

A LEGIONELLA BAKTÉRIUM ELŐFORDULÁSA ÉS A LEGIONELLOSIS
KOCKÁZATA A MAGYAR KÓRHÁZAKBAN
THE OCCURRENCE OF LEGIONELLA BACTERIUM AND RISK OF
LEGIONELLOSIS IN HUNGARIAN HOSPITALS

BARNA ZSÓFIA, KÁDÁR MIHÁLY, KÁLMÁN EMESE, RÓKA ESZTER, SCHEIRICHNÉ
SZAX ANITA, VARGHA MÁRTA

Országos Közegészségügyi Intézet (jelenleg Nemzeti Népegészségügyi Központ), Budapest

Anyanyelvi másodközlés (aktualizált fordítás) az Elsevier Kiadó és a European Society for Clinical
Nutrition and Metabolism engedélyével.

Angolul megjelent: 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,
2015;62(4):477-499. doi: 10.1556/030.62.2015.4.11.

DOI: 10.29179/EgTud.2018.3-4/25-57

Összefoglalás:

Bevezetés: A nosocomialis legionellosis jelentősége világszerte folyamatosan nő. Magyarországon az összes jelentett legionellosis eset kb. 20%-a összefügg a kórházi ellátással, a jogi szabályozás hiánya miatt azonban a kórházak korábban nem végeztek rutinszerűen környezeti monitoringot Legionella baktériumok irányába.

Anyagok és módszerek: A jelen vizsgálat során 23 kórház összesen 799 ivó- (n=163) és használati meleg víz (n=636) mintájának tenyésztés alapú Legionella vizsgálatát végeztük el. A vízrendszerek műszaki tényezőit kérdőívben rögzítettük. A legionellák csíraszámának összehasonlítására – egyes műszaki és egyéb tényezők függvényében – Mann–Whitney- és Kruskal–Wallis-próbákat alkalmaztunk és kiszámoltuk egy- és többváltozós regressziós modellben az esélyhányadosokat is.

Eredmények: A használatimelegvíz-rendszerek kolonizáltsága 90% felett volt; a legionellák csíraszámja jellemzően meghaladta a közegészségügyi határértéket. A használati meleg víz hőmérséklete valamennyi rendszer

EGÉSZSÉGTUDOMÁNY
HEALTH SCIENCE

Közlésre érkezett:

Submitted:

Elfogadva:

Accepted:

2018;62(3-4): 25-57

2018. május 14.

14 May 2018

2018. május 23.

23 May 2018

Levelezési cím/Correspondence:

Vargha Márta

Nemzeti Népegészségügyi Központ

H-1097 Budapest, Albert Flórián út 2–6.

vargha.marta@oki.antsz.hu

esetén kritikusan alacsony volt (<45 °C) és az épületeken belül is nagyok voltak a különbségek (3–38 °C hőmérsékletesés), ami a nem megfelelő cirkulációra utal. A legtöbb létesítmény 30 évnél idősebb volt (77%); mindazonáltal eredményeink azt igazolták, hogy a használati meleg víz alacsony hőmérséklete mellett az új rendszerek (n=3) is gyorsan szennyeződtek Legionella baktériumokkal.

A Legionella baktériumok előfordulásának esélyét növelte a sérülékeny ivóvízadó, az összetett vízhálózat és a tárolt használati meleg víz nagy térfogata (EH=28,0; 27,3; 27,7 a megfelelő sorrendben). Az alkalmazott kockázatkezelő beavatkozások – beleértve a hővel végzett és a vegyszeres fertőtlenítést is – csak azokban az esetekben voltak hatékonyak, ha a rendszer működését is beszabályozták.

Annak ellenére, hogy a kockázati tényezők hasonlóak voltak valamennyi kórházban, mind a legionellák csíraszám, mind a *L. pneumophila* 1-es szerotípusának aránya szignifikánsan magasabb volt azokban a kórházakban, ahonnan jelentettek nosocomialis legionellosist, mint ahonnan nem.

Következtetések: A kórházi vízhálózatok jelentős legionellaszennyezettségre utaló eredményei arra engednek következtetni, hogy a nosocomialis legionellosis aluljelentett. A vízvizsgálati eredmények felhívták a figyelmet arra, hogy szükség van a kötelező környezeti monitoringrendszer bevezetésére.

Kulcsszavak: kórházi ellátással összefüggő légionáriusbetegség, Magyarország, Legionella spp., kockázatbecslés

Abstract:

Introduction: Nosocomial legionellosis is growing concern worldwide. In Hungary, about 20% of the reported cases are health-care associated, but in the absence of legal regulation, environmental monitoring of Legionella was not routinely performed in hospitals.

Materials and methods: In the present study, 799 drinking water (n = 163) and hot water (n = 636) samples from 23 hospitals were tested by culture-based method for Legionella. The technical parameters of the water systems were recorded in a questionnaire. To compare Legionella numbers – depending on some technical and other factors – Mann-Whitney and Kruskal-Wallis tests were used and odds ratios were calculated in single- and multivariate regression models.

Results: The hot water distribution systems were colonized by Legionella in over 90%; counts generally exceeded the public health limit value. Hot water temperature was critically low in all systems (<45 °C), and large differences (3-38 °C temperature drop) were observed within buildings, indicating insufficient circulation. Most facilities were older than 30 years (77%); however, new systems (n=3) were also shown to be rapidly colonized at low hot water temperature. Vulnerable source of drinking water, complex distribution system, and large volume hot water storage increased the risk of Legionella prevalence (OR=28.0, 27.3, 27.7, respectively). Risk management interventions (including thermal or chemical disinfection) were only efficient if the system operation was optimized.

Though the risk factors were similar, in those hospitals where nosocomial legionellosis was reported, Legionella counts and the proportion of *L. pneumophila* sg 1 isolates were significantly higher.

Conclusions: The results of environmental prevalence of legionellae in hospitals suggest that the incidence of nosocomial legionellosis is likely to be underreported. The observed colonization rates called for the introduction of a mandatory environmental monitoring scheme.

Keywords: nosocomial Legionnaires' disease, Hungary, Legionella spp., risk assessment

Bevezetés

A nosocomialis legionellosis világszerte egyre növekvő aggodalmat jelent, és a jelentések szerint akár az egészségügyi ellátással összefüggő tüdőgyulladások 14%-áért is felelőssé tehető (1).

Azokban az országokban, ahol a legionellafertőzésekre nagyobb figyelmet fordítanak, a megelőzés érdekében a kórházak kockázatkezelési tervvel rendelkeznek, és ellenőrző méréseket is végeznek. Egyes szabályozások kizárólag klinikai surveillance alapúak, míg mások környezeti monitoringot is előírnak. Így a legionellákra vonatkozó figyelmeztetési szint vagy a nosocomialis legionellosis előfordulási gyakoriságán vagy a kolonizáció mértékén alapul (2). Az utóbbi általában a pozitív minták arányát és az egyes vízminták csíraszám-határértékeinek kombinációját jelenti. A beavatkozási határérték a különböző országokban változó, de a használati melegvíz-rendszerek esetében a legáltalánosabban elfogadott érték az 1000 telepkepző egység (TKE)/l (3-6). Valamennyi egészségügyi intézmény fokozott kockázatú létesítménynek számít az exponált személyek nagyobb érzékenysége és a nosocomialis legionellosis nagy halálozási aránya miatt (30%) (7, 8). Egyes osztályok (pl. intenzív terápiás osztályok, onkológia, hematológia, transzplantációs osztályok és műveseállomások) fokozottan érzékenyek, ami miatt ezek esetében szigorúbb határértékek alkalmazandók (0–250 TKE/l az adott ország nemzeti szabályozásától függően) (5).

Magyarországon a mintavételek időpontjában nem volt hatályos jogszabály a kórházakban a *Legionella* baktériumok környezeti monitoringjára. A kórházi surveillance-rendszer mindenhol aktív, és a legionellosis kötelezően jelentendő betegség, ennek ellenére, a kockázatérzekeles alacsony általános szintje miatt ritkán végeznek diagnosztikus vizsgálatokat legionellák irányába. Ebből fakadóan a legionellosis Magyarországon valószínűleg jelentősen aluldiagnosztizált és aluljelentett. A jelentett esetszám 2009 és 2013 között átlagosan évente 4,5/1 millió lakos volt, amelynek 18%-a volt nosocomialis (megerősített vagy valószínűsíthető) (9). Ez az érték lényegesen alacsonyabb, mint az Európai Unió átlaga (11,4 eset/ 1 millió lakos, 5% nosocomialis megbetegedés) (9). A legnagyobb azonosított, egészségügyi ellátással összefüggő legionellajárványokat hűtőtornyokkal és a kórházi vízhálózzal hozták kapcsolatba (10). Bár a hűtőtornyok még mindig komoly kockázatot jelentenek, az ivó- és a használati meleg víz szintén a megbetegedés egyik jelentős forrása (11-18). Látszólag azonban nincs közvetlen összefüggés a *Legionella* spp. csíraszama és az azonosított legionellosisok esetszáma között (18). Egyéb tényezők, mint pl. a vízhálózzatban vagy más lehetséges kockázati közegben jelen lévő törzsek faji és a szerotípusbeli megoszlása – tulajdonképpen a virulenciája – szintén hatással van a fertőzés előfordulási gyakoriságára.

Bár számos paraméter, mint a víz hőmérséklete, a csőhálózat anyaga, az áramlási körülmények, a víz pangása, a csőhálózat korróziója, az egyes nyomelemek, illetve egyéb mikroorganizmusok jelenléte vagy hiánya mind olyan jól ismert tényezők, amelyek hatással lehetnek a *Legionellaceae* család tagjainak növekedésére, ennek ellenére nem tisztázott, hogy mi határozza meg bizonyos taxonok előfordulását (19-23). Kockázatos expozíciós utak, pl. ivóvízzel működő levegőztetők, párasítók vagy aeroszolképző vízcsapok és zuhanyfejek mind növelik a fertőzés kockázatát éppúgy, mint a betegek legyengült immunállapota (8, 24). Rendszeres monitoring hiányában a jelen vizsgálatot megelőzően nem állt rendelkezésre adat a magyarországi kórházak kolonizáltsági arányáról.

Jelen kutatás 23, különböző földrajzi elhelyezkedésű magyarországi kórház vizsgálatára terjedt ki. Közülük 14 kórház jelentett legalább egy nosocomialis legionellosis esetet. A kórházak összehasonlítása a legionellaszennyezettség mértéke, a valószínűsíthetően virulens szerotípusok jelenléte, valamint az építészeti és műszaki jellemzőik alapján történt. Jelen vizsgálat célja az volt, hogy felmérje a különböző tényezők hatását a legionellák kolonizációjára és az azonosított legionellosisok előfordulására a kórházakban.

