



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ  
«ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΥΓΙΕΙΝΗ»

---

**Φυσικοχημικοί παράγοντες που συμβάλλουν στην  
ανάπτυξη της *Legionella* στο δίκτυο ύδρευσης και η  
σημασία τους για τη δυνατότητα πρόληψης**

**Αμαλία Γεωργίου Κωσταρά**

**BSc (Hons) Environmental Chemistry, University of West of England**

**MSc Sustainable Environmental Management**

**2013**



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ  
«ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΥΓΙΕΙΝΗ»

---

**Φυσικοχημικοί παράγοντες που συμβάλλουν στην  
ανάπτυξη της *Legionella* στο δίκτυο ύδρευσης και η  
σημασία τους για τη δυνατότητα πρόληψης**

**Αμαλία Γεωργίου Κωσταρά**

**BSc (Hons) Environmental Chemistry, University of West of England**

**MSc Sustainable Environmental Management**

**2013**

**Η τριμελής επιτροπή:**

- I. Αρβανιτογιάννης, Καθηγητής, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας (επιβλέπων)
- A. Τσακάλωφ, Επίκουρος Καθηγητής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
- X. Χατζηχριστοδούλου, Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

## Φυσικοχημικοί παράγοντες που συμβάλλουν στην ανάπτυξη της *Legionella* στο δίκτυο ύδρευσης και η σημασία τους για τη δυνατότητα πρόληψης

### Περίληψη

**Σκοπός:** Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η συσχέτιση των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών του κρύου νερού τουριστικών καταλυμάτων με την παρουσία του βακτηρίου της *Legionella* με στόχο τον προσδιορισμό των παραγόντων που ευνοούν ή εμποδίζουν την ανάπτυξη της και τον καθορισμό μέτρων για την πρόληψη της.

**Μεθοδολογία:** Συλλέχθηκαν 166 δείγματα κρύου νερού από 44 ξενοδοχειακά καταλύματα για ανίχνευση και ταυτοποίηση του βακτηρίου της Λεγεωνέλλας και χημική ανάλυση. Εκτός από τα κοινά αερόβια μετρηθήκαν οι εξής παράμετροι: θερμοκρασία, pH, υπολειμματική απολυμαντική ουσία, αγωγιμότητα, σκληρότητα, ασβέστιο και ιχνοστοιχεία (Fe, Zn, Mn). Οι προσδιοριζόμενοι παράμετροι συσχετίστηκαν και με στοιχεία του δικτύου ύδρευσης όπως η παρουσία δεξαμενών και υλικό των σωληνώσεων.

**Αποτελέσματα:** Το βακτήριο της *Legionella* απομονώθηκε σε 36 από 158 (22,8%) δείγματα κρύου νερού δικτύων ύδρευσης 44 ξενοδοχείων. Από τα θετικά δείγματα που ανιχνευτική *Legionella* spp, το μεγαλύτερο ποσοστό ήταν αποικισμένο με *L. pneumophilla* και συγκεκριμένα ορότυπου 2-15 (13,3%) αλλά με μικρή διαφορά με τη *L. pneumophilla* ορότυπου 1 (12%) και με το μεγαλύτερο ποσοστό να είναι σε συγκεντρώσεις από 100 έως 999 CFU/L. Ο τρόπος δειγματοληψίας των δειγμάτων κρύου νερού σε σχέση με τη *Legionella* δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντικές διαφορές, παρόλα αυτά περισσότερα ήταν τα θετικά δείγματα με *Legionella* και μεγαλύτερες οι συγκεντρώσεις κοινών αερόβιων μικροοργανισμών που παρατηρήθηκαν στα άμεσα δείγματα νερού σε σύγκριση με τα θετικά στα έμμεσα. Οι συγκεντρώσεις των μετάλλων (Fe, Zn, Mn) αν και παρουσίασαν υψηλότερες τιμές στα θετικά δείγματα για *Legionella* δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Οι συγκεντρώσεις του Fe και Mn αυξάνονται όταν στο δίκτυο ύδρευσης υπάρχει δεξαμενή σε αντίθεση με τις συγκεντρώσεις του Zn που μειώνονται. Μεγαλύτερες τιμές, στατιστικά σημαντικές, παρουσίασε το pH, τα κοινά αερόβια η αγωγιμότητα και οι συγκεντρώσεις της σκληρότητας και του ασβεστίου σε δείγματα από δίκτυα με δεξαμενή. Η αγωγιμότητα η σκληρότητα και ο ψευδάργυρος παρουσίασαν μεγαλύτερες τιμές στατιστικά σημαντικές όταν το υλικό κατασκευής της δεξαμενής ήταν από μπετόν. Επίσης, τιμές της υπολειμματικής απολυμαντικής ουσίας  $<0,37$ ,  $\text{pH} \geq 7,45$ , κοινά αερόβια  $\geq 25000$  CFU/ml και σκληρότητας  $\geq 321$  mg CaCO<sub>3</sub>/L παρατηρήθηκε πως αυξάνουν τον κίνδυνο αποικισμού με *Legionella* των δικτύων κρύου νερού ανεξαρτήτως άλλων παραγόντων σε αντίθεση με τις σωληνώσεις από χαλκό που μειώνουν τον κίνδυνο αποικισμού.

**Συμπεράσματα:** Τα αποτελέσματα της μελέτης επιβεβαιώνουν την σημαντικότητα του ελέγχου των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών του κρύου νερού όπως το pH, η υπολειμματική απολυμαντική ουσία, η σκληρότητα και η παρουσία σωληνώσεων χαλκού ως μέσο πρόληψης και μείωσης αποικισμού συστημάτων διακίνησης κρύου νερού.

**Σημαντικοί όροι:** *Legionella*, ιχνοστοιχεία, πόσιμο νερό, φυσικοχημικές ιδιότητες, συστήματα διακίνησης νερού

## Physicochemical parameters affecting *Legionella* spp growth in water supply systems and their importance in prevention and control.

### Abstract

**Aim:** The aim of the study is to associate the physiochemical parameter of hotel cold water distribution systems with the presence of *Legionella* in order to determine the parameters favoring or inhibiting *Legionella* growth and identify control measures for prevention.

**Methodology:** A total of 166 cold water samples were collected from 44 hotels for the detection and identification of *Legionella* and for chemical analysis. Except of the heterotrophic plate count (HPC) bacteria the following parameters were measured: temperature, pH, dissolved disinfectant, conductivity, hardness, calcium and trace metals (Fe, Zn, Mn). The identified parameters were associated with elements of the water distribution systems such as the presence of a water tank and pipe material.

**Results:** *Legionella* was isolated from 36 out of 158 (22,8%) cold water samples. From the positive samples with *Legionella* ssp, the largest percentage was colonized with *L. pneumophilla* and in particular with *L. pneumophilla* serogroup 2-15 with small difference from *L. pneumophilla* serogroup 1 and in concentrations from 100 to 999 CFU/L. The sampling method of cold water samples although it did not show statistical significant differences, a pattern was observed where a larger number of positive samples for *Legionella* and increased concentrations of total heterotrophic counts were presented in immediate sampling. Trace metal (Fe, Zn, Mn) did present higher concentrations in colonized samples with *Legionella* but these were not statistical significant differences. In addition, Fe and Mn did show higher concentrations when the water was stored first in water tanks instead of being distributed straight from the source in contrast to Zn that was decreased. This is indicating an association between water tanks and the trace metal concentrations. The pH, HPC bacteria, conductivity and water hardness and calcium presented higher values when the samples were from water distribution networks including a water tank. Moreover, the conductivity and Zn presented higher concentrations in the cement water tanks. Moreover, concentrations of dissolved disinfectant  $<0,37$ , pH  $\geq 7,45$ , HPC bacteria  $\geq 25000$  CFU/ml and water conductivity of  $\geq 321$  mg CaCO<sub>3</sub>/L was associated with increased risk of distribution system colonization with *Legionella* in contrast to water pipes from copper that reduce the risk.

**Conclusion:** The results of this survey confirm the importance in controlling and preventing *Legionella* colonization through controlling the physicochemical parameters of cold water distribution systems such as pH, dissolved disinfectant, conductivity and the installation of copper pipes.

**Key words:** *Legionella*, trace metals, potable water, physicochemical parameters, water distribution system

## Περιεχόμενα

Ευχαριστίες .....	i
Κατάσταση Πινάκων.....	ii
Κατάσταση Διαγραμμάτων.....	iii

<b>Πρόλογος</b> .....	<b>1</b>
-----------------------	----------

<b>Εισαγωγή</b> .....	<b>4</b>
-----------------------	----------

<b>Κεφάλαιο 1: Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του νερού δικτύων ύδρευσης</b> .....	<b>6</b>
---	----------

1.1.Ορισμός και νομοθεσία .....	6
1.2.Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του νερού και η επίδραση τους στις σωληνώσεις και στην ποιότητα του νερού .....	6
1.2.1 pH, θερμοκρασία και άλατα .....	7
1.2.2 Ιχνοστοιχεία – Βαρέα Μέταλλα .....	8
1.3.Χημικός έλεγχος πόσιμου νερού και δημόσια υγεία .....	9

<b>Κεφάλαιο 2:Γενικά για τη Legionella</b> .....	<b>12</b>
--	-----------

2.1. Νόσος Λεγεονάριον: Αιτιολογικός παράγοντας, συμπτωματολογία, τρόποι μετάδοσης .....	12
2.2. Νομοθεσία για την πρόληψη των λοιμώξεων από το βακτήριο της Legionella .....	15
2.3. Επιδημιολογικά και περιβαλλοντικά δεδομένα - Παρουσία του βακτηρίου της Legionella στα δίκτυα ύδρευσης τουριστικών καταλυμάτων .....	17
2.3.1.Επιδημιολογικά και περιβαλλοντικά δεδομένα της παρουσίας της Legionella στην Ευρώπη	17
2.3.2.Επιδημιολογικά και περιβαλλοντικά δεδομένα της παρουσίας της Legionella στην Ελλάδα	19

<b>Κεφάλαιο 3:Παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη της Legionella</b> .....	<b>21</b>
---	-----------

3.1. Επίδραση των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών του νερού .....	21
3.1.1 pH .....	21
3.1.2. Θερμοκρασία .....	22
3.1.3. Άλατα και Σκληρότητα .....	23
3.1.4. Θολερότητα .....	24
3.1.5. Ιχνοστοιχεία - Βαρέα Μέταλλα .....	24
3.2. Επίδραση άλλων παραμέτρων .....	26
3.2.1. Βιομεμβράνες .....	26
3.2.2. Υψηλή συγκέντρωση μικροβιακού φορτίου (πρωτόζωα, άλγη, αμοιβάδες, άλλα βακτήρια)	27
3.2.3. Σωληνώσεις υδραυλικών εγκαταστάσεων .....	28
3.3. Επίδραση της απολύμανσης του δικτύου .....	30
3.3.1. Είδος και συγκέντρωση απολυμαντικών .....	30

<b>Κεφάλαιο 4:Μεθοδολογία</b>	<b>33</b>
<b>4.1. Συλλογή δειγμάτων</b>	<b>33</b>
4.1.1. Γεωγραφική κατανομή δειγμάτων	33
4.1.2. Μέθοδος δειγματοληψίας	33
4.1.3. Σημεία δειγματοληψίας	34
4.1.4. Δελτίο Δειγματοληψίας	34
4.1.5. Δελτίο Ελέγχου Δικτύου Ύδρευσης Κτηρίου – Checklist	34
<b>4.2. Ανάλυση δειγμάτων</b>	<b>35</b>
4.2.1. Επιτόπιες μετρήσεις	35
4.2.1.1. pH	35
4.2.1.2. Θερμοκρασία	35
4.2.1.3. Υπολειμματικό χλώριο	35
4.2.2. Μικροβιολογική ανάλυση για την ανίχνευση και καταμέτρηση της Legionella spp	36
4.2.3. Μικροβιολογική ανάλυση για τον προσδιορισμό της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (OMX)	37
4.2.4. Χημικές αναλύσεις	38
4.2.4.1. Αγωγιμότητα	38
4.2.4.2. Σκληρότητα	39
4.2.4.3. Ασβέστιο	39
4.2.4.4. Βαρέα Μέταλλα	40
<b>4.3. Ανάλυση αποτελεσμάτων</b>	<b>41</b>
4.3.1. Καταχώρηση αποτελεσμάτων	41
4.3.2. Στατιστική ανάλυση	41
<b>Κεφάλαιο 5:Αποτελέσματα</b>	<b>43</b>
<b>5.1. Περιγραφικά</b>	<b>43</b>
5.1.1. Αριθμός δειγμάτων	43
5.1.2. Συχνότητα παρουσίας του βακτηρίου της Legionella στο δίκτυο ύδρευσης	44
5.1.3. Συγκεντρώσεις φυσικοχημικών παραμέτρων του νερού στα δίκτυα ύδρευσης	45
<b>5.2. Τρόπος δειγματοληψίας δειγμάτων νερού και παρουσία Legionella</b>	<b>46</b>
<b>5.3. Φυσικοχημικές ιδιότητες του νερού και παρουσία Legionella</b>	<b>49</b>
5.3.1. Οι συγκεντρώσεις των φυσικοχημικών παραμέτρων του νερού σε σχέση με τον αποικισμό του δικτύου με Legionella	49
5.3.2. Ανάλυση συσχέτισης	54
<b>5.4. Δίκτυο ύδρευσης και επίδραση στις φυσικοχημικές ιδιότητες του νερού και στην παρουσία της Legionella</b>	<b>55</b>
5.4.1. Ύπαρξη δεξαμενής	55
5.4.2. Υλικό δεξαμενής	58
5.4.3. Υλικό σωληνώσεων	60
<b>5.5. Χαρακτηριστικές καμπύλες ROC</b>	<b>64</b>
<b>5.6. Σχετικός κίνδυνος αποικισμού με Legionella</b>	<b>65</b>

5.6.1. Legionella spp _____	65
5.6.2. L. pneumophilla ορότυπου 1 _____	66
5.6.3. L. pneumophilla ορότυπου 2-15 _____	67
5.6.4. Legionella άλλο είδος εκτός από pneumophilla _____	69
<b>5.7. Πολυπαραγοντική ανάλυση _____</b>	<b>70</b>
<b>Κεφάλαιο 6:Συζήτηση _____</b>	<b>71</b>
<b>Κεφάλαιο 7:Συμπεράσματα _____</b>	<b>74</b>
<b>Παραρτήματα _____</b>	<b>75</b>
Παράρτημα 1: Παραμετρικές τιμές χημικού ελέγχου πόσιμου νερού βάση της ΚΥΑ Υ2/2600/2001, ΦΕΚ 892 τεύχος Β', 11/07/2001 «Ποιότητα νερού ανθρώπινης κατανάλωσης σε συμμόρφωση προς την 98/83/ΕΚ του Συμβουλίου της Ευρωπαϊκής Ένωσης της 03/11/1998», _____	75
Παράρτημα 2: Μελέτες συσχέτισης φυσικοχημικών παραμέτρων με το βακτήριο της Legionella σε ξενοδοχειακά καταλύματα _____	77
Παράρτημα 3: Δελτίο Δειγματοληψίας για ανίχνευση Legionella _____	79
Παράρτημα 4: Δελτίο Δειγματοληψίας Νερού Ανθρώπινης Κατανάλωσης για Χημική Ανάλυση _____	81
Παράρτημα 5: Δελτίο Ελέγχου (Checklist) Δικτύου Ύδρευσης Κτηρίου _____	83
Παράρτημα 6: Συγκεντρώσεις Legionella σε σχέση με τις φυσικοχημικές παραμέτρους του νερού _____	85



## Ευχαριστίες

---

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών Εφαρμοσμένη Δημόσια Υγεία και Περιβαλλοντική Υγιεινή, Ποιότητα – Ασφάλεια Υδάτων και Δημόσια Υγεία.

Ευχαριστώ θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή κ. Ι. Αρβανιτογιάννη, Καθηγητή στο Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, για την συμπαράσταση και καθοδήγηση καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της διπλωματικής εργασίας.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Χ. Χατζηχριστοδούλου, Καθηγητή στο Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και μέλος της τριμελούς επιτροπής, για την υποστήριξη και τη συμβολή του στην υλοποίηση της διπλωματικής εργασίας.

Παράλληλα, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Α. Τσακάλωφ, Επίκουρο Καθηγητή στο Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας ως μέλος της τριμελούς επιτροπής αξιολόγησης.

Επιπρόσθετα, ευχαριστώ ιδιαιτέρως την κα Βαρβάρα Μουχτούρη, Επόπτρια Δημόσιας Υγείας και διδάκτορα της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, η οποία έπαιξε καθοριστικό ρόλο στην αρτιότητα της εργασίας με τις πολύτιμες συμβουλές και την καθοδήγησή της.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά το προσωπικό του Περιφερειακού Εργαστηρίου Δημόσιας Υγείας Θεσσαλίας και ιδιαίτερα στον κ. Β. Νακούλα, κ. Δ. Γκατζή, κα Μ. Χατζηνίκου και κ. Α. Κατσιούλη, χωρίς την βοήθεια των οποίων δεν θα ήταν εφικτή η ολοκλήρωση αυτής της διπλωματικής.

## Κατάσταση Πινάκων

---

Πίνακας 1: Αποικισμός του βακτηρίου της <i>Legionella</i> στο δίκτυο ύδρευσης ξενοδοχειακών καταλυμάτων .....	44
Πίνακας 2: Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά δειγμάτων πόσιμου νερού ξενοδοχειακών καταλυμάτων.....	46
Πίνακας 3: Συσχέτιση του τρόπου δειγματοληψίας και της <i>Legionella</i> .....	47
Πίνακας 4: Ποσοτική ανάλυση των τιμών της <i>Legionella</i> με τον τρόπο δειγματοληψίας .....	48
Πίνακας 5: Οι συγκεντρώσεις των φυσικοχημικών παραμέτρων του νερού σε σχέση με τον αποικισμό του δικτύου με <i>Legionella</i> .....	51
Πίνακας 6: Συγκεντρώσεις ιχνοστοιχείων σε σχέση με τον αποικισμό του δικτύου με <i>Legionella</i> .....	53
Πίνακας 7: Ανάλυση συσχέτισης.....	54
Πίνακας 8: Ύπαρξη δεξαμενής και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του νερού .....	56
Πίνακας 9: Ύπαρξη δεξαμενής και συγκεντρώσεις ιχνοστοιχείων στο νερό.....	56
Πίνακας 10: Ύπαρξη δεξαμενής και <i>Legionella</i> .....	57
Πίνακας 11: Υλικό δεξαμενής και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του νερού .....	59
Πίνακας 12: Υλικό κατασκευής δεξαμενής και παρουσία <i>Legionella</i> .....	60
Πίνακας 13: Υλικό σωληνώσεων στα δίκτυα ύδρευσης .....	60
Πίνακας 14: Κατανομή ομάδων υλικού σωληνώσεων στα δίκτυα ύδρευσης.....	61
Πίνακας 15: Υλικό δικτύου ύδρευσης και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του νερού....	62
Πίνακας 16: Υλικό σωληνώσεων και <i>Legionella</i> .....	63
Πίνακας 17: Τιμές βέλτιστου σημείου αποκοπής.....	64
Πίνακας 18: Υπολογισμός σχετικού κινδύνου αποικισμού του δικτύου με <i>Legionella</i> spp. σε σχέση με τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του νερού .....	66
Πίνακας 19: Υπολογισμός σχετικού κινδύνου αποικισμού του δικτύου με <i>L. pneumophilla</i> ορότυπου 1. σε σχέση με τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του νερού...	67
Πίνακας 20: Υπολογισμός σχετικού κινδύνου αποικισμού του δικτύου με <i>L. pneumophilla</i> ορότυπου 2-15. σε σχέση με τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του νερού .....	68
Πίνακας 21: Υπολογισμός σχετικού κινδύνου αποικισμού του δικτύου με <i>Legionella</i> άλλα εκτός <i>pneumophilla</i> σε σχέση με τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του νερού ..	69
Πίνακας 22: Αποτελέσματα πολυπαραγοντικής ανάλυσης.....	70

## Κατάσταση Διαγραμμάτων

---

Διάγραμμα 1: Αριθμός περιστατικών της νόσου των Λεγεωναρίων που συνδέονται με ταξίδια.....	18
Διάγραμμα 2: ROC καμπύλη για τη σκληρότητα.....	64

## Πρόλογος

Το 2012, καταγράφηκαν περίπου 1.035 εκατομμύρια διεθνή ταξίδια (UNWTO, 2013). Οι μετακινήσεις και διαμονή σε τουριστικά καταλύματα εκθέτουν τους ταξιδιώτες σε πολυάριθμους κινδύνους οι οποίοι αποτελούν απειλή για την υγεία τους (WHO, 2012). Τα υδατογενή νοσήματα, τα οποία εμφανίζονται μετά από έκθεση σε μολυσμένα νερά από ιούς, πρωτόζωα και βακτήρια, αποτελούν μεγάλη και σημαντική επιβάρυνση για τη δημόσια υγεία στην Ευρώπη η οποία είναι δύσκολο να υπολογιστεί και συνήθως υποτιμάται (ECDC, 2009). Κατά την περίοδο 2000 έως 2007, 350 εξάρσεις κρουσμάτων υδατογενών νοσημάτων σχετιζόμενες με πόσιμο νερό καταγραφήκαν από τα συστήματα επιδημιολογικής επιτήρησης 14 Κρατών Μελών της Ευρωπαϊκής Ένωσης οι οποίες αφορούσαν σε 47,000 περιστατικά (WHO, 2010). Το 20% των περιστατικών που ανιχνεύονται στην Ευρώπη θεωρούνται νοσήματα σχετιζόμενα με ταξίδια και τα τελευταία χρόνια έχει παρατηρηθεί αύξηση τέτοιων περιστατικών (Plusa, 2011; WHO, 2007a).

Ένας από τους τρόπους έκθεσης των ταξιδιωτών σε κινδύνους οι οποίοι θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε υδατογενή νοσήματα είναι μέσω χαμηλής ποιότητας πόσιμου νερού των δικτύων ύδρευσης των ξενοδοχειακών καταλυμάτων. Η χημική και μικροβιολογική σύσταση του ποσίμου νερού των δικτύων ύδρευσης κτηρίων επηρεάζεται από πολλές παραμέτρους καθιστώντας έτσι την διασφάλιση της ποιότητας και ασφάλειας του μια πολύπλοκη διαδικασία. Το πόσιμο νερό των δικτύων ύδρευσης πληροί συνήθως τις χημικές και μικροβιολογικές απαιτήσεις της νομοθεσίας άλλα οι χημικές μεταβολές και η μικροβιολογική επιμόλυνση που συχνά παρατηρείται στα δίκτυα ύδρευσης κτηρίων και άλλων ανθρώπινων υποδομών υποβαθμίζουν την ποιότητα του νερού στα δίκτυα αυτά (Bargellini *et al.*, 2011). Σημαντική παράμετρος που επηρεάζει την ποιότητα του νερού είναι η δημιουργία βιομεμβράνης (εναπόθεση οργανικών και ανόργανων ουσιών) στα τοιχώματα των σωληνώσεων των δικτύων ύδρευσης. Η παρουσία βιομεμβράνης στα δίκτυα ύδρευσης μπορεί να οδηγήσει στη διάβρωση των σωληνώσεων και να αποτελέσει υπόστρωμα ανάπτυξης για μικροοργανισμούς όπως η *Legionella* (Abe *et al.*, 2012; Allion *et al.*, 2010; Burmolle *et al.*, 2006; Buse *et al.*, 2012; Chowdhury, 2011; Wingender and Flemming, 2011).

Η *Legionella* είναι ένα υδατογενές βακτήριο το οποίο αναπτύσσεται στα δίκτυα ύδρευσης των κτιρίων και ειδικότερα στα δίκτυα διακίνησης ζεστού νερού τα οποία παρουσιάζουν τις ιδανικές συνθήκες για την ανάπτυξη της. Τα βακτήρια *Legionella* spp, είναι η αιτία για τη νόσο των λεγεωνάριων, μια μορφή πνευμονίας, η οποία πήρε το όνομα της τον Ιούλιο του 1976 όταν παρευρισκόμενοι σε ένα συνέδριο βετεράνων της Αμερικανικής Λεγεώνας στη Φιλαδέλφεια της Πενσυλβανία παρουσίασαν λοίμωξη του αναπνευστικού συστήματος. Το βακτήρια της *Legionella* αναπτύσσονται τόσο σε φυσικά υδάτινα οικοσυστήματα (π.χ. λίμνες, ποτάμια, υδάτινες συλλογές) όσο και σε τεχνητά και κυρίως συστήματα διανομής πόσιμου νερού (HSE, 2000).

Κάθε σύστημα ύδρευσης το οποίο παρουσιάζει ευνοϊκές περιβαλλοντικές συνθήκες μπορεί να αποτελέσει εστία για την ανάπτυξη της *Legionella*. Περιστατικά της νόσου των Λεγεωνάριων έχουν συσχετιστεί τόσο με τουριστικά καταλύματα, νοσοκομεία και

άλλες παράκτιες εγκαταστάσεις αλλά και πλοία (Goutziana et al., 2008; Hadjichristodoulou et al., 2006; Mouchtouri et al., 2007a; Mouchtouri et al., 2010; Mouchtouri et al., 2012a). Επίσης, εγκαταστάσεις υδάτων αναψυχής (κολυμβητικές δεξαμενές, δεξαμενές υδρομάλαξης) έχουν συσχετιστεί με αποτελέσματα χαμηλής ποιότητας υδάτων (bd El-Salam, 2012; Goutziana et al., 2008; Guida et al., 2009; Hadjichristodoulou et al., 2006; Maida et al., 2008; Mouchtouri et al., 2012b; Takagi et al., 2008; Ucakar et al., 2012). Στην Ευρώπη περίπου το 70% των λοιμώξεων που οφείλονται στο βακτήριο της *Legionella* προκαλούνται από την *L. pneumophilla* ορότυπο 1 και το 20–30% από άλλους ορότυπους (WHO, 2007a).

Η *Legionella pneumophilla* απομονώθηκε, ταυτοποιήθηκε και συσχετίστηκε με περιστατικά Λεγεωνέλλωσης για πρώτη φορά στην Ελλάδα το 1989 σε δίκτυο ύδρευσης ξενοδοχειακής μονάδας. Από το 1987 έως το 2008, 441 περιστατικά *Legionella* καταγράφηκαν σε τουρίστες στην Ελλάδα στο Ευρωπαϊκό Πρόγραμμα Επιτήρησης για τη Νόσο των Λεγεωναρίων που σχετίζεται με τα ταξίδια (EU-OSHA, 2011).

Η κατανόηση των παραμέτρων που επηρεάζουν την ανάπτυξη της *Legionella* στα δίκτυα ύδρευσης είναι σημαντική για τον έλεγχο και την πρόληψη της έτσι ώστε να διατηρηθούν τα επίπεδα ποιότητας και ασφάλειας στα δίκτυα ύδρευσης και να ενισχυθεί με αυτό τον τρόπο η προστασία τόσο των καταναλωτών όσο και των εργαζομένων.

# *Γενικό Μέρος*

Το γεγονός ότι η χώρα μας αποτελεί ένα σημαντικό ταξιδιωτικό προορισμό για την υπόλοιπη Ευρώπη, η επανεμφάνιση κρουσμάτων παρόλο της προσπάθειας των περιφερειών και καταλυμάτων και την προϊστορία με την εμφάνιση της Νόσου των Λεγεωνάριων είναι επιτακτική ανάγκη η κατανόηση των συνθηκών που επηρεάζουν την ανάπτυξη της *Legionella* στα δίκτυα διανομής πόσιμου νερού.

Η επιτήρηση της ποιότητας του νερού και η εκτίμηση επικινδυνότητας θα πρέπει να είναι μια συνεχόμενη δραστηριότητα. Είναι λοιπόν σημαντικό να αναγνωρίσουμε τα στοιχεία αυτά και τους παράγοντες που θα συμβάλουν στην προσπάθεια αυτή και θα ενισχύσουν την εκτίμηση κινδύνου. Η διασφάλιση της ποιότητας του νερού και η αποφυγή της ανάπτυξης της *Legionella* απαιτεί την κατανόηση του συστήματος ύδρευσης (υλικό κατασκευής σωληνώσεων, συνδέσεις, τυφλά σημεία του δικτύου), τις φυσικοχημικές ιδιότητες του νερού και των παραμέτρων που επηρεάζουν την ανάπτυξη του βακτηρίου της *Legionella* και πως όλα αυτά αλληλεπιδρούν μεταξύ τους.

Σε ένα δίκτυο ύδρευσης είναι σύνηθες οι χωρικές αλλά και οι χρονικές μεταβολές της ποιότητας του νερού (Aisopou *et al.*, 2012). Παρά τις προσπάθειες για την ανάπτυξη ασφαλών δικτύων ύδρευσης, υπάρχουν ελάχιστες εργαστηριακά τεκμηριωμένες μελέτες των παραμέτρων που επηρεάζουν την ποιότητα του νερού κατά την μεταφορά και την διανομή.

Οι συνθήκες που ευνοούν την ανάπτυξη της *Legionella* σε δίκτυα ύδρευσης όπως αυτές αναφέρονται στη βιβλιογραφία είναι οι παρακάτω:

- Θερμοκρασία του νερού (20 °C έως 45 °C)
- Χαμηλή ροή/πίεση νερού και στασιμότητα νερού (Aisopou *et al.*, 2012)
- pH (τα βακτήρια της *Legionella* αντέχουν σε έκθεση σε pH 2.0 για σύντομες περιόδους και έχουν απομονωθεί από περιβαλλοντικές πηγές που κυμαίνονται σε pH από 2.7 έως 8.3 (WHO, 2007a)
- Υπολειμματικό χλώριο (Bodet *et al.*, 2012)
- Υψηλή συγκέντρωση μικροβιακού φορτίου (άλγη, αμοιβάδες, άλλα βακτήρια) (Borella *et al.*, 2005b; Burmolle *et al.*, 2006; Declerck *et al.*, 2009; Lau and Ashbolt, 2009; Nahapetian *et al.*, 1991)
- Παρουσία βιομεμβράνης, αλάτων, σκουριάς ή άλλες οργανικές ουσίες (Abe *et al.*, 2012; Allion *et al.*, 2010; Burmolle *et al.*, 2006; Declerck *et al.*, 2009; Ginige *et al.*, 2011; Lau and Ashbolt, 2009; van der Kooij *et al.*, 2005; WHO, 2007a; Wingender and Flemming, 2011)
- Διαβρωμένα υλικά υδραυλικών εγκαταστάσεων τα οποία μπορεί να παρέχουν θρεπτικά συστατικά ενισχύοντας την ανάπτυξη των βακτηρίων (Allion *et al.*, 2010; Wingender and Flemming, 2011).
- Συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων (Bargellini *et al.*, 2011; Borella *et al.*, 2005a; Fragou *et al.*, 2012; Kusnetsov *et al.*, 2003; Leoni *et al.*, 2005; Rakic *et al.*, 2011; Serrano-Suarez *et al.*, 2013)

Το pH, η θερμοκρασία, η παρουσία υπολειμματικού χλωρίου και η παρουσία βιομεμβράνης είναι από τα πιο γνωστά χαρακτηριστικά του νερού που επηρεάζουν την ανάπτυξη της *Legionella*. Εξίσου σημαντική επίδραση στην ανάπτυξη της Λεγεωνέλλας παρουσιάζουν και οι συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων. Συγκεκριμένα παρατηρήθηκε ότι συγκεντρώσεις του Μαγγανίου, Ψευδαργύρου και Σιδήρου αυξάνουν την πιθανότητα αποικισμού του δικτύου από *Legionella* ενώ ο Χαλκός δρα προστατευτικά ως προς το νερό και κυρίως σε συγκεντρώσεις  $>50 \mu\text{g l}^{-1}$  (Bargellini et al., 2011; Borella et al., 2005a; Fragou et al., 2012; Kusnetsov et al., 2003; Leoni et al., 2005; Rakic et al., 2011; Serrano-Suarez et al., 2013).

Οι μελέτες που έχουν ολοκληρωθεί έως σήμερα έχουν επικεντρωθεί στα συστήματα ζεστού νερού και πως αυτά επηρεάζουν την ανάπτυξη της *Legionella* ενώ πολλές φορές τα αποτελέσματα τους είναι αντιφατικά. Σε μια χώρα όπως η Ελλάδα όπου οι θερμοκρασίες κατά τους θερινούς μήνες είναι υψηλή, είναι σύνηθες φαινόμενο οι σωληνώσεις σε ξενοδοχειακά καταλύματα να παραμένουν εκτεθειμένες στις περιβαλλοντικές συνθήκες. Είναι εξίσου σημαντική λοιπόν η μελέτη της ανάπτυξης της *Legionella* σε συστήματα διανομής κρύου νερού.

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η συσχέτιση των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών του κρύου νερού τουριστικών καταλυμάτων με την παρουσία του βακτηρίου της *Legionella* με στόχο τον προσδιορισμό των παραγόντων που ευνοούν ή εμποδίζουν την ανάπτυξη της και τον καθορισμό μέτρων για την πρόληψη της.



## 1.1. Ορισμός και νομοθεσία

Ως νερό ανθρώπινης κατανάλωσης βάσει της Κ.Υ.Α Υ2/2600/2001, όπως τροποποιήθηκε με την ΚΥΑ 38295 του 2007 (ΦΕΚ 630 Β/26-4-07) ορίζεται:

Α) το νερό, είτε στη φυσική του κατάσταση είτε μετά από επεξεργασία, που προορίζεται για πόση, μαγείρεμα, προπαρασκευή τροφής ή άλλες οικιακές χρήσεις, ανεξάρτητα από την προέλευσή του και από το εάν παρέχεται από δίκτυο διανομής, από βυτίο ή σε φιάλες ή δοχεία.

Β) το νερό που χρησιμοποιείται στις επιχειρήσεις παραγωγής τροφίμων για την παρασκευή, επεξεργασία, συντήρηση ή εμπορία προϊόντων ή ουσιών, που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση.

Η νομοθεσία για τα ποιοτικά χαρακτηριστικά πόσιμου νερού ανθρώπινης κατανάλωσης περιλαμβάνει τα κάτωθι άρθρα:

- ΔΥΤ2/Γ/Π/ οικ. 38295/2007 με την οποία τροποποιήθηκε η ΚΥΑ Υ2/2600/2001 σε συμμόρφωση με την οδηγία 98/83/ΕΚ του Συμβουλίου της Ευρωπαϊκής Ένωσης, για την “Ποιότητα του νερού ανθρώπινης κατανάλωσης”
- Οδηγία 2000/60/ΕΚ του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 23/10/2000 για τη θέσπιση πλαισίου κοινοτικής δράσης στον τομέα της πολιτικής των υδάτων (L 327 EL 22.12.2000)
- «Ποιότητα πόσιμου νερού σε συμμόρφωση προς την 80/778 οδηγία του Συμβουλίου των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων» ΦΕΚ 53 τεύχος Β', 20/02/1986
- ΚΥΑ 46399/1352 (ΦΕΚ 438Β'/3.7.1986) «Απαιτούμενη ποιότητα των επιφανειακών νερών που προορίζονται για πόσιμα»
- ΥΔ Γ3α/761/6.3.68 (ΦΕΚ 189Β'/1968) «Περί ποιότητας του πόσιμου νερού», όπως τροποποιήθηκε
- ΥΜ 5673/4.12.57 (ΦΕΚ 5Β'/9.1.1958) «Περί απολυμάνσεως του ύδατος των υδρεύσεων»

## 1.2. Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του νερού και η επίδραση τους στις σωληνώσεις και στην ποιότητα του νερού

Τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του νερού είναι αυτά που καθορίζουν το βαθμό, τα στάδια και τη μέθοδο επεξεργασίας όταν αυτό πρόκειται για νερό ανθρώπινης κατανάλωσης.

Τα ποιοτικά χαρακτηριστικά διακρίνονται σε:

- φυσικοχημικά,
- βιοχημικά και
- μικροβιολογικά.

Στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του νερού ανήκουν:

- η θερμοκρασία
- η ενεργός οξύτητα (pH)
- η αλκαλικότητα
- η αγωγιμότητα (δείκτης ρύπανσης φυσικών νερών)
- η αλατότητα (δείκτης ρύπανσης φυσικών νερών)
- η θολότητα
- η οσμή,
- η γεύση,
- το χρώμα,
- οι στερεές ουσίες
  - Ολικά στερεά – Total Solids, TS
  - Ολικά διαλυμένα στερεά – Total Dissolved Solids- TDS
  - Ολικά αιωρούμενα στερεά - Total Suspended Solids- TSS (κύριο αίτιο της θολερότητας)
  - Στερεό υπόλειμμα – Fixed Solids
  - Πτητικά στερεά – Volatile Solids
- διάφορα άλατα,
- η σκληρότητα του νερού,
- διάφορα κατιόντα (Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>),
- διάφορα ανιόντα (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>),
- τα θρεπτικά συστατικά (N, P, S, Si),
- τα ιχνοστοιχεία και τα βαρέα μέταλλα (Fe, Mn, Cu, Zn, Cd, Cr, Pb, As)

Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά επηρεάζουν με ποικίλους τρόπους την ποιότητα του νερού. Μελέτες έχουν δείξει την σημαντικότητα της συνεχούς παρακολούθησης των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών του νερού στην παρακολούθηση της κατάστασης σωληνώσεων και της θολότητας (Aisopou *et al.*, 2012).

### 1.2.1. pH, θερμοκρασία και άλατα

Το pH και η θερμοκρασία του νερού επηρεάζουν το είδος των αλάτων που δημιουργούνται.

Η αλκαλικότητα είναι η ικανότητα του νερού να εξουδετερώνει οξέα. Αλκαλικές τιμές pH συναντάμε σε αυξημένες συγκεντρώσεις ασβεστίου, νατρίου και μαγνησίου.

Η αγωγιμότητα είναι η αριθμητική ικανότητα ενός υδατικού διαλύματος να άγει το ηλεκτρικό ρεύμα. Εκφράζει το σύνολο των διαλυμένων αλάτων στο νερό. Η αγωγιμότητα στα νερά αυξάνει με τη θερμοκρασία.

Η **αλατότητα** και η **σκληρότητα** επηρεάζονται από το γήινο υπόβαθρο καθώς και από το pH και τη θερμοκρασία.

Τα **άλατά του Μαγνησίου** και άλατα του ασβεστίου αποτελούν την ολική σκληρότητα του νερού. Το μαγνήσιο συνεισφέρει λοιπόν σημαντικά στην σκληρότητα του νερού. Τα

άλατα του Μαγνησίου όταν θερμανθούν σχηματίζουν επικαθίσματα στις σωληνώσεις και τους λέβητες. Επίσης μπορεί να προσδώσει δυσάρεστη γεύση στο νερό.

Μικρές **συγκεντρώσεις ανθρακικού ασβεστίου** εμποδίζουν τη διάβρωση των μεταλλικών σωλήνων γιατί σχηματίζουν ένα προστατευτικό επίστρωμα. Υψηλές όμως συγκεντρώσεις αλάτων ασβεστίου με τη θέρμανση καθιζάνουν σχηματίζοντας σκληρά επικαθίσματα στους λέβητες.

