

Legionella kimutatásának tapasztalatai

Gasparikné dr. Reichardt Judit

Borókay Zsuzsanna, Tóth Ildikó

Simon Zsanett Barbara, Lovász Csaba

Hungalimentaria

2017.04. 27.

ELEMZÉS

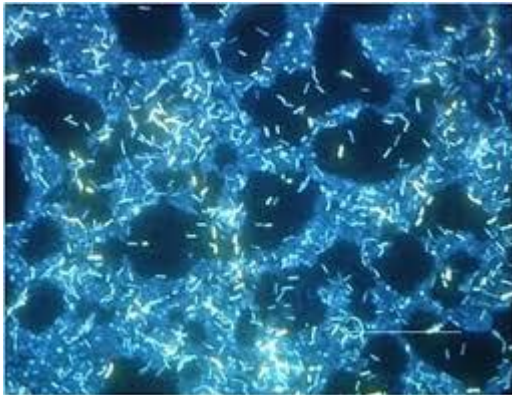
TANÁCSADÁS

TERVEZÉS

1983 ÓTA

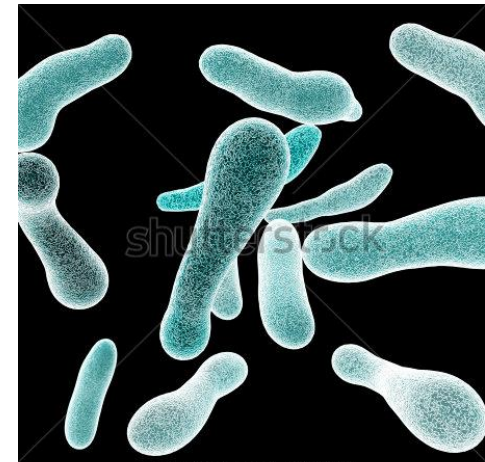


- *Legionella* – általános ismertető
- Érvényben lévő jogszabályok, útmutatók
- *Legionella* laboratóriumi kimutatása
- Vizsgálati eredmények bemutatása



- 1976** – Philadelphia
- 1979** – az első megbetegedés Magyarországon
- 1983** – az első bizonyított járvány Magyarországon
- 1998** – kötelezően jelentendő betegség
- 2001** – csatlakozás az Európai Legionellosis Munkacsoporthoz
- 2004** – csatlakozás az EWGLINET hálózatához (jelenleg ELDSNet)
- 2007** – módszertani levél
- 2008** – Európai útmutató

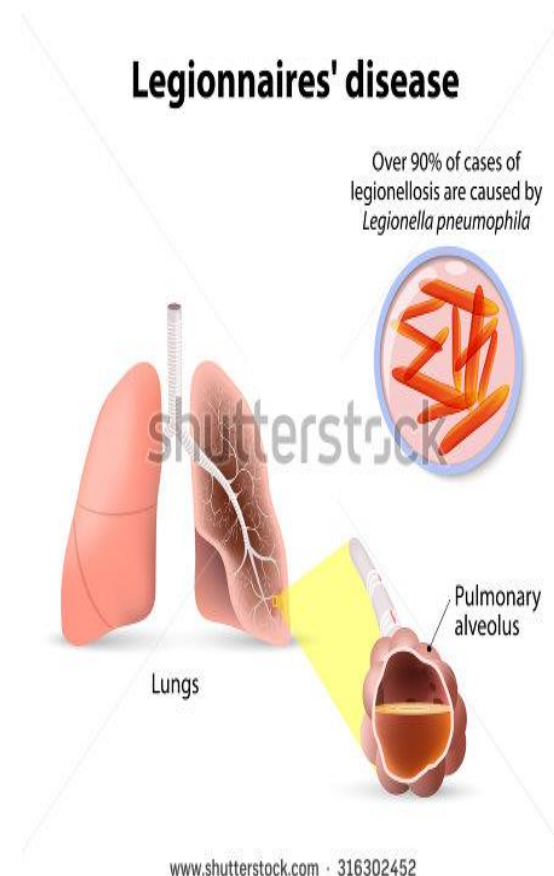
- 2015** – magyar jogszabály megjelenése



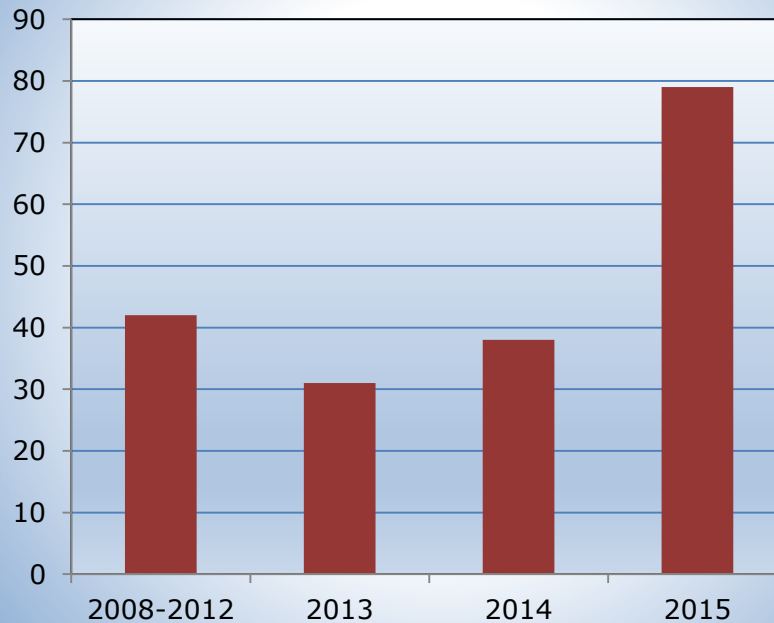
www.shutterstock.com · 226305241

- **legionárius betegség:** fő tünete a tüdőgyulladás, amely magas lázzal és változatos tünetekkel (hányás, hasmenés, fejfájás, idegrendszeri tünetek) társulva gyakran életveszélyes állapotot okozhat.
- **Pontiac-láz:** A Pontiac-láz szintén ugyanattól a baktériumtól keletkezik, lefolyása hasonlít az akut influenzához, de egy tüdőgyulladás nélküli és sokkal enyhébb lefolyású légzőszervi megbetegedést okoz. Nem halálos, 2-5 nap alatt tünetmentesség

A fertőzés **jellemzően** emberről emberre nem terjed!



