

# POTENCIJALNI OKOLIŠNI IZVORI INFEKCIJE LEGIONELAMA

---

Kristić, Iva

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:349395>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-01**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



SVEUČILIŠTE U RIJECI  
MEDICINSKI FAKULTET  
PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ  
SANITARNOG INŽENJERSTVA

Iva Kristić

POTENCIJALNI OKOLIŠNI IZVORI INFEKCIJE LEGIONELAMA

Završni rad

Rijeka, 2020.

## Sažetak

Bakterije iz porodice *Legionellaceae* jedni su od najčešćih uzročnika atipičnih upala pluća. *L. pneumophila*, zajedno s *L. longbeachae*, uzročnik je 90% infekcija bakterijama iz roda *Legionella*.

Bakterije iz ove porodice su ubikvitarne pa ih možemo pronaći i u antropogenim i u biogenim sustavima. Izolirane su iz različitih izvora u okolišu poput rijeka, mora i tla. Legioneloze predstavljaju značajan javnozdravstveni problem, a na njihovom suzbijanju se aktivno radi. Unatoč svim naporima legioneloze, u koje ubrajamo legionarsku bolest i pontijačku groznicu, se često ne dijagnosticiraju, a ukoliko se dijagnoza postavi, izvor zaraze u većini slučajeva ostaje nepoznat. Već niz godina poznati su nam klasični izvori infekcije poput rashladnih tornjeva, bazena s pjenom, sljepih završetaka cijevi, ovlaživača zraka i slično. Osobit problem predstavlja biofilm koji se stvara u takvom okruženju. Legionele parazitiraju u amebama, što ih čini otpornijima na dezinfekciju. Postoje mnoge preventivne mjere koje se provode za suzbijanje razmnožavanja legionela i sprječavanje obolijevanja od legioneloza.

U ovom radu skupljeni su podaci iz istraživanja vezanih za prisutnost legionela u kompostu i mješavinama tla, kišnici, termalnim izvorima, moru i otpadnim vodama. Također, kod izvora gdje je zabilježena zaraza, obrađeni su pojedinačni prikazi slučajeva. Za sve navedene izvore, osim mora, zabilježeni su slučajevi obolijevanja. Za razliku od uobičajenih izvora zaraze, točan put prijenosa i mjere suzbijanja za većinu okolišnih izvora nisu detektirani. Ovo istraživanje pokazalo je veliku rasprostranjenost legionela u okolišu te potrebu za daljnim istraživanjima njihovih potencijalnih staništa.

## Abstract

Bacteria from the *Legionellaceae* family are one of the most common causative agents of atypical pneumonia. *L. pneumophila*, together with *L. longbeachae*, is the cause of 90% of infections with bacteria of the genus *Legionella*. Bacteria from these families are ubiquitous and can be found in anthropogenic and biogenic systems. They are isolated from various environmental sources such as rivers, sea and soil. Legionellosis is a significant public health problem, and we are actively working to combat it. Despite all the efforts legionellosis, which includes legionnaires' disease and pontiac fever, are often undiagnosed, and when a diagnosis is set, the source of the epidemic often remains unknown. For many years, we have known classic sources of infections such as cooling towers, foam pools, blind pipe ends, humidifiers and others. A particular problem is the biofilm that forms in such environment. *Legionella* parasitize in amoebae, which makes it resistant to disinfection. There are many preventive measures that are implemented to suppress the reproduction of legionella and prevent the disease of legionellosis.

This paper collects data from research related to the presence of legionella in compost and soil mixtures, rainwater, thermal springs, sea and wastewater. Also, for sources where cases were recorded, individual case reports have been explained. For all listed sources, except the sea, cases of the disease have been reported. Unlike conventional sources of legionellosis, accurate transmission pathways and control measures for most environmental sources are not detected.

This research showed the high prevalence of *Legionella* in the environment and the need for further research into potential *Legionella* habitats.

# Sadržaj

Sažetak .....	2
1. Uvod .....	5
1.1 Značajke Legionella .....	5
1.2 Patogeneza .....	7
1.3 Legionarska bolest i pontijačka groznica .....	8
1.4 Dijagnostika .....	9
1.5 Epidemiologija bolesti .....	10
1.6 Legionela u biofilmu .....	11
1.7 Životni ciklus u drugim mikroorganizmima .....	13
1.8 Rashladni tornjevi .....	13
1.9 Vodoopskrbni sustav .....	14
1.10 Fontane i ovlaživači zraka .....	15
1.11 Preventivne mjere .....	15
2. Cilj istraživanja .....	17
3. Materijali i metode .....	18
4. Rezultati .....	19
4.1 Kompost i mješavina tla .....	19
4.2 Kišnica .....	20
4.3 Termalni izvori .....	21
4.4 More .....	23
4.5 Otpadne vode .....	24
5. Rasprava .....	28
6. Zaključak .....	33
7. Literatura .....	34
8. Životopis .....	40

# 1. Uvod

## 1.1 Značajke *Legionella*

Bakterije iz roda *Legionella* uzročnici su bolesti poput pontijačke groznice i legionarske bolesti koja se najčešće očituje u obliku upale pluća. Ovi gram negativni, fakultativni unutarstanični i oportunistički patogeni predstavljaju veliki javnozdravstveni problem današnjice, a pretpostavlja se da će u budućnosti problem infekcija uzrokovanih bakterijama ovog roda biti još i veći. Legionele i infekcije koje one uzrokuju su, u usporedbi s nekim drugim bakterijama, relativno nedavno opisane. Otkrivene su tek nakon velike epidemije u Philadelphiji 1977.godine koja se dogodila na skupu američkih legionara, po čemu je vrsta i dobila ime. Ipak, pretpostavlja se da su se kroz povijesti, a osobito u 20.stoljeću, zbile mnoge epidemije uzrokovane legionela samo što je uzročnik tada bio nepoznat. Najbolje opisani i istraženi predstavnik vrste jest *Legionella pneumophila*. Zajedno s *L. longbeachae* uzročnik je 90% infekcija bakterijama iz roda *Legionella*. Osim dvije navedene bakterije, kod bolesnika su izolirane i *L. bozemanii*, *L. micdadei*, *L. dumoffii*, *L. feeleii*, *L. wadsworthii*, te *L. anisa*. (1) (2)

*Legionella pneumophila* podijeljena je u 16 serogrupa. Legionarsku bolest dominantno uzrokuje serogrupa 1. (3) Zabilježeni su i slučajevi zaraze serogrupama 2-13. (2) Trenutno je dokazano više od 40 vrsta i 60 različitih antigenih tipova legionela.

Legionele su tanki, pleomorfni, Gram-negativni bacili, veličine 2-20 µm, smještene su intracelularno. Vrlo su rezistentne, podnose temperature između 6° i 63°C, a pH od 5 do 8,3. Mogu tvoriti filamentne oblike na agaru, građa membrane je ista kao i kod ostalih Gram-negativnih bakterija (lipopolisaharid, lipoproteini i fosfolipidi), a važno je napomenuti da legionela nema

staničnu stijenku. Upravo joj neposjedovanje stanične stijenke daje karakteristična patogenetska i klinička obilježja te otpornost prema betalaktamskim antibioticima. (4) Može se razmnožavati u makrofagima, a pritom izbjegava fagocitozu. Ima pile (fimbrije) i najčešće polarnu monotrihu flagelu, što joj omogućuje lakšu adeherenciju i pokretljivost. Iako se vrlo lako razmnožava u prirodi, teško ju je u kultivirati u laboratorijskim uvjetima. Za rast su joj potrebni L-cistein i željezo, a kao izvor energije koristi aminokiseline. Za kultivaciju se najčešće koristi BCYE (buffer charcoal yeast extract) agar. (5) Ekstrakt kvasca služi kao izvor proteina (aminokiselina), a aktivni ugljen uklanja vodikov peroksid koji je toksičan za legionele. Pozitivnim porastom smatraju se okrugle, blago ispupčene kolonije, bijelo-sive boje i pravilnog ruba.

