

LEGIONARSKA BOLEST-PREVENTIVNE I PROTUEPIDEMIJSKE MJERE TE ULOGA SANITARNE STRUKE U PROVOĐENJU MJERA

Huskić, Andrea

Undergraduate thesis / Završni rad

2021

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:184:697972>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-19**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
SANITARNOG INŽENJERSTVA

Andrea Huskić

LEGIONARSKA BOLEST – PREVENTIVNE I PROTUEPIDEMIJSKE MJERE TE
ULOGA SANITARNE STRUKE U PROVOĐENJU MJERA

Završni rad

Rijeka, 2021.

SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
SANITARNOG INŽENJERSTVA

Andrea Huskić

LEGIONARSKA BOLEST – PREVENTIVNE I PROTUEPIDEMIJSKE MJERE TE
ULOGA SANITARNE STRUKE U PROVOĐENJU MJERA

Završni rad

Rijeka, 2021.

Mentor rada:

Završni rad obranjen je dana _____ u/na

_____, pred povjerenstvom u sastavu:

1. _____

2. _____

3. _____

Rad sadrži _____ stranica, _____ slika, _____ tablica, _____ literaturnih navoda.

ZAHVALA

Prvenstveno zahvaljujem se svojoj mentorici Doc.dr.sc. Dijana Tomić Linšak. dipl.sanit.ing. na utrošenom vremenu, pomoći, savjetima i znanju kojeg sam stekla.

Posebno se zahvaljujem svojoj obitelji i prijateljima na podršci koju su mi pružali tijekom studiranja.

Hvala vam!

Sažetak

Legioneloza je bolest koju uzrokuje bakterija *Legionella* a najčešća je *Legionella pneumophila*. Bakterije roda *Legionella* su gram negativne bakterije s tankom staničnom stijenkom. *Legionella pneumophila* je gram negativni oportunistički unutarstanični patogen koji uzrokuje Legionarsku bolest. Legioneloza može biti blaga bolest febrilnog stanja poput pontijačke groznice pa sve do mogućeg smrtonosnog oblika upale pluća kao što je Legionarska bolest. *Legionella pneumophila* se nalazi u vodi, može se nalaziti u jezerima, barama, rijekama te u svim sustavima za vodoopskrbu. Legionarska bolest prenosi se udisanjem aerosola u kojemu se nalazi uzročnik, stoga se *Legionella pneumophila* može naći i u rashladnim uređajima, uređajima za sušenje ruku, tuševima, u cijevima za vodu sa slijepim završecima.

U ovom radu prikazani su rezultati provedenog programa u kojem su se uzorkovali uzorci pitke vode te vode za ljudsku potrošnju iz vodoopskrbnog sustava pojedinih objekata u svrhu prevencije i provođenja protuepidemijskih mjera u slučaju pojavnosti *Legionella spp.* U uzorcima vodoopskrbnog sustava dokazana je *Legionella pneumophila* što ukazuje na potrebu daljnjeg provođenja monitoringa prisustva ove bakterije u vodoopskrbnom sustavu. U objektima gdje je detektirana prisutnost ove bakterije, provodile su se mjere pasterizacije i hiperkloriranja.

Ključne riječi: *Legionella pneumophila*, Legionarska bolest, preventivne mjere, protuepidemijske mjere

Summary

Legionellosis is a disease caused by the bacterium *Legionella* and the most common is *Legionella pneumophila*. Bacteria of the genus *Legionella* are gram-negative bacteria with a thin cell wall. *Legionella pneumophila* is a gram-negative opportunistic intracellular pathogen that causes Legionnaires' disease. *Legionellosis* can be a mild febrile illness such as Pontian fever and a possible fatal form of pneumonia such as Legionnaires' disease. *Legionella pneumophila* is found in water, can be found in lakes, ponds, rivers and in all water supply systems. Legionnaires' disease is transmitted by inhalation of the aerosol in which the causative agent is located, so *Legionella pneumophila* can also be found in refrigeration devices, hand dryers, showers, in water pipes with blind ends.

This final work presents the results of a program in which samples of drinking water and water for human consumption were sampled from the water supply system of individual facilities for the purpose of prevention and implementation of anti-epidemic measures in case of *Legionella spp.* Further monitoring of the presence of this bacterium in the water supply system is needed. In facilities where the presence of this bacterium was detected, pasteurization and hyperchlorination measures were applied.

Key words: *Legionella pneumophila*, Legionnaires' disease, preventive and anti-epidemic measures

Sadržaj

1. Uvod i pregled područja istraživanja.....	1
1.1 <i>Legionella</i> – opis i vrste bakterije	2
1.1.1. <i>Legionella pneumophila</i>	3
1.2. Legionarska bolest i Pontijačka groznica	5
1.2.1. Povijest Legionarske bolesti.....	5
1.2.2. Legionarska bolest i dijagnostika	6
1.2.3. Liječenje	7
1.2.4. Pontijačka groznica	7
1.2.5. Uloga pontijačke groznice u prevenciji legionarske bolesti	7
1.3. Prisutnost <i>Legionella</i> u biofilmu i parazitiranje	7
1.3.1. Prisutnost u vodoopskrbnim sustavima i hidromasažnim kadama	9
1.4. Preventivne mjere (hoteli, kampovi, marine).....	10
1.4.1. Sezonski objekti (topla i hladna voda)	10
1.4.2. Objekti koji su otvoreni čitavu godinu (topla i hladna voda).....	11
1.5. Protuepidemijske mjere kod pojavnosti <i>Legionella spp.</i>	12
1.6. Pregled područja istraživanja	13
1.6.1. Preživljavanje <i>Legionella</i> u otopinama s NaCl	13
1.6.2. Prisutnost <i>Legionelle</i> u vodi iz slavine.....	13
1.6.3. Pojavnost <i>Legionella</i> i ameba u sustavima za opskrbu pitkom vodom	14
1.6.4. Prisutnost <i>Legionelle</i> na brodovima	14
1.6.5. Prisutnost <i>Legionella</i> u rashladnim tornjevima i fontanama	14
1.6.6. Praćenje <i>Legionella</i> u Europi (postupci i direktiva)	15
2. Cilj istraživanja.....	18
3. Materijali i postupci.....	19
4. Rezultati	20
5. Rasprava	24
6. Zaključak	26

7. Litratura.....	27
Životopis.....	32

1.Uvod i pregled područja istraživanja

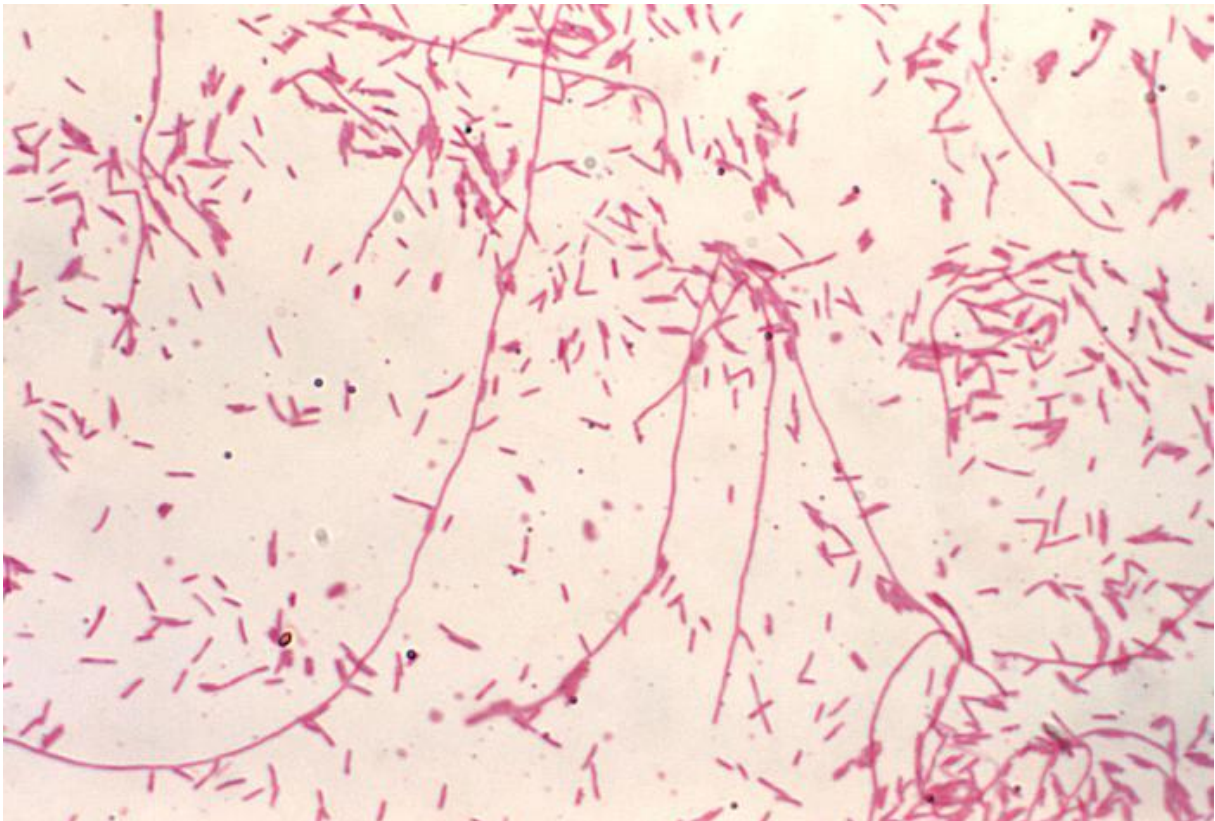
Prevenција legionarske bolesti temelji se na provođenju svih preventivnih mjera koje dovode do smanjenja rizika od pojave bakterije u vodenom sustavu a posljedično i pojave oboljenja.. Vrlo je važno održavanje vodoopskrbnih sustava, te ostalih pogodnih prostora u kojem postoje rizici za pojavu i razvoj *L pneumophila*, te pravovremena uspostava sustava praćenja i kontrole minimalno potrebnih mjera za smanjenje rizika od pojave legionarske bolesti. (1). Legionarska bolest može se pojaviti na bilo kojem mjestu gdje postoje sustavi s vodom koja duže vrijeme nema protok, te ukoliko čovjek koristi navedeni sustav i udiše aerosol. (2) Bolest se širi kontaminiranim aerosolom (česticama vode). Bolest se očituje kao upala pluća koja može biti smrtonosna. Rano dijagnosticiranje legionarske bolesti smanjuje smrtnost, stoga je rana dijagnoza važna za liječenje. (2,3)

Sve većom i bržom urbanizacijom došlo je do ubrzanog razvoja društva te bržem gospodarskom razvoju. Takvom promjenom stvorili su se i uvjeti u kojima se pojedini oportunistički patogeni lakše zadržavaju unutar sustava pitke vode te je posljedično nastao i rizik od nastanka legionarske bolesti. Upotreba sustava grijanja, ventilacija te sustava hlađenja sve je veća. Neadekvatno održavanje javnih vodoopskrba može rezultirati povećanim rizikom od onečišćenja vodovodnih sustava, uređaja ili opreme, odnosno povećava se broj ovih bakterija u sustavu te je mogućnost zaraze sve veća. (4) *Legionella* ima simbiotski odnos s određenim praživotinjama koje obitavaju na bio filmovima u cijevima s pitkom vodom. U prirodi legionele se nalaze u raznim prirodnim vodama, mogu se naći u rijekama i jezerima. U umjetnim sustavima nalaze se u rashladnim tornjevima, velikim vodoopskrbnim sustavima s toplom vodom, ovlaživačima zraka, fontanama i slično. (5)