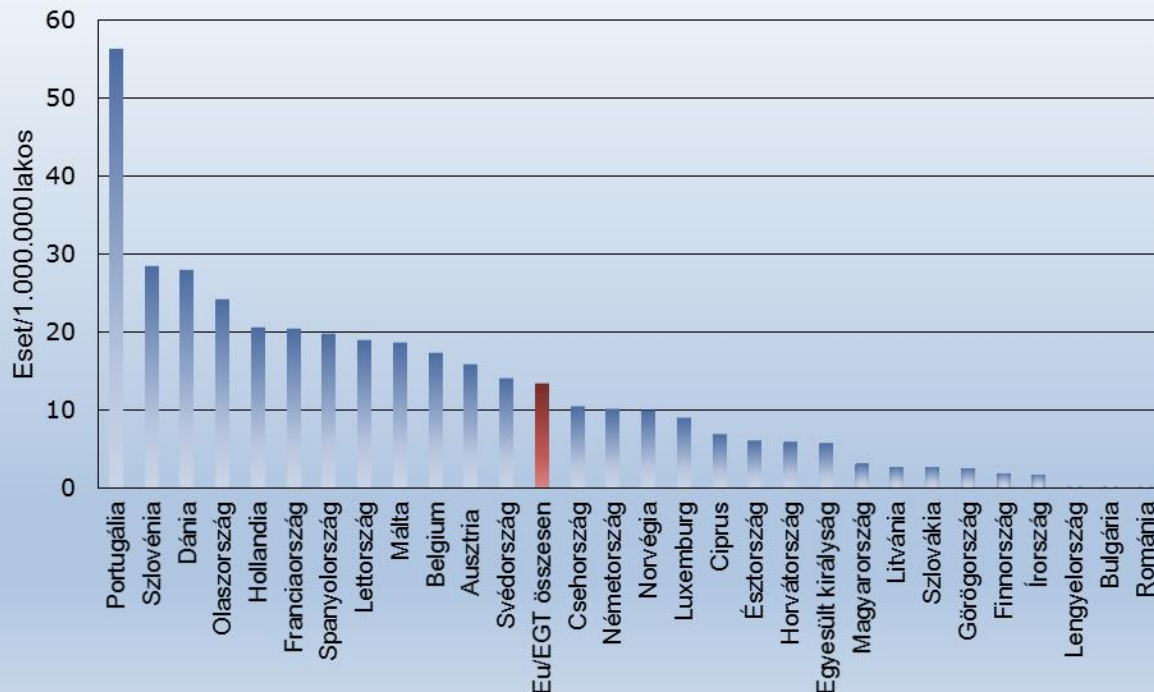
■ Legionella esetszám hazánkban,
EPINFO



Hajlamosító tényezők.

- erős dohányzás
- alkoholizmus
- cukorbetegség
- gyenge immunrendszer
- Kor, nem
- Légzőszervi betegség
- Letalitás: 6-12%

Legionárius betegség Európában (2014)



Megbetegedés eredet szerint:

Területen szerzett: 62 -74%

Utazással összefüggő: 21,2 -18%

Egészségügyi ellátással összefüggő: 6,3 – 7%

Járványok:

Hűtőtorony 334/12

2012/Por.

Jakuzzi 33/0 2012/Sp.

Légkond. hűtőtorna 116/3
2002/Anglia

Európa: 6941 jelentett eset 2014-ben (2008 – 5907 eset,)

Összes jelentett megbetegedés.13,5/1 millió fő (2008 -11,86, 1993 -4,1)

Magyarország: 3,2/1 millió fő (2008 - 2,5)

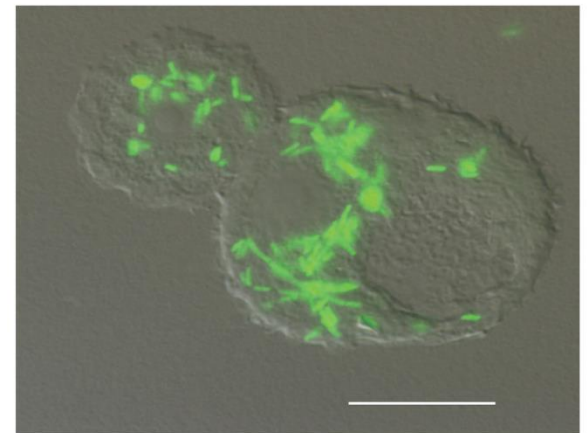
Az európai gyakoriság 24%-a a magyarországi

Aluljelentett és aluldiagnosztizált

forrás: ECDC Surveillance Report, Legionellaires' disease in Europe, 2014

(www.ecdc.europa.eu)

- *Legionellaceae* család, *Legionella* genus
- Jelenleg 62 *Legionella* faj ismert (23 okoz megbetegedést)
- A leggyakoribb humán patogén: *L. pneumophila*
- Gram-negatív, aerob baktérium poláris vagy szubpoláris csillós pálcák
- Szaporodása:
- 20-45°C közötti hőmérséklet az optimális
- biofilmben, vagy egysejtű eukarióta szervezetekben intracellulárisan szaporodik
- alátétek és tömítések gumi- és természetes rostjain
- vízkő lerakódásokban
- szennyeződésekben



Természetes környezetben sok helyen megtalálható;

- Víz – forrás, folyó, tó, tározó
- talaj, komposzt, por, levegő
- növény
- állat
- ember



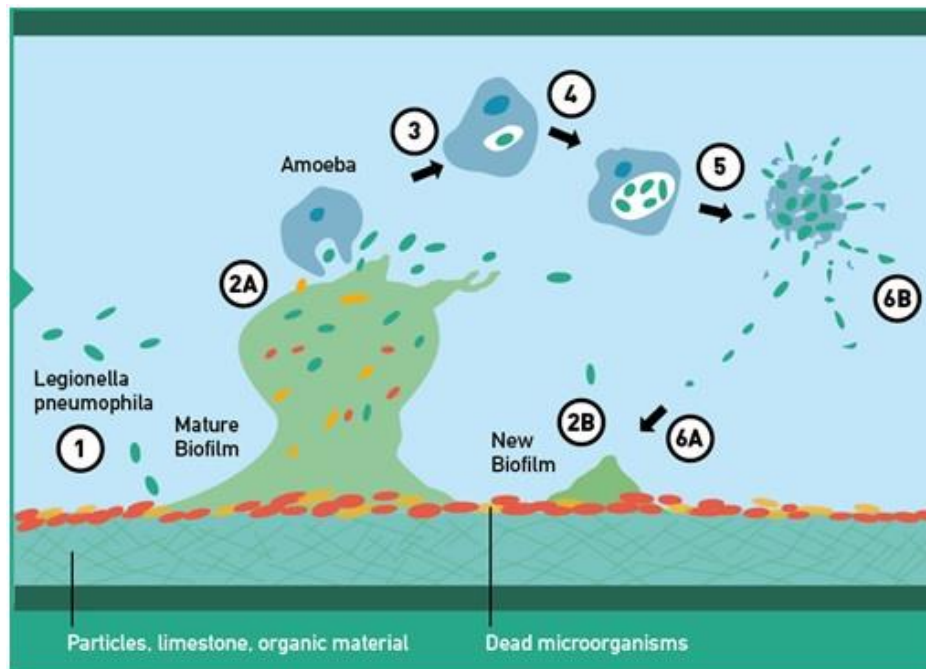
nedves, meleg környezetet kedveli, szaporodási optimuma 20-50 °C, 60 °C felett kezd pusztulni, 66 °C-on elpusztul 2 percen belül

- Ubiquiter (mindenhol jelen lévő) szervezet
- 20°C alatti hőmérsékleten is megél,
- de jellemzően nem szaporodik, extrém körülmények tűrése



Szaporodási feltételek **mesterséges** környezetekben:

- Vizes környezet, tápanyag, megfelelő hőmérséklet
- **Biofilm** kialakulása: állandó, tartós jelenlét



- **Egészségügyi kockázat:** a *Legionella* baktériumok belégzése **aerosol** méretű (1-5 μm) cseppek formájában

Fertőzés lehetősége: ahol aeroszol képződik és ezáltal lehetőség adódik a *Legionella* baktériumok belégzésére

- Intézmények – létesítmények
(egészségügyi, szociális, egyéb)
használati hideg és melegvíz rendszere,
klíma rendszere;
- Nedves hűtőtornyok;
- Közfürdők ,ahol aeroszol előállító meleg
vizű medencét üzemeltetnek
- (élmény- és pezsgő-
medencék, hidroterápiás kezelők).



