

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ – ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ & ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΥΓΙΕΙΝΗ:
ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΥΔΑΤΩΝ & ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ
ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

*Νόσος των λεγεωνάριων σε νοσοκομεία και ο αποικισμός
δικτύων ύδρευσης νοσοκομείων με λεγεωνέλλα.
Συστηματική βιβλιογραφική ανασκόπηση.*

ΠΕΛΑΓΙΑ ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΣΕΜΕΡΤΖΙΔΟΥ
ΠΤΥΧΙΟΥΧΟΣ ΝΟΣΗΛΕΥΤΡΙΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΗΣ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗΣ

ΛΑΡΙΣΑ 2018

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ – ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ & ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΥΓΙΕΙΝΗ:
ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΥΔΑΤΩΝ & ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ
ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

*Νόσος των λεγεωνάριων σε νοσοκομεία και ο αποικισμός
δικτύων ύδρευσης νοσοκομείων με λεγεωνέλλα.
Συστηματική βιβλιογραφική ανασκόπηση.*

ΠΕΛΑΓΙΑ ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΣΕΜΕΡΤΖΙΔΟΥ
ΠΤΥΧΙΟΥΧΟΣ ΝΟΣΗΛΕΥΤΡΙΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΗΣ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗΣ

ΛΑΡΙΣΑ 2018

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΧΑΤΖΗΧΡΙΣΤΟΔΟΥΛΟΥ ΧΡΗΣΤΟΣ

ΡΑΧΙΩΤΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ

ΜΟΥΧΤΟΥΡΗ ΒΑΡΒΑΡΑ

Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	2
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΝΟΣΟΣ ΤΩΝ ΛΕΓΕΩΝΑΡΙΩΝ	4
1.1. Legionella pneumophila.....	4
1.2. Μετάδοση και παθογένεια	5
1.3. Συμπτώματα και διάγνωση	7
1.4. Πρόληψη και θεραπεία	10
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	12
2.1. Στόχοι.....	12
2.2. Στρατηγική αναζήτησης.....	13
2.2.1. Θεματικές ενότητες	13
2.2.2.1. Πηγές και όροι αναζήτησης.....	13
2.1. Κριτήρια.....	14
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	15
3.1. Ανάλυση αποτελεσμάτων	15
3.2. Συχνότητα εμφάνισης και εστίες μόλυνσης.....	28
3.3. Τεχνικές ανάλυσης δειγμάτων	33
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΜΕΤΡΑ ΕΛΕΓΧΟΥ	39
4.1. Τεχνικές καθαρισμού	39
4.2. Άλλα μέτρα ελέγχου	43
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	47
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	50

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η νόσος των Λεγεωναρίων είναι μια συχνή νοσοκομειακή ασθένεια που προκαλείται στη προκειμένη περίπτωση από μολυσμένο νερό. Προκαλείται από ένα βακτήριο που αποικίζει το αναπνευστικό σύστημα με αποτέλεσμα ο ασθενής να νοσεί από πνευμονία. Μπορεί δυνητικά να εμφανιστεί σε όλες τις ηλικίες, με τους ηλικιωμένους και τους ανοσοκατασταλαμένους να αποτελούν τις πιο ευπαθείς ομάδες. Οφείλεται στην αναρρόφηση αερολυμάτων μολυσμένου νερού ή στην επαφή με μολυσμένο νερό είτε από του στόματος είτε από του δέρματος. Από τη βιβλιογραφική ανασκόπηση που πραγματοποιήθηκε με συγκεκριμένα κριτήρια και στις οποίες περιλαμβάνονται έρευνες που αφορούν μόνο νοσοκομειακές λοιμώξεις προέκυψε ότι μέχρι πρότινος βασική εστία μόλυνσης στα νοσοκομεία αποτελούν οι βρύσες και οι πύργοι ψύξης, δηλαδή το δίκτυο ύδρευσης. Πιο συγκεκριμένα βρέθηκαν 1 επιδημία (47 ατόμων) και μια έξαρση κρουσμάτων σε μια κλινική (9 νεογνά), καθώς και 25 κρούσματα σε διάφορα νοσοκομεία. Από όλα τα άτομα που νόσησαν τα 28 κατέληξαν. Τα είδη από τα οποία νόσησαν οι ασθενείς ήταν *Legionella* και *L.pneumophila* κυρίως οι ορότυποι 1,5,6,10 αλλά και ο ορότυπος 3, 4 και 12 έχει βρεθεί σε δείγματα ασθενών, όλα τα είδη που αναφέρθηκαν έχουν βρεθεί θετικά και στο δείγμα του νοσοκομείου. Λόγω της σοβαρότητας της νόσου και της πιθανής θνησιμότητας έχουν αναπτυχθεί ποικίλες μέθοδοι και μέτρα πρόληψης. Οι αναγνωρισμένες και σύμφωνα με την ανασκόπηση πιο αποτελεσματικές τεχνικές είναι η χρήση υπεριώδους ακτινοβολίας και η χλωρίωση με τη δεύτερη βέβαια να μην συγκεντρώνει και πολλούς υποστηρικτές τα τελευταία χρόνια. Υπάρχουν βέβαια και άλλα μέτρα που μπορούν να ληφθούν από τα νοσοκομεία για την πρόληψη της νόσου. Μελλοντικά, ωστόσο, αναμένεται να αναπτυχθεί και να καλλιεργηθεί περισσότερο η γνώση γύρω από την πρόληψη.

ABSTRACT

Legionnaire's disease is a common hospital illness caused in this case by contaminated water. It is caused by a bacterium colonizing the respiratory system, and provokes pneumonia in patients and in more mild case Pontiac fever. It can potentially occur at all ages, with the elderly and the immunosuppressed being the most vulnerable groups. It is due to the suction of contaminated water aerosols or due to contact with contaminated water either by mouth or by skin. From the conducted bibliographic review with specific criteria, including research into hospital infections only, it has emerged that until recently the primary source of infection in hospitals is the fountains and cooling towers, namely the water supply network. Due to the severity of the disease and the potential mortality, methods and prevention measures have been developed. The recognized effective techniques are the use of ultraviolet radiation and the chlorination with the latter not gathering many supporters in recent years. There are, of course, other measures that can be taken by hospitals to prevent the disease. In the future, however, it is expected that knowledge on prevention will be further developed and cultivated.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η νόσος των Λεγεωνάριων είναι μια λοίμωξη που προσβάλλει το κατώτερο αναπνευστικό σύστημα και μπορεί να οδηγήσει ακόμη και στο θάνατο. Η *Legionella pneumophila* ανακτήθηκε για πρώτη φορά από το αίμα ενός στρατιώτη πριν από 50 χρόνια, αλλά η σημασία της ως ανθρώπινου παθογόνου δεν αναγνωρίστηκε μέχρι το 1976, όταν μια μυστηριώδης επιδημία πνευμονίας έπληξε μέλη της Αμερικανικής Λεγεώνας της Φιλαδέλφεια. Η ασθένεια έκτοτε ονομάστηκε σε νόσο των λεγεωνάριων. Λίγο αργότερα, ταυτοποιήθηκε ο αιτιολογικός παράγοντας, ο οποίος ήταν Gram αρνητικό βακτηρίδιο που ανήκει στο γένος *Legionella*. Το βακτήριο ονομάστηκε *Legionella pneumophila*. Αν και αρκετά άλλα είδη του γένους *Legionella* ταυτοποιήθηκαν στη συνέχεια, το *L. pneumophila* είναι η συχνότερη αιτία της ανθρώπινης λεγιονέλωσης και μια σχετικά κοινή αιτία της κοινότητας που έχει αποκτηθεί και της νοσοκομειακής πνευμονίας σε ενήλικες (Gonzalez I., Martin J. 2007). Στα παιδιά, το *L. pneumophila* είναι επίσης μια σημαντική, αν και σχετικά ασυνήθιστη, αιτία πνευμονίας. Το μεγαλύτερο ξέσπασμα της νόσου των Λεγεωνάριων στον κόσμο συνέβη τον Ιούλιο του 2001 στην Ισπανία με ανθρώπους που εμφανίστηκαν στο νοσοκομείο με πόνο στο στήθος και πυρετό. Περισσότεροι από 800 ύποπτες περιπτώσεις καταγράφηκαν μέχρι τη θεραπεία της τελευταίας περίπτωσης στις 22 Ιουλίου. 636-696 από αυτές τις περιπτώσεις εκτιμήθηκαν και 449 επιβεβαιώθηκαν (έτσι, τουλάχιστον 16.000 άτομα εκτέθηκαν στο βακτήριο) και έξι πέθαναν, ένα ποσοστό θανάτων από περίπου 1% (Greenberg et al. 2006).

Η μετάδοση της νόσου των λεγεωνάριων γίνεται κυρίως μέσω του μολυσμένου νερού και ειδικότερα εκείνου που μεταδίδεται με σταγονίδια. Αυτή είναι και η βασική εστία λοίμωξης ασθενών σε νοσοκομεία. Το ζεστό αλλά και το κρύο νερό έχουν συσχετισθεί με την ανάπτυξη των βακτηρίων σε βρύσες, ντους αλλά και πύργους ψύξης. Στα συμπτώματα περιλαμβάνονται τα κοινά χαρακτηριστικά που εμφανίζονται σε μια λοίμωξη οπότε είναι και δύσκολη η άμεση διάγνωση της. Τα συμπτώματα που εμφανίζονται στο άτομο όταν προσβληθεί μεταξύ άλλων περιλαμβάνουν πυρετό,

πονοκέφαλο, βήχα και μυϊκό πόνο. Τα συμπτώματα μπορεί να διαρκέσουν από 2 έως 10 ημέρες ή και αρκετούς μήνες (CDC).

Η σοβαρότητα της αποδεικνύεται και από το γεγονός ότι είναι μια νόσος που πρέπει να δηλωθεί. Αυτό σημαίνει ότι εάν ένας γιατρός διαγνώσει την κατάσταση, πρέπει να ενημερώσει την τοπική αρχή σύμφωνα με τους κανονισμούς περί προστασίας της υγείας 2010. Στην αρχή θα προσπαθήσει να εντοπίσει την πηγή της επιδημίας και να θέσει σε εφαρμογή τα απαραίτητα προληπτικά μέτρα ώστε να αποτρέψει ένα πιθανό ξέσπασμα της νόσου (World Health Organization, 2017).

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι μια συστηματική βιβλιογραφική ανασκόπηση ώστε να εντοπιστούν τα γεγονότα που συμβάλουν στον αποικισμό και την ανάπτυξη της νόσου των λεγεωνάριων στα νοσοκομεία, τη συχνότητα που εμφανίζεται στο δίκτυο ύδρευσης του νοσοκομείου και πως μολύνεται ο άνθρωπος. Αρχικά θα παρατεθεί μια μικρή εισαγωγή που αφορά το βακτήριο και το πώς αυτό δρα όταν εγκατασταθεί σε έναν οργανισμό αλλά και σε κάποια γενικά στοιχεία για τον τρόπο μετάδοσης, τη διάγνωση, τη θεραπεία και τα μέτρα πρόληψης. Ακόμη θα παρουσιαστούν οι επιπτώσεις και τα μέτρα που λαμβάνονται για την μη εμφάνιση της νόσου αλλά και αυτά που λαμβάνονται άμεσα για την αντιμετώπιση ενός κρούσματος ή έξαρσης της νόσου στο νοσοκομείο.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΝΟΣΟΣ ΤΩΝ ΛΕΓΕΩΝΑΡΙΩΝ

1.1. Legionella pneumophila

Οι οργανισμοί *Legionella* είναι αερόβιοι, κινητικά και διατροφικά σπάνια πλειομορφικά (-)Gram ραβδοειδή βακτήρια. Έχουν μήκος 2 έως 20 μm και για την κίνηση τους χρησιμοποιούν κυρίως μαστίγια (Washington C. Winn, Jr., 1996). Η ανάπτυξη των οργανισμών εξαρτάται από την παρουσία L-κυστεΐνης και σιδήρου σε ειδικά θρεπτικά μέσα. Ο οργανισμός έχει απομονωθεί σε φυσικούς υδάτινους οικότοπους (ρέματα και λίμνες γλυκού νερού, δεξαμενές νερού) και τεχνητές πηγές (πύργοι ψύξης, συστήματα διανομής πόσιμου νερού). Οι αμοιβάδες γλυκού νερού φαίνεται να είναι η φυσική δεξαμενή για τους οργανισμούς. Η βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης είναι 28-40°C ενώ οι οργανισμοί είναι αδρανείς κάτω από τους 20°C και θανατώνονται σε θερμοκρασίες άνω των 60°C (Gonzalez I., Martin J. 2007). Στην παρακάτω εικόνα διακρίνονται τα μορφολογικά χαρακτηριστικά του βακτηρίου.



Εικόνα 1. *Legionella pneumophila* σε μικροσκόπιο TEM.

Έχουν ταυτοποιηθεί περισσότεροι από 70 ορότυποι *Legionella* μεταξύ 50 ειδών. Ο ορότυπος *L. pneumophila* 1 είναι υπεύθυνος για το 70-90% των περιπτώσεων σε ενήλικες. Σε μια παιδιατρική σειρά, η *L. pneumophila* ορολογική ομάδα 1 αντιπροσώπευε μόνο το 48% των περιπτώσεων, η οροτυπική ομάδα 6 αντιπροσώπευε το 33% και οι υπόλοιπες περιπτώσεις αφορούσαν άλλους ορότυπους και είδη. Το *L.*

micdadei και το *L. dumoffii* είναι το δεύτερο και το τρίτο συνηθέστερο είδος που προκαλούν νόσο των Λεγεωνάριων στα παιδιά, αντίστοιχα (Greenberg et al. 2006).

1.2. Μετάδοση και παθογένεια

Η μετάδοση πραγματοποιείται μέσω εισπνοής ή αναρρόφησης νερού μολυσμένου με οργανισμούς *Legionella*. Τα πολύ μικρά σταγονίδια των αερολυμάτων περνούν εύκολα την αναπνευστική οδό και εγκαθίστανται στις κυψελίδες των πνευμόνων. Επίσης, τα τραύματα μπορεί να μολυνθούν μετά από επαφή με μολυσμένο νερό. Η μετάδοση από άτομο σε άτομο δεν έχει αποδειχθεί ποτέ μιας και η *Legionella* δεν αποτελεί μέλος της βακτηριακής χλωρίδας των ανθρώπων. Τα ακόλουθα συστήματα συνδέονται με τη μετάδοση των οργανισμών *Legionella*:

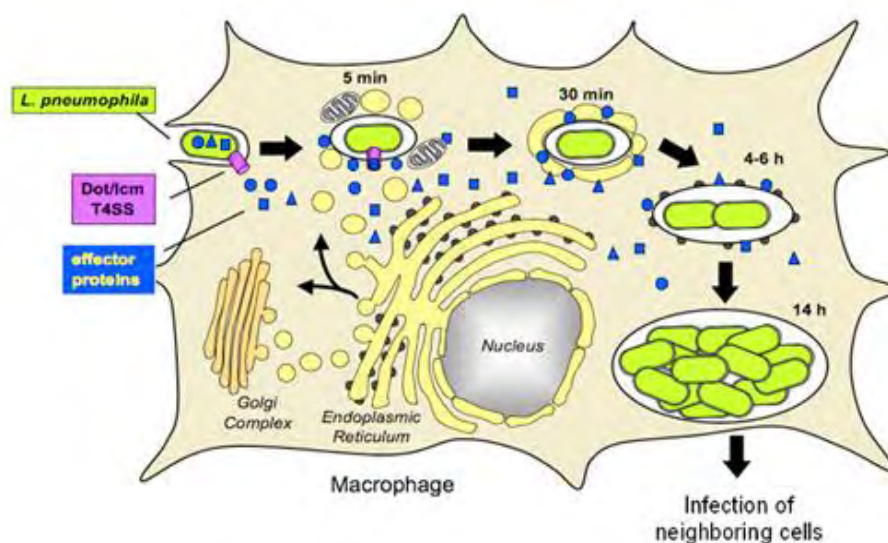
- πύργοι ψύξης
- υγραντήρες
- εξοπλισμός αναπνευστικής θεραπείας
- υδρομασάζ
- εξατμιστικοί συμπυκνωτές
- συστήματα διανομής πόσιμου νερού (π.χ. ντους, βρύσες)

Στο φυσικό περιβάλλον εντοπίζεται κυρίως σε υδατικά ενδιαιτήματα και αποτελεί παράσιτο μια και ενδοσυμβιώνει με τις αμοιβάδες. (CDC, Campins et al., 2000)

Η μόλυνση αρχίζει στην κάτω αναπνευστική οδό μιας και λόγω της βλεννοκεραμικής δράσης οι μικροοργανισμοί καθαρίζονται από την άνω αναπνευστική οδό. Για αυτό και στις περιπτώσεις που οποιαδήποτε διαδικασία θέτει σε κίνδυνο την εκκένωση των βλεννογόνων, όπως για παράδειγμα ο καπνός, αυξάνεται ο κίνδυνος μόλυνσης. Η μολυσματικότητα ποικίλει μεταξύ των στελεχών του *L. pneumophila*. Για παράδειγμα, μερικά στελέχη μπορούν να προσκολληθούν στα αναπνευστικά επιθηλιακά κύτταρα μέσω των τριχιδίων που διαθέτουν, ενώ τα στελέχη με ένα μεταλλαγμένο γονίδιο που

κωδικοποιεί τα τριχίδια δείχνουν μειωμένη προσκόλληση *in vitro* (Washington C. Winn, Jr., 1996).

Τα κυψελιδικά μακροφάγα, τα οποία αποτελούν την πρωταρχική άμυνα κατά της βακτηριακής μόλυνσης των πνευμόνων, κατακλύζουν τα βακτήρια. Ωστόσο, η *Legionella* είναι ένα προαιρετικό ενδοκυτταρικό παράσιτο και πολλαπλασιάζεται ελεύθερα στα μακροφάγα. Ως αποτέλεσμα τα βακτήρια που φθάνουν στις κυψελίδες υφίστανται φαγοκυττάρωση από τα μακροφάγα των κυψελίδων αλλά δεν θανατώνονται ενεργά. Τα βακτήρια πολλαπλασιάζονται ενδοκυτταρικά μέχρι να ρίξουν τα κύτταρα. Τα ελευθερωμένα βακτήρια έπειτα μολύνουν και άλλα κύτταρα. Πρόσθετοι παράγοντες μολυσματικότητας στους οποίους περιλαμβάνονται γονίδια που ενισχύουν τη μόλυνση των μακροφάγων και αναστέλλουν τη συγχώνευση των φαγοσωμάτων, επιτρέπουν την ενδοκυτταρική ανάπτυξη. Στην παρακάτω εικόνα δίνεται ο τρόπος με τον οποίο τα βακτήρια μολύνουν τα κύτταρα και ο κύκλος ζωής τους. Ο οργανισμός χρησιμοποιεί ένα σύστημα Dot/Icm T4SS για την παροχή ενός μεγάλου αριθμού βακτηριακών πρωτεϊνών-τελεστών εντός του κυτταροδιαλύματος του κυττάρου ξενιστή. Αυτοί οι τελεστές επιτρέπουν στον *L. pneumophila* να παρεμποδίζει τις πρωτεΐνες και τα μικρά κυστίδια μεταφοράς του μολυσμένου κυττάρου, μετασχηματίζοντας έτσι το κενοτόπιο που περιέχει *Legionella* (LCV) σε ένα προστατευτικό διαμέρισμα που μοιάζει με το ενδοπλασματικό δίκτυο του ξενιστή. Έτσι τα βακτήρια τις επόμενες ώρες συνεχίζουν να αναπτύσσονται και μπορούν έπειτα από ρήξη να μολύνουν και άλλα κύτταρα.