*Legionella* je ubikvitarna bakterija, u prirodi se nalazi u moru i jezerima pa čak i u tlu. Optimalne uvjete za rast pronalazi u protozoama, kao što su amebe (*Tetrahymena*, *Cyclidium* spp., *Acanthamoeba* itd.) koje se nalaze u mikrobnom biofilmu. To predstavlja problem s obzirom da su sustavi grijanja, hlađenja, bazeni i drugi sustavi koji dolaze u doticaj s vodom osobito pogodna mjesta za stvaranje biofilma. (6)



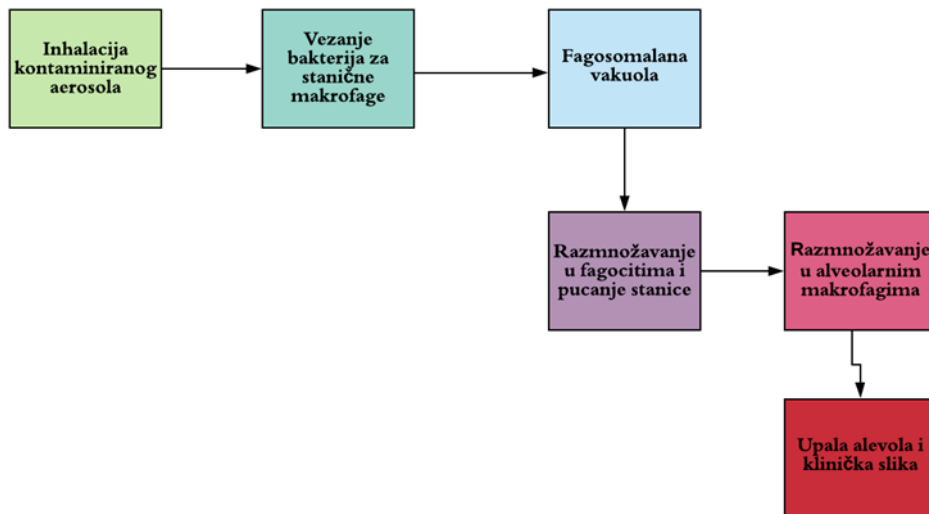
Slika 1. Pozitivan porast legionela na BCYE agaru (izvor: <https://microbeonline.com/buffered-charcoal-yeast-extract-bcye-agar-composition-uses-colony-characteristics/>)

## 1.2 Patogeneza

Čovjek se najčešće zarazi kada udahne aerosol kontaminiran legionelama, ali postoje i slučajevi zaraze putem vlažne zemlje i jedan slučaj prijenosa sa čovjeka na čovjeka.

Nakon udisaja kontaminiranog aerosola, bakterije se vežu na stanične makrofage i ulaze u fagosomalnu vakuolu. Bakterije sprječavaju zakisljevanje fagolizosoma i tako preživljavaju. Bakterije se razmnožavaju u fagocitima, a porastom broja bakterija dolazi do puknuća stanice domaćina. Tada se bakterijske stanice oslobode i imaju uvjete za daljnje razmnožavanje i infekciju ostalih stanica domaćina. (7)

Legionela u tijelu ulazi u alveolarne makrofage i u njima se razmnožava. To uzrokuje nakupljanje neutrofila, monocita i bakterijskih enzima, što dovodi do upale alveola i uzrokuje karakterističnu kliničku sliku legioneloza. (5)



Slika 2. Shema redosljeda događanja kod infekcije legionelama



### *1.3 Legionarska bolest i pontijačka groznica*

Sve infekcije uzrokovane legionelama nazivaju se legioneloze. Simptomi mogu biti blagi, slični gripi i tada govorimo o pontijačkoj groznici, a u težim slučajevima javlja se legionarska bolest.

Pontijačka groznica je legioneloza čiji su simptomi glavobolja, visoka temperatura, gubitak snage, proljev i povraćanje. Bolest nije opasna, vrlo često prolazi nezamijećeno. Inkubacija je kratka (do 3 dana). Pontijačka groznica najčešće ne ostavlja teže posljedice za bolesnike, samolimitirajuća je i u većini slučajeva ne zahtijeva liječenje.

Legionarska bolest je također legioneloza. Očituje se kao teška atipična upala pluća, uzročnik je najčešće *Legionella pneumophila* serogrupe 1. Vrijeme inkubacije iznosi od 2-10 dana, bolesnik prvo primjećuje opće simptome poput povišene temperature i glavobolje. Kako se bolest razvija i simptomi se pogoršavaju, uz opće simptome pojavljuju se suhi kašalj i poteškoće pri disanju. Na rendgenskoj slici pluća uočavaju se nepravilnosti u vidu nakupljanja tekućine. Legionarska bolest se liječi antibioticima, vrijeme oporavka ovisi od osobe do osobe, ali u većini slučajeva simptomi potpuno prestaju tek nakon 12 tjedana.

Uz upalu pluća može se pojaviti i ekstrapulmonalni sindrom kada se *Legionella* širi krvlju po cijelom tijelu.

U najtežim slučajevima legionarska bolest može imati i smrtan ishod. Kao i kod većine drugih bakterija, infekcija je osobito opasna kod starijih i imunookompromitiranih jer se kod osoba iz ovih rizičnih skupina često razviju najteži oblici bolesti, samim time je i smrtnost unutar tih skupina najveća. O važnosti otkrivanja izvora zaraze legionelom govori i podatak da su u SAD-u legioneloze najčešće od svih bolesti koje se prenose vodom. (6)

## 1.4 Dijagnostika

Legionarsku bolest nije lako dijagnosticirati zbog sličnosti sa simptomima upale pluća uzrokovanim drugim patogenima, a teška kultivacija i nedovoljna osvještenost okoline samo su neki od razloga zašto je tome tako. Kod pojave simptoma upale pluća uobičajeno se radi rendgenski snimak pluća. Iznimno je važno pravovremeno dijagnosticirati legionarsku bolest s obzirom da davanje odgovarajućeg antibiotika u ranoj fazi bolesti može uvelike utjecati na njen pozitivan ishod. Također, s epidemiološkog aspekta, što prije detektiramo bolest prije možemo pronaći njen izvor i tako spriječiti daljnje obolijevanje i moguću epidemiju.

Danas se za dokazivanje legionarske bolesti radi detekcija antigena u urinu. Test je vrlo osjetljiv i odmah dobivamo podatke i o serotipu. Do poteškoća dolazi kada imamo legionelozu iz bolničkog izvora, a kao i svi ostali testovi problem predstavljaju i lažno negativni rezultati. Uz detekciju antigena koriste se i druge metode poput PCR-a, serološke metode ili imunofluorescencijske metode detekcije.



Slika 3. Radiogram pluća pacijentice oboljele od legionarske bolesti

(izvor: <https://radiopaedia.org/cases/legionella-pneumonia>)

## *1.5 Epidemiologija bolesti*

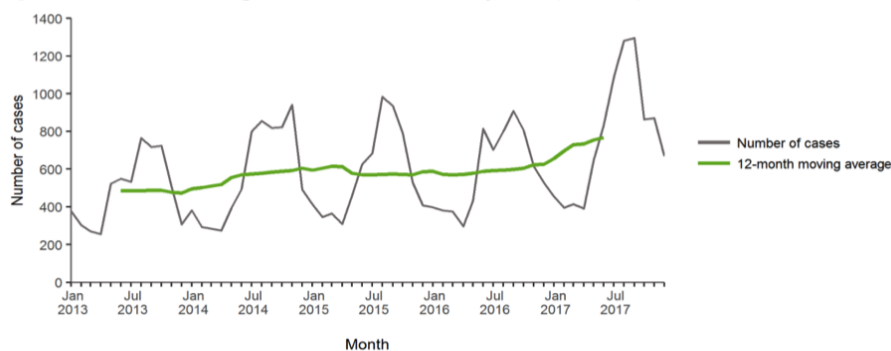
Infekcije legionelom je teško otkriti, simptomi legionarske bolesti se ne razlikuju od upale pluća uzrokovane drugim patogenima te je upravo to razlog relativno malog broja prijavljenih slučajeva zaraze.

U Europi je u 2017. od legionarske bolesti oboljelo 8 624 ljudi što čini porast od 30% u odnosu na 2016. godinu. (8) Samo se u Njemačkoj prijavi od 600 do 900 slučajeva godišnje, a znanstvenici pretpostavljaju da taj broj iznosi samo 5% od svih slučajeva infekcije legionelama (9). Smatra se da je stvaran broj oboljelih i umrlih od bolesti uzrokovanih bakterijama iz ovog roda zapravo znatno veći. Od iznimne je važnosti istražiti izvore legionela i moguće načine zaraze s obzirom da su sve češći slučajevi epidemija u ustanovama poput bolnica i lječilišta u kojima u najvećem broju borave osobe koje spadaju u rizične skupine, upravo iz tog razloga tamo se u najvećem broju javljaju teški slučajevi upale pluća pa i smrt. (10)

Najveći broj slučajeva pojavljuje se u ljetnim mjesecima, za vrijeme turističke sezone, ali slučajevi se bilježe tijekom cijele godine. Bolest više pogađa muškarce, a s dobi raste i rizik od zaraze. Pušači i imunokompromitirane osobe imaju veći rizik od obolijevanja. (8)

Rashladni tornjevi, bazeni s pjenom, ovlaživači zraka i perlatori na slavinama i tuševima samo su neki od brojnih izvora zaraze legionelama. Aerosol koji se stvara u takvim sustavima najčešći je izvor infekcije. Postoje brojne preventivne mjere koje se provode za suzbijanje legionela.