Anyagok és módszerek

Vizsgálati helyszínek

Összesen 23 kórházban került sor helyszíni szemlére és vízmintavételre (1. táblázat). A lehetséges kockázati források azonosítására standardizált kérdőívet¹ használtunk. A kérdőív vizes környezetek széles körére tért ki, beleértve a nedves hűtőtornyokat, hidroterápiás medencéket, párasítókat, légkondicionáló berendezéseket, kül- és beltéri szökőkutakat, tűzivíz-tározókat, sprinklerrendszereket. A válaszok szerint egyik létesítményben sem volt egyéb kockázati közeg, így a későbbiekben az ivóvíz- és a használatimelegvíz-rendszerekre koncentráltunk. Mivel egy kórház esetében két különálló rendszer biztosította a használati meleg vízzel való ellátást, összesen 24 hálózatban vizsgáltuk a legionellák kolonizációját. A helyszíni szemle során rögzítettük az épület jellemzőit (kor, méret, összetettség), az ivóvízellátás körülményeit (eredet, tárolás, kezelés) és a használatimelegvíz-ellátást (primer hőforrás, tárolási körülmények, beállított hőmérséklet, cirkuláció) jellemző információkat.

¹ A kérdőívet a szerzők közös munkájuk során készítették és fogadták el. Ezen kérdőív szolgált a 49/2015. (XI. 6.) EMMI rendelet által hivatkozott módszertani levél mellékleteiben megjelent minta kérdőívek alapjául.

I. TÁBLÁZAT. A vizsgált kórházak kiindulási Legionella kolonizációja és a használati melegvíz hőmérséklet-tartománya. A kolonizáció jellemzésére az első mintavételezés alkalmával kimutatott csíraszám kategóriánkénti mintaszámát és a maximum csíraszámot használtuk.

Kód	Régió	Nosocomialis legionellosis jelentett esetszám	A használati meleg víz mintáinak csíraszámeloszlása (TKE/l)*			Maximum csíraszám (TKE/l)	Izolált szerotípusok**	A használati meleg víz hőmérséklete [°C]
			<10	10-1000	>1000			
			01	Budapest	1 (igazolt)			
04	Közép-Dunántúl		1	4	2	$4,0 \cdot 10^3$	1, 2, 3	25-53
08	Észak-Magyarország	1 (igazolt)	3	4	3	$6,8 \cdot 10^3$	1	42-47
14	Budapest	1 (igazolt)	0	2	8	$3,4 \cdot 10^4$	1, 2, 3	38-50
16	A Közép-Dunántúl	1 (igazolt)	2	3	1	$1,2 \cdot 10^3$	2, 3	31-50
	B		0	0	5	$3,6 \cdot 10^4$	2	30-54
17	Közép-Dunántúl		3	2	3	$1,8 \cdot 10^3$	2	32-61
18	Közép-Dunántúl	1 (igazolt)	7	1	0	$5,0 \cdot 10^1$	2	29-55
19	Észak-Alföld	13 (feltételezhető)	0	0	18	$5,5 \cdot 10^4$	1, 2, 3	32-54
22	Budapest	2 (feltételezhető)	0	5	7	$1,8 \cdot 10^6$	1, 2, 3	33-52
27	Budapest	1 (igazolt)	0	1	13	$1,2 \cdot 10^4$	1, 2	29-43
28	Budapest	4 (feltételezhető)	1	1	12	$4,0 \cdot 10^4$	1, 2, 3	25-45

30	Budapest	1 (igazolt)	0	6	2	5,0.10 ³	2, 3	39-47
31	Budapest	1 (feltételezhető)	1	1	5	2,0.10 ⁵	1	26-54
33	Nyugat-Dunántúl	1 (feltételezhető)	0	1	6	6,8.10 ⁴	1, 2	44-47
02	Budapest		0	0	7	6,2.10 ³	2, 3	45-49
03	Budapest		2	1	30	4,0.10 ⁵	1, 2, 3	23-47
05	Észak-Alföld		3	1	0	5,0.10 ¹	2	-
06	Budapest		8	0	0	-	-	42-61
09	Budapest		13	1	0	3,0.10 ²	2	25-63
10	Budapest		5	1	1	2,7.10 ³	1, 2, 3	40-46
11	Budapest		4	9	1	1,2.10 ³	1, 2, 3	44-49
13	Dél-Alföld		16	0	0	-	-	26-57
26	Budapest		0	2	0	6,0.10 ¹	1, 2, 3	54

*Az első mintavételezés alkalmával

**1-*Legionella pneumophila* 1; 2-*Legionella pneumophila* 2-14; 3-*Legionella* species

TABLE I: Initial *Legionella* colonization and hot water temperature range of the investigated hospitals. Colonization is characterized as the number of samples in a CFU count category and the maximum CFU count value during the first sampling

Code	Region	Reported cases of nosocomial legionellosis	Colony count distribution in the hot water samples (CFU/L)*			Maximum count (CFU/L)	Isolated serotypes**	Hot water temperature [°C]
			<10	10-1000	>1000			
			01	Budapest	1 (confirmed)			
04	Central Transdanubia		1	4	2	4.0.10 ³	1, 2, 3	25-53
08	Northern Hungary	1 (confirmed)	3	4	3	6.8.10 ³	1	42-47
14	Budapest	1 (confirmed)	0	2	8	3.4.10 ⁴	1, 2, 3	38-50
16	A Central Transdanubia	1 (confirmed)	2	3	1	1.2.10 ³	2, 3	31-50
		B	0	0	5	3.6.10 ⁴	2	30-54
17	Central Transdanubia		3	2	3	1.8.10 ³	2	32-61
18	Central Transdanubia	1 (confirmed)	7	1	0	5.0.10 ¹	2	29-55
19	Northern Great Plain	13 (presumptive)	0	0	18	5.5.10 ⁴	1, 2, 3	32-54
22	Budapest	2 (presumptive)	0	5	7	1.8.10 ⁶	1, 2, 3	33-52
27	Budapest	1 (confirmed)	0	1	13	1.2.10 ⁴	1, 2	29-43
28	Budapest	4 (presumptive)	1	1	12	4.0.10 ⁴	1, 2, 3	25-45
30	Budapest	1 (confirmed)	0	6	2	5.0.10 ³	2, 3	39-47

31	Budapest	1 (presumptive)	1	1	5	2.0.10 ⁵	1	26-54
33	Western Transdanubia	1 (presumptive)	0	1	6	6.8.10 ⁴	1, 2	44-47
02	Budapest	0	0	0	7	6.2.10 ³	2, 3	45-49
03	Budapest	0	2	1	30	4.0.10 ⁵	1, 2, 3	23-47
05	Northern Great Plain	0	3	1	0	5.0.10 ¹	2	-
06	Budapest	0	8	0	0	-	-	42-61
09	Budapest	0	13	1	0	3.0.10 ²	2	25-63
10	Budapest	0	5	1	1	2.7.10 ³	1, 2, 3	40-46
11	Budapest	0	4	9	1	1.2.10 ³	1, 2, 3	44-49
13	Southern Great Plain	0	16	0	0	-	-	26-57
26	Budapest	0	0	2	0	6.0.10 ¹	1, 2, 3	54

*On the 1st sampling occasion

**1-*Legionella pneumophila* sg. 1; 2-*Legionella pneumophila* sg. 2-14; 3-*Legionella* species

Mintavétel

A vizsgálat ideje alatt 799 vízmintát vettünk a 23 kórház ivóvízhálózatából (n=163) és használatimelegvíz-hálózatából (n=636). Az épületen belüli mintavételi pontok kiválasztásánál, követve az EWGLI (European Working Group for Legionella Infections) ajánlását (25) törekedtünk a teljes hálózat jellemzésére (használatimelegvíz-tárolók, visszatérő ágak, hálózati végpontok mintázása, beleértve a zuhanyzókat és a vízcsapokat is). Amennyiben a mintavételre az után került sor, hogy a kórházból nosocomialis legionellosis esetet jelentettek, a mintavétel kiterjedt a betegek által használt hálózati végkifolyókra is (2). A vízmintavétel az ISO 5667-5:2006 (26) és az ISO 19458:2006 (27) szabvány előírásai szerint, égetés nélkül, egyperces kifolyatás után történt. A mintát a maradék szabad klór közömbösítése érdekében 0,1% Na₂S₂O₃-tartalmú steril üvegbe vettük, és azonnal a laboratóriumba szállítottuk. A vízhőmérséklet mérésére kalibrált elektromos hőmérőt (testo-735, Testo, Lenzkirch, Németország) használtunk.

Mikrobiológiai vizsgálat

A vízminták vizsgálata a *Legionella* spp. kimutatására az ISO 11731-2:2004 szabvány szerint tenyésztési technikával történt (28): a vízmintákból 100 ml-t koncentráltunk vákuumszűréssel 0,45 µm pórusátmérőjű fekete cellulóz-nitrát membránszűrőn (Sartorius Stedim Biotech Ltd., Göttingen, Germany). A vízben található háttér-mikrobióta visszaszorítása érdekében a szűrést követően a membránszűrőt öt percig kezeltük 20 ml savas pufferral (pH 2,2). A membránszűrőt GVPC táptalajra helyeztük (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, Egyesült Királyság), majd a lemezeket 36±2 °C-on 10 napig inkubáltuk (leolvasás a 3., az 5. és a 10. napon történt sztereomikroszkóppal).

A feltételezett *Legionella* spp. telepeket cisztein-auxotrófiájuk megállapítására továbboltottunk párhuzamosan ciszteintartalmú és -mentes BCYE táptalajra (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, Egyesült Királyság). A tenyészetek 36±1 °C-on 2 napig inkubáltuk. A feltételezett legionellákat szeroagglutinációval azonosítottuk (*Legionella* latexteszt, Oxoid, Basingstoke, Hampshire, Egyesült Királyság). A teszttel a *Legionella pneumophila* 1 szerotípusa és 2-14 szerocsoportja, valamint 7 egyéb, nem pneumophila *Legionella*-faj különíthető el. A víz legionellakoncentrációjának megadása literenkénti telepképző egységben történt (TKE/l), így a módszer kimutatási határa 10 TKE/l volt.

Adatkezelés és statisztikai elemzés

Csak olyan jól jellemzett használatimelegvíz-rendszerek kerültek a vizsgálatba, amelyek esetében a vízmintavétel a hálózatok reprezentatív pontjairól történt. Egyes rendszereket több alkalommal mintáztunk, ilyen esetekben csak az első vizsgálat eredményei kerültek az elemzésbe (289 meleg- és 79 hidegvíz-minta). A végponti baktériumszűrőkkel ellátott vízcsapokból származó mintákat kizártuk (n=2).