Εικόνα 2. Ενδοκυτταριος κύκλος αντιγραφής του *L pneumophila*.

Η βακτηριακή ανάπτυξη, η ενεργοποίηση του συστήματος του συμπληρώματος και ο θάνατος των κυψελιδικών μακροφάγων παράγουν ισχυρούς χημειοτακτικούς παράγοντες που προκαλούν την εισροή μονοκυττάρων και πολυμορφοπύρηνων ουδετερόφιλων. Τα διαπερατά τριχοειδή επιτρέπουν την διαβάθμιση του ορού και την εναπόθεση ινώδους στις κυψελίδες. Το αποτέλεσμα είναι μια καταστροφική πνευμονία που εξουδετερώνει τους χώρους του αέρα και συμβάλλει στην αναπνευστική δυσλειτουργία. Η διάδοση των βακτηριδίων σε θέσεις έξω από τον πνεύμονα συμβαίνει τουλάχιστον εν μέρει μέσω μακροφάγων, αλλά σπάνια αναπτύσσεται μια φλεγμονώδης αντίδραση (Washington C. Winn, Jr., 1996).

Ο πρωταρχικός αμυντικός μηχανισμός του ξενιστή κατά της λοίμωξης από *Legionella* είναι η κυτταρομεσολαβούμενη ανοσία. Η ενεργοποίηση των μακροφάγων παράγει κυτοκίνες που ρυθμίζουν την αντιμικροβιακή δράση κατά των οργανισμών *Legionella*. Τα άτομα με ορισμένες ανεπάρκειες στη κυτταρική μεσολαβούμενη ανοσία διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο για τη νόσο των Λεγεωναρίων. Σχετικά με τον ρόλο των ουδετερόφιλων στην άμυνα του ξενιστή κατά της μόλυνσης με *Legionella*, προς το παρόν είναι ασαφής. Η ουδετεροπενία δεν φαίνεται να προδιαθέτει τους ασθενείς στη νόσο των Λεγεωναρίων. Ωστόσο δευτερεύοντα ρόλο για την καταπολέμηση της λοίμωξης διαδραματίζει και η χημική ανοσία (Washington C. Winn, Jr., 1996).

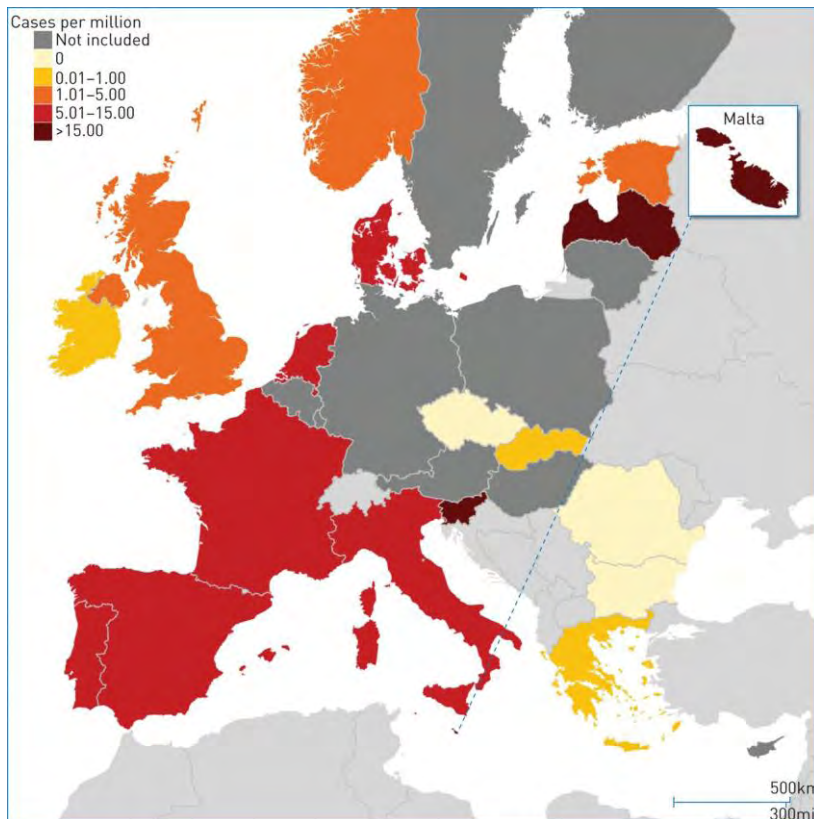
1.3. Συμπτώματα και διάγνωση

Η νόσος των Λεγεωναρίων αναφέρεται σε 2 διακριτά κλινικά σύνδρομα: τη νόσο των λεγεωνάριων, που συχνά εκδηλώνεται ως σοβαρή πνευμονία συνοδευόμενη από πολυσυστηματική νόσο και τον πυρετό Pontiac, που είναι μια οξεία, εμπύρετη, αυτοπεριοριζόμενη μορφή. Η νόσος των λεγεωναρίων είναι μια μορφή οξείας πνευμονίας, η οποία ποικίλλει ανάλογα με τη σοβαρότητα από την ήπια ασθένεια που δεν απαιτεί νοσηλεία (πνευμονία πεζοπορίας) σε θανατηφόρα πολυβονική πνευμονία. Συνήθως, οι ασθενείς έχουν υψηλό πυρετό και βήχα αλλά δεν παράγουν πολλά πτύελα.

Τα εξωπνευμονικά συμπτώματα, όπως πονοκέφαλος, σύγχυση, μυϊκοί πόνοι και γαστρεντερικές διαταραχές, είναι κοινά και εμφανίζονται τη 2η ή την 3η ημέρα της λοίμωξης. Οι περισσότεροι ασθενείς ανταποκρίνονται άμεσα στην κατάλληλη αντιμικροβιακή θεραπεία, αλλά η αναρρωτική κατάσταση είναι συχνά παρατεταμένη και είναι πιθανό να διαρκέσει από αρκετές εβδομάδες έως και μήνες. Από την άλλη πλευρά, ο πυρετός Pontiac μοιάζει με οξεία γρίπη, με συμπτώματα όπως πυρετός, πονοκέφαλος και μυϊκοί πόνοι. Είναι αυτοπεριοριζόμενη λοίμωξη και η αναρρωτική κατάσταση είναι ομαλή (CDC).

Η νόσος των λεγεωνάριων πιστεύεται ότι έχει παγκόσμια κατανομή και προκαλεί το 2-15% όλων των περιπτώσεων βακτηριακών λοιμώξεων που απαιτούν νοσηλεία. Οι ομάδες που διατρέχουν το μεγαλύτερο κίνδυνο είναι οι καπνιστές, οι διαβητικοί, εκείνοι που έχουν εξασθενημένο ανοσοποιητικό, με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια και χρόνια αναπνευστική πνευμονοπάθεια. Γενικά, οι μεσήλικες και οι μεγαλύτεροι σε ηλικία ενήλικες έχουν υψηλό κίνδυνο εμφάνισης ασθένειας λεγεωνάριων ενώ είναι σπάνιοι σε νέους ενήλικες και παιδιά. Ωστόσο, μεταξύ των παιδιών, περισσότερα από το ένα τρίτο των κρουσμάτων που έχουν αναφερθεί εμφανίστηκαν σε βρέφη ηλικίας κάτω του 1 έτους. Η λοίμωξη έχει συσχετίσει και με το φύλο. Οι άνδρες εμφανίζουν περίπου σε διπλάσιο ποσοστό την πιθανότητα να νοσήσουν σε σχέση με τις γυναίκες. Υπολογίζεται ότι 8000-18.000 περιπτώσεις αναφέρονται στις Ηνωμένες Πολιτείες κάθε χρόνο. Οι περισσότερες περιπτώσεις δεν αναφέρονται. Περισσότερο από το 80% των περιπτώσεων είναι sporadικές καθ' όλη τη διάρκεια του έτους και οι υπόλοιπες εμφανίζονται σε εστίες κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού και στην αρχή του φθινοπώρου (CDC).

Και στην Ευρώπη τα κρούσματα είναι επίσης αξιοσημείωτα. Στην παρακάτω εικόνα δίνεται ένας χάρτης της κατανομής του βακτηρίου σε χώρες της Ευρώπης. Να αναφερθεί ότι η Ελλάδα δεν παρουσιάζει σχετικά πολλά κρούσματα (στην εικόνα εμφανίζεται με ανοιχτό κίτρινο χρώμα). Τα περισσότερα κρούσματα εντοπίζονται στις χώρες με το σκούρο κόκκινο χρώμα, όπως για παράδειγμα στη Μάλτα.



Εικόνα 3. Κατανομή των κρουσμάτων της νόσου των Λεγεωναρίων στην Ευρώπη.

Όσον αφορά τη θνησιμότητα, το ποσοστό θνησιμότητας σε ασθενείς με νόσο των λεγεωνάριων είναι 5-80%, ανάλογα με ορισμένους παράγοντες κινδύνου. Οι παράγοντες που συνδέονται με τα υψηλά ποσοστά θνησιμότητας είναι η ηλικία, μικρά παιδιά και ηλικιωμένοι αλλά και η καθυστερημένη έναρξη συγκεκριμένης αντιμικροβιακής θεραπείας. Επιπλέον, προδιάθεση για υποκείμενες παθήσεις, όπως χρόνια πνευμονική νόσο, ανοσοανεπάρκεια, κακοήθειες, νεφρική νόσο τελικού σταδίου και σακχαρώδη διαβήτης, μπορεί να αποτελέσει καθοριστικό παράγοντα για την αναποτελεσματική θεραπεία της λοίμωξης και τελικά να οδηγήσει σε θάνατο. Εκτός από τον άμεσο κίνδυνο θανάτου σε άλλες περιπτώσεις μπορεί να προκαλέσει και τη διακοπή λειτουργίας ορισμένων οργάνων, όπως των πνευμόνων ή των νεφρών. Μια άλλη επιπλοκή είναι η σηψαιμία. Εκτιμάται ότι το 10% των κατά τα άλλα υγιών ατόμων που αναπτύσσουν τη νόσο των Λεγεωνάριων πεθαίνουν λόγω των προαναφερθέντων προβλημάτων (CDC).

Σχετικά με της διάγνωση της λοίμωξης, δεν υπάρχουν αξιόπιστα διακριτικά κλινικά χαρακτηριστικά της πνευμονίας, οπότε προέρχεται από τα εργαστηριακά ευρήματα.

Μερικά κλινικά χαρακτηριστικά υποδεικνύουν τη νόσο του Λεγεωνάριου. Ωστόσο, θα πρέπει να προκληθεί η επιλογή κατάλληλων εργαστηριακών δοκιμών. Η πνευμονία μπορεί να επιβεβαιωθεί με ακτινογραφία θώρακα. Οι κλινικοί ιατροί χρησιμοποιούν συνήθως δύο προτιμώμενους τύπους εξετάσεων για να διαπιστώσουν εάν η πνευμονία ενός ασθενούς προκαλείται από το *Legionella*, την εξέταση ούρων και τα εργαστηριακά τεστ που περιλαμβάνουν τη λήψη δείγματος πτύελου (φλέγματος) ή πλύσης από τον πνεύμονα. Τα ούρα ελέγχονται για την ύπαρξη του αντιγόνου, ωστόσο δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την διάγνωση του πυρετού Pontiac. Ένα ακόμη μειονέκτημα αυτής της τεχνικής είναι ότι μπορεί να ανιχνευθεί μόνο ο ορότυπος 1. Στην περίπτωση που ληφθεί πτύελο ή γίνει βιοψία πνεύμονα τότε καλλιεργούνται τα βακτήρια σε ειδικό θρεπτικό μέσο. Εναλλακτικά για την μέτρηση του αντιγόνου μπορεί να χρησιμοποιηθεί και ως δείγμα αίμα, παρόλα αυτά, πρέπει η συγκέντρωση του αντιγόνου να είναι περίπου 5 φορές υψηλότερη σε σχέση με αυτή στα ούρα ώστε να μπορέσει να ανιχνευθεί. Έκτος των προαναφερθέντων μεθόδων διάγνωσης, έχουν αναπτυχθεί και πιο εξειδικευμένες εργαστηριακές τεχνικές στις οποίες περιλαμβάνονται τόσο φαινοτυπικές όσο και γενοτυπικές τεχνικές (Washington C. Winn, Jr., 1996).

1.4. Πρόληψη και θεραπεία

Σύμφωνα με το Κέντρο Πρόληψης και Θεραπείας (CDC, Center for Prevention and Disease) δεν υπάρχουν εμβόλια που δύναται να αποτρέψουν τη νόσο τη Λεγεωναρίων. Ασθενείς με ήπια έως μέτρια πνευμονία γίνονται δεκτοί στο νοσοκομείο για παρεντερικά αντιβιοτικά και υποστηρικτικά μέτρα. Οι ασθενείς που θεωρούνται ότι πάσχουν από σοβαρή πνευμονία ενδέχεται να χρειαστούν εισαγωγή στη μονάδα εντατικής θεραπείας για στενότερη παρακολούθηση. Ασθενείς με πιο ήπια συμπτώματα μπορούν να λάβουν και αντιβιοτικά από το στόμα. Ιστορικά, η ερυθρομυκίνη, ένα από τα αρχικά αντιβιοτικά μακρολίδης, χρησιμοποιήθηκε για μόλυνση με *L pneumophila*. Σήμερα όμως προτιμώνται άλλα αντιβιοτικά, όπως η δοξυκυκλίνη, η τιγκεκυκλίνη, η αζιθρομυκίνη και η αναπνευστική κινολόνη, επειδή είναι πιο δραστικά έναντι της δραστικότητας και έχουν ανώτερες φαρμακοκινητικές ιδιότητες, όπως καλύτερη

βιοδιαθεσιμότητα, καλύτερη διείσδυση σε μακροφάγα και μεγαλύτερη διάρκεια ημιζωής. Για σοβαρές ασθένειες συνιστάται η χρήση φθοροκινολόνης (CDC).

Αν και προς το παρόν δεν υπάρχουν προγνωστικοί δείκτες, η πρόληψη είναι εφικτή. Το κλειδί για την πρόληψη της νόσου είναι να διασφαλιστεί ότι τα υδατικά συστήματα των κτιρίων διατηρούνται καθαρά προκειμένου να μειωθεί ο κίνδυνος ανάπτυξης και εξάπλωσης της *Legionella* αλλά και να διατηρηθεί η θερμοκρασία σε επίπεδα απαγορευτικά για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Στους τρόπους καθαρισμού θα αναφερθούμε εκτενέστερα σε επόμενο κεφάλαιο όπου και θα αναλυθούν ειδικότερα τα προληπτικά μέτρα που λαμβάνονται από τα νοσοκομεία για τον περιορισμό της νόσου αλλά και οι μέθοδοι που είναι πιο αποτελεσματικοί στον περιορισμό και την εξάλειψη των εστιών μόλυνσης (World Health Organization, 2017; CDC).

Εκτός από τις προαναφερθέντες τεχνικές πολλές χώρες προσεγγίζουν το πρόβλημα και με άλλους τρόπους. Πολύ καλή πρακτική αποτελεί και η εκπαίδευση γύρω από τη νόσο. Πολλές χώρες οργανώνουν υποστηρικτικά προγράμματα στα οποία περιλαμβάνονται η εκπαίδευση του προσωπικού που εμπλέκεται σε δραστηριότητες που μπορεί να περιλαμβάνουν το νερό αλλά και η ανάπτυξη πρωτοκόλλων διαπίστευσης. Γενικά κρίνεται απαραίτητο ένα σχέδιο ασφάλειας του νερού αλλά και ο σχεδιασμός των ενεργειών σε περίπτωση εκδήλωσης κρουσμάτων και πανδημιών της νόσου. Σημαντικό σημείο στην πρόληψη των εξάρσεων είναι ότι μόλις εντοπιστεί ένα περιστατικό να γνωστοποιηθεί στις αρμόδιες αρχές ώστε να ληφθούν άμεσα τα κατάλληλα μετρά και να αποφευχθούν περεταίρω περιστατικά (World Health Organization, 2017).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

2.1. Στόχοι

Στην παρούσα εργασία τέθηκαν κάποιοι βασικοί στόχοι. Μέσω της ανασκόπησης κρίθηκε σκόπιμο να εντοπιστούν αρχικά τα γεγονότα που συμβάλουν στον αποικισμό και την ανάπτυξη της νόσου των λεγεωνάριων στα νοσοκομεία. Επίσης, είναι σημαντικό να δοθούν πληροφορίες σχετικά με τη συχνότητα που εμφανίζεται στο δίκτυο ύδρευσης των νοσοκομείων και πως μπορεί από το δίκτυο ύδρευσης να μολυνθεί ο άνθρωπος αλλά και ποιες είναι οι άμεσες και έμμεσες επιπτώσεις. Τέλος, είναι απαραίτητο να δοθούν και τα μέτρα ελέγχου που υπάρχουν για την μη εμφάνιση της νόσου και ποια είναι τα μέτρα που λαμβάνονται άμεσα για την αντιμετώπιση ενός κρούσματος ή έξαρσης της νόσου στο νοσοκομείο.

Οι επιμέρους στόχοι που τέθηκαν με τη συστηματική ανασκόπηση αφορούν κυρίως την καταγραφή και την ανάλυση των επιδημιολογικών δεδομένων και δημοσιευμένων περιπτώσεων στα νοσοκομεία για να διαπιστώσουμε ποια είναι η πηγή και οι εστίες της μόλυνσης, ο πιθανός πληθυσμός που μολύνει, η συχνότητα της εμφάνισης. Ακόμη τι επιπτώσεις έχει στην ποιότητα του νερού η ύπαρξη λεγεωνέλλας και την εκτίμηση του κινδύνου στο σύστημα του νερού στο νοσοκομείο. Επιπρόσθετα κρίθηκε σκόπιμο να παρατεθούν τα πιο αποτελεσματικά μέτρα ελέγχου.

