

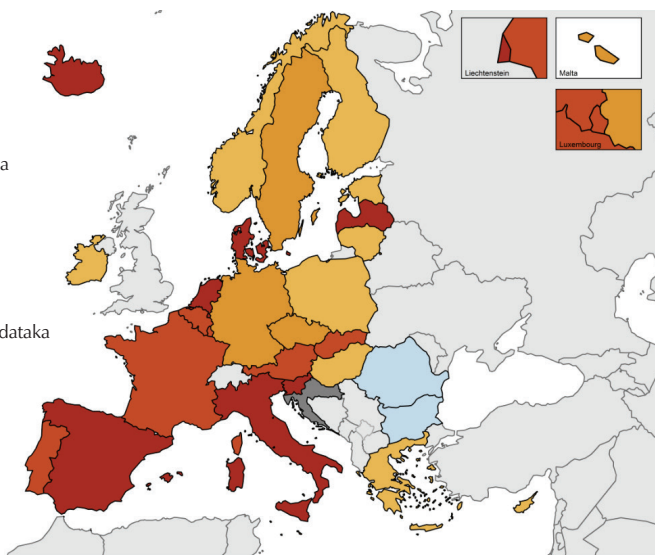
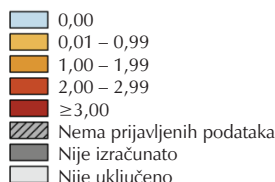


Monitoring vode na prisutnost legionele i EU Direktiva o vodi za piće: mogu li se potencijalno štetne bakterije legionele provući kroz “praznine”?

Bakterije legionele u prirodi su široko rasprostranjene. Nalazimo ih u vodi (rijeke, jezera, bare,...) i u vlažnome tlu. Do zaraze dolazi kad legionela nađe uvjete povoljne za rast i razmnožavanje u sustavima koji se koriste vodom i koji stvaraju vodeni aerosol (tuševima, uređajima za hlađenje, zagrijavanje i isparavanje vode ili ovlaživanje zraka i sl.). Uvjeti pogodni za rast i razmnožavanje legionele nastaju kod stagnacije vode u sustavu, neadekvatnih temperatura tople odnosno hladne vode, nedostatne razine dezinfekcijskog sredstva u vodi, poplavljanja vodovodnih cijevi, nepropisnog spoja na vodovod, spoja s “tehničkom” vodom, i sl. Rast legionele usporava se na višim temperaturama vode i pri 46 °C prestaje. Bakterija može preživjeti nekoliko sati na temperaturi od 50 °C, nekoliko minuta pri 60 °C, a praktički ne preživljava 70 °C. Ispod 37 °C usporava se razmnožavanje bakterije te prestaje na temperaturi do 20 °C.



Dobno standardizirana stopa (na 100 000)

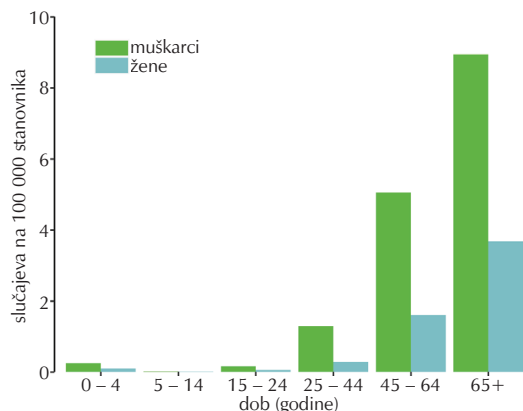


Administration boundaries: © Eurographics
The boundaries and names shown on this map do not imply official endorsement or acceptance by the European Union. ECDC. Map produced on 21 March 2023.

Slika 1 – Distribucija slučajeva legionarske bolesti na 100 000 stanovnika po zemlji, EU/EEA, 2021.

U 2021. godini zabilježena je najveća godišnja stopa prijave legionarske bolesti dosad u EU/EEA, od 2,4 slučaja na 100 000 stanovnika (slika 1).