### 1.2.2. Ιχνοστοιχεία – Βαρέα Μέταλλα

Ο **Σίδηρος** ευνοεί την ανάπτυξη των βακτηριδίων και δημιουργεί εναποθέσεις στις σωληνώσεις. Ο σίδηρος στο πόσιμο νερό ευρίσκεται συνήθως στην τρισθενή μορφή του. Όταν υπάρχει σε υψηλές συγκεντρώσεις και σε pH ίσο ή μεγαλύτερο από το ουδέτερο (7) παίρνει την μορφή ενός καφετιού ιζήματος. Αν υπάρχει σίδηρος στην δισθενή του μορφή, προσδίδει μία δυσάρεστη μεταλλική γεύση στο νερό. Η συγκέντρωση που η γεύση αυτή γίνεται αντιληπτή είναι 100 - 200 µg/l και στα 300 µg/l δεν είναι αποδεκτή από τους περισσότερους ανθρώπους. Αν και συνήθως ο σίδηρος που υπάρχει στο νερό έχει φυσική προέλευση, σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να είναι αποτέλεσμα βιομηχανικής μόλυνσης.

Το πόσιμο νερό μπορεί να περιέχει σχετικά υψηλή συγκέντρωση σιδήρου για έναν από τους παρακάτω λόγους:

- η επεξεργασία δεν απομάκρυνε ικανοποιητικά τον φυσικά περιεχόμενο σίδηρο,
- σε διαδικασίες διαλύγασης όπου χρησιμοποιούνται άλατα σιδήρου η δοσολογία και το pH δεν είναι σωστά ή υπάρχουν προβλήματα διαχωρισμού υγρού στερεών,
- το δίκτυο διανομής αποτελείται από σιδερένιους σωλήνες οι οποίοι έχουν υποστεί διάβρωση.

Η ύπαρξη δισθενούς σιδήρου μέσα στο δίκτυο διανομής διευκολύνει την ανάπτυξη σιδηροβακτηριδίων που εμφανίζονται σαν ζελατινώδεις αποθέσεις στο εσωτερικό των αγωγών. Όταν ο σίδηρος κατακάθεται στο εσωτερικό του δικτύου τείνει να συσσωρεύεται σαν κρούστα στα μέρη που η ροή είναι λιγότερο τυρβώδης. Όταν συμβεί μία απότομη μεταβολή στην πίεση του δικτύου και στην μεταβολή της ταχύτητας του νερού οι επικαθίσεις αυτές αποκολλώνται από τα τοιχώματα και εμφανίζουν μία έντονη καφετιά θολότητα στις βρύσες των καταναλωτών.

Το **Μαγγάνιο** διευκολύνει την ανάπτυξη μικροοργανισμών στα δίκτυα με αποτέλεσμα αύξηση της θολότητας, δημιουργία οσμών και αποθέσεων. Οι ενώσεις του μαγγανίου είναι ευρέως διάσπαρτες στη φύση αλλά το στοιχείο αυτό ευρίσκεται συνήθως σε μικρές συγκεντρώσεις στο νερό, συνήθως σε συνδυασμό με το σίδηρο.

Η περιβαλλοντική χημεία του σιδήρου και μαγγανίου είναι παρόμοιες, και τα δύο σχηματίζουν αδιάλυτα οξείδια σε ουδέτερο και αλκαλικό pH (pH>7) ενώ υψηλές συγκεντρώσεις μαγγανίου εν διαλύσει και δισθενούς σιδήρου μπορεί να προκύψουν σε αναερόβιες συνθήκες όπως στον πυθμένα βαθιών λιμνών και σε ορισμένα υπόγεια νερά. Το δισθενές μαγγάνιο (Mn<sup>++</sup>) είναι πιο σταθερό από το δισθενή σίδηρο (Fe<sup>++</sup>) αλλά σε

ελαφρά αλκαλικό pH οξειδώνεται και σχηματίζει  $MnO_2$ . Το μεταλλικό μαγγάνιο και τα άλατά του χρησιμοποιούνται ευρέως στη βιομηχανία. Έτσι, ορισμένες φορές η αυξημένη συγκέντρωση του μαγγανίου στο νερό μπορεί να οφείλεται σε βιομηχανική ρύπανση.

Λόγω της διάβρωσης των χάλκινων σωληνώσεων, που εξαρτάται από τη σκληρότητα, το pH, το διαλυμένο οξυγόνο και τη θερμοκρασία του νερού, σημαντικές ποσότητες χαλκού διαλύονται στο πόσιμο νερό (Hong and Macauley, 1998). Αν το νερό μείνει στάσιμο 12 ώρες στις σωληνώσεις, η συγκέντρωση χαλκού μπορεί να υπερβεί τα 20 mg/l.

Ο **ψευδάργυρος** προσδίδει στο νερό μία στυπτική γεύση και σε συγκεντρώσεις πάνω από 5000  $\mu\text{g/l}$  μπορεί να αφήσει ένα λιπαρό φιλμ μετά τον βρασμό. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας θέτει ως όριο τα 3000  $\mu\text{g/l}$  στο πόσιμο νερό.

Μελέτες έχουν επιβεβαιώσει ότι σημαντικές συγκεντρώσεις **χαλκού και ψευδαργύρου** μπορούν να διαλυθούν και να εισέλθουν στο δίκτυο από τις σωληνώσεις των δικτύων ενώ το κάδμιο μπορεί να εισέλθει από τα ορειχάλκινα εξαρτήματα (Al-Saleh and Al-Doush, 1998).

### 1.3. Χημικός έλεγχος πόσιμου νερού και δημόσια υγεία

Στο νερό περιέχονται ανόργανες και οργανικές ουσίες που παρουσιάζονται με έναν από τους παρακάτω τρόπους :

- φυσικά μέσα στο νερό,
- μέσω του δικτύου ύδρευσης,
- μέσω της απολύμανσης του νερού.

Οι ανόργανες χημικές ουσίες παρουσιάζονται στο νερό με την μορφή διαλυμένων αλάτων όπως ανθρακικά, χλωριούχα, συνδεδεμένα με αιωρούμενα σωματίδια ή ως σύμπλοκα.

Τα **ανόργανα χημικά** εισέρχονται στα νερό με τους παρακάτω τρόπους:

- φυσική διαρροή κοιτασμάτων ορυκτών στην πηγή νερού
- το γήινο υπόβαθρο και η βιομηχανική και γεωργική ρύπανση κοντά σε λεκάνες απορροής οδηγεί στην παρόξυνση των φυσικών διαδικασιών όπως η κινητοποίηση των αλάτων
- μεταφορά μικρής ποσότητας των χημικών επεξεργασίας
- προσθήκη χημικών όπως το χλώριο και το φθόριο
- διάβρωση και η έκπλυση σωληνώσεων και των εξαρτημάτων τους

Οι **οργανικές ενώσεις** παρουσιάζονται σε μικρές συγκεντρώσεις και η παρουσία τους οφείλεται είτε σε φυσικές είτε σε ανθρωπογενείς δραστηριότητες. Οι πιο συχνά παρουσιάζόμενες οργανικές ενώσεις στα νερά είναι τα υποπροϊόντα απολύμανσης τα οποία δημιουργούνται από τα χημικά απολύμανσης του νερού (συνήθως χλώριο) και την

παρουσία οργανικών υλών φυσικής προέλευσης. Οι παράγοντες που επηρεάζουν την δημιουργία των υποπροϊόντων απολύμανσης είναι:

- η ποσότητα των οργανικών υλών φυσικής προέλευσης
- το χημικό απολύμανσης
- η συγκέντρωση του χημικού απολύμανσης
- το pH
- η θερμοκρασία

Η παρουσία ανόργανων και οργανικών χημικών στο νερό μπορεί να αποτελέσει άμεσα αλλά και έμμεσο κίνδυνο για την δημόσια υγεία. Η παρουσία φυτοφαρμάκων στο νερό ή ιχνοστοιχείων όπως το Καδμιο, Υδράργυρος, Χρώμιο και Νικέλιο προκαλούν διάφορες παθήσεις όπως καρδιαγγειακά νοσήματα, νεφρικές διαταραχές καθώς και διάφορες μορφές καρκίνου (Al-Saleh and Al-Doush, 1998; NHMRC, 2011). Επίσης μελέτες έχουν συνδέσει την χρόνια έκθεση σε υποπροϊόντα απολύμανσης με την εκδήλωση χρόνιων νοσημάτων (Chowdhury, 2013; Lee et al., 2013; NHMRC, 2011). Το ασβέστιο είναι βασικό στοιχείο για τον οργανισμό και μη τοξικό όταν λαμβάνεται από το στόμα. Συγκεντρώσεις μέχρι και 1800 mg/l στο πόσιμο νερό έχει αναφερθεί ότι είναι αβλαβείς. Η ημερήσια ανάγκη για τον άνθρωπο εκτιμάται στα 800 mg. Πρόσληψη ασβεστίου πάνω από 1000 mg ανά ημέρα για μακρές περιόδους μπορεί να προκαλέσει μείωση του μαγνησίου στον ορό του αίματος.

Τα φυσικά χαρακτηριστικά του νερού όπως το χρώμα, η γεύση, η θολότητα, η σκληρότητα, το pH και η θερμοκρασία και η παρουσία μετάλλων/ιχνοστοιχείων δεν είναι παράγοντες που επηρεάζουν άμεσα την υγεία του καταναλωτή. Αποτελούν όμως σημαντικούς παραμέτρους που ενισχύουν την πιθανότητα ανάπτυξης ενός μικροπεριβάλλοντος το οποίο θα είναι κατάλληλο για την ανάπτυξη βακτηρίων. Για παράδειγμα, το pH και η θερμοκρασία επηρεάζουν εκτός από το είδος των αλάτων που περιέχονται στο νερό και την ανάπτυξη των βακτηρίων. Οι εναποθέσεις που δημιουργούνται στις σωληνώσεις συμβάλλουν στην δημιουργία βιομεμβράνης η οποία είναι από τις σημαντικότερες παραμέτρους που βοηθούν την ανάπτυξη της βακτηρίων όπως η *Legionella* στα δίκτυα ύδρευσης.

Οι παράμετροι οι οποίοι προσδιορίζονται κατά τον χημικό έλεγχο πόσιμου νερού όπως ορίζονται από την νομοθεσία παρουσιάζονται παρακάτω ανάλογα με τη μέθοδο ανάλυσης.

- Ηλεκτροχημικές μέθοδοι:
  - pH
  - Αγωγιμότητα
- Φωτομετρικές μέθοδοι:
  - Φωσφορικά
  - Αμμωνία
  - Νιτρικά
  - Νιτρώδη
  - Υπολειμματικό Χλώριο
- Τιτλοδοτήσεις:
  - Ασβέστιο
  - Χλωρίοντα

- Αλκαλικότητα
- Σκληρότητα
- Βαρέα Μέταλλα (Σίδηρος, Μαγγάνιο, Χρώμιο, Νικέλιο, Μόλυβδος, Κάδμιο, Εξασθενές Χρώμιο, Χαλκός)

Οι παραμετρικές τους τιμές παρουσιάζονται στο Παράρτημα 1.

## Κεφάλαιο 2: Γενικά για τη *Legionella*

### 2.1. Νόσος Λεγεωνάριων: Αιτιολογικός παράγοντας, συμπτωματολογία, τρόποι μετάδοσης

Στο γένος *Legionella* υπάρχουν πάνω από 50 είδη με 70 διακριτούς ορότυπους (Lau and Ashbolt, 2009). Η *Legionella pneumophilla* είναι ένα ραβδοειδή Gram αρνητικό αερόβιο βακτήριο, με ένα ή περισσότερα μαστίγια. Προκαλεί την Νόσο των Λεγεωνάριων και μεταδίδεται αερογενώς μέσω μικροσταγονιδίων που δημιουργούνται από υδρόψυκτα κλιματιστικά, δεξαμενές υδρομάλαξης, καταιονισμό (ντουζ), πλυσίματος των χεριών κ.α. (Diederer, 2008; Guyard and Low, 2011; HSE, 2000; Lee et al., 2013; Steinert et al., 2002; Steinert et al., 2007; WHO, 2007a)

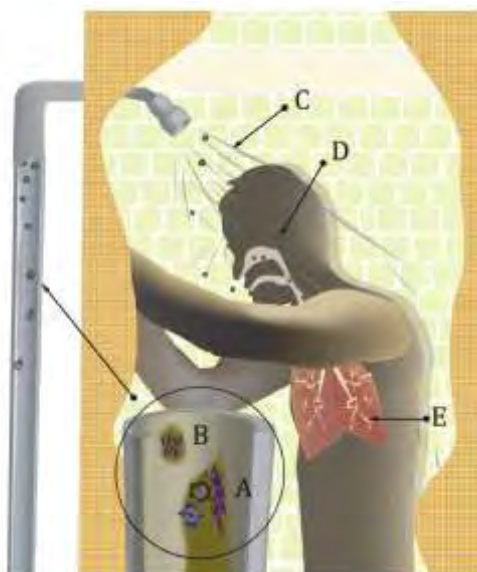


Εικόνα 1 Το βακτήριο της *Legionella* spp

Πηγή: [https://www.osha.gov/dts/osta/otm/legionnaires/disease\\_rec.html](https://www.osha.gov/dts/osta/otm/legionnaires/disease_rec.html)

Το βακτήριο έχει απομονωθεί σε φυσικά αλλά και σε τεχνητά υδάτινα περιβάλλοντα (HSE, 2000; WHO, 2007a). Έχει απομονωθεί σε θερμοκρασίες από 6 °C έως 60 °C ενώ ιδανικές θερμοκρασίες για την ανάπτυξη του βακτηρίου της *Legionella* είναι μεταξύ 25°C και 45°C (HSE, 2000).

Τα πολύπλοκα συστήματα νερού όπως τα υδραυλικά συστήματα ζεστού νερού, υδρόψυκτα κλιματιστικά, δεξαμενές υδρομάλαξης χρησιμοποιούν νερό στις ιδανικές θερμοκρασίες για την ανάπτυξη της *Legionella*. Επίσης, τα συστήματα αυτά δημιουργούν μικροσταγονίδια (αεροζόλ) αυξάνοντας έτσι την πιθανότητα εξάπλωσης του βακτηρίου (EU-OSHA, 2011; HSE, 2000; WHO, 2007a). Στην **Εικόνα 2** παρουσιάζεται ο τρόπος έκθεσης στη *Legionella* από μικροσταγονίδια.



Εικόνα 2: Γραφικό μοντέλο της έκθεσης σε *Legionella* από αεροζόλ. (Schoen and Ashbolt, 2011)  
 (A. Πολλαπλασιασμός της *Legionella*. B. Αποκοπή βιομεμβράνης κατά την διάρκεια ντους. C. Μεταφορά από το νερό στον αέρα. D. Εισπνοή E. Εγκατάσταση στους πνεύμονες)

Το βακτήριο της *Legionella* πολλαπλασιάζεται μέσα στα δίκτυα ύδρευσης με δυο τρόπους:

1. ενδοκυτταρικά παρασιτώντας αμοιβάδες και πρωτόζωα δημιουργώντας έτσι πιο μολυσματικές μορφές με μεγαλύτερη ανθεκτικότητα στα απολυμαντικά
2. εξωκυτταρικά μέσα σε βιομεμβράνες

(Borella et al., 2005a; Cianciotto, 2001; Declerck et al., 2009; Diederer, 2008; Nahapetian et al., 1991; Price et al., 2011; Steinert et al., 2007; Taylor et al., 2009; Valster et al., 2011).

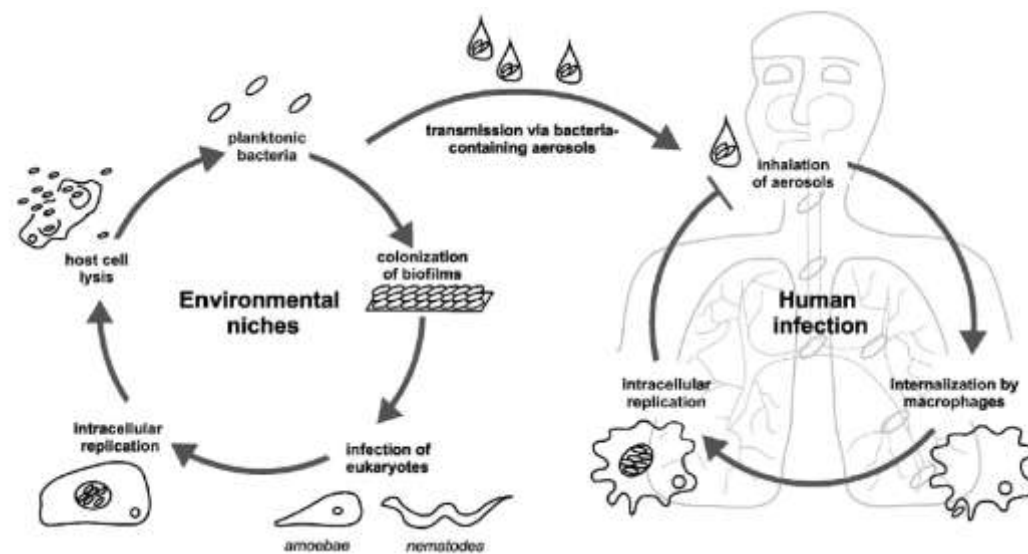
Στην **Εικόνα 3** παρουσιάζονται οι οικολογικοί θώκοι στους οποίους βρίσκει καταφύγιο η *Legionella* για την επιβίωση και πολλαπλασιασμό της και ο τρόπος μετάδοσης στον άνθρωπο.

Το βακτήριο της *Legionella* σε εργαστηριακές συνθήκες απαιτεί για τον πολλαπλασιασμό της την προσθήκη συγκεκριμένων θρεπτικών συστατικών κυρίως αμινοξέα τα οποία δεν μπορούν να παράγουν όπως η κυστεΐνη. Η προσθήκη συγκεκριμένων ιχνοστοιχείων όπως ο Σίδηρος, Μαγνήσιο, Μαγγάνιο, Ασβέστιο, Ψευδάργυρος, Κάλιο, Ασβέστιο, Χαλκός και φωσφορικό άλας διεγείρει την ανάπτυξη της *Legionella* (Fields et al., 2002; Leoni et al., 2005; Reeves et al., 1981; Taylor et al., 2009).

Η κύρια οδός μόλυνσης είναι μέσω της εισπνοής των βακτηρίων στους πνεύμονες με τον κίνδυνο της νόσου να αυξάνεται με την αύξηση των εισπνεόμενων βακτηρίων. Έχουν ολοκληρωθεί μελέτες που παρουσιάζουν τις συγκεντρώσεις των βακτηρίων της *Legionella* και της μεταφοράς τους στο νερό και στο αέρα. Συγκεκριμένα οι Schoen and



Asbolt (2011) προέβλεψαν την πυκνότητα του βακτηρίου της *Legionella* στα συστήματα καταιονισμού (ντουζ), στο νερό και στις βιομεμβράνες εσωτερικά των σωληνώσεων η οποία πιθανόν να οδηγήσει σε εγκατάσταση της απαιτούμενης δόσης του βακτηρίου στους πνεύμονες και που έχουν συσχετιστεί με την μόλυνση κατά της διαδικασία καταιονισμού. Το προβλεπόμενο κρίσιμο εύρος της εισπνεόμενης *Legionella* στον αέρα και στο νερό του συστήματος καταιονισμού αναγκαίο για την εγκατάσταση της απαιτούμενης δόσης ήταν  $3.5 \times 10^1$ - $3.5 \times 10^3$  CFU m<sup>-3</sup> και  $3.5 \times 10^6$  -  $3.5 \times 10^8$  CFU L<sup>-1</sup> αντίστοιχα (Schoen and Ashbolt, 2011).



Εικόνα 3: Τρόποι επιβίωσης και πολλαπλασιασμού του βακτηρίου της *Legionella* και τρόπος μετάδοσης στον άνθρωπο. (Hilbi et al., 2011)

Στην ομάδα υψηλού κινδύνου συμπεριλαμβάνονται: Όλα τα άνω των 50 ετών άτομα, οι καπνιστές, όσοι ευρίσκονται υπό αγωγή με κορτικοστεροειδή, πάσχουν από χρόνιες πνευμονοπάθειες, σακχαρώδη διαβήτη, νεοπλασματικά νοσήματα και νεφρική ανεπάρκεια, που έχουν υποστεί μεταμόσχευση οργάνων, άτομα με εξασθενημένο και εύλωτο ανοσοποιητικό σύστημα (European Agency for Safety and Health at Work, 2011; WHO, 2007a).

Ο χρόνος επώασης της *Legionella* είναι συνήθως από 2 έως 10 ημέρες αλλά σε σπάνιες περιπτώσεις μπορεί να αυξηθεί σε 16 έως 20 ημέρες (European Centre for Disease Prevention and Control, 2012). Η κλινική εικόνα συνήθως είναι αυτή της άτυπης πνευμονίας με εξελισσόμενη ακτινολογική εικόνα συχνά με συνύπαρξη κεφαλαλγίας, βραδυψυχισμού, μυαλγιών και γενικών φαινομένων που υποδηλώνουν τη συστηματικότητα της λοίμωξης. Αργότερα επηρεάζονται ζωτικά όργανα, ενώ υπάρχει περίπτωση να επηρεαστούν και οι νοητικές λειτουργίες. Η έγκαιρη διάγνωση αυξάνει τις πιθανότητες επιβίωσης (WHO, 2007a).

## 2.2. Νομοθεσία για την πρόληψη των λοιμώξεων από το βακτήριο της *Legionella*

Η παροχή ασφαλούς πόσιμου νερού στους καταναλωτές αλλά και η πρόληψη της έκθεσης των εργαζομένων σε βακτήρια όπως αυτό της *Legionella* spp είναι ένα σημαντικό θέμα για τη δημόσια υγεία και απαιτεί ιδιαίτερες διαδικασίες λόγω των πολλών παραμέτρων που επηρεάζουν στην ποιότητα του πόσιμου νερού στα δίκτυα ύδρευσης. Οι περισσότερες Ευρωπαϊκές χώρες έχουν υιοθετήσει πολιτικές δημόσιας υγείας για την πρόληψη από την *Legionella* spp ενώ αρκετές εφαρμόζουν ειδικές διατάξεις για την ασφάλεια των εργαζομένων (European Agency for Safety and Health at Work, 2011).

Η προστασία των ταξιδιωτών στην Ευρώπη από τα λοιμώδη νοσήματα απαιτεί διεθνή συνεργασία από όλα τα Κράτη Μέλη (Joseph, 2007). Η επιδημιολογική επιτήρηση σε διεθνή κλίμακα έχει αποδειχθεί ότι παρέχει προστιθέμενη αξία στις εθνικές δράσεις επιτήρησης και συνεισφέρει στην ανίχνευση, στον έλεγχο και την πρόληψη των νοσημάτων αλλά απαιτεί παράλληλα στενή συνεργασία των χωρών (ECDC, 2012). Η Ευρωπαϊκή Ομάδα Εργασίας για τις Λοιμώξεις από *Legionella* spp (European Working Group for *Legionella* Infections, EWGLI), ανταποκρινόμενη στην ανάγκη για διεθνή συντονισμό και συνεργασία, δημιούργησε το 1987 το Ευρωπαϊκό Πρόγραμμα Επιτήρησης για τη Νόσο των Λεγεωναρίων που συνδέεται με τα ταξίδια (European Surveillance Scheme for Travel Associated Legionnaires' Disease, EWGLINET). Το Ευρωπαϊκό Κέντρο Πρόληψης και Ελέγχου Νόσων (European Center for Disease Prevention and Control, ECDC) ανέλαβε τον συντονισμό τον Απρίλιο του 2010, και το μετονόμασε σε Ευρωπαϊκό Δίκτυο Επιτήρησης για την Νόσο των Λεγεωναρίων (European Legionnaires' Disease Surveillance Network, ELDSNet). Στο δίκτυο συμμετέχουν επιδημιολόγοι και μικροβιολόγοι από 27 Κράτη Μέλη της Ευρωπαϊκής Ένωσης, την Ισλανδία και την Νορβηγία.

Το Ευρωπαϊκό Δίκτυο Επιτήρησης για την Νόσο των Λεγεωναρίων χρησιμοποιεί τους πιο κάτω ορισμούς:

**Μεμονωμένες Περιπτώσεις:** Περιπτώσεις οι οποίες επισκεφτήκανε τουριστικά καταλύματα 2 με 10 ημέρες πριν την εκδήλωση της νόσου, τα οποία δεν έχουν συσχετιστεί με άλλα περιστατικά της Νόσου των Λεγεωναρίων ή περιπτώσεις οι οποίες επισκεφτήκανε τουριστικά καταλύματα τα οποία έχουν συσχετιστεί με άλλες περιπτώσεις της Νόσου των Λεγεωναρίων πέρα του χρονικού διαστήματος των 2 ετών.

**Συρροή κρουσμάτων:** Δυο ή περισσότερες περιπτώσεις που επισκεφτήκανε το ίδιο τουριστικό κατάλυμα, 2 με 10 ημέρες πριν την εκδήλωση της νόσου μέσα σε χρονικό διάστημα 2 ετών.

**Έξαρση κρουσμάτων:** Δυο ή περισσότερες περιπτώσεις που επισκεφτήκανε τα ίδια τουριστικά καταλύματα, 2 με 10 ημέρες πριν την εκδήλωση της νόσου μέσα σε χρονικό διάστημα 2 ετών και όπου η περιβαλλοντική διερεύνηση παρέχει επιπλέον στοιχεία ότι πρόκειται για κοινή πηγή μόλυνσης.

Εάν περισσότερες περιπτώσεις συσχετιστούν με το τουριστικό κατάλυμα που εμφάνισε την συρροή κρουσμάτων, 2 χρόνια μετά από την εμφάνιση της τελευταίας περίπτωσης, τότε θα καταγραφούν σαν νέες μεμονωμένες περιπτώσεις παρόλο που η χώρα στην οποία καταγράφηκε η λοίμωξη θα συνεχίσει να λαμβάνει πληροφορίες για όλα τα προηγούμενα περιστατικά που συνδέονται με τα τουριστικά καταλύματα ανεξαρτήτως της χρονικής περιόδου που έχει παρέλθει.

Ορίζει επίσης τις διαδικασίες που πρέπει να ληφθούν μετά από θετικό αποτέλεσμα του εργαστηριακού έλεγχου του ποσίμου νερού των δικτύων ύδρευσης ξενοδοχειακών καταλυμάτων ως εξής:

- Εάν τα αποτελέσματα της 1<sup>ης</sup> δειγματοληψίας για *Legionella* είναι μεγαλύτερο του 1.000 CFU /L και μικρότερο από 10.000 CFU/L σε ένα ή δύο δείγματα γίνεται δεύτερη δειγματοληψία.
- Εάν τα αποτελέσματα του ελέγχου είναι μεγαλύτερο από 1.000 CFU/L και μικρότερο από 10.000 CFU/L σε περισσότερα από 2 δείγματα, διακόπτεται η λειτουργία του δικτύου ύδρευσης και γίνεται απολύμανση. Δυο μέρες μετά το τέλος της διαδικασίας γίνεται τρίτη δειγματοληψία.
- Εάν το αποτέλεσμα είναι ίσο ή υπερβαίνει τις 10.000 CFU/L έστω και σε ένα δείγμα, διακόπτεται η λειτουργία του δικτύου ύδρευσης και γίνεται απολύμανση. Δυο μέρες μετά το τέλος της διαδικασίας γίνεται τρίτη δειγματοληψία.

Η Οδηγία 2000/54/EK του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 18ης Σεπτεμβρίου 2000 για την προστασία των εργαζομένων από κινδύνους που διατρέχουν λόγω έκθεσής τους σε βιολογικούς παράγοντες κατά την εργασία κατατάσσει την *Legionella pneumophillala* και τα υπόλοιπα είδη της *Legionella* ως παράγοντα 2 δηλαδή ως παράγοντας ο οποίος μπορεί να προκαλέσει ασθένεια στον άνθρωπο και ενδέχεται να συνιστά κίνδυνο για τους εργαζομένους, ενώ δεν υπάρχει μεγάλη πιθανότητα να εξαπλωθεί στο κοινωνικό σύνολο. Γενικώς, υπάρχει αποτελεσματική προληπτική ή θεραπευτική αγωγή. Η οδηγία αυτή αναφέρει πως για κάθε δραστηριότητα που ενδέχεται να συνεπάγεται κίνδυνο έκθεσης σε βιολογικούς παράγοντες πρέπει να προσδιορίζονται η φύση, ο βάθος και η διάρκεια της έκθεσης των εργαζομένων, ώστε να είναι δυνατόν να αξιολογούνται όλοι οι κίνδυνοι για την ασφάλεια ή την υγεία των εργαζομένων και να καθορίζονται τα ληπτέα μέτρα.

Η Οδηγία 98/83/EK σχετικά με την ποιότητα νερού ανθρώπινης κατανάλωσης, σχετίζεται με την Λεγεωνέλλα και αναφέρει πως το πόσιμο νερό πρέπει να είναι απαλλαγμένο μικροοργανισμών και παρασίτων, και οποιωνδήποτε ουσιών, σε αριθμούς και συγκεντρώσεις, που αποτελούν ενδεχόμενο κίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία. Η *Legionella* δεν αναφέρεται σαν παράμετρος που θα πρέπει να πληροί συγκεκριμένες απαιτήσεις αλλά τα Κράτη Μέλη έχουν την δυνατότητα να την προσθέσουν στην λίστα με τις απαιτούμενες εξεταζόμενες παραμέτρους εάν το θεωρούν απαραίτητο.

Το Ερμηνευτικό Έγγραφο που αφορά την Οδηγία 89/106/EEK για την προσέγγιση των νομοθετικών, κανονιστικών και διοικητικών διατάξεων των κρατών μελών όσον αφορά τα προϊόντα των δομικών κατασκευών αναφέρει ότι ο κίνδυνος της λοίμωξης από *Legionella* πρέπει να ελαχιστοποιείται. Συγκεκριμένα περιλαμβάνει διατάξεις που αφορούν :

- την πρόληψη των βακτηριδίων *Legionella* και άλλων επιβλαβών μικροοργανισμών στα αερολύματα
- το σχεδιασμό των συστημάτων έτσι ώστε να διευκολύνεται ο έλεγχος, ο καθαρισμός και η χημική επεξεργασία
- το σχεδιασμό των συστημάτων για να διατηρούν θερμοκρασίες, οι οποίες δεν είναι ευνοϊκές για την ανάπτυξη της *Legionella*
- το σχεδιασμό των συστημάτων για να αποφεύγεται η στασιμότητα του νερού.

Στην Ελλάδα το Υπουργείο Υγείας κυκλοφόρησε εγκύκλιο στις 17 Ιουλίου 2012 με θέμα «Πρόληψη της νόσου των Λεγεωναρίων». Η εγκύκλιος περιγράφει τις συνθήκες ανάπτυξης, τα συμπτώματα της νόσου, τις ομάδες υψηλού κινδύνου, την μέθοδο εργαστηριακής διάγνωσης αλλά και τους παράγοντες που ευνοούν την εξάπλωση της νόσου στην Ελλάδα καθώς και μετρά πρόληψης.

Οι προαναφερθέντες Ευρωπαϊκές Οδηγίες έχουν εναρμονιστεί στο εθνικό δίκαιο της Ελλάδας. Η Ελλάδα είναι επίσης μέλος του EWGLI από το 1981.

### 2.3. Επιδημιολογικά και περιβαλλοντικά δεδομένα - Παρουσία του βακτηρίου της *Legionella* στα δίκτυα ύδρευσης τουριστικών καταλυμάτων

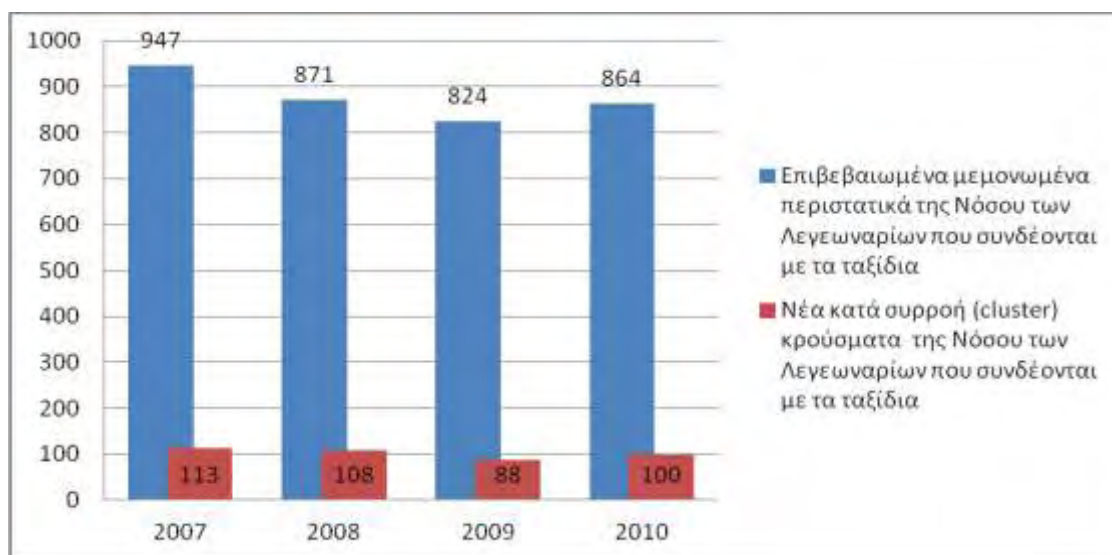
#### 2.3.1. Επιδημιολογικά και περιβαλλοντικά δεδομένα της παρουσίας της *Legionella* στην Ευρώπη

Το 2009 στην Ευρώπη ο συνολικός αριθμός διανυκτερεύσεων αλλοδαπών και ημεδαπών σε καταλύματα ξενοδοχειακού τύπου και κάμπινγκ ανέρχεται περίπου στα 66.2233 εκατομμύρια από τα οποία τα 19345 εκατομμύρια ήταν διανυκτερεύσεις ημεδαπών (EU Eurostat, 2012; SETE, 2011). Στην Ελλάδα το 2010 λειτουργούσαν 9732 ξενοδοχεία με 763407 κλίνες (Association of Greek Tourism Enterprises, 2011). Η πηγή πόσιμου νερού στα τουριστικά καταλύματα μπορεί να είναι μέσω της δημόσιας εταιρίας ύδρευσης ή μέσω γεώτρησης. Και στις δυο περιπτώσεις υπάρχουν υδατοδεξαμενές συγκέντρωσης του πόσιμου νερού και τις περισσότερες φορές περαιτέρω επεξεργασία. Σε μελέτη του Kay et al. (2007) σε 7 ιδιωτικές εταιρίες παροχής πόσιμου νερού που εξυπηρετούσαν ξενοδοχεία και επιχειρήσεις παραγωγής τροφίμων, και οι 7 εταιρίες χαρακτηρίστηκαν με χαμηλής μικροβιολογικής ποιότητας πόσιμο νερού. Πολλά τουριστικά καταλύματα διαθέτουν εγκαταστάσεις υδάτων αναψυχής (κολυμβητικές δεξαμενές, δεξαμενές υδρομάλαξης) οι οποίες έχουν συσχετιστεί στο παρελθόν με χαμηλή ποιότητα νερού (Bouwknegt et al., 2013; Guida et al., 2009; Hadjichristodoulou et al., 2006; Hajdu et al., 2008; Maida et al., 2008; Mouchtouri et al., 2007a; Mouchtouri et al., 2010).

Στο Διάγραμμα 1 παρουσιάζεται ο αριθμός των περιστατικών της Νόσου των Λεγεωνάριων που συνδέονται με ταξίδια. Το 2009 καταγραφήκαν 824 επιβεβαιωμένα μεμονωμένα περιστατικά της Νόσου των Λεγεωνάριων που συνδέονται με ταξίδια

παρουσιάζοντας μια πτώση σε σύγκριση με το 2007 και 2008 που καταγράφηκαν 974 και 871 ενώ το 2010 καταγράφηκαν 864 (Guyard and Low, 2011; Joseph and Ricketts, 2010). Η πτώση δεν είναι απαραίτητο ότι αντικατοπτρίζει πραγματική μείωση των περιστατικών λόγω καλύτερης αντιμετώπισης της νόσου αλλά λόγω της οικονομικής κρίσης που επηρεάζει τον κλάδο του τουρισμού στην Ευρώπη. Η αύξηση των περιστατικών του 2010 συμβαδίζει με την αύξηση στις μεταφορές και στα ταξίδια για το ίδιο έτος. Από τα 864 τα 24 περιστατικά δεν είχαν θετική κατάληξη.

Από τα δεδομένα του 2010, οι περιπτώσεις που αφορούσαν άνδρες (μέση ηλικία 61 έτη) ήταν περισσότερες από αυτές που αφορούσαν γυναίκες (μέση ηλικία 63 έτη). Από τα 100 νέα κατά συρροή κρούσματα τα 44 αφορούσαν μόνο ένα περιστατικό από κάθε χώρα και δεν θα ήταν δυνατόν να ανιχνευτεί μέσω των εθνικών δικτύων επιδημιολογικής επιτήρησης. Η *Legionella* ανιχνευτική στα 61 από τα 100 καταλύματα που παρουσίασαν κατά συρροή κρούσματα. (de Jong *et al.*, 2013)



**Διάγραμμα 1: Αριθμός περιστατικών της νόσου των Λεγεωναρίων που συνδέονται με ταξίδια**

Το 2010, 1272 τουριστικά καταλύματα καταγράφηκαν στο ELDSNet. Η Ιταλία με 279 καταλύματα ήταν η χώρα με τα περισσότερα κατά συρροή κρούσματα με την Γαλλία να ακολουθεί με 236 και την Ισπανία με 135 καταλύματα. Τα καταλύματα αυτών των τριών χωρών αφορούν το 50% των καταγραφών.

Από το 2003 έως το 2007, 21% (n=100/477) των καταλυμάτων που εμφάνισαν κατά συρροή 2 ή περισσότερων κρουσμάτων και επιθεωρήθηκαν από το EWGLINET συσχετίστηκαν με τουλάχιστον ένα ακόμα περιστατικό παρόλο που είχε γίνει αναφορά για επιτυχή εφαρμογή μέτρων ελέγχου κατά την πρώτη καταγραφή των κρουσμάτων (Ricketts *et al.*, 2010).

Η Αγγλία, η Ολλανδία, η Γαλλία και Δανία επιλέχτηκαν ως χώρες αναφοράς σε μελέτη που αφορούσε την επικινδυνότητα της Νόσου των Λεγεωναρίων που οφείλονται σε

ταξίδια. Η μελέτη αναφέρει ότι ο κίνδυνος των ταξιδιωτών αυτών των χωρών να μολυνθούν από το βακτήριο της *Legionella* ήταν μεγαλύτερος όταν ταξίδευαν στην Ελλάδα, Ιταλία, Πορτογαλία, Γερμανία, Αυστρία και Ισπανία και μικρότερη όταν ταξιδεύουν στην Αγγλία (Beaute *et al.*, 2012b).



