1 %	0,0 %	0,0 %	5,9 %	11,6 %	5,2 %	8,5 %
Hidegvíz minták Legionella csíraszámának mediánja [TKE/l]	0	0	0	0	0	0	0	0

12.9 táblázat Az adatbázis legfontosabb adatai, a vízminták legfontosabb jellemző értékei (mintaszámok és Legionella csíraszám értékek).

Rövidítés: egészségü.: egészségügyi, L.: Legionella

## 12.2 Kérdőív – Használati melegvíz-rendszer *Legionella* szennyezettségi kockázatbecslése

KÉRDŐÍV – HASZNÁLATI MELEGVÍZ RENDSZER (kivonat)			
<b>Rendszeradatok</b>			
Elhelyezkedés:			
Tulajdonos:			
Tervező:			
Kivitelező:			
Karbantartó:			
Üzemeltetésért felelős személy:			
Tervrajzok rendelkezésre állnak (beleértve a vízhálózatot is):			
Átalakítások dokumentáltak:			
Aktuális állapotot mutató dokumentáció elérhető:			
Van-e rendszeres vízvizsgálat		igen	nem
Amennyiben igen, milyen irányban:			
A tervek összehasonlítása a szemle során tapasztalt állapottal:			
Hiányosságok (tervezői és kivitelezési)			
<b>Létesítmény funkciója, ahol a használati melegvíz-előállító rendszer megtalálható</b>			
Szálláshely:	Egészségügyi intézmény:	Egyéb:	
<b>A rendszer jellemzése</b>			
<b>A használati melegvíz-előállító rendszer típusa</b>			
Központi	Egyéni		
1) Tárolós rendszer			
a. Tároló beépített hőcserélővel vagy beépített hőforrással.			
Tárolási térfogat:			
b. Beépített hőcserélő vagy beépített hőforrás nélkül			
Tárolási térfogat			
Tárolók száma:			
Tárolók kapcsolása:	soros	párhuzamos	
2) Átfolyósó HMV-előállító			
Előmelegítő, amennyiben van:	hőszivattyú	napkollektor	
Előmelegítőket rendszeresen 60 °C fölé melegítik:		igen	nem
amennyiben igen, gyakoriság:			
Elektromos kísérőfűtés van-e:		igen	nem
Úgy van-e beállítva, hogy az egész rendszer minden pontján 60 °C felett tartható a HMV hőmérséklete		igen	nem
A HMV hőmérséklete szükség esetén 70 °C fölé emelhető			
Van-e cirkuláció		igen	nem
1 literes szabály betartása megvalósul-e		igen	nem
A cirkulációs strangok a cirkulációs körvezeték csatlakozási pontjainál szabályozó szivattyúkkal felszereltek			
Vízhálózat anyaga, leírás:			
Csatlakozások típusa (pl. forrasztás, hegesztés, csavarozás stb.):			
Vannak bypass vezetékek a HMV-előállító rendszerben		igen	nem
Elosztóhálózat úgy méretezett, hogy megfelelő áramlási sebesség biztosított			
Vakágak vannak-e		igen <sup>1</sup>	nem
<b>Intézkedések a <i>Legionella</i> csíraszám csökkentésére, vagy az elszaporodásuk megelőzésére</b>			
• Végponti szűrő			
– Hol			
– Műszaki adatok típus			
– Rendeltetés szerint a használat			
– Rendszeresen karbantartott/dokumentált			
• Szakaszos hőfertőtlenítés			
Amennyiben igen,	gyakoriság	igen	
épületre menő HMV hőmérséklete			
• UV-fertőtlenítés			
Amennyiben igen,	leírás:	igen	
• Folyamatos vegyszeradagolás			
Amennyiben igen,	leírás	igen	
Hatóanyag:	klór-dioxid	hipoklorit	ezüst-ion
Hatóanyag koncentrációja			réz-ion
Ellenőrzés megfelelő-e (dokumentáció)			
Koncentráció megfelelő-e		igen	nem
• Egyéb eljárások			
Hidraulikus rendszer beszabályozott-e		igen	nem
<sup>1</sup> Funkcionális vakágnak minősül az is, ha olyan végkifolyók vannak, amelyeket napi egy alkalomnál ritkábban folynak ki hőmérsékletállandóságig.			