**Figure 2. Distribution of Legionnaires' disease cases by month, EU/EEA, 2013–2017**



Source: Country reports from Austria, Belgium, Bulgaria, the Czech Republic, Cyprus, Denmark, Estonia, Finland, France, Germany, Greece, Hungary, Ireland, Italy, Latvia, Lithuania, Luxembourg, Malta, the Netherlands, Norway, Poland, Portugal, Romania, Slovakia, Slovenia, Spain, Sweden and the United Kingdom.

Slika 4. Raspodjela slučajeva po mjesecima za zemlje EU/EEA, 2013-2017

(izvor: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/legionnaires-disease-annual-epidemiological-report-2017>)

### 1.6 *Legionella* u biofilmu

Kao i mnoge druge bakterije, legionele se udružuju u zajednice s drugim mikroorganizmima. Sluzave, tanke slojeva nakupina bakterija i drugih mikroorganizmima nazivamo biofilmom. Biofilm se može stvarati na biotičkim i abiotičkim površinama. Ako se radi o antropogenim vodenim sustavima, materijal ima vrlo važnu ulogu u nastanku biofilma. Legionele se vrlo lako pričvršćuju za plastične materijale koji se često koriste za vodoopskrbne sustave. S druge strane, ne mogu formirati biofilm na bakrenim površinama. (11)

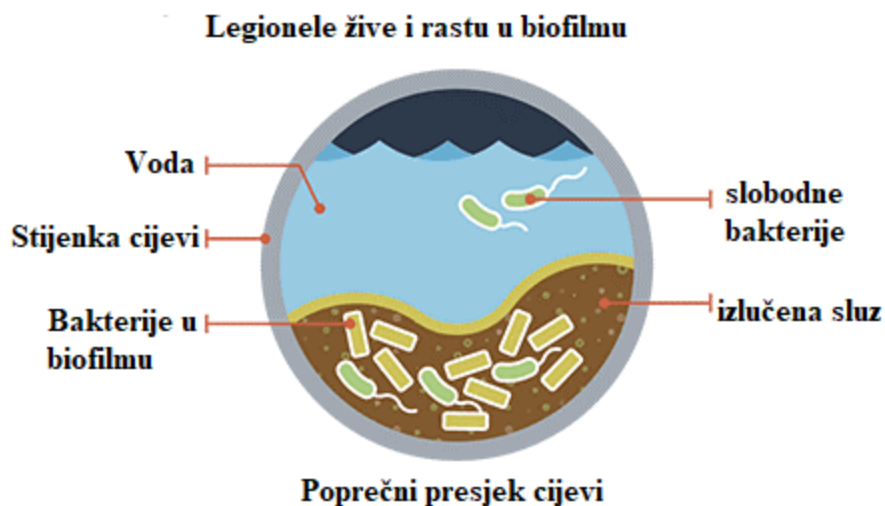
Legionele se najčešće udružuju u biofilm s protozoama, vrlo često amebama. Unutar takvih zajednica, amebe često „stružu“ po površini bakterija (tako se hrane), upravo taj fenomen legionele iskorištavaju za ulazak i repliciranje u amebama.

Osim protozoa, legionele se nalaze i biofilmovima sa ostalim bakterijama. Bakterije koje promiču rast legionela su *Flavobacterium breve* i neke vrste cijanobakterija, one služe kao izvor nutrijenata.

U *in vitro* uvjetima *L. pneumophila* dobro raste na ostacima bakterije *Pseudomonas putida* ubijene toplinom. (12)

*L. pneumophila* producira surfaktant koji je toksičan za ostale vrste legionela, ali nema nikakvog utjecaja na *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* i *Listeria monocytogenes*. Upravo zato u rashladnim tornjevima često pronalazimo zajednice ovih bakterija.

U suzbijanju legioneloza iznimno je važno pratiti pojavu biofilмова. Biofilm se najčešće stvara na dodiru suhих i mokrih površina, što znači da su uređaji za hlađenje ili grijanje idealna mjesta za njegovu formaciju. U nedavnim istraživanjima otkriveno je da su legionele izolirane iz biofilma, u kojem je prisutno više mikrobniх zajednica, više citotoksične prema amebama u odnosu na iste vrste izolirane iz čistih kultura. (13)



Slika 5. Prikaz biofilma i legionela u vodovodnim cijevima (izvor:

<https://www.cdc.gov/legionella/wmp/overview/growth-and-spread.html>)

### *1.7 Životni ciklus u drugim mikroorganizmima*

Legionela idealne uvjete za život pronalazi unutar protozoa ili drugih bakterija. Mikroorganizmi često koriste protozoe kao mjesto za razvoj i razmnožavanje, a ovakav način života za legionele ima mnoge prednosti. Postoji nekoliko uvjeta koji moraju biti zadovoljeni kako bi bakterija mogla inficirati protozoe. Jedan od uvjeta je da posjeduje flagelu (koju legionele imaju), ostali uvjeti se odnose na uvjete okoliša poput temperature (cca. 35 °C).

Legionela se razmnožava intracelularno u fagosomima i izaziva destrukciju tkiva domaćina prilikom proliferacije. Legionele imaju sposobnost preživljavanja na ostacima ameba, također biomasa ameba je direktno povezana s količinom *L. pneumophila* u biofilmu. Istraživanja pokazuju da prisutnost protozoa potiče razvoj *L. pneumophila*. Kada žive unutar protozoa mnogo su otpornije na mjere dezinfekcije, nego kada su slobodne u vodi, a ako se u biofilmu uz legionele nalaze termotolerantne amebe, učinak dezinfekcije toplinom je višestruko slabiji. (14) (13)

### *1.8 Rashladni tornjevi*

Rashladni tornjevi su jedni od najčešćih izvora infekcije legionelama. Dio su velikih sustava za grijanje ili hlađenje koji se nalaze u hotelima, kampovima, bolnicama i drugim sličnim ustanovama. Zbog pogodnih uvjeta poput temperature i vlage aerosol koji se u njima stvara često je kontaminiran. U ovakvim uređajima bakterije se najčešće razmnožavaju unutar protozoa, koje im služe kao domaćini. Često su upravo rashladni tornjevi izvori epidemije legionarske bolesti i pontijačke groznice. (15) (16) (9)

U istraživanju provedenom u Velikoj Britaniji od 44 zabilježena slučaja zaraze legionelom čak 7 je povezano s rashladnim tornjevima. (17). Kako bi nastao kontaminirani aerosol, uslijed čijeg će

se udisanja pojaviti infekcija kod osobe, potrebno je da legionele prežive i koloniziraju prostor rashladnog tornja. (18)

Rashladni tornjevi su poznat izvor legionela pa se iz tog razloga relativno često kontroliraju. Ipak, potrebno je skrenuti pozornost na loše održavanje rashladnih i grijaćih sustava u većim objektima, s obzirom da još uvijek svjedočimo epidemijama iz tog izvora.

### *1.9 Vodoopskrbni sustav*

Vodoopskrbni sustav spada u potvrđene izvore infekcija legionelom. Iako se voda za piće dezinficira, legionela preživljava klasičnu obradu jer uobičajne koncentracije klora nisu dovoljne za njezinu inaktivaciju. Također, razvitku legionele u vodoopskrbnim sustavima pridonosi i sporo protjecanje vode u npr. slijepim završecima cijevi, spremnicima, bojlerima i slično. (19) Najčešće do zaraze dolazi prilikom tuširanja i drugih radnji tijekom kojih se stvara aerosol. Kontaminirana voda za piće i druge upotrebe nije rijetkost, no ipak se smatra da se osoba ne može zaraziti legionarskom bolešću ako popije vodu u kojoj se nalaze bakterije. Istraživanja pokazuju da je velik postotak uzoraka vode uzetih iz objekata koji rade samo sezonski, kontaminiran legionelom. (20)

Mrežice na slavinama i tuševima (perlatori, rozete) također predstavljaju veliki problem, na njima se stvara biofilm u kojem se vrlo često mogu pronaći legionele. Upravo je prema vodoopskrbnom sustavu usmjeren velik broj preporuka i preventivnih mjera. U objektima koji rade samo sezonski rizik za kolonizaciju legionelama sustava vodoopskrbe, hlađenja i grijanja, višestruko je veći, nego kod objekata koji su otvoreni cijelu godinu. Zato se mjere za suzbijanje razlikuju prema različitim vrstama objekata.