2.2. Στρατηγική αναζήτησης

2.2.1. Θεματικές ενότητες

Σχετικά με τη θεματική ενότητα που χρησιμοποιήθηκε η αναζήτηση επικεντρώθηκε στη νόσο των Λεγεωναρίων, στους τρόπους πρόληψης της και στους τρόπους αποίκισης των βακτηρίων στο σύστημα υδροδότησης τόσο του ζεστού όσο και του κρύου νερού. Επίσης η αναζήτηση περιορίστηκε κυρίως σε περιστατικά που αφορούν νοσοκομειακές λοιμώξεις. Πιο σημαντική κρίθηκε η αναγνώριση των αιτιών και των συστημάτων που μπορούν να προκαλέσουν τη μόλυνση.

2.2.2.1. Πηγές και όροι αναζήτησης

Για να επιτευχθούν οι στόχοι της παρούσας μεταπτυχιακής εργασίας πραγματοποιήθηκε συστηματική βιβλιογραφική ανασκόπηση στις βάσεις δεδομένων SCOPUS και PUBMED. Η αναζήτηση περιλαμβάνει δημοσιευμένα άρθρα, έρευνες, εξάρσεις κρουσμάτων, αναφορές, έρευνες βασισμένες σε γεγονότα, υποθέσεις που έλαβαν χώρα στο νοσοκομείο ή και σε εργαστήρια. Η ανασκόπηση αφορούσε δημοσιεύσεις της τελευταίας δεκαετίας κυρίως. Ωστόσο υπήρξαν και κάποια αξιοσημείωτα άρθρα που ήταν παλαιότερα και κρίθηκε σκόπιμο να αναφερθούν στην παρούσα εργασία.

Με σκοπό να γίνει πιο στοχευμένη η αναζήτηση χρησιμοποιήθηκαν οι λέξεις-κλειδιά: hospital, legionella disease(LD), hospital-acquired legionella, legionella, patients, legionellosis, LD outbreak, LD cases, prevention of legionellosis, colonization, LD in water systems. Παρακάτω δίνετε ένας αντιπροσωπευτικός πίνακας με τις λέξεις-κλειδιά. Το σύνολο των δημοσιευμένων άρθρων που εντοπίστηκαν ανέρχεται στα 537. Δίνονται

επίσης και οι σχετικές λέξεις που προέκυψαν από τις αναζητήσεις για κάθε μια κατηγορία.

Πίνακας 1. Λέξεις –κλειδί που χρησιμοποιήθηκαν για την αναζήτηση.

Ασθένεια	Έκθεση	Πληθυσμός	Γεγονός	Αριθμός Άρθρων	
				Scopus	PubMed
Legionella	Hospitals	Patients	Outbreaks	537	
Legionella pneumophila	Water basins	Relatives	reviews		
Legionella disease	Hospitals	Children	Clusters		
Legionnaires' disease	water systems	Doctors	Cases		
Legionnaires' disease	Hot water systems	Nurses	Published articles		
Legionellosis	Drinking water	Hospital Staff	Infection		
Legionella spp.	water	Ill	Illness		
Nosocomial legionellosis	Hospital	Sick	Sickness		
Health Care-Associated Legionnaires' Disease	Water		Risk		
Legionnaires' Disease	Network		management		
Legionella Infection	Waterlines		Freshwater system		
	Water distribution systems				

2.1. Κριτήρια

Λόγω του μεγάλου αριθμού των άρθρων που εντοπίστηκαν, τέθηκαν και κάποια κριτήρια αποκλεισμού ώστε η έρευνα να γίνει πιο συγκεκριμένη και να αναλυθούν εκτενέστερα οι μελέτες με τα σημαντικότερα δεδομένα. Ειδικότερα, συμπεριλήφθηκαν μόνο περιπτώσεις που περιλαμβάνουν εξάρσεις και μολύνσεις οι οποίες συνέβησαν αποδεδειγμένα μόνο σε νοσοκομεία. Επίσης, σε όλες τις περιπτώσεις η κύρια αιτία της έξαρσης ήταν το βακτήριο *Legionella* και η εστία της μόλυνσης ήταν το δίκτυο ύδρευσης του νοσοκομείου.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1. Ανάλυση αποτελεσμάτων

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την αναζήτηση δίνονται στον παρακάτω συνοπτικό πίνακα. Πιο συγκεκριμένα δίνονται το περιστατικό, η τοποθεσία και το έτος που πραγματοποιήθηκε η μελέτη. Επίσης δίνονται τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν και τα αποτελέσματα που προέκυψαν από κάθε μια μελέτη καθώς και το σύστημα ύδρευσης που συσχετίστηκε κάθε φορά με τη διάδοση της μόλυνσης.

Πίνακας 2. Νόσος των λεγεωνάριων σε νοσοκομεία που συνδέεται με το σύστημα ύδρευσης

Περιστατικό (φύλο/ηλικία)	Ημερομηνία	Τοποθεσία	Κλινική Διάγνωση	Εργαστηριακά Δεδομένα			Επιδημιολογικά Δεδομένα			Σύστημα ύδρευσης που συνδέθηκε	Αναφορά	
				Αποτελέσματα μικροβιολογικών ελέγχων κλινικών δειγμάτων	Συστήματα ύδρευσης που ελέγχθηκαν	Αποτελέσματα μικροβιολογικών ελέγχων περιβαλλοντικών δειγμάτων	Όμοιες απομονώσεις	Έκθεση	Επιδημιολογική μελέτη			Στατιστική Σημαντικότητα
2 επιβεβαιωμένα A66 (θανατηφόρο) , Γ46	Μάιος-Ιούνιος 2013	Wesley Νοσοκομείο, Brisbane, Australia	Πνευμονία	+ καλλιέργειες από πτύελο, βρογχοκυψελιδική ή πλύση (BAL), και πλευρικό υγρό Απομονώσεις παρόμοιες με το στέλεχος αναφοράς Lpsg 1 Paris	Δείγματα από: ντουζ, λεκάνη χεριών, σύστημα ζεστού νερού, βρύση και δείγματα νεροχύτη σε διαφορετικές νοσοκομειακές πτέρυγες (East, Moorlands & Main block)	Η Lpsg 1 καλλιεργήθηκε συνολικά σε 15 από 85 (17.6%) εξόδους νερού. Αναλυτικότερα, σε 5 από 7 (71.4%) που δοκιμάστηκαν στην ανατολική πτέρυγα, 2 από 12 (16.7%) στην πτέρυγα Moorlands, 8 από 34 (23.5%) στο κύριο συγκρότημα και σε 2 από 32 (6.3%) στα συνεργαζόμενα ιατρικά κέντρα	Οι απομονώσεις του νοσοκομείου ήταν παρόμοιες με το στέλεχος αναφοράς Lpsg 1 Paris. Των ασθενών διαφέρουν <54 SNPs, υποδεικνύοντας έντονα ότι το σύστημα νερού του νοσοκομείου είναι η πηγή νοσοκομειακής λοίμωξης	Η καρδιολογική πτέρυγα (East Wing) και η πτέρυγα ογκολογίας και μεταμοσχεύσεων (Main Block)	Περιγραφική (χωρίς συγκριτική ομάδα)	-	Από τα δεδομένα συμπεραίνεται ως πρωταρχική ή πηγή μόλυνσης του συστήματος ύδρευσης του νοσοκομείου με το LPSG1, το δημοτικό δίκτυο ύδρευσης	Bartley et al. 2015
1 επιβεβαιωμένο Γ73	Ιούλιος 2010	Kobe Πανεπιστημιακό νοσοκομείο, Ιαπωνία	Νοσοκομειακή πνευμονία	+ αντιγόνο λεγιονέλλας από πτύελο και βρογχοκυψελιδική ή πλύση	Δείγματα από το ακροφύσιο του κλιματισμού, το νεροχύτη, τη βρύση, τις 4 κεφαλές ντους στο δωμάτιο του ασθενούς και	+ 3 από 4 κεφαλές των ντους στην καλλιέργεια της <i>L. pneumophila</i> + 6 από 10 δείγματα από οκτώ πύργους ψύξης σε <i>L. pneumophila</i>	Δύο στελέχη από τον ασθενή και από δύο πύργους ψύξης βρέθηκαν να είναι ταυτόσημα με βάση την PCR επαναλαμβανόμενη αλληλουχία	Ο ασθενής δεν έφυγε έξω από το νοσοκομείο και έκανε συχνά	Περιγραφική (χωρίς συγκριτική ομάδα)	Τα δείγματα του ασθενούς ήταν στην ίδια συστάδα με αυτά των πύργων ψύξης παρουσιάζοντας ένα δυναμικό ομοιότητας	Πιθανή οδός μόλυνσης με λεγιονέλλα το αεροζόλ που εκπέμπεται από τον πύργο	Osawa et al. 2014

Περιστατικό (φύλο/ηλικία)	Ημερομηνία	Τοποθεσία	Κλινική Διάγνωση	Εργαστηριακά Δεδομένα				Επιδημιολογικά Δεδομένα			Σύστημα ύδρευσης που συνδέθηκε	Αναφορά
				Αποτελέσματα μικροβιολογικών ελέγχων κλινικών δειγμάτων	Συστήματα ύδρευσης που ελέγχθηκαν	Αποτελέσματα μικροβιολογικών ελέγχων περιβαλλοντικών δειγμάτων	Όμοιες απομονώσεις	Έκθεση	Επιδημιολογική μελέτη	Στατιστική Σημαντικότητα		
					όλους τους πύργους ψύξης			ντους		άνω του 95%	ψύξης	
2 επιβεβαιωμένα 2 νεογνά (A & B)	A: Απρίλιος 2013 B: Νοέμβριος 2013	Δύο νοσοκομεία στην Taiwan (A & B)	Νοσοκομειακή πνευμονία	<ul style="list-style-type: none"> A: Lrsg 5 απομονώθηκε από δείγμα πτυέλου B: δείγματα ούρων και πτυέλου βρέθηκαν θετικά για Lrsg 1 	<ul style="list-style-type: none"> A: δείγματα από όλες τις πηγές που ο ασθενής ήρθε σε επαφή B: περιβαλλοντικά δείγματα νερού 	<p>A: Η Lrsg 4 απομονώθηκε από 3 βρύσες και η Lrsg 5 από την πηγή κρύου νερού του διανομέα ζεστού και κρύου νερού για τη παρασκευή βρεφικής συνταγής</p> <p>B: η πηγή ψυχρού νερού του διανομέα ζεστού και κρύου νερού στο νοσοκομείο B, ήταν θετικό για Lrsg 1</p>	<ul style="list-style-type: none"> A: Τα προφίλ ηλεκτροφόρησης PFGE των απομονώσεων της Lrsg 5 από ένα δείγμα πτυέλου και από το διανομέα νερού ήταν όμοια B: Τα προφίλ ηλεκτροφόρησης PFGE των απομονώσεων του ασθενή και του διανομέα νερού ήταν όμοια 	A: Μαιευτική ή κλινική A B: Μαιευτική ή κλινική B	Περιγραφική (χωρίς συγκριτική ομάδα)	-	Μολυσμένο νερό που χρησιμοποιείται σε βρεφική συνταγή σε νοσοκομεία	Wei et al. 2014
2 επιβεβαιωμένα A41 & A36	Οκτώβριος-Νοέμβριος, 2007	National Institutes of Health Clinical Center, USA	Πνευμονία	<ul style="list-style-type: none"> + Lrsg 1 και οι δύο ασθενείς με καλλιέργεια και αλυσωτής αντίδρασης πολυμεράσης του υγρού βρογχοκυψελιδικής πλύσης + Legionella ο ασθενής 1 	Η βρύση και το ντους στα των ασθενών, η παγομηχανή στη μονάδα μεταμόσχευσης βλαστικών κυττάρων και το διακοσμητικό	Lrsg 1 ανακτήθηκε από δείγματα νερού από το διακοσμητικό σιντριβάνι	Οι απομονώσεις από τους ασθενείς και από το σιντριβάνι ήταν πανομοιότυπα με σύμφωνα με την ηλεκτροφόρηση PFGE	Οι παροχές νερού στα δωμάτια των ασθενών και το σιντριβάνι στην πτέρυγα ογκολογία	Περιγραφική (χωρίς συγκριτική ομάδα)	-	Μόλυνση του διακοσμητικού σιντριβανιού (30 μηνών)	Palmore et al. 2009

Περιστατικό (φύλο/ηλικία)	Ημερομηνία	Τοποθεσία	Κλινική Διάγνωση	Εργαστηριακά Δεδομένα				Επιδημιολογικά Δεδομένα			Σύστημα ύδρευσης που συνδέθηκε	Αναφορά
				Αποτελέσματα μικροβιολογικών ελέγχων κλινικών δειγμάτων	Συστήματα ύδρευσης που ελέγχθηκαν	Αποτελέσματα μικροβιολογικών περιβαλλοντικών δειγμάτων	Όμοιες απομονώσεις	Έκθεση	Επιδημιολογική μελέτη	Στατιστική Σημαντικότητα		
					σιντριβάνι			ας ακτινοβο λίας				
1 επιβεβαιωμέν ο Γ59 (θανατηφόρο)	Απρίλιος 2007	Αιματολογι κή μονάδα νοσοκομεί ου στη Γαλλία	Πνευμονί α	- Άμεση μικροβιολογική ανάλυση - ουροποιητικό σύστημα για τα αντιγόνα Legionella + Βακτηριολογική ανάλυση του δείγματος BAL μετά από 1 εβδομάδα Lp sg 5	Ζεστό και κρύο νερό του νιπτήρα και ζεστό νερό ντους από το δωμάτιο του ασθενούς	+ Όλα τα δείγματα. Το κρύο νερό είχε την υψηλότερη συγκέντρωση της Lp sg 1 and 5 (ie, 1,500 cfu/L). - Σε 3 από τα 14 δωμάτια το νερό του νιπτήρα ήταν χωρίς Lp sg 1 ή Lp sg 5	Οι απομονώσεις της Lp sg 5 από το κρύο νερό νιπτήρα ταυτίζονταν με τον ασθενή με ηλεκτροφόρηση (PFGE)	Δεν υπήρχε πύργος ψύξης ή συμπυκν ωτής εξάτμιση ς. Το μπάνιο ήταν δίπλα στο δωμάτιο. Το φίλτρο ντους 30- ημερών της Legionell a αλλαχθεί τη 2 ^η μέρα	Περιγραφική (χωρίς συγκριτική ομάδα)	-	Έκθεση σε μολυσμένο νερό από νιπτήρα	Brûlet et al. 2008
1 επιβεβαιωμέν ο A75	Αύγουστος 2008	Hospital Germany	Πνευμονί α	+ Καλλιέργειες υγρού BAL από τον αριστερό πνεύμονα του ασθενούς	Ο πύργος ψύξης, τα δείγματα νερού και βρύσης	Κατά τη διάρκεια της επώασης, η συγκέντρωση του πύργου ψύξης ήταν 1,0 x 10 ⁴ CFU / 100 ml (Lp sg 1) και οι	1 από τις 3 απομονώσεις από τον πύργο ψύξης ήταν ταυτόσημες με του ασθενούς	Ο ασθενής κάπνιζε στο μπαλκόνι	Περιγραφική (χωρίς συγκριτική ομάδα)	-	Ο πύργος ψύξης κατά τη διάρκεια μιας περιόδου	Engelhart et al. 2008

Περιστατικό (φύλο/ηλικία)	Ημερομηνία	Τοποθεσία	Κλινική Διάγνωση	Εργαστηριακά Δεδομένα			Επιδημιολογικά Δεδομένα			Σύστημα ύδρευσης που συνδέθηκε	Αναφορά	
				Αποτελέσματα μικροβιολογικών ελέγχων κλινικών δειγμάτων	Συστήματα ύδρευσης που ελέγχθηκαν	Αποτελέσματα μικροβιολογικών ελέγχων περιβαλλοντικών δειγμάτων	Όμοιες απομονώσεις	Έκθεση	Επιδημιολογική μελέτη			Στατιστική Σημαντικότητα
					συλλέχθηκαν στο δωμάτιο του ασθενούς και σε άλλες θέσεις στην πτέρυγα	μετεωρολογικές συνθήκες χαρακτηρίζονταν από ξηρό καυτό καιρό (> 30 ° C) με τα αερολύματα να ρέουν προς τα κάτω. Τα δείγματα νερού και βρύσης δεν περιείχαν Lpsg 1 και άλλες οροομάδες είχαν χαμηλές ή μέτριες συγκεντρώσεις	σύμφωνα και με τις δύο μεθόδους (mab και sequence-based typing) (Lpsg 1 mab-type Knoxville, SBT profile fla 3, pilE 10, asd 1, mip 5, ompS 14, proA 9, gsp 13, neuA 11).	του δωματίου του, περίπου 90 μ. δυτικά από έναν πύργο ψύξης που βρίσκεται στην οροφή του κέντρου λειτουργίας			θερμικής αναστροφής	
1 επιβεβαιωμένο Γ74 (θανατηφόρο)	Νοέμβριος 2003	Νοσοκομείο στο Calgary, Canada	Πνευμονία	+ Lpsg 1 σε δείγμα BAL	Οι νιπτήρες της ΜΕΘ και στα Επείγοντα, η κατοικία του ασθενούς, οι τροφοδοσίες πόσιμου νερού σε τρία επιπλέον νοσοκομεία	Η Lpsg 1 απομονώθηκε από πόσιμο νερό στα Επείγοντα και τη ΜΕΘ Το νερό κοντινού νοσοκομείου που τροφοδοτείται από την ίδια δεξαμενή νερού με το νοσοκομείο 1 περιείχε <i>L. pneumophila</i> με το ίδιο προφίλ αλληλουχίας, 1,4,3,1,1,1	SBT και AFLP των δειγμάτων αποκάλυψε ότι οι απομονώσεις του ασθενούς και του νερού από τους νιπτήρες της ΜΕΘ είχε το ίδιο προφίλ αλληλουχίας στα έξι γονίδια-στόχους με αυτές ανακτήθηκαν	Νοσηλεία στα Επείγοντα και στη ΜΕΘ	Περιγραφική (χωρίς συγκριτική ομάδα)	-	Το πόσιμο νερό στα Επείγοντα και στη ΜΕΘ ήταν η πηγή της νοσοκομειακής μόλυνσης	Wong et al. 2006