- Nagy épületek hideg- és melegvíz rendszere – (pl. csaptelepek, zuhanyrózsák, párasítók, ködképzők...),
- Légkezelők, rosszul kialakított felületi hűtők,
- Melegvizes élménymedencék,
- Szökőkutak, beltéri díszkutak,
- Szennyvízkezelők,
- Kerti locsolók,
- Autómosók,
- Egészségügyi ellátás eszközei



2015-ig csak az

**Európai útmutató 2008 és az OEK Módszertani levél 2007
MSZ 15234:2012 Fürdővizek vízkezelése vízforgatással**

49/2015. (IX.6.) EMMI rendelet

A rendelet tartalmazza a Legionella által okozott fertőzési kockázatot jelentő közegekre, illetve létesítményekre vonatkozó közegészségügyi előírásokat - **baktériumok monitorozási kötelezettségét, határértékeket és kockázatkezelési útmutatásokat ad.**

OEK Módszertani útmutató 2016. január
Módszertani levél 2016. augusztus

• Hatályba lép: 2016. 02. 04.

• Bírság mellőzése további 12 hónapig

49/2015. (IX.6.) EMMI rendelet

Kockázatkezelési szintek:

Alacsony - **Figyelmeztető szint**

Közepes - **Beavatkozási szint**

Magas - **Azonnali beavatkozási szint**

Kockázatkezelési intézkedések:

Figyelmeztető szint

Melegviz: 1000 TKE/l Legionella (a minták legfeljebb 50-ban)

Medencevíz: egyszeri 100 TKE/l Legionella

Nedves hűtőtorony: 1000 TKE/l Legionella vagy nem értékelhető a nem Legionella szervezetek túlzott növekedése miatt

49/2015. (IX.6.) EMMI rendelet

Beavatkozási szint

Melegviz: >10 000 TKE/l Legionella vagy a minták 50%-ban 1000 TKE/l Legionella

Medence/szűrt víz: > 100 TKE/l Legionella a minták 50%-ban vagy egyszeri > 1000 TKE/l Legionella

Nedves hűtőtorony: 10 000 TKE/l Legionella vagy > 500 000 TKE/ml a 22 ° C-os telepszám

Azonnali beavatkozási szint

Melegviz: a minták > 50%-ban >10000 TKE/l Legionella

Medence/szűrt víz: > 1000 TKE/l Legionella a minták 50%-ban

Nedves hűtőtorony: > 100 000 TKE/l Legionella vagy > 5 000 000 TKE/ml a telepszám

Legionella kimutatása szabványos módszerekkel:

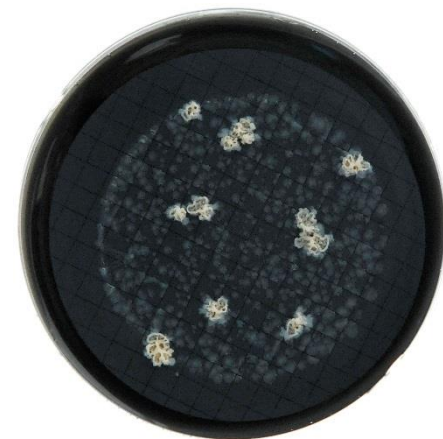
MSZ EN ISO 11731-2:2008

ISO 11731-1:1998

- membránszűréssel vagy szélesztéssel

szelektív táptalajra (GVPC)

- inkubáció: $36 \pm 2^{\circ} \text{C}$, **10 nap**



vizsgálati térfogat:

- ivóvíz/használati melegvíz: 10-100 ml szűrés
- hűtőtorony, klíma: 0,1-0,5 ml szélesztés, 1, 10 ml szűrés
- fertőtlenített fürdővíz: 10-100 ml szűrés
- nem fertőtlenített fürdővíz: 0,1 -0,5 ml szélesztés, 10 ml szűrés

mintafeldolgozás:

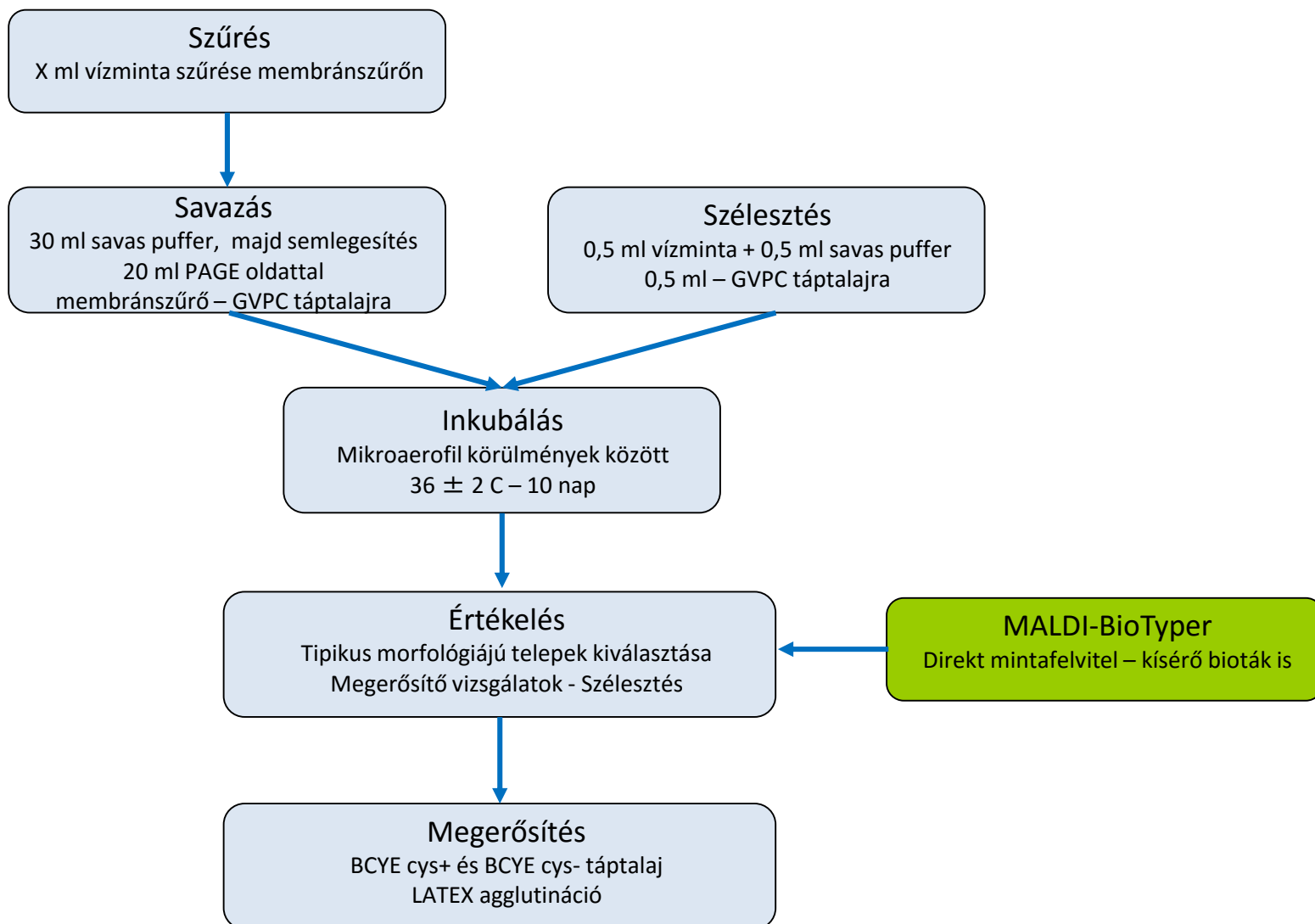
- szűrés, savazás, átmosás pufferrel
- szélesztés

Membránszűrés és szélesztés esetén egyaránt a mintavétel napján, de 24 órán belül

Értékelés, azonosítás:

- **leolvasás:** 3. 5 - 8. nap és 10. nap
- **telepmorfológia**
 - tejfehér színű, irizáló, kékes-lila, barnás, rózsaszín
 - szabályos kör alakú, ép szélű
- **Megerősítés**
 - cisztein auxotrófia,
 - szerotipizálás
 - *MALDI-Biotyper*
- A nagy háttérszennyezettség elfedheti a mikrobát, kimutatási nehézségek
- Negatív eredmény ?