### *1.10 Fontane i ovlaživači zraka*

Fontane su također svrstane među poznate izvore infekcije legionelama. Najčešće su u pitanju fontane unutar zatvorenih objekata, poput hotela, restorana i slično. Loše održavanje hotelske fontane bilo je uzrok epidemiji od 114 slučajeva u Chicagu. (21)

Ovlaživači zraka pripadaju potvrđenim izvorima infekcije. Do obolijevanja dolazi kada osoba udahne aerosol koji se stvara iz kontaminirane vode u ovlaživaču. U Kini je zabilježeno 15 slučajeva obolijevanja od legioneloza u tvornici, kao izvor zaraze potvrđen je ultrazvučni ovlaživač zraka. (22)

### *1.11 Preventivne mjere*

Postoje mnoge smjernice i preporuke za suzbijanje legionele u različitim okruženjima. Na europskoj razini smjernice daje ECDC, a u Republici Hrvatskoj za to je odgovoran Hrvatski zavod za javno zdravstvo „Dr.Andrija Štampar“ zajedno s nastavnim zavodima pojedinih županija.

Za sprječavanje epidemija legioneloza vrlo je važno spriječiti formiranje biofilmova, s obzirom da su upravo takve zajednice jedni od najčešćih izvora zaraze. Formiranje biofilma najčešće se događa u uređajima poput bojlera i rashladnih tornjeva te na mrežicama slavina i tuševa. Kako bi spriječili nastanak mikrobnih zajednica provode se preventivne mjere. One uključuju:

1. Tehničke zahtjeve: vodoopskrbni sustavi bez slijepih završetaka, materijali koji inhibiraju stvaranje biofilma
2. Čišćenje: redovito uklanjanje kamenca s mrežica, pražnjenje taloga iz bojlera i spremnika u sustavu potrošne tople vode i vode za piće
3. Pasterizacija: prije otvaranja objekta podići temperaturu vode iznad 65°C barem 4 sata, pustiti vruću vodu da teče iz svih slavina i tuševa barem 1 minutu ili hiperklorinacija (sustav



potrošne tople vode se klorira do 50 mg/L slobodnog rezidualnog klora, pušta se voda na slavinama pazeći da SRK ne padne ispod 30 mg/L, ostavlja se da djeluje određeno kontaktno vrijeme i onda se sutav ispiru)

4. Tijekom rada objekta temperatura tople vode na slavinama ne smije pasti ispod 50°C, temperatura hladne vode na slavinama ne bi smjela prelaziti 20 °C (23)

Za rashladne tornjeve, bazene s pjenom i ovlaživače zraka dane su posebne mjere:

1. **Rashladni tornjevi:** mehanički očistiti i isprati rashladne tornjeve, hiperklorirati vodu na 15 mg/l slobodnog rezidualnog klora, cirkulirati hiperkloriranu vodu kroz čitav sustav 2 sata i isprati svježom vodom, napuniti sustav svježom vodovodnom vodom
2. **Bazeni s pjenom** (“jacuzzi”, spa bazeni, whirlpool): ispustiti vodu iz čitavog sustava, mehanički očistiti spremnike i bazen te dezinficirati bazen, isprati čistom vodom, provoditi trajnu dezinfekciju bazena (2-3 mg/L slobodnog rezidualnog klora) uz redovitu kontrolu razine slobodnog rezidualnog klora i pH, tri puta dnevno ako nema automatske regulacije SRK i pH, dnevno izmjenjivati najmanje polovicu ukupne vode bazena, a postupke po točkama 1. – 3. ponavljati jednom tjedno
3. **Ovlaživači zraka:** očistiti i dezinficirati klornim preparatom bazene unutar komora za ovlaživanje zraka ili spremnike samostalnih ovlaživača, isprati čistom vodom i napuniti čistom vodovodnom vodom, vodu mijenjati najmanje jednom tjedno (23)

Osim navedenih preventivnih mjera, za suzbijanje legionela možemo koristiti različite metode dezinfekcije. U jednom je istraživanju utvrđeno da UV svjetlost i povišena temperatura najbrže uništavaju legionele (unutar 1h za smanjenje od 5log), dok je kloru i ozonu za isto smanjenje potrebno oko 5 sati. Pri odabiru metoda dezinfekcije uvijek treba imati na umu rezidualno djelovanje određenih metoda, sigurnost za ljude i okoliš, cijenu i samu efikasnost metode. (24)

## 2. Cilj istraživanja

Cilj istraživanja bio je napraviti pregled dostupne literature o izvorima zaraze legionelama, kao i potraga za novim potencijalnim izvorima legionela u okolišu.

### 3. Materijali i metode

Pri izradi rada korištena je građa dostupna u medicinskoj bazi podataka Medline. Pretraživanje baze izvršeno je pomoću tražilice Pubmed dana 20.4.2020. godine.

Ključni pojmovi koji su određivali opseg pretrage bili su: *Legionella* OR *Legionella pneumophila* OR *legionella longbeachae* OR *Pontiac disease* OR *Pontiac fever*. Za pojedini izvor infekcije pretraga je nadopunjavana. Kriteriji za uključivanje u literaturu bili su da je rad napisan na engleskom jeziku i da se svojom tematikom uklapa u temu završnog rada.

Također je korišten portal hrvatskih znanstvenih i stručnih časopisa (Hrčak). Ključni pojam za pretragu bio je *Legionella*.

Korištena je i literatura besplatno dostupna na internetu u obliku knjiga, nautaka, direktiva, pravilnika, zbornika i slično.

## 4. Rezultati

### 4.1 Kompost i mješavina tla

U sveukupno 11 studija istraživani su kompost i mješavine tla kao potencijalni okolišni izvor infekcije. Od 11 istraživanja 6 je istraživalo prisutnost legionela u kompostu i mješavinama tla, a 4 istraživanja su opisala pojedine slučajeve zaraze iz ovog izvora. Jedno je istraživanje usmjereno na rizične faktore za infekciju *L. longbeachae*. (25) Upravo je *L. longbeachae* vrsta koja je nađena u uzorcima, a i opisana kao izvor infekcije u svim slučajevima navedenim u ovim istraživanjima. U Škotskoj je provedeno istraživanje nakon pojave 3 nepovezana slučaja legionarske bolesti uzrokovane *L. longbeachae* serogrupe 1. Nakon uzimanja anamneze otkriveno je da je jedina poveznica između bolesnika bila korištenje komposta prilikom vrtlarjenja (26).

Prisutnost *Legionella* u kompostu potvrđena je u čak 73% uzoraka uzetih za istraživanje u Australiji. *L. longbeachae* serogrupe 1 pronađena je u 26 od 45 uzetih uzoraka. Druge vrste *Legionella* spp. pronađene su u 27 uzoraka. U većini uzoraka u kojima je pronađena *L. longbeachae* serogrupe 1, pronađene su i ostale vrste *Legionella* spp. (27)

Infekcije uzrokovane *L. longbeachae* nisu rijetkost, ali do nedavno se smatralo da su ograničene samo na Novi Zeland i Australiju s obzirom da su te zemlje jedine službeno bilježile oboljele. Povećanjem broja slučajeva legionarske bolesti i pontijačke groznice koji nisu povezani s dobro poznatim izvorima infekcije (rashladni tornjevi i drugo), slučajevi zaraze putem komposta i mješavine tla zabilježeni su i u Japanu, SAD-u, Nizozemskoj, Škotskoj i Švicarskoj (28). Iako sam put prijenosa putem ovog izvora nije točno razjašnjen, rizičnim se smatra konzumiranje hrane ili pića neopranim rukama nakon vrtlarjenja. (29)

## 4.2 Kišnica

S obzirom da je legionela ubikvitarna bakterija, često se pronalazi u prirodnim vodama, u 14 studija kišnica je proučavana kao mogući izvor zaraze. Kišnica je voda koja potječe od kiše ili drugih oborina, a ponekad se koristi kao voda za ljudsku potrošnju. Od 14 istraživanja 5 ih je usmjereno prema istraživanju pojedinih slučajeva zaraze preko kišnice, a u 7 studija je provedena analiza različitih uzoraka kišnice. U dva se istraživanja procjenjuje rizik od dobivanja legionarske bolesti preko kišnice. Kako bi odredili prisutnost legionela u kišnici u svim je istraživanjima korišten kvantitativni PCR. U jednom istraživanju od 113 uzetih uzoraka kišnice iz vrtova, *Legionella* spp. je detektirana u 107 uzoraka, srednja vrijednost koncentracije *Legionella* spp. iznosila je 4.7 genomskih jedinica l<sup>-1</sup>. U dva je uzorka utvrđena prisutnost *L. pneumophila*. Usporedbom podataka iz različitih spremnika za čuvanje kišnice utvrđeno je da je kišnica iz spremnika koji su bili izloženi jačoj sunčevoj svjetlosti (viša temperatura) imala višestruko manju koncentraciju *Legionella* od uzoraka uzetih iz spremnika koji se nalaze u hladu. Proučavana je i aerosolizacija legionele, s obzirom da je poznato da se osoba najčešće zarazi putem aerosola. Ako se kišnica koristila za zalijevanje putem zalijevača\*, *Legionella* nije detektirana u zraku, no pri korištenju crijeva za zalijevanje postavljenog na najsitnije raspršivanje je pronađena. (30)