Amennyiben igen,	cég adatai időpont		
Zuhanytömlők	Rendszeresen tisztítottak és fertőtlenítettek	igen	nem
Rendszeresen cserélésre kerülnek			
Szezonálisból és kapacitásból adódó pangással kapcsolatos óvintézkedés történt	Amennyiben igen, leírás		
Rendszer forrázás-veszély figyelembevételével üzemel	Amennyiben igen, a forrázás-veszély elkerülésére fogantott intézkedések	igen	nem
Olyan kifolyók, ahonnan rozsdás/nem megfelelő érzékszervi tulajdonságú víz folyik	Amennyiben igen, a kifolyó(k) helyének megnevezése	igen	nem
<b>Rendszeres hőmérséklet-ellenőrzést végeznek-e?</b>			
A víz kifolytatás, ill. a mérés típusa és helye	Hőm. kifolytatás után <sup>2</sup>	Hőm. előírás szerinti	Idő (perc)
Mérés gyakoriság	Mérés dátuma	Utolsó mérés dátuma	
Épületre menő melegvíz			
Cirkulációs hálózat			
visszatérő melegvíz			
A tároló alsó harmada, vagy a leeresztőcsanak			
HMV előállítás alapjául szolgáló hidegvíz			
Hálózati végkifolyók - legközelebbi pont a HMV előállítás helyéhez			
Hálózati végkifolyók legtávolabbi pont a HMV előállítás helyéhez			
Hálózati végkifolyók – egyéb pont(ok) <sup>3</sup>			
A melegvíz első vizsgálata <i>Legionella</i> jelenlétére az üzembe-helyezés után, az üzemeltetőnek átadás előtt megtörtént			
<b>A használati melegvíz utolsó vizsgálata <i>Legionella</i> jelenlétére</b>			
Dátum:			
Vizsgáló laboratórium <sup>4</sup> :			
Eredmény:			
Akkreditált mintavétel:			
Értékelést végezte			
Név:	Alírárs:	Dátum:	
<b>KÉRDŐÍV – MEDENCÉS FÜRDŐ (kivonat)</b>			
<b>Berendezés adatai</b>			
Medence típusa			
Melegvíz <sup>5</sup> medence aeroszol előállító élmelemekekkel			
Melegvíz <sup>5</sup> pezsgőmedence			
Egyéb, éspedig:			
Elhelyezkedés:			
Tulajdonos:			
Tervező:			
Kivitelező:			
Karbantartó:			
Üzemeltető			
Üzemeltetésért felelős személy:			
Tervrajzok rendelkezésre állnak:			
A teljes létesítmény megtekintése, és a kivitelezés ellenőrzése			
A tervek összehasonlítása a szemle során tapasztalt állapottal:			
Tervezési és kivitelezési hiányosságok:			
Átalakítások dokumentáltak:			
Aktuális állapotot mutató dokumentáció elérhető:			
Van-e rendszeres vízvizsgálat		igen	nem
Amennyiben igen, milyen irányban:			
Vonatkozó rendelet <sup>6</sup> szerint		igen	nem
Utolsó vízvizsgálati eredmény			
<sup>4</sup> Akkreditációs okirat melléklése szükséges			
<sup>5</sup> 28 °C-nál melegebb víz			
<sup>6</sup> 37/1996. (X. 18.) NM rendelet a közfürdők létesítésének és üzemeltetésének közegészségügyi feltételeiről			
<sup>2</sup> Hidegvíz 2 perces, melegvíz 1 perces kifolytatás után. Ahol ettől eltérő, azt fel kell tüntetni			
<sup>3</sup> szükség esetén			