Mikroorganizmusok azonosítása

MALDI (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization) – ionforrás

TOF (Time of Flight) – analizátor

– **MALDI-TOF** – meghatározzuk az ismeretlen mikroorganizmus fehérjeprofilját
„ujjlenyomat” (riboszomális fehérjék)

– **BioTyper** – az ismeretlen fehérjeprofil összehasonlítása a referencia
könyvtárban található fehérje profilokkal

– **Az azonosítás eredménye**

Az összehasonlítás/hasonlóság számszerűsítése – *score* érték (log score);

A tíz legjobb találat megadása (score érték alapján);

Species azonosítás – *faj* szintű azonosítás



Egyedi telepek
kiválasztása



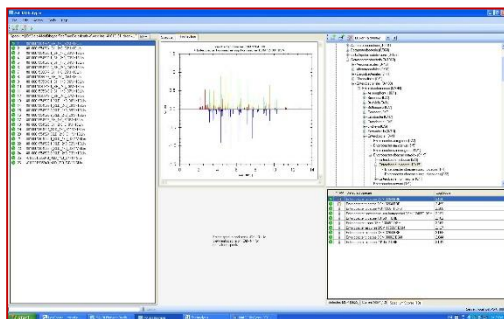
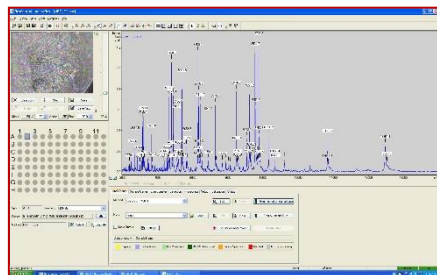
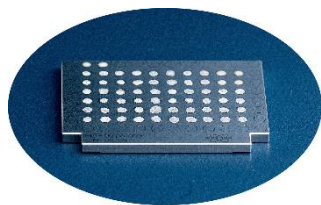
Mintafelvétel
a mintatartó lemezre



MALDI-TOF tömegspektrum,
„fehérjeprofil” készítése



Adatfeldolgozás
azonosítás

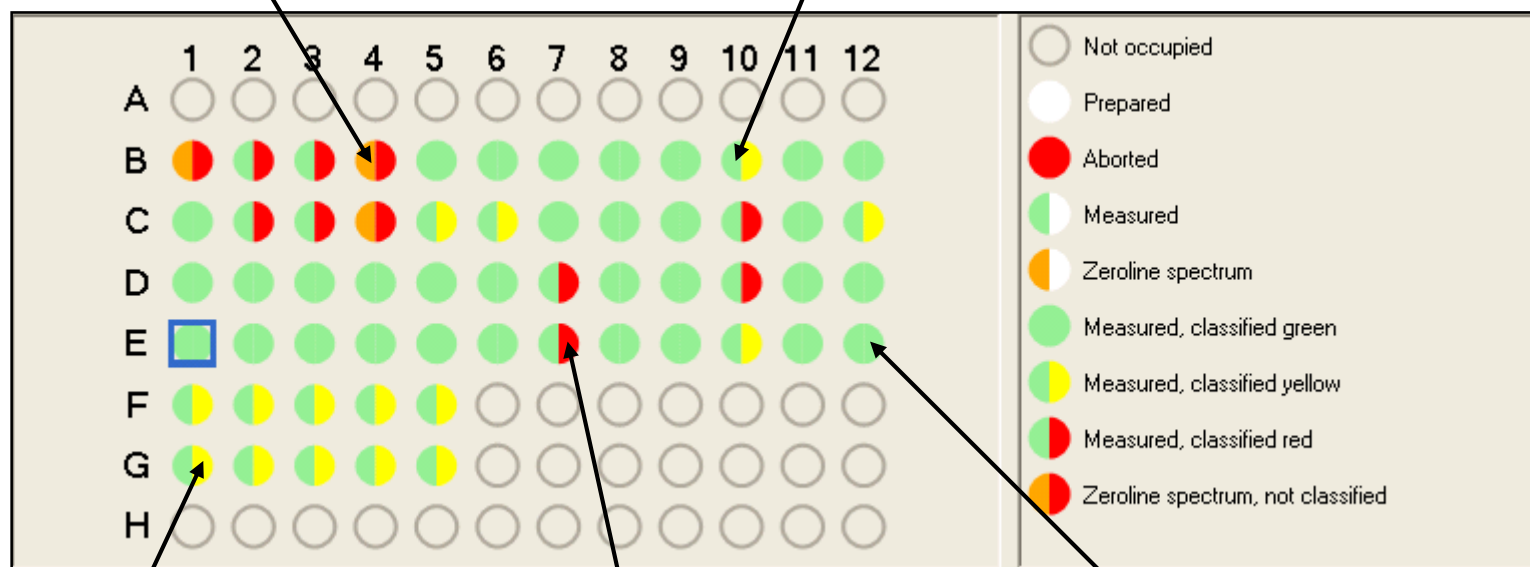


A tenyésztési körülmények – táptalaj, növekedési állapot, hőmérséklet – **csak kis mértékben** befolyásolják a spektrum minőségét és az azonosítás eredményét.