Περιστατικό (φύλο/ηλικία)	Ημερομηνία	Τοποθεσία	Κλινική Διάγνωση	Εργαστηριακά Δεδομένα				Επιδημιολογικά Δεδομένα			Σύστημα ύδρευσης που συνδέθηκε	Αναφορά
				Αποτελέσματα μικροβιολογικών ελέγχων κλινικών δειγμάτων	Συστήματα ύδρευσης που ελέγχθηκαν	Αποτελέσματα μικροβιολογικών ελέγχων περιβαλλοντικών δειγμάτων	Όμοιες απομονώσεις	Έκθεση	Επιδημιολογική μελέτη	Στατιστική Σημαντικότητα		
1 επιβεβαιωμένο Γ 28 μηνών	Δεκέμβριος 2004	Πτέρυγα παιδιατρικής ογκολογίας σε νοσοκομείο Σουηδίας	Πνευμονία, αναπνευστική ανεπάρκεια	+ δείγμα BAL σε Lp sg 1, υπο-ομάδα OLDA	Δείγματα ζεστού και κρύου νερού από τις βρύσες, τα 2 ντους στο δωμάτιο του ασθενούς, τα 2 ντους στα άλλα δωμάτια της πτέρυγας και από 6 άλλους θαλάμους	+ Δείγματα ζεστού και κρύου νερού από τα 2 ντους στο δωμάτιο του ασθενούς, τα ντους στα άλλα δωμάτια της πτέρυγας + το κρύο νερό από τη βρύση στο δωμάτιο του ασθενούς (30 cfu/500 ml) + 4 από τα 18, και 5 από τα 18, δείγματα νερού από ντους σε 2 παρακείμενους θαλάμους (1-5 cfu/500 ml και 1-6 cfu/500 ml)	Οι AFLP έδειξαν πλήρη ταύτιση μεταξύ των απομονώσεων από το BAL και από 2 δείγματα κρύου νερού από το δωμάτιο του ασθενούς (Lp sg 1, υπο-ομάδα OLDA)	Νοσηλεία στην πτέρυγα της παιδιατρικής ογκολογίας	Περιγραφική (χωρίς συγκριτική ομάδα)	-	Μόλυνση στην πτέρυγα παιδιατρικής ογκολογίας με εισπνοή ή μικροδιαπνοή μολυσμένου νερού	Johansson et al. 2006
1 επιβεβαιωμένο Γ72 (θανατηφόρο)	Ιούνιος 2000	Πανεπιστημιακό νοσοκομείο Nagoya, Ιαπωνία	Πνευμονία	+ Χρώση Gimenez δειγμάτων BAL - τίτλοι αντισωμάτων για Lp sg 1-6 - σε βιοδοκιμές για αντιγόνα ούρων της Lp sg 1 + Lp sg 10 τα δείγματα πτυέλου και BAL	Μπάνιο νοσοκομείου, πισίνες αποκατάστασης, μπάνιο στο σπίτι του ασθενούς	+ Lp sg 6 & 10 δείγματα από το μπάνιο του νοσοκομείου L. pneumophila δεν εντοπίστηκε στο σπίτι του ασθενούς	Η ηλεκτροφόρηση PFGE ήταν πανομοιότυπη για τα δείγματα πτυέλου και BAL και το νερό από το μπάνιο του νοσοκομείου (Lp sg 10)	Μπάνιο του νοσοκομείου	Περιγραφική (χωρίς συγκριτική ομάδα)	-	Το νερό από το νοσοκομείο ακό μπάνιο ήταν η αιτία	Torii et al. 2003
3 επιβεβαιωμένα	Ιούνιος-Νοέμβριος 1992	Μονάδα καρδιοπνευμονικής μεταμόσχευσης	Πνευμονία	A: Lp sg 6 απομονώθηκε από δείγμα BAL + Αντιγόνο ούρων	Δείγματα συλλέχθηκαν από τις βρύσες (n =	10-60 cfu/ml of L. pneumophila απομονώθηκαν από το νερό της παγομηχανής, τις	Οι απομονώσεις από τους 2 ασθενείς και τη μηχανή πάγου	Οι ασθενείς νοσηλεύτηκαν στη	Περιγραφική (χωρίς συγκριτική	-	Η μηχανή πάγου, από την οποία οι ασθενείς	Bangsborg et al. 1995

Περιστατικό (φύλο/ηλικία)	Ημερομηνία	Τοποθεσία	Κλινική Διάγνωση	Εργαστηριακά Δεδομένα				Επιδημιολογικά Δεδομένα			Σύστημα ύδρευσης που συνδέθηκε	Αναφορά
				Αποτελέσματα μικροβιολογικών ελέγχων κλινικών δειγμάτων	Συστήματα ύδρευσης που ελέγχθηκαν	Αποτελέσματα μικροβιολογικών ελέγχων περιβαλλοντικών δειγμάτων	Όμοιες απομονώσεις	Έκθεση	Επιδημιολογική μελέτη	Στατιστική Σημαντικότητα		
A53, A51 & A47		υσης, Rigshospitalet, Δανία		B: Lrpsg 1 απομονώθηκε από δείγμα BAL και από τραχειακό δείγμα αναρρόφηση δύο ημέρες αργότερα + Αντιγόνο ούρων C: Lrpsg 1 απομονώθηκε από δείγμα BAL + Αντιγόνο ούρων	12) της ΜΕΘ και τη μηχανή πάγου (παγάκια ενυδάτωση ασθενών) και όλα τα φίλτρα βρύσης	2 από τις 12 βρύσες που εξετάστηκαν, το φίλτρο μιας από τις βρύσες	ανήκουν στην ομάδα 1 και είχαν ταυτόσημους μονοκλωνικούς υποτύπους, τύπους REA και ριβότυπα. Ένας ασθενής και 4 απομονώσεις από τις βρύσες ήταν στελέχη ορότυπου 6 και ανήκουν σε ένα ενιαίο σύνθετο ριβότυπο.	ΜΕΘ του Τμήματος Θωρακοχειρουργικής και μετεχειρητικά και στη συνέχεια μεταφέρθηκαν στο Τμήμα Καρδιολογίας	ομάδα)		έπαιρναν παγάκια για ενυδάτωση του στοματικού βλεννογόνου και 4 βρύσες στη ΜΕΘ του Τμήματος Θωρακοχειρουργικής	
1 επιβεβαιωμένο Ηλικιωμένος άντρας (θανατηφόρο)	2012	Πανεπιστημιακό νοσοκομείο της Uppsala, Σουηδία	Πνευμονία	+ Απομονώσεις ασθενούς για Lrpsg 1, υποομάδες Knoxville και ST9	Τα δείγματα συλλέχθηκαν από τον ντους και από τις βρύσες στο δωμάτιο του ασθενούς	+ για Lrpsg 1 με συγκέντρωση 2000 cfu / L απομονώθηκαν από την έξοδο πλήρωσης κυπέλλων	Η ηλεκτροφόρηση PFGE και η αλληλούχιση ολόκληρου του γονιδιώματος υποδεικνύει ότι οι απομονώσεις είναι κοινής προέλευσης	Οδοντιατρική πτέρυγα στο νοσοκομείο	Περιγραφική (χωρίς συγκριτική ομάδα)	-	Η έξοδος πλήρωσης κυπέλλων που παρέχει νερό την πλύση του στόματος	Schonning et al. 2017
επιβεβαιωμένα 9 νεογνά (μέση τιμή 7 ημέρες) (3 θανατηφόρα)	Δεκέμβριος 2008	Μικρό ιδιωτικό νοσοκομείο στη Nicosia, Κύπρος	Πνευμονία	+ Legionella σε 9/32 (28%) νεογνά που γεννήθηκαν στο ιδιωτικό νοσοκομείο	Δείγματα από το κεντρικό σύστημα τροφοδοσίας και δεξαμενής	<i>L. pneumophila</i> απομονώθηκαν από τις βρύσες κρύου και ζεστού νερού και το νιπτήρα μπάνιου στο μαιευτήριο, τα δείγματα από το	2 στελέχη ταυτοποιήθηκαν και ανακτήθηκαν από τον υγραντήρα και τα νεογνά Lrpsg 3	Στο μαιευτήριο ιδιωτικού νοσοκομείου	Περιγραφική (χωρίς συγκριτική ομάδα)	-	Ένας πρόσφατα εγκατεστημένος υγραντήρας ψυχρής	Yiallourou et al. 2013

Περιστατικό (φύλο/ηλικία)	Ημερομηνία	Τοποθεσία	Κλινική Διάγνωση	Εργαστηριακά Δεδομένα				Επιδημιολογικά Δεδομένα			Σύστημα ύδρευσης που συνδέθηκε	Αναφορά
				Αποτελέσματα μικροβιολογικών ελέγχων κλινικών δειγμάτων	Συστήματα ύδρευσης που ελέγχθηκαν	Αποτελέσματα μικροβιολογικών ελέγχων περιβαλλοντικών δειγμάτων	Όμοιες απομονώσεις	Έκθεση	Επιδημιολογική μελέτη	Στατιστική Σημαντικότητα		
				+ δείγματα ούρων για αντιγόνο <i>L. pneumophila</i> και εκκρίσεις τραχείας	νερού του νοσοκομείου, τις βρύσες ζεστού και κρύου νερού και τον υγραντήρα	ακροφύσιο και τη βάση του υγραντήρα και το νερό από τη δεξαμενή πλήρωσης και τη βάση του υγραντήρα	ST93 και Lp sg 1 1mAb υποομάδα "Oxford / OLDA" ST1				ομίχλης με μολυσμένο νερό	
1 επιβεβαιωμένο A66	Απρίλιος 1994	Πανεπιστημιακό νοσοκομείο 720 κλινών στο Rochester, ΗΠΑ	Πνευμονία	+ Δείγμα τραχείας για Lp sg 6	Δείγματα νερού ή πάγου από όλες τις νοσοκομειακές μηχανές πάγου, τους νιπτήρες στο νοσοκομείο και την κουζίνα της ΜΕΘ	+ Δείγματα πάγου και κρύου νερού από τη μηχανή πάγου της ΜΕΘ για Lp sg 6 - δείγματα ζεστού και κρύου νερού από το νιπτήρα δίπλα στο μηχάνημα πάγου - το φίλτρο στη γραμμή ψυχρού νερού στη μηχανή πάγου και στον νιπτήρα - δείγματα ζεστού και κρύου νερού από τους νιπτήρες της ΜΕΘ και τον πάγο από τις άλλες μηχανές πάγου	Οι απομονώσεις από τον πάγο και το κρύο νερό από τη μηχανή πάγου της ΜΕΘ ήταν ίδιες με δείγματα από την τραχεία του ασθενούς	Μικροαναρρόφηση πάγου ή παγωμένου νερού	Περιγραφική (χωρίς συγκριτική ομάδα)	-	Η μηχανή πάγου της ΜΕΘ	Graman et al 1997
1 επιβεβαιωμένο 1 νεογνό	Μάιος 2000	Νοσοκομείο του Turin, Ιταλία	Πυρετός και δύσπνοια	+ αντισώματα για Lp sg 1 σε 3 διαδοχικούς ορούς νεογνού που συλλέχθηκαν στις 26, 33 και 51	το νερό της βρύσης στο σπίτι του νεογνού και από την η παροχή	+ Για Lp sg 1 (300-2000 cfu / L, η παροχή νερού του νοσοκομείου όπου γεννήθηκε το νεογνό και ειδικότερα το νερό της	Τα δείγματα από τον ασθενή και το νερό της πισίνας του νοσοκομείου για τον τοκετό είχαν την ίδια	Παρατεταμένος τοκετός σε μολυσμένο νερό,	Περιγραφική (χωρίς συγκριτική ομάδα)	-	Το νερό της πισίνας του νοσοκομείου για τοκετό	Franzin et al. 2004

Περιστατικό (φύλο/ηλικία)	Ημερομηνία	Τοποθεσία	Κλινική Διάγνωση	Εργαστηριακά Δεδομένα				Επιδημιολογικά Δεδομένα			Σύστημα ύδρευσης που συνδέθηκε	Αναφορά
				Αποτελέσματα μικροβιολογικών ελέγχων κλινικών δειγμάτων	Συστήματα ύδρευσης που ελέγχθηκαν	Αποτελέσματα μικροβιολογικών ελέγχων περιβαλλοντικών δειγμάτων	Όμοιες απομονώσεις	Έκθεση	Επιδημιολογική μελέτη	Στατιστική Σημαντικότητα		
				ημέρες μετά την εμφάνιση των συμπτωμάτων	νερού στο νοσοκομείο	πισίνας για τον τοκετό + νερό βρύσης και υγραντήρα στο σπίτι του ασθενούς ήταν για <i>Legionella</i> spp, αλλά όχι για <i>L. pneumophila</i> .	Lrsg 1	ίσως αναρρόφηση				
2 επιβεβαιωμένα 2 παιδιά	1994	Νοσοκομείο Παίδων στο Pittsburg, ΗΠΑ	Πνευμονία	+ δείγματα για Lrsg 1 από την πλύση των πνευμόνων του ασθενούς 1 + δείγματα για Lrsg 1 από το BAL του ασθενούς 2	Δείγματα νερού από τις κάτω βαλβίδες αποστράγγισης των δύο δεξαμενών ζεστού νερού του νοσοκομείου, τις βρύσες των νιπτήρων, και τις βρύσες και τις κεφαλές των ντουζιέρων	Η Lrsg 1 απομονώθηκε από τις υδραυλικές εγκαταστάσεις των δωματίων των ασθενών καθώς και από 30 από 39 (77%) δείγματα σε όλο το νοσοκομείο	Όλα τα δείγματα των ασθενών και τα περιβαλλοντικά στελέχη είναι συγγενή και ανήκουν στην Lrsg 1	Οι δύο ασθενείς είχαν μείνει σε δωμάτια που βρίσκονταν στον έβδομο ή στον όγδοο όροφο του νοσοκομείου	Περιγραφική (χωρίς συγκριτική ομάδα)	-	Οι υδραυλικές εγκαταστάσεις των δωματίων των ασθενών	Green et al. 1996
47 επιβεβαιωμένα Ηλικία: 8-88 (μέση τιμή 67) (16	Νοέμβριος 1982 - Μάρτιος 1983	Νοσοκομείο στο Παρίσι	Πνευμονία	+ Για Lrsg 1 δείγματα πτυέλου ή πνευμόνων για 16 ασθενείς + Για Lrsg 1 για 31 ασθενείς	Δείγματα νερού συλλέχθηκαν μετά από έκπλυση των εξόδων για δύο λεπτά	Όλα τα δείγματα ζεστού νερού ήταν θετικά, για την Lrsg 1, με μέσο όρο 10 cfu / L	Τα θετικά περιβαλλοντικά δείγματα που συλλέχθηκαν σε όλη το δίκτυο παροχής για την Lrsg 1 ταυτίστηκε με τα περιστατικά	Έκθεση στο νοσοκομείο	Μελέτη ασθενών-μαρτύρων	<ul style="list-style-type: none"> • Η ηλικία δεν αποτελεί παράγοντα κινδύνου για τη λεγεωνέλλα • Οι θανατηφόρες 	Παροχή ζεστού νερού	Guiguet et al. 1987

Περιστατικό (φύλο/ηλικία)	Ημερομηνία	Τοποθεσία	Κλινική Διάγνωση	Εργαστηριακά Δεδομένα				Επιδημιολογικά Δεδομένα			Σύστημα ύδρευσης που συνδέθηκε	Αναφορά
				Αποτελέσματα μικροβιολογικών ελέγχων κλινικών δειγμάτων	Συστήματα ύδρευσης που ελέγχθηκαν	Αποτελέσματα μικροβιολογικών περιβαλλοντικών δειγμάτων	Όμοιες απομονώσεις	Έκθεση	Επιδημιολογική μελέτη	Στατιστική Σημαντικότητα		
θανατηφόρα)				επιβεβαιώθηκε μέσω της ορομετατροπής.			των ασθενών			ασθένειες (νεφρικές ή καρδιακές ανεπάρκειες) αυξάνει το ποσοστό προσβολής της νόσου • Η θεραπεία με στεροειδή πολλαπλασίασε τον παράγοντα κίνδυνου για <i>L. pneumophila</i> (95% CI: 2,0- 10,0)		
2 επιβεβαιωμέν α A69 & A70 (και τα δύο θανατηφόρα)	Μάρτιος 1992	Πανεπιστη μιακό νοσοκομεί ο 713 κλινών στο Rhode Island, ΗΠΑ	Πνευμονι κά διηθήματ α	A: + για Lp sg 1 (υπο-ομάδα 1,2,5,6) δείγμα από BAL B: + δείγμα πτύελου για <i>L pneumophilla</i>	47 δείγματα: πύργος ψύξης, ντους, κεφαλές ντους με υπερήχους, δεξαμενές ζεστού νερού, νερό από γραμμές πεπιεσμένου αέρα, βρύσες από χώρους ασθενών, στάσιμα υπόγεια νερά από τοποθεσία κατασκευών,	Η Lp sg 1 (υποτύπος 1,2,5,6) απομονώθηκε από τη βρύση στο δωμάτιο του ασθενούς και μια δεξαμενή ζεστού νερού ενός άλλου κτηρίου	A: Οι απομονώσεις του ασθενούς ταυτιζόταν με τις απομονώσεις στη βρύση του ασθενούς και το δοχείο ζεστού νερού που τροφοδοτεί την περιοχή του χειρουργείου όπου είχε την οδοντιατρική εξαγωγή σύμφωνα με την PFGE B: Οι	Πιθανόν η βαλβίδα σε μία σωλήνα παροχής νερού κοντά σε μία περιοχή κατασκευ ής να ήταν απενεργο ποιημένη και η ανασυμπ ίηση του νερού	Περιγραφική (χωρίς συγκριτική ομάδα)	-	A: Η βρύση και η δεξαμενή ζεστού νερού που τροφοδοτεί την περιοχή του χειρουργεί ου A & B: Συσχέτιση μεταξύ της ασθένειας των λεγεωνάρι ων και της	Mermel et al. 1995