1.1 *Legionella* – opis i vrste bakterije

Legionelle su aerobne, gram negativne gamaproteobakterije koje nemaju spore. Dvije vrste koje izazivaju legionarsku bolest jesu *Legionella pneumophila* i *Legionella longbeachae*. Više od 60 vrsta koje su opisane u rodu *Legionella*, mogu izazvati bolesti. *Legionella pneumophila* vodeći je uzročnik u svijetu, izaziva gotovo 90 % svih slučajeva zaraze. *Legionella longbeachae* nalazi se na drugom mjestu uzročnika ove bolesti s 2-7 % slučajeva zaraze. Ostale vrste *Legionella* su *Legionella micdadei*, *Legionella bozemanii*, *Legionella dumoffii*, *Legionella anisa*, *Legionella wadsworthii* i *Legionella feelei* te se one ne mogu često naći kod ljudi. Sve preostale vrste *Legionella* koje postoje, samo su jednom ili čak nisu nikada izolirane iz čovjeka. (6)

Legionelle su široke 0,3-0,9 i duge 2-20 μm . Širina i dužina ovisit će o starosti kulture. Svježe kulture imat će kokobacile duljine 2-6 μm a starije kulture mogu formirati nitaste oblike duge do 20 μm . *Legionella pneumophila* u pravilu ima neograničenu pokretljivost a neki sojevi mogu biti potpuno nepokretni. (7). Bakterija posjeduje jedan ili dva polarna biča, čija ekspresija može ovisiti o temperaturi. Broj bičeva smanjuje se s porastom temperature. (8)



Slika 1. Prikaz *Legionelle* pod mikroskopom (<https://phil.cdc.gov/details.aspx?pid=6642>)

Osim što se *Legionella spp.* nalazi u prethodno navedenim prirodnim sustavima, nekoliko vrsta pronađeno je u kompostu i u tlu. (9) Nalaze se i u umjetnim vodenim sustavima diljem svijeta i mogu preživjeti u različitim uvjetima okoline. Kontinuirano se nalaze u okolišu te izazivaju zarazu kod ljudi. Većina slučajeva pojavnosti legioneloze povezane s putovanjima je nepoznato ali su slučajevi povezani s hotelima. Izvori *Legionelle* u hotelima jesu tankovi s hladnom-toplom vodom, tuševi, bazeni, hidromasažne kade, klimatizacijski uređaji, ventilacijski uređaji, rashladni tornjevi, sustavi za navodnjavanje. (10) Hoteli su uobičajeno mjesto gdje se može otkriti sporadična ili epidemijska legioneloza povezana s vodoopskrbom. (11) Rashladni toranj jedan je od najčešćih izvora *Legionelle* gdje bakterija raste unutarstanično u protozoama unutar biofilmova. Vodeni biofilmovi koji su široko rasprostranjeni u prirodi i u medicinskim i zubarskim uređajima, ekološke su niše u kojima *Legionella* preživljava i razmnožava se. (12)

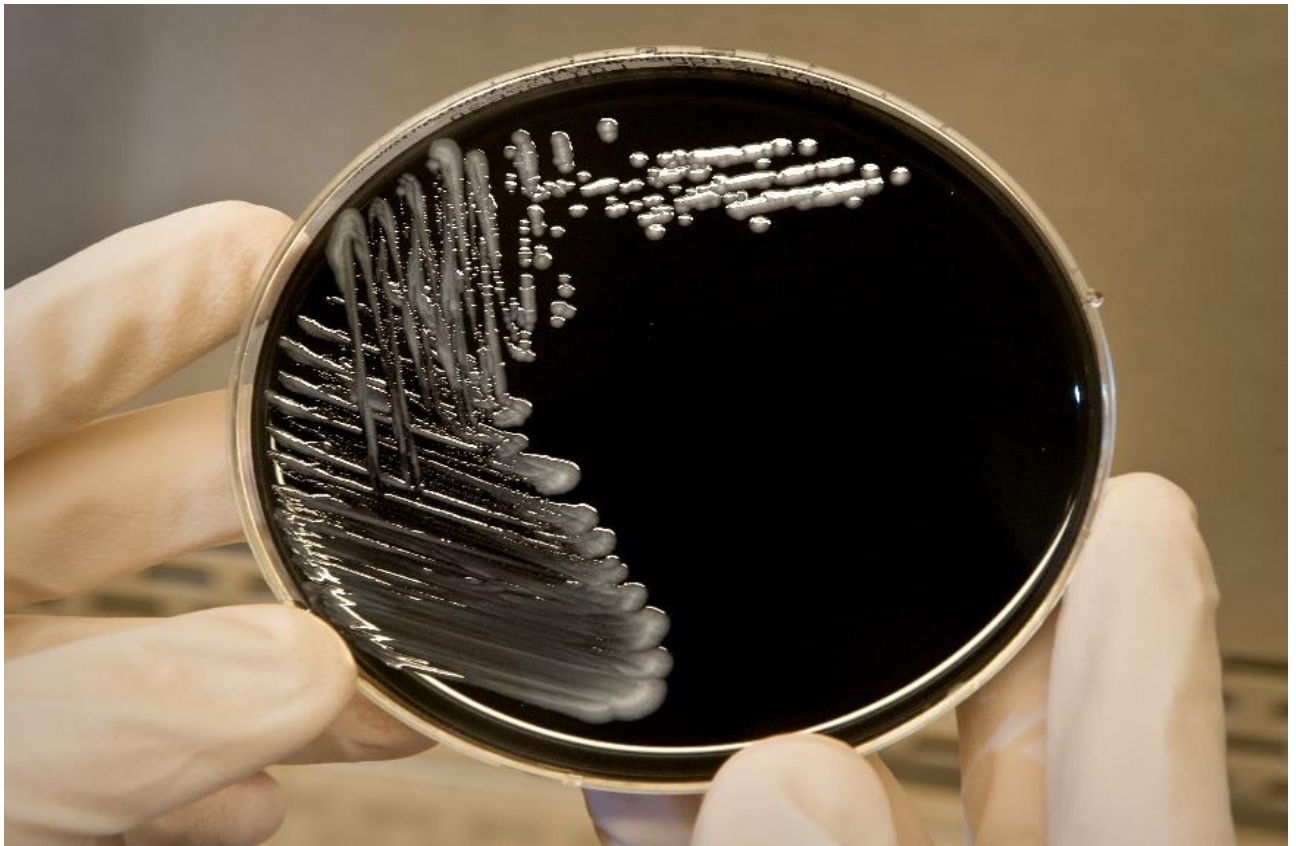
1.1.1. Legionella pneumophila

Legionella pneumophila izolirana je i utvrđena od strane istražitelja iz Pennsylvanije i centra za kontrolu i prevenciju bolesti u Atlanti. (13) Okolišni je organizam a njegova sposobnost repliciranja unutar eukariotskih stanica dovela je do pojave važnog ali i slučajnog uzroka infekcije pluća stečene u zajednici ili bolnicama. Razmnožava se pri temperaturama između 25 i 42 °C dok je optimalna temperatura rasta 35 °C. (14)

L. pneumophila glavni je uzročnik Legionarske bolesti u vidu akutne teške upale pluća. Plućna infekcija obično se razvija nakon udisanja kontaminiranog aerosola vode ili mikroaspiracije kontaminiranih izvora vode. Unutarstanični je patogen a kao dio patogeneze, replicira se unutar alveolarnih makrofaga i epitelnih stanica u vakuoli koja pokazuje mnoge karakteristike endoplazmatskog retikuluma. Bitan korak u razvoju infekcije i progresije bolesti je sposobnost izlaska unutarstaničnih patogena iz stanice domaćina. Nakon što replikacije prestane, patogeni izlaze iz stanice i time se omogućuje zaraza novih stanica domaćina. Bakterija je slobodna u citoplazmi tijekom kasnih faza replikacije i ima sposobnost 'bijega' iz vakuole koji je posredovan stvaranjem pora i lizom membrane. Otpuštanje stanice domaćina u citoplazmu uzrokuje funkcionalni i strukturni poremećaj citoplazmatskih organela i raspad plazmatske membrane što dovodi do daljnjeg stvaranja pora i do osmotske lize stanica domaćina i prodiranja bakterija. *L.pneumophila* najrasprostranjenija je vrsta *Legionella*, *L.pneumophila* serogrupa 1 čini 28 % izolata legionele u okolišu u usporedbi s 95 % kliničkih izolata. Najpatogenija je vrsta za ljude s obzirom na ostale *Legionelle*. Najveći utjecaj na javno

zdravstvo ima upravo *L.pneumophila*, stoga se toj vrsti daje najviše pozornosti prilikom istraživanja. Bakterija je izolirana iz širokog spektra kako ljudskih, tako i prirodnih vodenih staništa od jezera i potoka do rashladnih tornjeva s klimatizacijskim uređajima, fontana i ljekovitih kupki. Sposobnost parazitiranja u amebama i stvaranje biofilma, omogućuje *L.pneumophili* otpornost na biocide, antibiotike, kiseline, toplinski stres i osmotski tlak. Neke amebe izbacuju vezikule otporne na biocid koji sadrže velik broj bakterija *L.pneumophila* koje mogu djelovati kao agensi u zraku za prijenos bakterija. *L. pneumophila* prvo je izolirana uporabom Mueller-Hintonovog agara uz nadomjestak hemoglobina i IsoVitaleX-a. Utvrđeno je da je bitna komponenta hemoglobina topljivi oblik željeza a l-cistein je esencijalna aminokiselina koju daje IsoVitaleX. Poboljšanja su dovela do razvoja Feeley-Gormanovog agara koji osigurava bolji oporavak organizma iz tkiva. Škrob je kasnije zamijenjen ugljenom radi detoksikacije medija a izvor aminokiselina promijenjen je u ekstrakt kvasca, što rezultira agarom ekstrakta kvasnog ugljena. Agar s ekstraktom ugljenog kvasca osnovni je oblik većine medija koji se koriste za uzgoj *Legionella* općenito. Medij koji se koristi za kulturu *Legionella*, poboljšan je nekoliko puta što je na kraju rezultiralo medijem koji se trenutno koristi stoga se koristi puferirani ekstrakt ugljena i kvasca Buffered charcoal yeast extract (BYCEi) agar obogaćen α -ketoglutaratom sa i bez dodatnih selektivnih sredstava. (13,14,15)

Legionelle najbolje rastu na BYCEi agaru koji sadrži 0,1 % α -ketoglutarata i L-cisteina koji je nadopunjen bojama kako bi se što bolje identificirale kolonije. Agar sadrži i antimikrobna sredstva kao što su vankomicin, polimiksin B i anisomicin za inhibiciju prekomjernog rasta od drugih bakterija i kvasaca. Inkubacija se odvija na 35 C° u vlažnoj atmosferi. (16)



Slika 2. Karakteristične kolonije *Legionella* na BCYE agaru (izvor: <https://www.cdc.gov/legionella/resources/materials.html>)