MALDI Biotyper Real Time Classification szoftver - eredmények

Nem megfelelő
tömegspektrum

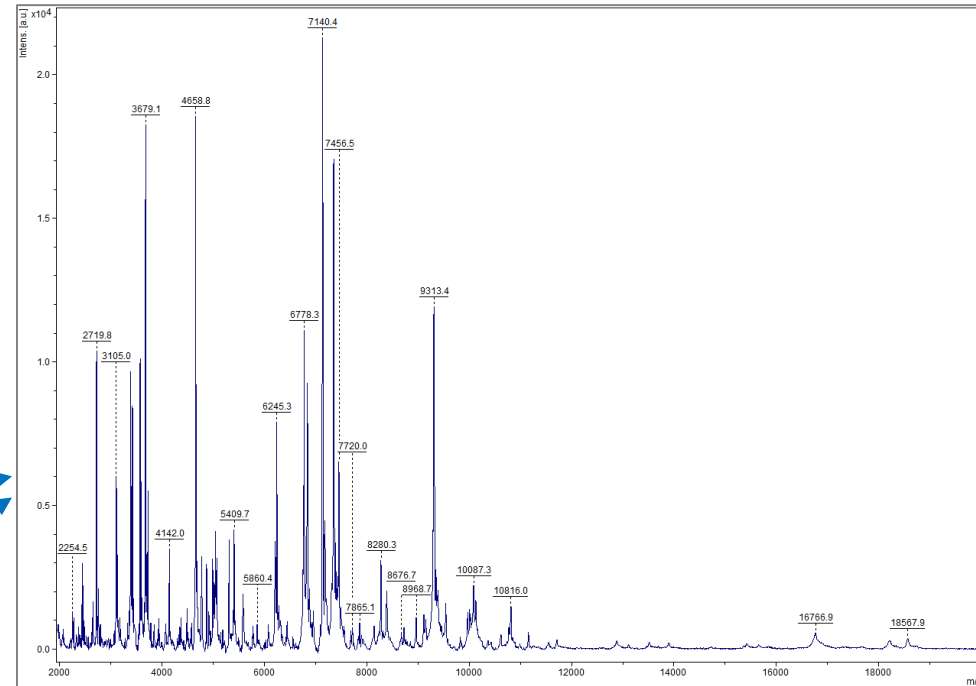
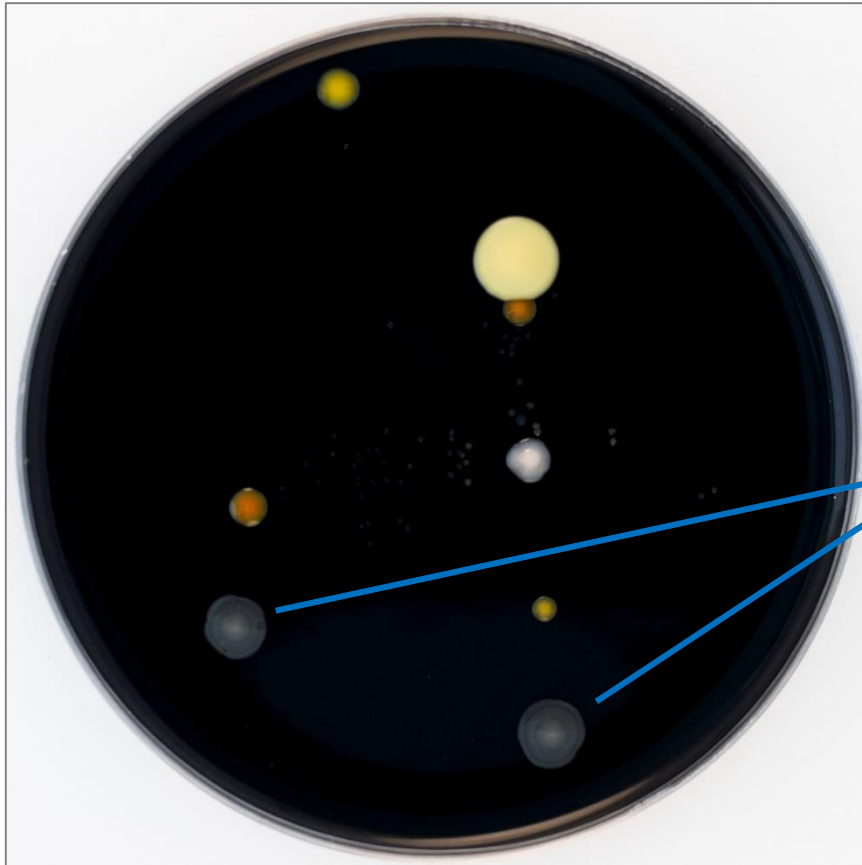
Megfelelő
tömegspektrum



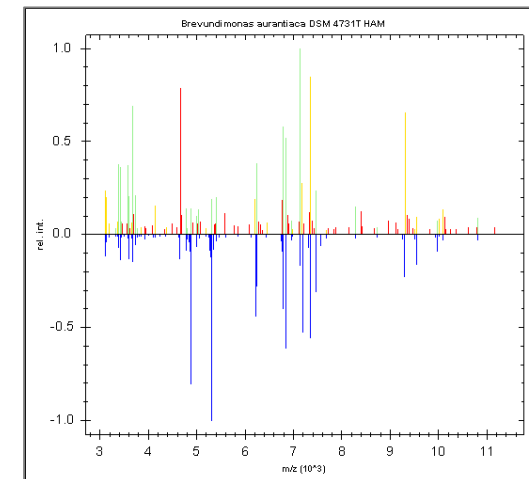
$2,00 > \text{„Score érték”} > 1,70$
azonosított faj (genus)

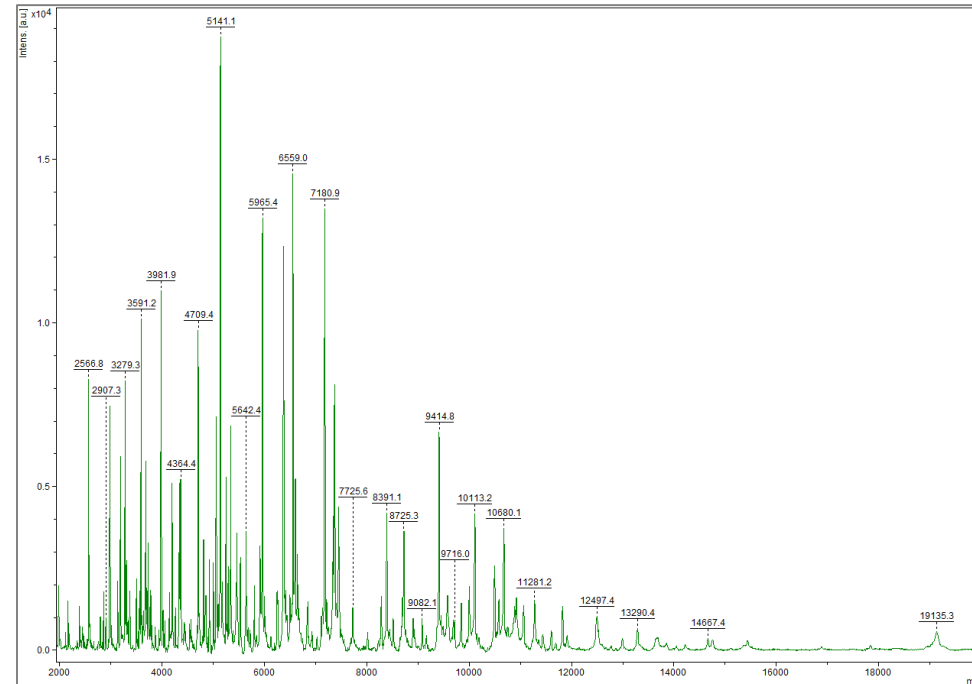
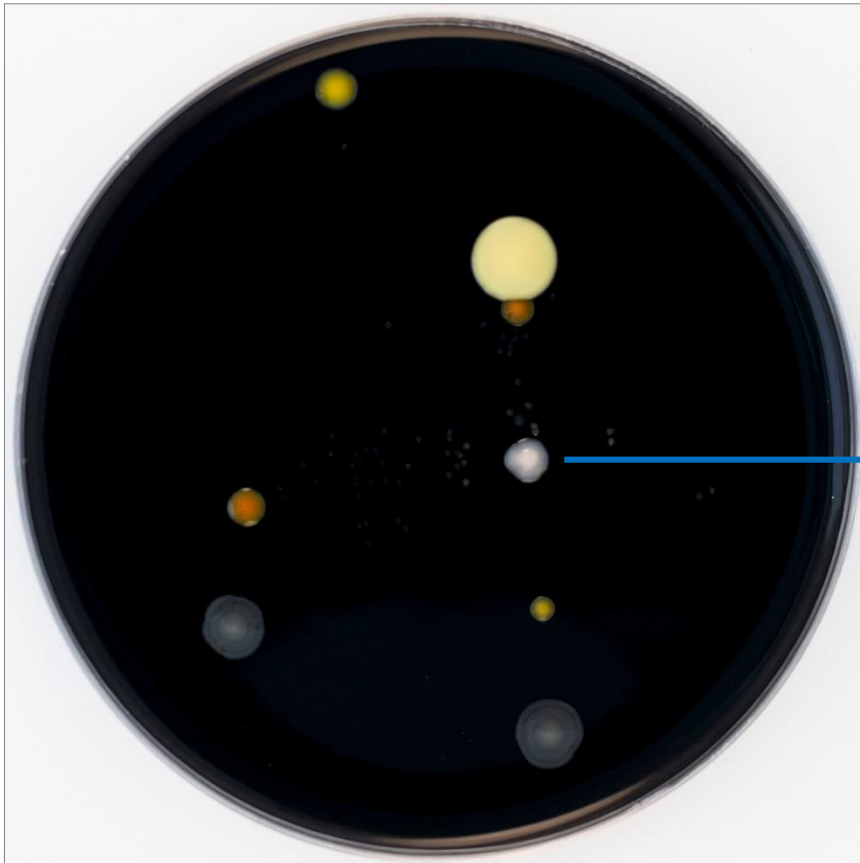
$\text{„Score érték”} < 1,70$
az azonosítás megbízhatósága
nem megfelelő