Περιστατικό (φύλο/ηλικία)	Ημερομηνία	Τοποθεσία	Κλινική Διάγνωση	Εργαστηριακά Δεδομένα				Επιδημιολογικά Δεδομένα			Σύστημα ύδρευσης που συνδέθηκε	Αναφορά
				Αποτελέσματα μικροβιολογικών ελέγχων κλινικών δειγμάτων	Συστήματα ύδρευσης που ελέγχθηκαν	Αποτελέσματα μικροβιολογικών ελέγχων περιβαλλοντικών δειγμάτων	Όμοιες απομονώσεις	Έκθεση	Επιδημιολογική μελέτη	Στατιστική Σημαντικότητα		
					αυτοματοποιημένα πλυντήρια ενδοσκοπίων, υγραντήρες στην ακτινολογία και από διαρροή ατμού σε καλοριφέρ σε δωμάτιο ασθενούς		απομονώσεις του ασθενούς Lp sg 8, δεν ταυτίστηκε με κάποιο περιβαλλοντικό δείγμα	μετά την ολοκλήρ ωση του έργου μπορεί να οδήγησε σε αύξηση της συγκέντρ ωσης της Legionell a στο νερό.			κατασκευή ς	
-	Απρίλιος 2014- Οκτώβριος 2015	Flint, Genesse	-	- στα δείγματα από κτήρια που χρησιμοποιούσαν νερό του Detroit + στα δείγματα από τα νοσοκομεία του Flint	Δείγματα πόσιμου νερού από διάφορα κτήρια	Οι συγκεντρώσεις της Legionella ήταν υψηλότερες για τα μεγάλα κτήρια και στο ζεστό και στο κρύο νερό	-	Το διακοπτό μενο σύστημα διανομής μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της συγκέντρ ωσης του βακτηρίο υ	Περιγραφική (χωρίς συγκριτική ομάδα)	-	Ανεξέλεγκτ η διάβρωση του συστήματο ς	Schwake D et. al, 2016
A79(θανατηφ	1998	Νοσοκομεί	Βίαια	+ Για Lp sg 5 τα	Δείγματα από	Μόνο θετικά τα δείγματα	+ Για αντίσωμα	0	Περιγραφική	-	Μπάνιο 24-	Mineshit

Περιστατικό (φύλο/ηλικία)	Ημερομηνία	Τοποθεσία	Κλινική Διάγνωση	Εργαστηριακά Δεδομένα				Επιδημιολογικά Δεδομένα			Σύστημα ύδρευσης που συνδέθηκε	Αναφορά
				Αποτελέσματα μικροβιολογικών ελέγχων κλινικών δειγμάτων	Συστήματα ύδρευσης που ελέγχθηκαν	Αποτελέσματα μικροβιολογικών ελέγχων περιβαλλοντικών δειγμάτων	Όμοιες απομονώσεις	Έκθεση	Επιδημιολογική μελέτη	Στατιστική Σημαντικότητα		
όρο)		ο στο Τόκυο	αναπτυσσόμενη πνευμονία	δείγματα μπάνι 24-ωρών + Για Lpsg 5 το δείγμα ορού του ασθενούς	πύργους ψύξης, μπάνιο 24- ωρών και	από το μπάνιο 24-ωρών και μπάνιο	έναντι του Lpsg 5 11 από τους 80 ασθενείς που είχαν χρησιμοποιήσει το μπάνιο + Για αντίσωμα έναντι του Lpsg 5 6 από τα 73 άτομα του προσωπικού που είχαν βοηθήσει τους ασθενείς να χρησιμοποιήσουν το μπάνιο	ασθενής είχε χρησιμοποιήσει το μπάνιο	(χωρίς συγκριτική ομάδα)		ωρών	a M., 2015
2 ασθενείς	1999-2000	Πανεπιστημιακό νοσοκομείο στην Ιταλία	Πνευμονία	+ Για Lpsg 1 σε ένα δείγμα από από την ενήλικη CSU, + Για Lpsg 3 σε όλα τα δείγματα από τις πτέρυγες του νοσοκομείου,	Δείγματα από το κεντρικό σύστημα τροφοδοσίας	+ 63 δείγματα νερού από 21 τοποθεσίες ήταν θετικά	Όλα τα δείγματα των ασθενών και τα περιβαλλοντικά στελέχη είναι συγγενή και ανήκουν στην Lpsg 1 και 3	Οι ασθενείς έμειναν σε δωμάτια του νοσοκομείου	Περιγραφική (χωρίς συγκριτική ομάδα)	-	-	Triassi et al., 2005

Περιστατικό (φύλο/ηλικία)	Ημερομηνία	Τοποθεσία	Κλινική Διάγνωση	Εργαστηριακά Δεδομένα				Επιδημιολογικά Δεδομένα			Σύστημα ύδρευσης που συνδέθηκε	Αναφορά
				Αποτελέσματα μικροβιολογικών ελέγχων κλινικών δειγμάτων	Συστήματα ύδρευσης που ελέγχθηκαν	Αποτελέσματα μικροβιολογικών ελέγχων περιβαλλοντικών δειγμάτων	Όμοιες απομονώσεις	Έκθεση	Επιδημιολογική μελέτη	Στατιστική Σημαντικότητα		
Γ44 με καρκίνο του στήθους	1999	Γερμανία	Πνευμονία	+ Για Lpsg 12 σε ένα δείγμα της ασθενούς και 2 δείγματα από το περιβάλλον	Βρύσες και έξοδοι νερού και άλλες θέσεις στην πτέρυγα	Όλα τα περιβαλλοντικά δείγματα ήταν θετικά	Όλα τα δείγματα της ασθενούς και τα περιβαλλοντικά στελέχη είναι συγγενή και ανήκουν στην Lpsg 1 2	Έμεινε στο δωμάτιο μετά τη χειρουργική επέμβαση	Περιγραφική (χωρίς συγκριτική ομάδα)	-	Βρύσες και έξοδοι νερού στο δωμάτιο του ασθενούς	Luck et al., 1998
5, 2σε A75 και 1 σε K8 ήταν θανατηφόρες	1989-1997	Ιταλία	Πνευμονία	+ Για Lpsg 6 στα δείγματα των ασθενών που πέθαναν	Ποικίλα σημεία από το νοσοκομείο	Όλα τα περιβαλλοντικά δείγματα ήταν θετικά για Lpsg 6 -τα δείγματα από τους πύργους ψύξης	Τα θετικά περιβαλλοντικά δείγματα που συλλέχθηκαν σε όλη το δίκτυο παροχής για την Lpsg 6 ταυτίστηκε με τα περιστατικά των ασθενών	Οι δύο ασθενείς είχαν μείνει σε δωμάτια του νοσοκομείου	Περιγραφική (χωρίς συγκριτική ομάδα)	-	Παροχή ζεστού νερού και συγκεκριμένα οι δεξαμενές	Visca et al., 1999

3.2. Συχνότητα εμφάνισης και εστίες μόλυνσης

Όπως αναφέρθηκε και στην εισαγωγή η νόσος των Λεγεωναρίων προσβάλλει πολύ εύκολα ευπαθείς ομάδες, όπως ηλικιωμένους και παιδιά, αν και σε παιδιά έχουν αναφερθεί λίγες περιπτώσεις. Παρόλα αυτά το 70% των νεογνών που θα μολυνθούν καταλήγουν σε θάνατο. Στις νοσοκομειακές περιπτώσεις που εξετάστηκαν πιο συχνή ήταν η εμφάνιση της νόσου σε άτομα μέσης ηλικίας αλλά και ηλικιωμένους τα οποία το διάστημα που νόσησαν ήταν σε ανοσοκαταστολή. Κυρίως επρόκειτο για άτομα που έπασχαν από καρκίνο ή είχαν υποβληθεί προηγουμένως σε κάποια χειρουργική επέμβαση. Αρκετά ήταν τα περιστατικά που εκδηλώθηκαν σε μονάδες εντατικής θεραπείας ή σε μονάδες μεταμόσχευσης. Όσον αφορά την ηλικία τους κυρίως ήταν άνω των 50 ετών ή κοντά στα 50 έτη. Όπως φαίνεται και από τον πίνακα των αποτελεσμάτων αρκετά περιστατικά κατέληξαν στον θάνατο.

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφική ανασκόπηση η *Legionella pneumophila* οροτυπικής ομάδας 1 είναι η συνηθέστερη αιτία της νοσοκομειακής νόσου των Λεγεωναρίων. Σε παγκόσμιο επίπεδο αντιπροσωπεύει περίπου το 80 έως 90% των αναφερόμενων περιπτώσεων ενώ το 70% των ευρωπαϊκών περιπτώσεων σχετίζονται με ταξίδια. Σε αντίθεση, το *L. pneumophila* οροτυπικών ομάδων 2-14 αντιπροσωπεύει μόνο το 15 έως 20% των περιπτώσεων που αποκτήθηκαν από την παγκόσμια κοινότητα έως τώρα (Ditommasso et al. 2014).

Για τις αναπτυσσόμενες χώρες δεν υπάρχουν τόσα πολλά δεδομένα. Συνήθως σε αυτές τις χώρες τα κρούσματα είναι περισσότερα. Μόνο μια αξιοσημείωτη μελέτη διεξήχθη σε νοσοκομείο της Αιγύπτου. πραγματοποιήθηκε σε 100 και τα δείγματα αποτελούσαν νερό βρύσης. Η συγκεκριμένη μελέτη δεν εστίασε τόσο στην πηγή μόλυνσης ή στο ποσοστό εμφάνισης αλλά κυρίως πραγματοποιήθηκε προσπάθεια συσχέτισης κάποιων παραγόντων κινδύνου με την ασθένεια. Η μελέτη αυτή διαπίστωσε ότι οι ηλικιωμένοι, καπνιστές με CAP με υποκείμενο διαβήτη σακχαρώδη διαβήτη ή / και χρόνια αναπνευστική ανεπάρκεια με μη παραγωγικό βήχα και νευρολογικές διαταραχές ήταν

επιρρεπείς και εκδήλωσαν μόλυνση. Επίσης ασθενείς που νοσηλεύτηκαν για περισσότερο από 10 ημέρες με τραύμα εγκεφαλικό ήταν ύποπτοι για τη νόσο (Doaa A. et al., 2016).

Ωστόσο εκτός από τον ορότυπο 1 έχουν εντοπισθεί και άλλοι ορότυποι σε νοσοκομεία. Οι βασικοί ορότυποι που έχουν εντοπισθεί στις μελέτες που αναλύθηκαν είναι ο 2, ο 3, ο 5 και ο 6. Αν και έχουν απομονωθεί διαφορετικά είδη και ορολογικές ομάδες, *Legionella* από μεμονωμένες περιβαλλοντικές πηγές, οι λοιμώξεις πολλαπλών στελεχών αναφέρονται σπάνια. Μία πιθανή εξήγηση για αυτό είναι ότι μόνο μία αποικία ή μερικές αποικίες είναι υποτυπώματα από κλινικά δείγματα. Παρ' όλα αυτά, η πλειοψηφία των κλινικών περιπτώσεων είναι πιθανό να οφείλεται σε μεμονωμένα στελέχη. Εκτός από τον ορότυπο 1 έχουν σχετιστεί και άλλοι ορότυποι με εξάρσεις και μάλιστα σε κάποιες περιπτώσεις έχουν αποδοθεί σε αυτούς και θάνατοι. Σε μια μελέτη σε νοσοκομείο της Γερμανίας εμφανίστηκε και ο ορότυπος 12 στα δείγματα, τα οποία είχαν ληφθεί και από το περιβάλλον και από τον ασθενή. Στην συγκεκριμένη περίπτωση ήταν αποδεδειγμένο ότι το βακτήριο μεταφέρθηκε από την παροχή νερού στην ασθενή. Ωστόσο δεν μπόρεσαν να εξακριβώσουν με ποιον ακριβώς τρόπο έγινε η μετάδοση μιας και οι αναπνευστικοί σωλήνες γέμιζαν με αποστειρωμένο νερό (Luck et al., 1998).

Πρωταρχική εστία μόλυνσης αποτελεί το σύστημα παροχής νερού στα δωμάτια των ασθενών μιας και σε πολλές έρευνες το βακτήριο εντοπίστηκε και σε εκκρίματα του ασθενή αλλά και σε δείγμα νερού από την τουαλέτα του δωματίου του. Στις περισσότερες μελέτες το κρύο νερό είναι αυτό που οφείλεται για τη μετάδοση του βακτηρίου. Ωστόσο, υπάρχουν και οι περιπτώσεις που και το ζεστό νερό είναι μολυσμένο παρόλο που το βακτήριο δεν μπορεί να επιζήσει στις υψηλές θερμοκρασίες που επικρατούν. Σε μια μελέτη από τους Guiguet et al. η μόλυνση προήλθε από την παροχή ζεστού νερού (Guiguet et al. 1987) ενώ σε μια άλλη πιο πρόσφατη μελέτη από τους Mineshita M., et al., η κύρια πηγή μόλυνσης και διασποράς του βακτηρίου ήταν το μπάνιο 24-ωρών. Στη συγκεκριμένη μελέτη το σημαντικό εύρημα ήταν ότι μόνο αυτό οφειλόταν για την μόλυνση των ασθενών και καμία άλλη πηγή δεν οφειλόταν για την ασθένεια. Γενικά αυτή η διαπίστωση είναι σοβαρή για τους κάτοικους του Τόκυο και της Ιαπωνίας που χρησιμοποιούν αυτού του είδους το μπάνιο πολύ τακτικά (Mineshita

M., et al., 2016). Σε κάποιες μελέτες εστία μόλυνσης ήταν το πόσιμο νερό που τροφοδοτούσε το νοσοκομείο. Στην μελέτη των Bangsborg είχαν μολυνθεί από πόσιμο νερό κατά τη διάρκεια παραμονής τους σε μονάδα μεταμόσχευσης (Bangsborg et al., 1995).

Βασική εστία νοσοκομειακής μόλυνσης αποτελούν οι πύργοι ψύξης. Βέβαια πρέπει να υπάρχουν και συγκεκριμένες μετεωρολογικές συνθήκες αλλά και άμεση έκθεση του ασθενούς. Σημαντικό παράγοντα επικινδυνότητας φαίνεται να αποτελεί και η παλαιότητα αλλά και το μέγεθος της νοσοκομειακής εγκατάστασης. Όσο πιο παλιά και μεγάλα είναι κτίρια, όπως σε μια έρευνα των Schwake et al. σε δύο νοσοκομεία, τόσο πιο επιρρεπή τείνουν να είναι στον αποικισμό από τη *Legionella* και άλλα ευκαιριακά παθογόνα. Αυτό μπορεί να οφείλεται σε παράγοντες όπως η σπάνια ροή, ο μεγαλύτερος χρόνος παραμονής, οι υψηλότερες θερμοκρασίες, η δυσκολία διατήρησης επαρκώς υψηλών θερμοκρασιών, η σωστή απολύμανση και η αυξημένη επιφάνεια ανά περιοχή όγκου που επιτρέπει την αύξηση του βιοφιλμ. Στη συγκεκριμένη μελέτη βασική πηγή διάδοσης του βακτηρίου υπήρξε το διαβρωμένο σύστημα παροχής πόσιμου νερού από τον ποταμό της περιοχής (Schwake et al., 2016).

Βασικός λόγος μεταφοράς του βακτηρίου φαίνεται να αποτελούν οι εκσκαφές, οι οποίες έχουν συσχετισθεί αρκετές φορές με εξάρσεις της νόσου. Η εκσκαφή μπορεί να προκαλέσει αερόλυση της *Legionella* από το έδαφος και τελικά να μολύνει τους πύργους ψύξης, τα συστήματα εισαγωγής αέρα ή να οδηγήσει ενδεχομένως σε άμεση εισπνοή του παθογόνου από τους ασθενείς. Η *Legionella* που υπάρχει στο χώμα μπορεί επίσης να καταστρέψει τους σωλήνες νερού που έχουν ραγίσει ή ανοίξει και να εκτεθεί σε μια περιοχή εκσκαφής. Σε δύο κρούσματα νοσοκομειακής λεγεωνέλλωσης στο πανεπιστημιακό νοσοκομείο του Rhode Island, παρατηρήθηκαν ραγίσματα των υδραυλικών εγκαταστάσεων του νοσοκομείου από το υδραυλικό προσωπικό και σε μία από αυτές τις εστίες εντοπίστηκαν μεγάλες ποσότητες λάσπης εντός του δικτύου ύδρευσης (Mermel et al., 1995). Μια εξήγηση που δόθηκε ήταν ότι οι κραδασμοί που δημιουργήθηκαν κατά τη διάρκεια της κατασκευής ενδέχεται να είχαν χαλαρώσει τα ιζήματα των σωληνώσεων που είναι φορτωμένα με βαριά βιοσυστοιχία *Legionella*. Ωστόσο, ένα πιο πιθανό σενάριο είναι ότι η βαλβίδα σε ένα σωλήνα παροχής πόσιμου

νερού κοντά σε μια περιοχή εκσκαφής απενεργοποιήθηκε. Η συμπίεση του πόσιμου νερού κατά την ολοκλήρωση του έργου μπορεί να είχε οδηγήσει σε μαζική αφαλάτωση και αύξηση της συγκέντρωσης του βακτηρίου στο νερό το οποίο τροφοδότησε τη νοσοκομειακή μονάδα (Mermel et al., 1995).

Αν και δεν αποτελεί έκπληξη το γεγονός να είναι μολυσμένο το νερό του νιπτήρα έως τώρα έχουν αναφερθεί πολύ λίγες περιπτώσεις που η μετάδοση της νόσου γίνεται μέσω αυτής της οδού. Μάλιστα στο περιστατικό που εμφανίστηκε, μια γυναίκα 59 ετών που έπασχε από λεμφοβλαστική λευχαιμία, είχε ως αποτέλεσμα το θάνατο. Στην συγκεκριμένη περίπτωση εντοπίστηκε ο ορότυπος 5. Αν και η γυναίκα βρισκόταν σε κλειστό δωμάτιο με παροχή αέρα που συνεχώς φιλτράρονταν και δεν υπήρχε πύργος ψύξης ή συμπυκνωτής εξάτμισης στο άμεσο περιβάλλον, το κρεβάτι της ήταν δίπλα στο μπάνιο. Το αξιοπρόσεκτο σε αυτή την περίπτωση ήταν το γεγονός ότι το νοσοκομείο διατηρούσε τους κανόνες υγιεινής. Οι συνήθεις έλεγχοι υπερχλωρίωσης έδειξαν ότι η συγκέντρωση του χλωρίου ήταν πάντα υψηλότερη από τη συγκέντρωση στόχο των 3 mg/L. Επίσης η αναθέρμανση του ζεστού νερού στους 58°C και η μηνιαία βακτηριολογική ανάλυση του νερού δεν υπήρξαν επαρκή μέτρα για να αποτρέψουν τη μετάδοση της νόσου σε αυτή την περίπτωση. Κατά τη μελέτη εντοπίστηκαν και διάφοροι άλλοι παράγοντες που διευκόλυναν τη μόλυνση με *Legionella*. Σε αυτούς ανήκουν ότι:

- (1) η διανομή του ζεστού νερού της μονάδας δεν ήταν ισορροπημένη.
- (2) τμήματα των σωλήνων κρύου και ζεστού νερού βρίσκονταν σε κοντινή απόσταση χωρίς θερμική προστασία και
- (3) η θερμοστατική ανάμιξη του νιπτήρα περιείχε όγκους στάσιμου ύδατος όπου υπήρχε μεγάλη συγκέντρωση ασβεστίου (Brulet A., et al., 2008).