1.2. Legionarska bolest i Pontijačka groznica

1.2.1. Povijest Legionarske bolesti

U ljeto 1976. održavala se proslava deklaracije neovisnosti u Philadelphiji, što je ujedno bilo središte zaraze. Sveukupno 182 pripadnika Pensilvanijske američke legije razvilo je akutnu respiratornu bolest, a 29 pripadnika umrlo je nakon povratka sa konvencije u Philadelphiji. To je bila prva epidemija Legionarske bolesti koja je bila zabilježena. Znanje o Legionarskoj bolesti razvijeno je tijekom intenzivnih istraga koje je provodio tim iz CDC-a i Ministarstva zdravlja Pennsylvanija. Tada nije bio poznat izvor bolesti jer laboratorijska podrška za istragu zaštite okoliša nije postojala. Jedino poznato je bilo da se dogodila epidemija zajedničkog izvora. Veličina epidemije u Philadelphiji pridonijela je prepoznavanju vrsta *Legionella* kao važnih ljudskih patogena. Pripadnici roda *Legionelle* bili su izolirani 25 godina prije nego što se desila epidemija u Philadelphiji ali su bili izolirani iz sporadičnih slučajeva. U početku su se tražile virusne i toksične etiologije zbog kliničke sličnosti upale pluća s teškom gripom. Kliničke značajke infekcija *Legionellom* bile su gastrointestinalne i cerebralni simptomi, no

ključna je bila upala pluća. Mnogi istražitelji teško su razlikovali upalu pluća uzrokovanu od *Legionella spp.* s obzirom na upale pluća uzrokovane drugim bakterijama. Znanstvenici su najviše obratili pažnju na rashladne tornjeve kao okolišni izvor epidemija *Legionelle* sve dok se nije pokazalo da su mogući izvor i tuševi, nakon čega su najviše obraćali pažnju na pitku vodu. U međuvremenu došlo je do otkrića bakterije koja uzrokuje Legionarsku bolest koja je naknadno nazvana *Legionella pneumophila*. Studija je provedena na zamorcima koji su bili inokulirani plućnim tkivom. Zamorci su se razboljeli te su dokazani gram negativni bacili iz plućnog tkiva i bolest se nije mogla prenesti s jednog zamorca na drugog. Kada se saznalo koja bakterija je izvor Legionarske bolesti, stvorila se mogućnost dijagnostike. (17)

1.2.2. Legionarska bolest i dijagnostika

Legionarska bolest važan je uzrok upale pluća stečenih u zajednici i bolnicama. Legionarska bolest i dalje uzrokuje izbijanje bolesti od javnog značaja. Bolest je uzrokovana bilo kojom vrstom gram negativnih aerobnih bakterija koje pripadaju rodu *Legionella*. *Legionella pneumophila* serogrupa 1 uzročnik je većine slučajeva u Europi. Ključna mjera za liječenje bolesti jest rana klinička dijagnoza i brzo započinjanje primjerenih terapija antibioticima kod svih bolesnika s pneumonijom stečenom u bolnici ili određenim zajednicama. Napredak u tehnologiji sekvencioniranja, mogao bi dodatno doprinijeti razumijevanju raspodjele i prirodne povijesti Legionarske bolesti te izvijestiti o istraživanjima izbijanja epidemija. Suzbijanje epidemija moguće je brzim utvrđivanjem opisnih epidemioloških podataka kombiniranih s mikrobiološkim informacijama kako bi se identificirao izvor i provele mjere suzbijanja. Potrebna su daljnja istraživanja kako bi se definirao stvarni teret bolesti, čimbenici koji utječu na osjetljivost, ključni izvori infekcije i razlike u virulenciji između sojeva *Legionelle*. Klinička ispitivanja trebaju biti precizno odrađena kao i dijagnosticirana zbog utvrđivanja optimalnih antibiotika za liječenje. (18)

Klinički nije moguće razlikovati osobe koje boluju od Legionarske bolesti od osoba koje boluju od nekih drugih vrsta upale pluća. Značajke Legionarske bolesti uključuju povišenu temperaturu, neproduktivni kašalj, glavobolju, mijalgije, dispneju, proljev. Niti jedan rendgenski snimak prsnog koša ne može odvojiti ovu infekciju od ostalih vrsta upale pluća stoga su alveolarni infiltrati češći kod Legionarske bolesti. Preferiraju se dvije vrste testova kako bi se utvrdilo je li *Legionella* uzrokovala upalu pluća; test urina i laboratorijsko ispitivanje koje uključuje uzorkovanje ispljuvka ili iskašljaja iz pluća. (14)

1.2.3. Liječenje

Povijesno gledano, eritromicin bio je lijek za Legionarsku bolest. Zbog poteškoća o prikupljanju dovoljnog broja dijagnosticiranih slučajeva Legionarske bolesti na jednom mjestu(ustanovi) te zbog cijene i složenosti multicentričnih studija, postoji mala vjerojatnost da će se provoditi klinička ispitivanja kako bi se utvrdilo jesu li neki drugi agensi za liječenje bolji. Podaci dobiveni in vitro sugeriraju da azitromicin i mnogu fluorokinolonski agensi imaju superiorno djelovanje protiv vrsta *Legionella* te imaju manje nuspojava od eritromicina. Azitromicin i levofloksacin licencirani su za liječenje Legionarske bolesti i smatraju se boljim od eritromicina. (18,19)

1.2.4. Pontijačka groznica

Pontijačka groznica blagi je oblik Legionarske bolesti, obično groznica nije povezana s upalom pluća. Kao i kod Legionarske bolesti, osoba se inficira udisanjem aerosola koji je kontaminiran uzročnikom *Legionelle*. Klinički simptomi pontijačke groznice oponašaju gripu s vrućicom, astenijom, mijalgijom, glavoboljom, kašljem, mučninom i grloboljom. Opisani su i drugi simptomi poput dispnee, bolova u prsnom košu, povraćanja i proljeva. Pacijenti se oporavljaju za dva do pet dana, bez potrebe za liječenjem. Zbog blagih simptoma te nedostatka specifičnih simptoma, pontijačka groznica često ne bude dijagnosticirana i zbog toga se manje prijavljuje od Legionarske bolesti. Pontijačka groznica ima kratko razdoblje inkubacije, obično 30 do 90 sati s prosjekom od 36 sati. Groznica obitava uz odsutnost smrtnih slučajeva ili dugotrajnih komplikacija. (20)

1.2.5. Uloga pontijačke groznice u prevenciji legionarske bolesti

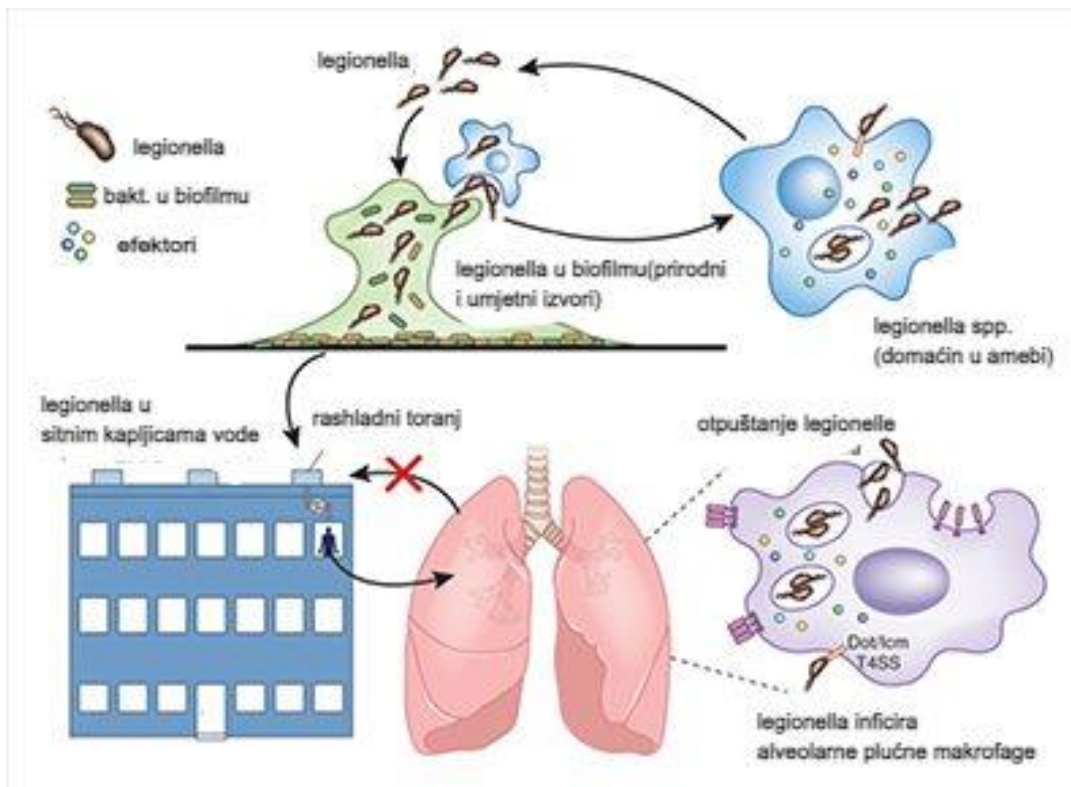
Pontijačka groznica obično se dijagnosticira u epidemijским uvjetima. Dijagnosticiranje pontijačke groznice oznaka je onečišćenja okoliša *Legionellom* stoga su mjere prevencije nakon dijagnosticiranja pontijačke groznice neophodne kako ne bi došlo do izbijanja Legionarske bolesti. Pontijačka groznica podložna je epidemiološkom nadzoru i istraživanju u ne epidemijским uvjetima. (20)

1.3. Prisutnost *Legionella* u biofilmu i parazitiranje

Invazija i unutarstanična replikacija *L. pneumophila* unutar protozoa u okolišu, imaju glavnu ulogu u prijenosu Legionarske bolesti. Praživotinje pružaju staništa za okolišni opstanak

i razmnožavanje *Legionella*. *L. pneumophila* razmnožava se unutarstanično u raznim vrstama protozoa unutar vakuola, kao što to čini i unutar makrofaga. Rast unutar protozoa povećava sposobnost preživljavanja u okolišu i patogenost (virulenciju) *Legionelle* na način da su legionele otporne na biocide i toplinsku dezinfekciju. Metode lančane reakcije polimerazom (PCR), razvijene su za molekularno otkrivanje *Legionelle*. Razvijene su različite metode fizikalne i kemijske dezinfekcije kako bi se *Legionelle* eliminirale iz okolišnih izvora. *Legionelle* su zaštićene od dezinfekcije uzgojem unutar protozoa i biofilmova. (12) U okolišu se vrste *Legionella* ne mogu razmnožavati izvanstanično stoga su paraziti praživotinja. Potencijalni domaćini *Legionella* mogu biti trianest vrsta ameba i dvije vrste trepavičastih praživotinja koje omogućuju unutarstaničnu replikaciju bakterija. Protozoe obično fagocitiraju druge bakterije i koriste ih kao izvore prehrane stoga interakcija *Legionelle* koja parazitira u protozoama, ukazuje na ogromnu prilagodbu *Legionella*. *Legionelle* su jedine bakterijske vrste koje su plodne u svojoj unutarstaničnoj replikaciji u amebama. (21) Kada je legionela ingestirana u amebu, njeno preživljavanje ovisi o temperaturi vode. Pri temperaturi od 22 °C ameba probavlja bakterije dok se na 35 ° bakterije mogu razmnožavati unutar amebe. *Legionelle* koje ne posjeduju bičeve imaju manju sposobnost zaraze protozoa i makrofaga. Mogu preživjeti u amebnim stanicama i pomoću toga *L.pneumophila* može preživjeti nepovoljne uvjete okoliša i opstati unutar aerosola u zraku. (8,22)