$\text{„Score érték”} > 2,00$
azonosított mikroorganizmus

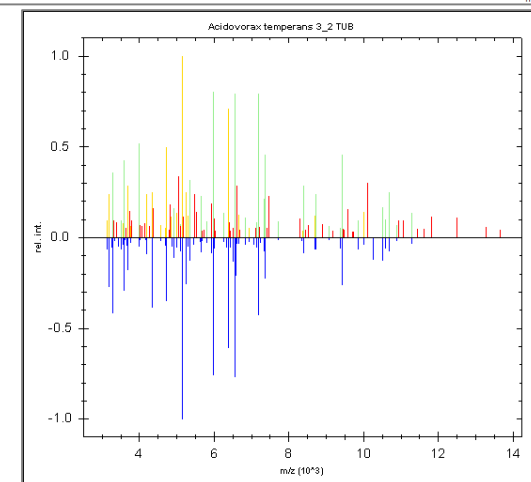


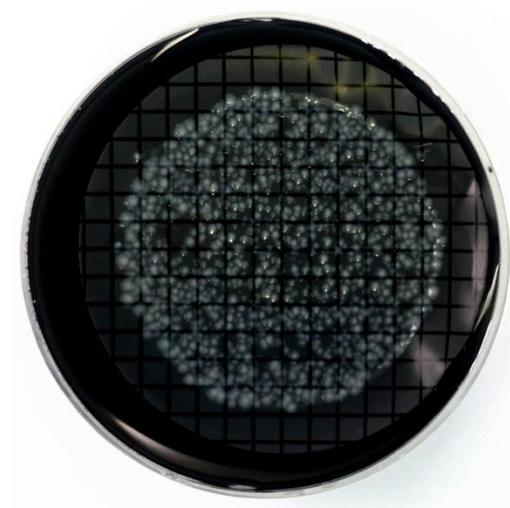
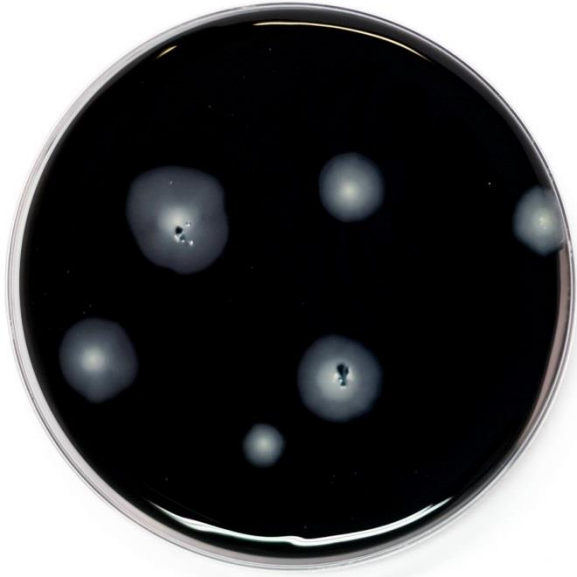
Brevundimonas aurantiaca
Score: 2,194





Acidovorax temperans
Score: 2,344



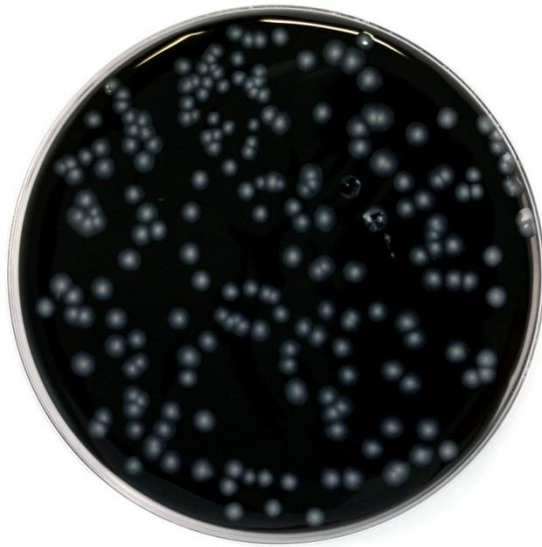


12000 Legionella/l

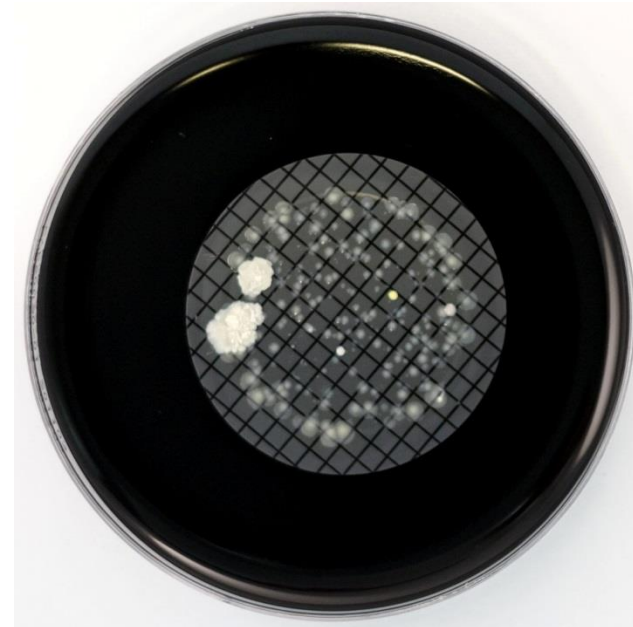
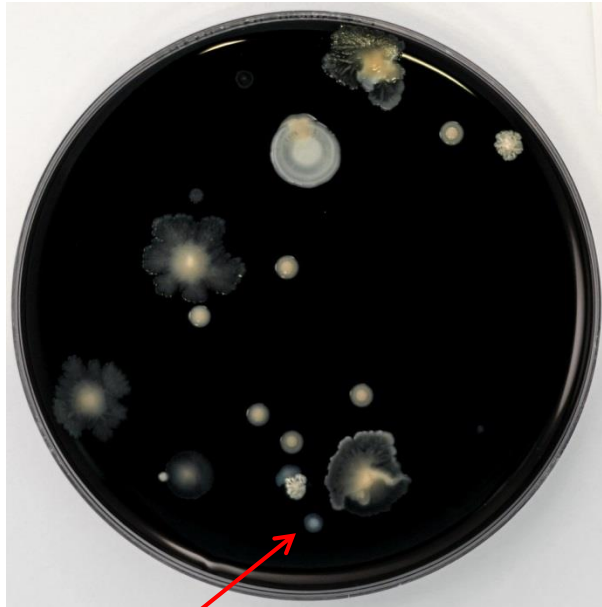