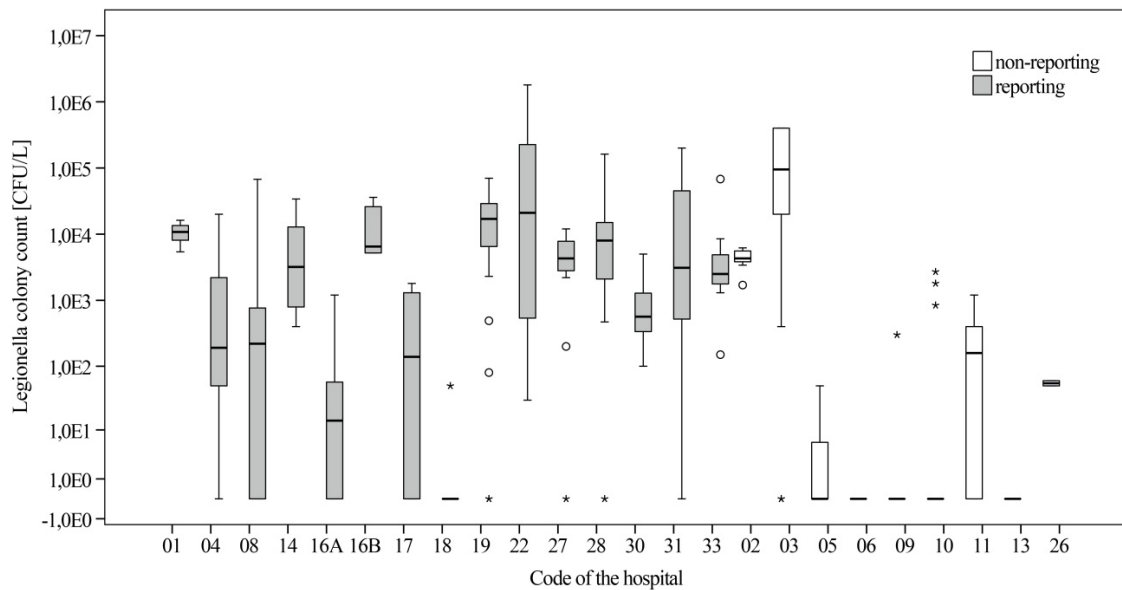
Első alkalommal a mintavétel normális üzemmenet mellett történt; a legionellakolonizáció csökkentése érdekében végrehajtott intézkedések – amennyiben azokra szükség volt – csak az első pozitív eredmény után történtek. A további mintavételezések alkalmával vett minták beavatkozás utáni mintáknak számítottak (n=347).

A statisztikai elemzéseket SPSS programmal végeztük (SPSS Inc. Chicago, IL., USA). Ahol lehetséges volt, a változókat dichotomizáltuk. Mann–Whitney- (MW) és Kruskal–Wallis- (KW) próbákat alkalmaztunk a legionellák csíraszámának összehasonlítására, kettő (MW) vagy több (KW) egymástól független csoport esetén. Különböző csoportok *Legionella* faji összetételének vizsgálatára Chi²-próbát alkalmaztunk. A szennyezettség arányának összehasonlítására a mért változókra kiszámoltuk az esélyhányadost (EH) 95%-os konfidencia-intervallummal (KI). Az egyváltozós elemzés szignifikáns és kváziszignifikáns, valamint az MW-próba erősen szignifikáns eredményt adó tényezőit többváltozós logisztikus regressziós elemzésbe vontuk.

Eredmények

Legionellakolonizáció

A vizsgált kórházak használatimelegvíz-rendszerének 92%-ából izoláltunk *Legionella* spp.-t, mindössze két rendszer nem volt kolonizált (2. és 13. sz. kórház) (1. táblázat). 18 kórház esetében a minták több mint fele pozitív volt; a minták csíraszám a rendszerek 75%-ában haladta meg a közegészségügyi határértéket jelentő 1000 TKE/l-t, ami kiterjedt kolonizációra utal (1. ábra). A kórházak 29%-ában a minták csíraszám meghaladta az azonnali beavatkozási határértéket (10⁴ TKE/l).



1. ábra. Az első mintavétel alkalmával vett kórházi használatimelegvíz-minták legionellacsíraszám-értékei. A téglalap az alsó és a felső kvartiliseket jelzi, a medián fekete vonallal ábrázolt. A hibavonal a minimum és maximum értékeket mutatja (a kiugró értékeken kívül). A mintaszámok létesítményenként: $n_{01}=9$, $n_{02}=7$, $n_{03}=33$, $n_{04}=10$, $n_{05}=4$, $n_{06}=8$, $n_{08}=15$, $n_{09}=14$, $n_{10}=14$, $n_{11}=14$, $n_{13}=16$, $n_{14}=12$, $n_{16A}=8$, $n_{16B}=5$, $n_{17}=10$, $n_{18}=12$, $n_{19}=26$, $n_{22}=11$, $n_{26}=2$, $n_{27}=17$, $n_{28}=17$, $n_{30}=8$, $n_{31}=7$, $n_{33}=7$, összesen=286.

Figure 1. Legionella CFU counts detected in the hot water samples of the hospitals on the first sampling occasion. The box indicates the upper and lower quartiles, with median shown as a black line. Error bars show the minimum and maximum value (excluding outliers). Sample numbers by facility: $n_{01}=9$, $n_{02}=7$, $n_{03}=33$, $n_{04}=10$, $n_{05}=4$, $n_{06}=8$, $n_{08}=15$, $n_{09}=14$, $n_{10}=14$, $n_{11}=14$, $n_{13}=16$, $n_{14}=12$, $n_{16A}=8$, $n_{16B}=5$, $n_{17}=10$, $n_{18}=12$, $n_{19}=26$, $n_{22}=11$, $n_{26}=2$, $n_{27}=17$, $n_{28}=17$, $n_{30}=8$, $n_{31}=7$, $n_{33}=7$, $n_{total}=286$,

Az első mintavételek alkalmával a használatimelegvíz-minták 70%-a ($n=286$), az ivóvízminták 38%-a ($n=78$) volt pozitív legionellákra nézve (a medián $1,2 \times 10^3$ TKE/l és 0 (<10) TKE/l volt). Az ivóvíz legionella-csíraszámja szignifikánsan alacsonyabb volt; a használatimelegvíz-minták 51%-ának, az ivóvízminták 6%-ának csíraszámja haladta meg a közegészségügyi határértéket. A legnagyobb mért csíraszámok mind az ivóvíz- mind a használatimelegvíz-rendszerekben meghaladták a 10^6 TKE/l értéket. Az épületbe bejövő ivóvíz esetén, ahol mintavételezésre lehetőség volt, legionellák nem voltak jelen kimutatható koncentrációban. A használatimelegvíz-tározók ($n=15$) 60%-a volt kolonizált legionellákkal, a csíraszám 30%-uk esetében meghaladta az 1000 TKE/l-t.

A kritikus kockázatú pontokon ($n=103$), például az intenzív terápiás, a hematológiai vagy a transzplantációs osztályokon vett használatimelegvíz-minták csíraszámértékei nem különböztek a többi kórházi mintáéitól ($n=183$): a minták 66%-a volt pozitív legionellákra

nézve; a medián csíraszámuk sem különbözött (1300 és 1070 TKE/l a magas kockázatú és az egyéb pontokon, MW $p=0,797$).

A melegvíz-mintákból a *L. pneumophila* faj tenyésztett ki leggyakrabban. A legvirulensebb szerotípus, a *L. pneumophila* 1-es szerotípusa a pozitív minták egyharmadában volt jelen (87/201). Egyéb szerotípusok (*L. pneumophila* 2-14) a minták 69%-ából voltak kimutathatók. A nem *L. pneumophila* fajok (további azonosítás nem történt) a minták 23%-ában voltak jelen. Tapasztalataink szerint általában több típus kolonizált egy hálózatot. A hidegvíz-minták esetén a *L. pneumophila* 1, 2-14 és az egyéb *Legionella* speciestek megoszlása a használati meleg vízével megegyezett.

Befolyásoló tényezők

Víz hőmérséklet

Az első mintavételkor szinte valamennyi vizsgált intézményben a kifolytatott használatimelegvíz-minták hőmérséklete ($n=210$) kritikusan alacsony volt, a medián hőmérséklet 44 °C -nak bizonyult, és a felső kvartilis is 50 °C alatt maradt (49 °C). Mindössze a minták 4%-ának hőmérséklete érte el a nemzetközi ajánlások szerinti 55 °C -ot. A kilenc minta közül mindössze egy 55 °C feletti hőmérsékletű vízminta volt pozitív legionellákra nézve (20 TKE/l), miközben az 55 °C alatti minták 75%-a pozitív volt, és 59%-ának a csíraszám meghaladta a közegészségügyi, 1000 TKE/l-es határértéket. A különbség szignifikáns volt ($EH=23,5$, $p=0,003$). Mivel a legtöbb kórház esetében a használatimelegvíz-termelő hőmérséklete 55 °C alá volt állítva, és a vízminták igen kis hányadának hőmérséklete haladta meg ezt az értéket, az 50 °C feletti hőmérséklet lehetséges védő hatását is megvizsgáltuk. Eredményeink alátámasztották, hogy az 50 °C feletti hőmérséklet is csökkenti a kolonizáció arányát ($EH=6,9$, $p=0,0001$).

A fogyasztói végpontokon a használati meleg víz hőmérsékletét az épületre menő (beállított) víz hőmérséklet és a rendszeren belüli hőmérsékletesés határozza meg. A vizsgált kórházak többségében, az épületre menő víz hőmérséklete 60 °C -nál alacsonyabb volt; mindössze 3 kórház esetében haladta meg ezt az határt. A használatimelegvíz-rendszeren belüli hőmérsékletesés (az épületre menő és a legtávolabbi ponton mért használati meleg víz hőmérsékletének különbsége) a rendszerek 75%-ában meghaladta a 10 °C -ot, ami a cirkuláció alacsony hatásfokára és pangó szakaszok jelenlétére utal. Két kórházban a mért hőmérsékletkülönbség kiugróan magas volt (30 °C felett).

Az ivóvíz hőmérséklete öt kórház esetében meghaladta a 20 , kettőben a 30 °C -ot. Egy kórház (1. sz. kórház) egyik szárnyában az ivó- és a használati meleg víz hőmérséklete

megegyezett (30-32 °C). A vizsgálatok során bebizonyosodott, hogy a rekonstrukciós munkálatok során az ivóvíz- és a használatimelegvíz-hálózatot véletlenül összekötötték egymással.