Površinski povezana mikrobna aktivnost i kolonizacija, odnosno stvaranje biofilma javlja se u prirodnom i umjetnom okruženju na rasponu različitih površina. Mikroorganizmi uključujući *L.pneumophila* tvore biofilme kao mehanizam za podnošenje nepovoljnih uvjeta poput ograničene vrijednosti hranjivih tvari ili ekstremnih temperatura. Adherencija površine događa se pomoću izlučene izvanstanične polisaharidne tvari koje izlučuju stanice. Izlučena tvar, glikokaliks ili sluz je hidratizirani polianionski polisaharidni matriks proizveden polimerazama pričvršćenim na lipopolisaharidnu komponentu stanične stjenke. (23) Biofilmovi koji uključuju *Legionelle* i protozoe, mogu se stvarati na rashladnim tornjevima. Biofilmovi se stvaraju na površinama, osobito između čvrstih površina i površina vode. Većinski se stvaraju tamo gdje su područja s malim protokom vode. (24)



Slika 3. Prikaz *Legionelle* u biofilmu, amebi i prijenos preko rashladnog tornja (<https://cwsnaturally.com/uncategorized/promoss-legionella-amoeba-and-legionnaires-disease/>)

1.3.1. Prisutnost u vodoopskrbnim sustavima i hidromasažnim kadama

Pojava *Legionelle* u vodoopskrbnim sustavima je uobičajena se kada se sustavi nepravilno održavaju što dovodi do idealnog okruženja za rast i razmnožavanje. Nedavno istraživanje pokazalo je da se *Legionella* pojavljuje kada se nastupe problemi sa starenjem vode koja putuje iz vodovodnih cijevi do slavine. Alternativne vrste vodoopskrbnih sustava i niži protoci vode zadržavaju vodu u cijevima, stoga se u kompleksima sa loše održanim vodoopskrbnim sustavima dešavaju epidemije u obliku Legionarske bolesti. Što duže voda stoji u sustavu ili cjevovodima to je veća vjerojatnost da će se sredstvo za dezinfekciju vode s vremenom utrošiti, što dovodi do rasta patogena. Kada se biofilm stvori na unutarnjem zidu cjevovoda za dovod vode, štiti *Legionellu* od temperature i dezinficijensa. Rast *Legionelle* omogućuju temperature mlake vode koja se kreće od 22 °C do 45 °C. Pojavnost *Legionelle* može biti i u cijevima sa slijepim završecima zbog slabog protoka vode. (25,26,27)

Legionella se najbolje razvija u toploj vodi pri temperaturama vode koje se koriste u hidromasažnim kadama. Visoke temperature otežavaju održavanje potrebne razine klora kako

nebi došlo do zaraze *Legionellom*. Dezinficijensi i druge tvari potrebne za dezinfekciju trebale bi biti provjerene svakodnevno a hidromasažne kade redovito čišćene. (28)

1.4. Preventivne mjere (hoteli, kampovi, marine)

Redovito provođenje preventivnih mjera neizostavno je u objektima poput hotela, kampova i marina. Mjere se provode da bi se smanjio rizik te pojavnost Legionarske bolesti. Kontrolu i plan kojim se provode preventivne mjere odrađuje stručna osoba prethodno zadužena od strane poslodavca samog objekta. Stručna osoba vrši nadzor i piše evidenciju za provođenje preventivnih mjera gdje su zabilježeni datumi, vrsta provedenih postupaka, izmjerene vrijednosti te izvid rizičnih točki i uklanjanje istih. (29)

1.4.1. Sezonski objekti (topla i hladna voda)

Prije no što nova sezona počne potrebno je očistiti moguće nastale taloga kamenca iz bojlera i spremnika u sustavima za grijanje vode. Zatim se odvija dezinfekcija na stjenkama spremnika te se spremnik puni svježom vodom. U slučaju da je spremnik bio ispražnjen dok je objekt bio zatvoren, spremnici se dezinficiraju prije punjenja s vodom. Mrežice na slavinama čiste se od taloga kao i rozete od tuševa. Potrebno je isprati čitavi sustav s vodom (hladnom i toplom) na način da svugdje voda teče do pojave bistroće u vremenskom periodu od najmanje 5 minuta. Protupožarni hidranti ispiru se na isti način kao što je navedeno.

Nakon što je provedeno ispiranje sustava s toplom i hladnom vodom, potrebno je zagrijavanje tople vode u spremniku zbog pasterizacije koja se provodi radi uništavanja patogenih mikroorganizama (legionele). Temperatura u spremniku treba biti od 70°C do 80 °C. U slučaju da navedeni sustav objekta nije u mogućnosti postići navedene temperature tada se temperatura postiže najmanje iznad 65 °C i održava 4 sata. Recirkulacijska pumpa mora biti uključena kako bi topla voda mogla cirkulirati sustavom. Kroz slavine i tuševe propušta se vruća voda na način da sve slavine i tuševi budu otvoreni najmanje 2 minute na temperaturi iznad 60 °C. Ako postoji problem sa sustavom grijanja vode, te se ne može provesti pasterizacija ili ako su rađeni određeni radovi na navedenom sustavu potrebna je provedba hiperkloriranja sustava s toplom vodom. Prethodna pasterizacija sustava obavezna je stavka prije hiperkloriranja. Hiperkloriranje se odvija u sustavu tople vode gdje se voda klorira do pojave slobodnog rezidualnog klora koncentracije do 50 mg/L. Hiperkloriranje mogu izvoditi samo osobe koje su ovlaštene i imaju dozvolu za rad sa kemikalijama navedenih koncentracija. Provedba se odvija

prije nego što se voda zagrije. Kada je postignuta koncentracija slobodnog rezidualnog klora zadovoljena, voda na slavini biva ispuštena zbog navlačenja vode na izljevna mjesta. Tijekom odvijanja hiperkloriranja, koncentracija slobodnog rezidualnog klora mora biti održavana iznad 30 mg/L. Postizanjem povoljne koncentracije slobodnog rezidualnog klora, slavine se zatvaraju. Recirkulacijske pumpe moraju biti upaljene dok je slavina zatvorena u vremenskom periodu od 4 sata. Kada prođe vrijeme od 2 sata, ispire se sustav od hiperkloriranja. Snižanjem koncentracije slobodnog rezidualnog klora na 0,5 mg/L označava se kao završeno hiperkloriranje. Uvijek treba imati na umu da se u prirodne recipijente ne smije ispuštati visoka koncentracija klora te je prije završetka hiperkloriranja neophodna neutralizacija visokih količina klora. Zatim nastupa ispiranje sustava, odnosno puštanjem vode na svim slavinama. Topla voda zagrijava se na više od 50 °C na slavini. Održavanje navedene temperature provodi se za vrijeme rada objekta. Bitno je da se navedena temperatura postigne na svim slavinama u objektu. Da bi gosti u objektima bili sigurni, temperatura tople vode na slavini ne smije padati ispod 50 °C. Hladna voda ne smije prijeći temperaturu od 20 °C zbog toga što se *Legionella* razmnožava na temperaturama iznad 20 °C. Protok i cirkulacija voda u cijevima mora biti kontinuirana zbog sprečavanja pojavnosti *Legionella*. (29)

1.4.2. Objekti koji su otvoreni kroz cijeli godišnji period vremena (topla i hladna voda)

U sobama gdje nema gostiju potrebno je najmanje jednom u sedam dana ispirati sustave za vodu. Prije pojave gostiju također je potrebno ispirati sustave na način da se voda na slavini ispušta dok se ne pojavi voda koja je bistra. Isto kao i kod objekata koji su otvoreni sezonski, temperatura tople vode na slavini ne bi smjela biti ispod 50 stupnjeva celzijusa. Hladna voda na slavini ne smije biti viša od 20 °C. Redovita kontrola rozeti s tuša i mrežica na slavini te čišćenje kamenca neizostavan su dio prevencije od *Legionella*. U slučaju održavanja radova u sustavu, nakon obavljanja potrebna je hiperklorinacija sustava tople vode na način koji se opisan kod objekata koji rade sezonski. Obavezno osiguravanje stalnog protoka vode kroz sustav cijevi radi sprečavanja razvoja *Legionelle*.

Potrebno je mehaničko čišćenje i ispiranje rashladnih tornjeva kojeg obavljaju ovlaštene servisi. Voda se hiperklorira na koncentraciju od 20 mg/L slobodnog rezidualnog klora. Hiperklorirana voda cirkulira u periodu od 2 sata te se neutralizira i zatim ispire. Zatim ide punjenje sustava svježom vodom. Svakako je preporuka da se preventivno napravi pasterizacija sustava barem jednom godišnje. Hiperkloriranje i dezinfekciju provodi pravna osoba koja je

ovlaštena za korištenje klornih proizvoda. Kondicioniranje vode za hlađenje obavezan je postupak kojeg je potrebno provoditi kontinuirano.

Dezinfekcija i čišćenje klornim preparatima odvija se u bazenima za ovlaživanje zraka. Potrebno je ispiranje vodom kao i punjenje svježom vodom. Provodi se svake godine po dva puta. Provodi se prema uputi proizvođača klimatizacijskog uređaja. Voda se izmjenjuje jednom u sedam dana, po potrebi i ranije. Kao i kod rashladnih tornjeva, mjere dezinfekcije provodi pravna osoba.

Za dezinfekciju spa kada prva stavka je ispuštanje vode iz sustava. Zatim se mehanički čiste kompenzacijski spremnici i kada od mogućih naslaga te nastalog taloga. Provodi se postupak dezinfekcije koji može biti trajni i svakodnevni kako bi se mogli održati sanitarni i higijenski uvjeti. Sustav se ispire čistom vodovodnom vodom. Dezinfekcija kade provodi se trajno uz koncentraciju 3-5 mg/L slobodnog rezidualnog klora. Slobodni rezidualni klor i pH trebaju biti strogo kontrolirani u određenim razinama te provjereni tri puta dnevno. Ako se dezinficijensi ne doziraju automatski tada se izmjenjuje polovica ukupne vode. (29)

1.5. Protuepidemijske mjere kod pojavnosti *Legionella spp.*

Protuepidemijske mjere se koriste onda kada se *Legionella* pojavi u vodoopskrbnom sustavu te izazove oboljenje kod čovjeka.

Kod slučajeva pojavnosti *Legionella* u vodoopskrbnim sustavima tnekih objekata te slučajeva Legionarske bolesti, uvodi se provedba kontrolnih mjera ili nekih drugih alternativnih postupaka. Izvršavaju se samo kontrolne mjere koje su učinkovite za suzbijanje *Legionella*. Mjere se provode u obliku općih mjera, pasterizacije i sredstvima na bazi klora.

Pod opće mjere podrazumijeva se uklanjanje i rastavljanje komponenti sustava s vodom. Obavezno je pregledati i očistiti dijelove vodenog sustava onako kako je preporučeno od strane proizvođača. Spremnici s hladnom i toplom vodom prazne se, čiste i dezinficiraju (stjenke) te se pune čistom vodovodnom vodom. U slučaju da su spremnici ispražnjeni duže vrijeme (dok objekt nije radio), ispiru se iznutra te se dezinficiraju prije nego se napune vodom. Mrežice na slavini i rozete od tuša se čiste od mogućeg taloga. Čitavi sustav vode (hladne i tople) ispire se na način da čista voda teče minimalno 5 minuta. Protupožarni hidranti ispiru se na isti način koji je naveden.