Stope su heterogene u cijeloj regiji EU/EEA, s dobno standardiziranim stopama koje variraju po zemlji između <1 – 5 slučajeva na 100 000 stanovnika. Četiri zemlje (Italija, Francuska, Španjolska i Njemačka) činile su 75 % svih prijavljenih slučajeva. Muš-

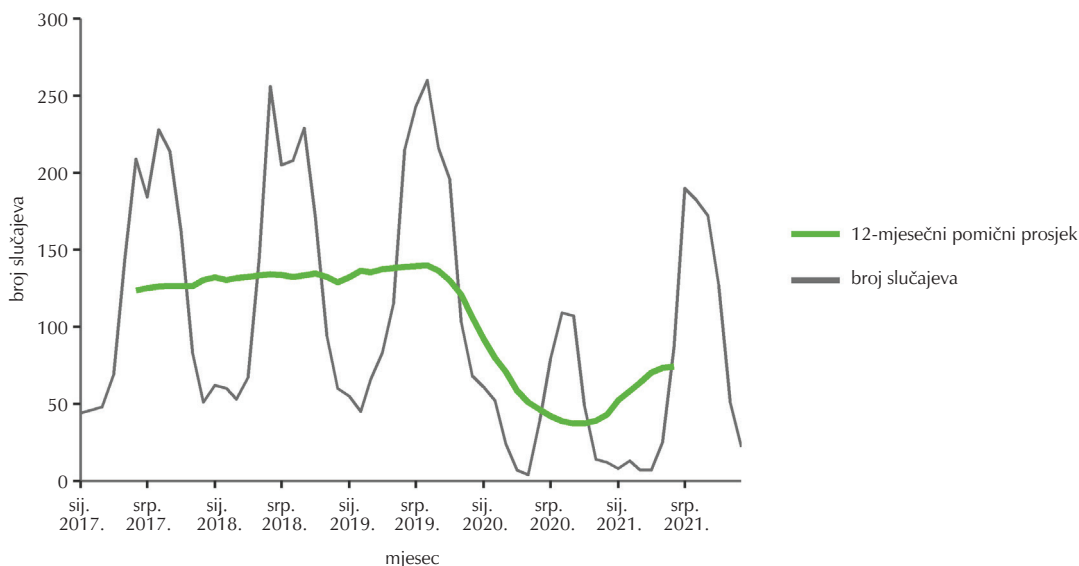


Slika 2 – Distribucija slučajeva legionarske bolesti na 100 000 stanovnika, prema dobi i spolu, EU/EEA, 2021.

karci u dobi od 65 godina i više bili su najviše pogođena skupina (8,9 slučajeva na 100 000 stanovnika) (slika 2). Samo u 11 % prijavljenih slučajeva je potvrđena zaraza legionelom. To vjerojatno dovodi do podcjenjivanja slučajeva legionarske bolesti uzrokovanih vrstama legionele koje nisu *Legionella pneumophila*. Za većinu slučajeva smatralo se da su stečeni u zajednici. Pojavu najmanje jedne epidemije legionarske bolesti prijavilo je osam od 27 zemalja EU/EEA koje su prijavile podatke u sustav za prijavu epidemije. Prijavljeno je ukupno 19 epidemija s 137 potvrđenih slučajeva. Na shemi nadzora legionarske bolesti povezane s putovanjem (TALD) primjećuje se porast slučajeva od 38 % u usporedbi s 2020. Slično prethodnim godinama, 90 % slučajeva TALD-a dogodilo se kod osoba u dobi od 45 godina i više (slika 3). Slična dobna distribucija uočena je u godišnjem retrospektivnom prikupljanju podataka o slučajevima legionarske bolesti.