Műszaki tényezők

Általában feltételezhető, hogy az épület jellemzői befolyásolják a vízhálózat kolonizációját. Megvizsgáltuk az épület és a vízhálózat korának, az épület méretének (emeletek száma), a használatimelegvíz-rendszer összetettségének (egy épület/több épület) és a hőközpont helyének (az adott épületen kívül vagy belül) hatását.

A vizsgált kórházak többsége (17/22) 30 évnél idősebb volt, 40%-át 1950 előtt építették (2. táblázat). A várt és az előzetes eredményekkel ellentétben, mind a legionellákra pozitív minták aránya, mind a legionella-csíraszámok mediánja magasabb volt az újabb (2000 után épült) épületekben (EH=2,4, p=0,032). Ezeket az eredményeket azonban torzíthatja az új épületek alacsony száma.

A pozitív minták hányada arányosan nőtt az épület emeleteinek számával (KW, p=0,001), de egyes alacsony épületekben is komoly legionellaszennyezettséget állapítottunk meg. A földszintes és az egyemeletes épületek gyakran hagyományos pavilonrendszerűek voltak, amelyek nagy területen fekvő kórházstruktúra részei. A hosszabb és összetettebb vízhálózat lehet felelős a kolonizáltság különbségéért: ha több épület osztozik egy használatimelegvíz-hálózaton, mind a pozitív minták aránya, mind a csíraszám magasabb (EH=2,9, p=0,0001).

Az ivóvíz eredete is befolyással lehet a kolonizáció mértékére, mivel az ivóvíz mikrobiótája jelentősen különbözik az egyes vízforrások esetében. Rétegvíz eredetű ivóvízellátás esetén a kórházi ivóvízhálózatból vett vízminta kisebb eséllyel tartalmazott legionellákat a kimutatási határ felett. Mind a pozitív minták aránya, mind a legionellák csíraszámja szignifikánsan magasabb volt a parti szűrésű és a karsztvíz eredetű vízminták esetén a rétegvízhez képest (EH=9,2, p=0,004 és MV, p=0,01, sorrendben).

A használatimelegvíz-minták esetében az eredmény hasonló volt: a legmagasabb legionella-csíraszámokat a parti szűrésű vízből vett mintákból mértük, de a karsztvíz eredetű minták csíraszámja sem különbözött szignifikánsan. A rétegvíz eredetű melegvíz-minták (n=63) csíraszámja szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a másik két csoporté (EH=3,2, p=0,0001). A rétegvíz eredetű mintákat további két csoportra osztottuk annak alapján, hogy közműves ivóvízhálózatból vagy saját kútból származott a vízminta; a legionella-csíraszám szignifikánsan alacsonyabb volt az előbbi csoportban (MW p<0,001).

A víz eredetének megfigyelt hatása független volt a vízkezeléstől, beleértve a vízfertőtlenítő szer alkalmazását vagy annak hiányát. Egyéni vízkezelést egyetlen kórház esetén sem alkalmaztak. Míg 19 kórház ivóvízellátását fertőtlenített (klórozott) ivóvízzel biztosították, addig 4 kórházét nem fertőtlenített ivóvízzel; a legionella-csíraszám szignifikánsan magasabb volt az első esetben (MW, $p=0,0001$).

Az ivóvíztárolás ténye (három kórházban) nem emelte sem a pozitív minták arányát, sem a legionellák csíraszámát; sem független tényezőként vizsgálva, sem az ivóvíz eredetével együtt elemezve.

Valamennyi vizsgált kórházban központilag állították elő a használati meleg vizet; vagy az épületen belül vagy azon kívül, de minden esetben a létesítmény területén (2. táblázat). Az utóbbit magasabb kockázatként azonosítottunk (EH=2,0, $p=0,012$). A primer hő előállítására 17 létesítmény területén gázkazánt használtak, hat kórház esetében pedig távhő biztosította a primer hőt. Annak ellenére, hogy mindkét típus esetében a használati meleg vizet hőcserélővel állították elő (azaz nem volt közvetlen kapcsolat a primer hő és az előállított használati meleg víz között) és az előállított víz hőmérséklete sem különbözött a két csoportban, a távhő esetében a legionella-csíraszám szignifikánsan magasabb volt (EH=6,1, $p=0,0001$). A legtöbb rendszerben a használati meleg vizet tárolták (92%), ami szintén növeli a legionellák kolonizációjának kockázatát, különösen akkor, ha több mint egy tárolót használnak, vagy a tárolt víz térfogata nagy (2. táblázat). A használatimelegvíz-tárolók fekvése és a tárolók kapcsolása szintén számottevő befolyásoló tényezőt jelentett (a vízszintes, párhuzamos tárolók képviselik a legnagyobb kockázatot). Mivel azonban az egyes csoportokban az esetek száma alacsony, ezeknek az eredményeknek csekély a gyakorlati jelentősége (2. táblázat).

II. TÁBLÁZAT. A vizsgált kórházak épület, vízellátás és vízhalózat jellemzői. Az adatokat kérdőíves felmérés és helyszíni szemle során gyűjtöttük. Az épületeket csoportosítottuk, hogy jelentettek, vagy nem jelentettek nosocomialis legionellosis esetet/eseteket a vizsgálati időszakban. A pozitív minták arányát az első mintavételezés eredményei alapján határoztuk meg.

Jellemző	Épületek gyakorisága (%)			Minták (<i>Legionella</i> pozitív/összes)
	Esetet jelentett	Esetet nem jelentett	Összesen	
Víz eredete				
Rétegvíz				31/63
Közműves ivóvízellátás	0	2	2	30/43
Saját kút	3	0	3	1/20
Karsztvíz	3	0	3	21/33
Parti szűrésű víz	9	7	16	148/190
Épületek száma				
1 épület	7	4	11	70/121
Több épület	8	5	13	130/165
Kórház építésének ideje				
1949 előtt	6	3	9	71/105
1950 és 1979 között	4	4	8	47/75
1980 és 1999 között	2	2	4	41/54
2000 után	3	0	3	40/48
Épületszerkezet				
Egyszerű (egyszárnyú)	4	2	6	44/66
Összetett (többszárnyú)	11	7	18	154/220
Emeletek száma				
0 - 1	1	0	1	11/11
2 - 3	2	0	2	9/23
4 - 6	8	8	16	122/188
≥ 7	4	1	5	58/64
Használati meleg víz előállítása				
Központi – épületen belül	7	7	14	106/163
Központi – épületen kívül	8	1	9	93/119
A használatimelegvíz-termelés primer hőforrása				
Gázkazán a helyszínen	11	7	18	137/217
Távhő (víz vagy gőz)	4	2	6	63/69
A használati meleg víz hőmérsékletének csökkenése a rendszeren belül (1. mintavétel)				
≤ 5 °C	2	3	5	16/16

6-10 °C	1	1	2	30/51
> 10 °C	12	4	16	153/215
Használatimelegvíz-tározók száma				
0	1	1	2	7/7
1	4	3	7	55/60
>1	10	3	13	94/115
Tárolt használati meleg víz térfogata				
< 2,5 m ³	4	4	8	40/49
≥ 2,5 m ³	10	2	12	109/126
Használatimelegvíz-tározók helyzete				
Függőleges	10	5	15	99/123
Vízszintes	4	1	5	37/38
Használatimelegvíz-tározók kapcsolása				
Soros	3	1	4	22/39
Párhuzamos	6	2	8	56/60
Használati meleg víz hőmérséklete (mintaszám, 1. mintavétel)				
≤ 55 °C	119	82	201	150/201
> 55 °C	4	5	9	1/9
Használati meleg víz hőmérséklete (mintaszám, 1. mintavétel)				
≤ 50 °C	102	74	176	139/176
> 50 °C	21	13	34	12/34
Ivóvíz tárolása				
Igen	3	0	3	34/48
Nem	12	9	21	166/238

TABLE II: Characteristics of the building, water supply and distribution systems of the investigated hospitals. Data was collected by questionnaire survey and on-site investigation. Facilities that reported or not reported nosocomial legionellosis case(s) during the study period were confirmed. Rate of positive samples was calculated for the first sampling

Characteristic	Frequency (%) of buildings			Samples (positive for <i>Legionella</i> /all)
	Reported nosocomial legionellosis	Not reported nosocomial legionellosis	Total	
Source water				
Deep groundwater				31/63
Public network	0	2	2	30/43
Private well	3	0	3	1/20
Karstic water	3	0	3	21/33
Bank filtration	9	7	16	148/190
Number of buildings				
1 building	7	4	11	70/121
More buildings	8	5	13	130/165
Age of the hospital building				
Before 1949	6	3	9	71/105
Between 1950 és 1979	4	4	8	47/75
Between 1980 és 1999	2	2	4	41/54
After 2000	3	0	3	40/48
Bulding structure				
Simple (one-wing)	4	2	6	44/66
Complex (multiple wings)	11	7	18	154/220
Number of floors				
0 - 1	1	0	1	11/11
2 - 3	2	0	2	9/23
4 - 6	8	8	16	122/188
≥ 7	4	1	5	58/64
Production of domestic hot water				
Centrally within the building	7	7	14	106/163
Centrally outside the building	8	1	9	93/119
Primer heat source for hot water production				
Gas furnace on premises	11	7	18	137/217
Transported hot water or steam	4	2	6	63/69

Temperature-drop within the in-building water distribution system (1 st sampling)				
≤ 5 °C	2	3	5	16/16
6-10 °C	1	1	2	30/51
> 10 °C	12	4	16	153/215
Number of hot water storage tanks				
0	1	1	2	7/7
1	4	3	7	55/60
>1	10	3	13	94/115
Volume of stored hot water				
< 2.5 m ³	4	4	8	40/49
≥ 2.5 m ³	10	2	12	109/126
Position of hot water storage tanks				
Vertical	10	5	15	99/123
Horizontal	4	1	5	37/38
Connection of the hot water storage tanks				
Linear	3	1	4	22/39
Parallel	6	2	8	56/60
Hot water temperature (number of samples, 1 st sampling)				
≤ 55 °C	119	82	201	150/201
> 55 °C	4	5	9	1/9
Hot water temperature (number of samples, 1 st sampling)				
≤ 50 °C	102	74	176	139/176
> 50 °C	21	13	34	12/34
Drinking water storage				
Yes	3	0	3	34/48
No	12	9	21	166/238

A kockázati tényezők többváltozós elemzése

A fenti vizsgálatok szignifikáns eredményt adó tényezőit (vagy a pozitivitás aránya vagy a legionellák csíraszama) többváltozós logisztikus regressziós elemzésbe vontuk (3. táblázat). A víz hőmérséklete volt a használati meleg víz esetében a legionella-csíraszám legfőbb meghatározója: 58,3-szeres az esélye, hogy egy vízminta pozitív, ha a hőmérséklete 50 °C alatt van (p=0,004). Annak ellenére, hogy az 55 °C védő hatása még jelentősebb, ezt az eredményt nem használtuk a többváltozós elemzésben az 55 °C feletti vízminták alacsony száma miatt. A több épületre kiterjedő használatimelegvíz-rendszer szintén növeli a

kockázatot (EH=27,3, p=0,042). A tárolt víz térfogata és az ivóvíz eredete (ha nem rétegvíz eredetű) szintén növelték a kolonizáció veszélyét, annak ellenére, hogy 95%-os konfidencia-intervallumon belül az eredmények nem voltak szignifikánsak (EH=26,7, p=0,055 és EH=28,0, p=0,067). Az egyváltozós vizsgálat eredménye szerint az újabb épületek (2000 után épültek) nagyobb valószínűséggel kolonizáltak, ez a – nyilvánvalóan torzító – összefüggés már nem volt megfigyelhető a többváltozós elemzésben.