50 000 Legionella/l

Szélesztett és szűrt minták GVPC lemezen



Szélesztéssel: 396000 Legionella/l



4000 Legionella/l vagy **1420** Legionella/l ?



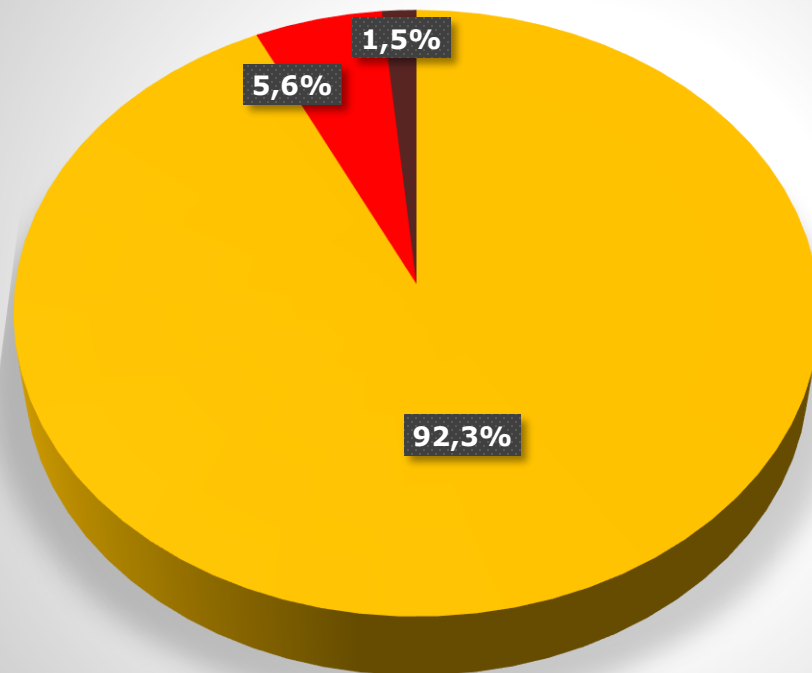
Szélesztéssel 11 tipikus telep (220 000 Legionella /l)



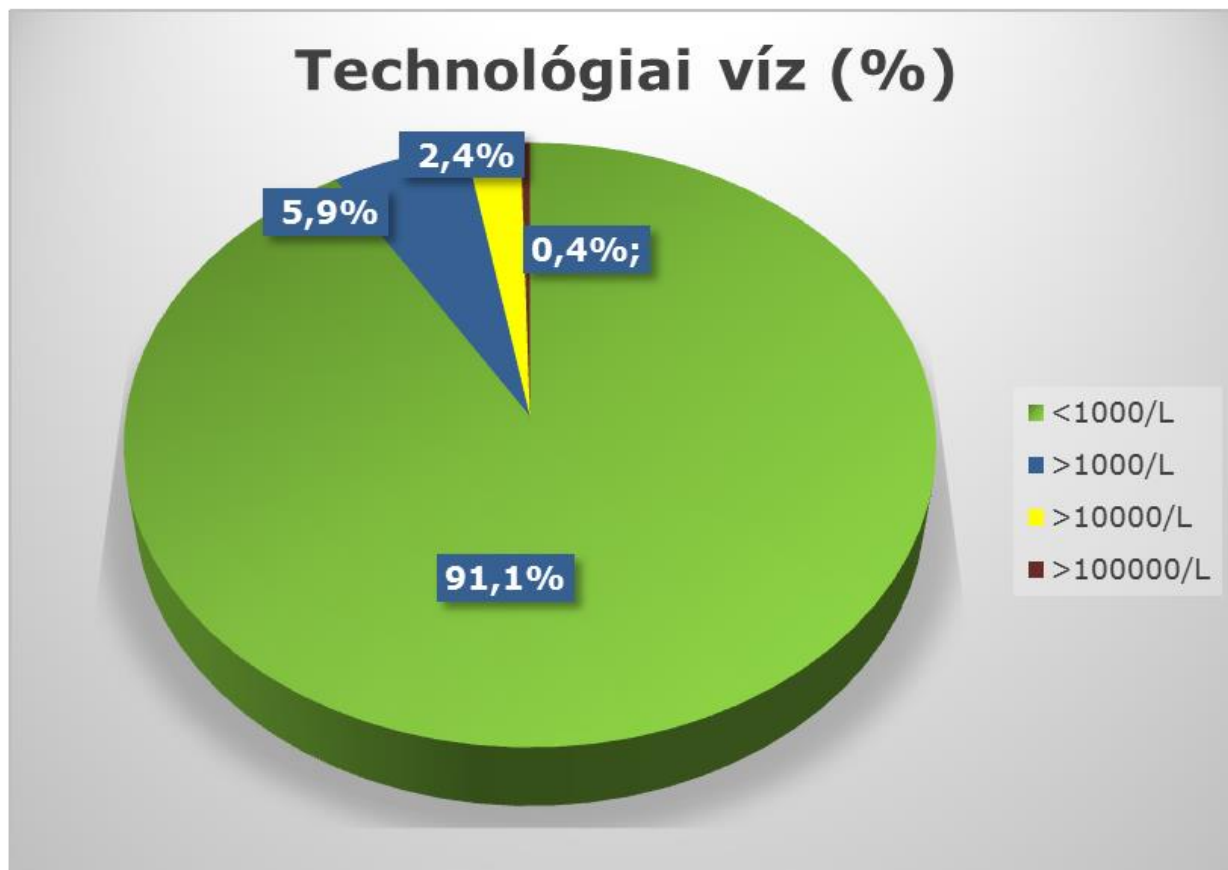
180 Legionella/l

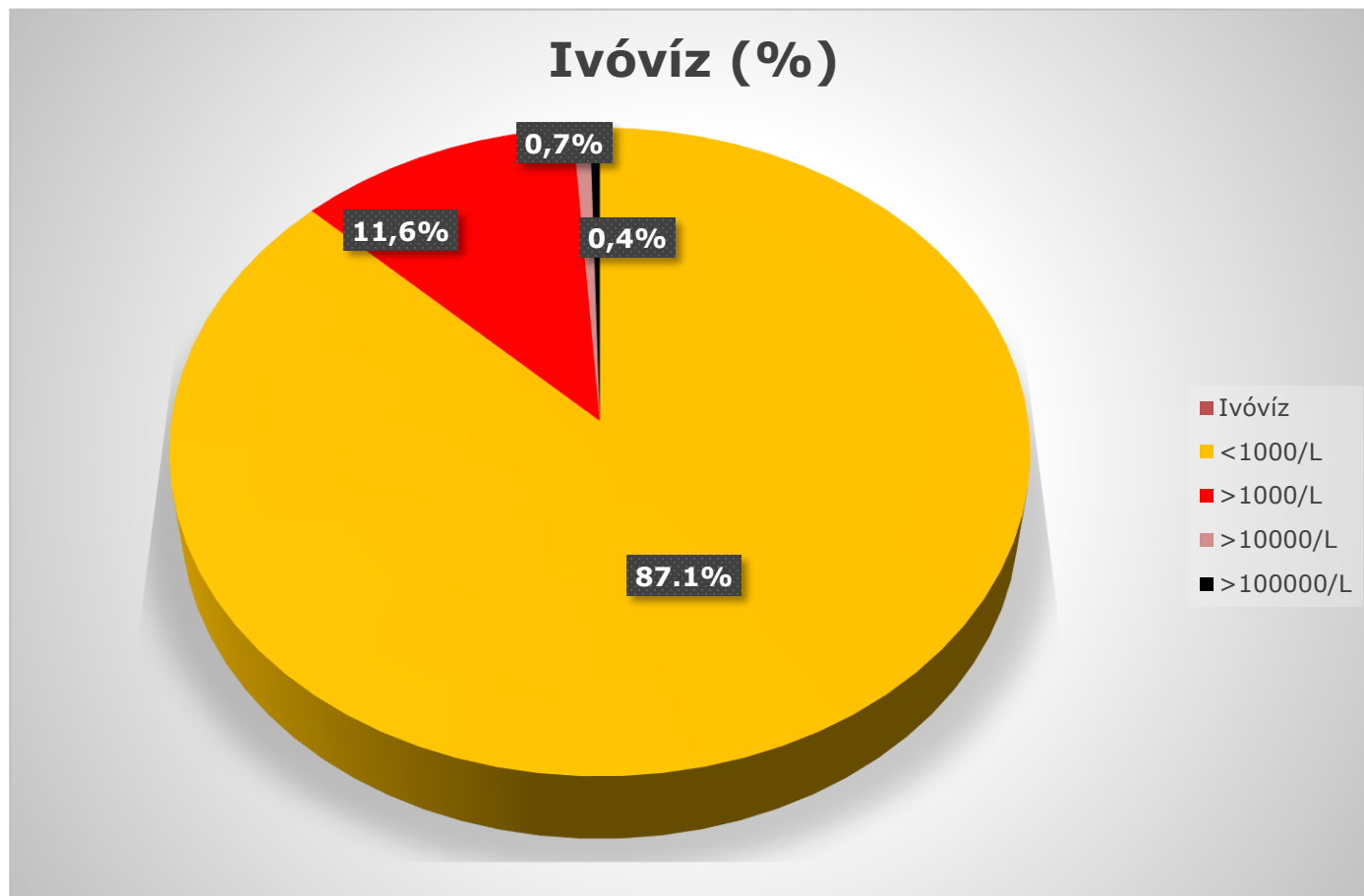
Szűrés, tipikus telepek *L. pneumophila* 1