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			Rendelkezésre áll üzemeltetési napló, ami az üzemeltetéssel kapcsolatos ellenőrzések eredményeit tartalmazza	igen nem
<i>Staphylococcus aureus</i>			Megfelelően dokumentált	
<i>Összes coccus</i>			Tisztítás, fertőtlenítés	igen nem
<i>Escherichia coli</i>			Biocid-mérés időpontja és eredménye	igen nem
Megfelelő-e az eredmény			(amennyiben nem automatikusan történik)	
Utolsó vízvizsgálat időpontja			pH-mérés időpontja és eredménye	igen nem
Vizsgálólaboratórium			(amennyiben nem automatikusan történik)	
Akkreditált-e a vízvizsgálat			Egyéb, éspedig	
<i>Legionella</i> vizsgálat	igen nem		Hiányosságok	
Utolsó vízvizsgálati eredmény			Automatikus biocid-koncentráció mérés	igen nem
Medencevíz			Biocid-tartalom szabályozása automatával	igen nem
Szűrő után vett minta			Amennyiben igen, a biocid-tartalom aktuálisan mért értéke megegyezik a mérőberendezés által mérttel (kijelzőn)	
Utolsó vízvizsgálat időpontja			Biocid-koncentráció megfelelő	igen nem
Vizsgálólaboratórium			Automatikus pH-mérés	igen nem
Akkreditált-e a vízvizsgálat			pH érték automatikus szabályozása	igen nem
<b>Létesítmény funkciója, ahol a medencés fürdő megtalálható</b>			Az aktuálisan mért pH-érték megegyezik a berendezés kijelzőjéről leolvasott értékkel	igen nem
Szálláshely:	Egészségügyi intézmény:	Egyéb:	pH-érték megfelelő	igen nem
<b>A medence jellemzése</b>			Folyamatosan üzemelő redox-mérőberendezés rendelkezésre áll	igen nem
<b>Medence típusa</b>	töltő-ürítő	vízvisszaforgatásos	Töltővíz-térfogat: m <sup>3</sup> ; Térfogat: m <sup>3</sup>	
A medencéhez tartozik-e			Amennyiben dokumentált:	
Kiegyenlítőtartály	igen nem		Pelyhesítőszersz-fogyás	
Előszűrő	igen nem		Fertőtlenítőszersz-fogyás	
Keringetőszivattyú	igen nem		Szűrő visszamosatásának gyakorisága:	
Áramlásmérő	igen nem		A vízkezelésben ózon alkalmazása esetén:	
Pelyhesítőszersz-adagoló, és pelyhesítőszersz-keverő berendezés	igen nem		ózonkoncentráció	
Szűrő	igen nem		az aktív szén szűrő heti egyszeri ellenőrzése	igen nem
Szűrő típusa: homokszűrő papírszűrő egyéb, éspedig:			A medence tisztítására vonatkozó terv rendelkezésre áll	
Biocidadagoló	igen nem		A személyzet szakcég általi oktatása megtörtént a medence üzemeltetésére vonatkozóan	igen nem
Visszamosatáshoz kiegészítő biocidadagoló	igen nem		Az üzemelési naplóban a feljegyzések elfogadhatóak	igen nem
pH-érték korrigáló berendezés, beleértve mérő- és szabályozó mőszerek	igen nem		Amennyiben nem, magyarázat:	
	igen nem		Amennyiben a mikrobiológiai vagy kémiai vízvizsgálatok eredményei nem felelnek meg a vonatk.rendelet előírásainak, azonnal megtörtént a megfelelő konzekvencia levonása és a dokumentálás	igen nem
Ozonkészítő	igen nem		Amennyiben nem, magyarázat:	
Reaktíótartály	igen nem		<b>Értékelést végezte</b>	
Aktív szén szűrő	igen nem		Név:	Aláírás:
Megfelelő mintavételi csapok	igen nem		Dátum:	
Vízkezelőrendszer nem áll rendelkezésre (vagy a vízkezelőben tapasztalható hiányosságok? Dokumentáció:				