Posljedice EU Direktive o vodi za piće

Bakterije legionele prenose se u onečišćenim vodnim sustavima, a infekcija može biti uzrokovana udisanjem aerosola onečišćene vode. Infekcija legionelom u zemljama EU-a najveći je zdravstveni problem od svih patogena koji se prenose vodom. Nedavna revizija EU-a Direktive o vodi za piće proširuje analizu rizika kvalitete vode te je uključeno praćenje bakterije *Legionella* u svim sustavima distribucije pitke vode, uključujući velike sustave distribucije vode za domaćinstva i industrije. Ažurirana EU Direktiva



Slika 3 – Distribucija slučajeva legionarske bolesti povezanih s putovanjem po mjesecima, EU/EEA, 2017. – 2021.

stupila je na snagu u siječnju 2021., a zemlje članice EU-a imaju 2 godine da navedeno primijene u svoje zakonodavstvo, a odbir metode ovisit će o nacionalnim smjernicama. Metoda ISO 11731 i dalje je potrebna za potpunu usklađenost s EU Direktivom, ali nova je direktiva postala fleksibilnija uključivanjem metode ISO 12689. Činjenica da EU Direktiva zahtijeva testiranje na *Legionella* spp., a ne samo na *Legionella pneumophila*, najsmrtonosniju vrstu legionele, potaknula je zanimljive rasprave oko nacionalnih propisa i zahtjeva za testiranje legionele u vodi.

Čini se da postoji neslaganje u provedbi EU Direktive i različite zemlje prihvaćaju različite pristupe. Francuska i Njemačka, primjerice, pretežno su usmjerene na detekciju *L. pneumophila*. U Nizozemskoj se zagovara 'hibridni' pristup praćenju bakterije *Legionella*, pri čemu je testiranje na širi raspon vrsta legionele ograničeno na bolnička okruženja jer se osobe s oslabljenim imunološkim sustavom smatraju ranjivijima. Do danas je više od 20 vrsta od gotovo 60 identificiranih vrsta legionele upleteno u bolesti ljudi. Neki stručnjaci tvrde da bi fokus trebao biti na testiranju na *L. pneumophila*, vrstu koja je odgovorna za većinu slučajeva teške i potencijalno smrtonosne legionarske bolesti. Općenito je stajalište da testiranje za druge vrste koje možda ne predstavljaju isti rizik za zdravlje može biti skupo i dugotrajno za ispitne laboratorije te može dovesti do odgođenih rezultata testa za krajnje korisnike, što u konačnici može imati potencijalne negativne posljedice za javno zdravlje. Međutim, pretpostavka da će drugi široki raspon vrsta legionele, također potencijalno prisutnih u vodenim sustavima, biti dobroćudna, može biti problematična. Stvarnost je takva da ako je jedna vrsta legionele prisutna, tad su očito uvjeti rasta bili povoljni – koliko će dugo trebati prije nego što *L. pneumophila* podigne glavu?

Legionela može uzrokovati ili Pontiac groznicu, blagu infekciju sa simptomima sličnim gripi, ili legionarsku bolest, vrstu upale pluća sa stopom smrtnosti od približno 10 %. Iako se većina infekcija pripisuje *L. pneumophila* serogrupa 1 (sg 1), zabilježeni su slučajevi legionarske bolesti uzrokovane vrstama legionele koje nisu *pneumophila*. To uključuje *Legionella longbeachae*, *Legionella bozemanii*, *Legionella anisa*, *Legionella dumoffii*, *Legionella micdadei* i *Legionella feeleii*. Iako te vrste mogu uzrokovati blažu bolest od *L. pneumophila*, ljudi s kroničnim stanjima i imunokompromitirani pojedinci izloženi su većem riziku. Međutim, mora se napomenuti da su također prijavljene infekcije uzrokovane vrstama koje nisu *pneumophila* u imunokompetentnih osoba. Ovisno o zemljopisnom području, primijećena je velika raznolikost vrsta