Εικόνα 4: Κίνδυνος των ταξιδιωτών από Δανία, Γαλλία, Ολλανδία και Αγγλία που ταξίδεψαν σε χώρες της Ευρώπης. Ο κίνδυνος εμφανίζεται σε χώρες όπου οι ταξιδιώτες διανυκτέρευσαν τουλάχιστον 5 εκατομμύρια νύχτες σε ταξιδιωτικά καταλύματα το 2009 (περιπτώσεις ανά εκατομμύριο βράδια). (Beaute *et al.*, 2012a)

### 2.3.2. Επιδημιολογικά και περιβαλλοντικά δεδομένα της παρουσίας της *Legionella* στην Ελλάδα

Η *Legionella pneumophilla* απομονώθηκε, ταυτοποιήθηκε και συσχετίστηκε με περιστατικά Λεγεωνέλλωσης για πρώτη φορά στην Ελλάδα το 1989 σε δίκτυο ύδρευσης ξενοδοχειακής μονάδας. Από το 1987 έως το 2008, 441 περιστατικά *Legionella* καταγράφηκαν σε τουρίστες στην Ελλάδα στο Ευρωπαϊκό Πρόγραμμα Επιτήρησης για τη Νόσο των Λεγεωναρίων που σχετίζεται με τα ταξίδια (EU-OSHA, 2011).

Το 2009 στην Ελλάδα η αναλογία της Νόσου των Λεγεωνάριων ήταν 0.13/100,000 πληθυσμό συγκρινόμενο με την αναλογία 1.30/100,000 πληθυσμού για την Ολλανδία και 2.63/100,000 στην Ισπανία (Naik *et al.*, 2012). Από το 2000 έως και σήμερα κάτοικοι της Αγγλίας και Ουαλίας έχουν συσχετιστεί με 10 κατά συρροή κρούσματα στην Ελλάδα, εκ των οποίων τα 7 αφορούσαν την Κέρκυρα.

Σε μελέτη που έγινε το 2009 στην πόλη της Πάτρας συλλέχτηκαν 25 δείγματα νερού στα 36% των δειγμάτων ανιχνεύτηκε *L. pneumophilla*. Εννέα δείγματα ήταν από τις βρύσες του κρύου νερού του ξενοδοχείου, 9 από τα ντουζ και 7 από πύργους ψύξης. (Fragou *et al.*, 2012)

Στην ίδια μελέτη αναφέρεται πως μόνο λίγα δείγματα στα οποία ανιχνεύτηκε Λεγεωνέλλα παρουσίασαν υψηλό pH και αυτό υποδηλώνει ότι το pH επηρεάζει την διαλυτοποίηση των μετάλλων όπως ο χαλκός ο οποίος βρίσκεται συχνά μέσα στα δίκτυα

ύδρευσης και είναι παράγοντας ο οποίος επηρεάζει την ανάπτυξη της *Legionella* (Fragou et al., 2012; Kusnetsov et al., 2003).

Σε μελέτη των Mouchtouri et al (2007) ο αποικισμός 385 ξενοδοχειακά καταλύματα με *Legionella* ήταν 20.8%. Η *Legionella* συσχετίστηκε με την παρουσία μπόιλερ, με τη θερμοκρασία και την παρουσία συστήματος απολύμανσης (Mouchtouri et al., 2007b).

Το 2011, το διάστημα από τον Αύγουστο έως και τον Οκτώβριο, 14 περιστατικά της Νόσου των Λεγεωνάριων επιβεβαιώθηκαν σε Άγγλους τουρίστες που είχαν ταξιδέψει στην Κέρκυρα 14 ημέρες πριν την εμφάνιση των συμπτωμάτων (Naik et al., 2012).

## Κεφάλαιο 3: Παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη της *Legionella*

Τα περιβαλλοντικά βακτήρια χαρακτηρίζονται από την ικανότητα τους να επιβιώνουν σε διάφορα περιβάλλοντα (Hilbi *et al.*, 2011). Η παρουσία και ανάπτυξη του βακτηρίου της *Legionella* έχει συσχετιστεί με παραμέτρους όπως η θερμοκρασία, το pH, το στάσιμο νερό στις σωληνώσεις, το είδος και η συγκέντρωση μικροβιακού φορτίου, η ποσότητα των απολυμαντικών, οι συγκεντρώσεις ιχνοστοιχείων και η παρουσία βιομεμβράνης της οποίας η σύσταση επηρεάζεται από όλα τα παραπάνω.

Ο αποικισμός των δικτύων ύδρευσης από το βακτήριο της *Legionella* επηρεάζεται από παράγοντες που η παρουσία τους οφείλεται:

- i. στις φυσικοχημικές ιδιότητες του νερού
- ii. στην κατασκευή και τρόπο λειτουργίας του δικτύου
- iii. στην απολύμανση του νερού.

Η κατανόηση των παραμέτρων και πως αυτές επηρεάζουν την ανάπτυξη και επιβίωση της *Legionella* μπορεί να βοηθήσει στην καταπολέμηση της και στην αποτελεσματική αντιμετώπιση της. Στις παρακάτω παραγράφους περιγράφεται ο τρόπος με τον οποίο κάθε ένα από τους προαναφερθέντες παράγοντες επηρεάζει την παρουσία και ανάπτυξη της *Legionella* στα δίκτυα ύδρευσης πόσιμου νερού.

### 3.1. Επίδραση των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών του νερού

#### 3.1.1. pH

Το βακτήριο της *Legionella* αντέχει σε όξινα περιβάλλοντα και έχει απομονωθεί σε από περιβαλλοντικές πηγές με pH από 2,7 έως 8,3. Οι τιμές του pH που προωθούν την ανάπτυξη της *Legionella* στα δίκτυα ύδρευσης είναι από 5 έως 8.5 (Bissen and Johann.J, 2004).

Μελέτες υποδεικνύουν ότι υπάρχει συσχέτιση ανάμεσα στη *Legionella* και στο pH (Kusnetsov *et al.*, 2003; Lasheras *et al.*, 2006; Leoni *et al.*, 2005). Έχει παρατηρηθεί πως η τιμή του pH είναι σταθερή σε ξενοδοχεία που είναι σε λειτουργία όλο το χρόνο σε σύγκριση με τα εποχιακά (Rakic *et al.*, 2011) ενώ ο τρόπος δειγματοληψίας (άμεσος ή έμμεσος) δεν επηρεάζει την τιμή του (Serrano-Suarez *et al.*, 2013).

Ακόμα και σε μελέτες όπου το pH δεν συσχετίστηκε με την παρουσία της *Legionella*, παρουσιάζεται πως η συγκέντρωση του βακτηρίου αυξάνεται οπότε ευνοεί την ανάπτυξη της. Υπάρχουν όμως και μελέτες που δεν έχουν βρει συσχέτιση με τις συγκεντρώσεις αλλά αυτό ίσως να οφείλεται στο μικρό αριθμό δειγμάτων (Fragou *et al.*,



2012). Οι τιμές του pH επηρεάζουν έμμεσα την παρουσία της *Legionella* λόγω της επιρροής που έχει το pH στις συγκεντρώσεις του χαλκού, στη διάβρωση των σωληνώσεων και στην αποτελεσματικότητα της απολύμανσης. Έχει παρατηρηθεί στατιστικά σημαντική αντίστροφη συσχέτιση του pH με τις συγκεντρώσεις του χαλκού του οποίου η παρουσία σε συγκεκριμένες συγκεντρώσεις είναι ένας ανασταλτικός παράγοντας για την ανάπτυξη της *Legionella*. Αυτό ίσως να σημαίνει ότι το pH βοηθά στην διαλυτοποίηση των μετάλλων όπως ο χαλκός (Leoni *et al.*, 2005). Επίσης, όσο πιο χαμηλό είναι το pH τόσο πιο υψηλό είναι ο βαθμός της διάβρωσης των σωληνώσεων ενώ για να είναι αποτελεσματική η απολύμανση του δικτύου το pH θα πρέπει να είναι <8 (WHO, 2007b).

### 3.1.2. Θερμοκρασία

Η θερμοκρασία είναι μια από τις πιο σημαντικές παραμέτρους που επηρεάζουν την ανάπτυξη και μορφολογία των βακτηρίων (Konishi *et al.*, 2006). Μελέτες υποδεικνύουν ότι ο αποικισμός του δικτύου με το βακτήριο της *Legionella* επηρεάζεται σημαντικά από την θερμοκρασία του νερού (Beaute *et al.*, 2012a; Bonetta *et al.*, 2010; Borella *et al.*, 2005a; Borella *et al.*, 2005b; Buse *et al.*, 2012; HSE, 2000; Konishi *et al.*, 2006; Kusnetsov *et al.*, 2003; Kusnetsov *et al.*, 1993; Leoni *et al.*, 2005; Steinert *et al.*, 2002).

Η θερμοκρασία που ευνοεί την ανάπτυξη της *Legionella* είναι από 20°C έως 45°C με ιδανική θερμοκρασία από 35°C έως 45°C (Buse *et al.*, 2012; European Centre for Disease Prevention and Control, 2012; Mathys *et al.*, 2008). Η *Legionella* δεν επιβιώνει σε θερμοκρασίες κάτω από 20°C και πάνω από 60°C (WHO, 2007a). Αλλά χαμηλές θερμοκρασίες (<15°C) βοηθούν την *Legionella* να εισχωρήσει στις βιομεμβράνες (Giao *et al.*, 2009). Πρόσφατη μελέτη της Fragou *et al.* (2012) παρατήρησε ότι ο επιπολασμός της *Legionella* σε δείγματα νερού ήταν συχνός σε δείγματα με θερμοκρασία μεταξύ 20°C και 50°C. Σε μελέτη του Borella *et al.* (2005) παρατηρήθηκε προστασία του δικτύου από αποικισμό με *Legionella* όταν η θερμοκρασία του δικτύου ήταν >60°C και σε λιγότερο βαθμό όταν ήταν >55°C. Τα αποτελέσματα όμως αυτά δεν ήταν ίδια όταν συσχετίστηκε η θερμοκρασία με *Legionella* οροτυπου 1 γεγονός που υποδηλώνει ότι η *Legionella* οροτυπου 1 είναι πιο ανθεκτική σε υψηλές θερμοκρασίες (Borella *et al.*, 2005a).

Η μείωση των συγκεντρώσεων της *Legionella* σε θερμοκρασίες > 60°C επιβεβαιώνεται και από άλλες μελέτες (Fragou *et al.*, 2012; Serrano-Suarez *et al.*, 2013).

Ο Bonetta *et al.* (2011) σε μελέτη συστημάτων διανομής ζεστού νερού 19 ξενοδοχειακών μονάδων παρατήρησε ότι η πιο υψηλές θερμοκρασίες (43 έως 70°C) καταγράφηκαν κοντά στα συστήματα θέρμανσης του ζεστού νερού (boiler) ενώ στο 86% των δειγμάτων η θερμοκρασία στους κατεονιστήρες στα δωμάτια ήταν χαμηλότερη και τα περισσότερα ήταν αποικισμένα με *Legionella*. Επιβεβαιώνεται η ανάγκη να διατηρείται η θερμοκρασία του νερού σε όλο το δίκτυο πάνω από 60°C.

Η *Legionella* όμως έχει επίσης την ικανότητα να επιβιώνει σε χαμηλές θερμοκρασίες (<20°C) για αρκετό διάστημα και να πολλαπλασιάζεται όταν η θερμοκρασία αυξηθεί και

όταν επικρατούν ευνοϊκές περιβαλλοντικές συνθήκες (Buse et al., 2012; Wullings et al., 2011).

Υψηλές θερμοκρασίες ευνοούν επίσης την ανάπτυξη των αμοιβάδων οπότε έχουμε υψηλότερες συγκεντρώσεις μετά από θερμή περίοδο (Lau and Ashbolt, 2009).

Τέλος η θερμοκρασία επηρεάζει και τις τιμές του pH. Έχει παρατηρηθεί μείωση του pH κατά 0.45 όταν η θερμοκρασία είναι  $> 25^{\circ}\text{C}$  (WHO, 2007b).

### 3.1.3. Άλατα και Σκληρότητα

Τα άλατα στο δίκτυο ύδρευσης παρουσιάζονται λόγω της κατακρήμνισης των υδροποιημένων ανόργανων αλάτων. Τα συνήθη ανόργανα συστατικά των φυσικών νερών είναι το ασβέστιο (Ca), το μαγνήσιο (Mg), το νάτριο (Na), το κάλιο (K), τα όξινα ανθρακικά ( $\text{HCO}_3^-$ ), τα ανθρακικά ( $\text{CO}_3^-$ ), τα χλωριούχα (Cl), τα θειικά ( $\text{SO}_4^{2-}$ ), τα νιτρικά ( $\text{NO}_3^-$ ), και τα πυριτικά. Οι συγκεντρώσεις των όξινων ανθρακικών για τα πόσιμα νερά στην Ελλάδα κυμαίνονται από 200-400mg/L ενώ οι συγκεντρώσεις των υπόλοιπων στοιχείων κυμαίνονται απ 1-100 mg/L. Η δημιουργία αλάτων επηρεάζεται από τις συγκεντρώσεις ασβεστίου (Ca), μαγνησίου (Mg), την αλκαλικότητα, το pH, την θερμοκρασία και την συγκέντρωση των Ολικά Διαλυμένων Στερεών (Total Dissolved Solids, TDS).

Η δημιουργία αλάτων στο δίκτυο προκαλεί:

- απώλεια της μεταφοράς της θερμότητας,
- μείωση του ρυθμού ροής,
- μείωση της αποδοτικότητας του δικτύου και
- δημιουργία εναποθέσεων και διάβρωση

Η *Legionella* έχει συσχετιστεί με τις παραπάνω εναποθέσεις μιας και παρέχουν προστασία στα βακτηρία από τα απολυμαντικά (HSE, 2000).

Η σκληρότητα είναι μια παράμετρος που εκφράζει την περιεκτικότητα του νερού σε πολυσθενή κατιόντα κυρίως ασβεστίου ( $\text{Ca}^{2+}$ ) και μαγνησίου ( $\text{Mg}^{2+}$ ). Τα νερά χαρακτηρίζονται με βάση τη σκληρότητα ως:

- **Μαλακά** χαρακτηρίζονται τα νερά με σκληρότητα 0 – 100 mg/L ισοδύναμο  $\text{CaCO}_3$ .
- **Μέσης** σκληρότητας τα νερά με σκληρότητα 100 – 200 mg/L ισοδύναμο  $\text{CaCO}_3$ .
- **Σκληρά** τα νερά με σκληρότητα 200 – 300 mg/L ισοδύναμο  $\text{CaCO}_3$ .
- **Πολύ σκληρά** τα νερά με σκληρότητα μεγαλύτερη από 300 mg/L ισοδύναμο  $\text{CaCO}_3$

Νερό με σκληρότητα μέχρι και 500 mg/L ισοδύναμο CaCO<sub>3</sub> μπορεί να χρησιμοποιηθεί για πόσιμο, αλλά οι πιο αποδεκτές τιμές είναι μεταξύ **80 και 150** mg/L ισοδύναμο CaCO<sub>3</sub>.

Οι μελέτες για το εάν η σκληρότητα επηρεάζει την ανάπτυξη της *Legionella* σε δίκτυα ύδρευσης είναι αντικρουόμενες. Υπάρχουν μελέτες που βρήκαν θετική συσχέτιση ανάμεσα στην σκληρότητα και στην *Legionella* (Lasheras *et al.*, 2006), αρνητική συσχέτιση (Kusnetsov *et al.*, 2003) και καθόλου συσχέτιση (Bonetta *et al.*, 2010). Η συσχέτιση της παρουσίας της *Legionella* με την σκληρότητα φαίνεται να είναι πιο ισχυρή από την ανάπτυξη της (Serrano-Suarez *et al.*, 2013). Έχουν γίνει επίσης και μελέτες όσον αφορά τους διαφορετικούς ορότυπους. Η ολική σκληρότητα ήταν σημαντικά μικρότερη στα θετικά δείγματα με *Legionella pneumophila* οροτύπου 1 σε σύγκριση με αυτά με *Legionella* οροτύπου 2-14 (Borella *et al.*, 2005a).

Είναι σύνηθες φαινόμενο στα ξενοδοχειακά καταλύματα η χρήση αποσκληρωτών νερού. Το μαλακό νερό όπως χαρακτηρίζεται έχει την ιδιότητα να μειώνει την πιθανότητα δημιουργίας βιομεμβράνης στο δίκτυο αλλά αυξάνει την πιθανότητα δημιουργίας σκουριάς (Serrano-Suarez *et al.*, 2013).

#### 3.1.4. Θολερότητα

Η θολερότητα είναι μία εξίσου σημαντική παράμετρος που επηρεάζει την ποιότητα του πόσιμου νερού του δικτύου. Η θολερότητα έχει συσχετιστεί με αποικισμό δικτύου με *Legionella* (Edagawa *et al.*, 2008; Kusnetsov *et al.*, 2003). Αυτή η θετική συσχέτιση μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός ότι η θολερότητα επηρεάζει την αποτελεσματικότητα της απολύμανσης του νερού (Jolis *et al.*, 2001; Maya *et al.*, 2003; WHO, 2007a).

#### 3.1.5. Ιχνοστοιχεία - Βαρέα Μέταλλα

Τα ιχνοστοιχεία επηρεάζουν την ανάπτυξη της *Legionella* στα δίκτυα ύδρευσης. Στις παρακάτω παραγράφους παρουσιάζεται ο τρόπος με τον οποίο τα ιχνοστοιχεία συσχετίζονται με την παρουσία και ανάπτυξη της *Legionella*. Στο Παράρτημα 2 παρουσιάζονται οι μελέτες συσχέτισης φυσικοχημικών παραμέτρων με το βακτήριο της *Legionella* ανά μελέτη.

#### Σίδηρος (Fe)

Ο Σίδηρος υπάρχει κυρίως στα υπόγεια νερά που διέρχονται από πετρώματα πλούσια σε άλατα σιδήρου. Ο σίδηρος έχει την ιδιότητα να αποχρωματίζει το νερό και να δίνει στο νερό γεύση που είναι ανιχνεύσιμη σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις. Ο σίδηρος στα δίκτυα ύδρευσης ευνοεί την ανάπτυξη των βακτηρίων και δημιουργία εναποθέσεων. Η εγκαθίδρυση του σιδήρου επηρεάζεται από την αυξημένη βιολογική δραστηριότητα στα δίκτυα ύδρευσης και κυρίως τους καλοκαιρινούς μήνες.

Η παρουσία και συγκεντρώσεις της *Legionella* έχουν συσχετιστεί θετικά με τις συγκεντρώσεις του Σιδήρου (Fe) (Edagawa et al., 2008; Serrano-Suarez et al., 2013). Συγκεκριμένα, συγκεντρώσεις του σιδήρου  $Fe > 42 \mu\text{g l}^{-1}$  **αυξάνουν την πιθανότητα αποικισμού** με *Legionella* **κατά 2.2** φορές σε συστήματα διακίνησης ζεστού νερού (Bargellini et al., 2011).

### **Μαγγάνιο (Mn)**

Το μαγγάνιο επηρεάζει την ανάπτυξη της *Legionella*. Συγκεντρώσεις  $Mn > 6 \mu\text{g l}^{-1}$  **αύξησαν την πιθανότητα αποικισμού κατά 3.2** φορές σε συστήματα διακίνησης ζεστού νερού (Bargellini et al., 2011). Το μαγγάνιο φαίνεται πως ευνοεί την ανάπτυξη της με *L. pneumophilla* με ορότυπο 1. Σε μελέτη των Borella et al (2005a) παρατηρήθηκε πως οι συγκεντρώσεις του μαγγανίου ήταν πιο **υψηλές** σε δείγματα αποικισμένα με *L. pneumophilla* **ορότυπου 1** από ότι σε δείγματα αποικισμένα με ορότυπο 2 έως 14.

### **Χαλκός (Cu)**

Λογω της διάβρωσης των σωληνώσεων σημαντικές ποσότητες χαλκού διαλύονται στο πόσιμο νερό. Αν το νερό μείνει στάσιμο για 12 ώρες στις σωληνώσεις η συγκέντρωση χαλκού μπορεί να υπερβεί τα 20 mg/L.

Η παρουσία του χαλκού στις σωληνώσεις του πόσιμου νερού αποτελεί ανασταλτικό παράγοντα για τον αποικισμό του δικτύου ύδρευσης (Bargellini et al., 2011; Borella et al., 2005a; Leoni et al., 2005; Rakic et al., 2011; Serrano-Suarez et al., 2013). Μελέτες έχουν ολοκληρωθεί για την ποσοτικοποίηση της συγκέντρωσης του χαλκού στο πόσιμο νερό για την οποία η παρουσία του αποτελεί ανασταλτικό παράγοντα για την *Legionella*. Σε μελέτη των Borella et al (2005<sup>a</sup>) παρατηρήθηκε πως οι συγκεντρώσεις του χαλκού  $> 50 \mu\text{g/L}$  στο πόσιμο νερό μειώνει την πιθανότητα αποικισμού του συστήματος διακίνησης ζεστού νερού με *Legionella*.

Χαμηλές συγκεντρώσεις χαλκού ευνοούν την ανάπτυξη του βακτηρίου της *Legionella* ορότυπου 2-14. Σε μελέτη των Borella et al (2005a) παρατηρήθηκε πως οι συγκεντρώσεις του χαλκού ήταν πιο χαμηλές σε δείγματα αποικισμένα με *Legionella* ορότυπου 2-14 σε σύγκριση με δείγματα από μη αποικισμένα δίκτυα (Borella et al., 2005a).

Τέλος, η παρουσία του χαλκού και ιδιαίτερα σε συγκέντρωσης  $> 200 \mu\text{g l}^{-1}$  συμβάλει στην αποτελεσματικότητα της απολύμανσης με ιονισμό του νερού με χαλκό και άργυρο (Shih and Lin, 2010).

## Ψευδάργυρος (Zn)

Πηγή του ψευδάργυρου στο νερό είναι η διάβρωση γαββανισμένων σωληνώσεων. Οι συγκεντρώσεις του ψευδάργυρου είναι μεγαλύτερες στα ξενοδοχεία που μένουν ανοιχτά όλο το χρόνο (Rakic *et al.*, 2011). Υψηλές συγκεντρώσεις του Ψευδάργυρου ευνοούν την ανάπτυξη της *Legionella* (Leoni *et al.*, 2005). Συγκεκριμένα, συγκεντρώσεις Zn >375  $\mu\text{g l}^{-1}$  αυξάνουν την πιθανότητα αποικισμού κατά 2.3 φορές (Bargellini *et al.*, 2011) ενώ φαίνεται πως ευνοεί την ανάπτυξη της με *L. pneumophilla* με ορότυπο 2 έως 14. Σε μελέτη των Borella *et al.* (2005a) παρατηρήθηκε πως οι συγκεντρώσεις του ψευδαργύρου ήταν πιο χαμηλές σε δείγματα αποικισμένα με *L. pneumophilla* ορότυπου 1 από ότι σε δείγματα αποικισμένα με ορότυπο 2 έως 14.

## 3.2. Επίδραση άλλων παραμέτρων

### 3.2.1. Βιομεμβράνες

Η ανάπτυξη βιομεμβράνης μέσα στις σωληνώσεις των δικτύων ύδρευσης είναι σύνηθες φαινόμενο. Η βιομεμβράνη μπορεί να επηρεάσει την λειτουργία του δικτύου και την ασφάλεια του πόσιμου νερού λόγω της διάβρωσης που μπορεί να προκαλέσει, την δημιουργία άσχημων οσμών αλλά και την συσσώρευση μικροβίων.

Οι βιομεμβάνες μπορούν να φιλοξενήσουν πρωτόζωα (π.χ. *Cryptosporidium*), παθογόνα βακτήρια όπως η *Legionella* αλλά και εντεροϊούς (π.χ. Νοροϊούς, Αδενοϊούς κ.α.) (Abe *et al.*, 2012; Wingender and Flemming, 2011). Στην πραγματικότητα το 95% των βακτηρίων που αποικίζει ένα δίκτυο ύδρευσης βρίσκεται στις επιφάνειες και μόλις το 5% είναι σε υδατική φάση (Flemming *et al.*, 2002)

Η επίδραση της σύστασης και δομής της βιομεμβράνης και η παρουσία και αλληλεπίδραση παθογόνων και μη παθογόνων μικροοργανισμών (είτε ανταγωνιστικά είτε προωθώντας την ανάπτυξη) στα δίκτυα ύδρευσης θεωρείται πιο σημαντική από τους φυσικοχημικούς παραμέτρους στα δίκτυα ύδρευσης (Felfoldi *et al.*, 2010).

Η σύσταση της βιομεμβράνης εξαρτάται από:

- την κατάσταση του δικτύου ύδρευσης (ρυθμός ροής νερού, έκθεση σε φως)
- την ποιότητα του νερού (θερμοκρασία)
- τις φυσικοχημικές ιδιότητες του νερού (παρουσία θρεπτικών συστατικών)

Οι βιομεμβράνες παίζουν σημαντικό ρόλο στον αποικισμό των δικτύων ύδρευσης του πόσιμου νερού από βακτήρια όπως η *Legionella*. Αποτελούνται κατά ένα μεγάλο μέρος από πολυσακχαρίτες οι οποίοι απεκκρίνονται από τα βακτήρια ενώ οι στρώσεις των πολυσακχαριτών στις σωληνώσεις εμποδίζουν την εισχώρηση των δραστικών ενώσεων

προσφέροντας έτσι προστασία από τα απολυμαντικά στα βακτήρια που υπάρχουν μέσα στις βιομεμβράνες (Bridier et al., 2011; Burmolle et al., 2006; Taylor et al., 2009). Οι βιομεμβράνες συμπεριφέρονται ως βακτηριακές κοινότητες και όχι σαν συσσωματώματα επιμέρους κυττάρων. Η *Legionella* αλληλεπιδρά με τους μικροοργανισμούς που περιέχονται στη βιομεμβράνη και παίρνει την απαιτούμενη ποσότητα άνθρακα, αζώτου, και αμινοξέων (απαραίτητα για τον πολλαπλασιασμό της) (Ewann and Hoffman, 2006; Franzus et al., 1984; Lau and Ashbolt, 2009).

Η *Legionella* μπορεί να επιβιώσει σε χαμηλές συγκεντρώσεις βιομεμβράνων (<0.12  $\mu\text{g C/m}^2$ ) σε σωληνώσεις με υψηλό ρυθμό αντικατάστασης του όγκου του νερού (van der Koij et al., 2005).

### 3.2.2. Υψηλή συγκέντρωση μικροβιακού φορτίου (πρωτόζωα, άλγη, αμοιβάδες, άλλα βακτήρια)

Τα απαραίτητα συστατικά για την αναπαραγωγή της *Legionella* παράγονται από πρωτόζωα, νεκρά βακτήρια και από άλλες μορφές μικροχλωρίδας που υπάρχουν στις βιομεμβράνες και τα οποία η *Legionella* έχει την ικανότητα να παρασιτεί (Lasheras et al., 2006). Όταν τα πρωτόζωα το οποίο παρασιτεί δεν παράγει πια την απαιτούμενη ποσότητα των θρεπτικών συστατικών που χρειάζεται τότε δημιουργείται ένα μαστίγιο για να μπορέσει να βγει από το κύτταρο ξενιστή και να παρασιτήσει κάποιο άλλο (Byrne and Swanson, 1998; Pruckler et al., 1995). Τα μαστίγια δεν είναι απαραίτητα έτσι ώστε η *Legionella* να μολύνει άλλα πρωτόζωα αλλά η παρουσία τους έχει συσχετιστεί με την μολυσματικότητα της (Pruckler et al., 1995).

Επίσης η *Legionella* η οποία αναπαράγεται μέσα σε αμοιβάδες μπορεί να μολύνει αλλά μακροφάγα με ρυθμό 10 φορές μεγαλύτερο από ότι η *Legionella* που έχει αναπαραχθεί εξωκυτταρικά (Cirillo et al., 1994). Η αυξημένη μολυσματικότητα επιτρέπει στην *Legionella* να αποικίσει εκ νέου ακόμα και δίκτυα ύδρευσης μετά από απολύμανση μιας και η ενδοκυτταρική *Legionella* που θα επιβιώσει θα είναι πιθανό να μολύνει άλλα πρωτόζωα (Taylor et al., 2009).

Η *Legionella* μπορεί να αναπτυχθεί μέσα σε τουλάχιστον 20 είδη αμοιβάδων, 2 βλεφαριοδοφόρα πρωτόζωα και ένα είδος μούχλας (Lau and Ashbolt, 2009). Μελέτες αποδεικνύουν την ενδοκυτταρική ανάπτυξη της *Legionella* σε *Naegleria lovaniensis*, *Acanthamoeba royerba* and *Harmannellid* amoeba, *Dictyostelium*, *Babamythia* ενώ τα πρωτόζωα που απομονώνονται πιο συχνά από δίκτυα αποικισμένα με *Legionella* είναι τα *Acanthamoeba*, *Hartmannella* και η *Naegleria* (Declerck et al., 2009; Steinert et al., 2002; Thomas et al., 2010). Άλλα είδη που έχουν συσχετιστεί με την παρουσία είναι η *Saccamoeba*, *Vaxillifera* και *Platyamoeba* (Steinert et al., 2007). Τα πρωτόζωα παρέχουν λοιπόν στην *Legionella* τα απαιτούμενα θρεπτικά συστατικά και την προστατεύουν από δυσμενής περιβαλλοντικές συνθήκες. Ιδίως μέσα στις κύστες της *Acanthamoeba* η *Legionella* ήταν δυνατόν να επιβιώσει υψηλές θερμοκρασίες και διαδικασίες απολύμανσης (Barker et al., 1992; Farhat et al., 2012; Kilvington and Price, 1990; Rowbotham, 1986).

Σε μελέτη των Lasheras et al (2006) δεν απομονώθηκε ούτε *Legionella* ούτε αμοιβάδες σε θερμοκρασίες πάνω από 58.8°C Παρόλο που η *Legionella* έχει βρεθεί να παρασιτεί σε πρωτόζωα κρύου νερού όπως *Tetrahymena vorax*, έχει αποδειχτεί ότι η *Legionella* δεν μπορεί να πολλαπλασιαστεί σε αυτά σε θερμοκρασίες <25°C (Barbaree et al., 1986; Smith-Somerville et al., 1991).

Τέλος, τα εισπνεόμενα πρωτόζωα φαίνονται να λειτουργούν και ως μέσο αποτελεσματικής μετάδοσης στους ανθρώπους (Harb et al., 1998; Patrizia et al., 2013)

Ο παρασιτισμός των πρωτόζωων είναι η πρώτη τεχνική επιβίωσης της *Legionella* αλλά όταν αυτό δεν είναι εφικτό έχει την ικανότητα να χρησιμοποιεί άλλους τρόπους για την παράγωγη της όπως:

- Η δημιουργία μικρο-αποικιών μέσα σε βιομεμβράνες που έχουν δημιουργηθεί στο εργαστήριο χωρίς την παρουσία αμοιβάδων
- Παρόλο που εργαστηριακά απαιτείται κυστεΐνη για την ανάπτυξη της έχει αναπτυχτεί και παρουσία του βακτηρίου *Flavobacterium breve*
- Μπορεί επίσης να αναπτυχθεί σε σχέση με αυτότροφα βακτήρια όπως τα κυανοβακτήρια.

Ο ρόλος της Ψευδομονάδας στην επιβίωση της *Legionella* είναι μια ακόμα παράμετρος που δημιουργεί διχασμό στους ερευνητές. Σε μελέτη των Frafou et al (2012) σε ξενοδοχειακά καταλύματα και νοσοκομεία δεν βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ της ανάπτυξης της *P. Aeruginosa* και συγκεντρώσεων της *Legionella* ( $P > 0.05$ ). Σε αντίθεση οι Borella et al (2005) αναφέρουν πως πολλοί μικροοργανισμοί στο νερό όπως η Ψευδομονάδα παράγει βακτηριοσίνες οι οποίες δρουν κατασταλτικά για το βακτήριο της *Legionella*. Έχει παρατηρηθεί ότι σε δίκτυα με υψηλές συγκεντρώσεις όπου αυτοί οι μικροοργανισμοί καταστρέφονται θα μπορούσε πιθανόν να αυξηθεί ο πληθυσμός της *Legionella* (Borella et al., 2005a).

Συγκεντρώσεις της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας πάνω από  $1 \times 10^5$  CFU/100mL στους 37°C στο πόσιμο νερό αυξάνει την πιθανότητα αποικισμού του συστήματος διακίνησης ζεστού νερού με *Legionella* (Serrano-Suarez et al., 2013)

### 3.2.3. Σωληνώσεις υδραυλικών εγκαταστάσεων

Το δίκτυο ύδρευσης αποτελείται από δεξαμενές, σωληνώσεις, βαλβίδες και άλλα εξαρτήματα. Το υλικό των σωληνώσεων επηρεάζει την επικόλληση των βακτηρίων στο εσωτερικό των σωληνώσεων και για αυτό αποτελεί και μια από τις σημαντικές παραμέτρους μαζί με τα υπόλοιπα φυσικά χαρακτηριστικά και τη σταθερότητα του υλικού (Chowdhury, 2011).

Οι υδραυλικές συνθήκες του δικτύου έχουν την ικανότητα να επηρεάζουν την ποιότητα του νερού. Η αύξηση του ρυθμού μεταβολής της πίεσης που ασκείται στα τοιχώματα των σωληνώσεων έχει ως αποτέλεσμα την επαναιώρηση των ιζημάτων και την αποκόλληση των βιομεμβράνων, των προϊόντων διάβρωσης και την ενίσχυση τις έκλυσης των προϊόντων της διάβρωσης που είναι ο χαλκός και ο μόλυβδος (Aisopou et

al., 2012). Η χαμηλή πίεση κυρίως στα τουριστικά καταλύματα στα οποία η χρήση των εγκαταστάσεων νερού δεν είναι συνεχής και άρα υπάρχει κίνδυνος τμήματα των σωληνώσεων να μην χρησιμοποιούνται συχνά και άρα να υπάρχει στάσιμο νερό αποτελεί μια ακόμα παράμετρο που επηρεάζει την ανάπτυξη της *Legionella* (European Centre for Disease Prevention and Control, 2012).

Σημαντικές είναι οι εναποθέσεις σκουριάς από τη διάβρωση των σωληνώσεων των δικτύων παίζουν σημαντικό ρόλο γιατί η σκουριά έχει τα εξής χαρακτηριστικά:

- είναι σημαντική πηγή ελεύθερων υλικών μέσα στο νερό και των ιζημάτων των σωληνώσεων
- δημιουργεί ρωγμές και σχισμές στην επιφάνεια των σωληνώσεων παρέχοντας έτσι καταφύγιο στα βακτήρια
- έχει την ικανότητα να εξαντλεί το υπολειμματικό χλώριο σε μεγαλύτερους ρυθμούς και έτσι να οδηγήσει στην ανάπτυξη βιομεμβράνης, οπότε να χρειάζονται μεγαλύτερες ποσότητες χλωρίου. Η αύξηση όμως του χλωρίου σε σωληνώσεις από χιτοσίδηρο προκαλεί χημική διάβρωση δημιουργώντας καρκινογενή προϊόντα (Chowdhury, 2011).

Το υλικό των σωληνώσεων παίζει βασικό ρόλο στην επιβίωση της *Legionella*. Οι μάτ ατσάλινες επιφάνειες λόγω στο ότι είναι πιο επιρρεπείς στην διάβρωση φαίνεται πως ευνοούν την ανάπτυξη των βακτηρίων σε σχέση με σωληνώσεις από PVC, ανοξείδωτο ατσάλι ή χαλκό που είναι υλικά πιο ανθεκτικά στην διάβρωση (Allion et al., 2010; Chowdhury, 2011; HSE, 2000; Hyun-Jung et al., 2011; Pedersen, 1990). Έχει μελετηθεί η ανάπτυξη της *Legionella* σε σωληνώσεις ζεστού νερού (25-35<sup>0</sup>C) από χαλκό, ανοξείδωτο ατσάλι και πολυαιθυλένιο. Η δημιουργία βιομεμβράνης σε επιφάνειες από χαλκό ήταν παρόμοιες με αυτές σε επιφάνειες από ανοξείδωτο ατσάλι άλλα πολύ χαμηλότερες συγκεντρώσεις του βακτηρίου της *Legionella* παρατηρήθηκαν σε νερό από σωληνώσεις και επιφάνειες από χαλκό (van der Kooij et al., 2005). Όμως σε σωληνώσεις από χαλκό σε συνδυασμό με υψηλές θερμοκρασίες και χαμηλό pH αυξάνεται ο ρυθμός μείωσης της συγκέντρωσης της χλωραμίνης στο δίκτυο (Wang et al., 2013). Εργαστηριακές μελέτες παρατήρησαν το χαλκό από έκπλυση των σωληνώσεων, εκτεθειμένο σε χλωριωμένο νερό κάτω από διαφορετικές συνθήκες. Παρατηρήθηκε πως ο ρυθμός μετανάστευσης του χαλκού αυξάνεται στα νερά με υψηλές συγκεντρώσεις και χαμηλό pH (Hong and Macauley, 1998).

Τα μεγάλα κτήρια όπως νοσοκομεία και ξενοδοχεία που έχουν πολύπλοκα δίκτυα ύδρευσης ευνοούν την ανάπτυξη της *Legionella* στο ζεστό και κρύο νερό του δικτύου τους (Chowdhury, 2011). Έχει παρατηρηθεί πως υπάρχει συσχέτιση με τη συγκέντρωση της *Legionella* σε δίκτυα ύδρευσης ξενοδοχείων με το μέγεθος του ξενοδοχείου με τα ξενοδοχεία που είχαν τα περισσότερα δωμάτια να έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα αποικισμού (Fragou et al., 2012). Σε αντίθεση, σε μελέτη του Leonì et al (2005) δεν παρατηρήθηκε σχέση ανάμεσα στο επίπεδο αποικισμού και την απόσταση από τη συσκευή θέρμανσης ζεστού νερού και το μέγεθος του ξενοδοχείου. Η παρουσία δεξαμενών αποθήκευσης νερού στο δίκτυο ύδρευσης είναι σύνηθες φαινόμενο και έχει βρεθεί πως αυξάνει την πιθανότητα αποικισμού της *Legionella* (Borella et al., 2005a). Η στασιμότητα του νερού στις δεξαμενές ενισχύει την δημιουργία βιομεμβράνης και άρα την πιθανότητα αποικισμού στο δίκτυο ύδρευσης (Fragou et al., 2012).



### 3.3. Επίδραση της απολύμανσης του δικτύου

#### 3.3.1. Είδος και συγκέντρωση απολυμαντικών

Ο μηχανικός καθαρισμός των σωληνώσεων όπου αυτό επιτρέπεται και η απολύμανση των δικτύων ύδρευσης είναι απαραίτητη για την έλεγχο των παθογόνων μικροοργανισμών στο δίκτυα και κατά επέκταση τη διασφάλιση της δημόσιας υγείας.

Η απολύμανση του νερού μπορεί να γίνει με χημική ή μη χημική απολύμανση. Στην χημική απολύμανση χρησιμοποιούνται είτε οξειδωτικά (χλώριο, χλωραμίνες, διοξειδίο του χλωρίου, βρώμιο, ιώδιο, υπεροξειδίο του υδρογόνου, όζον) είτε μη οξειδωτικά απολυμαντικά. Η μη χημική απολύμανση μπορεί να γίνει με χρήση υπεριώδους ακτινοβολίας ή με αποστειρωτική διήθηση, με θερμότητα ή με ραδιενεργός ακτινοβολία.