## 12.3 Módszertani levél – Kockázatsökkentő beavatkozások hálózati vízrendszerek esetén

<p><b>KOCKÁZATSÖKKENTŐ BEAVATKOZÁSOK HÁLÓZATI VÍZRENDSZEREK ESETÉN (KIVONAT)</b></p> <p><b>Ivó- és használati melegvízrendszerek optimális üzemeltetése</b></p> <p>A <i>Legionella</i> kockázat csökkentésének, a legionellák megtelepedésének legalapvetőbb módja az ivó- és használati melegvíz rendszerekben a megfelelő vízhőmérséklet biztosítása.</p> <p>Az épületbe belépő ivóvíz hőmérséklete általában nem éri el a 20 °C-ot, a csővezeték megfelelő szigetelésével ez a hőmérséklet az épület egészében biztosítható. Ha az ivóvíz hőmérséklete az épület legtávolabbi pontján is 2 perces kifolytatás után 20 °C alatt van, akkor a hálózat alacsony kockázatúnak tekinthető.</p> <p>A használati melegvíz esetén a rendszer minden pontján folyamatosan 50 °C feletti vízhőmérsékletet kell biztosítani. Ez az alábbi feltételek mellett biztosítható:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Az előállított használati melegvíz beállított hőmérséklete legyen legalább 60 °C.</li><li>• A vízhőmérséklet esése a használati melegvíz rendszerben ne legyen nagyobb, mint 10 °C, de törekedni kell az 5 °C-nál nem nagyobb különbségre.</li><li>• A víz hőmérséklete egy perces kifolytatást követően valamennyi csapolón haladja meg az 50°C-ot, optimálisan az 55°C-ot.</li><li>• Ahol a forrázásvesztély elkerülése érdekében ennél alacsonyabb víz-hőmérsékletet kell megvalósítani, ott a hidegvízrel való visszakeverést a csapolóhoz lehető legközelebb kell megvalósítani. A termosztát utáni vezeték-szakasz térfogata ne legyen több, mint 2 liter.</li><li>• A HMV-rendszerben cirkulációt kell kiépíteni. A cirkuláció nélküli vezeték-szakaszban a víz térfogata ne legyen több mint 2 liter.</li><li>• Az elosztó és a cirkulációs rendszer úgy kell szabályozni, hogy a térfogat-áram rendszer egészében azonos legyen.</li><li>• Új építésű, vagy felújított rendszerek esetén a HMV-rendszert úgy kell méretezni, hogy arányos legyen a melegvíz felhasználással. A tartályban a víz rétegződését el kell kerülni. Ez a víz tartályban belüli keringetésével, kiegészítő fűtés alkalmazásával korlátozható.</li><li>• Jelentősen csökkenti a legionellák elszaporodásának kockázatát, ha a tartályban levő HMV-t rendszeresen (kisméretű rendszerek esetén hetente, nagyobb rendszerek esetén naponta 1-1 órára 70 °C-ra felhűtik).</li><li>• A HMV tartályban kiülepedő lebegő anyagok felületet biztosíthatnak a baktériumok elszaporodásához, ezért gondoskodni kell a tartályok rendszeres (évenkénti) tisztításáról. A tisztítványt el kell távolítani, hogy a tartály egész felületére mechanikusan tisztítható legyen.</li></ul> <p>Tapasztalatok szerint az egyedi, pl. egy háztartást ellátó HMV előállító és elosztó rendszerek alacsony kockázatot jelentenek, ezekben csak a megfelelő víz-hőmérséklet beállítására kell figyelmet fordítani. A házközponti, vagy az épületen kívüli melegvíz előállítás esetén a kockázat csökkentéséhez elengedhetetlen a fenti feltételek biztosítása. A nagy kiterjedésű hálózatokat érdemes kisebb részekre osztani, és épületenként önálló hőcserélővel és cirkulációval kiépíteni.</p> <p style="text-align: right;">1</p>	<p>A hálózatokban kialakuló vízkőréteg és a csövek korróziója a felület roncsolódásához és ez által az egyenetlenséghez vezet, ami elősegíti a mikroorganizmusok megtapadását és elszaporodását. A csőanyag megválasztása a biofilm kialakulását érdemben nem befolyásolja: a réz vezetékeken ugyan lassabb a baktériumok megtapadása, de egy év után már nincs eltérés az egyes anyagú csövek között a biofilm vastagságában. A csőanyag minősége ugyanakkor meghatározó, mivel a tápanyagok kioldódása, és a korrózió mértéke jelentősen különböző lehet. Az ivó- és melegvíz hálózatokba az ivóvíz minőségéről és az ellenőrzés rendjéről szóló 201/2001 (X. 25) Kormányrendelet értelmében csak az OTH által nyilvántartásba vett anyagokat és szerelvényeket lehet beépíteni, amelyeknek megbízhatóságát az OKK ellenőrizte. A HMV-hálózatba beépített csőanyagoknak és szerelvényeknek alkalmasnak kell lenniük a névleges hálózatra menő melegvíz hőmérsékletnél 10 °C-kal magasabb hőmérsékletű üzemre (70 °C).