III. TÁBLÁZAT. A *Legionella* spp. jelenlétével összefüggő prediktív változók hatásának meghatározása egy- és többváltozós logisztikus regresszióval. Azon változók kerültek a többváltozós logisztikus regressziós elemzésbe, amelyek szignifikáns összefüggésben voltak vagy a pozitív minták arányával egyváltozós logisztikus regresszióval, vagy a legionella-csíraszámmal Mann–Whitney-próbával vizsgálva.

Jellemző	Egyváltozós logisztikus regresszió EH (95% KI)	Többváltozós logisztikus regresszió EH (95% KI)
Víz eredete nem rétegvíz (karsztvíz és parti szűrésű víz)	3,2 (1,8-5,8) ¹	28,0 (0,7-990,5)
Épület építése ≥ 2000	2,4 (1,1-5,4) ³	0,6 (0,1-3,2)
Több mint egy épület közös használatimelegvíz-ellátással	2,9 (1,7-4,9) ¹	27,3 (1,1-659,5) ³
Összetett épületszerkezet (pl. több szárny)	1,0 (0,6-1,9)	-
Használati meleg víz hőmérséklete: < 50 °C	6,9 (3,1-15,2) ¹	58,3 (3,7-927,3) ²
Használati melegvíz hőmérséklete: < 55 °C*	23,5 (2,9-192,7) ²	-
Használati meleg víz előállítás az adott épületen kívül	2,0 (1,2-3,5) ³	0,4 (0,0-9,4)
Primer hő típusa: távhő	6,1 (2,5-14,8) ¹	5,7 (0,5-62,6)
Használatimelegvíz-tárolók száma: > 1	0,4 (0,1-1,1)	-
Tárolt használati meleg víz térfogata ≥ 2,5 m ³ **	1,4 (0,6-3,5)	26,7 (0,9-764,0)

¹ p < 0,001, ²p < 0,005, ³p < 0,05

* Az 55 °C feletti minták alacsony száma miatt nem került bevonásra a többváltozós elemzése

**A Mann–Whitney-próbával elért erősen szignifikáns eredmény miatt került a többváltozós elemzésbe

TABLE III: Predictive variables associated with *Legionella* spp. presence as determined by univariate and multiple logistic regressions. Variables from that were found significantly associated with the rate of positive samples or *Legionella* CFU counts in Mann–Whitney univariate logistic regression tests were included in the multivariate analysis

Characteristics	Univariate regression OR (95% CI)	Multiple logistic regression (95% CI)
Source water other than groundwater (karstic and bank filtered water)	3.2 (1.8-5.8) ¹	28.0 (0.7-990.5)
Year of construction of the building ≥ 2000	2.4 (1.1-5.4) ³	0.6 (0.1-3.2)
More buildings sharing the hot water network	2.9 (1.7-4.9) ¹	27.3 (1.1-659.5) ³
Complex building structure (multiple wings e.g.)	1.0 (0.6-1.9)	-
Temperature of the hot water samples: < 50 °C	6.9 (3.1-15.2) ¹	58.3 (3.7-927.3) ²
Temperature of the hot water samples: < 55 °C*	23.5 (2.9-192.7) ²	-
Hot water production outside of the building sampled	2.0 (1.2-3.5) ³	0.4 (0.0-9.4)
Production the primer heat energy: with district heating	6.1 (2.5-14.8) ¹	5.7 (0.5-62.6)
Number of hot water storage tanks: > 1	0.4 (0.1-1.1)	-
Volume of the stored hot water ≥ 2.5 m ³ **	1.4 (0.6-3.5)	26.7 (0.9-764.0)

¹ p < 0.001, ² p < 0.005, ³ p < 0.05

* Not included in the multivariate analysis because of the low sample number of samples over 55 °C

** Included in the multivariate analysis because of the strong significant result by Mann-Whitney test.

A használati meleg víz előállítására szolgáló primer hő típusa – ami szintén egy nem várt befolyásoló tényező, mivel az közvetlenül nincs kapcsolatban az előállított használati meleg vízzel – a többi tényezővel együtt vizsgálva elvesztette szignifikáns hatását.

A kockázatkezelő beavatkozások hatása

A legtöbb kórház az első nem megfelelő eredmények után kockázatesökkentési beavatkozásokat indított. Az intézkedések a következő lehetőségek egyikére, vagy kombinációjára terjedtek ki: a használati meleg víz hőmérsékletének megemlése (egy alkalommal vagy folyamatosan), hőfertőtlenítés, a vízhálózat átalakítása vagy más, a rendszert érintő mérnöki beavatkozás, sokk- vagy folyamatos vegyszeres fertőtlenítés vagy végponti baktériumszűrők alkalmazása a magas kockázatú pontokon (4. táblázat).

IV. TÁBLÁZAT. A kockázatkezelő beavatkozások hatékonysága. Kockázatkezelő beavatkozásra általában az első pozitív minta után került sor (adott esetben). A hatékonyságra a közegészségügyi határértéket meghaladó minták arányából következtettünk.

Kód	Kockázatkezelő beavatkozás	Beavatkozás utáni minták (>1000 TKE/l/ összes minta)
01	Rendszer besabályozása	29/58
04	na	na
08	Rendszeres hőszokk, rendszer besabályozása	3/19
14	na	na
16	A Hőszokk	3/7
	B Hőszokk	4/6
17	Hőszokk	3/3
18	-	0/2
19	Hőszokk	5/5
22	Hőszokk	0/13
27	Hőszokk	18/61
28	Hőszokk	5/9
30	folyamatban	
31	Végponti szűrők, megemelt használatimelegvíz-hőmérséklet	6/6
33	na	na
02	Folyamatos vegyszeres fertőtlenítés (ClO ₂), rendszer besabályozása	0/27
03	Klór-dioxid, rendszer besabályozása	0/10
05	Hőszokk	0/4
06	na	6/7
09	na	na
10	na	4/34
11	na	na
13	na	na
26	na	na

na: nincs adat

TABLE IV: Efficiency of the risk management interventions. Risk management measures were usually performed after the first positive results (where applicable). Efficiency was characterized as the rate of samples over the public health limit value

Code	Risk management intervention	Post-intervention samples (above 1000 CFU/L/all)
01	System regulation	29/58
04	nd	nd
08	Regular heat-shock, system regulation	3/19
14	nd	nd
16	A Heat-shock	3/7
	B Heat-shock	4/6
17	Heat-shock	3/3
18	-	0/2
19	Heat-shock	5/5
22	Heat-shock	0/13
27	Heat-shock	18/61
28	Heat-shock	5/9
30	In progress	
31	POU filters, elevated hot water temp.	6/6
33	nd	nd
02	Continuous disinfection (ClO ₂), system regulation	0/27
03	Chlorine-dioxid, system regulation	0/10
05	Heat-shock	0/4
06	nd	6/7
09	nd	nd
10	nd	4/34
11	nd	nd
13	nd	nd
26	nd	nd