Τα απολυμαντικά έχουν την ικανότητα να αναστέλλουν τον αποικισμό των βακτηρίων στα δίκτυα ύδρευσης πόσιμου νερού μέσω την διατήρηση υπολειμμάτων απολυμαντικού στο δίκτυα αλλά η αποτελεσματικότητά τους επηρεάζεται από αρκετές παραμέτρους όπως:

- το είδος της απολύμανσης
- τα συστατικά του νερού
- το υλικό των σωληνώσεων
- η κατάσταση των σωληνώσεων
- η παρουσία βιομεμβράνης

Οι πιο γνώστες μέθοδοι απολύμανσης είναι με χρήση χλωρίου. Τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει μελέτες που προβάλλοντας τα πλεονεκτήματα της απολύμανσης με χλωραμίνες σε σχέση με το χλώριο. Η χρήση των χλωραμίνων προκαλούν διαφορετική σύσταση των βιομεμβράνων και αυξημένες τιμές στα ολικά κολοβακτηριοειδή. Οι χλωραμίνες έχουν επίσης την ικανότητα να ενεργοποιούν την νιτροποίηση η οποία επιταχύνει την διάσπαση της χλωραμίνης επιτρέποντας έτσι την ανάπτυξη των βακτηρίων. (Pryor et al., 2004; Wang et al., 2013)

Η επίδραση του υλικού των σωληνώσεων στους διαφορετικούς τρόπους χλωρίωσης επιβεβαιώθηκε σε μελέτη όπου η εφαρμογή ελεύθερου χλωρίου οδήγησε σε μεγαλύτερη αδρανοποίηση της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας σε σχέση με τις χλωραμίνες σε σωληνώσεις από χαλκό και PVC ενώ οι χλωραμίνες προσέφεραν μεγαλύτερη αδρανοποίηση σε σωληνώσεις από χάλυβα (Wang et al., 2013).

Συγκεντρώσεις ελεύθερου χλωρίου  $\geq 2$  mg/l και βρώμιου  $\geq 3$  mg/l μείωσαν την πιθανότητα αποικισμού από παθογόνα βακτήρια όπως η *Legionella* (Brousseau et al., 2013). Το διοξειδίο του χλωρίου παρουσιάζει καλύτερα αποτελέσματα σε σχέση με το χλώριο στην αδρανοποίηση της *Legionella* αλλά επιδρά σε σωληνώσεις του δικτύου κατασκευασμένες από πολυπροπυλένιο (Chord et al., 2011; Marchesi et al., 2011)

Η *Legionella* έχει αναπτύξει διάφορες μεθόδους επιβίωσης από τη χλωρίωση (Bodet *et al.*, 2012) με έναν από αυτούς να είναι ο αποικισμός των πρωτόζωων και την προστασία της από αντίξοες περιβαλλοντικές συνθήκες όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενη παράγραφο. Βακτήρια της *Legionella* εγκατεστημένα μέσα σε αμοιβάδα μπορεί να επιβιώσει σε έκθεση 100 ppm συγκεντρώσεις ελεύθερου χλωρίου και στους 80°C για 10 λεπτά, συνθήκες οι οποίες θα αδρανοποιούσαν την *Legionella* σε ένα δίκτυο ύδρευσης (Storey *et al.*, 2004).

Επίσης, παρατηρούνται διαφορές σε σχέση με την επίδραση της χλωρίωσης στους διαφορετικούς ορότυπους της *Legionella*. Η *Legionella* ορότυπου 1 έχει παρατηρηθεί ότι επιβιώνει σε υψηλές συγκεντρώσεις χλωρίου (>100μg liter<sup>-1</sup>) και γενικά να επιβιώνει σε αντίξοες περιβαλλοντικές συνθήκες σε αντίθεση με τη Ψευδομονάδα και τη *Legionella* ορότυπου 2-14 όπου φαίνεται πως αναστέλλεται η δράση της (Borella *et al.*, 2005a).

Η θερμική απολύμανση ή θερμικό σοκ δηλαδή η υψηλή θερμοκρασία του δικτύου για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα (80°C για 10 λεπτά) μπορεί να μειώσει τον αριθμό των πρωτόζωων και των βακτηρίων αλλά δεν επηρεάζει τις κύστες που είναι πιο ανθεκτικές (Schwartz *et al.*, 2003).

Η χρήση υπεριώδους ακτινοβολίας για την αδρανοποίηση των πρωτοζώων είναι εφικτή αλλά σε αντίθεση με τα βακτήρια, χρειάζονται μεγαλύτερες συχνότητες για να είναι αποτελεσματική (Hijnen *et al.*, 2006; Maya *et al.*, 2003). Επίσης όπως αναφέρθηκε και παραπάνω η απολύμανση με UV και με άλλα μέσα, επηρεάζεται από την θολερότητα του νερού (Jolis *et al.*, 2001).

# *Ειδικό Μέρος*

## Κεφάλαιο 4: Μεθοδολογία

Η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε για τη συλλογή, ανάλυση των δειγμάτων, καταχώρηση και ανάλυση των αποτελεσμάτων παρουσιάζεται αναλυτικά στις παρακάτω ενότητες.

### 4.1. Συλλογή δειγμάτων

#### 4.1.1. Γεωγραφική κατανομή δειγμάτων

Οι δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν σε ξενοδοχειακά καταλύματα στις περιοχές της Θεσσαλίας, Πιερίας και Κέρκυρας. Η επιλογή των σημείων δειγματοληψίας έγινε κατόπιν συνεννόησης με τις Διευθύνσεις Δημόσιας Υγείας των αντίστοιχων περιφερειών. Συγκεκριμένα η Περιφερειακή Ενότητα Κέρκυρας επιλέχθηκε λόγω έξαρσης κρουσμάτων Legionellosis τα οποία καταγράφηκαν στο ευρωπαϊκό δίκτυο στο Ευρωπαϊκό Πρόγραμμα Επιτήρησης για τη Νόσο των Λεγεωναρίων που σχετίζεται με τα ταξίδια (European Surveillance Scheme for Travel Associated Legionnaires' Disease, EWGLINET) το 2011 (Naik *et al.*, 2012). Στις περιφέρειες της Θεσσαλίας και Πιερίας, οι δειγματοληψίες ολοκληρώθηκαν μετά από προτροπή του Κέντρου Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ) στα πλαίσια προληπτικού ελέγχου των τουριστικών καταλυμάτων της χώρας (ΔΥΓ2/οικ.70777/ 12-7-12) (Hellenic Ministry of Health, 2012). Η συλλογή των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε σε χρονικό διάστημα 6 μηνών (Μάιος έως Οκτώβριος 2012).

#### 4.1.2. Μέθοδος δειγματοληψίας

Η μέθοδος δειγματοληψίας γίνεται με βάση την Εγκύκλιο ΔΥΓ2/οικ.70777/ 12-7-12. Το δείγμα για μικροβιολογική ανάλυση συλλέχτηκε σε αποστειρωμένο γυάλινο δοχείο των 500 ml, το οποίο περιέχει επαρκή ποσότητα θειοθειικού νατρίου για να αδρανοποιηθεί κάθε ποσότητα χλωρίου ή άλλης οξειδωτικής απολυμαντικής ουσίας. Δείγματα συλλέχτηκαν από το άμεσο νερό με το άνοιγμα της βρύσης και μετά από 1 λεπτό ροή (έμμεσο δείγμα).

Το δείγμα πόσιμου νερού για χημική ανάλυση συλλέχτηκε σε γυάλινες ή πλαστικές αποστειρωμένες φιάλες των 500ml.

Η μεταφορά του δείγματος στο εργαστήριο έγινε εντός 48 ωρών και το δείγμα θα μεταφερθεί υπό ψύξη. Κάθε φιάλη είχε ετικέτα στην οποία αναγραφόταν εάν το δείγμα είναι για μικροβιολογική ή χημική ανάλυση, ο αριθμός δείγματος δειγματολήπτη, το όνομα της ξενοδοχειακής μονάδας, η ημερομηνία και το σημείο δειγματοληψίας.

### 4.1.3. Σημεία δειγματοληψίας

Τα σημεία δειγματοληψίας συμπεριλαμβάνουν κατά το ελάχιστο δυο σημεία: από το ντουζ του πιο απομακρυσμένου και του πιο κοντινού δωματίου από τις συσκευές θέρμανσης και αποθήκευσης ζεστού νερού. Ανάλογα με τις παροχές του τουριστικού καταλύματος και συγκεκριμένα εάν αυτό παρέχει εγκαταστάσεις υδάτων αναψυχής (κολυμβητικές δεξαμενές, δεξαμενές υδρομάλαξης) θα συλλεχθούν δείγματα από τα ντουζ αυτών των εγκαταστάσεων.

### 4.1.4. Δελτίο Δειγματοληψίας

Για κάθε ξενοδοχειακή μονάδα συμπληρώθηκε δελτίο δειγματοληψίας το οποίο συνόδευε τα δείγματα μέχρι το εργαστήριο. Δυο δελτία δειγματοληψίας θα χρησιμοποιηθούν:

#### (i) Δελτίο Δειγματοληψίας για ανίχνευση *Legionella*

Στο δελτίο αυτό καταγράφονται οι παρακάτω πληροφορίες: υπηρεσία δειγματοληψίας, ονομασία υγειονομικού ενδιαφέροντος, ονομασία αντικειμένου, τοποθεσία, στοιχεία επικοινωνίας, ημερομηνία και ώρα δειγματοληψίας, προέλευση πόσιμου νερού, υγειονομική κατάσταση των μπαταριών, τρόποι απολύμανσης, τρόπος μεταφοράς δείγματος, αριθμός δείγματος δειγματολήπτη, σημείο δειγματοληψίας, υπολειμματική απολυμαντική ουσία (mg/l), pH, θερμοκρασία (°C), παρατηρήσεις/συμπεράσματα, ημερομηνία και ώρα αποστολής δείγματος και ο αρμόδιος δειγματοληψίας (Παράρτημα 3).

#### (ii) Δελτίο Δειγματοληψίας Νερού Ανθρώπινης Κατανάλωσης για Χημική Ανάλυση

Στο δελτίο αυτό καταγράφονται οι παρακάτω πληροφορίες: υπηρεσία δειγματοληψίας, ονομασία υγειονομικού ενδιαφέροντος, ονομασία αντικειμένου, τοποθεσία, στοιχεία επικοινωνίας, ημερομηνία και ώρα δειγματοληψίας, προέλευση πόσιμου νερού, τρόποι απολύμανσης, τρόπος μεταφοράς δείγματος, αριθμός δείγματος δειγματολήπτη, σημείο δειγματοληψίας, υπολειμματική απολυμαντική ουσία (mg/l), pH, θερμοκρασία (°C), παρατηρήσεις/συμπεράσματα, ημερομηνία και ώρα αποστολής δείγματος και ο αρμόδιος δειγματοληψίας (Παράρτημα 4).

### 4.1.5. Δελτίο Ελέγχου Δικτύου Ύδρευσης Κτηρίου – Checklist

Στα πλαίσια της αξιολόγησης του τουριστικού καταλύματος με σκοπό την ανάλυση επικινδυνότητας, χρησιμοποιήθηκε δελτίο ελέγχου για την συλλογή πληροφοριών του δικτύου ύδρευσης του κτηρίου. Στο δελτίο καταγράφονται πληροφορίες σχετικά με τις δεξαμενές αποθήκευσης πόσιμου νερού, το υλικό κατασκευής του εσωτερικού του

δικτύου ύδρευσης, γενικές πληροφορίες για την πίεση, τα φίλτρα, την απολύμανση των δεξαμενών, τα συστήματα ζεστού και κρύου νερού, τις συσκευές θέρμανσης και αποθήκευσης του νερού, τις μπαταρίες και τις εγκαταστάσεις πυρόσβεσης με νερό. Κατόπιν καταγράφονται πληροφορίες για δεδομένα στο βιβλίο ελέγχου (εάν αυτό υπάρχει) του καταλύματος και για τις μετρήσεις που έγιναν από την υγειονομικό υπάλληλο. Το Δελτίο Ελέγχου Δικτύου Ύδρευσης Κτηρίου παρουσιάζεται στο Παράρτημα 5.

## 4.2. Ανάλυση δειγμάτων

### 4.2.1. Επιτόπιες μετρήσεις

#### 4.2.1.1. pH

- Επιλέχθηκε το πρόγραμμα του φασματοφωτομέτρου
- Προστέθηκε 10mL δείγματος σε κυψελίδα και μηδενίστηκε το όργανο
- Προστέθηκε το αντιδραστήριο και αναδευτήκε για 20sec απαλά
- Τοποθετήθηκε η κυψελίδα στο φωτόμετρο και παρέμεινε σε ηρεμία για 1min
- Πατήθηκε το “READ” και καταγράφηκε η ένδειξη

#### 4.2.1.2. Θερμοκρασία

Η θερμοκρασία, άμεση και έμμεση (μετά από 2 λεπτά ροής) του ζεστού και του κρύου νερού καταγράφηκε με την χρήση ηλεκτρονικού θερμομέτρου.

#### 4.2.1.3. Υπολειμματικό χλώριο

- Επιλέχθηκε το πρόγραμμα του φασματοφωτομέτρου
- Προστέθηκε 10mL δείγματος σε κυψελίδα και μηδενίστηκε το όργανο
- Προστέθηκε το αντιδραστήριο και αναδευτήκε για 20sec απαλά
- Τοποθετήθηκε η κυψελίδα στο φωτόμετρο και παρέμεινε σε ηρεμία για 1min
- Πατήθηκε το “READ” και καταγράφηκε η ένδειξη απευθείας σε mg/L

#### 4.2.2. Μικροβιολογική ανάλυση για την ανίχνευση και καταμέτρηση της *Legionella* spp

Η μέθοδος για την ανίχνευση και καταμέτρηση της *Legionella* spp είναι μέθοδος διήθησης μέσω μεμβράνης βάση του Διεθνή Πρότυπου EN ISO 11731: 1998 (ISO, 1998).

Τα στάδια για την ανίχνευση και καταμέτρηση της *Legionella* spp είναι τα εξής:

- Εγκλιματισμός και καλή ανάδευση του δείγματος
- Διήθηση 500 ml του δείγματος (μεμβράνη διαμέτρου 0,22μm)
- Τοποθέτηση της μεμβράνης σε 5ml διαλύματος Ringer's και ανάδευση vortex για 2 min
- Διαίρεση του δείγματος σε 4 μέρη
  - Επεξεργασμένο συμπύκνωμα με οξύ (5±0.5min)\
  - Μη επεξεργασμένο συμπύκνωμα
  - 10-1 αραιώση του μη επεξεργασμένου συμπυκνώματος
  - Επεξεργασμένο συμπύκνωμα με θέρμανση (50 οC για 30min)
- Μεταφορά με άσηπτο τρόπο 0,1ml από το δείγμα σε GVPC agar και επίστρωση αυτού με spreader
- Επώαση στους 36 ± 1°C για 10 μέρες σε συνθήκες αυξανόμενης υγρασίας
- Μέτρηση χαρακτηριστικών αποικιών (Υποπτες αποικίες: γκρι- μπλε- μωβ, ανοιχτό πράσινο, καφέ, άσπρες) που δίνουν εικόνα δίκην σπασμένου ύαλου στο στερεοσκόπιο

#### ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΤΙΚΕΣ ΔΟΚΙΜΕΣ

- Ανακαλλιέργεια τουλάχιστον 3 αποικιών από κάθε μορφολογικό είδος σε:
  - BCYE agar
  - BCY agar
- Επώαση στους 36±1 0C για τουλάχιστον 2 ημέρες
- Καταμέτρηση των αποικιών που αναπτύσσονται σε θετικό για κυστεΐνη θρεπτικό μέσο και δεν αναπτύσσονται σε θρεπτικό μέσο χωρίς κυστεΐνη
- Ταυτοποίηση των αποικιών της *Legionella* και οροτυποποίησή τους με Latex agglutination test
- Υπολογισμός του αναμενόμενου αριθμού Μονάδων Σχηματισμού Αποικιών σε 1L (CFU/L)

Ο υπολογισμός του αναμενόμενου αριθμού Μονάδων Σχηματισμού Αποικιών σε CFU/L σύμφωνα με τον τύπο:

$C = (n * v) / i * (1/s)$  όπου:

c: CFU/l στο αυθεντικό αρχικό δείγμα

n: ο αριθμός αποικιών στο τρυβλίο(τρυβλίο με max αριθμό αποικιών)

v: όγκος του συμπυκνώματος – 5ml Ringer's

i: όγκος που ενοφθαλμίζεται στο τρυβλίο- 0,1 ml

s: όγκος(lt)

Η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων γίνεται με βάση των κριτηρίων του EWGLI τα οποία αναφέρουν:

Για περισσότερα από 1.000, αλλά λιγότερα από 10.000 CFU/l απαιτούνται οι παρακάτω ενέργειες:

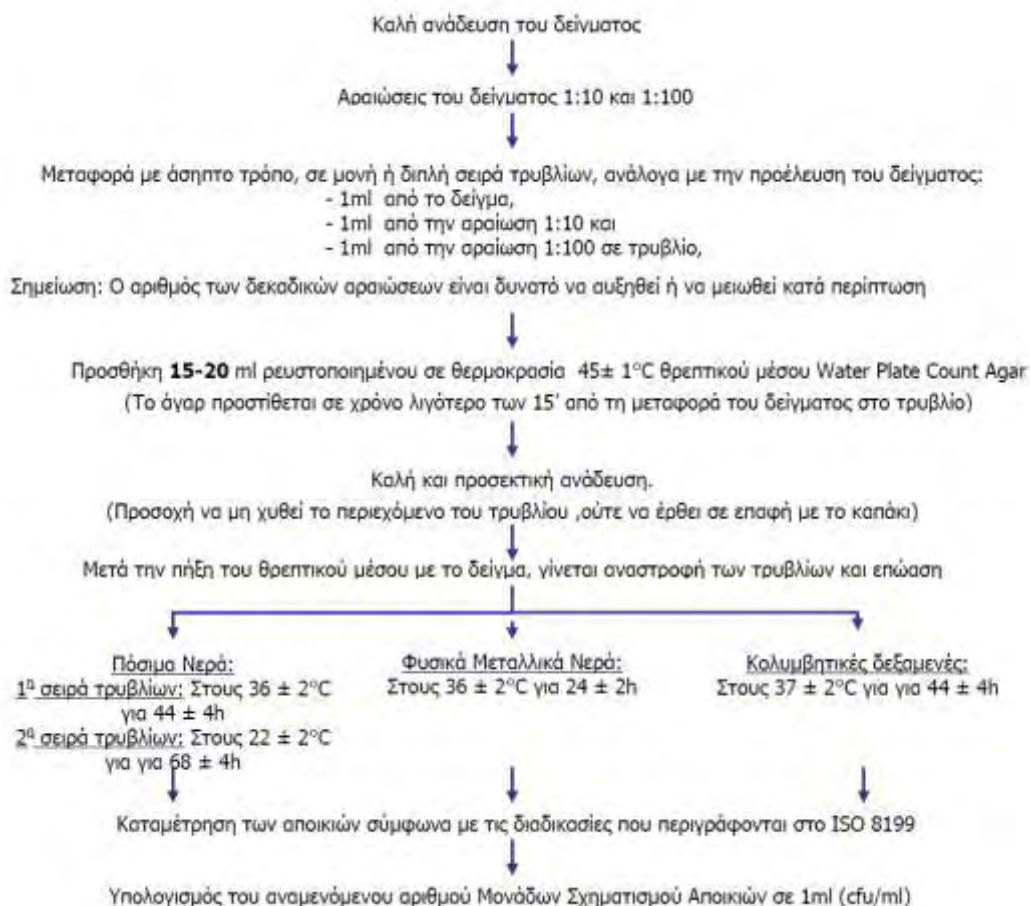
- (I) εάν μόνο ένα ή δύο δείγματα βρεθούν με συγκέντρωση 1,000 – 10,000 CFU/L *Legionella*, πρέπει να επαναληφθεί η δειγματοληψία

στο σύστημα με την λήψη περισσότερων δειγμάτων. Εάν τα εργαστηριακά αποτελέσματα της δεύτερης δειγματοληψίας δείξουν αριθμό αποικιών μεγαλύτερο από 1000 CFU/L συνιστάται να γίνει απολύμανση του δικτύου και επανεκτίμηση κινδύνου. Δυο ημέρες μετά την απολύμανση πρέπει να γίνει και τρίτη δειγματοληψία.

- (II) Εάν περισσότερα από δυο δείγματα είναι θετικά (1,000 – 10,000 CFU/L), τότε πιθανώς το δίκτυο είναι αποικισμένο με μικρό αριθμό λεγεωνελλών και συνιστάται να γίνει απολύμανση του δικτύου και επανεκτίμηση κινδύνου. Δυο ημέρες μετά την απολύμανση πρέπει να γίνει και τρίτη δειγματοληψία.

Για περισσότερα από 10.000 πρέπει να επαναλαμβάνεται η δειγματοληψία στο σύστημα και χωρίς την αναμονή των αποτελεσμάτων, συνιστάται να γίνει απολύμανση του δικτύου και επανεκτίμηση κινδύνου. Δυο ημέρες μετά την απολύμανση πρέπει να γίνει και τρίτη δειγματοληψία.

#### 4.2.3. Μικροβιολογική ανάλυση για τον προσδιορισμό της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (OMX)





#### 4.2.4. Χημικές αναλύσεις

Στον εργαστηριακό έλεγχο θα προσδιοριστούν οι εξής παράμετροι:

- Αγωγιμότητα (ηλεκτροχημική μέθοδος)
- Ασβέστιο (μέθοδο τιτλοδότησης)
- Σκληρότητα (μέθοδο τιτλοδότησης)
- Σίδηρος (μέθοδο ατομικής απορρόφησης)
- Μαγγάνιο (μέθοδο ατομικής απορρόφησης)
- Ψευδάργυρος (μέθοδο ατομικής απορρόφησης)

##### 4.2.4.1. Αγωγιμότητα

Η αγωγιμότητα μετράται με την ηλεκτροχημική μέθοδο όπως περιγράφεται παρακάτω.

- Βαθμονομείται το αγωγιμόμετρο με κατάλληλο buffer (1413 $\mu$ S/cm)
- Εκπλύνεται το ηλεκτρόδιο με απεσταγμένο νερό
- Εμβαπτίζεται το ηλεκτρόδιο στο διάλυμα
- Καταγράφεται η ένδειξη του αγωγιμόμετρου σε  $\mu$ S/cm.

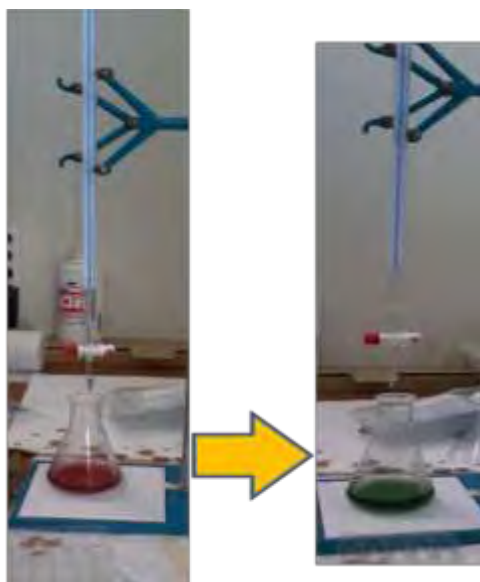


Εικόνα 5: Αγωγιμόμετρο

#### 4.2.4.2. Σκληρότητα

Η σκληρότητα είναι μια παράμετρος, που εκφράζει την περιεκτικότητα του νερού σε πολυσθενή κατιόντα, κυρίως ασβεστίου ( $\text{Ca}^{2+}$ ) και μαγνησίου ( $\text{Mg}^{2+}$ ).

- Σε κωνική φιάλη προστίθεται 50ml δείγματος
- Προστίθεται 4ml διαλύματος  $\text{NH}_3$  και δείκτης σε μορφή δισκίου(1 χάπι)
- Ογκομετρουμε με ποσότητα διαλύματος EDTA μέχρι το χρώμα του διαλύματος να γίνει πράσινο
- Η τιμή της σκληρότητας σε  $\text{mg/L CaCO}_3$  είναι η παραπάνω κατανάλωση όγκων EDTA από την ογκομέτρηση πολλαπλασιασμένη x 20



**Εικόνα 6: Τιτλοδότηση - Σκληρότητα**

#### 4.2.4.3. Ασβέστιο

- Σε κωνική φιάλη προστίθεται 50ml δείγματος
- Προστίθεται 2ml διαλύματος  $\text{NaOH}$  και λίγη ποσότητα δείκτη Calcon
- Ογκομετρουμε με ποσότητα διαλύματος EDTA μέχρι το χρώμα του διαλύματος να γίνει μπλε
- Η τιμή του ασβεστίου σε  $\text{mg/L Ca}$  είναι η παραπάνω κατανάλωση όγκων EDTA κατά την ογκομέτρηση πολλαπλασιασμένη x8.015

- Η τιμή του ασβεστίου σε mg/L CaCO<sub>3</sub> είναι η παραπάνω κατανάλωση όγκων EDTA κατά την ογκομέτρηση πολλαπλασιασμένη x 2.5



**Εικόνα 7: Τιτλοδότηση – Ασβέστιο**

#### 4.2.4.4. Βαρέα Μέταλλα

Τα δείγματα φιλτράρονται και ακολουθεί όξυνση μέχρι τελική συγκέντρωση 0,2% νιτρικού οξέος (HNO<sub>3</sub>) (0,2ml HNO<sub>3</sub> σε κάθε 100ml δείγματος). Ο προσδιορισμός των μετάλλων σε υδατικά δείγματα γίνεται με Φασματοφωτομετρία Ατομικής Απορρόφησης (Atomic Absorption Spectroscopy). Η τεχνική μέτρησης συνίσταται στην αναρρόφηση του υγρού δείγματος, το οποίο εισάγεται υπό μορφή νέφους σε φλόγα (ψευδάργυρο) ή φούρνο γραφίτη (μαγγάνιο), όπου εξατμίζεται ο διαλύτης και τα ιόντα του μετάλλου ατομοποιούνται. Όταν τα άτομα του μετάλλου διέρχονται από την δέσμη σταθερής έντασης και μήκους κύματος χαρακτηριστικό για κάθε μέταλλο, μέρος της ακτινοβολίας απορροφάται από αυτά και μετράτε η μείωση της έντασης της ακτινοβολίας.



**Εικόνα 8: Ατομική Απορρόφηση**

### 4.3. Ανάλυση αποτελεσμάτων

#### 4.3.1. Καταχώρηση αποτελεσμάτων

Όλα τα στοιχεία που συλλέχτηκαν από τα Δελτία Δειγματοληψίας, τα Δελτία Ελέγχου Δικτύου Ύδρευσης Κτηρίων και τα αποτελέσματα των μικροβιολογικών και χημικών αναλύσεων κωδικοποιήθηκαν και καταγράφηκαν σε βάση δεδομένων του Excel.

#### 4.3.2. Στατιστική ανάλυση

Στην ενότητα αυτή παρουσιάζεται η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων για τα ξενοδοχεία και τα δείγματα κρύου νερού που συλλέχθηκαν για την ανίχνευση *Legionella*.

Στην περιγραφική ανάλυση παρουσιάζονται τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων νερού και της δειγματοληψίας. Οι ποσοτικές μεταβλητές παρουσιάζονται ως διάμεσος με το ενδοτεταρτημοριακό εύρος (75<sup>ο</sup> ποσοστημόριο – 25<sup>ο</sup> ποσοστημόριο: IQR), την ελάχιστη και τη μέγιστη τιμή, και οι ποιοτικές μεταβλητές ως απόλυτες συχνότητες με τα αντίστοιχα ποσοστά.

Στη στατιστική ανάλυση, η δοκιμασία Χι-τετράγωνο (Chi-square test) ή η ακριβής δοκιμασία του Fisher (Fisher's exact test) χρησιμοποιήθηκε για τη διερεύνηση συσχετίσεων μεταξύ κατηγορικών μεταβλητών (παραγόντων) και παρουσίας *Legionella* υπολογίζοντας τους σχετικούς κινδύνους (Relative risk - RR) με τα αντίστοιχα 95% διαστήματα εμπιστοσύνης (95% ΔΕ). Στις περιπτώσεις εκείνες που δεν μπορούσε να υπολογιστεί ο σχετικός κίνδυνος λόγω μηδενικών συχνοτήτων χρησιμοποιήθηκε η διόρθωση Haldane. Σύμφωνα με τη μέθοδο Haldane, προστίθεται 0,5 (1/2) σε κάθε κελί ενός πίνακα 2x2 συνάφειας .

Για τη διερεύνηση ύπαρξης σχέσης μεταξύ ποιοτικών και ποσοτικών, μη κανονικά κατανομημένων, μεταβλητών χρησιμοποιήθηκε το μη παραμετρικό τεστ Mann-Whitney test ή το Kruskal-Wallis test.

Ο συντελεστής συσχέτισης του Spearman εφαρμόστηκε για τη διερεύνηση συσχετίσεων μεταξύ των φυσικοχημικών παραμέτρων και συγκέντρωσης *Legionella*.

Χαρακτηριστικές καμπύλες ROC εφαρμόστηκαν για να προσδιοριστεί το βέλτιστο σημείο αποκοπής των χημικών προγνωστικών παραμέτρων ανίχνευσης *Legionella*. Ως βέλτιστο σημείο αποκοπής προσδιορίστηκε το σημείο εκείνο επί της καμπύλης ROC όπου μεγιστοποιείται η ευαισθησία και η ειδικότητα.

Πολλαπλή λογιστική παλινδρόμηση με τη μέθοδο backward conditional εφαρμόστηκε (multiple logistic regression analysis) υπολογίζοντας τα ORs με τα αντίστοιχα 95% διαστήματα εμπιστοσύνης για τον προσδιορισμό ανεξάρτητων παραγόντων κινδύνου ανίχνευσης *Legionella*. Ως εξαρτημένη μεταβλητή χρησιμοποιήθηκε η παρουσία *Legionella* ( $\geq 100$ ) και ως πιθανοί παράγοντες (ανεξάρτητες μεταβλητές) χρησιμοποιήθηκαν οι παράγοντες κινδύνου που βρέθηκαν στατιστικά σημαντικοί ( $p\text{-value} < 0,05$ ) στη μονοπαραγοντική ανάλυση.

Ένα αποτέλεσμα θεωρήθηκε στατιστικά σημαντικό όταν η τιμή του  $p\text{-value}$  ήταν μικρότερη του 0,05 ( $p\text{-value} = 0,05$ ).

Η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πακέτο SPSS 15.0.

## Κεφάλαιο 5: Αποτελέσματα

Σε αυτό το κεφάλαιο παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τις μικροβιολογικής, χημικής και στατιστικής ανάλυσης των αποτελεσμάτων. Συγκεκριμένα, παρουσιάζονται:

- ο αποικισμός των δικτύων ύδρευσης με *Legionella*,
- η παρουσία διάφορων φυσικοχημικών παραμέτρων,
- η επίδραση του τρόπου δειγματοληψίας στην παρουσία και συγκέντρωση της *Legionella*,
- η επίδραση των φυσικοχημικών παραμέτρων στον αποικισμό του δικτύου από *Legionella*,
- η επίδραση του δικτύου ύδρευσης στη *Legionella* αλλά και στις φυσικοχημικές ιδιότητες του νερού.

### 5.1. Περιγραφικά

#### 5.1.1. Αριθμός δειγμάτων

Συλλέχθηκαν δείγματα για μικροβιολογική και χημική ανάλυση από 44 ξενοδοχειακές μονάδες. Από κάθε σημείο δειγματοληψίας συλλέχθηκαν τέσσερα δείγματα για μικροβιολογική ανάλυση για *Legionella* spp (Κρύο Άμεσο, Κρύο Έμμεσο, Ζεστό Άμεσο, Ζεστό Έμμεσο) και ένα για χημική ανάλυση. Για τους σκοπούς της μελέτης θα χρησιμοποιηθούν τα αποτελέσματα της μικροβιολογική ανάλυση για *Legionella* spp των δειγμάτων του κρύου (άμεσο και έμμεσο) νερού.

Συνολικά συλλέχθηκαν **166** δείγματα κρύου νερού (84 άμεσα, 82 έμμεσα) από τα οποία τα 8 ήταν από δειγματοληψία στο ίδιο κατάλυμα μετά από την λήψη διορθωτικών ενεργειών ως αποτέλεσμα από την πρώτη δειγματοληψία. Η διαφορά στο κρύο άμεσο και έμμεσο προκύπτει από τη συλλογή ενός δείγματος από ντουζ πισίνας και 1 από ψύκτη νερού.

Για την ποσοτική ανάλυση των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών χρησιμοποιήθηκαν τα αποτελέσματα των δειγμάτων από τις πρώτες και από τις δεύτερες δειγματοληψίες, 158 και 8 δείγματα αντίστοιχα. Για τη συσχέτιση της *Legionella* με τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά χρησιμοποιήθηκαν μόνο τα δείγματα από την πρώτη δειγματοληψία (N=158). Τα δείγματα από την δεύτερη δειγματοληψία δεν θα ήταν χαρακτηριστικά γιατί τα ξενοδοχεία αυτά είχαν επίπεδα *Legionella* >1000 CFU/L και είχαν προβεί σε διορθωτικές ενέργειες (απολύμανση) για την μείωση της.

Τρεις ομάδες δημιουργήθηκαν δεδομένου ότι δεν είχαμε αποτελέσματα >10.000 CFU/L και συσχετίστηκαν με τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά: (i) Απουσία-<100 CFU/L, (ii) 100-999 CFU/L, (iii) >=1000 CFU/L

### 5.1.2. Συχνότητα παρουσίας του βακτηρίου της *Legionella* στο δίκτυο ύδρευσης

Το βακτήριο της *Legionella* απομονώθηκε σε 36 από 158 (22,8%) δείγματα κρύου νερού δικτύων ύδρευσης 44 ξενοδοχείων. Στο σύνολο των δειγμάτων ανιχνεύτηκε *L. pneumophila* ορότυπου 2-15 σε 21 (13,3%) δείγματα, *L. pneumophila* ορότυπου 1 σε 19 (12%) δείγματα και *Legionella* άλλα εκτός *pneumophilla* σε 11 (7%) δείγματα (Πίνακας 1).

Συγκεκριμένα, από τα 36 θετικά δείγματα της *Legionella spp*, τα 25 (69,4%) ήταν σε συγκεντρώσεις από 100-999 CFU/L ενώ τα 11 (30,6%) σε συγκεντρώσεις > 1000 CFU/L. Από τα 19 θετικά δείγματα της *L.pneumophila* ορότυπου 1, τα 16 (84,2%) ήταν σε συγκεντρώσεις από 100-999 CFU/L ενώ τα 3 (15,8%) σε συγκεντρώσεις > 1000 CFU/L ενώ από τα 21 θετικά δείγματα της *L. pneumophila* ορότυπου 2-15 τα 16 (76,2%) ήταν σε συγκεντρώσεις από 100-999 CFU/L ενώ τα 5 (23,8%) σε συγκεντρώσεις > 1000 CFU/L. Τα δείγματα στα οποία ανιχνεύτηκε *Legionella* άλλα εκτός *pneumophilla* ήταν 11 από τα οποία τα 7 (63,6%) ήταν σε συγκεντρώσεις από 100 έως 999 CFU/L ενώ το 36,4% ήταν σε συγκεντρώσεις >1000 CFU/L.

Παρατηρείται λοιπόν πως από τα θετικά δείγματα που ανιχνεύτηκε *Legionella spp*, το μεγαλύτερο ποσοστό ήταν αποικισμένο με *L. pneumophilla* και συγκεκριμένα ορότυπου 2-15 αλλά με μικρή διαφορά με τη *L. pneumophila* ορότυπου 1 και με το μεγαλύτερο ποσοστό να είναι σε συγκεντρώσεις από 100 έως 999 CFU/L (Πίνακας 1).

**Πίνακας 1: Αποικισμός του βακτηρίου της *Legionella* στο δίκτυο ύδρευσης ξενοδοχειακών καταλυμάτων**

		Συχνότητα	%
<b><i>Legionella spp</i></b>	Παρουσία	36/158	22,8
<b><i>Legionella spp</i> (CFU/l)</b>	<100-απουσία	122/158	77,2
	100-999	25/158	15,8
	>=1000	11/158	7
<b><i>L. pneumophilla</i> sg.1</b>	Παρουσία	19/158	12
<b><i>L. pneumophilla</i> sg.1 (CFU/l)</b>	<100-απουσία	139/158	88
	100-999	16/158	10,1
	>=1000	3/158	1,9
<b><i>L. pneumophilla</i> sg.2-15</b>	Παρουσία	21/158	13,3
<b><i>L. pneumophilla</i> sg.2-15 (CFU/l)</b>	<100-απουσία	137/158	86,7
	100-999	16/158	10,1
	>=1000	5/158	3,2
<b><i>Legionella</i> other</b>	Παρουσία	11/158	7
<b><i>Legionella</i> other (CFU/l)</b>	<100-απουσία	147/158	93
	100-999	7/158	4,4
	>=1000	4/158	2,5

### 5.1.3. Συγκεντρώσεις φυσικοχημικών παραμέτρων του νερού στα δίκτυα ύδρευσης

Στην ενότητα αυτή παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τις ποσοτικής ανάλυσης των συγκεντρώσεων των φυσικοχημικών παραμέτρων των δειγμάτων κρύου νερού. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων για τα ολικά κοινά αερόβια και οι φυσικοχημικές παραμέτρους του νερού παρουσιάζονται στον Πίνακα 2. Με βάση τα αποτελέσματα που παραθέτονται στον Πίνακα 2 παρατηρούμε τα εξής:

- Ο αριθμός των κοινών αερόβιων μικροβίων κυμάνθηκε από 0 έως 83.000 CFU/ml (Διάμεσος: 15.500, IQR:2.100-30.000 CFU/ml).
- Τα αποτελέσματα της ανάλυσης για την υπολειμματική απολυμαντική ουσία παρουσιάζουν μεγάλο εύρος συγκεντρώσεων από 0,02 – 3,85 mg/l (Διάμεσος: 0,35, IQR: 0,2-0,63)
- Το pH δεν παρουσιάζει μεγάλη διαφορά στο εύρος τιμών (Διάμεσος: 7,4 , IQR: 7,3-7,4) σε αντίθεση με τη θερμοκρασία των δειγμάτων κρύου νερού των δικτύων ύδρευσης τα οποία κυμάνθηκαν από 12 έως 32<sup>0</sup>C (Διάμεσος: 22<sup>0</sup>C, IQR: 20-24<sup>0</sup>C).
- Μεγάλο εύρος τιμών παρατηρείται και για την σκληρότητα, από 106 έως 1950 mg CaCO<sub>3</sub>/L (Διάμεσος: 330 mg CaCO<sub>3</sub>/L, IQR: 222-640 mg CaCO<sub>3</sub>/L).
- Το ασβέστιο το οποίο είναι άμεσα συνδεδεμένο με τη σκληρότητα του νερού παρουσιάζει εξίσου μεγάλο εύρος (22,1 - 1653,1 mg CaCO<sub>3</sub>/L) καθώς επίσης και υψηλές τιμές (Διάμεσος: 210,4 mg CaCO<sub>3</sub>/L, IQR: 122,2 - 440,8 mg CaCO<sub>3</sub>/L).
- Οι συγκεντρώσεις του σιδήρου είναι σχετικά χαμηλές (Διάμεσος:61,7 µg/L, IQR:29,33-150,3 µg/L) αλλά παρουσιάζουν μεγάλο ευρος τιμών (1,37-1211 µg/L).
- Οι συγκεντρώσεις του Μαγγανίου παρουσιάζουν χαμηλές τιμές (Διάμεσος: 3,31 µg/L, IQR: 1,86 – 11,41 µg/L) με εξίσου μεγάλο εύρος από 0,64 εως 142,7 µg/L
- Οι συγκεντρώσεις του Ψευδαργύρου κυμάνθηκαν από 0,8 έως 262,3 (Διάμεσος: 51,5 µg/L, IQR 29,9 – 81,7 µg/L)



Πίνακας 2: Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά δειγμάτων πόσιμου νερού ξενοδοχειακών καταλυμάτων

Παράμετρος	Διάμεσος	25 <sup>ο</sup> Ποσοστημόρι ο	75 <sup>ο</sup> Ποσοστημόρι ο	Min.	Max.	N
Κοινά αερόβια (CFU/ml)	15500	2100	30000	0	83000	166
Υπολειμματική Απολυμαντική Ουσία (mg/l)	0,35	0,2	0,63	0,02	3,85	163
pH	7,4	7,3	7,5	6,2	7,9	163
Θερμοκρασία (°C)	22	20	24	12	32	164
Αγωγιμότητα (μS/cm) (250C)	750	590	1690	221	8580	150
Σκληρότητα (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	330	222	640	106	1950	150
Ασβέστιο (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	210,4	122,2	440,8	22,1	1653,1	150
Σίδηρος (Fe) (μg/L)	61,7	29,33	159,3	1,37	1211	163
Ψευδάργυρος (Zn) (μg/L)	51,5	29,9	81,7	0,8	262,3	40
Μαγγάνιο (Mn) (μg/L)	3,31	1,86	11,41	0,64	142,7	147

## 5.2. Τρόπος δειγματοληψίας δειγμάτων νερού και παρουσία *Legionella*

Στην ενότητα αυτή εξετάζεται εάν υπάρχει διαφορά στον τρόπο δειγματοληψίας και στην παρουσία της *Legionella*.