</p> <p>Javasolt a vízcsoveket megfelelő szigeteléssel ellátva, elválasztva vezetni.</p> <p>Bár a <i>Legionella</i> elsődlegesen nem a szerelvényeken szaporodik, azok tisztítása, vízkötlenítése és szükség esetén fertőtlenítése része a kockázat-kezelésnek. Az ivó- vagy HMV rendszerbe beépített vízkészítő berendezéseket (pl. lágyító, vízsűrű) a gyártói utasítás szerint, ált. 1-3 havonta kell tisztítani és fertőtleníteni.</p> <p>A humosabb ideig használaton kívüli csőszakaszokat és szerelvényeket legalább hetente egyszer néhány percre a lehető legmagasabb hőmérsékletű melegvízzel át kell mosni. Mivel a legnagyobb kockázatot a humosabb ideig használaton kívüli, pangó szakaszok jelentik, törekedni kell ezek minimalizálására.</p> <p>Ha a rendszer egészét vagy kisebb részét egy hétnél hosszabb ideig nem működtetik, a szakasz kifolyóinak használata előtt a pangó vizet ki kell folatni. ezt az eljárást minimális aeroszol képződéssel kell végezni. Használat előtt a rendszerben tárolt vizet javasolt 1 óra hosszágig legalább 60°C-ra kell melegíteni.</p> <p>A pangó vagy lassabb áramlású szakaszok azonosításában nagy segítséget jelent a hőmérsékletmérés. Kiugró hőmérsékletérték esetén az adott szakasz műszaki felülvizsgálatát minden esetben el kell végezni.</p> <p>Ha egy adott vezetékszakasz véglegesen kizárásra kerül (pl. megszüntetik az ellátott végkifolyót), a vezetékszakaszt célszerű teljesen eltávolítani. Az elzárókkal lezárt szakaszok gyakran áteresztnek, és így az egész hálózatot visszaszennyező fertőzőforrássá válhatnak.</p> <p>Az ivó- és HMV hálózatban a fertőzést kialakító csepptoméretű vízpermet bármelyik szerelvényen képződhet, amikor a víz felületnek csapódik, zuhanoyozáskor, vagy akár WC-öblítéskor. Azon szerelvények, amelyek levegőt kevernek a vízszághoz, növelik a kockázatos mérettartományba eső aeroszol képződését. Fokozott kockázatu létesítményekben, különösen egészségügyi intézményekben ezért javasolt olyan szerelvényeket alkalmazni, amelyek nem alkalmaznak levegő bekeverést. Egészségügyi létesítményekben a víztakarékos szerelvények közül a kifejezetten kórházi használatra engedélyezett típusokat kell választani.</p> <p style="text-align: right;">2</p>
<p><b>Kockázatsökkentő beavatkozások</b></p> <p>A már kolonizált rendszerekben is törekedni kell a fentiek megvalósítására, ám ez sok esetben nem elegendő a kolonizáció visszaszorítására. Ilyen esetekben a rendszert fertőtleníteni kell. A leggyakoribb fertőtlenítési módszerek:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Hőfertőtlenítés:</b> A HMV-rendszer hőfertőtlenítéséhez a hálózatra menő HMV hőmérsékletét legalább 70 °C-ra kell emelni, majd a legtávolabbi csapoló irányából valamennyi kifolyót 3 percre forró vízzel át kell áramoltatni. <i>Előnye:</i> a létesítmény saját erőforrásaival, általában rövid határidővel el tudja végezni, ezért alkalmas lehet magas kockázat esetén azonnali beavatkozásra. <i>Hátránya:</i> nagyobb kiterjedésű épület (különösen, ahol forrázásvesztély áll fenn) jelentős előkészületet igényel. A régebbi létesítményekben általános, de a nem megfelelően tervezett vagy kivitelezett új épületekben is gyakori, hogy a cső-anyagok, tartályok és szerelvények nem viselik el a 70 °C-t. A hatása átmeneti (néhány hét-hónap). Rendszeres beavatkozásként nem javasolt.</li><li>• <b>Kémiai fertőtlenítés:</b> nagy dózissal, sok szerű vegyszeres kezelés azonnali kockázatsökkentésre alkalmazható. Folyamatos kiegészítő fertőtlenítés a <i>Legionella</i> csírszám tartós visszaszorítására is alkalmas. Ivó- és használati melegvíz fertőtlenítésére csak az OTH által nyilvántartásba vett anyagot lehet használni. Jelenleg az engedélyezett anyagok listáján az alábbi hatóanyagokat tartalmazó készítmények szerepelnek: <i>hipoklorit, klórdioxid, és hidrogén-peroxid és ezüst kombinációja</i>. Sokk-fertőtlenítést követően a kezelt vizet teljesen le kell eresztelni, majd tiszta vízzel átmosni addig, amíg a maradék fertőtlenítőszer koncentrációja a háttértékre csökken. A fertőtlenítésre javasolt koncentráció:<ul style="list-style-type: none"><li>○ <i>Hipoklorit:</i> sokk-fertőtlenítésre 20-50 mg/l szabad aktív klórtartalmat kell biztosítani. A behatási idő 20 mg/l koncentrációnál legalább 2 óra, 50 mg/l esetén egy óra, de célszerűbb a vegszerrel kezelt vizet 12 órán át a rendszerben hagyni. Folyamatos fertőtlenítés esetén a szabad aktív klórtartalomra határérték nincs, a kötött klórtartalom nem haladhatja meg a 3 mg/l-t. Ugyanakkor igen jelentős a klórozási melléktermékek keletkezésének kockázata, és fogyasztói (íz, szag) panaszok is jelentkezhetnek. Összegzésében folyamatos kiegészítő fertőtlenítésre a hipoklorit tartalmú szerek alkalmazása nem javasolt.