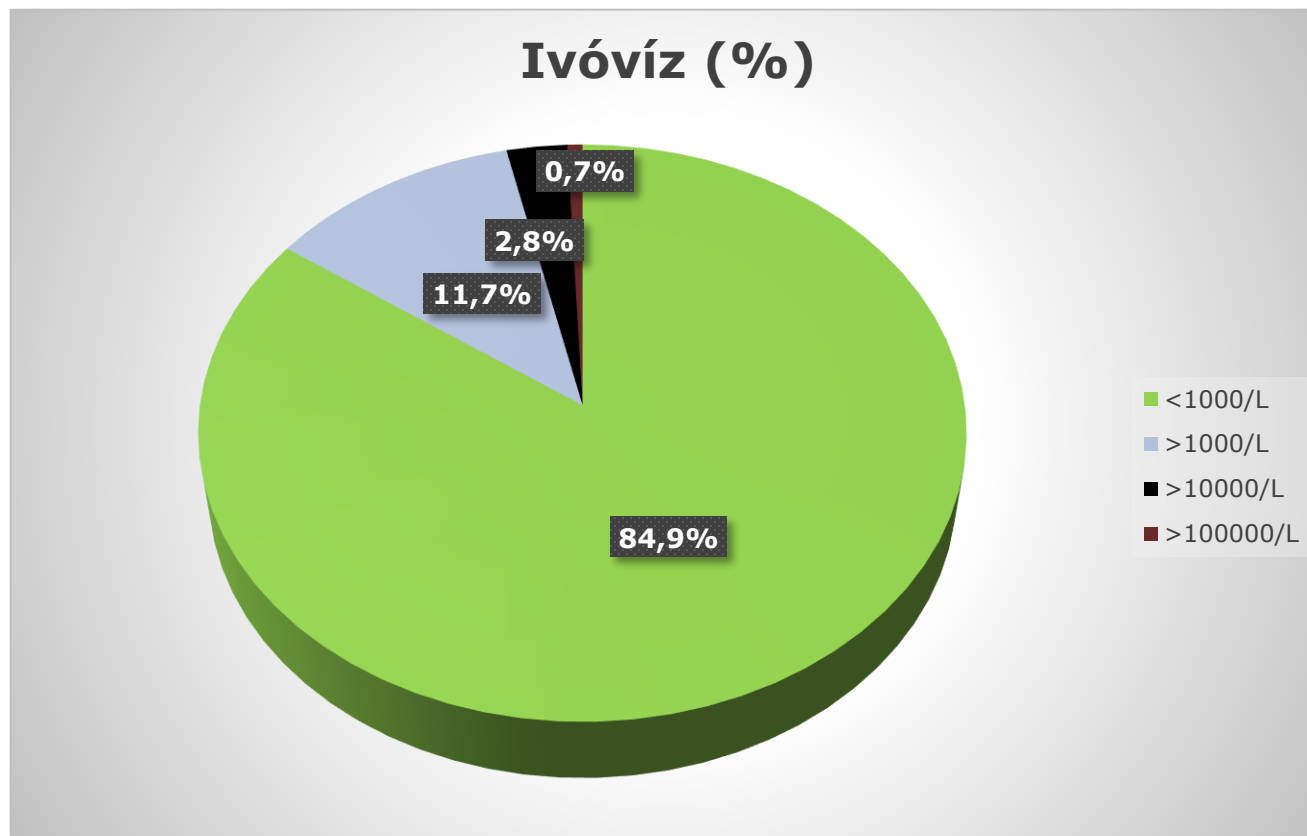
Technológiai víz (%)



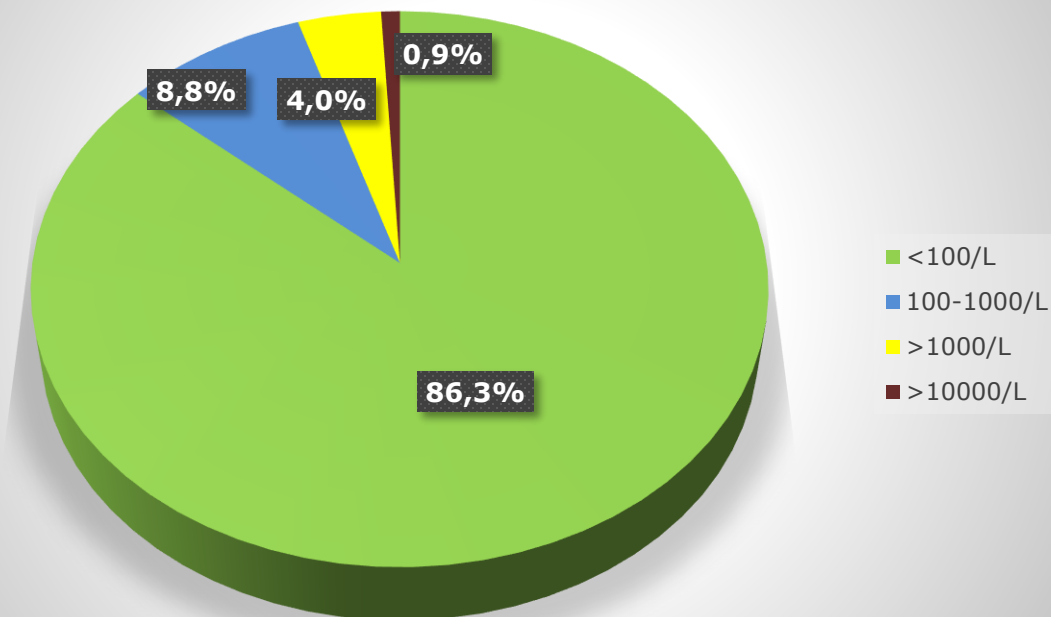
- Technológiai víz
- <1000/L
- >1000/L
- >10000/L







Mesterséges fürdővíz (%)



KÖSZÖNÖM A FIGYELMET!