U Španjolskoj je utvrđena povezanost između kišnih razdoblja i legionarske bolesti. U periodu s više kiše, broj upala pluća uzrokovanih legionelom (neimunokompromitirani pacijenti) je rastao. Vjerojatnost za dobivanje legionarske bolesti bila je veća kod pacijenata primljenih na dan s prosječnom količinom kiše od 0.416 l/m<sup>2</sup>. Pri povećanju količine kiše korelacija je jačala. (31)

Vrlo je važno istraživati povezanost između meteoroloških pojava i incidencije oboljelih od legionarske bolesti i pontijačke groznice. Postoji jasna povezanost između količine oborina i pojavnosti zaraze legionelom, u Japanu je zabilježena legionarska bolest kod radnika koji je radio

na sanaciji poplavljenog područja nakon obilnih kiša (32). *Legionella* je pronađena i u lokvama na cesti nakon kiše, osobito za toplog vremena. (33) Klimatske promjene također utječu na pojavnost legionela. S obzirom da se slučajevi zaraze legionarskom bolesti i pontijačkom groznicom pojavljuju upravo nakon većih prirodnih katastrofa (poplave, uragani) koje su sve češće, znanstvenici smatraju kako se može očekivati sve veća pojavnost legioneloza. (34) Iz svega navedenog može se zaključiti kako je kišnica potencijalni izvor zaraze legionelom. Potrebno je provesti više istraživanja kako bismo znali o kojim se serogrupama radi te kako spriječiti zarazu putem ovog izvora.

#### 4.3 Termalni izvori

U 29 studija spominju se termalni izvori kao potencijalna staništa legionela. Važno je naglasiti da se svega 3 istraživanja odnose na prirodne, termalne izvore u okolišu, dok se ostala istraživanja odnose na lječilišta, kupališta i slične objekte koji koriste vodu iz termalnih izvora.

U Japanu je provedeno istraživanje na prirodnim, neuređenim termalnim izvorima. Od 43 uzeta uzroka, u njih 16 je nađena *Legionella*. Dominantno je bila prisutna *Legionella pneumophila* (90.5%). Najčešće su izolirane legionele pripadale serogrubi 1. Osim *L. pneumophila*, nađena je i *L. lonldiniensis*. Broj bakterija u uzrocima u kojima je pronađena *Legionella* bio je mali (do  $5.0 \times 10^1$  CFU/100 ml u 68.8% uzoraka). Temperatura vode iz izvora u kojima su pronađene legionele bila je između 3.1°C i 41.5°C, a pH od 5.2 do 8.1. (35)

Lječilišta koja imaju bazene s termalnom vodom spadaju u vodeće izvore epidemija legionarske bolesti u Aziji. Na to utječe mnogo faktora: u takvim ustanovama obično borave stariji, imunokompromitirani ljudi koji spadaju u rizičnu skupinu za obolijevanje od legioneloza. Uobičajeno je da u kompleksima ovakvog tipa vlada velika relativna vlažnost u zraku, što pogoduje legionelama, dolazi i do stvaranja aerosola prilikom korištenja jacuzzija i slično. (36)

Za detekciju *Legionella* u različitim uzorcima najboljom metodom pokazao se Taqman kvantitativni PCR. U istom istraživanju legionele su pronađene u 45 od 48 uzetih uzoraka termalne vode. U uzorcima je koncentracija *Legionella* varirala između  $72.1-5.7 \times 10^6$  stanica/l. Smatra se da običan PCR nije dovoljno dobar za dokaz legionele iz uzoraka vode zbog prisutnih inhibitora reakcije. (37)

Postoji i nekoliko potvrđenih slučajeva zaraze putem vode iz termalnih izvora. U Japanu je 6 slučajeva povezano sa lječilištem koje koristi vodu dobivenu iz termalnih izvora. Genotipizacijom je određeno da su sojevi legionele uzeti iz izvora identičnima onim izoliranim kod zaraženih osoba. (38) Prema epidemiološkim anketama žarište zaraze u Francuskoj bio je „spa“ koji također koristi vodu iz termalnih izvora, no nažalost nije uspoređen genotip legionela nađen kod bolesnika s onima nađenima u uzorcima vode. (39)

Iznimno je važno pratiti pojavnost legionele u termalnoj vodi i ustanovama koje koriste tu vodu s obzirom da u objektima tog tipa često borave stariji i imunokompromitirani ljudi koji spadaju u rizične skupine za obolijevanje od legioneleza. S obzirom da su termalni izvori potvrđeni kao izvori zaraze, potrebno je provoditi češća uzorkovanja kako bi se smanjila mogućnost obolijevanja osoba koje koriste termalne izvore, kako u njihovom izvornom obliku, tako i u različitim objektima.

#### 4.4 More

More kao potencijalni izvor legionela opisano je u 6 studija dostupnih na PubMedu. Za razliku od ostalih izvora, sva se istraživanja bave preživljavanjem legionele u morskoj vodi, no nema zabilježenih slučajeva zaraze.

Kao i mnoge druge bakterije, legionele idealno stanište za život pronalaze u amebama. Postoje mnoga istraživanja o povezanosti legionela i ameba, no samo se jedno bavi amebama u moru. Studija provedena u SAD-u pokazala je da su amebe u moru jedan od glavnih izvora legionela. Različite kulture ameba uzgojene iz uzoraka morskog sedimenta i vode ispitivane su na njihovo prisustvo. Za istraživanje je korišten PCR i početnice karakteristične za genom legionele. Na pozitivnim uzorcima dodatno je istraživana prisutnost mip gena *L. pneumophila*. Od 388 uzetih uzoraka, 148 (48%) je bilo pozitivno na *Legionella* spp. U samo 4% (17 od 388) uzorka pronađena je *L. pneumophila*, to jest mip gen. Ovo istraživanje je potvrdilo kako su amebe u okolišu vrlo važan izvor potencijalnih humanih patogena pa tako i legionele. (14)

Prisutnost legionela istraživana je i na uzorcima iz Baltičkog i Sjevernog mora, kako bi se utvrdio odnos koncentracije soli (NaCl) i preživljavanja bakterija. Uzorci su sterilizirani, zatim je u uzorak dodana *L. pneumophila* serogrupe 3 i suspenzija je nasadena na BCYE agar. Broj kolonija je određivan nakon 2, 5, 8, 24, 48 i 96h inkubacije te još jednom nakon sedam dana. Uspoređivani su rezultati dobiveni za 1.5%-ne i 3%-ne otopine NaCl-a sa uzorcima iz Baltičkog i Sjevernog mora, s obzirom da ti saliniteti odgovaraju salinitetu uzoraka. Utvrđeno je da temperatura nema utjecaja na preživljavanje *L. pneumophila* u uzorku iz Baltičkog mora (1.5% NaCl), u usporedbi s otopinom soli smanjenje broja stanica s porastom temperature bilo je manje. Na drugom uzorku (Sjeverno more, 3% NaCl-a) utvrđivan je kombinirani učinak visokog saliniteta i temperature. Rezultati



pokazuju da, za razliku od 3%-ne otopine NaCl-a, u morskoj vodi nije zabilježeno smanjenje broja bakterijskih stanica s porastom temperature. (40)

Prema broju istraživanja, evidentno je da je od svih izvora obrađenih u ovome radu, more izvor koji je najmanje istražen. Još uvijek nisu zabilježeni slučajevi zaraze putem morske vode, s obzirom na problem teškog kultiviranja legionela i jednako tako otežanog otkrivanja legioneloza pa se ne može se sa sigurnošću reći je li se netko do sada zarazio putem ovog izvora ili ne. Mora i oceani kao geografske cjeline slabo su istraženi s mikrobiološkog aspekta. Potrebno je uložiti više sredstava u istraživanje mikrobiologije mora pa samim time i legionela u moru.

#### *4.5 Otpadne vode*

Otpadne vode su tekućine koje se sastoje od tekućeg otpada otopljenog ili emulgiranog u vodi, odnosno disperzije krutog otpada u vodi. (41) Otpadne vode i postrojenja za preradu otpadnih voda kao izvor legionela obrađene su u 25 radova. Dva rada su prikazi slučajeva zaraze, 3 istraživanja bave se amebama kao potencijalnim izvorima *Legionella* u otpadnim vodama. 5 radova proučava rizik od zaraze putem ovog izvora i 4 rada proučavaju različite metode suzbijanja *Legionella* u otpadnim vodama. Ostalih 11 istraživanja odnosi se na prisutnost različitih vrsta *Legionella* u postrojenjima za preradu otpadnih voda i u samim otpadnim vodama.