</li><li>○ <i>Klórgáz:</i> a koncentrációra vonatkozó javaslat megegyezik a hipoklorinnal feltüntetettel. Klórgáz esetén a fertőtlenítési melléktermékek keletkezésének kockázata alacsonyabb. A klórgáz helyszíni előállítása azonban balesetvesztélyes, így a katasztrófavédelmi hatóság az épületben való alkalmazást általában korlátozza.</li><li>○ <i>Klórdioxid:</i> javasolt koncentráció és egyben határérték: 0,4 mg/l <i>Előnye:</i> Folyamatos fertőtlenítésre alkalmas. Alkalmazás tágabb pH határok között. <i>Hátránya:</i> A klór-dioxidra is, – mind az összes oxidatív fertőtlenítőszerre – igaz, hogy erősen lecsökkenhet a koncentrációja pangó helyeken. A felhasználás helyén kell készíteni. Klórozási melléktermékek képződhetnek.</li></ul></li></ul> <p style="text-align: right;">3</p>	<ul style="list-style-type: none"><li>○ <i>Hidrogén-peroxid és ezüst:</i> adagolás max. 17mg/l hidrogén-peroxidra vonatkoztatva. Ivóvízben maradék H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> koncentráció max. 0,1 mg/l, ezüst koncentráció ne legyen több mint 100 µg/l. <i>Előnye:</i> Folyamatos fertőtlenítésre is alkalmas. <i>Hátránya:</i> Nagyobb rendszerek esetén a vegyszerigény jelentős lehet. Számolni kell fertőtlenítési melléktermékek keletkezésével. A sokk-fertőtlenítés ideje alatt a víz hálózat nem használható.</li><li>• <b>UV-fertőtlenítés:</b> UV lámpa beépítése a beérkező hidegvíz vezetékbe csökkenti a hálózat kolonizációját. A felhasználási ponton beépítve a végkifolyón a <i>Legionella</i> és egyéb baktériumok csírszáma jelentősen csökkenthető, megfelelő beállításokkal (hullámhossz, áramlási sebesség) teljes fertőtlenítés érhető el. <i>Előnye:</i> Folyamatos fertőtlenítésre alkalmas. Kiegészítő fertőtlenítésként egyéb módszerekkel kombinálva is alkalmazható. <i>Hátránya:</i> A teljes rendszerben csak megelőzésre alkalmas, már meglévő kolonizáció megszüntetésére nem. A végponton történő alkalmazás csak kis rendszerekben lehetséges a berendezések költségigénye miatt.</li><li>• <b>Végponti baktériumsűrűk:</b> a felhasználási ponton az egyes csapolókra felszerelhetők olyan baktériumsűrűk, amelyekkel a víz teljesen baktériummentessé tehető. A kereskedelemben kapható sűrűk között vannak egyszer használatos, és többször felhasználható (sterilizálható) típusok. <i>Előnye:</i> Azonnali kockázatsökkentésre alkalmas. <i>Hátránya:</i> Költségigényes, emiatt alkalmazása elsősorban olyan helyszíneken javasolt, ahol a kített személyek fokozottan érzékenyek a fertőzésekre, így az egészségügyi létesítmények fokozottan érzékeny osztályain (pl. intenzív terápiás, transzplantációs osztályokon). Csak akkor hatékony, ha az adott légtérben minden használatban levő végkifolyón alkalmazzák.</li></ul> <p><b>A fertőtlenítés hatékonyságát minden esetben ellenőrizni kell.</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Sokk-fertőtlenítést követően az ellenőrző <i>Legionella</i> vizsgálatot egy héttel a beavatkozást követően javasolt elvégezni.</li><li>• Folyamatos kémiai fertőtlenítés esetén az automata vegyszeradagoló működését kell rendszeresen ellenőrizni, a vegyszer mennyiségét a tartályban, valamint a fogyasztó legalább hetente egyszer, a fertőtlenítőszer koncentrációt a kijelölt ellenőrző ponton legalább havonta, az egyéb mintavételi pontokon legalább évente egyszer.</li><li>• Az UV berendezés esetén az UV intenzitás jelzi a megfelelő működést.</li><li>• A végponti sűrű esetén a megfelelő működést az ütemezett cseré vagy fertőtlenítés garantálja. Az ellenőrzést és az ehhez kapcsolódó intézkedéseket dokumentálni kell.</li></ul> <p style="text-align: right;">4</p>