Σε μια άλλη μελέτη η μόλυνση αποδόθηκε σε ένα διακοσμητικό σιντριβάνι. Από αυτό μολύνθηκαν δύο ασθενείς, νεαροί σε ηλικία, οι οποίοι έπασχαν από λευχαιμία και βρισκόταν στη μονάδα μεταμόσχευσης μυελού των οστών. Οι ερευνητές πραγματοποίησαν προσπάθειες εξακρίβωσης του τρόπου εγκατάστασης και μετάδοσης

του βακτηρίου, αν και χρησιμοποιούταν μέθοδος απολύμανσης. Όταν η βρύση αρχικά εγκαταστάθηκε, η οσμή του χλωρίου ήταν τόσο δυσάρεστη και ήταν απαράδεκτη στους ασθενείς και το προσωπικό. Σε μια προσπάθεια μετριασμού της οσμής, η βρύση εκσυγχρονίστηκε με μια γεννήτρια όζοντος και ένα φίλτρο 1 μΜ και οι θεραπείες χλωρίου διακόπηκαν. Η αρχική μόλυνση πιθανότατα συνέβη λόγω της ανάμειξης του φιλτραρισμένου νερού με το μη φιλτραρισμένο δημόσιο νερό στην κάτω λεκάνη της βρύσης. Η στασιμότητα στον σωλήνα όταν η βρύση ήταν εκτός λειτουργίας πιθανώς προώθησε την ανάπτυξη βιοφίλμ. Όταν ξανάρχισε να λειτουργεί η βρύση, το νερό που είχε παραμείνει για 4 μήνες σε ένα σωλήνα ανακυκλοφόρησε μέσα από το σιντριβάνι και πιθανότητα οδήγησε στην ανάπτυξη του υψηλού μικροβιακού φορτίου (Palmore et al., 2009). Τέλος η μόλυνση ενός ηλικιωμένου ασθενούς προκλήθηκε και από μολυσμένη έξοδο νερού σε κύπελλο που είχε ως σκοπό να ξεπλένει το στόμα του ασθενούς σε μια οδοντιατρική μονάδα. Η συγκεκριμένη μελέτη ήταν από τις ελάχιστες που βρέθηκαν να σχετίζονται με μόλυνση μέσω της χρήσης νερού κατά την οδοντική θεραπεία. (Schonning et al. 2017)

Η εμφάνιση της νόσου των λεγεωναρίων σε βρέφη και παιδιά, ιδιαίτερα σε νοσοκομειακές περιπτώσεις, είναι ασυνήθιστη. Στα παιδιά ο σημαντικότερος παράγοντας κινδύνου αποτελεί το κατασταλαμένο ανοσοποιητικό σύστημα. Μια μελέτη από τον Johansson ανέφερε ένα περιστατικό όπου ο ασθενής, ένα κορίτσι 24 μηνών, υπέστη σοβαρή ανοσοκαταστολή λόγω αντικαρκινικής θεραπείας. Στην προκειμένη περίπτωση βασική εστία μόλυνσης υπήρξε το κρύο νερό, θερμοκρασίας 30-35°C. Η εστία εντοπίστηκε στον θάλαμο ογκολογίας και πιο συγκεκριμένα σε μεγάλους αριθμούς σε αρκετά δωμάτια στην αποβάθρα αλλά μόνο περιστασιακά και σε μικρές ποσότητες σε δείγματα νερού που λαμβάνονται από δύο παρακείμενους θαλάμους (Johansson H. et al., 2006).

Έχει αναφερθεί και η εμφάνιση της νόσου σε νεογέννητα. Αν και οι περιπτώσεις ήταν ελάχιστες, όλες όσες έχουν αναφερθεί ήταν νοσοκομειακές και οι ασθενείς είχαν σοβαρή πνευμονία που συνδέεται με υψηλό ποσοστό θνησιμότητας. Οι Wei et al., ανέφεραν 2 περιπτώσεις νεογνικής μόλυνσης που σχετίστηκε με μολυσμένο νερό που χρησιμοποιήθηκε στη μονάδα νεογνών ενός νοσοκομείου. Η πρώτη υπόθεση αφορούσε

ένα αρσενικό νεογνό που γεννήθηκε με καισαρική τομή στο μαιευτικό νοσοκομείο Α στην Ταϊβάν τον Απρίλιο του 2013, μετά από μια εγκυμοσύνη 38 εβδομάδων. Τράφηκε με βρεφική φόρμουλα στο βρεφονηπιακό σταθμό του νοσοκομείου. Η δεύτερη περίπτωση περιλάμβανε ένα ασυμπτωματικό αρσενικό νεογνό που γεννήθηκε με καισαρική τομή στο νοσοκομειακό Β το Νοέμβριο του 2013 μετά από μια αβίαστη εγκυμοσύνη 38 εβδομάδων. Και στις δύο περιπτώσεις η εξέταση των δειγμάτων νερού έδειξε ότι είχε μολυνθεί μόνο το κρύο νερό από τους διανομείς ζεστού και κρύου νερού των νοσοκομείων που χρησιμοποιήθηκαν για τη παρασκευή βρεφικής τροφής με *Legionella* ορότυπου 4 (Wei et al., 2013).

Οι Yiallouro et al ανέφεραν την πρώτη έξαρση σε εννιά νεογνά, τα τρία από τα οποία πέθαναν. Η μόλυνση οφειλόταν σε πρόσφατα εγκατεστημένο υγραντήρα ψυχρής ομίχλης σε ιδιωτική κλινική. Αν και είχε μολυνθεί και το προσωπικό κανένας από τους ενήλικες δεν εμφάνισε συμπτώματα. Το αξιοσημείωτο είναι ότι τέσσερα νεογνά είχαν ανεβασμένα αντισώματα μάλλον λόγω της μητέρας τους (Yiallouros et al. 2013). Και οι Franzin et al., ανέφεραν ένα επιβεβαιωμένο σύμπτωμα σε ένα νεογνό. Στην παρούσα περίπτωση η μόλυνση προκλήθηκε από το νερό της πισίνας που ήταν για τον τοκετό. Το νεογνό ήταν θετικό για τον ορότυπο 1 αν και δεν εμφάνισε πνευμονία παρά μόνο δύσπνοια και πυρετό (Franzin et al. 2004).

3.3. Τεχνικές ανάλυσης δειγμάτων

Κατά καιρούς έχουν χρησιμοποιηθεί αρκετές τεχνικές τόσο για τη δειγματοληψία όσο και για τον εντοπισμό του βακτηρίου. Επιπλέον, χρησιμοποιούνται και τεχνικές για την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων. Παρακάτω θα αναφερθούν οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενες τεχνικές με τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα που εμφανίζει η κάθε μια.

Όσον αφορά τη δειγματοληψία, σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις λήφθηκε νερό τόσο κρύο όσο και ζεστό. Σε κάποιες ήταν το παρεχόμενο νερό για την υδροδότηση συγκεκριμένων τμημάτων του νοσοκομείου ενώ σε άλλες ήταν νερό εκροής. Περιλάμβανε βρύσες, φίλτρα, νιπτήρες ακόμη και νερό πισίνας ή διακοσμητικού σιντριβανιού. Η δειγματοληψία σε όλες τις περιπτώσεις πραγματοποιήθηκε με αντιμικροβιακές τεχνικές ώστε να μην επιμολυνθούν τα δείγματα. Στα δείγματα επίσης συμπεριλήφθηκαν και ούρα ασθενών ή διηθήματα από τους πνεύμονες, ορός αλλά και πτύελος. Σε πολλές μελέτες μάλιστα η δειγματοληψία έγινε για διάφορες χρονικές περιόδους έτσι ώστε να καθοριστεί το χρονικό διάστημα που έγινε η μόλυνση και η εξάπλωση.

Σχετικά με τις εργαστηριακές τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν για τον εντοπισμό του μικροοργανισμού διαχωρίζονται σε γονιδιακές και ανοσολογικές. Ο βακτηριακός αποικισμός θεωρείται το πιο συγκεκριμένο μέσο, αλλά συνδέεται με μεγάλο χρονικό διάστημα (απαιτεί 10 ημέρες καλλιέργεια), χαμηλή ευαισθησία και τεχνικές δυσκολίες. Τα βακτήρια αναπτύσσονται σε συγκεκριμένο θρεπτικό μέσο και συγκεκριμένα σε πλάκες ρυθμιστικού εκχυλίσματος ζύμης με ξυλάνθρακα (BCYE, buffered charcoal yeast extract) για 48 ώρες σε CO₂ στους 37 ° C. Δεν είναι ακριβής επειδή οι αποικίες *Legionella* συχνά υπερτερούν στο μέσο ή παρεμποδίζονται από ανταγωνιστική μικροβιακή χλωρίδα που καλύπτει την παρουσία αποικιών λεγεωνέλλας, ιδιαίτερα στα δείγματα νερού που λαμβάνονται από μηχανικό εξοπλισμό που περιέχει θερμό νερό και είναι εκτεθειμένα στο περιβάλλον, όπως σιντριβάνια, πύργους ψύξης και σάουνες (Mermel et al., 1995).

Μια πολύ καλή και αξιόπιστη μέθοδος ανάλυσης είναι η PCR (Polymerase Chain Reaction). Πρωταρχικό βήμα είναι η απομόνωση του βακτηριακού DNA, χρησιμοποιώντας στανταρισμένα εργαστηριακά εργαλεία (kit απομόνωσης). Ακολουθεί η ποσοτικοποίηση της έκφρασης συγκεκριμένων γονιδίων με RT-PCR (reverse transcriptase polymerase chain reaction). Τα γονίδια που συνήθως ανιχνεύονται είναι το 16S rRNA νόσο (Doaa A. et al., 2016) και το 23S rRNA (Schwake et al., 2016). Έχει αναφερθεί και η χρήση του 5S rRNA, αν και είναι πιο σπάνιο να χρησιμοποιηθεί. Η PCR είναι μια τεχνική που χρειάζεται λίγες μόνο ώρες για να ολοκληρωθεί και μπορεί

να είναι μια χρήσιμη μέθοδος για τον έλεγχο των δειγμάτων πόσιμου νερού. Το μειονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι ότι δεν λειτουργεί καλά με τα δείγματα νερού που εκτίθενται στο περιβάλλον, επειδή οι βρωμιές προκαλούν υψηλό υπόβαθρο που καλύπτει την παρουσία *Legionella* στο δείγμα νερού. Σε αυτή την τεχνική ανήκουν και οι μέθοδοι SBT και AFLP που χρησιμοποιούνται από άλλα εργαστήρια. Με καλά αποτελέσματα έχει χρησιμοποιηθεί και η ανάλυση μακροπεριορισμού ή η AP-PCR (Visca et al., 1999). Εναλλακτικά μπορεί να γίνει και αλληλούχηση ολόκληρου του γονιδιώματος χρησιμοποιώντας συσκευές υψηλής ανάλυσης.

Επιπλέον, πολλοί ερευνητές προχώρησαν σε γονιδιακή ή αντιγονική αποτύπωση με σκοπό να συγκρίνουν τα αποτελέσματα των κλινικών και των περιβαλλοντικών δειγμάτων. Αυτή η κατηγορία περιλαμβάνει πέψη του βακτηριακού DNA με νουκλεάσες περιορισμού και συγκεκριμένα τις SfiI, AscI, και NotI. Οι πολυμορφισμοί πολλαπλού μεγέθους που προκύπτουν ελέγχονται με ηλεκτροφόρηση μέσω παλμών (PFGE, Pulsed field gel electrophoresis). Χρησιμοποιείται για τον διαχωρισμό μεγάλων μορίων DNA, εφαρμόζοντας τα σε μια μήτρα πηκτής όπου το ηλεκτρικό πεδίο αλλάζει περιοδικά με την κατεύθυνση. Στελέχη που δείχνουν περισσότερα από τρεις παραλλαγές των θραυσμάτων υποτίθεται ότι αντιπροσωπεύουν μείζονα πρότυπα PFGE, ενώ αν δείχνουν ένα έως τρία κομμάτια οι διαφορές θεωρείται ότι αντιπροσωπεύουν το PFGE υποτύπων μοτίβου (Triassi M. et al. 2006).

Εκτός από γονιδιακές μεθόδους χρησιμοποιούνται ευρύτατα και ανοσολογικές μέθοδοι που βασίζονται στον εντοπισμό είτε των αντισωμάτων είτε των αντιγόνων στα δείγματα. Η αρχική μέθοδος "χρυσού προτύπου" για τον ποσοτικό προσδιορισμό της *Legionella* τόσο σε πόσιμο νερό όσο και σε περιβαλλοντικά δείγματα είναι η μέθοδος άμεσου φθορισμού αντισώματος (DFA, direct fluorescent antibody) που αναπτύχθηκε από το CDC το 1978. Η μέθοδος DFA έχει γίνει πιο εξειδικευμένη και ευαίσθητη με τη χρήση μονοκλωνικού αντισώματος φθορισμού ειδικού για αρκετές ορολογικές ομάδες του *L. pneumophila* και πολλά άλλα είδη *Legionella* που προκαλούν τη νόσο των Λεγεωνάριων. Η μέθοδος DFA απαιτεί εμπειρογνωμοσύνη, την οποία δεν διαθέτουν πολλά εργαστήρια ελέγχου.

Οι ορολογικές μέθοδοι είναι εξαιρετικά ευαίσθητες, αλλά αυτά απαιτούν μεγάλη διάρκεια για τον εντοπισμό της ορομετατροπής σε ασθενείς. Χρησιμοποιείται ένα συζευγμένο με φλουορεσκεΐνη μονοκλωνικό αντίσωμα (Mab) το οποίο αναγνωρίζει μια πρωτεΐνη εξωτερικής μεμβράνης του *L. pneumophila* και είναι εμπορικά διαθέσιμο (Buchrieser, 2013). Αυτό το αντίσωμα ανιχνεύει όλες τις ορολογικές ομάδες του *L. pneumophila* και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για ταχεία αναγνώριση του *L. pneumophila* σε κλινικά δείγματα. Στις ανοσολογικές τεχνικές ανήκει η χρήση του ειδικού αντισώματος για τον ορότυπο 1. Για παράδειγμα οι Luck et al., χρησιμοποίησαν το αντίσωμα MAb), 22-1 (Luck et al., 1998). Υπάρχουν λίγες συστάσεις από τη βιβλιογραφία σχετικά με τον αριθμό αποικιών που πρέπει να επιλεγούν για υποτύπους. Συνιστάται να χρησιμοποιούνται δείγματα που ισούνται με την τετραγωνική ρίζα του αριθμού των αποικιών που καλλιεργούνται, ώστε να εντοπίζεται και η ύπαρξη πολλαπλών στελεχών.

Οι Bartley et al. στη μελέτη τους κατέληξαν και σε ένα φυλογενετικό δέντρο. Υπάρχουν κάποιες ενδείξεις για τη γεωγραφική μικροεπεξεργασία μεταξύ των απομονωμένων στελεχών LPSG1 που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την επιδημιολογική σύνδεση. Φυλογενετικά, τα προϊόντα απομόνωσης σχηματίζουν ένα μόνο, σαφώς καθορισμένο κλάδο που αποτελείται από 3 στενά συνδεδεμένα υποκλάδια, με τη συνολική απόκλιση μεταξύ των υποκλάδων I και II των 17-36 SNPs, I και III των 24-54 SNP, και II και III της 31-63 SNPs. Στην παρακάτω εικόνα δίνεται ένα δένδρο των ποικίλων SNPs που χρησιμοποιούνται για την ανάλυση των δειγμάτων. Με τα διαφορετικά χρώματα δίνονται οι χώρες καθώς και αν το δείγμα ήταν περιβαλλοντικό ή κλινικό. Περιλαμβάνονται περιβαλλοντικές απομονώσεις από και κλινικά στελέχη που συνδέονται με 27 διαφορετικά νοσοκομεία. (Bartley et al. 2015).

Κατά καιρούς έχουν χρησιμοποιηθεί και άλλες τεχνικές αλλά όχι με επιτυχία. Πολλοί σημαντικοί παράγοντες για τη ν εργαστηριακή διάγνωση αποτελούν η αναγνώριση των διαφορετικών ειδών και των αποικιών καθώς και η σωστή δειγματοληψία. Για παράδειγμα όταν πρόκειται για υδάτινα δείγματα καλό είναι να συλλέγεται περίπου ένα λίτρο νερό ώστε αν είναι απαραίτητο να συγκεντρωθεί.

.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΜΕΤΡΑ ΕΛΕΓΧΟΥ

4.1. Τεχνικές καθαρισμού

Έχουν προταθεί μέθοδοι τόσο φυσικής όσο και χημικής απολύμανσης με σκοπό τον έλεγχο της μόλυνσης του νερού με *Legionella*. Οι ποικίλες μέθοδοι μπορεί να είναι είτε τοπικές είτε να είναι συστηματικές ως προς την εφαρμογή τους. Στις εστιακές τεχνικές ανήκει η απολύμανση με υπεριώδες φως και στιγμιαία συστήματα θέρμανσης που είναι εύκολα στην εγκατάσταση και τη χρήση. Ωστόσο αυτές οι τεχνικές δεν είναι τόσο αποτελεσματικές όταν το σύστημα διανομής είναι ήδη επιβαρυνόμενο με βακτήρια. Στις συστηματικές τεχνικές περιλαμβάνονται όλες εκείνες που στοχεύουν ολόκληρο το σύστημα διανομής εισάγοντας βακτηριοστατικά και βακτηριοκτόνα. Σε αυτή την κατηγορία ανήκει και η θερμική εξάλειψη που γενικά χρησιμοποιείται από πολλούς νοσοκομειακούς φορείς. Μέχρι σήμερα, δεν έχουν ακόμη καθοριστεί οι αποτελεσματικότερες διαδικασίες για τη μείωση της βακτηριακής μόλυνσης. Κάθε μία συγκεντρώνει τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα της και η τελική επιλογή εξαρτάται από την περίπτωση.