Dok proces pasterizacije traje, voda se ne smije ispuštati niti koristiti. Nakon što se sustav ispere, voda se zagrijava u bojleru. Postižu se temperature od 70 do 90 °C. Postupak je isti kao i pasterizacija kod preventivnih mjera koje su navedene.

Hiperklorinacija odvija se sa sredstvima koji imaju u svome sastavu klor, odnosno klor je takvim sredstvima baza. Primjeri takvih sredstava su natrijev-hipoklorit i plinoviti klor. Hiperklorinacija je također navedena kod preventivnih mjera te se odvija po istom postupku.(30)

1.6. Pregled područja istraživanja

1.6.1. Preživljavanje *Legionella* u otopinama s NaCl

U istraživanju R.Heller i suradnika (1998), promatrani su različiti učinci koncentracija otopina natrijevog klorida (0,1-3%) i različitih temperatura (4,10,20,30 i 37 °C) na preživljavanje *Legionella*. Na temperaturama između 4 i 20°C organizmi *Legionella* preživljavaju u otopinama soli do 3% NaCl. Kombinacija visokih temperatura s koncentracijom NaCl preko 0,1% smanjuje broj bakterija. Dodatkom manjih koncentracija, poboljšava se preživljavanje *Legionella* što dokazuje mogućost preživljavanja u moru. Preživljavanje legionele ovisi o temperaturi vode s NaCl i samoj koncentraciji NaCl. (31)

1.6.2. Prisutnost *Legionelle* u vodi iz slavine

U istraživanju R.Lesnik i suradnika (2016), analizirani su uzorci vode sustava za opskrbu vode za piće. Uzorci su analizirani na prisutnost *Legionella* pomoću PCR amplikona. Analize obuhvaćaju cijeli lanac opskrbe, uključujući sirovu vodu, postupak pročišćavanja i veliko skladište, te sezonsko istraživanje gotove pitke vode uzorkovane mjesečno iz slavine s hladnom i toplom vodom. Obrada sirove vode imala je velik utjecaj na vrste *Legionella* smanjenjem raznolikosti vrsta. Sastav vodovodne vode uvelike se razlikovao od sastava izvorišne vode. U hladnoj vodi primijećeno je 8-14 različitih tipova legionela po uzorku. U toploj vodi *Legionella pneumophila* bila je prisutna tijekom svih sezona u pratnji s 5-14 drugih vrsti. Termofilna zajednica *Legionella*, uključujući *L.pneumophila* uspjela je rasti u toploj vodi iznad 50 °C. Takve termofilne populacije *Legionelle* od opće su važnosti za upravljanje pitkom vodom i javno zdravlje te za ekologiju i evoluciju roda *Legionella*. (32)

1.6.3. Pojavnost *Legionella* i ameba u sustavima za opskrbu pitkom vodom

Istraživanju O.Valcina i suradnika (2019) cilj istraživanja bio je istražiti istodobnu pojavu *Legionella spp.* i ameba u sustavima opskrbe pitkom vodom. Ukupno je prikupljeno 268 uzoraka vode iz stambenih zgrada, hotela i javnih zgrada. Za otkrivanje *Legionelle spp.* korištena je metoda PCR. Pojava *Legionelle* varirala je u prosjeku od 12,5 % u uzorcima hladne vode, a najčešća pojava je zabilježena u toploj vodi. U područjima gdje je nepročišćena podzemna voda, 54,0 % uzoraka bilo je pozitivno na *Legionellu*. Pojava ameba bila je znatno veća. U uzorcima prikupljenim tijekom istraživanja, *Legionella* je uvijek bila izolirana zajedno s amebama. Nisu primjećeni uzorci koji sadrže *Legionellu* u odsutnosti ameba. (33)

1.6.4. Prisutnost *Legionelle* na brodovima

Najčešća prisutnost *Legionelle* nalazi se na brodovima za krstarenje (kruzerima), trajektima, teretnim brodovima, brodova za ribolov i pomorskim brodovima. Bakterija se nalazi u brodskim sustavima za vodu, klima uređajima, tuševima i hidromasažnim kadama. Općenite ankete koje su provedene na teretnim brodovima, pokazuju na prisutnost *Legionelle* u sustavima s pitkom vodom te klimatizacijskim uređajima. Serološka ispitivanja pojedinih moreplovaca pokazala su da je veliki dio bio pozitivan na antitijela *L.pneumophila*. Na brodovima postoji povećani rizik zaraze od legioneloza nego u zajednicama na kopnu. Najčešće epidemije Legionarske bolesti povezane su s brodovima. (10,34)

1.6.5. Prisutnost *Legionella* u rashladnim tornjevima i fontanama

U istraživanju R.Lau i suradnika (2013) testirani su rashladni tornjevi u Novom Zelandu. Tijekom 2008. godine uzeto je više od 3900 uzoraka vode iz 688 rashladnih tornjeva. Uzorci su testirani na *Legionellu*. Od 80 (2,05%) izolata *Legionelle*, 10 (12,5%) pozitivno je na *Legionella pneumophila* serogrupe 1. Tijekom 2009. godine uzeto je više od 3990 uzoraka vode iz 606 različita rashladna tornjeva te su također testirani na *Legionellu*. Od 51 izolata *Legionelle*, 18 izolata (35,3%) je *L.pneumophila* serogrupa 1 a 39 izolata (76,4%) su ostale serogrupe *L.pneumophila*. Serogrupe *L.pneumophila* bile su značajno povezane sa slučajevima legioneloze u 2008. i 2009. godini. (35)

U istraživanju Tara N. Palmore uzorkovale su se ukrasne fontane zbog sumnje kontaminacije fontane bakterijom *Legionella pneumophila*. Došlo je do pojave legionarske bolesti u bolnicama, pacijenti su imali atipičnu upalu pluća koja se može pripisati bakteriji

Legionella pneumophila serogrupe 1. Uzorci ukrasne fontane bili su pozitivni na *Legionella pneumophila* serogrupe 1. Izolati oba oboljela pacijenta i izolati fontane davali su jednake rezultate na gel elektroforezi s pulsirajućim poljem. Oba pacijenta razvila su upalu pluća u razdoblju inkubacije nakon izlaganja vodi ukrasne fontane. Kontaminacija dekorativne fontane desila se zbog cijevi koje dovode i recirkuliraju vodu do fontane u kojoj se voda miješa sa stajaćom vodom (voda koja je prethodno stajala 4 mjeseca u fontani prije ponovnog pokretanja). Dok je fontana bila isključena, u cijevima je bio zastoj koji je pospješio razvoj biofilma gdje se namnožila bakterija *Legionella pneumophila*. (36)

1.6.6 Praćenje *Legionella* u Europi (postupci i direktiva)

Opisani postupci praćenja *Legionella* u Europi odnose se na državu Englesku (s popratnim postupcima Italije, Španjolske, Finske i Nizozemske). Praćenje *Legionella* odvija se u sustavima tople vode koja je prethodno kondicionirana. Praćenje se provodi na mjesečnoj bazi tijekom 12 mjeseci. Ako se dobivaju zadovoljavajući rezultati, tromjesečno nakon toga se u sustavima kontrolira razina biocida i temperatura vode. Osim temeljite obrade vodoopskrbnog sustava, treba često uzimati uzorke vode na tjednoj bazi. Uz rutinsko uzorkovanje aerobnih bakterija, rutinsko praćenje treba uključivati uzorkovanje za prisustvo *Legionella*. Uzorkovanje se treba provoditi najmanje tromjesečno osim ako nije potrebno iz razloga jer se pojavila Legionarska bolest, ako je pronađen neki uzorak koji je pozitivan na *Legionellu* ili prilikom puštanja vodenog sustava u rad i uspostavljanja i provjere valjanosti novog sustava. Uzorci se uzimaju iz sustava hladne i tople vode. Pri određivanju broja uzoraka uzima se u obzir složenost sustava. Analizu uzoraka vode za *Legionellu* provodi laboratorij akreditiran za ISO 17025 koji uključuje svoj opseg akreditacije. Uzorkovanje je važno za otkrivanje *Legionelle* (uključujući *Legionella pneumophila*) iz vode, briseva, mulja i biofilmova. Kada postoji sumnja na izbijanje epidemije ili je ona utvrđena tada se provjerava djelotvornost kontrolnog režima, postoji li neka modifikacija sustava tamo gdje je novi sustav te sustav koji je izvan mreže ili nije bio korišten neko vrijeme (tijekom obnove ili sezonski objekti).

Također, postoji praćenje kontrolnih mjera koje se odvijaju na način da se provjerava performansa sustava i njegovih dijelova, pregledavaju se dostupni dijelovi sustava (oštećenja), onečišćenja, kamenci i korozija. Pregledavaju se rezultati praćenja kako bi se osigurala kontrola sustava prema potrebnim standardima. Učestalost i opseg rutinskog nadzora ovisi o karakteristikama sustava ali neke bi se trebale provoditi svakodnevno (provjera količine biocida i je li upotreba u granicama normale). Ispitivanje kakvoće vode bitan je dio provjere posebno u

rashladnim tornjevima i spa bazenima što se smatra rutinskim djelom praćenja broja *Legionella*. Ujedno se postupak koristi kao pokazatelj učinkovitosti dezinfekcije vode. Povremeno uzorkovanje i ispitivanje prisutnosti *Legionella* na temelju procjena rizika može biti pokazatelj da su preventivne mjere učinkovite. (37)

Direktiva (EU) 2020/2184 Europskog parlamenta i vijeća od 16. prosinca 2020. o kvaliteti vode namijenjene za ljudsku potrošnju govori o dozvoljenim količinama *Legionelle* u pitkim vodama. Članak broj 10. govori o procjeni rizika za kućne vodoopskrbne mreže. U njemu se navode opće analize potencijalnog rizika koje su povezane s kućnom vodoopskrbnom mrežom te utjecaj potencijalnih rizika na kvalitetu voda koje su namijenjene za ljudsku potrošnju. Opća analiza uključuje analizu pojedinih svojstava i praćenje parametara koji su navedeni u zakonu za kvalitetu vode i zdravlje ljudi. U slučaju da postoji rizik za ljudsko zdravlje zbog vodoopskrbnih sustava, potrebno je poduzeti odgovarajuće mjere kako bi se smanjio ili eliminirao rizik vezano uz bakteriju *Legionella* te su mjere usmjerene na prioritetne objekte. Preventivne mjere vezane za bakteriju *Legionella* podrazumijevaju osiguravanje uspostave djelotvorne kontrole i upravljanja te su proporcionalne riziku kako bi se spriječilo moguće izbijanje bolesti odnosno kako bi se bolest liječila u slučaju izbijanja. Parametri koji su relevantni za procjenu rizika za kućne vodoopskrbne mreže u vezi legionele su <1000 CFU/l, odnosno broj *Legionella* u uzorku vode ne smije biti veći od 1000 CFU/l. Vrijednost se utvrđuje za potrebe iz članka 10. koji je prethodno naveden što znači u slučaju kada se pojavi infekcija ili izbijanje bolesti.