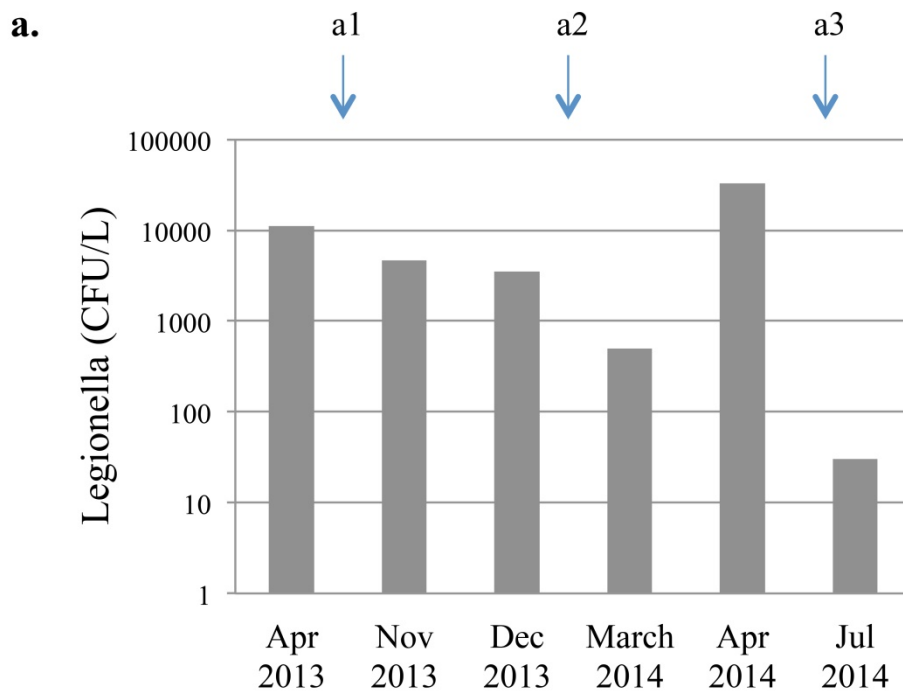
nd: no data

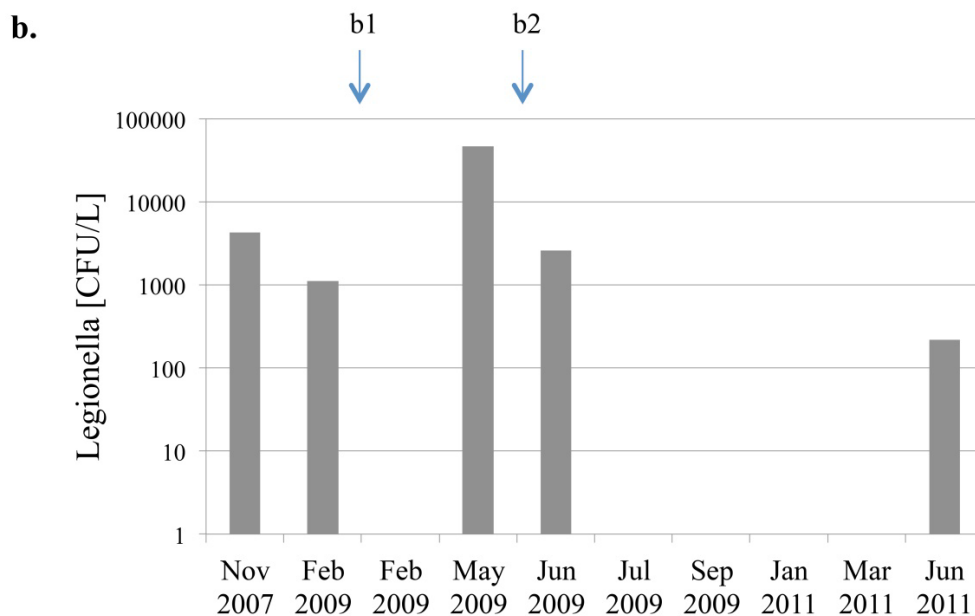
Összességében a beavatkozások hatékonysága egyértelműen pozitív volt: az első mintavételezés alkalmával vett vízminták (n=184) nagyobb valószínűséggel voltak legionellára nézve pozitívak, mint a többi minta (n=294) (70% és 56%; EH=1,8, p=0,001) és a legionella-csírászámok is magasabbak voltak (MW, p<0,001). Bár a beavatkozások után a

közegészségügyi határértéket meghaladó minták aránya közel 40%-kal csökkent, még mindig a minták egyharmadának csíraszámát volt 1000 TKE/l felett. Az első (n=78) és a további (n=57) mintavételek során vett ivóvízminták legionella-csíraszámát nem különbözött (MW, p=0,299).

A meleg víz hőmérsékletének mediánja az első mintavétel után 7 kórházban volt magasabb, azonban mindössze egy kórházban érte el az 50 °C-ot (az adatot nem mutatjuk). Az 50 és az 55 °C feletti minták aránya megduplázódott (16%-ról 33%-ra és 4%-ról 9%-ra, sorrendben). A hőmérséklet mediánja nem változott (44 °C).

Nyolc kórházban végeztek hősokk-fertőtlenítést (4. táblázat). Az eredményekből arra következtettünk, hogy a beavatkozás hatékonyan csökkentette a rendszeren belül a legionellák csíraszámát, azonban abban az esetben, ha nem ismételték meg rendszeresen, a hatása csak ideiglenes volt (2a. ábra). Egy létesítményben sikerrel alkalmaztak először sokk, majd folyamatos klór-dioxidos vegyszeres fertőtlenítést (2b. ábra). Mindkét intézkedés azonban csak akkor volt hatékony, ha azt a rendszer beállításával együtt alkalmazták.





2. ábra A kockázatkezelő beavatkozások hatása a 28. (a) és a 2. sz. kórházak (b) esetében. A nyilak a beavatkozások idejét jelzik. A 28. sz. kórházban hőfertőtlenítést végeztek 2013 októberében (a1) és 2014. februárban (a2). Később a használatimelegvíz-rendszert beszabályozták, és a használati melegvíz hőmérsékletét felemelték (a3). A 2. kórházban klór-dioxid alapú vegyszeres fertőtlenítést alkalmaztak, először sokkfertőtlenítésként (b1), majd folyamatosan adagolva (b2).

Figure 2. Efficiency of risk intervention measures in Hospital 28 (a) and Hospital 02 (b). Arrows indicate the time of interventions. In Hospital 28, heat shock disinfection was applied in October, 2013 (a1) and February, 2014 (a2). Hot water system was optimized and hot water temperature elevated subsequently (a3). In Hospital 02, chemical disinfection by ClO₂ was used, first as a shock treatment (b1), then continuously (b2).

Az egyetlen egyértelműen hatékony módszernek a legionellák eltávolítására a meleg vízből a végponti baktériumszűrők alkalmazása bizonyult. Három kórházban vezették be a baktériumszűrők alkalmazását (egy az első pozitív minta előtt, kettő utána). Mindössze egy szűrőn át vett minta (n=55) tartalmazott legionellákat ($3,0 \times 10^4$ TKE/l). Ez a kórház újrahaznosítható szűrőket használt, és a cserénél, valamint a fertőtlenítésnél nem tartották be a gyártó utasításait. A megfelelő alkalmazási gyakorlat bevezetése után valamennyi további minta negatív volt.

A nosocomialis legionellosis jelentő és nem jelentő kórházak összehasonlítása

A vizsgálat időtartama alatt 14 kórházból jelentettek feltételezett vagy bizonyosan nosocomialis legionellosis esetet vagy az első mintavétel előtt vagy utána. A megbetegedést

jelentő és nem jelentő kórházakat összehasonlítottuk annak érdekében, hogy azonosítsuk a fertőzés kialakulásához vezető lehetséges tényezőket. Néhány esetben a betegek a lappangási időben (a tünetek megjelenése előtti 2-14 napban) több kórházban is feküdtek; a vizsgálat során minden így szóba kerülő kórházat megbetegedést jelentőnek vettük a további elemzéseknél, függetlenül a járványügyi kivizsgálás eredményétől. Mind a pozitív melegvíz-minták (83% és 49%), mind az 1000 TKE/l feletti minták aránya (60% és 36%) és a legionella-csíraszám mediánja is szignifikánsan magasabb volt az esetet jelentő kórházaknál ($2,7 \times 10^3$ és $0 (<10)$ TKE/l, MW, $p < 0,001$).

A legionellakolonizáció mértéke az esetet jelentő valamennyi kórházban hasonló volt, míg az esetet nem jelentő kórházak kolonizáltsága változatos volt: a nem kolonizálttól az erősen kolonizáltig terjedt. A legmagasabb mediánt egy olyan létesítményből mértük ($>10^5$ TKE/l), amely nem volt összefüggésbe hozható jelentett esettel.

A hidegvíz-minták legionella-csíraszáma nem különbözött a két csoport esetében (medián $0 (<10)$ TKE/l mindkét csoport esetében, MW $p=0,435$).

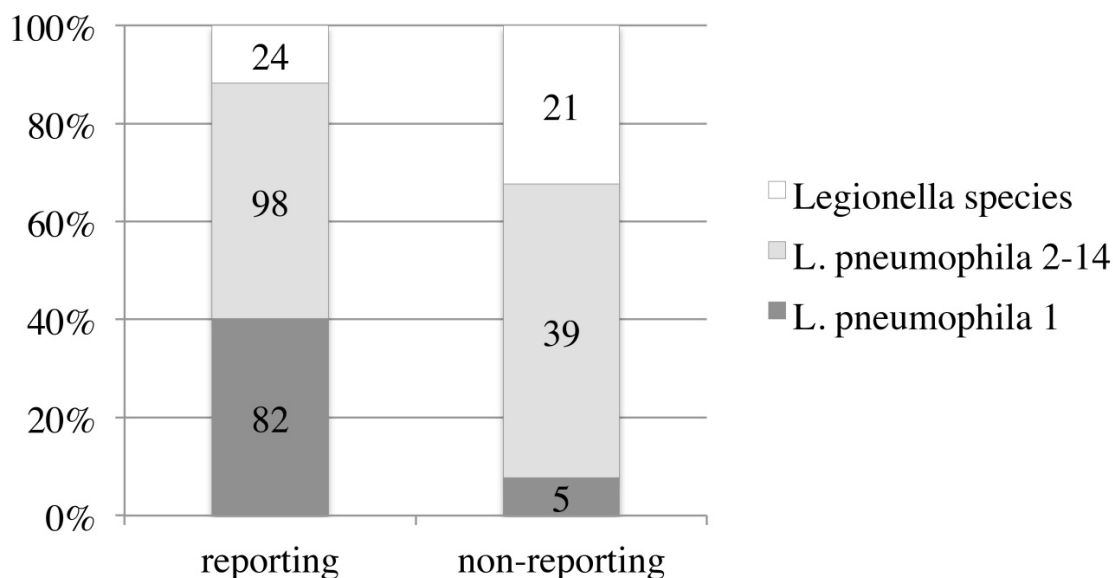
Annak érdekében, hogy feltárjuk a két csoport esetében a kolonizáció különbségének az okát, összehasonlítottuk – az előző vizsgálatok eredményei alapján – azokat a környezeti tényezőket, amelyek feltételezhetően befolyásolták a legionella-csíraszámot.

Az esetet jelentő és nem jelentő kórházak épületjellemzőikben nem különböztek egymástól. Mindkét csoportban a legtöbb létesítmény 30 évnél idősebb volt. Érdekes, hogy mindhárom új, 2000 után épült kórház összefüggésbe volt hozható nosocomialis legionellosissal. Az épületek mérete és összetettsége, a használati meleg víz előállításának módja és a használati meleg víz tárolása megegyezett a két csoportban.

A többváltozós elemzésben szignifikáns vagy kváziszignifikáns paraméterek közül a használati meleg víz hőmérséklete hasonló volt az esetet jelentő ($42,9$ °C) és nem jelentő ($41,6$ °C) kórházak esetében (MW $p=0,442$). A víz eredete nem különbözött szignifikánsan (a minták 25% és 18% volt rétegvíz eredetű). Nem különbözött az olyan épületek aránya sem a két csoport között, amelyek használatimelegvíz-rendszere másik épületével közös volt (55% és 62%). Az egyetlen paraméter, amely különbözött a két csoport esetében, az a nagy térfogatú használatimelegvíz-tárolóval rendelkező rendszerek aránya ($>2,5$ m³), ami nagyobb volt az esetet jelentő kórházak között (71% és 33%).

Az izolált *Legionella* törzsek szerotípusának megoszlása azonban alapvetően különbözött a két csoport esetében (Chi²-próba, $p < 0,001$) (3. ábra). A nosocomialis fertőzést jelentő kórházak izolátumainak 40%-a *L. pneumophila* 1-es szerotípus volt, míg az esetet nem jelentő kórházakban ez az arány csak 8%-nak bizonyult. Ez az emberi megbetegedéssel leggyakrabban összefüggésbe hozható szerotípus, az esetet jelentő kórházak 86%-ából, a nem

jelentő kórházak 56%-ából volt kimutatható. Ez az arány 57% és 35% volt a *L. pneumophila* 2-14 szerocsoportra és 14% és 19% a nem pneumophila fajokra.