Otpadne vode su veliki ekološki i zdravstveni izazov današnjice. Svakim danom količina otpadnih voda je sve veća, a efikasne za čovjeka i za okoliš sigurne načine prerade otpadnih voda sve je teže pronaći. S obzirom na svoj sastav (bogate organskim tvarima), otpadne vode predstavljaju idealno stanište za niz patogenih mikroorganizama, uključujući i legionelu. Slobodno živuće amebe često preživljavaju preradu i dezinfekciju vode, a upravo u amebama legionela pronalazi optimalne uvjete za život. Istraživanje provedeno na otpadnim vodama utvrdilo je da su u 52.7% uzetih uzoraka prisutne slobodno živuće amebe. Od uzoraka u kojima su pronađene amebe, koristeći se

DVC-FISH tehnikom utvrđeno je da je u 69% uzoraka prisutna i *Legionella* spp. Od svih uzoraka u kojima je pronađena *Legionella*, u 50% uzoraka radilo se o *L. pneumophila*. Potencijalno patogene legionele pronađene su u 35% uzoraka. (42)

U postrojenjima koja koriste aerobni način prerade otpadnih voda kombinacija idealne temperature, dostupnost hranjivih tvari i kisika te prisutnost ameba, čine otpadne vode idealnim mjestom za rast i razmnožavanje legionela. Poznato je nekoliko slučajeva zaraze iz ovakvih postrojenja. U Nizozemskom gradu Boxtelu 14 osoba je oboljelo od legionarske bolesti, epidemiološke ankete nisu pokazale nikakvu povezanost između osoba, osim mjesta stanovanja. Nakon što su se rezultati provedenog testiranja uzoraka vode iz fontana i bazena pokazali negativnima, odlučeno je uzeti uzorak iz obližnjeg postrojenja za preradu otpadnih voda. Uzorci iz oba aerirana jezera bili su pozitivni na legionelu. Daljnjim istraživanjem zaključeno je da je smjer puhanja vjetra u vrijeme zaraze bio od postrojenja prema domovima oboljelih. Uspoređivanjem antigena iz urina oboljelih i genotipizacijom pronađenih legionela pronađeno je podudaranje u sekvenci. Voda iz postrojenja ulijevala se u obližnju rijeku pa su testirani i uzorci riječne vode. Ti su uzorci također bili pozitivni na legionelu, a genotipizacijom je utvrđeno da se podudaraju s antigenima izoliranim iz urina jednog od bolesnika. (43) Epidemija legionarske bolesti u Warsteinu (Njemačka) također je povezana s postrojenjem za preradu otpadnih voda. (44)

Osim kontrole uvjeta u otpadnim vodama nije moguće kontrolirati i suzbiti legionelu ni na jedan drugi način, osim dezinfekcijom. Jedno od mogućih sredstava za dezinfekciju jest ozon. Istraživanja su pokazala da odnos koncentracije ozona i inaktivacije *Legionella* nije linearan, što znači da povećavanje koncentracije ozona ne pridonosi inaktivaciji *Legionella*. Ključni faktori u korištenju ozona i inaktivaciji *Legionella* su početna koncentracija ozona i temperatura na kojoj se proces izvodi. Veća početna koncentracija u kombinaciji s visokom temperaturom dala je najbolje

rezultate u inaktivaciji *Legionella* u otpadnim vodama. (45) U drugom istraživanju testiran je učinak različitih metoda dezinfekcije na inaktivaciju legionela. Najbolji učinak imala je kombinacija UV svjetlosti i performične kiseline. Sama kemijska dezinfekcija nije imala učinak na smanjenje broja legionela (hidrogen peroksid, klor dioksid). (44)

Otpadne vode su, poput ostalih okolišnih izvora infekcije, poprilično zanemaren izvor infekcije legionelama. Postrojenja za preradu otpadnih voda, osobito ona u kojima se koristi aerobni proces prerade su idealna staništa za legionele. Visoka koncentracija dušika, prisustvo kisika i drugih mikroorganizama samo su neki od faktora koji omogućavaju rast i razvoj legionela u tom okolišu. Potrebno je redovno provoditi nadzor nad otpadnim vodama i razviti efikasnije mjere dezinfekcije kako bi se spriječile epidemije iz ovog izvora. Anaerobna postrojenja, iako skuplja za izvedbu, predstavljaju jedno od potencijalnih rješenja ovog problema, s obzirom da su uvjeti u takvim objektima puno nepovoljniji za razvoj legionela.

Tablica 1. Pregled potvrđenih slučajeva prema izvorima infekcije

IZVOR	POTVRĐENI SLUČAJEVI
KOMPOST I MJEŠAVINE TLA	DA
KIŠNICA	DA
TERMALNI IZVORI	DA (LJEČILIŠTA)
MORE	NE
OTPADNE VODE	DA

## 5. Rasprava

Ovo istraživanje pokazalo je da legionela preživljava u najrazličitijim okruženjima. Od 5 okolišnih izvora istraženih u ovom radu (kompost i mješavine tla, kišnica, termalni izvori, more, otpadne vode), u čak 4 izvora postoje zabilježeni slučajevi zaraze. Za sve izvore, osim mora, dokazana je podudarnost između bakterija izoliranih kod bolesnika i bakterija izoliranih iz okolišnog izvora, ovi su rezultati podkrijepljeni i dodatnim, epidemiološkim istraživanjima. U nekoliko slučajeva radilo se o epidemijama s više od 5 oboljelih. Vrlo često se pri istraživanju legionela i legionarske bolesti fokusira na već poznate, antropogene izvore, poput rashladnih tornjeva, fontana i slično. Legionele su sveprisutne u našem okolišu, već duže vrijeme znamo da spadaju među ubikvitarne bakterije, ali često se zaboravlja da i okoliš može biti izvor zaraze legionelozama. More je jedini izvor u ovom radu iz kojeg nije potvrđena zaraza, no to ne znači da nema važnu ulogu u prijenosu legionela, dapače potrebno je provesti veći broj istraživanja kako bismo saznali koje serogrupe preživljavaju u morskoj vodi.

Dijagnoza legionarske bolesti postavlja se specifičnim mikrobiološkim testovima. Izbor testa ovisi o kompliciranosti izvođenja, cijeni, specifičnosti, osjetljivosti i vremenu koje je potrebno za dobivanje nalaza. Kada dobijemo potvrdu legionarske bolesti potrebno je odrediti izvor gdje se osoba zarazila. Za dijagnostiku i usporedbu izolata pacijenata i izvora koriste se razne metode.

Jedna od najčešćih metoda dijagnostike je detekcija antigena u urinu. Prednosti ovog testa su to što može potvrditi zarazu u relativno ranoj fazi bolesti, jeftin je, brz i jednostavan za izvođenje. Topivi antigen *L. pneumophila* pojavljuje se u urinu na samom početku bolesti, a može se zadržati nekoliko tjedana ili mjeseci. Glavni nedostatak ovog testa jest to što može detektirati antigene samo za *L. pneumophila* serogrupe 1, a ako se radi o *L. longbeachae* ili *L. pneumophila* neke druge serogrupe test nije valjan. Ukoliko se radi o blažem obliku bolesti, utoliko je osjetljivost testa

između 40 i 50%, a kod težih slučajeva osjetljivost je nešto veća (80-100%). Uz dokaz antigena u urinu uvijek je potrebno provesti i neki od seroloških testova ili kultivirati bakterije. (46) Antigeni se mogu dokazivati i u uzorcima iz dišnog sustava direktnom imunofluorescencijom, ali to se radi rijetko jer osjetljivost testa ovisi o broju legionela u uzorku.

PCR, to jest lančana reakcija polimerazom, još je jedan od načina dijagnostike legioneloza i određivanja izvora zaraze.

Prednosti ovog testa su to što može brzo otkriti sve tipove legionela i visoki je osjetljiv (ovisno o početnici), a osim *L. pneumophila*, također možemo otkriti i druge vrste legionela poput *L. longbeachae*, što može olakšati dijagnostiku i liječenje. Nedostatak je što je potrebno imati obučeno osoblje i aparaturu za izvedbu samog PCR-a. Postoji nekoliko vrsta PCR-a, real time PCR koji uključuje mjerenje količine DNA dok se umnaža, ugniježđeni (eng. *nested*) PCR koji omogućuje povećanje specifičnosti reakcije i analizu vrlo malih količina materijala i drugi. Veliki broj istraživanja od onih obuhvaćenih u ovom radu koristio je upravo PCR za dokazivanje legionela u uzorcima iz okoliša, ali i kod pacijenata.