## 12.4 Oldatok és táptalajok

Savas puffer (1 l): 135 ml 0,2 M HCl és 865 ml 0,2 M KCl.

A pH-t  $2,2 \pm 0,2$ -re 1 M KOH oldattal állítottuk be.

Foszfát-puffer (1 l): 5 ml 0,4 M  $MgSO_4$  és 1,25 mm 2 M  $KH_2PO_4$

Desztillált vagy ioncserélt vízzel kiegészítettük 1 l-re. A puffer pH-ját  $7,2 \pm 0,2$ -re beállítottuk. Autoklávozással ( $121 \pm 3$ ) °C-on 15 percig sterilizáltuk.

Ringer-oldat (1:40): 1 db Ringer-oldat tablettá (1.15525.001<sup>17</sup>), 500 ml desztillált vagy ioncserélt víz

A tablettát hagytuk feloldódni, majd autoklávozással ( $121 \pm 3$ ) °C-on 15 percig sterilizáltuk. 1:4-es Ringer-oldatot az 1:40-es Ringer-oldat 10-szeres hígításával nyertük.

10x TAE puffer (1 l): 48,4 g Tris-bázis (2-amino-2-hidroxi-metil-propán-1,3-diol), 11,4 ml jécecet és 20 ml 0,5 M  $Na_2EDTA$  (pH 8,0). Steril desztillált vagy ioncserélt vízzel 1 l-re egészítettük ki.

5x TBE puffer (1 l): 54 g Tris-bázis, 27,5 g bórsav és 20 ml 0,5 M  $Na_2EDTA$  (pH 8,0)

Steril desztillált vagy ioncserélt vízzel 1 l-re egészítettük ki.

BCYE táptalaj (1 l; Oxoid)<sup>15</sup>: 25 g CYE agar alap (CM0655<sup>18</sup>; 2,0 g aktív szén, 10,0 g élesztőkivonat és 13,0 g agar) és 900 ml desztillált vagy ioncserélt víz.

Autoklávozással  $121 \pm 3$  °C-on 15 percig sterilizáltuk. Kb. 50-55 °C-ra való visszahűtés után hozzáadtuk a 2x50 ml steril desztillált/ioncserélt vízben feloldott 2 egység BCYE növekedési szupplementet (SR0110C<sup>15</sup>).

BCYE növekedési szupplement 500 ml táptalajhoz (1 cső, SR0110C<sup>15</sup>): 5,0 g KOH, 0,125 g vas-pirofoszfát, 0,2 g L-cisztein HCl és 0,5 g  $\alpha$ -ketoglutarát.

GVPN/GVPC táptalaj (1 l; Oxoid)<sup>15</sup>: 25 g CYE agar alap (CM0655<sup>15</sup>) és 900 ml desztillált vagy ioncserélt víz.

Autoklávozással ( $121 \pm 3$ ) °C-on 15 percig sterilizáltuk. Kb. 50-55 °C -ra való visszahűtés után hozzáadtuk a 2x30 ml steril desztillált/ioncserélt vízben feloldott 2 egység BCYE növekedési szupplementet (SR0110C<sup>15</sup>), valamint 2x20 ml steril desztillált/ioncserélt vízben feloldott 2 egység GVPN/GVPC szelektív szupplementet (SR0215/SR0152<sup>15</sup>), majd steril körülmények között Petri-csészébe öntöttük.

---

<sup>17</sup> Merck, Darmstadt, Németország

<sup>18</sup> Oxoid, Cambridge, Egyesült Királyság

GVPC szelektív szupplement 500 ml táptalajhoz (1 cső, SR0152<sup>15</sup>): 1,5 g glicin (ammónia-mentes), 0,5 mg vancomycin-HCl, 40000 IU polimixin-B-szulfát és 40,0 mg cikloheximid.

GVPN szelektív szupplement 500 ml táptalajhoz (1 cső, SR0215<sup>15</sup>): 1,5 g glicin (ammónia-mentes), 0,5 mg vancomycin-HCl, 40000 IU polimixin-B szulfát és 20 mg natamycin.

BCYE táptalaj (1 l, saját készítésű): 10 g ACES-puffer (N-2- acetamido-2 aminoetán szulfonsav; A9758<sup>19</sup>), 37 ml 1 N KOH, 3 g glicin (8160130250<sup>14</sup>), 1 g  $\alpha$ -ketoglutarát kálium sója (K2000<sup>16</sup>), 10 g élesztőkivonat (BD 212750<sup>20</sup>), 2 g aktív szén (C7606<sup>16</sup>), 15 g agar (LP0011<sup>15</sup>) és 902 ml desztillált vagy ioncserélt víz.

A szuszpenziót autoklávozással (121±3) °C-on 15 percig sterilizáltuk, majd hozzáadtuk a sterilre szűrt komponenseket: 0,5 g L-cisztein-HCl (C7880<sup>16</sup>) 10 ml steril desztillált vagy ioncserélt vízben feloldva és 0,3 g vas-pirofoszfát (P6526<sup>16</sup>) 10 ml steril desztillált vagy ioncserélt vízben feloldva.