3. ábra A kórházi *Legionella*-izolátumok szerotípusmegoszlása a nosocomialis legionellosis esetet jelentő és nem jelentő kórházak esetében. A törzseket a kórházak ivóvíz- és használatimelegvíz-rendszeréből izoláltuk. A tipizálást latexagglutinációval végeztük.

Figure 3. Serotype distribution of *Legionella* isolates from hospitals reporting and not reporting nosocomial legionellosis incidents. Strains were isolated from hot and cold water samples from the hospitals' distribution system. Typing was performed by latex agglutination.

Megbeszélés

A felmérést megelőzően a magyarországi használatimelegvíz-rendszerek – beleértve az egészségügyi létesítményekét is – működtetése során nem irányult figyelem a legionellafertőzés kockázatára, és célzott kockázatkezelési beavatkozásokra sem került sor. A pozitív minták magas aránya egyértelműen ennek a helyzetnek a következménye. A tapasztalt prevalenciaarányok a korábbi vizsgálatok eredményeinek (12-90%) felső szegmensébe esnek (18, 29–35). A legtöbb hasonló mintaszámú, különböző földrajzi helyekről származó (Kanada, Tajvan, USA), publikált surveillance-vizsgálat, 60-70%-os kolonizáltsági arányt írt le (18, 31, 34). Annak a kutatásnak az esetében, amelyben a fertőzöttségi arány összehasonlítható a jelen vizsgálatával, a kórházak kiválasztása nem volt véletlenszerű (35).

Az egészségügyi ellátással összefüggő legionellosis jelentési aránya az utóbbi években kevesebb volt mint 1/1 millió lakos/év (9). A megfigyelt kolonizációs arány alátámasztja azt a feltételezést, miszerint a valós incidencia erősen alulbecsült. A vizsgálat időpontjában a

kockázatértékelés alacsony szintje és a környezeti monitoring hiánya miatt diagnosztikus vizsgálatokat rutinszerűen nem folytattak legionellák irányába. ²

Sok kórházban megfelelőek a körülmények a legionellák elszaporodásához: a létesítmények nagy része vagy nagy, összetett épület, vagy gyakran hagyományos „pavilon rendszerű”, amelyekben több, különböző időben épült, de gyakran száz évnél régebbi épület nagy területen elosztva helyezkedik el.

A használatimelegvíz-rendszer emiatt általában nagy kiterjedésű, elavult és a használatimelegvíz-tárolók is nagyméretűek. A rendszeren belüli nagy hőmérséklet-különbség vagy nem megfelelő cirkulációra (vagy egyes esetekben a cirkuláció hiányára) vagy alacsony áramlású és pangó részek jelenlétére utal. A használati melegvíz hőmérséklete általában szándékosan – energia- és költséghatékonysági okból és a vízkőképződés megakadályozása érdekében – alacsony (<45 °C). A vizsgált kórházak egyike sem felelt meg az európai ajánlásoknak, miszerint a tárolt használati meleg víz hőmérséklete legyen 60 °C-nál magasabb, a hőmérsékletesítés 5 °C-nál alacsonyabb, amiből az következik, hogy a használati meleg víz hőmérséklete a teljes rendszerben 55 °C felett van (36). Az alacsony kiindulási hőmérséklet miatt még az új és megfelelően szabályozott rendszerek sem kielégítően biztonságosak. A vizsgált kórházak közül a három legújabb (10 évnél fiatalabb a mintavétel időpontjában) is erősen szennyezett volt *L. pneumophila* 1-es szerotípussal, és mindháromból jelentettek is nosocomialis legionellosis esetet.

Valamennyi vizsgált kórházban a jelen felmérés alkalmával történt az első vizsgálat legionellák jelenlétére, mivel a rutin környezeti surveillance nem terjed ki erre a paraméterre. A vizsgálatot követő beavatkozások – amelyeket nosocomialis fertőzés jelentése után a járványügyi kivizsgálás részeként a népegészségügyi hatóságok követeltek meg, vagy felismert eset hiányában önkéntes alapon történtek – általában nem tudták eltávolítani a legionellákat a rendszerből, és csak akkor történt jelentős csíraszámcsökkenés, ha a különböző beavatkozási intézkedéseket együttesen alkalmazták. Leggyakrabban hőfertőtlenítést végeztek, amelynek azonban a hatékonysága általában alacsony (1-2 nagyságrend csíraszámcsökkenést ért el), és hatása átmeneti volt, ha más beavatkozás nélkül, önmagában alkalmazták. A hőfertőtlenítés költségigénye és a nehéz kivitelezhetősége mellett további akadályt jelent, hogy alkalmazása esetén a régebbi vezetékek gyenge műszaki

² A vizsgálati periódus után, 2015. novemberében megjelent az EMMI 49/2015 (XI./6.) rendelete a legionellák által okozott fertőzési kockázatot jelentő közegekre, illetve létesítményekre vonatkozó közegészségügyi előírásokról, amely az egészségügyi létesítményeket fokozott legionellafertőzési kockázatot jelentő létesítményeknek minősíti, és mint ilyenekre kockázatértékelési és a használati meleg víz tekintetében kötelező legionellavizsgálati kötelezettséget ró. Azon egyéb közegek – pl. ivóvíz – esetében is kötelező a vízvizsgálat, amelyek esetében a rendelet szerinti kockázatértékelés magas kockázatot állapít meg.

állapota miatt gyakoriak lehetnek a csőtörések. Egy létesítmény sikeresen alkalmazott folyamatos klór-dioxidos fertőtlenítést, annak ellenére, hogy az első vegyszeres sokkfertőtlenítés hatására nagymértékben megemelkedett a legionellák csíraszama a biofilm szerkezetében bekövetkezett változás miatt. A használati meleg víz hőmérsékletének emelése (legalább 50 °C a teljes rendszerben) szintén alacsonyabb csíraszámhoz vezetett.

A fenti beavatkozások csak azokban az esetekben voltak sikeresek, amikor a rendszer felülvizsgálatával, beállításával, szükség esetén a pangó szakaszok megszüntetésével és a cirkuláció optimalizálásával, szükség esetén a vízvezeték átalakításával is együtt jártak. A vízvezeték cseréje önmagában nem hatékony, mivel általában az az alapvezeték nem terjed ki, és ahogy a jelen eredmények is mutatják, kolonizáció viszonylag rövid idő alatt is kialakulhat.

Valamennyi egészségügyi intézmény fokozott fertőzési kockázatot jelentő létesítménynek számít a nem megfelelő immunállapotú betegek magas aránya miatt, azonban egyes osztályok még érzékenyebbek (pl. intenzív terápiás osztály, hematológia, transzplantációs osztályok). Jelen vizsgálat eredményei szerint nincs különbség a kritikus és az egyéb kórházi pontokon vett minták között. A végponti baktériumszűrőket általában a legkritikusabb pontokon kezdték alkalmazni. Ez bizonyult a leghatékonyabb és azonnal hatásos megelőző intézkedésnek abban az esetben, ha használatuk és cseréjük megfelelően történt.

A nosocomialis megbetegedésekkel összefüggésbe hozott kórházakban általában a használati meleg víz volt valószínűsíthető a fertőzés forrásaként. Ezekben a kórházakban mind a legionella-csíraszám, mind a *L. pneumophila* 1-es szerotípus előfordulási gyakorisága magasabb volt, mint a vizsgálat számára véletlenszerűen kiválasztott kórházak esetében. A *L. pneumophila* 1-es szerotípusát tartják általában a legvirulensebbnek, mivel ez felelős a felismert esetek többségéért. Azonban ezt az összefüggést torzíthatja az a tény, hogy a rutinszerűen alkalmazott klinikai vizeletvizsgálatok csak a *L. pneumophila* 1-es szerotípusának antigénjeit azonosítják.

Jelen vizsgálat nem talált olyan környezeti tényezőt, amely magyarázatot jelenthet erre az eltérésre. Számos paraméter befolyásolja ugyan a *Legionella* baktériumra pozitív minták arányát vagy a magas csíraszámot (mint pl. a sérülékeny ivóvízbázis; a használatimelegvíz-rendszer hossza és összetettsége), egyik sem különbözött az esetet jelentő és nem jelentő kórházakban. Még a használati meleg víz hőmérséklete is, amelyet a legionellakolonizáció legfőbb befolyásoló tényezőjeként azonosítottunk, hasonló volt a két csoport esetén. Feltételezésünk szerint valamennyi vizsgált kórház kockázatot jelent a megfelelő üzemelési

gyakorlat hiánya miatt, és sokszor véletlenszerű tényezők, mint pl. a kolonizáló törzs virulenciája, határozza meg a valós kockázatot.

Jelen vizsgálat a korábbi kutatások eredményeivel összhangban arra mutat rá, hogy az egészségügyi létesítmények használatimelegvíz-rendszerei a nosocomialis legionellosis komoly fertőzési forrásai lehetnek (32, 37). Ennek ellenére a tapasztalatok azt mutatják, hogy az üzemeltetés során még mindig nem számolnak a kockázattal, és a pozitív minták kézhezvétele utáni ad hoc intézkedések általában nem hatékonyak eléggé. Jelen vizsgálat eredményei alapján egy jogszabályi ajánlás készült egészségügyi létesítmények számára a megfelelő kockázatbecslési és kockázatkezelési intézkedések végrehajtására a legionellákra vonatkozóan, amelyeknek része a rendszeres környezeti monitoring is.³

Következtetések

A magyarországi egészségügyi létesítmények a mintavételek időpontjában a legionellákra vonatkozó kockázat figyelembevétele nélkül működtek, ami együtt jár azzal, hogy a használatimelegvíz-rendszerek üzemeltetése nem volt megfelelő. A használati meleg víz hőmérséklete részben a vízkövesedés megakadályozása és energiahatékonysági okok miatt, részben a hálózaton belüli nem megfelelő áramlás miatt alacsony. Ez az alacsony hőmérséklet szélsőségesen magas kolonizáltsági arányokkal jár. A kolonizáltság foka gyakran magasabb is, mint a nemzetközileg elfogadott közegészségügyi beavatkozási határérték. Egyéb tényezők, mint a sérülékeny forrásból származó ivóvíz és a használatimelegvíz-rendszer összetettsége súlyosbítják a veszélyt. Bár a vízhálózat korát is kockázati tényezőként azonosítottuk, megfelelő kockázatkezelési intézkedések nélkül az új hálózatok is gyorsan szennyeződhetnek.