Η *Legionella* spp ανιχνεύτηκε σε 26,3% και 19,2% των δειγμάτων άμεσου και έμμεσου κρύου νερού αντίστοιχα. *L. pneumophilla* ορότυπου 1 ανιχνεύτηκε σε 11 από 80 (13,8%) δείγματα άμεσου κρύου νερού ενώ η *L. pneumophilla* ορότυπου 2-15 ανιχνεύτηκε σε 18 από τα 80 (17,5%) δείγματα άμεσου κρύου νερού.

Από τον Πίνακα 3 μπορούμε να συμπεράνουμε πως δεν υπάρχει διαφορά στον τρόπο δειγματοληψίας και στην παρουσία της *Legionella* αφού παρουσιάζονται όμοιες συγκεντρώσεις στην δειγματοληψία από άμεσο και έμμεσο νερό. Στα δείγματα από την

άμεση δειγματοληψία παρατηρούνται μεγαλύτερα ποσοστά αλλά δεν είναι στατιστική σημαντική η διαφορά (p-value >0,05).

**Πίνακας 3: Τρόπος δειγματοληψίας δειγμάτων νερού και παρουσία της *Legionella***

	Τρόπος Δειγματοληψίας				p-value
	ΑΜΕΣΟ (n=80)		ΕΜΜΕΣΟ (n=78)		
	Συχνότητα	%	Συχνότητα	%	
<b><i>Legionella spp</i></b>					
<b>Παρουσία</b>	21	26,3	15	19,2	0.293*
<b>Απουσία</b>	59	73,8	63	80,8	
<b><i>Legionella spp</i> (CFU/l)</b>					
<b>&lt;100-απουσία</b>	59	73,8	63	80,8	0.100*
<b>100-999</b>	12	15	13	16,7	
<b>&gt;=1000</b>	9	11,3	2	2,6	
<b><i>L. pneumophilla</i> sg.1</b>					
<b>Παρουσία</b>	11	13,8	8	10,3	0.500*
<b>Απουσία</b>	69	86,3	70	89,7	
<b><i>L. pneumophilla</i> sg.1 (CFU/l)</b>					
<b>&lt;100-απουσία</b>	69	86,3	70	89,7	0.386**
<b>100-999</b>	8	10	8	10,3	
<b>&gt;=1000</b>	3	3,8	0	0	
<b><i>L. pneumophilla</i> sg.2-15</b>					
<b>Παρουσία</b>	14	17,5	7	9	0.115*
<b>Απουσία</b>	66	82,5	71	91	
<b><i>L. pneumophilla</i> sg.2-15 (CFU/l)</b>					
<b>&lt;100-απουσία</b>	66	82,5	71	91	0.070**
<b>100-999</b>	9	11,3	7	9	
<b>&gt;=1000</b>	5	6,3	0	0	
<b><i>Legionella</i> other</b>					
<b>Παρουσία</b>	6	7,5	5	6,4	0.788*
<b>Απουσία</b>	74	92,5	73	93,6	
<b><i>Legionella</i> other (CFU/l)</b>					
<b>&lt;100-απουσία</b>	74	92,5	73	93,6	0.788**
<b>100-999</b>	3	3,8	4	5,1	
<b>&gt;=1000</b>	3	3,8	1	1,3	

\* Chi-square test \*\* Fisher's exact test

Εξετάζοντας τις συγκεντρώσεις της *Legionella* στον Πίνακα 4 και εάν υπάρχει διαφορά ως προς τον τρόπο δειγματοληψίας προκύπτει πως δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά.

Αντιθέτως εξετάζοντας τη θερμοκρασία, παρατηρείται όπως και είναι αναμενόμενο πως η θερμοκρασία ήταν υψηλότερη στα άμεσα δείγματα κρύου νερού (Διάμεσος: 23<sup>0</sup>C, IQR: 22—24<sup>0</sup>C) σε σχέση με τα έμμεσα δείγματα (Διάμεσος: 21<sup>0</sup>C, IQR: 20—23<sup>0</sup>C) (p-value <0,001).

Στατιστικά σημαντική διαφορά παρουσιάζουν επίσης τα κοινά αερόβια (p-value: 0,019) με τα δείγματα αμέσου νερού (Διάμεσος: 27500 CFU/ml, IQR:5600-30,000 CFU/ml) να έχουν σημαντικές υψηλές συγκεντρώσεις σε σχέση με τα έμμεσα δείγματα (Διάμεσος: 9050, IQR:1300-30000 CFU/ml) (p-value:0,019). Είναι σημαντικό να σχολιαστεί ότι η μέγιστη τιμή των δειγμάτων στο άμεσο ήταν 30.000 CFU/ml ενώ για το έμμεσο 83.000 CFU/ml.

**Πίνακας 4: Ποσοτική ανάλυση των τιμών της *Legionella* με τον τρόπο δειγματοληψίας**

Παράμετρος	Τρόπος Δειγματ.	Διάμεσος	25 <sup>0</sup> Ποσοστημόριο	75 <sup>0</sup> Ποσοστημόριο	Min.	Max.	p-value*
<b>Υπολειμματική Απολυμαντική Ουσία (mg/l)</b>	ΑΜΕΣΟ	0,35	0,19	0,63	0,02	3,85	0,969
	ΕΜΜΕΣΟ	0,35	0,19	0,63	0,02	3,85	
<b>pH</b>	ΑΜΕΣΟ	7,4	7,3	7,6	6,2	7,9	0,964
	ΕΜΜΕΣΟ	7,4	7,3	7,6	6,2	7,9	
<b>Θερμοκρασία (°C)</b>	ΑΜΕΣΟ	23	22	24	12	29	<0,001
	ΕΜΜΕΣΟ	21	20	23	17	32	
<b>Κοινά αερόβια(CFU/ml)</b>	ΑΜΕΣΟ	27500	5600	30000	0	30000	<b>0,019</b>
	ΕΜΜΕΣΟ	9050	1300	30000	2	83000	
<b><i>L.pneumophilla</i> sg.1 (CFU/l)</b>	ΑΜΕΣΟ	0	0	0	0	7000	0,402
	ΕΜΜΕΣΟ	0	0	0	0	400	
<b><i>L.pneumophilla</i> sg.2-15 (CFU/l)</b>	ΑΜΕΣΟ	0	0	0	0	3000	0,086
	ΕΜΜΕΣΟ	0	0	0	0	300	
<b><i>Legionella</i> other (CFU/l)</b>	ΑΜΕΣΟ	0	0	0	0	3000	0,771
	ΕΜΜΕΣΟ	0	0	0	0	2000	
<b><i>Legionella</i> spp</b>	ΑΜΕΣΟ	0	0	100	0	8000	0,167
	ΕΜΜΕΣΟ	0	0	0	0	2000	

\* **Mann-Whitney test**

### 5.3. Φυσικοχημικές ιδιότητες του νερού και παρουσία *Legionella*

#### 5.3.1. Οι συγκεντρώσεις των φυσικοχημικών παραμέτρων του νερού σε σχέση με τον αποικισμό του δικτύου με *Legionella*

Στον Πίνακα 5 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των τιμών των φυσικοχημικών παραμέτρων του νερού σε σχέση με την παρουσία της *Legionella* spp και τα επιμέρους είδη (*L. pneumophila* ορότυπου 1, *L. pneumophila* ορότυπου 2-15, *Legionella* άλλα εκτός *pneumophila* ). Επιπλέον, προσδιορίστηκαν οι συγκεντρώσεις των φυσικοχημικών παραμέτρων ως προς τις συγκεντρώσεις τις *Legionella*. Δεδομένου ότι το δείγμα είναι μικρό δεν είναι ασφαλής η εξαγωγή συμπερασμάτων. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο Παράρτημα 6.

#### **Υπολειμματική απολυμαντική ουσία**

Χαμηλότερες τιμές παρουσιάζει η υπολειμματική απολυμαντική ουσία στα θετικά δείγματα με *Legionella* spp. (Διάμεσος:0,24, IQR: 0,18-0,3) σε σχέση με τα αρνητικά (Διάμεσος:0,4, IQR: 0,2-0,7) (p-value:0,001), στα θετικά με *L. pneumophila* ορότυπου 1 (Διάμεσος:0,18, IQR: 0,14-0,23) σε σχέση με τα αρνητικά (Διάμεσος:0,37 IQR: 0,22-0,7)(p-value:>0,001), και στα θετικά με *Legionella* άλλα είδη εκτός *pneumophila* (Διάμεσος: 0,22, IQR: 0,15-0,35) σε σύγκριση με τα αρνητικά (Διάμεσος: 0,36, IQR: 0,2-0,67) (p-value: 0,027). Η υπολειμματική απολυμαντική ουσία παρουσιάζει επίσης χαμηλότερες τιμές στα θετικά με *L. pneumophila* ορότυπου 2-15 (Διάμεσος: 0,27, IQR: 0,23-0,35) σε σχέση με τα αρνητικά (Διάμεσος:0,37 IQR: 1,19-0,69) χωρίς όμως να είναι στατιστικά σημαντική η διαφορά (p-value: 0,307). Η συγκέντρωση της υπολειμματικής απολυμαντικής ουσίας παρουσίασε υψηλότερες τιμές σε δείγματα θετικά με *L. pneumophila* sg.2-15 (Διάμεσος:0,27, IQR: 0,23-0,35) σε σύγκριση με τα θετικά με *Legionella* spp (Διάμεσος:0,24, IQR: 0,18-0,3), *Legionella* spp (Διάμεσος:0,24, IQR: 0,18-0,3), *Legionella* άλλα είδη εκτός *pneumophila* (Διάμεσος: 0,22, IQR: 0,15-0,35).

#### **pH**

Το pH παρουσιάζει υψηλότερες τιμές στα θετικά δείγματα με *Legionella* spp. (Διάμεσος:7,5 , IQR: 7,4-7,6) σε σχέση με τα αρνητικά (Διάμεσος:7,4, IQR: 7,2-7,5) (p-value: 0,022), στα θετικά με *L. pneumophila* ορότυπου 1 (Διάμεσος: 7,5, IQR: 7,5-7,6) σε σχέση με τα αρνητικά (Διάμεσος:7,4 IQR: 7,2-7,5) (p-value: 0,003). Το pH παρουσιάζει ίδιες τιμές στα θετικά με *L. pneumophila* ορότυπου 2-15 (Διάμεσος: 7,4, IQR: 7,3-7,7) σε σχέση με τα αρνητικά (Διάμεσος:7,4 IQR: 7,3-7,6) ενώ στα θετικά με *Legionella* άλλα είδη εκτός *pneumophila* (Διάμεσος: 7,5, IQR: 7,3-7,5) παρουσιάζει μεγαλύτερες τιμές σε σύγκριση με τα αρνητικά (Διάμεσος: 7,4, IQR: 7,2-7,6) χωρίς να είναι στατιστικά σημαντική η διαφορά (p-value: 0,421). Παρατηρούμε πως τα θετικά δείγματα για *Legionella* spp (Διάμεσος:7,5 , IQR: 7,4-7,6) και *L. pneumophila* sg.1 (Διάμεσος: 7,5, IQR: 7,5-7,6) παρουσιάζουν ελάχιστα μεγαλύτερες τιμές pH σε σχέση με *L. pneumophila* ορότυπου 2-15 (Διάμεσος: 7,4, IQR: 7,3-7,7) και με *Legionella* άλλα είδη εκτός *pneumophila* (Διάμεσος: 7,5, IQR: 7,3-7,5).

### **Θερμοκρασία**

Η θερμοκρασία δεν παρουσιάζει μεγάλες μεταβολές στα θετικά και αρνητικά δείγματα αλλά ούτε και σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφόρων ειδών. Συγκεκριμένα η θερμοκρασία παρουσιάζει όμοιες τιμές στα θετικά δείγματα με *Legionella* spp. (Διάμεσος:22 , IQR: 21-24) σε σχέση με τα αρνητικά (Διάμεσος:22, IQR: 20-24). Παρόμοιες τιμές παρατηρείται και για τα υπόλοιπα είδη.

### **Κοινά αερόβια**

Τα κοινά αερόβια παρουσιάζουν υψηλότερες τιμές στα θετικά δείγματα με *Legionella* spp. (Διάμεσος:30,000 , IQR: 8750-30,000) σε σχέση με τα αρνητικά (Διάμεσος:11,000 IQR: 1700-30,000) (p-value: 0,007), στα θετικά με *L. pneumophilla* ορότυπου 2-15 (Διάμεσος: 30,000, IQR: 11800-30000) σε σχέση με τα αρνητικά (Διάμεσος:12000 IQR: 30000) (p-value:0,017) και στα θετικά με *Legionella* άλλα είδη εκτός *pneumophilla* (Διάμεσος: 30000, IQR: 30,000-30,000) σε σύγκριση με τα αρνητικά (Διάμεσος: 12,000, IQR:1900-30,000) (p-value:0,03). Τα κοινά αερόβια παρουσιάζουν μεγαλύτερες τιμές στα θετικά με *L. pneumophilla* ορότυπου 1 (Διάμεσος: 30000 IQR: 9400-30000) σε σχέση με τα αρνητικά (Διάμεσος:12000 IQR: 1800-30000) χωρίς να είναι στατιστικά σημαντική η διαφορά (p-value: 0,070).

### **Αγωγιμότητα**

Υψηλότερες τιμές παρουσιάζει η αγωγιμότητα στα θετικά δείγματα με *Legionella* spp. (Διάμεσος:1469, IQR: 617-1830) σε σχέση με τα αρνητικά (Διάμεσος:662, IQR: 541-1570) (p-value:0,027). Υψηλότερες τιμές παρουσιάζει η αγωγιμότητα στα θετικά δείγματα με *L. pneumophilla* ορότυπου 1 (Διάμεσος:1469, IQR: 599-2040) σε σχέση με τα αρνητικά (Διάμεσος:744 IQR: 590-1610)(p-value:0,070) και με *L. pneumophilla* ορότυπου 2-15 (Διάμεσος: 1469, IQR: 617-1790) σε σχέση με τα αρνητικά (Διάμεσος:668 IQR:668-547) (p-value: 0,118) χωρίς όμως να είναι στατιστικά σημαντικές οι διαφορές. Αντιθέτως, η αγωγιμότητα παρουσιάζει πιο χαμηλές τιμές στα θετικά με *Legionella* άλλα είδη εκτός *pneumophilla* (Διάμεσος: 619, IQR: 547-1469) σε σύγκριση με τα αρνητικά (Διάμεσος: 750, IQR:598-1640) (p-value: 0,817).

### **Σκληρότητα**

Υψηλότερες τιμές παρουσιάζει η σκληρότητα στα θετικά δείγματα με *Legionella* spp. (Διάμεσος:398, IQR: 336-660) σε σχέση με τα αρνητικά (Διάμεσος:260, IQR: 208-550) (p-value:0,05). Υψηλότερες τιμές παρουσιάζει η σκληρότητα στα θετικά δείγματα με *L. pneumophilla* ορότυπου 1 (Διάμεσος:396, IQR: 330-740) σε σχέση με τα αρνητικά (Διάμεσος:266 IQR: 218-570)(p-value:0,089), στα θετικά δείγματα με *L. pneumophilla* ορότυπου 2-15 (Διάμεσος: 400, IQR: 336-570) σε σχέση με τα αρνητικά (Διάμεσος:266 IQR:218-630) (p-value: 0,092), με *Legionella* άλλα είδη εκτός *pneumophilla* (Διάμεσος: 368, IQR: 336-504) σε σύγκριση με τα αρνητικά (Διάμεσος: 277, IQR:218-630) (p-value: 0,258) χωρίς όμως να είναι στατιστικά σημαντικές οι διαφορές.

### **Ασβέστιο**

Υψηλότερες τιμές παρουσιάζει το ασβέστιο στα θετικά δείγματα με *Legionella* spp. (Διάμεσος:216,4, IQR: 152,3-462,4) σε σχέση με τα αρνητικά (Διάμεσος:200,4, IQR:

114,2-412,8) (p-value:0,025). Παρόμοια συμπεριφορά παρουσιάζουν και τα άλλα είδη της *Legionella* χωρίς όμως να είναι στατιστικά σημαντική η διαφορά.

**Πίνακας 5: Οι συγκεντρώσεις των φυσικοχημικών παραμέτρων του νερού σε σχέση με τον αποικισμό του δικτύου με *Legionella***

Παράμετρος	<i>Legionella</i> spp		<i>L. pneumophilla</i> sg.1		<i>L. pneumophilla</i> sg.2-15		<i>Legionella</i> other	
	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
<b>Υπολειμματική Απολυμαντική Ουσία (mg/l)</b>								
Median	0,24	0,4	0,18	0,37	0,27	0,37	0,22	0,36
Percentile 25	0,18	0,2	0,14	0,22	0,23	0,19	0,15	0,2
Percentile 75	0,3	0,7	0,23	0,7	0,35	0,69	0,35	0,67
<i>p-value</i> *	<b>0,001</b>		<b>&lt;0,001</b>		<b>0,307</b>		<b>0,027</b>	
<b>pH</b>								
Median	7,5	7,4	7,5	7,4	7,4	7,4	7,5	7,4
Percentile 25	7,4	7,2	7,5	7,2	7,3	7,3	7,3	7,2
Percentile 75	7,6	7,5	7,6	7,5	7,7	7,6	7,5	7,6
<i>p-value</i> *	<b>0,022</b>		<b>0,003</b>		<b>0,403</b>		<b>0,421</b>	
<b>Θερμοκρασία (°C)</b>								
Median	22	22	21	22	22	22	23	22
Percentile 25	21	20	20	21	21	20	20	21
Percentile 75	24	24	23	24	24	24	24	24
<i>p-value</i> *	<b>0,906</b>		<b>0,145</b>		<b>0,463</b>		<b>0,784</b>	
<b>Κοινά αερόβια (CFU/ml)</b>								
Median	30000	11000	30000	12000	30000	12000	30000	12000
Percentile 25	8750	1700	9400	1800	11800	1800	30000	1900
Percentile 75	30000	30000	30000	30000	30000	30000	30000	30000
<i>p-value</i> *	<b>0,007</b>		<b>0,070</b>		<b>0,017</b>		<b>0,03</b>	
<b>Αγωγιμότητα(μS/cm) (25°C)</b>								
Median	1469	662	1469	744	1469	668	619	750
Percentile 25	617	541	599	590	617	547	547	598
Percentile 75	1830	1570	2040	1610	1790	1610	1469	1640
<i>p-value</i> *	<b>0,027</b>		<b>0,070</b>		<b>0,118</b>		<b>0,817</b>	
<b>Σκληρότητα (mg CaCO<sub>3</sub>/L)</b>								
Median	398	260	396	266	400	266	368	277
Percentile 25	336	208	330	218	336	218	336	218
Percentile 75	660	550	740	570	570	630	504	630
<i>p-value</i> *	<b>0,05</b>		<b>0,089</b>		<b>0,092</b>		<b>0,258</b>	
<b>Ασβέστιο (mg CaCO<sub>3</sub>/L)</b>								
Median	216,4	200,4	270,5	200,4	220,4	200,4	245,5	178,3
Percentile 25	152,3	114,2	162,3	114,2	204,4	114,9	162,3	98,2
Percentile 75	462,4	412,8	380,1	436,8	318,6	436,8	440,8	412,8
<i>p-value</i> *	<b>0,025</b>		<b>0,089</b>		<b>0,174</b>		<b>0,479</b>	

\* Mann-Whitney test

Στον Πίνακα 6, παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις των ιχνοστοιχείων του κρύου νερού του δικτύου σε σχέση με την παρουσία του βακτηρίου της *Legionella*.

### **Σίδηρος**

Οι συγκεντρώσεις του σιδήρου στο κρύο νερό είναι υψηλότερες στα θετικά δείγματα με *Legionella* spp. (Διάμεσος:68,89, IQR: 32,5-192) σε σχέση με τα αρνητικά (Διάμεσος:61,85, IQR: 32,05-179,7) (p-value:0,971) και στα θετικά δείγματα με *L. pneumophilla* ορότυπου 2-15 (Διάμεσος: 85,32, IQR: 49,02-272) σε σχέση με τα αρνητικά (Διάμεσος:61,7 IQR:32.04-179,7) (p-value: 0,251). Αντίθετα οι συγκεντρώσεις του σιδήρου είναι χαμηλότερες στα θετικά δείγματα με *L. pneumophilla* ορότυπου 1 (Διάμεσος:61,29, IQR: 32,05-102,7) σε σχέση με τα αρνητικά (Διάμεσος:65 IQR: 32,05-179,7)(p-value:0,464) και σε θετικά με *Legionella* άλλα είδη εκτός *pneumophilla* (Διάμεσος: 32,05, IQR: 11,75-102,7) σε σύγκριση με τα αρνητικά (Διάμεσος: 65,74, IQR:33,27-192) (p-value: 0,066).

### **Ψευδάργυρος**

Οι συγκεντρώσεις του ψευδαργύρου παρουσιάζουν όμοιες συγκεντρώσεις στα αρνητικά και στα θετικά δείγματα για όλα τα είδη της *Legionella*.

### **Μαγγάνιο**

Οι συγκεντρώσεις του μαγγανίου στο κρύο νερό είναι υψηλότερες στα θετικά δείγματα με *Legionella* spp. (Διάμεσος:4,07, IQR: 2,05-29,49) σε σχέση με τα αρνητικά (Διάμεσος:3,7, IQR: 1,86-13,8) (p-value:0,518), στα θετικά δείγματα με *L. pneumophilla* ορότυπου 1 (Διάμεσος:4,64, IQR: 2,54-46,67) σε σχέση με τα αρνητικά (Διάμεσος:3,51 IQR: 1,86-11,41)(p-value:0,174) και στα θετικά με *Legionella* άλλα είδη εκτός *pneumophilla* (Διάμεσος: 4,64, IQR: 2,54-9,54) σε σύγκριση με τα αρνητικά (Διάμεσος: 3,51, IQR:1,84-14,6) (p-value: 0,393). Αντίθετα παρατηρούμε χαμηλότερες τιμές μαγγανίου στα θετικά δείγματα με *L. pneumophilla* ορότυπου 2-15 (Διάμεσος: 3,16, IQR: 1,94-989) σε σχέση με τα αρνητικά (Διάμεσος:3,96 IQR:1,86-15,3) (p-value: 0,731).

Πίνακας 6: Συγκεντρώσεις ιχνοστοιχείων σε σχέση με τον αποικισμό του δικτύου με *Legionella*

Παράμετρος	<i>Legionella</i> spp		<i>L. pneumophilla</i> sg.1		<i>L. pneumophilla</i> sg.2-15		<i>Legionella</i> other	
	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
<b>Σίδηρος (Fe) (µg/L)</b>								
Median	68,89	61,85	61,29	65	85,32	61,7	32,05	65,74
Percentile 25	32,05	32,05	32,05	32,05	49,02	32,04	11,75	33,27
Percentile 75	192	179,7	102,7	179,7	272	179,7	102,7	192
<i>p-value*</i>	0,971		0,464		0,251		0,066	
<b>Ψευδάργυρος (Zn) (µg/L)</b>								
Median	51,6	51,3	51,6	51,3	52	51,3	51,6	51,3
Percentile 25	40	14,3	28	31,7	40	28	51,6	28
Percentile 75	192,9	75,4	52	88	195,7	75,4	51,6	88
<i>p-value*</i>	0,419		0,705		0,147		0,95	
<b>Μαγγάνιο (Mn) µg/L</b>								
Median	4,07	3,7	4,64	3,51	3,16	3,96	4,64	3,51
Percentile 25	2,05	1,86	2,54	1,86	1,94	1,86	2,54	1,84
Percentile 75	29,49	13,8 6	46,67	11,41	9,89	15,3 9	9,21	14,6 3
<i>p-value*</i>	0,518		0,174		0,731		0,393	

\* Mann-Whitney test



### 5.3.2. Ανάλυση συσχέτισης

Στον Πίνακα 7 συσχετίζονται οι συγκεντρώσεις της *Legionella* spp και οι φυσικοχημικές τιμές χρησιμοποιώντας το συντελεστή συσχέτισης Spearman.

Παρατηρούμε πως οι τιμές υποδηλώνουν ασθενή συσχέτιση καθώς όλες οι τιμές του συντελεστή είναι  $<0,3$ . Παρόλο όμως που παρουσιάζεται **ασθενής αρνητική συσχέτιση** μεταξύ της Υπολειμματική Απολυμαντική Ουσίας και των συγκεντρώσεων της *Legionella* spp ( $r=-0,285$ ) είναι ωστόσο στατιστικά σημαντική ( $p$ -value:  $<0,001$ ).

Αντιθέτως, υπάρχει **ασθενής θετική συσχέτιση** με το pH ( $r=0,188$ ), τα κοινά αερόβια ( $r=0,230$ ), την αγωγιμότητα ( $r=0,175$ ), την σκληρότητα ( $r=0,222$ ), και το ασβέστιο ( $r=0,170$ ).

Πίνακας 7: Ανάλυση συσχέτισης

	<i>Legionella</i> spp		
	Συντελεστής συσχέτισης	p-value	N
Υπολειμματική Απολυμαντική Ουσία (mg/l)	-0.285(**)	<0,001	157
pH	0.188(*)	0,018	157
Θερμοκρασία (°C)	0,007	0,929	158
Κοινά αερόβια(CFU/ml)	0.230(**)	0,004	158
Αγωγιμότητα (μS/cm) (250C)	0.175(*)	0,036	144
Σκληρότητα (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	0.222(**)	0,008	144
Ασβέστιο (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	0.170(*)	0,041	144
Σίδηρος (Fe) (μg/L)	-0,010	0,899	155
Ψευδάργυρος (Zn) (μg/L)	0,116	0,477	40
Μαγγάνιο (Mn) μg/L	0,052	0,546	139

## 5.4. Δίκτυο ύδρευσης και επίδραση στις φυσικοχημικές ιδιότητες του νερού και στην παρουσία της *Legionella*

Στην ενότητα αυτή παρουσιάζεται εάν επηρεάζονται οι τιμές των συγκεντρώσεων των φυσικοχημικών παραμέτρων του κρύου νερού και της *Legionella* σε σχέση με τις εξής παραμέτρους του δικτύου ύδρευσης: (α) ύπαρξη δεξαμενής αποθήκευσης κρύου νερού, (β) υλικό δεξαμενής αποθήκευσης κρύου νερού, (γ) υλικό κατασκευής σωληνώσεων.

### 5.4.1. Ύπαρξη δεξαμενής

Η ύπαρξη δεξαμενής στο δίκτυο ύδρευσης παρατηρείται πως είναι ένας σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει τις συγκεντρώσεις φυσικοχημικών χαρακτηριστικών των νερού. Όπως εμφανίζεται στον Πίνακα 8, το pH, η αγωγιμότητα και οι συγκεντρώσεις κοινών αερόβιων, της σκληρότητας και του ασβεστίου παρουσιάζουν μεγαλύτερες τιμές όταν στο δίκτυο υπάρχει δεξαμενή.

Η υπολειμματική απολυμαντική ουσία παρουσιάζει μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε δίκτυα στα όποια υπάρχει δεξαμενή (Διάμεσος: 0,35 IQR: 0,2-0,62) σε σύγκριση με τις συγκεντρώσεις από δίκτυα χωρίς δεξαμενή (Διάμεσος: 0,31 IQR: 0,16-0,67)(p-value: 0,558).

Το pH παρουσιάζει μικρές διαφορές σε δίκτυα στα όποια υπάρχει δεξαμενή (Διάμεσος: 7,4 IQR: 7,3-7,6) σε σύγκριση με τις συγκεντρώσεις από δίκτυα χωρίς δεξαμενή (Διάμεσος: 7,4 IQR: 7,2-7,5)(p-value:0,022).

Η θερμοκρασία παρουσιάζει όμοιες τιμές σε δίκτυα στα όποια υπάρχει δεξαμενή (Διάμεσος: 22 IQR: 20-24) σε σύγκριση με τις συγκεντρώσεις από δίκτυα χωρίς δεξαμενή (Διάμεσος: 22 IQR: 21-24)(p-value:0,866).

Τα κοινά αερόβια παρουσιάζουν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε δίκτυα στα όποια υπάρχει δεξαμενή (Διάμεσος: 21000 IQR: 3100-30000) σε σύγκριση με τις συγκεντρώσεις από δίκτυα χωρίς δεξαμενή (Διάμεσος: 2700 IQR: 1300-30000)(p-value:0,022).

Η αγωγιμότητα παρουσιάζει μεγαλύτερες τιμές σε δίκτυα στα όποια υπάρχει δεξαμενή (Διάμεσος: 784 IQR: 606-1750) σε σύγκριση με τις συγκεντρώσεις από δίκτυα χωρίς δεξαμενή (Διάμεσος: 425 IQR: 418-926)(p-value:<0,001).

Η σκληρότητα παρουσιάζει μεγαλύτερες τιμές σε δίκτυα στα όποια υπάρχει δεξαμενή (Διάμεσος: 358 IQR: 244-630) σε σύγκριση με τις συγκεντρώσεις από δίκτυα χωρίς δεξαμενή (Διάμεσος: 222 IQR: 164-312)(p-value:0,008).

Το ασβέστιο παρουσιάζει μεγαλύτερες τιμές σε δίκτυα στα όποια υπάρχει δεξαμενή (Διάμεσος: 216,4 IQR: 140,3-436,8) σε σύγκριση με τις συγκεντρώσεις από δίκτυα χωρίς δεξαμενή (Διάμεσος: 132,3 IQR: 55,2-140,3)(p-value:0,001).

**Πίνακας 8: Ύπαρξη δεξαμενής και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του νερού**

Παράμετρος	Δεξαμενή						
	NAI			OXI			p-value*
	Διάμεσος	Percentile 25	Percentile 75	Διάμεσος	Percentile 25	Percentile 75	
Υπολειμματική Απολυμαντική Ουσία (mg/l)	0,35	0,2	0,62	0,31	0,16	0,67	0,558
pH	7,4	7,3	7,6	7,4	7,2	7,5	<b>0,022</b>
Θερμοκρασία (°C)	22	20	24	22	21	24	0,866
Κοινά αερόβια (CFU/ml)	21000	3100	30000	2700	1300	30000	<b>0,022</b>
Αγωγιμότητα (μS/cm) (250C)	784	606	1750	425	418	926	<b>&lt;0,001</b>
Σκληρότητα (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	358	244	630	222	164	312	<b>0,008</b>
Ασβέστιο (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	216,4	140,3	436,8	132,3	55,2	140,3	<b>0,001</b>

\* Mann-Whitney test

Στον Πίνακα 9 παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις των ιχνοστοιχείων και πως επηρεάζονται από την παρουσία δεξαμενής. Παρατηρούμε πως οι συγκεντρώσεις το σιδήρου είναι πιο αυξημένες όταν στο δίκτυο υπάρχει δεξαμενή (Διαμεσος:66,48 IQR: 26-159) σε σχέση με τα δίκτυα που δεν είχαν δεξαμενή (Διαμεσος:51,83 IQR: 35,02-212,3) αλλά δεν είναι στατιστικά σημαντική η διαφορά. Ομοίως, οι συγκεντρώσεις το μαγγανίου είναι πιο αυξημένες όταν στο δίκτυο υπάρχει δεξαμενή (Διαμεσος:4,15 IQR: 1,86-26,17) σε σχέση με τα δίκτυα που δεν είχαν δεξαμενή (Διαμεσος:2,64 IQR: 1,94-4,64) (p-value:<0,001). Σε αντίθεση ο ψευδάργυρος παρουσιάζει μικρότερες τιμές σε δίκτυο όπου υπάρχει δεξαμενή (Διαμεσος:50,6 IQR: 28-58,8) σε σχέση με τα δίκτυα που δεν είχαν δεξαμενή (Διαμεσος:227,6 IQR: 192,9-262,3)(p-value:0,038).

**Πίνακας 9: Ύπαρξη δεξαμενής και συγκεντρώσεις ιχνοστοιχείων στο νερό**

Παράμετρος	Δεξαμενή						
	NAI			OXI			p-value*
	Διάμεσος	Percentile 25	Percentile 75	Διάμεσος	Percentile 25	Percentile 75	
Σίδηρος (Fe) (μg/L)	66,48	26	159	51,83	35,02	212,3	0,836
Ψευδάργυρος (Zn) (μg/L)	50,6	28	58,8	227,6	192,9	262,3	<b>&lt;0,001</b>
Μαγγάνιο (Mn) μg/L	4,15	1,86	26,17	2,64	1,94	4,64	<b>0,038</b>

\* Mann-Whitney test

Ο Πίνακας 10 εξετάζει πώς επηρεάζονται οι συγκεντρώσεις της *Legionella* ως προς την ύπαρξη δεξαμενής στο δίκτυο ύδρευσης. Από τα αποτελέσματα συμπεραίνουμε πως δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση ανάμεσα στη συγκέντρωση της *Legionella* και στην παρουσία δεξαμενής. Παρόλο όμως που οι διαφορές δεν είναι στατιστικά σημαντικές παρατηρούμε πως από τα θετικά δείγματα με *Legionella* spp τα περισσότερα ήταν από δίκτυα με δεξαμενές (31/128, 24,2%) σε σύγκριση με αυτά από δίκτυο χωρίς δεξαμενή (5/30, 16,7%). Από τα θετικά δείγματα με με *L. pneumophilla* ορότυπου 1 τα περισσότερα ήταν από δίκτυα με δεξαμενές (17/128, 13,3%) σε σύγκριση με αυτά από δίκτυο χωρίς δεξαμενή (2/30, 6,7%). Από τα θετικά δείγματα με με *L. pneumophilla* ορότυπου 2-15 τα περισσότερα ήταν από δίκτυα με δεξαμενές (18/128, 14,1%) σε σύγκριση με αυτά από δίκτυο χωρίς δεξαμενή (3/30, 10%). Από τα θετικά δείγματα με με *Legionella* αλλά είδη εκτός *pneumophilla* τα περισσότερα ήταν από δίκτυα με δεξαμενές (10/128, 7,8%) σε σύγκριση με αυτά από δίκτυο χωρίς δεξαμενή (1/30, 3,3%).

**Πίνακας 10: Ύπαρξη δεξαμενής και *Legionella***

		Παρουσία Δεξαμενής				p-value
		ΝΑΙ N=128		ΌΧΙ N=30		
		Συχνότητα	%	Συχνότητα	%	
<b><i>Legionella</i> spp</b>	<b>Παρουσία</b>	<b>31</b>	<b>24,2</b>	<b>5</b>	<b>16,7</b>	0.375*
	Απουσία	97	75,8	25	83,3	
<b><i>Legionella</i> spp (CFU/l)</b>	<100-απουσία	97	75,8	25	83,3	0.815**
	100-999	21	16,4	4	13,3	
	>=1000	10	7,8	1	3,3	
<b><i>L. pneumophilla</i> sg.1</b>	<b>Παρουσία</b>	<b>17</b>	<b>13,3</b>	<b>2</b>	<b>6,7</b>	0.532**
	Απουσία	111	86,7	28	93,3	
<b><i>L. pneumophilla</i> sg.1 (CFU/l)</b>	<100-απουσία	111	86,7	28	93,3	0.255**
	100-999	15	11,7	1	3,3	
	>=1000	2	1,6	1	3,3	
<b><i>L. pneumophilla</i> sg.2-15</b>	<b>Παρουσία</b>	<b>18</b>	<b>14,1</b>	<b>3</b>	<b>10</b>	0.767*
	Απουσία	110	85,9	27	90	
<b><i>L. pneumophilla</i> sg.2-15 (CFU/l)</b>	<100-απουσία	110	85,9	27	90	0.795**
	100-999	13	10,2	3	10	
	>=1000	5	3,9	0	0	
<b><i>Legionella</i> other</b>	<b>Παρουσία</b>	<b>10</b>	<b>7,8</b>	<b>1</b>	<b>3,3</b>	0.692**
	Απουσία	118	92,2	29	96,7	
<b><i>Legionella</i> other (CFU/l)</b>	<100-απουσία	118	92,2	29	96,7	0.454**
	100-999	7	5,5	0	0	
	>=1000	3	2,3	1	3,3	

\* Chi-square test

\*\* Fisher's exact test

#### 5.4.2. Υλικό δεξαμενής

Το υλικό δεξαμενής είναι εξίσου σημαντική παράμετρος που παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά όσον αφορά τις συγκεντρώσεις υπολειμματικού απολυμαντικού, αγωγιμότητα, σκληρότητα και ψευδαργύρου (Πίνακας 11).

Η υπολειμματική απολυμαντική ουσία παρουσιάζει μεγαλύτερες τιμές σε δίκτυα στα οποία η δεξαμενή ήταν από μπετόν (Διάμεσος: 0,37 IQR: 0,22-0,7) σε σύγκριση με τις τιμές από δίκτυα με δεξαμενή άλλου υλικού (Διάμεσος: 0,15 IQR: 0,14-0,2)(p-value:<0,001).

Το pH παρουσιάζει όμοιες τιμές σε δίκτυα στα οποία η δεξαμενή ήταν από μπετόν (Διάμεσος: 7,4 IQR: 7,3-7,7) σε σύγκριση με τις τιμές από δίκτυα με δεξαμενή άλλου υλικού (Διάμεσος: 7,4 IQR: 7,4-7,5)(p-value:0,461).