Όπως προαναφέρθηκε η χρήση θερμότητας αποτελεί την πρώτη επιλογή για την εξάλειψη των βακτηρίων. Επιλέγεται κυρίως στις περιπτώσεις εξάρσεων όπου είναι επιτακτική η ανάγκη της άμεσης μείωσης του βακτηριακού φορτίου. Στις περισσότερες μελέτες που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία ήταν η πρώτη μέθοδος που επιλέχθηκε για τον έλεγχο της μόλυνσης. Γενικά είναι μια μέθοδος που δεν απαιτεί εξειδικευμένο προσωπικό και είναι χαμηλού κόστους. Το βασικό μειονέκτημα της μεθόδου είναι η προσωρινότητα της μιας και μετά από κάποιες ημέρες ή μήνες, τα βακτήρια θα ξανααποικίσουν τον σύστημα διανομής νερού (World Health Organization, 2017). Ωστόσο αρκετοί ερευνητές υποστηρίζουν ότι μπορεί να έχει και πιο μόνιμα αποτελέσματα, ειδικότερα αν δεν έχει εξαπλωθεί πολύ ο βακτηριακός αποικισμός.

Σε μια μελέτη από τους Triassi et al., χρησιμοποιήθηκε το θερμικού σοκ για επείγουσα απολύμανση των συστημάτων διανομής ζεστού νερού, σύμφωνα με τις οδηγίες της Αμερικανικής Εταιρείας Υδραυλικών Μηχανικών. Η θερμοκρασία του νερού διατηρήθηκε στους 80°C για 3 ώρες ώστε να ξεπλυθούν όλες οι έξοδοι, οι βρύσες και τα ντους. Κατά τη διάρκεια της περιόδου επεξεργασίας, η θερμοκρασία του νερού στα απομακρυσμένα σημεία έπρεπε να φτάσει στους 65°C, ώστε να εξασφαλιστεί η καταστροφή των βακτηρίων από όλα τα σημεία (Triassi M. et al. 2006). Και σε μια άλλη μελέτη ο σύστημα ύδρευσης του νοσοκομείου υπέστη υπερθερμία (θερμοκρασία μεγαλύτερη από 71°C για περισσότερο από 30 λεπτά), ωστόσο ήταν παροδική μιας και ήταν ακόμη δυνατή η απομόνωση του *L.pneumophila* με το ίδιο προφίλ αλληλουχίας μετά από 3 μήνες. Μπορεί να εφαρμοστεί και η στιγμιαία θέρμανση με το νερό να ξεπερνά τη θερμοκρασία των 88°C, όμως είναι μια αρκετά προσωρινή μέθοδος.

Μια εναλλακτική τεχνική είναι η ακτινοβολία του νερού με υπεριώδη ακτινοβολία (254nm). Ουσιαστικά αυτή η μέθοδος δρα καταστρέφοντας το DNA των βακτηρίων και παρεμποδίζοντας την αντιγραφή. Είναι μια πιο εντοπισμένη τεχνική και χρησιμοποιείται κυρίως στις περιπτώσεις που η εστία είναι εντοπισμένη σε ένα σημείο της μονάδας, όπως για παράδειγμα σε μια μονάδα εντατικής θεραπείας. Η αποτελεσματικότητα της έχει αποδειχθεί τόσο σε *in vivo* όσο και σε *in vitro* τεστ. Στα πλεονεκτήματα της μεθόδου ανήκει η εύκολη εγκατάσταση και η απουσία παρενεργειών. Συνήθως συνδυάζεται και με κάποια άλλη μέθοδο ώστε να είναι αποτελεσματική. Βασικό μειονέκτημα αποτελεί το γεγονός ότι δεν μπορεί να εφαρμοστεί σε μεγάλες αποστάσεις και απαιτεί τη συχνή εφαρμογή. Επιπλέον, κοστίζει περισσότερο από τη θερμική επεξεργασία. Έχει υπολογιστεί ότι περίπου κοστίζει \$50000 για ένα νοσοκομείο με 500 κλίνες. Οι Triassi et al., εκτός από το θερμικό σοκ χρησιμοποίησαν και την υπεριώδη ακτινοβολία ως μέθοδο απολύμανσης. Για απολύμανση με υπεριώδη ακτινοβολία χρησιμοποιήθηκαν, δύο ανεξάρτητες συσκευές UV σε μια βαλβίδα παράκαμψης στην αρχή του ζεστού νερού της μονάδας εντατικής θεραπείας των ενηλίκων και των παιδιών (Triassi M. et al. 2006).

Για ασθενέστερη απολύμανση του νερού μπορεί να χρησιμοποιηθεί πριν την εφαρμογή της υπεριώδους ακτινοβολίας και κατεργασίας με υπεροξειδίο του υδρογόνου σε

αναλογία 50%. Η τεχνική εφαρμόζεται για 6-8 ώρες πριν από την έναρξη της υπερϊόδους ακτινοβολίας. Η επεξεργασία με υπεροξείδιο του υδρογόνου στην μελέτη των Triassi M. et al. επαναλήφθηκε ανά εξάμηνο (Triassi M. et al. 2006).

Επιπρόσθετα οι ίδιοι ερευνητές προχώρησαν και σε καθαρισμό και αντικατάσταση των φίλτρων όπως και σε αφαίρεση των ντους και των βρύσεων που χρησιμοποιούνταν σπάνια. Κατάληξαν στο συμπέρασμα ότι η θερμική επεξεργασία είχε μόνο παροδικά αποτελέσματα μιας και μετά από ένα μήνα ξαναεντοπίστηκε το βακτήριο. Στην περίπτωση τους αποδείχθηκε πιο αποτελεσματική η κατεργασία με υπερϊόδη ακτινοβολία. Για τον έλεγχο της μόλυνσης των CSU των ενηλίκων και των ασθενών της παιδιατρικής μονάδας. Ο έλεγχος ήταν άμεσος ακόμη και στην περίπτωση του νερού που είχε υψηλά επίπεδα βακτηρίων. Ωστόσο, η ακτινοβολία και η πρόδρομη απολύμανση με υπεροξείδιο του υδρογόνου ήταν μόνο εν μέρει αποτελεσματική στην μονάδα εντατικής θεραπείας των ενηλίκων, όπου η ορολογική ομάδα 3 εξακολουθούσε να υπάρχει σε μία μόνο τοποθεσία. Αυτό μπορεί να οφείλεται σε διαφορές στις σωληνώσεις, όπως το σύστημα διανομής προμηθεύει περισσότερα από 18 δωμάτια στην πτέρυγα των ενηλίκων, ενώ μόνο τρία στην παιδιατρική. Παρ' όλα αυτά, η ακτινοβολία UV και η επεξεργασία με υπεροξείδιο του υδρογόνου ήταν αποτελεσματική στην εκρίζωση της οροομάδας του *L. pneumophila*1/Κλώνος Philadelphia του PFGE που εντοπίστηκε στο νερό των δύο θαλάμων. (Triassi M. et al. 2006). Σημαντική για την παρεμπόδιση του σχηματισμού των ιζημάτων και των βιολογικών ταινιών μπορεί να είναι και η χρήση συγκεκριμένων σωλήνων που αντέχουν τις υψηλές πιέσεις νερού και έτσι μπορεί να γίνει καλύτερη διείσδυση και της ακτινοβολίας.

Μια αποδεκτή μέθοδος είναι ο συνδυασμός μηχανικού καθαρισμού και χημικής απολύμανσης. Η χημική απολύμανση συνίσταται σε χλωρίωση σε επίπεδο 5 mg/l υπολειμματικού χλωρίου. Το χλώριο είναι μια αποδεκτή μέθοδος για τον έλεγχο της βακτηριακής ανάπτυξης σε πύργους ψύξης. Ωστόσο, υπάρχουν πολλά μειονεκτήματα. Σε αυτά περιλαμβάνονται οι δυσκολίες στη διατήρηση της αποτελεσματικότητας της απολύμανσης και ιδιαίτερα σε υψηλές θερμοκρασίες και pH. Επιπλέον το χλώριο είναι διαβρωτικό οπότε με τη συνεχή και παρατεταμένη χρήση μπορεί να προκαλέσει διαβρώσεις και ρήγματα στις σωληνώσεις. Από τα μεγαλύτερα πλεονεκτήματα είναι ότι

προσφέρει καθαρισμό ακόμη και σε περιοχές που εντοπίζονται σε μεγάλες αποστάσεις από το πεδίο εφαρμογής. Ωστόσο είναι αξιοσημείωτο ότι απλά καταστέλλει το βακτήριο και δεν το καταστρέφει ολοσχερώς. Έτσι όπως και με άλλα χημικά έχουν δημιουργηθεί ανθεκτικά στελέχη. Ένα ακόμη μειονέκτημα αποτελεί το γεγονός ότι όταν το χλώριο είναι σε νερό συνδυάζεται με οργανικά υλικά που προέρχονται από τους λούμενους, όπως ούρα, για να σχηματίσουν χλωραμίνες. Αυτά λειτουργούν πολύ πιο αργά από ό, τι το ελεύθερο χλώριο και προκαλούν επίσης οσμές (Vidic et al., 1998).

Σε μια μελέτη από τους Engelhart et al. αποδείχθηκε ότι μονό η χλωρίωση δεν επαρκής. Από μόνη της δεν είχε διαρκή επίδραση στη μείωση των συγκεντρώσεων *Legionella* στο νερό του πύργου ψύξης. Στην περίπτωση τους αποφάσισαν να λάβουν ένα άλλο μέτρο και να αντικαταστήσουν τον άμεσο πύργο ψύξης με ένα έμμεσο πύργο ψύξης. Το έμμεσο σύστημα είναι κλειστό οπότε δεν έρχεται σε επαφή με τον αέρα και δεν μπορεί να μολυνθεί τόσο εύκολα με αεροζόλ των βακτηρίων (Engelhart et al. 2008).

Οι Bartley et al., σε μια μελέτη που πραγματοποίησαν σε νοσοκομείο της Αυστραλίας πραγματοποίησαν απολύμανση του συστήματος διανομής του νερού του νοσοκομείου με χλωρίωση. Το σύστημα ξεπλύθηκε αρχικά με χλωριωμένο αλκαλικό απορρυπαντικό (pH = 10,0) για να διαλύσει το βιοφίλμ των σωληνώσεων, στη συνέχεια ξεπλύθηκε και υπερχλωρίστηκε με ένα υπόλοιπο 10 mg/L ελεύθερου χλωρίου. Απαιτούνται τρεις κύκλοι για να επιτευχθεί μακροσκοπικώς καθαρό νερό σε όλες τις εξόδους χωρίς μικροβιακή μόλυνση. Ένα σύστημα χλωριωτή εν σειρά εγκαταστάθηκε στο δίκτυο ύδρευσης στην ανατολική πτέρυγα και τα ελεύθερα επίπεδα χλωρίου στο νερό διατηρήθηκαν κατάλληλα στα 1-4 mg/L στο σημείο χρήσης. Τα δείγματα νερού συλλέχθηκαν από την αρχή, το μεσαίο και το τέλος κάθε κυκλώματος υδραυλικών εγκαταστάσεων σε κάθε πτέρυγα σε καθημερινή βάση για τις πρώτες 7 ημέρες μετά τη διαδικασία απολύμανσης για καλλιέργεια LPSG1. Τα φτερά ξανάνοιξαν μετά από 2 συνεχείς ημέρες αρνητικών υδατικών καλλιεργειών για LPSG1. Οποιοσδήποτε εκροές νερού που σχετίζονται με θετικές καλλιέργειες LPSG1 είχαν τα συσχετισμένα κυκλώματα υδραυλικών εγκαταστάσεων τους και, εάν ήταν απαραίτητο, επαναλαμβανόταν η διαδικασία απολύμανσης. Οι σωλήνες που τελειώνουν τυφλά,

"νεκρά πόδια", αναζητήθηκαν ενεργά και απομακρύνθηκαν. Τα αποτελέσματα ήταν ικανοποιητικά στην απομάκρυνση του βιοφίλμ (Bartley et al.2015).

Εκτός από τα χημικά απορρυπαντικά πολλοί προτείνουν ως αποτελεσματική μέθοδο τον ιονισμό με εφαρμογή χαλκού-αργύρου (χωρίς απομάκρυνση βιοφίλμ). Η συγκεκριμένη μέθοδος χρησιμοποιεί αντιβακτηριακά μεταλλικά ιόντα που στρεσάρουν το βακτηριακό κύτταρο και τελικά το οδηγούν σε λύση. Η μέθοδος είναι αρκετά αποτελεσματική στην εξολόθρευση του βακτηρίου και οι συγκεντρώσεις των μεταλλικών ιόντων που χρησιμοποιούνται είναι αρκετά χαμηλές σε σχέση με αυτές που μπορεί να μολύνουν το νερό. Γενικά είναι χαμηλού κόστους και δεν χρειάζεται συχνή συντήρηση. Στα βασικά μειονεκτήματα ανήκουν ο συχνός καθαρισμός των ηλεκτροδίων του ιονιστή, ώστε να λειτουργεί στο μέγιστο, και ο χρωματισμός του νερού με ένα μαύρο χρώμα. (World Health Organization, 2017) Από τις μελέτες που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα βιβλιογραφική ανασκόπηση όπου χρησιμοποιήθηκε ήταν αναποτελεσματικός.

Παρόμοια με την χλωρίωση είναι και η χρήση όζοντος, αν και δεν χρησιμοποιείται τόσο τακτικά και δεν είναι και τόσο καλά μελετημένη ακόμη. Μια συγκέντρωση όζοντος 1 έως 2 mg/L είναι επαρκής ώστε να ελέγξει την ανάπτυξη της *Legionella*, σύμφωνα με ένα πειραματικό μοντέλο σε ποικίλες συνθήκες θερμοκρασίας και θολερότητας. Μπορεί να παρασχεθεί ως αέριο απευθείας είτε ως διαλυμένο σε κάποιο μέσο και δεν επηρεάζεται η δραστηριότητα του από τις μεταβαλλόμενες θερμοκρασίες και pH.. Ωστόσο, σε μια πραγματική εγκατάσταση υδραυλικών εγκαταστάσεων ή σιντριβανιών, είναι δύσκολο να διατηρηθεί αυτό το επίπεδο όζοντος που παραμένει σε όλο το σύστημα λόγω της συνεχούς αποσύνθεσης του όζοντος. Επιπλέον, σε ένα πρότυπο σύστημα, το όζον δεν θα επηρέαζε τον πληθυσμό του *L. pneumophila* μέσα σε ένα βιοφίλμ (Palmore et al., 2009).

4.2. Άλλα μέτρα ελέγχου

Εκτός από τις μεθόδους που αναφέρθηκαν στην προηγούμενη παράγραφο της εργασίας και αποτελούν τις καθολικά αποδεκτές μεθόδους διαχείρισης της νόσου των Λεγεωναρίων υπάρχουν και άλλα μέτρα και οδηγίες που θα πρέπει να ληφθούν υπόψη ώστε να είναι πιο αποτελεσματική και μόνιμη η εξάλειψή. Ουσιαστικά πρέπει να υπάρχουν επιχειρησιακές διαδικασίες παρακολούθησης για να διασφαλιστεί ότι τα μέτρα ελέγχου παραμένουν λειτουργικά κάθε φορά που χρησιμοποιούνται οι συσκευές αλλά και μηχανισμοί παρακολούθησης και ελέγχου του σχεδίου διαχείρισης κινδύνου. Εν τω μεταξύ, πρέπει να ληφθεί υπόψη η υπερχλωρίωση του στάσιμου πόσιμου νερού που τροφοδοτεί ένα νοσοκομείο, πριν από την επαναπόσβεση. Ο συνεχής αποχρωματισμός του πόσιμου νερού θα πρέπει να αναφέρεται στο προσωπικό συντήρησης και στο τμήμα ελέγχου των λοιμώξεων (Mermel et al., 1995)

Γνώση σχετικά με τις τεχνικές εγκαταστάσεις στο σύστημα διανομής νερού του νοσοκομείου είναι ουσιαστικής σημασίας προκειμένου να εντοπιστούν οι λόγοι για τους οποίους είναι παρών το βακτήριο. Είναι καλό οι αρμόδιοι να γνωρίζουν τον τρόπο και τα υλικά κατασκευής του συστήματος παροχής νερού. Σημαντικό μέτρο είναι η αντικατάσταση των λαβών των ντουζ και των θερμοστατικών βαλβίδων ανάμειξης υγρού και ζεστού νερού ανά τακτά χρονικά διαστήματα ειδικότερα αυτά που βρίσκονται σε μονάδες εντατικής θεραπείας και χειρουργεία (Johansson H. et al., 2006).

Σχετικά με τους πύργους λειτουργικής ψύξης σε εγκαταστάσεις υγειονομικής περίθαλψης, ο CDC και ο ASHRAE συνιστούν την εγκατάσταση συστημάτων εξάλειψης παραπροϊόντων, την αποτελεσματική χρήση βιοκτόνων σε τακτική βάση, τη διατήρηση και συντήρηση των πύργων ψύξης σύμφωνα με τις συστάσεις των κατασκευαστών αλλά και την απολύμανση του ψυγείου. Επίσης, συνιστούν να διατηρούνται αρχεία ελέγχου, συμπεριλαμβανομένου του περιβαλλοντικού ελέγχου (ASHRAE, 2000; Schulster and Chinn, 2003).

Ακόμη πολύ αυστηρά θα πρέπει να είναι και τα μέτρα ελέγχου της μόλυνσης σε χειρουργικές μονάδες εντατικής θεραπείας. Οι αρμόδιοι είναι υποχρεωμένοι να διατηρούν τις πηγές νερού καθαρές για να αποφευχθεί οποιαδήποτε μόλυνση με

Legionella. Πιο σοβαρή είναι η κατάσταση για τα νοσοκομεία που αποικίζονται από πιο μολυσματικά στελέχη, εκτός από τον συνηθισμένο ορότυπο 1. Σε αυτές τις περιπτώσεις πρέπει να συνιστάται η αύξηση των προσπαθειών παρακολούθησης των περιπτώσεων και η εφαρμογή αποτελεσματικότερων στρατηγικών καταπολέμησης της μόλυνσης. Πολλές από τις κατευθυντήριες γραμμές και τις επίσημες συστάσεις για την πρόληψη της μετάδοσης της νόσου των Λεγεωνάριων συνιστούν τα στοιχεία δράσης που βασίζονται αποκλειστικά σε ορισμένες συγκεντρώσεις των βακτηρίων ή στον αριθμό των τόπων που είναι θετικά για τα βακτήρια (Ditommasso et al., 2014)

Από τις αρμόδιες αρχές προτείνεται η συγκρότηση ομάδας ελέγχου ώστε μόλις ξεσπάσει η νόσος να καθορίσει τα όρια αναφοράς για την διερεύνηση της επιδημίας καθώς και τα εκτελεστικά ή νομοθετικά μέσα αλλά και να αποφασίσει σε ένα σχέδιο άμεσης δράσης και διασφάλισης της εξάλειψης της πηγής. Επιπλέον είναι πολύ σημαντικό να αναπτυχτεί ένα σχέδιο ασφάλειας του νερού. Τα βήματα που εμπλέκονται στην ανάπτυξη ενός τέτοιου σχεδίου είναι:

- αξιολόγηση του συστήματος - προσδιορισμός του κατά πόσο η ποιότητα του νερού στο σημείο (τα σημεία) της πιθανής έκθεσης ή χρήσης ανταποκρίνεται στον στόχο που βασίζεται στην υγεία, με βάση εκτίμηση κινδύνου για πληθυσμό που ενδέχεται να εκτεθεί
- παρακολούθηση - προσδιορισμός και παρακολούθηση των μέτρων ελέγχου που χρησιμοποιήθηκαν ώστε να εξασφαλιστεί η ασφάλεια των υδάτων (π.χ. επίπεδα βιοκτόνων, θερμοκρασία, pH)
- διαχείριση και επικοινωνία - για να τεκμηριωθεί η αξιολόγηση του συστήματος, η παρακολούθηση και η περιγραφή των δράσεων που πρέπει να λαμβάνονται κατά τη διάρκεια της κανονικής λειτουργίας και μετά από περιστατικά, συμπεριλαμβανομένης της τεκμηρίωσης και της επικοινωνίας (World Health Organization, 2017).