Azon kórházak esetében, ahonnan jelentettek nosocomialis legionellosist, mind a legionella-csíraszám, mind a virulens típusok aránya magasabb volt. Mindazonáltal jelen vizsgálatban nem tudtunk egyetlen olyan környezeti tényezőt sem azonosítani, ami magyarázná ezt az eltérést. A célzott eseti kockázatcsökkentő intézkedések általában nem voltak kellően hatékonyak a kolonizáció megszüntetése érdekében; szignifikáns csíraszámcsökkentés csak akkor volt elérhető, ha következetes és hosszú távú intézkedéseket alkalmaztak.

³ Ez az ajánlás képezte alapját az EMMI 49/2015 (XI./6.) rendeletének a *Legionella* baktériumok által okozott fertőzési kockázatot jelentő közegekre, illetve létesítményekre vonatkozó közegészségügyi előírásokról.

Jelen eredmények hívták fel a figyelmet a nemzeti szabályozás bevezetésének szükségességére; a rendszeres legionellamonitoring a kockázatbecslés és a kockázatkezelés bevezetése céljából elengedhetetlen Magyarország valamennyi egészségügyi létesítményében annak érdekében, hogy egy ez idáig alábecsült nosocomialis megbetegedés kockázatérzékelése növekedjen, és ezzel együtt csökkenjen a fertőzések valós száma.

Köszönetnyilvánítás:

A szerzők ezúton mondanak köszönetet az Országos Közegészségügyi Intézet (jelenleg Nemzeti Népegészségügyi Központ) Vízhigiénés Osztályának és a vizsgálatban részt vevő kórházak munkatársainak.

Nyilatkozat:

A cikk végleges változatát valamennyi szerző elolvasta és jóváhagyta, valamint hozzájárult a megjelenéshez.

Anyagi támogatás:

A vizsgálatok lefolytatásához szükséges anyagi támogatást részben az Európai Unió biztosította (GVOP-3.1.1-2004-05- 0517/3.0).

Érdekeltségek: A szerzőknek nincsenek a tartalmat érintő érdekeltségeik.

Szerzői munkamegosztás:

BZs, KM, VM: a hipotézisek kidolgozása

BZs, KM, KE, RE, SchSzA, VM: a vizsgálat lefolytatása

BZs, VM: statisztikai elemzések

BZs, VM: a kézirat megszüvegezése

IRODALOM

REFERENCES

1. *Murder RR, Yu VL, McClure JK, et al.* Nosocomial legionnaires' disease uncovered in a prospective pneumonia study: Implications for underdiagnosis. *JAMA.* 1983;249:3184-3188. doi:10.1001/jama.1983.03330470024025
2. National Center for Epidemiology (OEK): Hungarian Guideline on Legionnaires' Disease and its Prevention. *Epinfo.* 2007;14.
3. VROM. The Netherlands Ministry of Housing. Modelbeheersplan Legionellapreentie in Lidingwater Distribution No. 16827, 2002
4. Legionnaires' Disease – A Guide for Employers. London. United Kingdom: Health and Safety Executive, 2004. <http://www.hse.gov.uk/pubns/iacl27.pdf> Elérve: 2018. 05. 12.
5. Ministère de la Santé et des Solidarités: L'eau dans les Établissements de Santé - guide technique, France, 2005 http://www.sante.gouv.fr/htm/dossiers/eau_etabs/accueil.htm Elérve: 2018. 05. 12.
6. Deutscher Verein des Gas- und Wasserfaches: Arbeitsblatt W 551. Trinkwassererwärmungs- und Leitungsanlagen; Technische Maßnahmen zur Verminderung des Legionellenwachstums; Planung, Errichtung, Betrieb und Sanierung von Trinkwasser-Installationen. Deutscher Verein des Gas- und Wasserfaches, Germany, 2004
7. *Exner M, Kramer A, Lajoie L, et al.* Prevention and control of health care-associated waterborne infections in health care facilities. *Am J Infect Control.* 2005;33:26-40. doi: 10.1016/j.ajic.2005.04.002
8. *Exner M, Hartemann P, Lajoie L.* Health-care facilities. In: Bartram J, Chartier Y, Lee JV, et al (eds.). *Legionella and the prevention of legionellosis.* World Health Organization, Geneva, Switzerland, 2007. p. 89-102. doi: 10.3201/eid1406.080345
9. ECDC: Legionnaires' disease in Europe, 2013, 1st Edition. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), Stockholm, Sweden, 2015. doi: 10.2900/203078
10. *García-Fulgueiras A, Navarro C, Fenoll D, et al.* Legionnaires' disease outbreak in Murcia, Spain. *Emerg Infect Dis.* 2003;9:915-921. doi:10.3201/eid0908.030337
11. *Fisher-Hoch SP, Bartlett CL, Tobin JO, et al.* Investigation and control of an outbreaks of legionnaires' disease in a district general hospital. *Lancet.* 1981;1:932-936.
12. *Meenhorst PL, Reingold AL, Groothuis DG, et al.* Water-related nosocomial pneumonia caused by *Legionella pneumophila* serogroups 1 and 10. *J Infect Dis.* 1985;152:356-364.
13. *Colville A, Crowley J, Dearden D, et al.* Outbreak of Legionnaires' disease at University Hospital, Nottingham. *Epidemiology, microbiology and control.* *Epidemiol Infect.* 1993;110:105-116.

14. *Knirsch CA, Jakob K, Schoonmaker D, et al.* An outbreak of *Legionella micdadei* pneumonia in transplant patients: evaluation, molecular epidemiology, and control. *Am J Med.* 2000;108:290-295. doi: [https://doi.org/10.1016/S0002-9343\(99\)00459-3](https://doi.org/10.1016/S0002-9343(99)00459-3)
15. *Berthelot P, Grattard F, Ros A, et al.* Nosocomial legionellosis outbreak over a three-year period: investigation and control. *Clin Microbiol Infect.* 1998;4:385-391. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.1998.tb00082.x>
16. *Visca P, Goldoni P, Luck PC, et al.* Multiple types of *Legionella pneumophila* serogroup 6 in a hospital heated-water system associated with sporadic infections. *J Clin Microbiol.* 1999;37:2189-2196.
17. *Campins M, Ferrer A, Callis L, et al.* Nosocomial Legionnaire's disease in a children's hospital. *Pediatr Infect Dis J.* 2000;19:228-234.
18. *Stout JE, Muder RR, Mietzner S, 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;28:818-824. doi: 10.1086/518754
19. *Serrano-Suarez, A., Dellunde, J., Salvado, H. et al.* Microbial and physicochemical parameters associated with *Legionella* contamination in hot water recirculation systems. *Environ Sci Pollut Res Int.*, 2013, 20 (8) 5534-44. doi: 10.1007/s11356-013-1557-5
20. *Stout JE, Yu VL, Best MG.* Ecology of *Legionella pneumophila* within water distribution systems. *Appl Environ Microbiol.* 1985;49:221-228.
21. *Rogers J, Dowsett AB, Dennis PJ, et al.* 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;60:1585-1592 .
22. *Zacheus OM, Martikainen PJ.* Occurrence of legionellae in hot water distribution systems of Finnish apartment buildings. *Can J Microbiol.* 1994;40:993-999.
23. *Straus WL, Plouffe JF, File TM Jr, et al.* Risk factors for domestic acquisition of legionnaires disease. Ohio Legionnaires Disease Group. *Arch Intern Med.* 1996;156:1685-1692. doi:10.1001/archinte.1996.00440140115011
24. *Arnow PM, Chou T, Weil D, et al.* Nosocomial Legionnaires' disease caused by aerosolized tap water from respiratory devices. *J Infect Dis.* 1982;146:460-467.
25. European Surveillance Scheme for Travel Associated Legionnaires' Disease and the European Working Group for *Legionella* Infections (EWGLI). European guidelines for control and prevention of travel associated Legionnaires' disease, http://www.ewgli.org/public_info/publicinfo_european_guidelines.asp Elérve: 2005. 07. 13.
26. ISO 5667-5:2006. Water quality - Sampling - Part 5: Guidance on sampling of drinking water from treatment works and piped distribution systems. Geneva, Switzerland: International Standard Organization.
27. ISO 19458:2006. Water quality - Sampling for microbiological analysis. Geneva, Switzerland: International Standard Organization.

28. ISO 11731-2:2004. Water quality - Detection and enumeration of Legionella - Part 2: Direct membrane filtration method for waters with low bacterial counts. Geneva, Switzerland: International Standard Organization.
29. Liu WK, Healing DE, Yeomans JT, et al. Monitoring of hospital water supplies for Legionella. *J Hosp Infect.* 1993;24:1-9. [https://doi.org/10.1016/0195-6701\(93\)90084-D](https://doi.org/10.1016/0195-6701(93)90084-D)
30. Patterson WJ, Hay J, Seal DV, et al. Colonization of transplant unit water supplies with Legionella and protozoa: precautions required to reduce the risk of legionellosis. *J Hosp Infect.* 1997;37:7-17. [https://doi.org/10.1016/S0195-6701\(97\)90068-2](https://doi.org/10.1016/S0195-6701(97)90068-2)
31. Yu PY, Lin YE, Lin WR, 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;12:416-420. doi: 10.1016/j.ijid.2007.11.008
32. Sabria M, Modol JM, Garcia-Nunez M, 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;25:1072-1076. doi: 10.1086/502346
33. Marrie T, Green P, Burbridge S, et al. Legionellaceae in the potable water of Nova Scotia hospitals and Halifax residences. *Epidemiol Infect.* 1994;112:143-150. doi: <https://doi.org/10.1017/S0950268800057502>
34. Alary M, Joly JR. Factors contributing to the contamination of hospital water distribution systems by legionellae. *J Infect Dis.* 1992;165:565-569.
35. Kool JL, Bergmire-Sweat D, Butler JC, 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. doi: 10.1086/501587
36. Members of the European Surveillance Scheme for Travel Associated Legionnaires' Disease (EWGLINET) and the European Working Group for Legionella Infections (EWGLI): European Guidelines for Control and Prevention of Travel Associated Legionnaires' Disease. 2005.
37. Joly J, Alary M. Occurrence of nosocomial Legionnaires' disease in hospitals with contaminated potable water supply. In: Barbaree JM, Breiman RF, Dufour AP (eds.). *Legionella: current status and emerging perspectives.* American Society for Microbiology, Washington DC, USA, 1993. p. 39-40.