Η θερμοκρασία παρουσιάζει όμοιες τιμές σε δίκτυα στα οποία η δεξαμενή ήταν από μπετόν (Διάμεσος: 22 IQR: 20,5-23,5) σε σύγκριση με τις συγκεντρώσεις από δίκτυα με δεξαμενή άλλου υλικού (Διάμεσος: 22,3 IQR: 20,3-24,5)(p-value:0,816).

Τα κοινά αερόβια παρουσιάζουν μεγαλύτερες τιμές σε δίκτυα στα οποία η δεξαμενή ήταν από μπετόν (Διάμεσος: 22000 IQR: 9300-30000) σε σύγκριση με τις τιμές από δίκτυα με δεξαμενή άλλου υλικού (Διάμεσος: 9300 IQR: 646,5-30000)(p-value:0,205).

Η αγωγιμότητα παρουσιάζει μεγαλύτερες τιμές σε δίκτυα στα οποία η δεξαμενή ήταν από μπετόν (Διάμεσος: 796 IQR: 606-1790) σε σύγκριση με τις τιμές από δίκτυα με δεξαμενή άλλου υλικού (Διάμεσος: 607 IQR: 503-664)(p-value:0,005).

Η σκληρότητα παρουσιάζει μεγαλύτερες τιμές σε δίκτυα στα οποία η δεξαμενή ήταν από μπετόν (Διάμεσος: 390 IQR: 244-660) σε σύγκριση με τις τιμές από δίκτυα με δεξαμενή άλλου υλικού (Διάμεσος: 254 IQR: 196-358)(p-value:0,023).

Το ασβέστιο παρουσιάζει μεγαλύτερες τιμές σε δίκτυα στα οποία η δεξαμενή ήταν από μπετόν (Διάμεσος: 220,4 IQR: 148,3-440,8) σε σύγκριση με τις τιμές από δίκτυα με δεξαμενή άλλου υλικού (Διάμεσος: 150,3 IQR: 98,2-216,4)(p-value:0,09).

Ο σίδηρος παρουσιάζει μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε δίκτυα στα οποία η δεξαμενή ήταν από μπετόν (Διάμεσος: 66,48 IQR: 26-142) σε σύγκριση με τις συγκεντρώσεις από δίκτυα με δεξαμενή άλλου υλικού (Διάμεσος: 63 IQR:41,04-662)(p-value:0,471).

Ο ψευδάργυρος παρουσιάζει μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε δίκτυα στα οποία η δεξαμενή ήταν από μπετόν (Διάμεσος: 51,5 IQR: 35,9-67,1) σε σύγκριση με τις συγκεντρώσεις από δίκτυα με δεξαμενή άλλου υλικού (Διάμεσος: 21,2 IQR:143,3-28)(p-value:0,044).

Το μαγγάνιο παρουσιάζει μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε δίκτυα στα οποία η δεξαμενή ήταν από μπετόν (Διάμεσος: 3,98 IQR: 1,86-15,39) σε σύγκριση με τις συγκεντρώσεις

από δίκτυα με δεξαμενή άλλου υλικού (Διάμεσος: 41,46 IQR:3,05-110,42)(p-value:0,139).

**Πίνακας 11: Υλικό δεξαμενής και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του νερού**

Παράμετρος	Υλικό κατασκευής δεξαμενής						
	ΜΠΕΤΟΝ			PVC-ΜΕΤΑΛΛΙΚΗ-ΠΛΑΣΤΙΚΗ			p-value*
	Διάμεσος	Percentile 25	Percentile 75	Διάμεσος	Percentile 25	Percentile 75	
Υπολειμματική Α πολυμαντική Ουσία (mg/l)	0,37	0,22	0,7	0,15	0,14	0,2	<0,001
pH	7,4	7,3	7,7	7,4	7,4	7,5	0,461
Θερμοκρασία (°C)	22	20,5	23,5	22,3	20,3	24,5	0,819
Κοινά αερόβια(CFU/ml)	22000	3900	30000	9300	646,5	30000	0,205
Αγωγιμότητα (μS/cm) (250C)	796	606	1790	607	503	664	0,005
Σκληρότητα (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	390	244	660	254	196	358	0,023
Ασβέστιο (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	220,4	148,3	440,8	150,3	98,2	216,4	0,09
Σίδηρος (Fe) (μg/L)	66,48	26	142	63	41,04	662	0,471
Ψευδάργυρος (Zn) (μg/L)	51,5	35,9	67,1	21,2	14,3	28	0,044
Μαγγάνιο (Mn) μg/L	3,98	1,86	15,39	41,46	3,05	110,42	0,139

\* Mann-Whitney test

Το είδος του υλικού κατασκευής και εάν αυτό επηρεάζει τον αποικισμό του δικτύου με *Legionella* παρουσιάζεται στον Πίνακα 12. Οι διαφορές που παρατηρούμε δεν είναι στατιστικά σημαντικές.

Όπως παρατηρούμε στον Πίνακα 12 από τα θετικά δείγματα με *Legionella* spp τα περισσότερα ήταν από δίκτυα με δεξαμενές από μπετόν (28/116, 24,1%) σε σύγκριση με αυτά από δίκτυο με δεξαμενή άλλου είδους υλικού (3/12, 25%).

Από τα θετικά δείγματα με με *L. pneumophilla* ορότυπου 1 τα περισσότερα ήταν από δίκτυα με δεξαμενές από μπετόν (14/116, 12,1%) σε σύγκριση με αυτά από δίκτυο με δεξαμενή άλλου είδους υλικού (3/11, 25%).

Από τα θετικά δείγματα με με *L. pneumophilla* ορότυπου 2-15 τα περισσότερα ήταν από δίκτυα με δεξαμενές από μπετόν (17/116, 14,7%) σε σύγκριση με αυτά από δίκτυο με δεξαμενή άλλου είδους υλικού (1/11, 8,3%).

Από τα θετικά δείγματα με *Legionella* αλλά είδη εκτός *pneumophilla* τα περισσότερα ήταν από δίκτυα με δεξαμενές από μπετόν (10/116, 8,6%) σε σύγκριση με αυτά από δίκτυο με δεξαμενή άλλου είδους υλικού (0/11, 0%).

**Πίνακας 12: Υλικό κατασκευής δεξαμενής και παρουσία *Legionella***

Υλικό κατασκευής δεξαμενής						
		ΜΠΕΤΟΝ		PVC-ΜΕΤΑΛΛΙΚΗ-ΠΛΑΣΤΙΚΗ		
		Συχνότητα	%	Συχνότητα	%	p-value*
<i>Legionella</i> spp	Παρουσία	28	24,1	3	25	0,999
	Απουσία	88	75,9	9	75	
<i>L. pneumophilla</i> sg.1	Παρουσία	14	12,1	3	25	0,199
	Απουσία	102	87,9	9	75	
<i>L. pneumophilla</i> sg.2-15	Παρουσία	17	14,7	1	8,3	0,999
	Απουσία	99	85,3	11	91,7	
<i>Legionella</i> other	Παρουσία	10	8,6	0	0	0,597
	Απουσία	106	91,4	12	100	

\* Fisher's exact test

#### 5.4.3. Υλικό σωληνώσεων

Το υλικό των σωληνώσεων εξετάστηκε επίσης για το πώς επηρεάζει τις συγκεντρώσεις των φυσικοχημικών παραμέτρων του νερού και τις συγκεντρώσεις της *Legionella*. Στον Πίνακα 13 παρουσιάζονται τα είδη των σωληνώσεων του δικτύου ύδρευσης. Παρατηρείται πως το πιο συχνό υλικό είναι οι σωληνώσεις από συνδυασμό Χαλκό και PVC.

**Πίνακας 13: Υλικό σωληνώσεων στα δίκτυα ύδρευσης**

Υλικό Σωληνώσεων	Συχνότητα	%
Aquatherm	4	2,5
PPC	28	17,7
PVC	28	17,7
Πολυαιθυλένιο- Χαλκός	10	6,3
Πολυαιθυλένιο	28	17,7
Χαλκός – PVC	52	32,9
Χαλκός	4	2,5
Χάλυβα	4	2,5

Για να εξεταστεί πως οι συγκεντρώσεις επηρεάζονται από το υλικό των σωληνώσεων οι εξής ομάδες δημιουργήθηκαν:

- Χαλκός: σωληνώσεις από χαλκό ή που περιέχουν χαλκό
- Λοιπά είδη: σωληνώσεις που δεν περιέχουν χαλκό.

**Πίνακας 14: Κατανομή ομάδων υλικού σωληνώσεων στα δίκτυα ύδρευσης**

Υλικό Σωληνώσεων	Συχνότητα	%
Χαλκός	66/158	41,8
Λοιπά είδη	92/158	58,2

Στον Πίνακα 15 εξετάζεται ο τρόπος με τον οποίο επηρεάζονται οι συγκεντρώσεις των φυσικοχημικών παραμέτρων με το υλικό των σωληνώσεων. Όσον αφορά το υλικό των σωληνώσεων του δικτύου ύδρευσης η θερμοκρασία παρουσιάζει πιο αυξημένες τιμές όταν το δίκτυο ύδρευσης δεν είναι κατασκευασμένο με σωληνώσεις από χαλκό. Δηλαδή, η παρουσία σωληνώσεων χαλκού παρουσιάζουν μικρότερες τιμές θερμοκρασίας. Οι συγκεντρώσεις των κοινών αερόβιων μικροοργανισμών είναι πιο αυξημένες όταν οι σωληνώσεις δεν είναι από χαλκό σε αντίθεση με τις συγκεντρώσεις του σιδήρου οι οποίες είναι πιο αυξημένες όταν το δίκτυο είναι κατασκευασμένο από χαλκό.

Η υπολειμματική απολυμαντική ουσία παρουσιάζει μικρότερες τιμές σε δίκτυα με σωληνώσεις από χαλκό (Διάμεσος: 0,28 IQR: 0,2-0,63) σε σύγκριση με τις τιμές από δίκτυα με σωληνώσεις άλλου υλικού (Διάμεσος: 0,36 IQR: 0,19—0,62)(p-value:0,842).

Το pH παρουσιάζει όμοιες τιμές σε δίκτυα με σωληνώσεις από χαλκό (Διάμεσος: 7,2 IQR: 7,2-7,5) σε σύγκριση με τις συγκεντρώσεις από δίκτυα με σωληνώσεις άλλου υλικού (Διάμεσος: 7,4 IQR: 7,4-7,4-7,6)(p-value:0,138).

Η θερμοκρασία παρουσιάζει ελάχιστα μικρότερες τιμές σε δίκτυα με σωληνώσεις από χαλκό (Διάμεσος: 22 IQR: 20-23) σε σύγκριση με τις συγκεντρώσεις από δίκτυα με σωληνώσεις άλλου υλικού (Διάμεσος: 22,4 IQR: 21-24,2)(p-value:0,027).

Τα κοινά αερόβια παρουσιάζουν μικρότερες τιμές σε δίκτυα με σωληνώσεις από χαλκό (Διάμεσος: 5900 IQR: 1300-30000) σε σύγκριση με τις τιμές από δίκτυα με σωληνώσεις άλλου υλικού (Διάμεσος: 29000 IQR: 3050-30000)(p-value:0,005).

Η αγωγιμότητα παρουσιάζει μεγαλύτερες τιμές σε δίκτυα με σωληνώσεις από χαλκό (Διάμεσος: 810 IQR: 606-1830) σε σύγκριση με τις τιμές από δίκτυα με σωληνώσεις άλλου υλικού (Διάμεσος: 660 IQR: 590-1540)(p-value:0,08).

Η σκληρότητα παρουσιάζει μικρότερες τιμές σε δίκτυα με σωληνώσεις από χαλκό (Διάμεσος: 266 IQR: 220-630) σε σύγκριση με τις τιμές από δίκτυα με σωληνώσεις άλλου υλικού (Διάμεσος: 336 IQR: 236-520)(p-value:0,742).

Το ασβέστιο παρουσιάζει μεγαλύτερες τιμές σε δίκτυα με σωληνώσεις από χαλκό (Διάμεσος: 230,4 IQR: 110,2-436,88) σε σύγκριση με τις τιμές από δίκτυα με σωληνώσεις άλλου υλικού (Διάμεσος: 200,4 IQR: 140,3-320,6)(p-value:0,987).



Ο σίδηρος παρουσιάζει μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε δίκτυα με σωληνώσεις από χαλκό (Διάμεσος: 90 IQR: 43,3-213,3) σε σύγκριση με τις συγκεντρώσεις δίκτυα με σωληνώσεις άλλου υλικού (Διάμεσος: 56,14 IQR:20,64-125)(p-value:0,001).

Ο ψευδάργυρος παρουσιάζει μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε δίκτυα με σωληνώσεις από χαλκό (Διάμεσος: 119,3 IQR: 42,9-195,7) σε σύγκριση με τις συγκεντρώσεις δίκτυα με σωληνώσεις άλλου υλικού (Διάμεσος: 51,5 IQR:28-75,4)(p-value:0,279).

Το μαγγάνιο παρουσιάζει μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε δίκτυα με σωληνώσεις από χαλκό (Διάμεσος: 5,93 IQR: 2,02-26,17) σε σύγκριση με τις συγκεντρώσεις δίκτυα με σωληνώσεις άλλου υλικού (Διάμεσος: 3,16 IQR:1,22-9,89)(p-value:0,111).

**Πίνακας 15: Υλικό δικτύου ύδρευσης και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του νερού**

Υλικό Σωληνώσεων Δικτύου Ύδρευσης							
	Χαλκός (+)			Χαλκός (-)			p-value*
	Διάμεσος	Percentile 25	Percentile 75	Διάμεσος	Percentile 25	Percentile 75	
Υπολειμματική Απολυμαντική Ουσία (mg/l)	0,28	0,2	0,63	0,36	0,19	0,62	0,842
pH	7,4	7,2	7,5	7,4	7,4	7,6	0,138
Θερμοκρασία (°C)	22	20	23	22,4	21	24,2	<b>0,027</b>
Κοινά αερόβια(CFU/ml)	5900	1300	30000	29000	3050	30000	<b>0,005</b>
Αγωγιμότητα (μS/cm) (250C)	810	606	1830	660	590	1540	0,08
Σκληρότητα (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	266	220	630	336	236	520	0,741
Ασβέστιο (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	230,4	110,2	436,8	200,4	140,3	320,6	0,987
Σίδηρος (Fe) (μg/L)	90	43,3	213,3	56,14	20,64	125	<b>0,001</b>
Ψευδάργυρος (Zn) (μg/L)	119,3	42,9	195,7	51,5	28	75,4	0,279
Μαγγάνιο (Mn) μg/L	5,93	2,02	26,17	3,16	1,22	9,89	0,111

\* Mann-Whitney test

Στον Πίνακα 16 εξετάζεται ο τρόπος με τον οποίο επηρεάζονται οι συγκεντρώσεις της *Legionella* με το υλικό των σωληνώσεων. Από τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον Πίνακα 16 συμπεραίνουμε πως οι συγκεντρώσεις της *Legionella* spp (RR:0,398, 95%CI: 0,194-0,818), η *L. pneumophilla* ορότυπου 1 (RR:0,261, 95%CI: 0,079-0,861). και η *Legionella* άλλα είδη εκτός από *pneumophilla* μειώνονται όταν οι σωληνώσεις είναι από χαλκό. Εν αντιθέσει, δεν είναι στατιστικά σημαντική η διαφορά με τη *L. pneumophilla* ορότυπου 2-15 (RR:0,558, 95%CI: 0,228-1,361).

**Πίνακας 16: Υλικό σωληνώσεων και *Legionella***

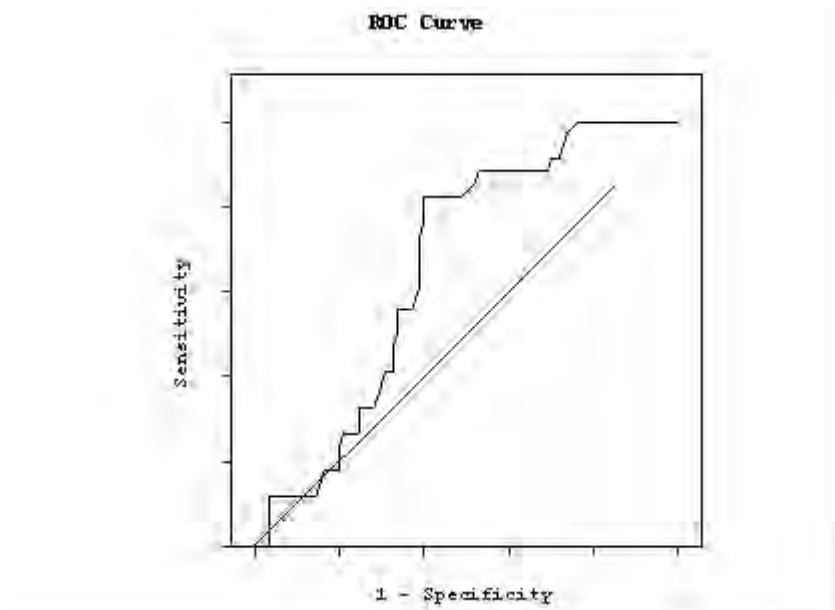
Παράμετρος		Υλικό Σωληνώσεων Δικτύου Ύδρευσης						
		Χαλκός (+)		Χαλκός (-)		RR	95% CI	p-value
		Συχνότητα	%	Συχνότητα	%			
<i>Legionella</i> spp	Παρουσία	8	12,1	28	30,4	0,398	0,194-0,818	<b>0,007*</b>
	Απουσία	58	87,9	64	69,6			
<i>L. pneumophilla</i> sg.1	Παρουσία	3	4,5	16	17,4	0,261	0,079-0,861	<b>0,014*</b>
	Απουσία	63	95,5	76	82,6			
<i>L. pneumophilla</i> sg.2-15	Παρουσία	6	9,1	15	16,3	0,558	0,228-1,361	0,188*
	Απουσία	60	90,9	77	83,7			
<i>Legionella</i> other	Παρουσία	0	0	11	12	N/A	N/A	<b>0,003**</b>
	Απουσία	66	100	81	88			

\* Chi-square test

\*\* Fisher's exact test

## 5.5. Χαρακτηριστικές καμπύλες ROC

Για να είναι εφικτός ο υπολογισμός του σχετικού κινδύνου αποικισμού του δικτύου με *Legionella* spp. σε σχέση με συγκεκριμένες τιμές για τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του νερού είναι απαραίτητος ο υπολογισμός του βέλτιστου σημείου αποκοπής για κάθε παράμετρο. Ως βέλτιστο σημείο αποκοπής ορίζεται ως εκείνο το σημείο στην Καμπύλη Λειτουργικού Χαρακτηριστικού Δέκτη ή ROC (Receiver Operating Characteristic curve) που είναι πιο κοντά στο σημείο όπου η ευαισθησία και η ειδικότητα είναι ίση με 1. Παρουσιάζεται ενδεικτικά στο Διάγραμμα 2 η ROC καμπύλη για τη σκληρότητα.



Διάγραμμα 2: ROC καμπύλη για τη σκληρότητα

Οι τιμές υπολογίζονται μόνο για τις παραμέτρους που παραθέτονται στον Πίνακα 17 γιατί από τις αναλύσεις που παρουσιάστηκαν στις προηγούμενες ενότητες δεν προκύπτει σημαντική διαφορά. Σε αυτή τη βάση λοιπόν οριστήκαν τα εξής βέλτιστα σημεία αποκοπής: Υπολειμματική Απολυμαντική ουσία  $<0.375$ , pH  $\geq 7.45$ , Κοινά αερόβια (CFU/ml)  $\geq 25000.0$ , αγωγιμότητα ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) (250C)  $\geq 1775$ , σκληρότητα (mg CaCO<sub>3</sub>/L)  $\geq 321$ , ασβέστιο (mg CaCO<sub>3</sub>/L)  $\geq 150.00$

Πίνακας 17: Τιμές βέλτιστου σημείου αποκοπής

Παράμετρος	Βέλτιστο σημείο αποκοπής	AUC	p-value
Υπολειμ. Απολυμ. Ουσία (mg/l)	$<0.375$	0,690	0,001
pH	$\geq 7.45$	0,624	0,025
Κοινά αερόβια(CFU/ml)	$\geq 25000.0$	0,643	0,009
Αγωγιμότητα ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) (250C)	$\geq 1775$	0,626	0,027
Σκληρότητα (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	$\geq 321$	0,660	0,005
Ασβέστιο (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	$\geq 150.00$	0,627	0,025

## 5.6. Σχετικός κίνδυνος αποικισμού με *Legionella*

Στην ενότητα αυτή παρουσιάζεται ο σχετικός κίνδυνος αποικισμού των δικτύων διανομής κρύου νερού με *Legionella* ως προς συγκεκριμένους παραμέτρους χρησιμοποιώντας τα βέλτιστα σημεία αποκοπής για τη διχοτόμηση (δύο ομάδες σύγκρισης) των διαφόρων παραμέτρων.

### 5.6.1. *Legionella spp*

Από τον πίνακα 18, παρατηρούμε πως από τα 89 δείγματα που είχαν συγκέντρωση υπολειμματικής απολυμαντικής ουσίας  $<0,375$  mg/l τα 33 δείγματα ήταν θετικά για *Legionella spp* (p-value $<0,001$ ). Άρα, το υπολειμματικό χλώριο σε τιμές  $>0,375$  mg/l δρα προστατευτικά και εμποδίζει την ανάπτυξη της *Legionella spp* (RR=8,404, 95%CI: 2,601-26,252).

Επίσης, από τα 66 δείγματα που είχαν σωληνώσεις από χαλκό, μόνο τα 8 ήταν θετικά για *Legionella spp* (p-value $<0,007$ ). Άρα οι σωληνώσεις από χαλκό δρουν προστατευτικά και εμποδίζουν την ανάπτυξη της *Legionella spp* (RR=0,398, 95%CI: 0,194-0,818).

Αντίθετα, από τα 67 δείγματα που είχαν  $pH \geq 7.45$  τα 23 δείγματα ήταν θετικά για *Legionella spp* (p-value:0,003). Άρα  $pH \geq 7.45$  αυξάνει τον κίνδυνο αποικισμού του δικτύου με *Legionella spp* (RR=2,377, 95%CI: 1,302-4,339).

Από τα 69 δείγματα που είχαν συγκεντρώσεις κοινών αερόβιων  $\geq 25000$  CFU/ml τα 24 δείγματα ήταν θετικά για *Legionella spp* (p-value:0,002). Άρα τα κοινά αερόβια σε συγκεντρώσεις  $\geq 25000$  CFU/ml αυξάνει τον κίνδυνο αποικισμού του δικτύου με *Legionella spp* (RR=2,58, 95%CI: 2,601-26,252).

Από τα 28 δείγματα που είχαν αγωγιμότητα  $\geq 1775$  τα 14 δείγματα ήταν θετικά για *Legionella spp* (p-value: $<0,001$ ). Άρα η αγωγιμότητα  $\geq 1775$  αυξάνει τον κίνδυνο αποικισμού του δικτύου με *Legionella spp* (RR=2,9, 95%CI: 1,683-4,997).

Από τα 72 δείγματα που είχαν σκληρότητα  $\geq 321$  mg CaCO<sub>3</sub>/L τα 28 δείγματα ήταν θετικά για *Legionella spp* (p-value: $<0,001$ ). Άρα η σκληρότητα σε συγκεντρώσεις  $\geq 1775$  mg CaCO<sub>3</sub>/L αυξάνει τον κίνδυνο αποικισμού του δικτύου με *Legionella spp* (RR=2,9, 95%CI: 1,683-4,997).

Από τα 92 δείγματα που είχαν ασβέστιο  $\geq 159$  mg CaCO<sub>3</sub>/L τα 29 δείγματα ήταν θετικά για *Legionella spp* (p-value: $<0,003$ ). Άρα το ασβέστιο σε συγκεντρώσεις  $\geq 150$  mg CaCO<sub>3</sub>/L αυξάνει τον κίνδυνο αποικισμού του δικτύου με *Legionella spp* (RR=2,9, 95%CI: 1,683-4,997).

Συνοπτικά, ο κίνδυνος αποικισμού με *Legionella spp* αυξάνεται σε νερό που οι τιμές του ξεπερνούν τα βέλτιστα σημεία αποκοπής των συγκεντρώσεων του pH, των κοινών αερόβιων, της αγωγιμότητας, του ασβεστίου και της σκληρότητας. Σε αντίθεση ο

κίνδυνος μειώνεται σε νερό που οι τιμές του ξεπερνούν τα βέλτιστα σημεία αποκοπής των συγκεντρώσεων της υπολειμματικής απολυμαντικής ουσίας και το υλικό των σωληνώσεων περιλαμβάνει χαλκό.

**Πίνακας 18: Υπολογισμός σχετικού κινδύνου αποικισμού του δικτύου με *Legionella* spp. σε σχέση με τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του νερού**

Παράμετρος	<i>Legionella</i> spp (+)					
		Συχνότητα	%	RR	95% CI	p-value*
Υπολειμ. Απολυμ. Ουσία (mg/l)	<0.375	33/89	37,1	8,404	2,601-26,252	<0,001
	≥0.375	3/68	4,4			
pH	≥7.45	23/67	34,3	2,377	1,302-4,339	0,003
	<7.45	13/90	14,4			
Κοινά αερόβια (CFU/ml)	≥25000.0	24/69	34,8	2,58	1,391-4,78	0,002
	<25000.0	12/89	13,5			
Αγωγιμότητα (μS/cm) (250C)	≥1775	14/28	50	2,9	1,683-4,997	<0,001
	<1775	20/116	17,2			
Σκληρότητα (mg CaCO3/L)	≥321	28/72	38,9	4,667	2,057-10,585	<0,001
	<321	6/72	8,3			
Ασβέστιο (mg CaCO3/L)	≥150.00	29/92	31,5	3,278	1,352-7,952	0,003
	<150.00	5/52	9,6			
Υλικό δικτύου ύδρευσης	Χαλκός (+)	8/66	12,1	0,398	0,194-0,818	0,007
	Χαλκός (-)	28/92	30,4			

\* Chi-square test

### 5.6.2. *L. pneumophilla* ορότυπου 1

Από τον πίνακα 19, παρατηρούμε ο κίνδυνος αποικισμού με *L. pneumophilla* ορότυπου 1 αυξάνεται σε νερό που οι τιμές του ξεπερνούν τα βέλτιστα σημεία αποκοπής των συγκεντρώσεων του pH, των κοινών αερόβιων, του ασβεστίου και της σκληρότητας. Σε αντίθεση ο κίνδυνος μειώνεται σε νερό που οι τιμές του ξεπερνούν τα βέλτιστα σημεία αποκοπής των συγκεντρώσεων της αγωγιμότητας, της υπολειμματικής απολυμαντικής ουσίας και το υλικό των σωληνώσεων περιλαμβάνει χαλκό.

**Πίνακας 19: Υπολογισμός σχετικού κινδύνου αποικισμού του δικτύου με *L. pneumophilla* ορότυπου 1. σε σχέση με τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του νερού**

<i>L. pneumophilla</i> sg.1 (+)						
		Συχνότητα	%	RR	95% CI	p-value
Υπολειμ. Απολυμ. Ουσία (mg/l)	<0.375	19/89	21,3	29,9***		<0,001*
	≥0.375	0/68	0			
pH	≥7.45	17/67	25,4	11,418	2,731-47,742	<0,001*
	<7.45	2/90	2,2			
Κοινά αερόβια(CFU/ml)	≥25000.0	13/69	18,8	2,795	1,1120-6,976	0,02*
	<25000.0	6/89	6,7			
Αγωγιμότητα (μS/cm) (250C)	≥1775	8/28	28,6	3,683	1,561-8,688	0,006**
	<1775	9/116	7,8			
Σκληρότητα (mg CaCO3/L)	≥321	14/72	19,4	4,667	1,401-15,547	0,004*
	<321	3/72	4,2			
Ασβέστιο (mg CaCO3/L)	≥150.00	14/92	15,2	2,638	0,795-8,755	0,091*
	<150.00	3/52	5,8			
Υλικό δικτύου ύδρευσης	Χαλκός (+)	3/66	4,5	0,261	0,079-0,861	0,014*
	Χαλκός (-)	16/92	17,4			

\* Chi-square test \*\* Fisher's exact test \*\*\*Υπολογισμός RR χρησιμοποιώντας τη διόρθωση Haldone.

### 5.6.3. *L. pneumophilla* ορότυπον 2-15

Από τον πίνακα 20, παρατηρούμε ο κίνδυνος αποικισμού με *L. pneumophilla* ορότυπου 2-15 αυξάνεται σε νερό που οι τιμές του ξεπερνούν τα βέλτιστα σημεία αποκοπής των συγκεντρώσεων, των κοινών αερόβιων, του ασβεστίου και της σκληρότητας. Σε αντίθεση ο κίνδυνος μειώνεται σε νερό που οι τιμές του ξεπερνούν τα βέλτιστα σημεία αποκοπής των συγκεντρώσεων του pH, της αγωγιμότητας, της υπολειμματικής απολυμαντικής ουσίας και το υλικό των σωληνώσεων περιλαμβάνει χαλκό.

**Πίνακας 20: Υπολογισμός σχετικού κινδύνου αποικισμού του δικτύου με *L. pneumophilla* ορότυπου 2-15. σε σχέση με τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του νερού**

	<i>L. pneumophilla</i> sg.2-15 (+)					
		Συχνότητα	%	RR	95% CI	p-value
<b>Υπολειμ. Απολυμ. Ουσία (mg/l)</b>	<0.375	18/89	20,2	4,584	1,408-14,931	<b>0,004*</b>
	≥0.375	3/68	4,4			
<b>pH</b>	≥7.45	10/67	14,9	1,221	0,551-2,706	0,623*
	<7.45	11/90	12,2			
<b>Κοινά αερόβια(CFU/ml)</b>	≥25000.0	15/69	21,7	3,225	1,320-7,876	<b>0,006*</b>
	<25000.0	6/89	6,7			
<b>Αγωγιμότητα (μS/cm) (250C)</b>	≥1775	8/28	28,6	2,549	1,171-5,551	<b>0,033**</b>
	<1775	13/116	11,2			
<b>Σκληρότητα (mg CaCO3/L)</b>	≥321	17/72	23,6	4,25	1,504-12,013	<b>0,002*</b>
	<321	4/72	5,6			
<b>Ασβέστιο (mg CaCO3/L)</b>	≥150.00	18/92	19,6	3,391	1,048-10,971	<b>0,024*</b>
	<150.00	3/52	5,8			
<b>Υλικό δικτύου ύδρευσης</b>	Χαλκός (+)	6/66	9,1	0,0558	0,228-1,361	0,188*
	Χαλκός (-)	15/92	16,3			

\* Chi-square test \*\* Fisher's exact test

#### 5.6.4. Legionella άλλο είδος εκτός από pneumophilla

Από τον Πίνακα 21, παρατηρούμε ότι ο κίνδυνος αποικισμού με *Legionella* άλλο είδος εκτός από *pneumophilla* αυξάνεται σε νερό που οι τιμές του ξεπερνούν τα βέλτιστα σημεία αποκοπής των συγκεντρώσεων του pH, των κοινών αερόβιων, του ασβεστίου και της σκληρότητας. Σε αντίθεση ο κίνδυνος μειώνεται σε νερό που οι τιμές του ξεπερνούν τα βέλτιστα σημεία αποκοπής των συγκεντρώσεων του της αγωγιμότητας, της υπολειμματικής απολυμαντικής ουσίας και το υλικό των σωληνώσεων περιλαμβάνει χαλκό.

**Πίνακας 21: Υπολογισμός σχετικού κινδύνου αποικισμού του δικτύου με *Legionella* άλλα εκτός *pneumophilla* σε σχέση με τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του νερού**

<i>Legionella</i> other (+)						
		Συχνότητα	%	RR	95% CI	p-value
Υπολειμ. Απολυμ. Ουσία (mg/l)	<0.375	11/89	12,4	17,63***		<b>0,003*</b>
	≥0.375	0/68	0			
pH	≥7.45	7/67	10,4	2,351	0,717-7,704	0,207**
	<7.45	4/90	4,4			
Κοινά αερόβια(CFU/ml)	≥25000	9/69	13	5,804	1,296-26,002	<b>0,011**</b>
	<25000	2/89	2,2			
Αγωγιμότητα (μS/cm) (250C)	≥1775	2/28	7,1	1,036	0,233-4,612	0,99**
	<1775	8/116	6,9			
Σκληρότητα (mg CaCO3/L)	≥321	9/72	12,5	9	1,170-69,215	<b>0,017**</b>
	<321	1/72	1,4			
Ασβέστιο (mg CaCO3/L)	≥150.00	9/92	9,8	5,087	0,663-39,036	0,095**
	<150.00	1/52	1,9			
Υλικό δικτύου ύδρευσης	Χαλκός (+)	0/66	0		0,06***	<b>0,03**</b>
	Χαλκός (-)	11/92	12			

\* Chi-square test \*\* Fisher's exact test \*\*\*Υπολογισμός RR χρησιμοποιώντας τη διόρθωση Haldone.



## 5.7. Πολυπαραγοντική ανάλυση

Όπως αναφέρθηκε στην ενότητα της στατιστικής ανάλυσης, εφαρμόστηκε πολλαπλή λογιστική παλινδρόμηση (multiple logistic regression analysis) υπολογίζοντας τα ORs με τα αντίστοιχα 95% διαστήματα εμπιστοσύνης για τον προσδιορισμό ανεξάρτητων παραγόντων κινδύνου ανίχνευσης *Legionella*. Ως εξαρτημένη μεταβλητή χρησιμοποιήθηκε η παρουσία *Legionella* ( $\geq 100$ ) και ως πιθανοί παράγοντες (ανεξάρτητες μεταβλητές) χρησιμοποιήθηκαν οι παράγοντες κινδύνου που βρέθηκαν στατιστικά σημαντικοί ( $p$ -value $<0,05$ ) στη μονοπαραγοντική ανάλυση.

Παρατηρούμε πως οι παράμετροι, ανεξαρτήτως άλλων παραγόντων, που συσχετίζονται με τις συγκεντρώσεις της *Legionella* στα κρύα νερά είναι (με φθίνουσα σειρά) η υπολειμματική απολυμαντική ουσία, η σκληρότητα, το pH, τα κοινά αερόβια, και το υλικό των σωληνώσεων.

Συγκεκριμένα παρατηρούμε πως τιμές της υπολειμματικής απολυμαντικής ουσίας  $<0,375$  αυξάνουν τον κίνδυνο αποικισμού των δικτύων κρύου νερού ανεξαρτήτως άλλων παραγόντων (OR=9,76, 95% CI:2,46-38,66).

Τιμές του pH  $\geq 7,45$  (OR=4,05 95% CI:1,47-11,19), συγκεντρώσεις κοινών αερόβιων  $\geq 25000$  CFU/ml (OR=2,63, 95% CI:0,98-7,09), και συγκεντρώσεις της σκληρότητας  $\geq 321$  mg CaCO<sub>3</sub>/L (OR=5,63 95% CI:1,82-17,41), αυξάνουν τον κίνδυνο αποικισμού των δικτύων κρύου νερού με *Legionella*.

Τέλος, παρατηρείται πως οι σωληνώσεις από χαλκό μειώνουν τον κίνδυνο αποικισμού των δικτύων κρύου νερού με *Legionella* (OR=0,29 95% CI:0,10-0,085).

**Πίνακας 22: Αποτελέσματα πολυπαραγοντικής ανάλυσης**

		OR	95% CI	p-value
<b>Υπολειμ. Απολυμ. Ουσία (mg/l)</b>	$<0.375$	9,76	2.46-38.66	0,001
<b>pH</b>	$\geq 7.45$	4,05	1.47-11.19	0,007
<b>Κοινά αερόβια(CFU/ml)</b>	$\geq 25000$	2,63	0.98-7.09	0,056
<b>Σκληρότητα (mg CaCO<sub>3</sub>/L)</b>	$\geq 321$	5,63	1.82-17.41	0,003
<b>Υλικό σωληνώσεων ΔΥ</b>	Χαλκός (+) vs Χαλκός (-)	0,29	0.10-0.85	0,024

Έχουν ολοκληρωθεί αρκετές μελέτες για την επίδραση των φυσικοχημικών παραμέτρων του νερού στον αποικισμό με *Legionella* συστημάτων διανομής ζεστού νερού μεγάλων εγκαταστάσεων όπως νοσοκομεία και ξενοδοχεία αλλά ποτέ αποκλειστικά σε συστήματα διανομής κρύου νερού. Η παρούσα μελέτη παρουσίασε πως το 22,8% των δειγμάτων κρύου νερού ήταν θετικό για *Legionella* spp με το 7% αυτών των δειγμάτων να έχουν συγκέντρωση >1000 CFU/L. Αυτό σημαίνει πως αν και μικρό το ποσοστό, τα ξενοδοχεία από τα οποία προήλθαν αυτά τα δείγματα θα έπρεπε να θέσουν σε εφαρμογή διορθωτικές ενέργειες. Μέσα από τη μελέτη αυτή παρουσιάζονται οι φυσικοχημικές παράμετροι, που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες για τον κίνδυνο αποικισμού των δικτύων με *Legionella* αλλά και ως τρόποι αντιμετώπισης ενός αποικισμένου δικτύου.

Τα αποτελέσματα της μελέτης μας συμφωνούν με προηγούμενες μελέτες για την συσχέτιση των φυσικοχημικών παραμέτρων και τον αποικισμό των δικτύων με *Legionella* (Bargellini et al., 2011; Borella et al., 2005a; Fragou et al., 2012; Kusnetsov et al., 1993; Leoni et al., 2005; Rakic et al., 2011). Εξετάζοντας την συσχέτιση των φυσικοχημικών παραμέτρων με την *Legionella* υπολογίστηκε το βέλτιστο σημείο αποκοπής και παρατηρήθηκε πως οι τιμές της υπολειμματικής απολυμαντικής ουσίας <0,37, pH  $\geq$ 7,45, κοινά αερόβια  $\geq$ 25000 CFU/ml και σκληρότητας  $\geq$ 321 mg CaCO<sub>3</sub>/L αυξάνουν τον κίνδυνο αποικισμού με *Legionella* των δικτύων κρύου νερού ανεξαρτήτως άλλων παραγόντων.

Προηγούμενες μελέτες έχουν αποδείξει την θετική συσχέτιση του pH με την παρουσία της *Legionella*. Το pH επηρεάζει και έμμεσα την παρουσία της *Legionella* λόγω της επιρροής που έχει στις συγκεντρώσεις του χαλκού (στατιστικά σημαντική αρνητικής συσχέτισης), στη διάβρωση των σωληνώσεων και στην αποτελεσματικότητα της απολύμανσης (WHO, 2007b). Στη παρούσα μελέτη το pH ήταν εντός των ορίων που ευνοούν την ανάπτυξη της *Legionella* (Διάμεσος: 7,4 , IQR: 7,3-7,4). Όντως, παρατηρήθηκε πως τιμές του pH  $\geq$ 7.45 αυξάνει τον κίνδυνο αποικισμού του δικτύου με *Legionella* spp. Αυτό είναι σε συμφωνία με την άποψη ότι pH >8 επηρεάζει αρνητικά την αποτελεσματικότητα της απολύμανσης.