Kultivacija je iznimno važna metoda, ne samo kod legionela već i kod ostalih bakterija (i gljiva). Iako su sveprisutne, kultivacija legionela u laboratorijskim uvjetima nije baš jednostavna, no relativno se uspješno izvodi na selektivnim podlogama tijekom duljeg inkubacijskog perioda. Legionele se najčešće kultiviraju na BCYE agaru, uzorak se može uzeti iz krvi, iskašljaja ili bronhoalveolarnog lavata i biopsijskog materijala. Najbolje rezultate daju uzorci bronhoalveolarnog lavata i biopsijskog materijala. Ova je metoda važna iz javnozdravstvenog i epidemiološkog gledišta jer je moguće provesti usporedbu sa sojevima izoliranim iz različitih izvora. (47)

Serološki testovi se u praksi najviše koriste za dijagnosticiranje legionarske bolesti. Iz uzorka krvi radi se titar protutijela u serumu. Najčešće korišten je ELISA test, no koriste se i testovi indirektne i direktne imunofluorescencije. Kod legionarske bolesti u serumu tražimo IgM protutijela, zajedno s njima pojavljuju se i IgG protutijela, ali se ona javljaju kasnije u bolesti.

U okolišu legionele često preživljavaju unutar protozoa, najčešće ameba. Za otkrivanje legionela unutar ameba koristi se DVC-FISH tehnika.

Osim *L. pneumophila* koja je najčešći uzročnik legionarske bolesti i najčešći predstavnik skupine legionela, legioneloza mogu uzrokovati i neke druge, u uvodu navedene, legionele. Najznačajnija od ostalih legionela jest *L. longbeachae*. Kompost i tlo općenito najčešći su izvor infekcije *L. longbeachae*. U Australiji je incidencija oboljelih od legioneloza uzrokovanih *L. longbeachae* mnogo veća nego u Europi. Smatra se da je uzrok tome razlika u sastavu komposta i ostalih mješavina tla koje se koriste u poljoprivredi. U Australiji se u kompostima često nalazi piljevina ili usitnjena kora drveća, što može pružiti povoljne uvjete za razvoj legionela (48). U Europi to nije uobičajeno, umjesto kompostirane kore ili piljevine koristi se treset, no sastav mješavina tla podložan je promjenama. Ipak, ostale legionele (tzv. „non pneumophila“), uključujući *L. longbeachae*, uzrokuju epidemije širom svijeta, ne samo u Australiji. No, s obzirom da je u Europi *L. pneumophila* učestalija, za *L. longbeachae* nemamo dovoljno razvijene dijagnostičke testove. Detekcija antigena u urinu, jedna od najčešće korištenih dijagnostičkih metoda, primjerice, pogodna je samo za dokazivanje *L. pneumophila*. S druge strane, PCR test je pogodan za dokazivanje svih vrsta legionela.

Kišnica je također potencijalni izvor zaraze legionelama. Mnoga domaćinstva koriste kišnicu za tuširanje, zalijevanje ili čišćenje. Spremnici u koje se kišnica pohranjuje predstavljaju idealna mjesta za stvaranje biofilma (topla, ustajala voda, plastični materijali). S obzirom na aktivnosti za

koje se koristi kišnica, rizik od obolijevanja raste. U Hrvatskoj je, osobito na otocima i u Gorskom kotaru, još uvijek uobičajeno skupljati kišnicu pa je potrebno više pažnje posvetiti uzrokovanju spremnika za skupljanje iste i edukaciji ljudi o njihovom pravilnom održavanju.

Hrvatska je bogata prirodnim termalnim izvorima, sa čak 11 lječilišta koja se nalaze na istim. Turizam je jedan od najvećih izvora prihoda u Hrvatskoj pa legionarska bolest predstavlja veliku prijetnju za isti, ako se ne poduzmu sve mjere prevencije. Legionela može preživjeti u termalnim izvorima, a već je poznato kako vodoopskrbni sustavi, ovlaživači zraka i bazeni s pjenom, koji su u ovakvim objektima uvelike prisutni, predstavljaju idealna mjesta za formiranje biofilma. Uključimo li i činjenicu da mnogi od ovih objekata rade samo sezonski te da velik postotak gostiju čini starija populacija, ispunjeni su gotovo svi uvjeti za epidemiju legioneloza. Ipak, pravilnim održavanjem i provođenjem preventivnih mjera taj rizik može se svesti na minimum. Kako bi spriječili epidemije potrebno je provoditi redovito uzorkovanje vode iz ovih objekata, staviti naglasak na provođenje svih mjera zaštite i educirati djelatnike o važnosti pravilnog provođenja istih.

Otpadne vode i njihovo skladištenje predstavlja globalni problem. U Hrvatskoj nemamo dovoljno adekvatnih postrojenja za preradu otpadnih voda pa se iste često otpuštaju u mora ili rijeke bez primjerene obrade. Otpadne vode zbog prisustva hranjivih tvari predstavljaju idealna staništa za brojne mikroorganizme pa tako i legionele. Njihovim ispuštanjem u okoliš, bez prethodne obrade, legionele i drugi mikroorganizmi dopijevaju u prirodne vodene sustav. Vodeni sustavi pružaju dobre uvjete za rast i razmnožavanje legionela pa se uz prirodno prisutne vrste njihov broj još povećava.



Zaključno, legionele su sveprisutne u okolišnim vodenim sustavima, no zabrinjava činjenica da su se ove bakterije adaptirale na umjetno stvorene vodene sustave gdje se mogu namnožiti do epidemijskog potencijala. Neophodna su detaljna istraživanja uvjeta preživljavanja ove bakterije u umjetno stvorenim vodenim sustavima te razvijanje učinkovitijih metoda za njihovu eradikaciju.

## 6. Zaključak

Rezultati ovog istraživanja pokazuju da su legionele prisutne u gotovo svim sferama okoliša te da prirodni izvori također mogu biti izvor zaraze. Legionele su ubikvitarnе bakterije i njihova potpuna eradikcija nije mogućа. Upravo je zato vrlo važno otkriti gdje je sve mogućа njihova kolonizacija, a osobito stvaranje biofilma. Veliki naponi su uloženi u otkrivanje izvora zaraze iz antropogenog okoliša, a postoje mjere i preporuke za suzbijanje i sprječavanje obolijevanja. Potrebno je napraviti isto za okolišne izvore. Jezera, rijeke, mora i prirodno tlo samo su neki od nedovoljno istraženih izvora gdje legionele sigurno obitavaju. Svako stanište gdje su pronađene legionele treba tretirati kao potencijalni izvor zaraze legionelozama te sukladno tome izdati preporuke kojima će se rizik od obolijevanja smanjiti na najmanju moguću razinu. Vrlo je vjerojatno da nikada nećemo u potpunosti moći zaustaviti obolijevanje od legionarske bolesti i pontijačke groznice, no moramo taj rizik svesti na minimum. Osobito je važno zaštititi rizične skupine, poput starijih i imunokompromitiranih osoba jer je u toj populaciji najveća smrtnost. Prirodni izvori infekcije legionelama moraju zadobiti veću pozornost znanosti, ali i šire javnosti.

## 7. Literatura

1. Carmen Buchrieser HH, editor. Methods in molecular biology 1921, Springer protocols, Legionella methods and protocols. 2nd ed.: Humana press.
2. Yu , Plouffe , Castellani-Pastoris , Stout , Schousboe , Widmer , et al. Distribution of Legionella Species and Serogroups Isolated by Culture in Patients with Sporadic Community-Acquired Legionellosis: An International Collaborative Survey. The Journal of Infectious Diseases. 2002; 186.
3. Zhang , Li , Wang , Shangguan , Zhou , Wu , et al. High Prevalence and Genetic Polymorphisms of Legionella in Natural and Man-Made Aquatic Environments in Wenzhou, China. Int. J. Environ. Res. Public Health. 2017.
4. Ilija Kuzman IP. Legionarska bolest: praktični pristup dijagnostici. 2005.
5. University of Texas Medical Branch at Galveston. Medical Microbiology. 4th edition; 1996.
6. National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine et al. Management of Legionella in Water Systems..
7. Fields , Benson , Besser. Legionella and legionnaires' disease: 25 years of investigation. Clinical Microbiology Reviews. 2002 Srpanj.
8. European Centre for Disease Prevention and Control. Legionnaires' disease. Annual epidemiological report for 2017. 2017.