Σύμφωνα με τις τρέχουσες συστάσεις για την πρόληψη των σχετικών με την υγειονομική περίθαλψη πνευμονιών, "σε εγκαταστάσεις με αιμοποιητικές βλαστικές κυψελίδες και / ή προγράμματα μεταμόσχευσης στερεών οργάνων, η περιοδική

καλλιέργεια για *Legionella* σε δείγματα νερού από τη μονάδα (-ες) μεταμόσχευσης μπορεί να εκτελεστεί ως μέρος μιας συνολικής στρατηγικής για την αποτροπή της νόσου σε παραλήπτες μεταμόσχευσης. Υπό το πρίσμα αυτό θα πρέπει να συμπεριληφθούν και τα νέα νεογνά την ομάδα υψηλού κινδύνου για τη νόσο και να εκτελούνται στρατηγικοί έλεγχοι για την αποτροπή της μόλυνσης. Σύμφωνα με τους Yiallouro et al θα πρέπει από τις μονάδες νεογνών να αποφεύγεται και η χρήση αφυγραντήρων που δημιουργούν αερολύματα (Yiallouro et al. 2013)

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η νόσος των Λεγεωναρίων αποτελεί μια πολύ συχνά εμφανιζόμενη νόσο. Μπορεί να εμφανιστεί σε κτίρια και χώρους με άφθονη παροχή νερού για αυτό και είναι πολύ κοινή και στα νοσοκομεία. Τα νοσοκομειακά κρούσματα της νόσου του Λεγεωνάριου έχουν συνδεθεί με τη μόλυνση των νοσοκομειακών υδάτων σε πολλές εκθέσεις. Οι ηλικιωμένοι και οι ανοσοκατεσταλμένοι ασθενείς είναι ιδιαίτερα ευάλωτοι στη νόσο και, όταν έχουν μολυνθεί, έχουν υψηλό ποσοστό θνησιμότητας. Η παρουσία της έχει συσχετιστεί θετικά με ασθενείς που είχαν υποβληθεί σε μεταμόσχευση ή ήταν στο νοσοκομείο μετά από χημειοθεραπεία. Επίσης καπνιστές και άτομα με προβλήματα στο αναπνευστικό, στα νεφρά ή διαβητικοί έχουν περισσότερες πιθανότητες να νοσήσουν αν είναι παρών το βακτήριο. Ο βασικότερος ορότυπος είναι ο 1 ενώ κατά καιρούς έχουν αναφερθεί και οι υπόλοιποι ορότυποι όχι όμως με τέτοια συχνότητα επικοινωνίας (World Health Organization, 2017).

Σε κάποιες περιπτώσεις αναφέρθηκαν και κρούσματα σε νεογνά τα οποία ήρθαν σε επαφή με νερό μολυσμένο αμέσως μετά τη γέννηση τους είτε μέσω της τροφής είτε μέσω του μπίλιου. Η αναγνώριση αυτών των λιγότερο σοβαρών λοιμώξεων φέρνει το ποσοστό θνησιμότητας της νεογνικής νόσου των Λεγεωναρίων στο 50% των ασθενών με πνευμονικά διηθήματα και 33,3% σε όλους τους μολυνθέντες. Η ορολογική ομάδα *L. pneumophila* 1 είναι η κυρίαρχη ορολογική ομάδα που εμπλέκεται στη νεογνική λεγιονέλλωση, με τις οροομάδες 3, 6 και 8 να ανιχνεύονται λιγότερο συχνά. Για τον εντοπισμό και τον χαρακτηρισμό του βακτηρίου έχουν αναπτυχθεί πολλές τεχνικές με επικρατέστερες να είναι οι ανοσολογικές (Wei et al., 2013; Johansson H. et al., 2006).

Όσον αφορά την πηγή και τον τρόπο με τον οποίο μπορεί να μεταδοθεί η νόσος, η μόλυνση μεταδίδεται μέσω μολυσμένου αερολύματος ή, λιγότερο συχνά, μέσω αναρρόφησης μολυσμένου νερού. Από τις μελέτες αρκετά συχνή φαίνεται να είναι η μόλυνση από τη βρύση και από το μπίλιο. Τα μολυσμένα φίλτρα αποτελούν βασική εστία μόλυνσης. Υπάρχουν και οι περιπτώσεις βέβαια που η μόλυνση προκαλείται λόγω

της κατανάλωσης πόσιμου νερού. Σε όλες τις περιπτώσεις η εστία της μόλυνσης ήταν κοντά στο δωμάτιο του ασθενούς. Δεύτερη βασική εστία μόλυνσης στην οποία έχουν αποδοθεί αρκετά κρούσματα αποτελεί το σύστημα ψύξης και ειδικότερα οι πύργοι ψύξης. Επειδή το βακτήριο δεν ανέχεται τις υψηλές θερμοκρασίες είναι εύκολο να αποικίσει σε συστήματα ψύξης και τελικά να εξαπλωθεί μέσω αυτών (Schwake et al., 2016; Mineshita M., et al., 2016)..

Από τις μελέτες φαίνεται να υπάρχουν και άλλες πηγές μόλυνσης με το βακτήριο ωστόσο τα περιστατικά που έχουν αναφερθεί από αυτά είναι πολύ λιγότερα. Επιπρόσθετα, υπάρχουν και κάποιοι παράγοντες που φαίνεται να σχετίζονται με την αποίκιση του βακτηρίου και τον πολλαπλασιασμό του. Αυτοί αφορούν κυρίως κατασκευαστικά θέματα. Για παράδειγμα πάλαια και μεγάλα κτήρια καθώς και παλαιές υδραυλικές εγκαταστάσεις αποτελούν ευνοϊκές για την ανάπτυξη του βακτηρίου παραμέτρους. Και η ανάμιξη ζεστού και κρύου νερού μπορεί να αποτελέσει ένα δυνητικό παράγοντα επικινδυνότητας.

Η μόλυνση των παροχών ύδατος από το *L. pneumophila* παραμένει χρόνια και ενοχλητική. Αυτό καθιστά επιτακτική την ανάγκη της συνεχούς επεξεργασίας και παρακολούθησης του νερού. Έχουν χρησιμοποιηθεί πολλές και διαφορετικές τεχνικές καθαρισμού των μολυσμένων υδάτων και των τοποθεσιών. Η πιο άμεση τεχνική για τον περιορισμό της εξάπλωσης του παθογόνου βακτηρίου είναι το θερμικό σοκ χωρίς όμως να έχει και μόνιμα αποτελέσματα. Αρκετά χρήσιμη είναι η χλωρίωση, η οποία άπλα καταστέλλει τα βακτήρια. Μέχρι σήμερα είναι η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδος μαζί με τη χρήση βιοκτόνων. Η χρήση των βιοκτόνων ωστόσο ενέχει και σημαντικούς κινδύνους. Σε όλα τα βιοκτόνα έχουν αναφέρει αστοχίες και έχουν δημιουργήσει συγκεκριμένα ανθεκτικά στελέχη LPSG1, πιθανώς εξαιτίας, εν μέρει, της ανεπαρκούς αφαίρεσης βιοφίλμ με αυτές τις μεθόδους (Triassi M. et al. 2006).

Αρκετές αναφορές έχουν δείξει ότι η υπερϊώδης ακτινοβολία είναι μια εναλλακτική μέθοδος για την απολύμανση των συστημάτων ύδρευσης, και είναι περισσότερο αποτελεσματική από τη χλωρίωση, τη θέρμανση ή άλλες μεθόδους ιονισμού. Προσφέρει

πιο μόνιμα αποτελέσματα και περιορίζει δραματικά την εξάπλωση του βακτηρίου. Αν και λιγότερο οικονομική από τις υπόλοιπες μεθόδους φαίνεται να είναι το καλύτερο μέτρο για την πρόληψη και αντιμετώπιση. Υπάρχουν βέβαια και άλλα μέτρα που πρέπει να λαμβάνονται όπως ο σωστός σχεδιασμός, η ενημέρωση του προσωπικού και η δημιουργία ενός πλάνου δράσης σε περίπτωση έξαρσης (Triassi M. et al. 2006).

Παρόλα αυτά υπάρχουν και οι περιπτώσεις που ακόμη και αν είχαν ληφθεί τα μέτρα, όπως για παράδειγμα σωστή και συνεχής απολύμανση, ο έλεγχος της μόλυνσης να είναι ανέφικτος. Ορισμένα μειονεκτήματα δεν μπορούν να ελεγχθούν εύκολα, όπως ο τύπος του υλικού σωλήνων που χρησιμοποιείται στα υδραυλική εγκατάσταση ή αν υπάρχουν ελαττώματα στο σχεδιασμό της παροχής νερού στο κτίριο ή αν γίνονται διάφορες εργασίες στα κτίρια που ευνοούν την μετάδοση του βακτηρίου. Καλό θα ήταν πάντως σε όλες τις περιπτώσεις το νοσοκομείο να ελέγχεται για την ύπαρξη του βακτηρίου ακόμη και αν δεν έχουν εκδηλωθεί συμπτώματα.

Γενικά είναι πολλά ακόμη τα θέματα που θα πρέπει να καλυφθούν γύρω από τη νόσο των Λεγεωνάριων. Η καλύτερη κατανόηση του κινδύνου για τη νόσο των Λεγεωνάριων θα μας επέτρεπε να στοχεύσουμε καλύτερα προληπτικά μέτρα και να βελτιώσουμε την ευαισθητοποίηση του κλινικού ιατρού. Οι χώρες με μη ρεαλιστικά χαμηλά ποσοστά κοινοποίησης ενδέχεται να χρειαστούν υποστήριξη για τον εντοπισμό και την αντιμετώπιση των τοπικών αιτιών που έχουν υποστεί διαπίστωση, αλλά και για τη βελτίωση της πρόληψης και του ελέγχου της νόσου. Η στενή συνεργασία μεταξύ της δημόσιας υγείας, των κλινικών και των μικροβιολόγων είναι υψίστης σημασίας για την περαιτέρω βελτίωση της επιτήρησης και κατά συνέπεια της πρόληψης της νόσου των Λεγεωνάριων και της υψηλής νοσηρότητας και θνησιμότητάς της.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξένη βιβλιογραφία

1. Bartley, P. B., Ben Zakour, N. L., Stanton-Cook, M., Muguli, R., Prado, L., Garnys, V., Paterson, D. L. (2015). Hospital-wide eradication of a nosocomial *Legionella pneumophila* serogroup 1 outbreak. *Clinical Infectious Diseases*, 62(3), 273-279.
2. Brûlet, A., Nicolle, M. C., Giard, M., Nicolini, F. E., Michallet, M., Jarraud, S., Vanhems, P. (2008). Fatal nosocomial *Legionella pneumophila* infection due to exposure to contaminated water from a washbasin in a hematology unit. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 29(11), 1091-1093.
3. Buchrieser, 2013, *Legionelle Methods and Protocols*, Human Press. USA.
4. Campins M., Ferrer A., Calins L., (2000) Nosocomial Legionnaires disease in a childrens hospital, *PPediatric Infectious Disease Journal* , 19:3, 228-234.
5. David, S., Afshar, B., Mentasti, M., Ginevra, C., Podglajen, I., Harris, S. R., Parkhill, J. (2017). Seeding and Establishment of *Legionella pneumophila* in Hospitals: Implications for Genomic Investigations of Nosocomial Legionnaires' Disease. *Clinical Infectious Diseases*, 64(9), 1251-1259.
6. Ditommaso, S., Giacomuzzi, M., Rivera, S. R. A., Raso, R., Ferrero, P., & Zotti, C. M. (2014). Virulence of *Legionella pneumophila* strains isolated from hospital water system and healthcare-associated Legionnaires' disease in Northern Italy between 2004 and 2009. *BMC infectious diseases*, 14(1), 483.
7. Doaa, A.-A., Fatma, A., Ramadan, N., Raghda H. (2016). Prevalence of *Legionella* among pneumonia patients and environmental water samples in an Egyptian University Hospital. *The International Arabic Journal of Antimicrobial Agents*, 6(2).
8. Engelhart, S., Pleischl, S., Lück, C., Marklein, G., Fischnaller, E., Martin, S., Exner, M. (2008). Hospital-acquired legionellosis originating from a cooling tower during a period of thermal inversion. *International journal of hygiene and environmental health*, 211(3), 235-240.
9. Franzin, L., Cabodi, D., Scolfaro, C., & Gioannini, P. (2004). Microbiological investigations on a nosocomial case of *Legionella pneumophila* pneumonia associated with water birth and review of neonatal cases. *Le infezioni in medicina: rivista periodica di eziologia, epidemiologia, diagnostica, clinica e terapia delle patologie infettive*, 12(1), 69-75.
10. Graman, P. S., Quinlan, G. A., & Rank, J. A. (1997). Nosocomial legionellosis traced to a contaminated ice machine. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 18(9), 637-640.
11. Green, M., Wald, E. R., Dashefsky, B., Barbadora, K., & Wadowsky, R. M. (1996). Field inversion gel electrophoretic analysis of *Legionella pneumophila* strains

- associated with nosocomial legionellosis in children. *Journal of clinical microbiology*, 34(1), 175-176.
12. Greenberg D., Chiou C., Famiglietti R., Lee T., Yu V. Problem pathogens: paediatric legionellosis-implications for improved diagnosis, (2006), *Lancet Infectious Diseases* , 6:8, 529-535.
 13. Guiguet, M., Pierre, J., Brun, P., Berthelot, G., Gottot, S., Gibert, C., & Valleron, A. J. (1987). Epidemiological survey of a major outbreak of nosocomial legionellosis. *International journal of epidemiology*, 16(3), 466-471.
 14. Johansson, H. P., Andersson, K., Wiebe, T., Schalén, C., & Bernander, S. (2006). Nosocomial transmission of *Legionella pneumophila* to a child from a hospital's cold-water supply. *Scandinavian journal of infectious diseases*, 38(11-12), 1023-1027.
 15. Lück, P. C., Wenchel, H. M., & Helbig, J. H. (1998). Nosocomial pneumonia caused by three genetically different strains of *Legionella pneumophila* and detection of these strains in the hospital water supply. *Journal of clinical microbiology*, 36(4), 1160-1163.
 16. Mineshita, M., Nakamori, Y., Seida, Y., & HIWATASHI, S. (2005). *Legionella* pneumonia due to exposure to 24-hour bath water contaminated by *Legionella pneumophila* serogroup-5. *Internal medicine*, 44(6), 662-665.
 17. Mermel, L. A., Josephson, S. L., Giorgio, C. H., Dempsey, J., & Parenteau, S. (1995). Association of Legionnaires Disease with Construction: Contamination of Potable Water?. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 16(2), 76-81.
 18. Osawa, K., Shigemura, K., Abe, Y., Jikimoto, T., Yoshida, H., Fujisawa, M., & Arakawa, S. (2014). A case of nosocomial *Legionella* pneumonia associated with a contaminated hospital cooling tower. *Journal of infection and chemotherapy*, 20(1), 68-70.
 19. Principe, L., Tomao, P., & Visca, P. (2017). Legionellosis in the occupational setting. *Environmental research*, 152, 485-495.
 20. Palmore, T. N. A Cluster of Nosocomial Legionnaire's Disease Linked to a Contaminated Hospital Decorative Water Fountain. August, 2009. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 30(8), 764-768.
 21. Schwake, D. O., Garner, E., Strom, O. R., Pruden, A., & Edwards, M. A. (2016). *Legionella* DNA markers in tap water coincident with a Spike in Legionnaires' disease in Flint, MI. *Environmental Science & Technology Letters*, 3(9), 311-315.
 22. Torii, K., Inuma, Y., Ichikawa, M., Kato, K., Koide, M., Baba, H., ... & Ohta, M. (2003). A case of nosocomial *Legionella pneumophila* pneumonia. *Japanese journal of infectious diseases*, 56(3), 101-102.
 23. Triassi, M., Di Popolo, A., D'Alcalà, G. R., Albanese, Z., Cuccurullo, S., Montegrosso, S., ... & Zarrilli, R. (2006). Clinical and environmental distribution of *Legionella pneumophila* in a university hospital in Italy: efficacy of ultraviolet disinfection. *Journal of Hospital Infection*, 62(4), 494-501.

24. Visca, P., Goldoni, P., Lück, P. C., Helbig, J. H., Cattani, L., Giltri, G., ... & Pastoris, M. C. (1999). Multiple Types of Legionella pneumophila Serogroup 6 in a Hospital Heated-Water System Associated with Sporadic Infections. *Journal of clinical microbiology*, 37(7), 2189-2196.
25. Washington C. Winn, Jr., (1996), Legionella , *Medical Microbiology*. 4th edition. USA.
26. Wei, S. H., Chou, P., Tseng, L. R., Lin, H. C., Wang, J. H., Sheu, J. N., ... & Ko, C. F. (2014). Nosocomial neonatal legionellosis associated with water in infant formula, Taiwan. *Emerging infectious diseases*, 20(11), 1921.
27. World Health Organization 2017, Legionella and the prevention of legionellosis. WHO.
28. Wong, Sallene, et al. "Use of sequence-based typing for investigation of a case of nosocomial legionellosis." *Journal of medical microbiology* 55.12 (2006): 1707-1710.
29. Yiallourous, P. K., Papadouri, T., Karaoli, C., Papamichael, E., Zeniou, M., Pieridou-Bagatzouni, D., Hadjidemetriou, A. (2013). First outbreak of nosocomial Legionella infection in term neonates caused by a cold mist ultrasonic humidifier. *Clinical infectious diseases*, 57(1), 48-56.

Ιστότοποι

30. CDC, Center for Disease Control, <https://www.cdc.gov>.