Με βάση την βιβλιογραφία, η *Legionella* αναπτύσσεται σε θερμοκρασίες από 20<sup>0</sup>C έως 45<sup>0</sup>C ενώ σε κρύο νερό <25<sup>0</sup>C δεν επιβιώνει μέσα σε πρωτόζωα κρύου νερού. Αρκετές μελέτες αναγνωρίζουν την θερμοκρασία ως την πιο σημαντική παράμετρο. Στη μελέτη μας η θερμοκρασία των δειγμάτων κρύου νερού παρατηρήθηκε πως κυμάνθηκε σε επίπεδα >20<sup>0</sup>C (Διάμεσος: 22<sup>0</sup>C, IQR: 20-24<sup>0</sup>C) αλλά δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική μεταβολή στις τιμές της θερμοκρασία των δειγμάτων κρύου νερού με παρουσία *Legionella* σε σχέση με τα αρνητικά. Οι αυξημένες τιμές της θερμοκρασίας στο κρύο νερό μπορεί να οφείλεται στην έλλειψη μόνωσης αλλά και στο γεγονός ότι οι σωληνώσεις του ζεστού και του κρύου νερού είναι σε κοντινή απόσταση με αποτέλεσμα να επηρεάζονται. Επίσης, έχει παρατηρηθεί το φαινόμενο οι σωληνώσεις να είναι εκτεθειμένες στις περιβαλλοντικές συνθήκες όπως η ηλιακή θερμοκρασία.

Τα κοινά αερόβια μικρόβια δεν έχουν άμεση επίδραση στην υγεία, αλλά αποτελούν βασικό μικροβιολογικό δείκτη της γενικής υγειονομικής κατάστασης του νερού. Στη μελέτη μας παρατηρήσαμε τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις των κοινών αερόβιων μικροοργανισμών σε θετικά δείγματα με *Legionella*. Αυτή η παρατήρηση συμφωνεί με τις μελέτες που έχουν συσχετίσει την παρουσία και επιβίωση του βακτηρίου της *Legionella* με την παρουσία άλλων μικροοργανισμών στο νερό (Bargellini et al., 2011; Byrne and Swanson, 1998; Declerck et al., 2009; Edagawa et al., 2008; Lasheras et al., 2006; Pruckler et al., 1995; Serrano-Suarez et al., 2013; Taylor et al., 2009).

Η μελέτη μας παρατήρησε πως οι τιμές για την σκληρότητα είχαν μεγάλη διακύμανση (Διάμεσος: 330, IQR: 222-640). Βάση των αποτελεσμάτων για την σκληρότητα των δειγμάτων, μπορούμε να τα κατηγοριοποιήσουμε στα πολύ σκληρά νερά (>300mg CaCO<sub>3</sub>/L). Έχει παρατηρηθεί πως τα σκληρά νερά ευνοούν την ανάπτυξη της βιομεμβράνης (Serrano-Suarez et al., 2013). Ίσως αυτό να εξηγούσε και την αυξημένη συγκέντρωση των κοινών αερόβιων οργανισμών. Το ασβέστιο το οποίο είναι άμεσα συνδεδεμένο με τη σκληρότητα του νερού παρουσιάζει εξίσου μεγάλη διακύμανση και υψηλές τιμές (Διάμεσος: 210,4, IQR: 122,2 - 440,8). Η σκληρότητα είναι μια αμφιλεγόμενη παράμετρος. Στην παρούσα μελέτη παρατηρήθηκε πως η σκληρότητα σε συγκεντρώσεις  $\geq 1775$  mg CaCO<sub>3</sub>/L αυξάνει τον κίνδυνο αποικισμού του δικτύου με *Legionella* spp (RR=2,9, 95% CI: 1,683-4,997). Τα αποτελέσματα μας συμφωνούν με τις μελέτες των Lasheras et al (2006), Serrano-Suarez et al (2013) και Borella (2005a) οπου συσχετίστηκε θετικά η σκληρότητα με τη *Legionella*.

Η απολύμανση με απολυμαντική ουσία αποτελεί τον πιο διαδεδομένο τρόπο απολύμανσης του δικτύου. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης για την υπολειμματική απολυμαντική ουσία παρουσιάζουν μεγάλη διακύμανση από 0,02 – 3,85 mg/l (Διάμεσος: 0,35, IQR: 0,2-0,63) αλλά παρατηρούμε πως οι περισσότερες τιμές ήταν εντός τις προτεινόμενης συγκεντρώσεις των 0,2-0,5 mg/l. Τα αποτελέσματα της μελέτης για τη βέλτιστη συγκέντρωση υπολειμματικού απολυμαντικού για τα κρύα νερά είναι λίγο πιο αυξημένη από το κατώτατο όριο των 0,2 που προτείνεται συνήθως. Στην παρούσα μελέτη παρατηρήθηκε πως το υπολειμματικό χλώριο δρα προστατευτικά και εμποδίζει την ανάπτυξη της *Legionella* spp σε τιμές >0,375 mg/l (RR=8,404, 95% CI: 2,601-26,252).

Οι μετρήσεις για τα βαρέα μέταλλα είναι εντός των ορίων της νομοθεσίας για το Fe, το Mn και Zn με ελάχιστες εξαιρέσεις. Συγκεκριμένα για το Mn παρατηρούμε ότι το μεγαλύτερο ποσοστό των συγκεντρώσεων παρουσιάζει πολύ χαμηλές τιμές (Διάμεσος: 3,31, IQR: 1,86 – 11,41). Οι συγκεντρώσεις των μετάλλων (Fe, Zn, Mn) αν και παρουσίασαν υψηλότερες τιμές στα θετικά δείγματα για *Legionella* δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Μόνο οι συγκεντρώσεις του Fe ήταν χαμηλότερες στα θετικά δείγματα με *L. pneumophilla* ορότυπου 1 και σε θετικά με *Legionella* άλλα είδη εκτός *pneumophilla*. Ενώ αντίθετα παρατηρηθήκαν χαμηλότερες τιμές Mn στα θετικά δείγματα με *L. pneumophilla* ορότυπου 2-15. Οι μελέτες που υποδεικνύουν συσχέτιση μεταξύ των βαρέων μετάλλων και της παρουσίας της *Legionella* αφορούσαν το ζεστό νερό και συμπεριλάμβαναν περισσότερα θετικά δείγματα (Bargellini et al., 2011; Borella et al., 2005a; Fragou et al., 2012; Kusnetsov et al., 1993; Leoni et al., 2005; Rakic et al., 2011; Serrano-Suarez et al., 2013). Στη μελέτη της συγκεκριμένης παραμέτρου είναι

σημαντική η ένδειξη πως υψηλότερες συγκεντρώσεις μετάλλων παρουσίαζαν τα θετικά δείγματα για *Legionella spp.* Ίσως ο μικρός αριθμός δειγμάτων να ήταν ένας περιοριστικός παράγοντας για περαιτέρω συσχέτιση.

Από τα αποτελέσματα της μελέτης μας παρατηρούμε πως το δίκτυο ύδρευσης παίζει σημαντικό ρόλο στον αποικισμό της *Legionella* και στη μεταβολή των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών. Μεγαλύτερες τιμές, στατιστικά σημαντικές, παρουσίασε το pH, τα κοινά αερόβια, η αγωγιμότητα και οι συγκεντρώσεις της σκληρότητας και του ασβεστίου σε δείγματα από δίκτυα με δεξαμενή. Περαιτέρω, η αγωγιμότητα και η σκληρότητα παρουσίασαν μεγαλύτερες τιμές στατιστικά σημαντικές όταν το υλικό κατασκευής της δεξαμενής ήταν από μπετόν. Παρατηρήθηκε πως οι συγκεντρώσεις του Fe και Mn αυξάνονται όταν στο δίκτυο ύδρευσης υπάρχει δεξαμενή σε αντίθεση με τις συγκεντρώσεις του Zn που μειώνονται ο οποίος παρουσίασε μεγαλύτερες τιμές στατιστικά σημαντικές όταν το υλικό κατασκευής της δεξαμενής ήταν από μπετόν. Παρατηρείται πάντως πως οι συγκεντρώσεις των μετάλλων στο δίκτυο επηρεάζονται περισσότερο από το ίδιο το δίκτυο παρά από την πηγή ή τον τρόπο απολύμανσης (Bargellini et al., 2011; Borella et al., 2005a; Fragou et al., 2012; Kusnetsov et al., 1993; Leoni et al., 2005; Rakic et al., 2011; Serrano-Suarez et al., 2013).

Μελέτες έχουν παρουσιάσει επανειλημμένα την προστατευτική δράση του χαλκού ως προς τον αποικισμό του δικτύου με *Legionella* και την μειωμένη συγκέντρωση βακτηρίων στις επιφάνειες σωληνώσεων (Bargellini et al., 2011; Borella et al., 2005a; Leoni et al., 2005; Rakic et al., 2011; van der Kooij et al., 2005). Ο χαλκός μεταφέρεται στο νερό από τις διαβρωμένες σωληνώσεις. Τα αποτελέσματα της μελέτης μας συμφωνούν με τις προηγούμενες μελέτες. Παρατηρήθηκε πως οι σωληνώσεις από χαλκό δρουν προστατευτικά και εμποδίζουν την ανάπτυξη της *Legionella spp* (RR=0,398, 95%CI: 0,194-0,818). Επίσης, τα κοινά αερόβια παρουσιάζουν μικρότερες τιμές σε δίκτυα με σωληνώσεις από χαλκό (Διάμεσος: 5900 IQR: 1300-30000) σε σύγκριση με τις τιμές από δίκτυα με σωληνώσεις άλλου υλικού (Διάμεσος: 29000 IQR: 3050-30000)(p-value:0,005). Παρατηρήσαμε περαιτέρω την επίδραση των σωληνώσεων του χαλκού και στο Fe ο οποίος παρουσιάζει μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε δίκτυα με σωληνώσεις από χαλκό (Διάμεσος: 90 IQR: 43,3-213,3) σε σύγκριση με τις συγκεντρώσεις δίκτυα με σωληνώσεις άλλου υλικού (Διάμεσος: 56,14 IQR:20,64-125)(p-value:0,001).

Μία σημαντική παράμετρος για τον έλεγχο αποικισμού των δικτύων είναι ο τρόπος δειγματοληψίας του νερού. Η μελέτη μας έδειξε πως ο τρόπος δειγματοληψίας των δειγμάτων κρύου νερού σε σχέση με τη *Legionella* δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντικές διαφορές, παρόλα ταύτα περισσότερα ήταν τα θετικά δείγματα με *Legionella* και μεγαλύτερες οι συγκεντρώσεις κοινών αερόβιων μικροοργανισμών που παρατηρήθηκαν στα άμεσα δείγματα νερού σε σύγκριση με τα θετικά στα έμμεσα. Μελέτες έχουν παρουσιάσει την σημαντικότητα του τρόπου δειγματοληψίας του νερού και τη συσχέτιση της άμεσης δειγματοληψίας νερού με υψηλότερες συγκεντρώσεις βακτηρίων (Serrano-Suarez et al., 2013).

## Κεφάλαιο 7: Συμπεράσματα

Για να μειωθεί η πιθανότητα δημιουργίας ενός περιβάλλοντος από το οποίο αυξάνεται ο κίνδυνος έκθεσης στο βακτήριο της *Legionella* είναι σημαντική η διαχείριση του κινδύνου με την εφαρμογή μέτρων τα οποία δεν θα ευνοήσουν την ανάπτυξη του οργανισμού στο δίκτυο ύδρευσης.

Τα αποτελέσματα αυτά της έρευνας ενισχύουν προηγούμενες μελέτες που συσχέτισαν την αυξημένη συγκέντρωση συγκεκριμένων φυσικοχημικών παραμέτρων με την ύπαρξη του βακτηρίου της *Legionella*. Συγκεκριμένα παρουσιάζεται πως στο σύστημα διανομής κρύου νερού των δικτύων ύδρευσης οι παράμετροι, ανεξαρτήτως άλλων παραγόντων, που συσχετίζονται με τις συγκεντρώσεις της *Legionella* στα κρύα νερά είναι (με φθίνουσα σειρά) η υπολειμματική απολυμαντική ουσία, η σκληρότητα, το pH, τα κοινά αερόβια, και το υλικό των σωληνώσεων. Συγκεκριμένα τιμές της υπολειμματικής απολυμαντικής ουσίας  $<0,37$ ,  $\text{pH} \geq 7,45$ , κοινά αερόβια  $\geq 25000$  CFU/ml και σκληρότητας  $\geq 321$  mg CaCO<sub>3</sub>/L αυξάνουν τον κίνδυνο αποικισμού με *Legionella* των δικτύων κρύου νερού ανεξαρτήτως άλλων παραγόντων. Τέλος, παρατηρείται πως οι σωληνώσεις από χαλκό δρουν προστατευτικά ως προς το νερό μειώνοντας τον κίνδυνο αποικισμού των δικτύων κρύου νερού με *Legionella*.

Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης συμβάλλουν περαιτέρω στον προσδιορισμό των παραμέτρων που συμβάλουν στην ανάπτυξη της *Legionella* σε δίκτυα ύδρευσης κρύου νερού. Επίσης, τα αποτελέσματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την εφαρμογή μέτρων μείωσης ή όπου είναι εφικτό της πρόληψης της πιθανότητας ανάπτυξης του βακτηρίου της *Legionella* στα δίκτυα ύδρευσης τουριστικών καταλυμάτων. Η χημική ανάλυση των παραμέτρων που πιθανόν να επηρεάζουν την ανάπτυξη της *Legionella* είναι πιο γρήγορες διαδικασίες από την μικροβιολογική ανάλυση. Η χημική ανάλυση θα μπορούσε πιθανόν να χρησιμοποιείται ως ενδεικτική για την ύπαρξη κατάλληλων συνθηκών, ευνοϊκών για την ανάπτυξη της *Legionella*.

## Παράρτημα

**Παράρτημα 1: Παραμετρικές τιμές χημικού ελέγχου πόσιμου νερού βάση της ΚΥΑ Υ2/2600/2001, ΦΕΚ 892 τεύχος Β', 11/07/2001 «Ποιότητα νερού ανθρώπινης κατανάλωσης σε συμμόρφωση προς την 98/83/ΕΚ του Συμβουλίου της Ευρωπαϊκής Ένωσης της 03/11/1998»,**

Παράμετρος	Παραμετρική τιμή	Μονάδα
Αργίλιο	200	μg/l
Αμμώνιο	0,50	mg/l
Χλωριούχα	250	mg/l
Clostridium perfringens (συμπεριλαμβανομένων των σπόρων)	0	Αριθμός / 100 ml
Χρώμα	Αποδεκτό για τους καταναλωτές και άνευ ασυνήθους μεταβολής	
Αγωγιμότητα	2500	μS cm <sup>-1</sup> στους 20°C
Συγκέντρωση ιόντων υδρογόνου	≥ 6,5 και ≤ 9,5	Μονάδες pH
Σίδηρος	200	μg/l
Μαγγάνιο	50	μg/l
Οσμή	Αποδεκτή στους καταναλωτές και άνευ ασυνήθους μεταβολής	
Οξειδωσιμότητα	5,0	mg/l O <sub>2</sub>
Θειικά	250	mg/l
Νάτριο	200	mg/l
Γεύση	Αποδεκτή στους καταναλωτές και άνευ ασυνήθους μεταβολής	
Αριθμός αποικιών σε 22 °C και 37 °C	Άνευ ασυνήθους μεταβολής	
Κολοβακτηριοειδή	0	Αριθμός / 100 ml
Ολικός οργανικός άνθρακας (TOC)	Άνευ ασυνήθους μεταβολής	
Υπολεμματικό χλώριο		mg/l
Θολότητα	Αποδεκτή στους καταναλωτές και άνευ ασυνήθους μεταβολής	

Παράμετρος	Παραμετρική τιμή	Μονάδα
Ακρυλαμίδιο	0,10	μg/l
Αντιμόνιο	5,0	μg/l
Αρσενικό	10	μg/l
Βενζόλιο	1,0	μg/l
Βενζο-α-πυρένιο	0,010	μg/l
Βόριο	1,0	mg/l
Βρωμικά	10	μg/l
Κάδμιο	5,0	μg/l
Χρόμιο	50	μg/l
Χαλκός	2,0	mg/l
Κυανιούχα	50	μg/l
1,2 –διχλωροαιθάνιο	3,0	μg/l
Επιχλωροδρίνη	0,10	μg/l
Φθοριούχα	1,5	mg/l
Μόλυβδος	10	μg/l
Υδράργυρος	1,0	μg/l
Νικέλιο	20	μg/l
Νιτρικά	50	mg/l
Νιτρώδη	0,50	mg/l
Παρασιτοκτόνα	0,10	μg/l
Σύνολο παρασιτοκτόνων	0,50	μg/l
Πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες	0,10	μg/l
Σελήνιο	10	μg/l
Τετραχλωροαιθάνιο και Τριχλωροαιθάνιο	10	μg/l
Ολικά τριαλογονομεθάνια	100	μg/l
Βινυλοχλωρίδιο	0,50	μg/l

Παράμετρος	Παραμετρική τιμή
pH	6,5 – 9,5
Αγωγιμότητα	2500 μS/cm
Υπολειμματικό χλώριο	0,2 – 0,5 mg/L
Ασβέστιο	-
Σκληρότητα	<b>Μαλακά</b> χαρακτηρίζονται τα νερά με σκληρότητα 0 – 100 mg/L ισοδύναμο CaCO <sub>3</sub> . <b>Μέσης</b> σκληρότητας τα νερά με σκληρότητα 100 – 200 mg/L ισοδύναμο CaCO <sub>3</sub> . <b>Σκληρά</b> τα νερά με σκληρότητα 200 – 300 mg/L ισοδύναμο CaCO <sub>3</sub> . <b>Πολύ σκληρά</b> τα νερά με σκληρότητα μεγαλύτερη από 300 mg/L ισοδύναμο CaCO <sub>3</sub> <i>Νερό με σκληρότητα μέχρι και 500 mg/L ισοδύναμο CaCO<sub>3</sub> μπορεί να χρησιμοποιηθεί για πόσιμο, αλλά οι πιο αποδεκτές τιμές είναι μεταξύ 80 και 150 mg/L ισοδύναμο CaCO<sub>3</sub>.</i>
Ψευδάργυρος	Δεν αναφέρεται στην νομοθεσία Η ΠΟΥ έχει υιοθετήσει το όριο των 3 mg/l κατατάσσοντας τον ψευδάργυρο στις παραμέτρους που μπορεί να προκαλέσουν παράπονα των καταναλωτών.

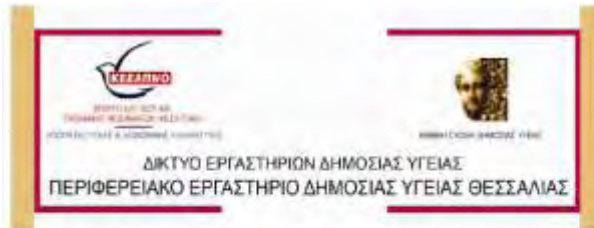
## Παράρτημα 2: Μελέτες συσχέτισης φυσικοχημικών παραμέτρων με το βακτήριο της *Legionella* σε ξενοδοχειακά καταλύματα

Πηγή	Αριθμός Δειγμάτων	Τρόπος Δειγματοληψίας	Φυσικοχημικοί Παράμετροι	Αποτελέσματα - Σχόλια
(Serrano-Suarez <i>et al.</i> , 2013)	231 δείγματα από 30 ξενοδοχεία και οίκους ευγηρίας με δίκτυο ύδρευσης με δεξαμενή	<ul style="list-style-type: none"> <li>Άμεσο έμμεσο και μεικτό</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Θερμοκρασία</li> <li>Υπολειμματικό χλώριο</li> <li>pH</li> <li>Σίδηρος</li> <li>Ψευδάργυρος</li> <li>Χαλκός</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Τα έμμεσα δείγματα είχαν τις πιο χαμηλές θερμοκρασίες και ήταν πιο αποικισμένα με <i>Legionella</i> σε σχέση με τα άμεσα.</li> <li>μεγαλύτερη πιθανότητα αποικισμού <ul style="list-style-type: none"> <li>Παρουσία πρωτόζωων</li> <li>Fe &gt; 0.095 ppm</li> </ul> </li> <li>Μικρότερη πιθανότητα αποικισμού <ul style="list-style-type: none"> <li>Cu &gt; 0,76 ppm</li> <li>Θερμοκρασία &gt; 55°C</li> </ul> </li> </ul>
(Fragou <i>et al.</i> , 2012)	116 δείγματα : 25 δείγματα από 9 ξενοδοχεία (>50 δωμάτια)	<ul style="list-style-type: none"> <li>9 δείγματα έμμεσο ζεστό νερό</li> <li>9 δείγματα κρύο νερό</li> <li>7 πύργους ψύξης</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Θερμοκρασία</li> <li>Υπολειμματικό χλώριο</li> <li>Σκληρότητα</li> <li>pH</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>δεν βρέθηκε συσχέτιση με το pH</li> </ul>
(Bargellini <i>et al.</i> , 2011)	408 δείγματα ζεστού νερού από ξενοδοχεία και ιδιωτικές κατοικίες -124 δείγματα από 32 ξενοδοχεία	<ul style="list-style-type: none"> <li>Έμμεσο ζεστό</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Θερμοκρασία</li> <li>Σκληρότητα</li> <li>Σίδηρος</li> <li>Ψευδάργυρος</li> <li>Μαγγάνιο</li> <li>Χαλκός</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><i>Legionella</i> spp. απομονώθηκε σε 194 από τα 408 δείγματα</li> <li>92.8% ήταν <i>Legionella pneumophilla</i></li> <li>Η παρουσία και συγκεντρώσεις της <i>Legionella</i> συσχετίστηκαν θετικά με τις συγκεντρώσεις του Mn, Zn, Fe.</li> <li>Συγκεντρώσεις Mn &gt; 6 μg l<sup>-1</sup>, Zn &gt; 375 μg l<sup>-1</sup>, Fe &gt; 42 μg l<sup>-1</sup> αύξησαν την πιθανότητα αποικισμού κατά 3.2, 2.3 και 2.2 φορές αντίστοιχα.</li> <li>Mn είναι ίσως καλύτερος δείκτης γιατί συνεισφέρει στην δημιουργία βιομεμβράνης</li> <li>Οι συγκεντρώσεις του Cu δρουν προστατευτικά και κυρίως σε συγκεντρώσεις &gt; 50 μg l<sup>-1</sup></li> <li>Η παρουσία του χαλκού και ιδιαίτερα σε συγκέντρωσης &gt; 200 μg l<sup>-1</sup> στη απολύμανση με ιονισμό του νερού με χαλκό και άργυρο</li> </ul>
(Rakic <i>et al.</i> , 2011)	122 δείγματα ζεστού νερού από ξενοδοχεία από 21 ξενοδοχεία και οίκους ευγηρίας	<ul style="list-style-type: none"> <li>Έμμεσο ζεστό</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Θερμοκρασία</li> <li>Υπολειμματικό Χλώριο</li> <li>pH</li> <li>Αγωγιμότητα</li> <li>Σίδηρος</li> <li>Ψευδάργυρος</li> <li>Μαγγάνιο</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><i>Legionella</i> απομονώθηκε σε 16 δείγματα από 4 ξενοδοχεία (εποχιακά)</li> <li>Οι συγκεντρώσεις του Zn ήταν μεγαλύτερες στα ξενοδοχεία που μένουν ανοιχτά όλο το χρόνο.</li> </ul>



			<ul style="list-style-type: none"> <li>• Χαλκός</li> <li>• Ασβέστιο</li> <li>• Μαγνήσιο</li> </ul>	
<b>(Leoni et al., 2005)</b>	137 δείγματα ζεστού νερού από ξενοδοχεία και νοσοκομεία - 46 δείγματα από 11 ξενοδοχεία	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Έμμεσο ζεστό</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Θερμοκρασία</li> <li>• Υπολειμματικό Χλώριο</li> <li>• pH</li> <li>• Σίδηρος</li> <li>• Ψευδάργυρος</li> <li>• Μαγγάνιο</li> <li>• Χαλκός</li> <li>• Ασβέστιο</li> <li>• Μαγνήσιο</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 40% του συστήματος ήταν θετικά για <i>Legionella</i></li> <li>• Τα επίπεδα χαλκού, μαγνησίου και ασβεστίου χαμηλότερα στα θετικά δείγματα για <i>Legionella</i> ενώ το αντίθετο παρατηρήθηκε για το σίδηρο, ψευδάργυρο και μαγγάνιο.</li> <li>• Παρατηρήθηκε επίσης στασιμότητα νερού στις υδατοδεξαμενές και στο δίκτυο ύδρευσης.</li> </ul>
<b>(Borella et al., 2005a)</b>	119 δείγματα νερού από 40 ξενοδοχεία σε 5 διαφορετικές πόλεις	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Έμμεσο ζεστό</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Σκληρότητα,</li> <li>• Υπολειμματικό χλώριο,</li> <li>• Σίδηρος</li> <li>• Ψευδάργυρος</li> <li>• Μαγγάνιο</li> <li>• Χαλκός</li> <li>• Ασβέστιο</li> <li>• Μαγνήσιο</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Οι συγκεντρώσεις του ψευδαργύρου, ασβεστίου και μαγνησίου ήταν πιο χαμηλές σε δείγματα αποικισμένα με <i>L. pneumophilla</i> ορότυπου 1 από ότι σε δείγματα αποικισμένα με ορότυπο 2 έως 14.</li> <li>• Οι συγκεντρώσεις του χαλκού ήταν χαμηλότερες σε δείγματα αποικισμένα με ορότυπο 2 έως 14 σε σύγκριση με τα δείγματα που δεν ήταν αποικισμένα.</li> <li>• Οι συγκεντρώσεις του Μαγγανίου, ήταν πιο υψηλές σε δείγματα αποικισμένα με <i>L. pneumophilla</i> ορότυπου 1 από ότι σε δείγματα αποικισμένα με ορότυπο 2 έως 14.</li> </ul>
<b>(Kusnetsov et al., 2003)</b>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Έμμεσο κρύο στην παροχή</li> <li>• Έμμεσο ζεστό πριν την επιστροφή στο boiler</li> <li>• Άμεσο και έμμεσο ζεστό και κρύο στο σύστημα διακίνησης (βρύσες/καταιονιστήρες)</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Συγκεντρώσεις της <i>Legionella</i> στο κρύο νερό ήταν κάτω από τα όρια ανίχνευσης.</li> <li>• Συσχετίστηκε η παρουσία της <i>Legionella</i> με την αγωγιμότητα, pH και θερμοκρασία του νερού</li> </ul>

## Παράρτημα 3: Δελτίο Δειγματοληψίας για ανίχνευση Legionella



Ταχ. Διεύθυνση : Παπακυριαζή 22 – Λάρισα  
 Ταχ. Κώδικας : 41221  
 Τηλέφ. : 2410-565013  
 Τηλεομοιοτυπία / fax : 2410-565051  
 Ηλεκ. Διεύθυνση / e-mail : Pedy\_larissas@keelpno.gr

Αρ. πρωτ. :  
 Αρ. δείγμα, Εργ. :

### ΔΕΛΤΙΟ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ ΓΙΑ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΛΕΓΙΩΝΕΛΛΑΣ

**Υπηρεσία Δειγματοληψίας :**

**Διεύθυνση :**

**Αρ. πρωτ.:**

**Ονομασία Αντικειμένου Υγειονομικού Ενδιαφέροντος:**

**Κωδικός δειγματοληψίας:**

**Κωδικός Αντικειμένου:**

**Ονομασία Αντικειμένου:**

**Διεύθυνση:**

**Τηλ.:**

**Δήμος/Δ.Δ./Κοινότητα:**

**Ονοματεπώνυμο υπεύθυνου ατόμου:**

- Δειγματοληψία από:  Πόρτο ψύξης,  Δίκτυο ύδρευσης,  Θάμα με νερό,  
 Άλλο, προσδιορίστε
- Ημερομηνία δειγματοληψίας: Ωρα :  
 1<sup>η</sup> δειγματοληψία  Δειγματοληψία πριν την απολύμανση  Δειγματοληψία μετά την απολύμανση  
 Άλλο :
- Όγκος κάθε δείγματος: ml
- Η ποσότητα μεταβιβάσιμου νατρίου που παρέχουν οι φιάλες είναι επαρκής:  Ναι  Όχι
- Το νερό προέρχεται από:  ΕΥΔΑΠ  ΔΕΥΑ  Γεώτρηση  Πηγή  
 Άλλο, προσδιορίστε
- Το νερό είναι διαυγές:  Ναι  Όχι Παρουσία ζύμματος:  Ναι  Όχι Υπαρξη αλάτων (πουρί):  Ναι  Όχι
- Υγειονομικά αποδεκτή κατάσταση των βρωσών:  Ναι  Όχι
- Παρουσία ελαστικών ή πλαστικών επεκτάσεων στο δίκτυο:  Ναι  Όχι
- Χρησιμοποιούνται βιοκτόνες ουσίες:  Ναι  Όχι
- Εάν Ναι, προσδιορίστε:  Χλωρίνη  Βρώμια  Οζον  Ηλεκτρόλυση  
 Άλλο, προσδιορίστε
- Χρησιμοποιούνται χημικές ουσίες για τον καθαρισμό των αλάτων:  Ναι  Όχι
- Εάν Ναι, προσδιορίστε:  Οξυνο θειικό νάτριο  
 Άλλο, προσδιορίστε
- Χρησιμοποιούνται αλκοολικές ουσίες:  Ναι  Όχι Εάν Ναι, προσδιορίστε:  Θειικός χαλκός  
 Άλλο, προσδιορίστε
- Εάν λήφθηκε ζέσμα από τους καταπινητήρες, μεταφέρθηκε σε 0,5 – 1,0 ml νερού του καταπινητήρα:  Ναι  Όχι
- Εάν συλλέχθηκε ζήμα από τα φίλτρα των βρωσών, μεταφέρθηκε σε αποστειρωμένο πακέτιο με νερό της βρύσης:  Ναι  Όχι
- Κατά τη δειγματοληψία χρησιμοποιήθηκαν τα κατάλληλα μέσα ατομικής προστασίας:  Ναι  Όχι
- Τρόπος μεταφοράς δείγματος:  Σε ψύξη  Άλλο
- Μεταφορά εντός 48 ωρών:  Ναι  Όχι Έκθεση στο φως:  Ναι  Όχι

E-09-14/1/31-01-2011

1 / 2

ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ:

Αρ. πρωτ.:

**Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΕΠΙΤΟΠΙΩΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΩΝ**

Αριθμός δείγματος δειγματολόγητη	Σημείο λήψης δείγματος	Υπολειμματική απολυμαντική ουσία (mg/l)	pH	Θερμοκρασία (°C)	Παρατηρήσεις/ Συμπεράσματα	Αριθμός δείγματος εργαστηρίου (*)

Ημερομηνία αποστολής:

Ωρα:

**Αρμόδιος δειγματοληψίας**

Όνοματεπώνυμο:

Ιδιότητα:

Υπογραφή:

**Αρμόδιος παραλαβής δειγμάτων (\*)**

Ημερομηνία παραλαβής:

Ωρα :

Όνοματεπώνυμο:

Υπογραφή:

(\*): Συμπληρώνονται από το Εργαστήριο μετά την παραλαβή των δειγμάτων

E-09-14/1/31-01-2011

2 / 2

## Παράρτημα 4: Δελτίο Δειγματοληψίας Νερού Ανθρώπινης Κατανάλωσης για Χημική Ανάλυση

		Ταχ. Διεύθυνση :	Παπακωνσταντίνου 22 – Λάρισα
		Ταχ. Κώδικας :	41221
		Τηλέφ. :	2410-565013
		Τηλεομιλοση / fax :	2410-565051
		Ηλεκ. Διεύθυνση / e-mail :	Peily_larissas@keefrmo.gr
		Αρ. πρωτ. :	
		Αρ. δείγμ. Εργ. :	

<b>ΔΕΛΤΙΟ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ ΝΕΡΟΥ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΓΙΑ ΧΗΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ</b> (Σύμφωνα με την ΚΥΑ Υ2/2600/2001, όπως αυτή τροποποιήθηκε με την ΚΥΑ 38295/07)
--

<b>Υπηρεσία Δειγματοληψίας:</b>			
Διεύθυνση :			
Αρ. πρωτ.:			
<b>Όνομασία Αντικειμένου Υγειονομικού Ενδιαφέροντος:</b>			
<b>Κωδικός δειγματοληψίας:</b>		<b>Κωδικός Αντικειμένου:</b>	
<b>Όνομασία Αντικειμένου:</b>	<b>Διεύθυνση:</b>	<b>Τηλ.:</b>	
<b>Δήμος/Δ.Δ./Κοινότητα:</b>			
<b>Όνοματεπώνυμο υπεύθυνου ατόμου:</b>			

Εάν η δειγματοληψία έγινε από Δήμο ή Κοινότητα παρακαλώ αναφέρετε:  
 Δήμος/Δ.Δ./Κοινότητα: Συνολικά υδρευόμενος πληθυσμός:

### A. ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

- Ημερομηνία δειγματοληψίας: Ωρα :
- Η δειγματοληψία έγινε από:  Δίκτυο ύδρευσης  Πηγή,  Πηγάδι,  Γεώτρηση,  Υδατοδεξαμενή
- Εάν η δειγματοληψία έγινε από δίκτυο ύδρευσης, προέλευση του νερού είναι:
  - Δίκτυο ΕΥΔΑΠ  Δίκτυο ΔΕΥΑ  Πηγή  Πηγάδι  Γεώτρηση
  - Μικτό, προσδιορίστε:
  - Άλλο, προσδιορίστε:

### B. ΥΓΕΙΟΝΟΜΙΚΗ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ

- Εάν η προέλευση του νερού είναι πηγή, πηγάδι ή γεώτρηση παρακαλώ προσδιορίστε:
  - Η προστασία της πηγής υδροδότησης είναι:  Επαρκής,  Ανεπαρκής,  Καμία
  - Το άμεσο περιβάλλον σε ακτίνα 30 m είναι:  Κατοικημένο,  Ακατοικητό
  - Η απόσταση από εστία μόλυνσης (βόθρο, κοιμητήριο κ.τ.λ.) είναι: m
- Γίνεται απολύμανση του νερού:  Ναι  Όχι
- Ποια μεθοδολογία απολύμανσης χρησιμοποιείται:  Χλώριο,  Ηλεκτρόλυση,  UV ακτινοβολία,  Άλλο, προσδιορίστε:
- Το δείγμα μεταφέρθηκε με:  Ισόθερμο δοχείο υπό ψύξη  Άλλο, προσδιορίστε:

E-09-16/1/31-01-2011

1/2

ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ:

Αρ. πρωτ.:

Παράμετροι για τις οποίες ζητείται ανάλυση:

ρΗ - ΑΡΗΑ 4500-H <sup>+</sup>	<input type="checkbox"/>	Αγωγιμότητα - ΑΡΗΑ 2510-B	<input type="checkbox"/>	Αλκαλικότητα - ΑΡΗΑ 2320-B	<input type="checkbox"/>	Χλωριόντα - ΑΡΗΑ 4500 Cl <sup>-</sup> - B	<input type="checkbox"/>
Σκληρότητα- ΑΡΗΑ 2340-C	<input type="checkbox"/>	Ασβέστιο- ΑΡΗΑ 3500 Ca- B <sup>+</sup>	<input type="checkbox"/>	Μαγνήσιο - ΑΡΗΑ 3500 Mg-B	<input type="checkbox"/>		

Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΕΠΙΤΟΠΙΩΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΩΝ

Αριθμός δείγματος/δειγματολόγιο	Σημείο λήψης δείγματος	Υπόλειμματική απολιμαντική ουσία (mg/L)	ρΗ	Θερμοκρασία (°C)	Φυσιολογική οσμή	Φυσιολογική γεύση	Φυσιολογικό χρώμα	Αριθμός δείγματος/εργαστηρίου (*)

Παρατηρήσεις:

Ημερομηνία αποστολής :

Ωρα :

Αρμόδιος δειγματοληψίας

Όνοματεπώνυμο:

Ιδιότητα:

Υπογραφή:

Αρμόδιος παραλαβής δειγμάτων (\*)

Ημερομηνία παραλαβής:

Ωρα :

Όνοματεπώνυμο:

Υπογραφή:

(\*): Συμπληρώνονται από το Εργαστήριο μετά την παραλαβή των δειγμάτων

E-09-16/1/31-01-2011

2 / 2

<b>Μπαταρίες</b>			
19	Λειτουργούν και συντηρούνται σύμφωνα με τις κατασκευαστικές οδηγίες		-2
<b>Εγκαταστάσεις πυρόσβεσης με νερό</b>			
20	Δεν υπάρχει παλινδρόμηση του νερού του συστήματος πυρόσβεσης στο δίκτυο ύδρευσης		-2
<b>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι: Δεδομένα βιβλίου ελέγχου</b>			
21	Υπάρχει βιβλίο ελέγχου		-2
22*	Γίνεται δειγματοληπτικός έλεγχος του νερού τουλάχιστον κάθε 6 μήνες		-3

**ΔΕΛΤΙΟ ΕΛΕΓΧΟΥ (CHECKLIST) ΔΙΚΤΥΟΥ ΥΔΡΕΥΣΗΣ ΚΤΗΡΙΟΥ <sup>1</sup>**

Όνομα κτηρίου:..... Ημερομηνία ελέγχου:...../...../..... Αρ. Πρωτ.:.....

**Δεξαμενές αποθήκευσης**

Υπάρχουν δεξαμενές αποθήκευσης νερού;  Ναι  Όχι Αριθμός δεξαμενών: \_\_\_\_  
 Χωρητικότητα δεξαμενών: \_\_\_\_\_ m<sup>3</sup> Πόσο νερό αποθηκεύεται σε κάθε δεξαμενή; \_\_\_\_\_ m<sup>3</sup>  
 Υλικό κατασκευής της εσωτερικής επιφάνειας των δεξαμενών:.....

**Εσωτερικό δίκτυο ύδρευσης**

Οι εγκαταστάσεις ύδρευσης, είναι κατασκευασμένες από:  Χαλκό,  Χαλκό με επικάλυψη πλαστικού,  Χάλυβα,  
 Πολυαιθυλένιο (PE),  Πολυβουτάνιο (PB),  Συμπολυμερές πολυπροπυλένιο (PP-C),  PVC,  
 Αμιάντοσίμεντο,  Μόλυβδο, Άλλο προσδιορίστε! .....