Vrijednosti parametara koji su utvrđeni za ocjenu kvalitete vode namijenjene za ljudsku potrošnju trebale bi biti zadovoljene do one točke na kojoj voda izlazi iz slavina koje se rabe za vodu koja je namijenjena za ljudsku potrošnju. Kućna mreža za vodoopskrbu utječe na kvalitetu vode koja je namijenjena za ljudsku potrošnju. Prema procjeni Svjetske zdravstvene organizacije, *Legionella* izaziva najviše opterećenja što se tiče zdravlja s obzirom na ostale patogene organizme koji su prisutni u vodi. Praćenje *Legionelle* u privatnim i javnim prostorima rezultiralo je visokim troškovima s toga je rješenje procjena rizika za vodoopskrbne mreže u kućanstvu. Procjena rizika za vodoopskrbne mreže u kućanstvu treba uključivati i usmjeravanje praćenja na važne i prioritetne objekte poput bolnica, zdravstvenih ustanova, domova za starije i nemoćne, objekata namijenjenih čuvanju djece, škola, obrazovnih ustanova, zgrada sa smještajnim kapacitetima, restorana, sportskih i trgovačkih centara, prostora za rekreaciju i kampova. Što se tiče metodi uzorkovanja i točkama uzorkovanja zakon nalaže: ' Uzorci za bakteriju *Legionella* u kućnim vodoopskrbnim mrežama uzimaju se na rizičnim točkama za

širenje bakterije *Legionella*, točkama koje su reprezentativne za sustavnu izloženost bakteriji *Legionella* ili objema. Države članice sastavljaju smjernice za metode uzorkovanja za bakteriju *Legionella*. ' (38)

2. Cilj istraživanja

Cilj ovog završnog rada je prikazati prisutnost patogene bakterije *L.pneumophila* u vodoopskrbnom sustavu u Primorsko-goranskoj županiji a sve obradom podataka dobivenih provedbom Programa „*Legionella pneumophila* - monitoring i edukacija“. Program je proveden u tijeku jedne kalendarske godine a sve u cilju stjecanja okvirne slike prisutnosti ove oportunističke patogene bakterije u sustavima koji ne pripadaju klasičnim i očekivanim objektima pod nadzorom . Cilj je bio i opisati osnovne preventivne i protuepidemijske mjere koje se po dokazanoj prisutnosti ove bakterije trebaju provesti. naglasak u ovom radu bio je i istaknuti ulogu sanitarne struke u provođenju navedenih mjera.

3. Materijali i postupci

Ususret stupanja na snagu nove Direktive o kvaliteti vode koja je namijenjena za ljudsku potrošnju, a u cilju stjecanja okvirne slike o mogućoj prisutnosti u vodoopskrbnom sustavu proveden je jednogodišnji Program pod nazivom „*Legionella pneumophila* – MONITORING I EDUKACIJA“ na području Primorsko - goranske županije. Nositelj provedbe ovog programa bio je Nastavni zavod za javno zdravstvo Primorsko – goranske županije.

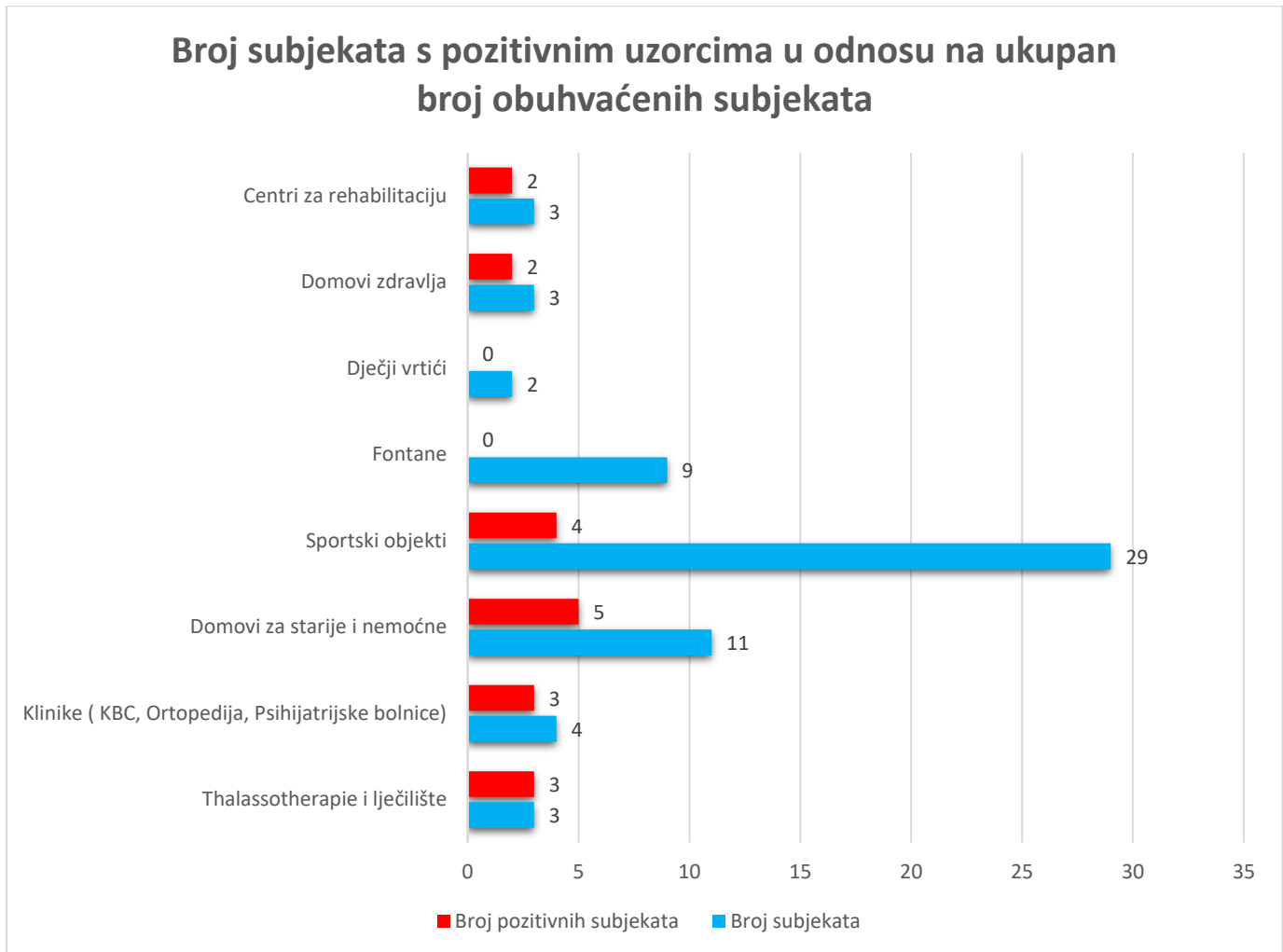
Ispitivani su svi oni objekti koji inače ne spadaju u kategoriju povremenog rada među kojima su i klinički bolnički centri, lječilišta, psihijatrijske bolnice, talasoterapije, centri za rehabilitaciju, domovi za starije i nemoćne, sportski centri, dječji vrtići i fontane.

Voda je uzorkovana iz vodoopskrbnih sustava (topla i hladna). Voda je analizirana na prisutnost bakterije *Legionella pneumophila* metodom koja je akreditirana (HRN EN ISO 11731:2017).

Podaci su obrađivani u programu Microsoft Excel (osnovne tablice i grafovi).

4. Rezultati

Ukupan broj pozitivnih subjekata s obzirom na broj subjekata odnosi se na domove za starije, sportske objekte, klinike, talasoterapije, lječilište, centre za rehabilitaciju te domove zdravlja. Negativni subjekti jesu dječji vrtići i fontane. Svi uzorci analizirani su na parametar prisutnosti bakterije *Legionella pneumophila* u vodi.



Slika 4. Broj subjekata koji imaju pozitivne uzorke s obzirom na ukupan broj subjekata koji je obuhvaćen

Slika 4. prikazuje koliki je broj subjekata u kojima su nađeni pozitivni uzorci na *Legionella pneumophila* s obzirom na cjelokupan broj subjekata u kojima su uzimani uzorci. Ispitivano je 3 centra za rehabilitaciju (N=3) od kojih je 2 centra (N=2) imalo pozitivne uzorke na *Legionella pneumophila*. Centri za rehabilitaciju imaju 66,7 % pozitivnih subjekata. Nadalje, ispitano je 3 različita doma zdravlja (N=3) od kojih su 2 bila pozitivna (N=2) što znači da su

domovi zdravlja u postotku od 66,7% po broju pozitivnih subjekata. Od ispitivana 2 dječja vrtića(N=2), niti jedan subjekt nije bio pozitivan. Također fontane, od 9 različitih fontana(N=9) niti jedna nije bila pozitivna na *Legionella pneumophila*. Najviše ispitanih subjekata nalazi se u kategoriji sportskih objekata, N=29 od kojih je 4 subjekta pozitivno ocijenjena (N=4) u postotku od 13,8 %. Ispitano je 11 domova za starije i nemoćne (N=11) a pozitivan broj subjekata jest 5 što nosi postotak od 45,5%. Klinike (KBC, ortopedija i psihijatrijske bolnice) sastojale su se od 4 različita subjekta (N=4) od koja su 3 pozitivna (75,0%). Najveći broj pozitivnih subjekata nalazi se u kategoriji talasoterapije i lječilišta (N=3) od kojih su sva 3 pozitivna što je u postotku 100 %.

Tablica 1. Ukupan broj subjekata u različitim kategorijama obuhvaćenih Programom te ukupan broj pozitivnih subjekata (%)

	Broj subjekata	Broj pozitivnih subjekata (%)
UKUPNO	64	19(29,7%)