legionele i visoka prevalencija vrsta koje nisu pneumofile. U nekim europskim regijama postoji veća prevalencija vrsta koje nisu *pneumophila* u usporedbi s *L. pneumophila*, kako u bolnicama tako i u kućnim vodovodnim sustavima. U Australiji i Novom Zelandu *L. longbeachae* uzrokuje jednake slučajeve bolesti kao *L. pneumophila*. Iako je objavljeno da vrste koje nisu *pneumophila* čine samo mali udio slučajeva legionarske bolesti, broj tih infekcija nedvojbeno je podcijenjen u cijelom svijetu. Ipak, bilo bi nepromišljeno zanemariti te vrste. Uz opterećenje bolešću, postoji mogućnost da vrste koje nisu *pneumophila* prikrivaju prisutnost *L. pneumophila* u vodenim sustavima. Budući da se *L. pneumophila* često nalazi zajedno s drugim vrstama legionele u vodi, možda se neće otkriti ako je drugih vrsta u izobilju.

Na prevlast *L. pneumophila* u prijavljenim infekcijama vjerojatno će utjecati medicinska dijagnostička metoda koja se primjenjuje za potvrđivanje sumnji na legionarsku bolest. Stoga je pravi broj infekcija legionelom nepoznat i vjerojatno uvelike podcijenjen. Iako uzgoj na selektivnoj podlozi ostaje zlatni standard za dijagnozu legionarske bolesti, zbog sporog rasta mikroorganizma, tom metodom dobivanje rezultata može potrajati i do 7 do 10 dana. Urinarni antigenski testovi (UAT) najraširenija su metoda u kliničkim uvjetima za postavljanje dijagnoze legionarske bolesti. To je zbog njegove jednostavnosti upotrebe i brzih rezultata u roku od nekoliko minuta. Međutim, ti UAT-ovi su ograničeni, jer su specifični za *L. pneumophila* sg 1, identificirajući 50 – 80 % slučajeva. Stoga, ako se primjenjuje kao jedina dijagnostička metoda, 20 – 50 % slučajeva ostaje nedijagnosticirano, jer se bolest uzrokovana drugim serogrupama ili vrstama neizbježno propušta. Studija u Danskoj otkrila je da pacijenti zaraženi bakterijom *L. pneumophila* sg 6 imaju povećan rizik od smrti u usporedbi s onima zaraženima drugim serološkim skupinama, s najnižom smrtnošću uočenom za bakteriju *L. pneumophila* sg 1. Izbijanje legionarske bolesti u Italiji 2018. pripisano je *L. pneumophila* sg 2. U mnogim je zemljama poznato da se slučajevi legionarske bolesti prelamu prijavljuju. U SAD-u se smatra da se samo 2,5 – 4,5 % stvarnih slučajeva prijavi CDC-u. Europski centar za kontrolu i prevenciju bolesti primijetio je u svojem epidemiološkom izvješću iz 2019. da je samo 10 % slučajeva legionarske bolesti potvrđeno kulturom, što znači da su infekcije uzrokovane vrstama legionele koje nisu *L. pneumophila* vjerojatno podcijenjene. To naglašava potrebu za dijagnostičkim metodama koje su brze, osjetljive i koje mogu pouzdano detektirati dodatne serogrupe i vrste koje nisu pneumofilne – ne samo u zdravstvenim ustanovama već i unutar prostora za ispitivanje okoliša.