A/A	ΣΗΜΕΙΟ ΕΛΕΓΧΟΥ	ΝΑΙ ✓	ΟΧΙ X	ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ
<b>Γενικά</b>				
1	Η πίεση στο μετρητή είναι 1-12 ατμόσφαιρες		-1	
2	Τα φίλτρα είναι σε καλή κατάσταση		-2	
3	Η μόνωση είναι σε καλή κατάσταση		-2	
4*	Η δεξαμενή αποθήκευσης συντηρείται σε καλή υγειονομικά κατάσταση και δεν παρατηρούνται ιζήματα στο εσωτερικό της		-3	
5	Οι δεξαμενές αποθήκευσης του νερού διαθέτουν καλύμματα και σιμάλτινο πλέγμα σε κάθε σωλήνωση που είναι ανοιχτή στην ατμόσφαιρα		-1	
6	Η ποσότητα του αποθηκευμένου νερού δεν είναι μεγαλύτερη από τη χρήση μιας ημέρας		-1	
7*	Το δίκτυο καθαρίζεται και απολυμνείται όταν βρίσκεται εκτός λειτουργίας για περισσότερο από ένα μήνα		-3	
8*	Το δίκτυο και οι δεξαμενές καθαρίζονται με κατάλληλα απολυμαντικά μέσα τουλάχιστον ετησίως		-3	
9	Η παροχή του νερού δεν διακόπτεται για μεγάλα χρονικά διαστήματα		-1	
10	Οι κρουνοί που δεν χρησιμοποιούνται, σφαιρούνται από το κύκλωμα		-2	
<b>Συστήματα κρύου νερού</b>				
11	Οι ψύκτες συντηρούνται σε καλή κατάσταση		-1	
12	Τα φίλτρα των ψυκτών συντηρούνται σε καλή κατάσταση		-1	
<b>Σύστημα ζεστού νερού</b>				
13	Το σύστημα ανταποκρίνεται σε ώρες αιχμής		-1	
14	Δεν υπάρχει αλλαγή (αύξηση ή μείωση) στην κατανάλωση του νερού		-1	
15*	Απουσία στάσιμου νερού στις σωληνώσεις για περισσότερο από μία εβδομάδα., γίνεται διαδικασία flushing		-3	
16*	Οι καταιονητήρες είναι καθαροί και απαλλαγμένοι αλάτων		-3	
<b>Συσκευές θέρμανσης και αποθήκευσης του νερού</b>				
17	Η συσκευή αποξηράνεται και ελέγχεται – γίνεται ζήτηση του αγωγού εξαγωγής του ζεστού νερού		-2	
18	Συντηρούνται σε υγειονομικά αποδεκτή κατάσταση, καθαρίζεται αν κριθεί απαραίτητο		-2	

σημείο)

.....  
 εν Ευρωπαϊκών  
 α 98/83/ΕΚ του  
 θύση Δημόσιας

νική Γραμματεία  
 νική Γραμματεία

<sup>1</sup> Το Δελτίο αυτό δημιουργήθηκε από την ΕΣΔΥ με χρηματοδότηση του ΥΠΠ στα πλαίσια του ΕΡΓΟΥ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΥΠΒ ΓΙΑ ΤΗΝ ΥΛΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ «ΟΛΥΜΠΙΑΚΟΙ ΑΓΩΝΕΣ ΑΘΗΝΑ 2004 ΔΗΜΟΣΙΑ ΠΕΛΑ-ΥΠΕΙΝΗ». Το Δελτίο τροποποιήθηκε και χρησιμοποιήθηκε για τις ανάγκες ματαπληρωτής διπλωματικής στα πλαίσια του ματαπληρωσικού προγράμματος σπουδών «Εργασιακή άσκηση υγεία και περιβαλλοντική αγωγή» 2011-2013.

**Ν ΥΛΟΠΟΙΗΣΗ**  
 χρησιμοποιήθηκε για  
 σελή» 2011-2013.

<b>Μπαταρίες</b>			
19	Λειτουργούν και συντηρούνται σύμφωνα με τις κατασκευαστικές οδηγίες		-2
<b>Εγκαταστάσεις πυρόσβεσης με νερό</b>			
20	Δεν υπάρχει παλινδρόμηση του νερού του συστήματος πυρόσβεσης στο δίκτυο ύδρευσης		-2
<b>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ I: Δεδομένα βιβλίου ελέγχου</b>			
21	Υπάρχει βιβλίο ελέγχου		-2
22*	Γίνεται δειγματοληπτικός έλεγχος του νερού τουλάχιστον κάθε 6 μήνες		-3
23*	Στο βιβλίο ελέγχου (αν υπάρχει), δεν υπάρχουν παθολογικά αποτελέσματα - Δεν έχει ανιχνευτεί λεγυνέλλα τους τελευταίους 6 μήνες (σε συγκέντρωση πάνω από 10 CFU/mL)		-2
<b>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ II: Μετρήσεις που έγιναν από τον υγειονομικό υπάλληλο</b>			
24*	Η θερμοκρασία του εξερχόμενου (κρύου) νερού από τη δεξαμενή ή και στις βρύσες είναι μικρότερη των 25°C		-3
25	Η θερμοκρασία του ζεστού νερού είναι τουλάχιστον 50°C ή η διαφορά της θερμοκρασίας μεταξύ δύο διαδοχικών μετρήσεων, δεν πρέπει να ξεπερνά τους 10°C, μετά από ένα λεπτό ροής		-3
26	Το νερό αποθηκεύεται και διανέμεται στη θερμοκρασία των 60°C και η θερμοκρασία του νερού που επιστρέφει στη συσκευή θέρμανσης είναι τουλάχιστον 50°C		-3
27	Δεν υπάρχει θερμοκρασιακή διαστρωμάτωση του νερού, μέσα στις συσκευές θέρμανσης και αποθήκευσης του νερού		-1
28	Το pH βρέθηκε 6,5 – 8,5		-2
29*	Το υπολειμματικό χλώριο βρέθηκε 0,2 – 0,5 mg/l		-3
30	Απουσία προβλήματος γεύσης ή οσμής		-1
<sup>2</sup> 31	Έγινε δειγματοληψία για μικροβιολογικό έλεγχο		
<sup>2</sup> 32	Έγινε δειγματοληψία για χημικό έλεγχο		
<sup>2</sup> 33	Έγινε δειγματοληψία για έλεγχο λεγυνέλλας:		

#### 34. Αποτέλεσμα ελέγχου:

- .....  Ικανοποιητική λειτουργία (Συνολική αρνητική βαθμολογία έως -6) (χωρίς κανένα κρίσιμο σημείο)
- .....  Σχετικά ικανοποιητική λειτουργία (Συνολική αρνητική βαθμολογία από -7 έως -12)
- .....  Μη ικανοποιητική λειτουργία (Συνολική αρνητική βαθμολογία πάνω από -12)

Συμπεράσματα: .....

<sup>1</sup> Τα παραπάνω αντικείμενα είναι σύμφωνα με όσα προβλέπονται από τις:

- ΥΑ Α5 288/1986 «Ποιότητα του πόσιμου νερού σε συμμόρφωση προς την 80/778 Οδηγία του Συμβουλίου των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων της 15-7-80»
- Κοινή ΥΑ Υ2/2600/2001 «Ποιότητα του νερού ανθρώπινης κατανάλωσης» σε συμμόρφωση προς την οδηγία 98/83/ΕΚ του συμβουλίου της Ε.Ε. της 3ης Νοεμβρίου 1998
- Εγκύκλιος Υ2/Γ.Π./οικ.79305/8-8-2002 «Πρόληψη νόσου των λεγυνωριών» Υ.Υ.Π. Γενική Διεύθυνση Υγείας, Διεύθυνση Δημόσιας Υγιεινής, Διεύθυνση Υγιεινής Περιβάλλοντος, Αυγούστος 2002
- Απόφαση ΕΔ5/22/1-8-1984 ΦΕΚ 52 «Κανονισμός λειτουργίας δικτύου Υδρεύσεως ΕΥΔΑΠ»
- Κανονισμός Εσωτερικών Υδραυλικών Εγκαταστάσεων ΒΔ/1936 ΦΕΚ Α' 23-6-1936
- Κτηριοδομικός Κανονισμός, Άρθρο 369 (εσωτερικές υδραυλικές εγκαταστάσεις), απόφ. 3046/304/30, 1/3.2.1989
- Τ.Ο.Τ.Ε.Ε. 2411/86 «Εγκαταστάσεις σε κτήρια και οικόπεδα: Διανομή κρύου – ζεστού νερού», Υ.Π.Ε.ΧΩ.Δ.Ε., Γενική Γραμματεία Δημοσίων Έργων – Διεύθυνση ΕΗ1, Ιούλιος 1992
- Τ.Ο.Τ.Ε.Ε. 2451/86 «Εγκαταστάσεις σε κτήρια: Μόνιμα πυροσβεστικά συστήματα με νερό», Υ.Π.Ε.ΧΩ.Δ.Ε., Γενική Γραμματεία Δημοσίων Έργων – Διεύθυνση ΕΗ1Τ, Φεβρουάριος 1992

<sup>2</sup> Παρακαλώ να συμπληρωθεί το αντίστοιχο Δελτίο Δειγματοληψίας

\* Κρίσιμο σημείο ελέγχου

Το δελτίο αυτό δημοσιεύθηκε από την ΕΣΔΥ με χρηματοδότηση του ΥΠΠ στα πλαίσια του ΕΡΓΟΥ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗΣ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗΣ ΥΠΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΥΛΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ «ΟΛΥΜΠΙΑΚΟΙ ΑΓΩΝΕΣ ΑΘΗΝΑ 2004 ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ-ΥΓΙΕΙΝΗ» Το δελτίο τροποποιήθηκε και χρησιμοποιήθηκε για τις ανάγκες μεταπτυχιακής διπλωματικής στα πλαίσια του μεταπτυχιακού προγράμματος: σποσδών «Εφαρμοσμένη δημόσια υγεία και περιβαλλοντική υγιεινή» 2011-2013.

**Παράρτημα 6: Συγκεντρώσεις *Legionella* σε σχέση με τις φυσικοχημικές παραμέτρους του νερού**

	<i>L. pneumophilla</i> sg.1 (CFU/l)			<i>L. pneumophilla</i> sg.2-15 (CFU/l)			<i>Legionella other</i> (CFU/l)			<i>Legionella spp</i> (CFU/l)		
	<100- απουσία	100-999	≥1000	<100- απουσία	100-999	≥1000	<100- απουσία	100-999	≥1000	<100- απουσία	100-999	≥1000
<b>Υπολειματική Απολυμαντική Ουσία (mg/l)</b>												
<b>Median</b>	0,37	0,18	0,19	0,37	0,27	0,28	0,36	0,15	0,29	0,4	0,24	0,22
<b>Percentile 25</b>	0,22	0,14	0,14	0,19	0,23	0,26	0,2	0,12	0,21	0,2	0,19	0,14
<b>Percentile 75</b>	0,7	0,23	0,3	0,69	0,36	0,3	0,67	0,35	0,36	0,7	0,3	0,3
<b>p-value</b>	<b>&lt;0,001</b>			0,505			0,067			<b>0,02</b>		
<b>pH</b>												
<b>Median</b>	7,4	7,5	7,5	7,4	7,4	7,7	7,4	7,5	7,4	7,4	7,5	7,5
<b>Percentile 25</b>	7,2	7,5	7,2	7,3	7,3	7,4	7,2	7,4	7,3	7,2	7,4	7,4
<b>Percentile 75</b>	7,5	7,6	7,9	7,6	7,5	7,7	7,6	7,5	7,6	7,5	7,6	7,7
<b>p-value</b>	<b>0,01</b>			0,32			0,535			<b>0,059</b>		
<b>Θερμοκρασία (°C)</b>												
<b>Median</b>	22	21	23	22	22	23	22	20	24	22	22	23
<b>Percentile 25</b>	21	20	23	20	21	23	21	18	23	20	21	22
<b>Percentile 75</b>	24	22	24	24	23	25	24	23	27	24	23	25
<b>p-value</b>	<b>0,07</b>			0,275			<b>0,045</b>			0,205		
<b>Κοινά αερόβια(CFU/ml)</b>												
<b>Median</b>	12000	30000	30000	12000	30000	30000	12000	30000	30000	11000	30000	30000
<b>Percentile 25</b>	1800	11700	9400	1800	9950	29000	1900	2400	30000	1700	2500	29000
<b>Percentile 75</b>	30000	30000	30000	30000	30000	30000	30000	30000	30000	30000	30000	30000
<b>p-value</b>	0,18			0,57			0,058			<b>0,015</b>		
<b>Αγωγιμότητα (μS/cm) (250C)</b>												
<b>Median</b>	744	1469	1229	668	1127	1790	750	621	617	662	1162	1469
<b>Percentile 25</b>	590	598	668	547	619	617	598	547	488	541	608	617
<b>Percentile 75</b>	1610	2170	1790	1610	1790	1830	1640	1469	2170	1570	1930	1830
<b>p-value</b>	0,19			0,247			0,973			0,083		
<b>Σκληρότητα (mg CaCO3/L)</b>												
<b>Median</b>	266	504	344	266	512	340	277	396	340	260	458	379
<b>Percentile 25</b>	218	330	330	218	338	330	218	336	260	208	338	330
<b>Percentile 75</b>	570	1600	358	630	615	400	630	504	1600	550	740	504



<i>p-value</i>	0,083			0,198			0,509			<b>0,017</b>			
<b>Ασβέστιο (mg CaCO<sub>3</sub>/L)</b>													
<b>Median</b>	200,4	318,6	184,3	200,4	300,6	220,4	200,4	220,4	220,4	178,3	260,5	245,5	
<b>Percentile 25</b>	114,2	152,3	152,3	114,2	163,3	152,3	114,9	204,4	124,2	98,2	163,3	152,3	
<b>Percentile 75</b>	412,8	1403	216,4	436,8	410,5	270,5	436,8	318,6	1402,6	412,8	462,4	318,6	
<i>p-value</i>	0,166			0,336			0,758			0,75			
<b>Σίδηρος (Fe) (μg/L)</b>													
<b>Median</b>	65	61,29	72	61,7	85,32	108	65,74	61,29	16,13	61,85	68,89	64,5	
<b>Percentile 25</b>	32,05	20,74	32,05	32,04	49,02	38,82	33,27	20,64	8,38	32,05	38	20,64	
<b>Percentile 75</b>	179,7	102,7	260	179,7	284	209,5	192	102,7	26,35	179,7	192	102,7	
<i>p-value</i>	0,651			0,503			0,03			0,704			
<b>Ψευδάργυρος (Zn) (μg/L)</b>													
<b>Median</b>	51,3	51,8	39,8	51,3	116,5	52	51,3	51,6	.	51,3	51,6	51,8	
<b>Percentile 25</b>	31,7	39,8	28	28	40	51,6	28	51,6	.	14,3	40	39,8	
<b>Percentile 75</b>	88	55,4	51,6	75,4	227,6	195,7	88	51,6	.	75,4	192,9	123,9	
<i>p-value</i>		0,824			0,336			0,931			0,715		
<b>Μαγγάνιο (Mn) μg/L</b>													
<b>Median</b>	3,51	4,64	62,67	3,96	3,57	2,65	3,51	7,15	4,31	3,7	4,07	4,31	
<b>Percentile 25</b>	1,86	2,54	4,64	1,86	1,62	2,65	1,84	2,54	2,47	1,86	2	2,65	
<b>Percentile 75</b>	11,41	46,67	120,7	15,39	9,89	3,98	14,63	9,21	55,32	13,86	38,08	7,15	
<i>p-value</i>	0,265			0,938			0,678			0,809			

## Reference List

- Abe, Y., Skali-Lami, S., Block, J.C., and Francius, G. (2012) Cohesiveness and hydrodynamic properties of young drinking water biofilms. *Water Research* **46**: 1155-1166.
- Aisopou, A., Stoianov, I., and Graham, N.J.D. (2012) In-pipe water quality monitoring in water supply systems under steady and unsteady state flow conditions: A quantitative assessment. *Water Research* **46**: 235-246.
- Al-Saleh, I. and Al-Doush, I. (1998) Survey of trace elements in household and bottled drinking water samples collected in Riyadh, Saudi Arabia. *Science of the Total Environment* **216**: 181-192.
- Allion, A., Lassiaz, S., Peguet, L., Boillot, P., Jacques, S., Peultier, J., and Bonnet, M.C. (2010) Stainless steels durability and biofilms development in drinking water distribution systems: A comparative study with other commonly used materials. *Journal Europeen d'Hydrologie* **41**: 31-50.
- Association of Greek Tourism Enterprises . Greek Tourism: Facts & Figures . 2011.  
Ref Type: Report
- Barbaree, J.M., Fields, B.S., Feeley, J.C., Gorman, G.W., and Martin, W.T. (1986) Isolation of protozoa from water associated with legionellosis outbreak and demonstration of intracellular multiplication of *Legionella pneumophila*. *Applied and Environmental Microbiology* **51**: 422-424.
- Bargellini, A., Marchesi, I., Righi, E., Ferrari, A., Cencetti, S., Borella, P., and Rovesti, S. (2011) Parameters predictive of *Legionella* contamination in hot water systems: Association with trace elements and heterotrophic plate counts. *Water Research* **45**: 2315-2321.
- Barker, J., Brown, M.R.W., Collier, P.J., Farrell, I., and Gilbert, P. (1992) Relationship between *Legionella pneumophila* and *Acanthamoeba polyphaga*: Physiological status and susceptibility to chemical inactivation. *Applied and Environmental Microbiology* **58**: 2420-2425.
- bd El-Salam, M.M. Assessment of water quality of some swimming pools: a case study in Alexandria, Egypt. *Environmental Monitoring and Assessment* . 2012.  
Ref Type: In Press
- Beaute, J., Zucs, P., and de Jong, B. (2012a) Risk for travel-associated Legionnaires' disease, Europe, 2009. *Emerging Infectious Diseases* **18**: 1811-1816.
- Beaute, Z., Zucs, p., and de Jon, B. (2012b) Risk for Travel-associated Legionnaires' Disease, Europe, 2009. *Emerging Infectious Disease*.
- Bissen, M. and Johann, J . *Legionella* in Drinking Water Distribution Systems. 2004. Austria, Business briefing: Hospital Engineering and Facilities Management.  
Ref Type: Report
- Bodet, C., Sahr, T., Dupuy, M., Buchrieser, C., and H+σchard, Y. (2012) *Legionella pneumophila* transcriptional response to chlorine treatment. *Water Research* **46**: 808-816.

- Bonetta,S., Bonetta,S., Ferretti,E., Balocco,F., and Carraro,E. (2010) Evaluation of Legionella pneumophila contamination in Italian hotel water systems by quantitative real-time PCR and culture methods. *Journal of Applied Microbiology* **108**: 1576-1583.
- Borella,P., Montagna,M.T., Stampi,S., Stancanelli,G., Romano-Spica,V., Triassi,M. et al. (2005a) Legionella contamination in hot water of Italian hotels. *Applied and Environmental Microbiology* **71**: 5805-5813.
- Borella,P., Guerrieri,E., Marchesi,I., Bondi,M., and Messi,P. (2005b) Water ecology of Legionella and protozoan: environmental and public health perspectives. In *Biotechnology Annual Review*. El-Gewely,M.R. (ed). Elsevier, pp. 355-380.
- Bouwknegt,M., Schijven,J.F., Schalk,J.A.C., and de Roda Husman,A.M. (2013) Quantitative risk estimation for a Legionella pneumophila infection due to whirlpool use. *Risk Analysis* **33**: 1228-1236.
- Bridier,A., Dubois-Brissonnet,F., Greub,G., Thomas,V., and Briandet,R. (2011) Dynamics of the action of biocides in Pseudomonas aeruginosa biofilms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **55**: 2648-2654.
- Brousseau,N., Lavesque,B., Guillemet,T.A., Cantin,P., Gauvin,D., Giroux,J.P. et al. (2013) Contamination of public whirlpool spas: Factors associated with the presence of Legionella spp., Pseudomonas aeruginosa and Escherichia coli. *International Journal of Environmental Health Research* **23**: 1-15.
- Burmolle,M., Webb,J.S., Rao,D., Hansen,L.H., Sorensen,S.J., and Kjelleberg,S. (2006) Enhanced biofilm formation and increased resistance to antimicrobial agents and bacterial invasion are caused by synergistic interactions in multispecies biofilms. *Applied and Environmental Microbiology* **72**: 3916-3923.
- Buse,H.Y., Schoen,M.E., and Ashbolt,N.J. (2012) Legionellae in engineered systems and use of quantitative microbial risk assessment to predict exposure. *Water Research* **46**: 921-933.
- Byrne,B. and Swanson,M.S. (1998) Expression of Legionella pneumophila virulence traits in response to growth conditions. *Infection and Immunity* **66**: 3029-3034.
- Chord,F., Fascia,P., Mallaval,F., Cornillon,J., Roesch,L., Pozzetto,B. et al. (2011) Chlorine dioxide for Legionella spp. disinfection: A danger for cross-linked polyethylene pipes? *Journal of Hospital Infection* **78**: 242-243.
- Chowdhury,S. (2013) Exposure assessment for trihalomethanes in municipal drinking water and risk reduction strategy. *Science of the Total Environment* **463-464**: 922-930.
- Chowdhury,S. Heterotrophic bacteria in drinking water distribution system: a review. *Environmental Monitoring and Assessment* . 2011.  
Ref Type: In Press
- Cianciotto,N.P. (2001) Pathogenicity of Legionella pneumophila. *International Journal of Medical Microbiology* **291**: 331-343.
- Cirillo,J.D., Falkow,S., and Tompkins,L.S. (1994) Growth of Legionella pneumophila in Acanthamoeba castellanii enhances invasion. *Infection and Immunity* **62**: 3254-3261.

- de Jong,B., Payne Hallstr+\_m,L., Robesyn,E., Ursut,D., and Zucs,P. (2013) Travel-associated Legionnaires' disease in Europe, 2010. *Eurosurveillance* **18**.
- Declerck,P., Behets,J., Margineanu,A., van Hoef,V., De Keersmaecker,B., and Ollevier,F. (2009) Replication of *Legionella pneumophila* in biofilms of water distribution pipes. *Microbiological Research* **164**: 593-603.
- Diederer,B.M.W. (2008) *Legionella* spp. and Legionnaires' disease. *Journal of Infection* **56**: 1-12.
- ECDC (2009). Water-borne diseases [WWW document].
- ECDC . TECHNICAL DOCUMENT: European Legionnaires' Disease Surveillance Network (ELDSNet); Operating procedures. 2012.  
Ref Type: Report
- Edagawa,A., Kimura,A., Doi,H., Tanaka,H., Tomioka,K., Sakabe,K. et al. (2008) Detection of culturable and nonculturable *Legionella* species from hot water systems of public buildings in Japan. *Journal of Applied Microbiology* **105**: 2104-2114.
- EU Eurostat . Tourism statistics at regional level. 2012.  
Ref Type: Report
- EU-OSHA . Legionella and legionnaires' Disease: A policy overview . 2011.  
Ref Type: Report
- European Agency for Safety and Health at Work . *Legionella* and legionnaires' disease:European policies and good practices - Fact Sheet 100. 2011.  
Ref Type: Report
- European Centre for Disease Prevention and Control . European Legionnaires' Disease Surveillance Network (ELDSNet): Operating procedures. 2012. Stockholm, ECDC.  
Ref Type: Report
- Ewann,F. and Hoffman,P.S. (2006) Cysteine metabolism in *Legionella pneumophila*: Characterization of an L-cystine-utilizing mutant. *Applied and Environmental Microbiology* **72**: 3993-4000.
- Farhat,M., Moletta-Denat,M., Fr+pre,J., Onillon,S., Trouilh+σ,M.C., and Robine,E. (2012) Effects of disinfection on legionella spp., eukarya, and biofilms in a hot water system. *Applied and Environmental Microbiology* **78**: 6850-6858.
- Felfoldi,T., Tarnoczai,T., and Homonnay,Z.G. (2010) Presence of potential bacterial pathogens in a municipal drinking water supply system. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* **57**: 165-179.
- Fields,B.S., Benson,R.F., and Besser,R.E. (2002) Legionella and legionnaires' disease: 25 Years of investigation. *Clinical Microbiology Reviews* **15**: 506-526.
- Flemming,H.C., Percival,S.L., and Walker,J.T. Contamination potential of biofilms in water distribution systems. 2[1], 271-280. 2002.  
Ref Type: Serial (Book,Monograph)

Fragou,K., Kokkinos,P., Gogos,C., Alamanos,Y., and Vantarakis,A. (2012) Prevalence of Legionella spp. in water systems of hospitals and hotels in South Western Greece. *International Journal of Environmental Health Research* **22**: 340-354.

Franzus,M.J., Malcolm,G.B., and Pine,L. (1984) Taxonomic evaluation of amino acid metabolism in Legionella. *Current Microbiology* **11**: 73-80.

Giao,M.S., Wilks,S.A., Azevedo,N.F., Vieira,M.J., and Keevil,C.W. (2009) Comparison between standard culture and peptide nucleic acid 16S rRNA hybridization quantification to study the influence of physico-chemical parameters on Legionella pneumophila survival in drinking water biofilms. *Biofouling* **25**: 343-351.

Ginige,M.P., Wylie,J., and Plumb,J. (2011) Influence of biofilms on iron and manganese deposition in drinking water distribution systems. *Biofouling* **27**: 151-163.

Goutziana,G., Mouchtouri,V.A., Karanika,M., Kavagias,A., Stathakis,N.E., Gourgoulisanis,K. et al. (2008) Legionella species colonization of water distribution systems, pools and air conditioning systems in cruise ships and ferries. *BMC Public Health* **8**.

Guida,M., Gall+ρ,F., Mattei,M.L., Anastasi,D., and Liguori,G. (2009) Microbiological quality of the water of recreational and rehabilitation pools: a 2-year survey in Naples, Italy. *Public Health* **123**: 448-451.

Guyard,C. and Low,D.E. (2011) Legionella infections and travel associated legionellosis. *Travel Medicine and Infectious Disease* **9**: 176-186.

Hadjichristodoulou,C., Mouchtouri,V., Vousourelis,A., Konstantinidis,A., Petrikos,P., Velonakis,E. et al. (2006) Waterborne diseases prevention: Evaluation of inspection scoring system for water sites according to water microbiological tests during the Athens 2004 pre-Olympic and Olympic period. *Journal of Epidemiology and Community Health* **60**: 829-835.

Hajdu,A., Vold,L., Ostmo,T.A., Helleve,A., Helgebostad,S.R., Krogh,T. et al. (2008) Investigation of Swedish cases reveals an outbreak of cryptosporidiosis at a Norwegian hotel with possible links to in-house water systems. *BMC Infectious Diseases* **8**.

Harb,O.S., Venkataraman,C., Haack,B.J., Gao,L.Y., and bu Kwaik,Y. (1998) Heterogeneity in the attachment and uptake mechanisms of the Legionnaires' disease bacterium, Legionella pneumophila, by protozoan hosts. *Applied and Environmental Microbiology* **64**: 126-132.

Hellenic Ministry of Health . Decision ΔΥΓ2/OIK.70777/ 12-07-2012. 2012.  
Ref Type: Statute

Hijnen,W.A.M., Beerendonk,E.F., and Medema,G.J. (2006) Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan (oo)cysts in water: A review. *Water Research* **40**: 3-22.

Hilbi,H., Hoffmann,C., and Harrison,C.F. (2011) Legionella spp. outdoors: Colonization, communication and persistence. *Environmental Microbiology Reports* **3**: 286-296.

Hong,P.K.A. and Macauley,Y.Y. (1998) Corrosion and leaching of copper tubing exposed to chlorinated drinking water. *Water, Air, and Soil Pollution* **108**: 457-471.

HSE . Legionnaires' disease. The control of legionella bacteria in water systems. Approved Code of Practice and guidance. 2000.  
Ref Type: Report

Hyun-Jung,J., Choi,Y.J., and Ka,J.O. (2011) Effects of diverse water pipe materials on bacterial communities and water quality in the annular reactor. *Journal of Microbiology and Biotechnology* **21**: 115-123.

ISO (1998) ISO 11731:1998. Water quality -- Detection and enumeration of Legionella. *International Organisation for Standardisation*.

Jolis,D., Lam,C., and Pitt,P. (2001) Particle effects on ultraviolet disinfection of coliform bacteria in recycled water. *Water Environment Research* **73**: 233-236.

Joseph,C. (2007) Managing Legionnaires' disease in Europe: the need for international collaboration. *Euro surveillance : bulletin european sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin* **12**: E1-E2.

Joseph,C. and Ricketts,K.D. (2010) Travel-associated Legionnaires' Disease in Europe in 2009. *Euro surveillance : bulletin european sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin* **15**.

Kilvington,S. and Price,J. (1990) Survival of Legionella pneumophila within cysts of Acanthamoeba polyphaga following chlorine exposure. *Journal of Applied Bacteriology* **68**: 519-525.

Konishi,T., Yamashiro,T., Koide,M., and Nishizono,A. (2006) Influence of temperature on growth of Legionella pneumophila biofilm determined by precise temperature gradient incubator. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **101**: 478-484.

Kusnetsov,J., Torvinen,E., Perola,O., Nousiainen,T., and Katila,M.L. (2003) Colonization of hospital water systems by legionellae, mycobacteria and other heterotrophic bacteria potentially hazardous to risk group patients. *APMIS* **111**: 546-556.

Kusnetsov,J.M., Martikainen,P.J., Jousimies-Somer,H.R., V+vis+vnen,M.L., Tulkki,A.I., Ahonen,H.E., and Nevalainen,A.I. (1993) Physical, chemical and microbiological water characteristics associated with the occurrence of Legionella in cooling tower systems. *Water Research* **27**: 85-90.

Lasheras,A., Boulestreau,H., Rogues,A.M., Ohayon-Court, Labadie,J.C., and Gachie,J.P. (2006) Influence of amoebae and physical and chemical characteristics of water on presence and proliferation of Legionella species in hospital water systems. *American Journal of Infection Control* **34**: 520-525.

Lau,H.Y. and Ashbolt,N.J. (2009) The role of biofilms and protozoa in legionella pathogenesis: Implications for drinking water. *Journal of Applied Microbiology* **107**: 368-378.

Lee,J., Kim,E.S., Roh,B.S., Eom,S.W., and Zoh,K.D. (2013) Occurrence of disinfection by-products in tap water distribution systems and their associated health risk. *Environmental Monitoring and Assessment* **185**: 7675-7691.

Leoni,E., De Luca,G., Legnani,P.P., Sacchetti,R., Stampi,S., and Zanetti,F. (2005) Legionella waterline colonization: Detection of Legionella species in domestic, hotel and hospital hot water systems. *Journal of Applied Microbiology* **98**: 373-379.

Maida,C.M., Di Benedetto,M.A., Firenze,A., Calamusa,G., Di Piazza,F., Milici,M.E., and Romano,N. (2008) Surveillance of the sanitary conditions of a public swimming pool in the city of Palermo (Italy). *Igiene e sanit+ι pubblica* **64**: 581-593.

Marchesi,I., Marchegiano,P., Bargellini,A., Cencetti,S., Frezza,G., Miselli,M., and Borella,P. (2011) Effectiveness of different methods to control legionella in the water supply: Ten-year experience in an Italian university hospital. *Journal of Hospital Infection* **77**: 47-51.

Mathys,W., Stanke,J., Harmuth,M., and Junge-Mathys,E. (2008) Occurrence of Legionella in hot water systems of single-family residences in suburbs of two German cities with special reference to solar and district heating. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* **211**: 179-185.

Maya,C., Beltr+κn,N., Jim+σnez,B., and Bonilla,P. Evaluation of the UV disinfection process in bacteria and amphizoic amoebae inactivation. 3[4], 285-291. 2003.  
Ref Type: Serial (Book,Monograph)

Mouchtouri,V., Velonakis,E., and Hadjichristodoulou,C. (2007a) Thermal disinfection of hotels, hospitals, and athletic venues hot water distribution systems contaminated by Legionella species. *American Journal of Infection Control* **35**: 623-627.

Mouchtouri,V., Velonakis,E., Tsakalof,A., Kapoula,C., Goutziana,G., Vatopoulos,A. et al. (2007b) Risk factors for contamination of hotel water distribution systems by Legionella species. *Applied and Environmental Microbiology* **73**: 1489-1492.

Mouchtouri,V.A., Goutziana,G., Kremastinou,J., and Hadjichristodoulou,C. (2010) Legionella species colonization in cooling towers: Risk factors andTassessment of control measures. *American Journal of Infection Control* **38**: 50-55.

Mouchtouri,V.A., Bartlett,C.L.R., Diskin,A., and Hadjichristodoulou,C. (2012a) Water Safety Plan on cruise ships: A promising tool to prevent waterborne diseases. *Science of The Total Environment*.

Mouchtouri,V.A., Bartlett,C.L.R., Diskin,A., and Hadjichristodoulou,C. (2012b) Water Safety Plan on cruise ships: A promising tool to prevent waterborne diseases. *Science of The Total Environment*.

Nahapetian,K., Challemel,O., Beurtin,D., Dubrou,S., Gounon,P., and Squinazi,F. (1991) The intracellular multiplication of Legionella pneumophila in protozoa from hospital plumbing systems. *Research in Microbiology* **142**: 677-685.

Naik,F., Harrison,T., Mentasti,M., Spala,G., Velonakis,E., Hadjichristodoulou,C. et al. (2012) Travel-associated Legionnaires' disease in residents from England and Wales travelling to Corfu, Greece, August to October 2011. *Euro surveillance : bulletin european sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin* **17**.

NHMRC . Australian Water Drinking Guidelines-Chapter 6: Physical and Chemical Quality of Drinking Water. 2011.  
Ref Type: Report

Patrizia,M., Annalisa,B., Immacolata,A., Isabella,M., De Niederh+vusern,S., and Moreno,B. (2013) Protozoa and human macrophages infection by Legionella

pneumophila environmental strains belonging to different serogroups. *Archives of Microbiology* **195**: 89-96.

Pedersen,K. (1990) Biofilm development on stainless steel and PVC surfaces in drinking water. *Water Research* **24**: 239-243.

Plusa,T. (2011) Respiratory infections caused by Legionella pneumophila. *International Review of Allergology and Clinical Immunology* **17**: 72-76.

Price,C.T.D., Al-Quadani,T., Santic,M., Rosenshine,I., and bu Kwaik,Y. (2011) Host proteasomal degradation generates amino acids essential for intracellular bacterial growth. *Science* **334**: 1553-1557.

Pruckler,J.M., Benson,R.F., Moyenuddin,M., Martin,W.T., and Fields,B.S. (1995) Association of flagellum expression and intracellular growth of Legionella pneumophila. *Infection and Immunity* **63**: 4928-4932.

Pryor,M., Springthorpe,S., Riffard,S., Brooks,T., Huo,Y., Davis,G., and Sattar,S.A. Investigation of opportunistic pathogens in municipal drinking water under different supply and treatment regimes. 50[1], 83-90. 2004.

Ref Type: Serial (Book,Monograph)

Rakic,A., Peric,J., Stambuk-Giljanovic,N., Mikrut,A., and Bakavic,A.S. (2011) Legionella species in year-round vs. seasonal accommodation water supply systems. *Arhiv za Higijenu Rada i Toksikologiju* **62**: 335-340.

Reeves,M.W., Pine,L., Hutner,S.H., George,J.R., and Harrell,W.K. (1981) Metal requirements of Legionella pneumophila. *Journal of Clinical Microbiology* **13**: 688-695.

Ricketts,K.D., Yadav,R., Rota,M.C., Joseph,C.A., and European Working Group for Legionella Infections (2010) Characteristics of reoffending accommodation sites in Europe with clusters of Legionnaires disease, 2003-2007. *Euro surveillance : bulletin europ+sen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin* **15**.

Rowbotham,T.J. (1986) Current views on the relationships between amoebae, legionellae and man. *Israel Journal of Medical Sciences* **22**: 678-689.

Schoen,M.E. and Ashbolt,N.J. (2011) An in-premise model for Legionella exposure during showering events. *Water Research* **45**: 5826-5836.

Schwartz,T., Hoffmann,S., and Obst,U. (2003) Formation of natural biofilms during chlorine dioxide and u.v. disinfection in a public drinking water distribution system. *Journal of Applied Microbiology* **95**: 591-601.

Serrano-Suarez,A., Dellunde,J., Salvado,H., Cervero-Arago,S., Mendez,J., Canals,O. et al. (2013) Microbial and physicochemical parameters associated with Legionella contamination in hot water recirculation systems. *Environmental Science and Pollution Research* **20**: 5534-5544.

SETE . Greek Tourism: Facts & Figures . 2011. ASSOCIATION of GREEK TOURISM ENTERPRISES .

Ref Type: Report



Shih,H.Y. and Lin,Y.E. (2010) Efficacy of copper-silver ionization in controlling biofilm- and plankton-associated waterborne pathogens. *Applied and Environmental Microbiology* **76**: 2032-2035.

Smith-Somerville,H.E., Huryh,V.B., Walker,C., and Winters,A.L. (1991) Survival of *Legionella pneumophila* in the cold-water ciliate *Tetrahymena vorax*. *Applied and Environmental Microbiology* **57**: 2742-2749.

Steinert,M., Hentschel,U., and Hacker,J.+. (2002) *Legionella pneumophila*: an aquatic microbe goes astray. *FEMS Microbiology Reviews* **26**: 149-162.

Steinert,M., Heuner,K., Buchrieser,C., bert-Weissenberger,C., and Gl+\_ckner,G. (2007) *Legionella* pathogenicity: Genome structure, regulatory networks and the host cell response. *International Journal of Medical Microbiology* **297**: 577-587.

Storey,M.V., Winiecka-Krusnell,J., Ashbolt,N.J., and Stenstr+\_m,T.A. (2004) The efficacy of heat and chlorine treatment against thermotolerant Acanthamoebae and Legionellae. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* **36**: 656-662.

Takagi,M., Toriumi,H., Endo,T., Yamamoto,N., and Kuroki,T. (2008) An outbreak of cryptosporidiosis associated with swimming pools. *Kansenshogaku zasshi The Journal of the Japanese Association for Infectious Diseases* **82**: 14-19.

Taylor,M., Ross,K., and Bentham,R. (2009) *Legionella*, protozoa, and biofilms: Interactions within complex microbial systems. *Microbial Ecology* **58**: 538-547.

Thomas,V., McDonnell,G., Denyer,S.P., and Maillard,J.Y. (2010) Free-living amoebae and their intracellular pathogenic microorganisms: Risks for water quality. *FEMS Microbiology Reviews* **34**: 231-259.

Ucakar,V., Grilc,E., and Jeraj,I. (2012) An investigation of a waterborne outbreak caused by microbiological contamination of the drinking water supply system. *Zdravstveno Varstvo* **51**: 112-119.

UNWTO . UNWTO World Tourism Barometer. 2013.  
Ref Type: Report

Valster,R.M., Wullings,B.A., van den Berg,R., and van der Kooij,D. (2011) Relationships between free-living protozoa, cultivable *Legionella* spp., and water quality characteristics in three drinking water supplies in the Caribbean. *Applied and Environmental Microbiology* **77**: 7321-7328.

van der Kooij,D., Veenendaal,H.R., and Scheffer,W.J.H. (2005) Biofilm formation and multiplication of *Legionella* in a model warm water system with pipes of copper, stainless steel and cross-linked polyethylene. *Water Research* **39**: 2789-2798.

Wang,S., Ao,J., Yang,X., Zhang,H., Jiao,T., and Tong,Q. Occurrence and distribution of *Legionella* in water system of central air condition. 647, 566-569. 2013.  
Ref Type: Serial (Book,Monograph)

WHO . *Legionella* and the prevention of legionellosis. 2007a.  
Ref Type: Report

WHO . pH in Drinking-water: Revised background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. 2007b.  
Ref Type: Report

WHO . Health and Environment in Europe: progress assessment. 2010. Report for the Fifth Ministerial Conference on Environment and Health, to be held in Parma, Italy on 10-12 March 2010 .  
Ref Type: Report

WHO . International Travel and Health. 2012 Edition. 2012.  
Ref Type: Report

Wingender,J. and Flemming,H.C. (2011) Biofilms in drinking water and their role as reservoir for pathogens. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* **214**: 417-423.

Wullings,B.A., Bakker,G., and Van Der Kooij,D. (2011) Concentration and diversity of uncultured legionella spp. in two unchlorinated drinking water supplies with different concentrations of natural organic matter. *Applied and Environmental Microbiology* **77**: 634-641.