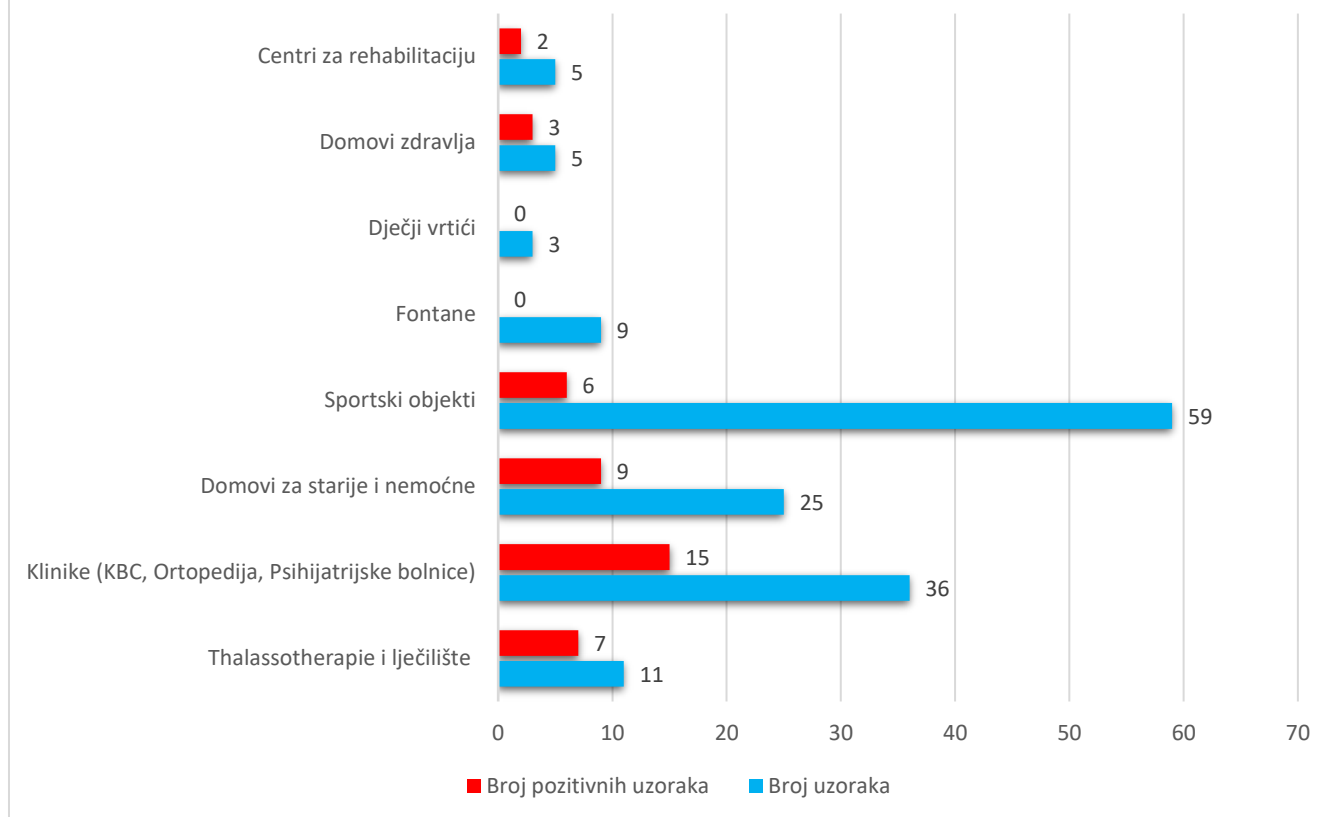
Tablica 1. prikazuje broj pozitivnih subjekata te njihov postotak s obzirom na ukupan broj analiziranih subjekata. Ukupan broj subjekata jest N=64 od kojih je 19 subjekata pozitivno što znači postotak od 29,7 %. Broj negativnih subjekata jest N= 45 , 70,3%.

Tablica 2. Ukupan broj uzetih uzoraka s obzirom na uzete uzorke tople i hladne vode

UKUPNO	UZORCI TOPLE VODE	UZORCI HLADNE VODE
153	132	21

Ukupno je uzorkovano 153 uzorka od kojih je 132 uzorka tople vode i 21 uzorak hladne vode.

Broj pozitivnih uzoraka na *L.pneumophila* u odnosu na ukupan broj uzoraka u pojedinim vrstama objekata



Slika 5. Prikaz broja pozitivnih uzoraka na parametar (*L.pneumophila*) s obzirom na broj uzoraka koji su uzeti po vrsti subjekta

Slika 5. prikazuje broj pozitivnih uzoraka na bakteriju *Legionella pneumophila* s obzirom na ukupan broj uzoraka koji je ispitan. U centrima za rehabilitaciju uzeto je 5 uzoraka (N=5) od kojih je broj pozitivnih uzoraka iznosio N=2, što znači 40 % pozitivnih uzoraka. U domovima zdravlja uzeto je 5 uzoraka (N=5) od čega su 3 uzorka pozitivna (N=3), 60,0 %. U dječjim vrtićima uzeto je 3 uzorka (N=3) od kojih niti jedan nije pozitivan. Kod fontana uzeto je 9 uzoraka (N=9) od kojih niti jedan nije pozitivan. Nadalje, u sportskim objektima uzeto je najviše uzoraka s obzirom na druge subjekte, N=59 od čega je pozitivnih uzoraka bilo N=6, 10,2 %. Kod domova za starije i nemoćne broj uzoraka iznosio je 25 od čega je pozitivnih bilo 9, 36,0%. Što se tiče klinika (KBC, ortopedija i psihijatrijske bolnice) broj uzoraka iznosio je 36 od kojih je pozitivno bilo N= 15, 42,0%. Talasoterapije i lječilišta N=11 a broj pozitivnih iznosi N=7, 63,6%. Najviše pozitivnih uzoraka nađeno je u klinikama N=15. Najveći postotak pozitivnih uzoraka nalazi se kod Talasoterapija i lječilišta (63,3%). Sportski centri imaju najniži postotak pozitivnih uzoraka (10,2%).

Tablica 3. Prikaz ukupnog broja uzoraka te broj pozitivnih uzoraka u postocima

UKUPNO	Broj uzoraka	Broj pozitivnih uzoraka (%)
	153	42(27,5%)

Tablica 4. Prikaz udjela pozitivnih uzoraka na prisutnost *Legionella pneumophila* s obzirom na temperaturu vode

Broj uzoraka tople vode	Broj pozitivnih uzoraka tople vode	Broj uzoraka hladne vode	Broj pozitivnih uzoraka hladne vode
132	37(28%)	21(15,9%)	5(23,8%)

Tablica 4. prikazuje udjel pozitivnih uzoraka na prisutnost bakterije *Legionella pneumophila* s obzirom na temperaturu vode. Broj uzoraka tople vode jest 132, broj uzoraka hladne vode je 21. Broj pozitivnih uzoraka tople vode iznosi N=37 (28%) a broj pozitivnih uzoraka hladne vode iznosi N=5 (23,8%). Pozitivni uzorci se u većem postotku nalaze u toploj vodi što potvrđuje da su uzorci u toploj vodi reprezentativniji zbog biologije same bakterije *Legionella pneumophila*. Uzorci hladne vode uzeti su ukoliko je postojala indikacija za to. Kod pet subjekata koji su imali pozitivne nalaze u četiri uzorka hladne vode, temperatura u sustavu hladne vode bila je ispod 20 °C (od 18 °C do 18,8 °C), a samo u jednom je bila iznad 20 °C (25,3°C). Značajan utjecaj ima protok vode, tehnička izvedba te starost i održavanje vodoopskrbnog sustava. U objektima gdje su utvrđeni pozitivni uzorci hladne vode, bili su pozitivni i uzorci tople vode. Koncentracija *Legionella pneumophila* u toploj vodi kretala se u rasponu od 100 do 130000 cfu/1000 ml, a u hladnoj vodi od 200 do 13000 cfu/1000 ml. Parametri koji su relevantni za procjenu rizika za kućne vodoopskrbne mreže u vezi legionele su <1000 CFU/l, odnosno broj *Legionella* u uzorku vode ne smije biti veći od 1000 CFU/l.

5. Rasprava

Ovim ukazuje pokušalo se ukazati na važnost provođenja preventivnih i mjera kako ne bi došlo do pojavnosti legionarske bolesti. Jedna od takvih mjera je i provođenje ovakvih Programa (praćenja) prisutnosti bakterije *Legionella pneumophila* u vodoopskrbnim sustavima te objektima različite namjene. Uzorkovanja bakterije odrađuju službenici koji su sanitarne struke koja u ovakvim programima ima ulogu procjene rizika od pojave legionarske bolesti u populaciji. Također, stručnjaci sanitarne struke provode protuepidemijske mjere (hiperkloriranje, pasterizacija) u vodoopskrbnom sustavu u kojemu su pronađeni pozitivni uzorci na bakteriju *Legionella pneumophila*. Ovaj monitoring važan je za objekte koje se nalaze u radu zbog toga što imaju veliku vodoopskrbnu mrežu, mogućnost zastoja vode u cijevima i nakupljanje biofilma.

U ispitivanju uzoraka vode na bakteriju *Legionella pneumophila*, sudjelovalo je 64 subjekata. U užem smislu ispitivani subjekti jesu centri za rehabilitaciju, domovi zdravlja, dječji vrtići, fontane, sportski objekti, domovi za starije i nemoćne, klinike (KBC, ortopedija i psihijatrijske bolnice) te talasoterapije i jedno lječilište. Najviše subjekata je sportske prirode čak 29 zasebnih subjekata s obzirom na ostale subjekte. Zatim se nalaze domovi za starije i nemoćne s brojem ispitanih subjekata 11. Uzeto je 9 različitih fontana, 4 klinike, 3 doma zdravlja, 3 centra za rehabilitaciju, 2 talasoterapije i 1 lječilište te 2 dječja vrtića. Uzeti su uzorci tople i hladne vode. Uzorak tople vode smatra se reprezentativnijim za određivanje prisutnosti *Legionella pneumophila* zbog toga što se bakterija najbolje razmnožava pri temperaturama od 20 °C do 50 °C.

Kako je prethodno navedeno u istraživanju R. Lesnika i suradnika (2016) dokazala se prisutnost *Legionelle* u vodi iz slavine. U toploj vodi *Legionella pneumophila* bila je prisutna tijekom svih sezona. *L.penumophila* u istraživanju uspjela je rasti u toploj vodi čak iznad 50 °C. U hladnoj vodi nađeno je manje uzoraka nego u toploj što se može usporediti s navedenim rezultatima iz ovog rada. U ovom radu broj uzoraka tople vode je 132 od čega je broj pozitivnih uzoraka iznosi 37(28%). Broj uzoraka hladne vode je 21 a broj pozitivnih uzoraka hladne vode jest 5 (23,8%). U ovom radu, postotak pozitivnih uzoraka na bakteriju *Legionella pneumophila* u toploj vodi veći je nego za hladnu vodu kako dokazano i u navedenom istraživanju. Topla voda je stoga važan čimbenik za razmnožavanje *Legionella pneumophila* i neophodan parametar za praćenje.

U istraživanju Palmore i suradnika (2009) uzorkovane su ukrasne fontane zbog sumnje na kontaminaciju fontana bakterijom *Legionella pneumophila*. U provedenom istraživanju uzorci iz ukrasnih fontana pozitivni su na *Legionella pneumophila* što se ne poklapa s rezultatima u ovome radu. Rezultati ovog rada prikazuju da od 9 uzorkovanih fontana, niti jedna nije pozitivna na bakteriju *Legionella pneumophila*. Fontane u spomenutom istraživanju kontaminirane su bakterijom zbog malog protokaili dužeg stajanja tj nedostatka recirkulacije. Takav slučaj u provedenom programu u PGŽ nije dokazan a za vjerovati je da su fontane prikazane u radu pravilno održavane.

Uloga sanitarne struke i provedba ovakvih programa je ključna pri procjeni rizika od pojave legionarske bolesti uzrokovane prisustvom ove bakterije u vodoopskrbnim sustavima. Ovakvi i slični programi vođeni i osmišljeni od strane stručnjaka sanitarne struke uvelike pomažu u procjeni slike stanja opremljenosti i održavanosti sustava u urbanim sredinama.