A saját készítésű GVPN vagy GVPC táptalaj készítése az előbbiekkal (Oxoid típusú táptalaj) megegyező módon történik, a steril szűrést követően 1 l-nek megfelelő GVPN vagy GVPC szelektív szupplement (SR0215/SR0152<sup>15</sup>) hozzáadásával.

#### DNS molekulaméret markerek:

- 100bp marker (GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder<sup>21</sup>)  
Sávjai: 1000, 900, 800, 700, 600, 500, 400, 300, 200, és 100 bp
- $\lambda$  DNA/*Hind*III marker ( $\lambda$  DNA/*Hind*III Marker<sup>18</sup>)  
Sávjai: 23130, 9416, 6557, 4361, 2322, 2027, 564 és 125 bp

---

<sup>19</sup> Sigma, Saint Louis, USA

<sup>20</sup> Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, USA

<sup>21</sup> Fermentas, Glen Burnie, USA

## **Köszönetnyilvánítás**

*Doktori munkámat az Országos Közegészségügyi Központ Országos Környezetegészségügyi Igazgatóság (OKI) Vízhygiénés Osztályán végeztem, ahol beosztott diplomásként dolgozom.*

*Köszönettel tartozom Dr. Dura Gyulának, illetve Dr. Pándics Tamásnak, az OKI korábbi, illetve jelenlegi főigazgatójának támogatásukért, hogy dolgozatom elkészítéséhez az OKI szellemi és technikai forrásait igénybe vehettem, és mindig maximális segítségnyújtással támogatták tanulmányaimat, törekvéseimet.*

*Szeretném kifejezni hálás köszönetemet közvetlen felettesemnek és egyben barátomnak, Dr. Vargha Mártának az Igazgatóság Vízhygiénés Osztály osztályvezetőjének, a dolgozatom elkészítésében nyújtott önzetlen segítségéért és maximális támogatásáért.*

*Köszönetet mondok Dr. Márialigeti Károly Tanár Úrnak, támogatásáért, illetve amiért lehetőséget adott számomra, hogy az ELTE Mikrobiológiai Tanszékének égisze alatt készíthessem munkámat.*

*Különös köszönettel tartozom egykori főosztályvezetőnknek, Dr. Kádár Mihály Főorvos úrnak, hogy érdeklődésemet a legionellák iránt felkeltette, illetve bármikor fordulhattam hozzá kérdéseimmel. Kádár Doktor úr mindig jószívvel bátorított, támogatott, biztatott és dolgozatom megírásában támogatott, segített.*

*Köszönöm az Osztályunk minden munkatársának segítségét és türelmét, amely nagyban hozzájárult dolgozatom elkészítéséhez. Külön köszönettel tartozom Scheirichné Szax Anita kolleganőmnek a több évnyi közös munkáért, Bánfi Renátának és Kern Anitának pedig a bajtársi támogatásért.*

*Köszönettel tartozom kollegámnak Vecsey Attilának a Legionella adatbázis programozásáért.*

*Emellett köszönöm Dr. Szánthó Zoltánnak a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Épületgépészeti és Gépészeti Eljárástechnika Tanszék egyetemi docensének és Vargha Péternek, a Semmelweis Egyetem Biometriai Központ vezetőjének igen értékes tanácsaikért.*

*Köszönöm továbbá Dr. Pásztai Juditnak és munkatársainak (OEK Fágtípusozási és Molekuláris Epidemiológiai Osztálya) a PFGE-vizsgálatban nyújtott segítségét.*

*Köszönöm a vizsgálatban résztvevő kórházak higiénikusainak, az épületek üzemeltetőinek, illetve a magánházakból és lakásokból mintákat szolgáltató ismerőseimnek.*

*A munka egy részéhez anyagi támogatást a Nemzeti Fejlesztési Terv Gazdasági Versenyképesség Operatív Programja biztosított (GVOP-3.1.1-2004-05-0517/3.0).*

*A dolgozatomat nemrég elhunyt segítőtőmnek, néhai Dr. Rer. Nat. Jürgen H. Helbignek, a Drezdai Műszaki Egyetem kutatójának ajánlom.*

*Köszönöm barátaim, különösen Dr. Kovács Katalin lelkesítését és a dolgozat átolvasását.*

*Nem tudok elég hálás lenni családom, édesanyám, édesapám valamint kislányaim, Kamilla és Lujzi támogatásáért, türelméért, biztatásáért és szeretetéért. Legfőképpen köszönöm azonban férjem, Gergő(bergő) maximális, sokszor erőn felüli támogatását, aki lényegesen többet tud a legionellákról, mint amennyit valaha szeretett volna.*