Testiranje legionele u okolišu i važnost posjedovanja potpunog profila legionele

S potpunim profilom vrsta legionele prisutnih u uzorku vode, mogu se donijeti bolje informirane odluke i korektivne radnje, minimizirajući rizik od širenja bakterija i izazivanja bolesti kod ljudi koji bi se inače mogli spriječiti. Dostupne metode za ispitivanje vode na prisutnost legionele uključuju metodu kulture na pločici opisane u ISO 11731:2017, koja je još uvijek najčešće primjenjivana metoda za ispitivanje okoliša, unatoč nekoliko ograničenja: ne otkriva sve vrste ili bakterije legionele, ima nisku osjetljivost, sporo vrijeme obrade (7 – 10 dana do rezultata), zahtijeva značajno vrijeme rada i rezultati mogu biti neuvjerljivi zbog prekomjernog rasta neciljanih mikroorganizama. Određivanje najvjerovatnijeg broja živih stanica bakterije u tekućem mediju omogućuje identifikaciju i kvantifikaciju *L. pneumophila*. Nudi neke prednosti u usporedbi s metodom kulture na ploči, kao što je jednostavnost upotrebe i jedan protokol po vodenoj matrici, ali i dalje je potrebno dugo razdoblje inkubacije (7 dana) i otkriva samo *L. pneumophila*; druge vrste legionele neće rasti u tekućem mediju, pa će biti potrebno dodatno testiranje da bi se odredila serogrupa ili dobio puni profil legionele. Još jedna tehnika koja se može primjenjivati za otkrivanje legionele u uzorcima vode je imunomagnetsko odvajanje (IMS). Ti se testovi temelje na upotrebi protutijela protiv legionele imobiliziranih na magnetskim mikrosferama u kombinaciji s enzimskom kolorimetrijskom detekcijom. Unatoč tvrdnjama proizvođača da je to brza i jednostavna tehnologija, nije jasno koje su vrste legionele detektirane, a IMS metoda nije široko prihvaćena u laboratorijima za testiranje legionele. Brzi testovi lateralnog protoka također su prilagođeni za ispitivanje legionele u okolišu, ali njihova je korisnost ograničena zbog nekoliko nedostataka: otkrivaju samo *L. pneumophila* sg 1, nisu kvantitativni i, ovisno o vrsti uzorka, njihova je osjetljivost vrlo niska. Multiplex PCR testovi u stvarnom vremenu nude rješenje za većinu tih problema i imaju nekoliko prednosti u odnosu na metodu kulture: osjetljiviji su, specifičniji, lakši za tumačenje i znatno brži, s ukupnim vremenom obrade od 3 do 4 h. Bio Lp-1

test (BioProbe Diagnostics) ne samo da može odrediti postoje li bakterije legionele u vodenom sustavu, već omogućuje i razlikovanje između roda *Legionella*, *L. pneumophila* (sg 1-16) i *L. pneumophila* sg 1 unutar uzorka vode i u jednoj PCR reakciji. Pomaže u određivanju važnosti problema i opsega ljudskog rizika.

Zaključak i buduća perspektiva

Bolje dijagnostičke tehnike i povećana svijest o bolesti doveli su do povećanog prijavljivanja slučajeva legionele, ali globalni izazovi poput urbanizacije, starenja stanovništva, klimatskih promjena i pristupa kružnom gospodarstvu također će utjecati na broj slučajeva legionarske bolesti u godinama koje dolaze. Dok zemlje članice EU-a usklađuju svoje pravilnike s EU propisima, tumačenja EU Direktive mogu rezultirati izbjegavanjem otkrivanja potencijalno štetne bakterije legionele. Tradicionalne metode uzgoja za otkrivanje legionele više nisu održive, a kreatori politike i dionici trebali bi se zalagati za brže i učinkovitije metode za otkrivanje legionele u okolišu. Globalno okruženje ispitivanja okoliša se transformira i uloga PCR testiranja u stvarnom vremenu je jasna. To je pojačano nevjerojatnom stopom rasta globalnog PCR tržišta, pri čemu se 2020. potražnja za PCR strojevima više nego udvostručila. Dok gledamo prema budućnosti, potreba za brzim i pouzdanim metodama otkrivanja legionele postat će sve potrebna – ako ne zbog ispunjavanja propisa o sigurnosti vode, onda iz perspektive društvene odgovornosti poduzeća. Uz raširenju upotrebu PCR strojeva u stvarnom vremenu diljem svijeta u post-COVID-19 eri, to će sigurno biti moguće.

Izvori

- <https://www.future-science.com/doi/10.2144/btn-2022-0047>.
- https://www.zjz-kkz.hr/default_vijest.asp?sid=8504.
- <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/legionnaires-disease-annual-epidemiological-report-2021>.