6. Zaključak

Rezultati koji su ostvareni programom „*Legionella pneumophila*-monitoring i edukacija“ potvrđuju važnost preventivnih i protuepidemijskih mjera te bitnu ulogu sanitarne struke u provođenju mjera. Legionarska bolest predstavlja bitan javnozdravstveni problem pri njenoj pojavnosti u određenim objektima. U rezultatima je vidljivo kako je *Legionella pneumophila* pronađena u vodoopskrbnim sustavima raznih objekata što ukazuje na važnost redovitog uzorkovanja vode iz vodoopskrbnog sustava kako ne bi došlo do epidemije Legionarske bolesti. U objektima gdje je pronađena *Legionella pneumophila* poduzimaju se mjere suzbijanja legionela pomoću pasterizacije ili hiperkloriranja vodoopskrbnog sustava. Prije provedbe navedenih mjera suzbijanja legionele, potrebno je napraviti analizu rizika kojom su definirane kritične točke za razvoj i razmnožavanje *Legionella spp.* te su dane preporuke za provedbu sanitarno-higijenskih mjera sanacije. Parametri koji su relevantni za procjenu rizika za kućne vodoopskrbne mreže u vezi legionele su <1000 CFU/l, odnosno broj *Legionella* u uzorku vode ne smije biti veći od 1000 CFU/l. Nastavak navedenog programa (monitoringa) vrlo je bitan zbog kontinuiranog uzimanja uzoraka te kontinuiranog testiranja na bakteriju *L.pneumophilla*. Također, nastavak programa važan je radi sprečavanja pojavnosti epidemije legionarske bolesti. Monitoring daje uvid u vodoopskrbne sustave javnih objekata, te mogućnost kontrole infekcija legionelama. Ovlaštene osobe za uzimanje uzoraka te analizu kao i provedbu preventivnih mjera pripadnici su sanitarne struke zbog njihovog multidisciplinarnog pristupa i posjedovanja širokog spektra znanja iz područja ekologije.

Legionelle dokazane ovim programom prisutne su u vodoopskrbnim sustavima (koji su umjetno napravljeni) i predstavljaju rizik od pojave legionarske bolesti. Pojavnost bakterija *Legionella* u sustavima predstavlja problem i stanoviti rizik te je monitoring, procjena te primjena preventivnih mjera neophodna.

7. Litratura

1. Legionella (Legionnaires' Disease and Pontiac Fever)-prevention. Dostupno na: <https://www.cdc.gov/legionella/about/prevention.html>
2. Smanjenje rizika od legionarske bolesti. Objavljeno 4. travnja 2017. Dostupno na: <https://www.hzjz.hr/sluzba-epidemiologija-zarazne-bolesti/smanjenje-rizika-od-legionarske-bolesti/>
3. Mark F. Brady, Vidva Sundareshan: Legionnaires' Disease. StatPearls Publishing; 2021 Jan. Ažurirano: 10.srpanj 2020. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430807/>
4. Ruth L. Berkelman, and Amy Pruden: Prevention of Legionnaires' Disease in the 21st Century by Advancing Science and Public Health Practice: Volume 23, Number 11— November 2017. Dostupno na: https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/23/11/17-1429_article
5. Legionarska bolest-legioneloza(prevenција zaraznih bolesti). Dostupno na: <https://www.zzjzdnz.hr/hr/zdravlje/prevenција-zaraznih-bolesti/1279>
6. Laura Gomez-Valero, Christophe Rusniok, Monica Rolando, Mario Neou, Delphine Dervins-Ravault, Jasmin Demirtas, Zoe Rouy, Robert J Moore, Honglei Chen, Nicola K Petty, Sophie Jarraud, Jerome Etienne, Michael Steinert, Klaus Heuner, Simonetta Gribaldo, Claudine Médigue, Gernot Glöckner, Elizabeth L Hartland, and Carmen Buchrieser: Comparative analyses of *Legionella* species identifies genetic features of strains causing Legionnaires' disease. Genome Biol. 2014; 15(11): 505. Published online 2014 Nov 3. doi: [10.1186/s13059-014-0505-0](https://doi.org/10.1186/s13059-014-0505-0) . Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4256840/>
7. T.G.Harrison, N.A.Saunders, Nivedita Doshi, R. Wait, A.G. Taylor: Serological diversity within the species *Legionella spiritensis*. Volume 65, issue 5, November 1988, pages 425-431. Dostupno na: <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2672.1988.tb01912.x>
8. M Ott et al. J Gen Microbiol. 1991 Aug. : Temperature-dependent expression of flagella in *Legionella*. J Gen Microbiol: 1991 Aug;137(8):1955-61. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1955873/>

9. Jeffrey W. Mercante and Jonas M. Winchell: Current and Emerging *Legionella* Diagnostics for Laboratory and Outbreak Investigations (Clin Microbiol Rev. 2015 Jan, 28(1):95-133. Dostupno na : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25567224/>
10. Edited by: Jamie Bartram, Yves Chartier, John V Lee, Kathy Pond and Susanne Surman-Lee(World Health Organization) ; Legionella and the prevention of legionellosis (2007). Dostupno na: https://www.who.int/water_sanitation_health/emerging/legionella.pdf
11. Haluk Erdoğan , Hande Arslan ; Evaluation of a Legionella outbreak emerged in a recently opening hotel (July 2013, 47(2):240-9). Dostupno na: https://www.researchgate.net/publication/236456994_Evaluation_of_a_Legionella_Outbreak_Emerged_in_a_Recently_Opening_Hotel
12. R M Atlas. Environ Microbiol. (1999 Aug, 1(4):283-93). ; Legionella: from environmental habitats to disease pathology, detection and control. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11207747/>
13. Washington C. Winn, Jr. , author; Baron S, editor. Medical Microbiology. 4th edition. Galveston (TX) : University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996. chapter 40). Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7627/>
14. Barry S. Fields, Robert F. Benson, and Richard E. Besser: *Legionella* and Legionnaires' Disease: 25 Years of Investigation (2002 Jul; 15(3): 506–526)). Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12097254/>
15. Hayley J. Newton, Desmond K. Y. Ang, Ian R. van Driel, and Elizabeth L. Hartland: Molecular Pathogenesis of Infections Caused by *Legionella pneumophila* (2010 Apr; 23(2): 274–298). Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20375353/>
16. Lorry G. Rubin, in Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases (Fifth Edition),2018:Legionella Species. Dostupno na: <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/legionella-infection>
17. W C Winn Jr: Legionnaires disease: historical perspective (1988 Jan;1(1):60-81). Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC358030/>
18. Nick Phin , Frances Parry-Ford , Timothy Harrison , Helen R Stagg , Natalie Zhang , Kartik Kumar , Olivier Lortholary , Alimuddin Zumla , Ibrahim Abubakar : Epidemiology and clinical management of Legionnaires' disease (2014 Oct;14(10):1011-21)). Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24970283/>

19. Edelstein, P. H. 1998. Antimicrobial chemotherapy for Legionnaires' disease: time for a change. *Ann.Intern.Med.* 129:328-33025. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9729189/>
20. Paul Tossa, Magali Deloge-Abarkan, Denis Zmirou-Navier, Philippe Haretmann, Laurence Mathieu; Pontiac fever: an operational definition for epidemiological studies(*BMC Public Health* volume 6. :112(2006)). Dostupno na: <https://bmcpublichealth.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2458-6-112>
21. Yousef Abu Kwaik, Lian-Yong Gao, Barbara J. Stone, Chandrasekar Venkataraman, Omar S. Harb ; Invasion of Protozoa by Legionella pneumophila and its Role in Bacterial Ecology and Pathogenesis. (1998 Sep; 64(9): 3127–3133). Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC106699/>
22. K. Nahapetian, O Challemel, D. Berutin, S Dubrou, P Gounon, F Squinazi; The intracellular multiplication of *Legionella pneumophila* in protozoa from hospital plumbing systems(Jul-Aug 1991;142(6):677-85). Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1961979/>
23. Manuel Simoes, Lucia C. Simoes, Maria J. Vieira; A review of current and emergent biofilm control strategies(Volume 43, Issue 4, May 2010, Pages 573-583). Dostupno na: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643809003430>
24. P.N. Green, R.S. Pirrie ; A laboratory apparatus for the generation and biocide efficacy testing of Legionella biofilms (1993 Apr;74(4):388-93). Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8486544/>
25. William J. Rhoads, Amy Pruden and Marc A. Edwards; “Survey of green building water systems reveals elevated water age and water quality concerns” : published by the Environmental Science Water Research & Technology/Royal Society of Chemistry; 2016. Dostupno na: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2016/ew/c5ew00221d>
26. U.S. Environmental Protection Agency/Office of Water: “Technologies for Legionella Control in Premise Plumbing Systems: Scientific Literature Review (September 2016). Dostupno na: https://www.epa.gov/sites/default/files/2016-09/documents/legionella_document_master_september_2016_final.pdf
27. U.S. Department of Health & Human Services/Centers for Disease Control and Prevention ; “Developing a Water Management Program to Reduce Legionella Growth & Spread in Buildings: A Practical Guide to Implementing Industry Standards,” (June 1, 2017.). Dostupno na: <https://www.cdc.gov/legionella/wmp/toolkit/index.html>

28. A Tolentino et al. J Ky Med Assoc. ; Hot tub legionellosis (1996 Sep;94(9):393-4.).
Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8855593/>
29. 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/>)
30. MINISTARSTVO ZDRAVSTVA STRUČNO POVJERENSTVO ZA VODU ZA LJUDSKU POTROŠNJU PRI MINISTARSTVU ZDRAVSTVA; Procjena rizika Legionella u vodi za ljudsku potrošnju. Dostupno na: <https://zdravlje.gov.hr/UserDocsImages/2020%20Sluzbenik/Va%C5%BEe%C4%87a%20preporuka%20o%20procjeni%20rizika%20uzrokovanoj%20Legionella-om%20za%20objavu%20na%20webu.pdf>
31. R Heller et al. Lett Appl Microbiol. ; Effect of salt concentration and temperature on survival of *Legionella pneumophila* (1998 Jan;26(1):64-8). Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9489037/>
32. René Lesnik, Ingrid Brettar, and Manfred G Höfle: Legionella species diversity and dynamics from surface reservoir to tap water: from cold adaptation to thermophily (2016 May;10(5):1064-80). Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26528838/>
33. Olga Valciņa, Daina Pūle, Artjoms Mališevs, Jūlija Trofimova, Svetlana Makarova, Genadijs Konvisers, Aivars Bērziņš, and Angelika Krūmiņa : Co-Occurrence of Free-Living Amoeba and Legionella in Drinking Water Supply Systems(2019 Aug; 55(8): 492). Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6723719/>
34. World health Organization; Sanitation on Ships: Compendium of outbreaks of foodborne and waterborne disease and Legionnaires' disease associated with ships 1970-2000. Dostupno na: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/67188>
35. Robert Lau , Saadia Maqsood, David Harte, Brian Caughley, Rob Deacon) : prevalence of Legionella strains in cooling towers and legionellosis cases in New Zealand(Jan-Feb 2013;75(6):82-9). Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23397654/>
36. Tara N. Palmore, , Frida Stock,., Margaret White, MaryAnn Bordner, Angela Michelin,John E. Bennett, Patrick R. Murray, and David K. Henderson: A cluster of nosocomial Legionnaire's disease linked to a contaminated hospital decorative water fountain(2009 Aug;30(8):764-8).Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19580436/>

37. Europski tehnički vodič (Prevenција, kontrola i istraživanje infekcija). Dostupno na (pdf dokument): <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/european-technical-guidelines-prevention-control-and-investigation-infections>
38. Zakonodavstvo Europske unije. Dostupno na: <https://eur-lex.europa.eu/eli/dir/2020/2184/oj>

Životopis

Zovem se Andrea Huskić, rođena sam 18.06.1997. u Rijeci, živim u Kraljevici. Područnu školu Kukuljanovo upisala sam 2004. godine koju završavam 2008. godine. Osnovnu školu Bakar upisala sam 2008. godine te završila 2012. godine. Medicinsku školu u Rijeci, smjer Sanitarni tehničar upisala sam 2012. godine koju sam završila 2016. godine. Iste godine upisala sam Preddiplomski sveučilišni studij Sanitarno inženjerstvo na Medicinskom fakultetu u Rijeci.