9. Paschke , Schaible , Hein. Legionella transmission through cooling towers: towards better control and research of a neglected pathogen. *The Lancet Respiratory medicine*. 2019 Svibanj; 7(5).
10. Chaudhry , Sreenath , Agrawal , Valavane. Legionella and Legionnaires' disease: Time to explore in India. *Indian J Med Microbiol*. 2018 July-September.
11. Rogers , Dowsett , Dennis , Lee , Keevil. Influence of Plumbing Materials on Biofilm Formation and Growth of *Legionella pneumophila* in Potable Water Systems. *Appl Environ Microbiol*. 1994.
12. Temmerman , Vervaeren , Nosedá , Boon , Verstraete. Necrotrophic growth of *Legionella pneumophila*. *Appl. Environ. Microbiol*. 2006.
13. Chaabna , Forey , Reyrolle , Jarraud , Atlan , Fontvieille , et al. Molecular diversity and high virulence of *Legionella pneumophila* strains isolated from biofilms developed within a warm spring of a thermal spa. *BMC Microbiol*. 2013.
14. Gast , Moran , Dennett , Wurtsbaugh , Zettler A. Amoebae and *Legionella pneumophila* in saline environments. *J Water Health*. 2011 Ožujak.
15. Fitzhenry R, Weiss D, Cimini D, Balter S, Boyd C, Alleyne L, et al. Legionnaires' Disease Outbreaks and Cooling Towers, New York City, New York, USA. *Emerg Infect Dis*. 2017 Studeni.
16. Isozumi , Ito , Ito , Osawa , Hirai , Takakura , et al. An outbreak of *Legionella pneumonia* originating from a cooling tower. *Scand J Infect Dis*. 2005.

17. Crook , Willerton , Smith , Wilson , Poran , Helps , et al. Legionella risk in evaporative cooling systems and underlying causes of associated breaches in health and safety compliance. *Int J Hyg Environ Health*. 2020 Ožujak.
18. Paranjape , Bedard , Whyte , Ronholm , Prevost , Faucher. Presence of Legionella spp. in cooling towers: the role of microbial diversity, Pseudomonas, and continuous chlorine application. *Water Res*. 2020 veljača.
19. Rakić , Ljoljo , Ljubas. Tehničke mjere za sprječavanje razmnožavanja bakterija Legionella spp. u sustavima za opskrbu toplom vodom. *Hrvatske vode*. 2016; 24(96).
20. Bonetta , Ferretti , Balocco , Carraro. Evaluation of Legionella pneumophila contamination in Italian hotel water systems by quantitative real-time PCR and culture methods. *Appl Microbiol*. 2010 Svibanj.
21. Smith , Riger , Samala , Black , Okodua , Miller , et al. Legionellosis Outbreak Associated With a Hotel Fountain. *Open Forum Infectious Disease*. 2014; 2(4).
22. Zhou , Cui , Xiong , Xuefei , Yong , Sheng , et al. A combined outbreak of Legionnaires' disease and Pontiac fever related to an ultrasonic humidifier contaminated with Legionella pneumophila serogroup 1, Nanjing City, China, 2012. *Journal of public health and emergency*. 2017 Listopad.
23. Hrvatski zavod za javno zdravstvo, služba za epidemiologiju. HZZJZ. [Online].; 2017 [cited 2020 Kolovoz 3]. Available from: <https://www.hzjz.hr/sluzba-epidemiologija-zarazne->

[bolesti/preventivne-mjere-za-smanjenje-rizika-od-legionarske-bolesti-u-hotelukampumarini/](#).

24. Muraca , Stout , Yu. Comparative assessment of chlorine, heat, ozone, and UV light for killing *Legionella pneumophila* within a model plumbing system. *Appl Environ Microbiol.* 1987 Veljača.
25. Kenagy , Priest. Risk Factors for *Legionella Longbeachae* Legionnaires' Disease, New Zealand. *Emerging infectious diseases.* 2017 July.
26. Pravinkumar , Edwards , Lindsay , Edmond. A Cluster of Legionnaires' Disease Caused by *Legionella Longbeachae* Linked to Potting Compost in Scotland, 2008-2009. *Euro Surveillance.* 2010 February.
27. Steele , Moore , Sangster. Distribution of *Legionella longbeachae* serogroup 1 and other legionellae in potting soils in Australia. *Appl Environ Microbiol.* .
28. Casati , Gioria-Martinoni , Gaia. Commercial potting soils as an alternative infection source of *Legionella pneumophila* and other *Legionella* species in Switzerland. *Clin Microbiol Infect.* 2009.
29. O'Connor BA, Carman J, al. Ee. Does using potting soil make you sick? Results from a *Legionella longbeachae* case-control study in South Australia. *Epidemiol infect.* 2007.
30. Steege , Moore. The Presence and Prevalence of *Legionella* SPP in Collected Rainwater and Its Aerosolisation During Common Gardening Activities. *Perspect Public Health.* 2018 Rujan.

31. Garcia-Vidal , Labori , Viasus , Simonetti A, Garcia-Somoza , Dorca , et al. Rainfall Is a Risk Factor for Sporadic Cases of Legionella pneumophila Pneumonia. Plos one. 2013 Travanj.
32. Oda , Hirahara , Fujioka , Mitani , Takata. Legionella Pneumonia Following the Heavy Rain Event of July 2018 in Japan. Intern Med. 2019 Listopad.
33. Sakamoto , Ohno , Nakahara , Satomura , Iwanaga , Kouyama , et al. Legionella Pneumophila in Rainwater on Roads. Emerg Infect Dis. 2009 Kolovoz.
34. Walker J. The influence of climate change on waterborne disease and Legionella: a review. SAGE Journals. .
35. Katsunori Furuhashi AENIMF. Isolation of Legionella Species from Noyu (Unattended Natural Hot Springs in Mountains and Fields) Samples in Japan. J-STAGE home. 2013.
36. Qin , Yan , Ren , Zhou , Wang , Xu , et al. High Prevalence, Genetic Diversity and Intracellular Growth Ability of Legionella in Hot Spring Environments. PLoS One. 2013.
37. Shen SM, Chou MY, Shu BM, al e. Assessment of Legionella pneumophila in recreational spring water with quantitative PCR (Taqman) assay. Pathog Glob Health. 2015 Srpanj.
38. ITO , NAITO , KADOWAKI , MISHIMA , ISHIDA , HONGO , et al. Hot spring bath and Legionella pneumonia; an association confirmed by genomic identification. Internal Medicine. 2002.

39. BORNSTEIN N, MARMET D, SURGOT M, NOWICKI M, ARSLAN A, FLEURETTE JE. Exposure to Legionellaceae at a hot spring spa: a prospective. *Epidem infect.* 1989.
40. Heller HSG. Effect of salt concentration and temperature on survival of *Legionella pneumophila*. *Letters in applied microbiology.* 1998.
41. Leksikografski zavod Miroslav Krleža. [ Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje].; 2020 [cited 2020 Srpanj 21. Available from:  
<http://www.enciklopedija.hr/Natuknica.aspx?ID=45899>.
42. Moreno , Moreno-Mesonero , García-Hernández. DVC-FISH to identify potentially pathogenic *Legionella* inside free-living amoebae from water sources. *Environ Res.* 2019 Rujan.
43. Loenenbach , Beulens , SM E, Leuken v, Bom , Hoek vd, et al. Two Community Clusters of Legionnaires' Disease Directly Linked to a Biologic Wastewater Treatment Plant, the Netherlands. *Emerg Infect Dis.* 2018 Listopad.
44. Nogueira , Utecht , Exner , Verstraete , Rosenwinkel. Strategies for the reduction of *Legionella* in biological. *Water Sci Technol.* 2016.
45. Li J, Li K, Zhou Y, Li X, Tao T. Kinetic analysis of *Legionella* inactivation using ozone in wastewater. *Chemosphere.* 2017 Veljača.
46. Puljiz , Kuzman. *researchgate.com.* [Online].; 2008 [cited 2020 Kolovoz 15. Available from:



<https://www.researchgate.net/publication/27223470> Suvremeni pristup dijagnostici i liječenju legionarske bolesti.

47. LINDSAY , ABRAHAM , FALLON. Detection of mip gene by PCR for diagnosis of Legionnaires` disease. J Clin Microbiol. 1994.
48. Bruin d, Timmerman , Huisman , Heidt. Legionella longbeachae; don`t miss it! The Netherlands journal of medicine. 2018 Kolovoz.
49. Lindsay , Brown , Pravinkumar , Anderson , Edwards. Legionella Longbeachae Serogroup 1 Infections Linked to Potting Compost. Journal of medical microbiology. 2012.

## 8. Životopis

Zovem se Iva Kristić, rođena sam 15.2.1999. u Rijeci. Prva četiri razreda osnovne škole završila sam u OŠ-SE San Nicolo- hrvatski smjer. Svoje osnovnoškolsko obrazovanje nastavila sam u OŠ Podmurvice. Završila sam Salezijansku klasičnu gimnaziju s pravom javnosti u Rijeci, a fakultetsko obrazovanje sam nastavila na Medicinskom fakultetu u Rijeci, smjer sanitarno inženjerstvo.