

# Schnelle Vor-Ort-Kontrolle von Legionellen in Kühlwässern

## Vollautomatisches System Legiolab® soll Hilfe leisten

Dirk Tscheliesnigg<sup>1</sup>, Rodríguez G<sup>2</sup>, Solís I<sup>2</sup>, Jiménez M<sup>2</sup>, Sabater M<sup>2</sup>, Martínez MA<sup>2</sup>, Bedrina B<sup>2</sup>, Lázaro M<sup>2</sup>, Ceña S<sup>3</sup>, Puig A<sup>3</sup>, Davide D<sup>3</sup>, Fisac C<sup>3</sup>, Rodríguez J<sup>3</sup>

<sup>1</sup>EWKKühlturm GmbH, <sup>2</sup>Biótica SL, Scientific Park of University Jaume I, Castellón (Spanien), <sup>3</sup>Idneo Technologies, Barcelona (Spanien)

Bei der Legionärskrankheit handelt es sich um eine weltweit verbreitete Erkrankung, die eine Lungenentzündungssymptomatik umfasst<sup>[1-4]</sup>, die zumeist, jedoch nicht

ausschließlich, von *Legionella pneumophila*<sup>[2-4]</sup> verursacht wird. Die Übertragung in die menschliche Lunge kann durch Einatmen aerosolierter Tröpfchen aus kontaminierten Wasserkörpern (Bioaerosolen) erfolgen. Die Kontrolle der Legionellen wird hier als effektivste Strategie zur Prävention der Legionärskrankheit betrachtet<sup>[5]</sup>. Die Gesamtkosten der Krankenhausaufenthalte liegen bei über 379 Mio. Euro in den Vereinigten Staaten und bei ca. 1,2 Mrd. Euro in Europa, wobei die Kosten pro Patient zwischen 21.000 und annähernd 30.000 Euro<sup>[6]</sup> liegen. Unter anderem werden wasserführende Systeme mit Kühltürmen häufig als Ursache für den Ausbruch der Legionärskrankheit vermutet. Demnach sollten sich Prävention und Kontrolle der *Legionellen*-Kontamination auf emissionsarme Reinigungsverfahren in Kombination mit Kontrollmaßnahmen des Wassers fokussieren, unterstützt von einer *Legionellen*-Erkennungsmethode, die umgehend Ergebnisse liefert.



Abb. 1: LEGIOLAB® besteht aus: A) Filtermodul, B) Elutions- und Waschzone, C) Reagenzienkartusche, D) Kühltschrank, E) Analytikmodul, F) Teleskopklader, G) Behälter für verbrauchte Filter, H) Behälter für verbrauchte Kartuschen, I) Bedienfeld.

### SCHNELLE DETEKTION VON LEGIONELLEN DURCH LEGIPID®

Allgemein verzögern die wachstumsbasierten Methoden, z. B. der kulturelle Nachweis<sup>[9,10]</sup> aufgrund bekannter Nachteile, wie z. B. in Abb. 2 gezeigt, (a) einer langwierigen Bestätigung der Ergebnisse (10 – 12 Tage), (b) von Änderungen an den Umgebungswasserproben während ihres Transports (1 – 2 Tage) ins Labor, (c) des Vorhandenseins von lebensfähigen und ansteckenden, aber nicht kultivierbaren Zellen, (d) der geringen Empfindlichkeit und (e) der nicht eindeutigen bzw. nicht wiederholbaren Ergebnisse von bis zu 20 % durch störende Mikrobiota<sup>[11,12]</sup>, die Identifizierung der potentiellen Infektionsquellen.

Nicht wachstumsbasierte Methoden, mit

umgehenden Ergebnissen zur Quantifizierung von *Legionellen* in Wasserproben, ermöglichen die Ergänzung der aktuellen epidemiologischen Zwecke der Kulturmethode, was eine Präventionsstrategie auf der Grundlage einer umfassenden Gefahrenbeurteilung ermöglicht. Methoden auf der Grundlage einer Nukleinsäureerkennung (PCR) können

sehr sinnvoll sein, sind zur Unterscheidung zwischen lebenden und toten Zellen jedoch ungeeignet und damit unzuverlässig für die Erkennung von *Legionellen* für gesetzliche Zwecke<sup>[13,14]</sup>. Es wurde von Defiziten in der Quantifizierung von *Legionellen* berichtet<sup>[15]</sup>.

Eine Methode auf der Grundlage einer immunmagnetischen Separation (IMS), die

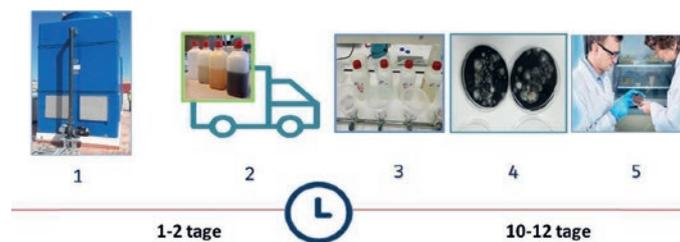


Abb. 2: Konventioneller Arbeitsablauf für die Stichprobenentnahme und Prüfung von Legionellen in Wasser. Stichprobenentnahme (1), Transport (2), Vorbereitung (3), Analyse (4) und Interpretation des Ergebnisses (5)

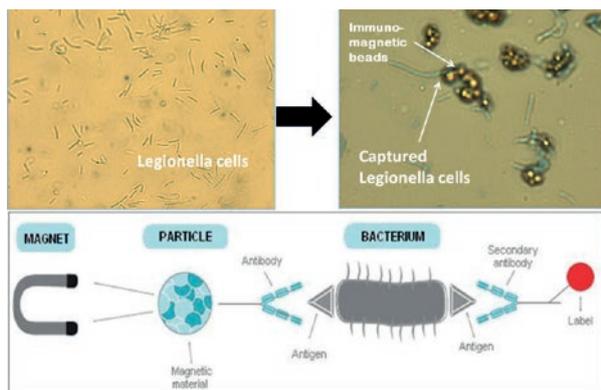


Abb. 3: Legionellen-Zellen werden von immunmagnetischen Partikeln gebunden.



Abb. 4: LEGIOLAB® im Einsatz

auf der Nutzung von Anti-**Legionellen**-Antikörpern beruht, die auf Magnetpartikeln immobilisiert sind, hat nachweisbar ihre Effektivität<sup>[16]</sup> aufgezeigt und gibt somit die Möglichkeit, intakte **Legionellen**-Zellen selektiv zu quantifizieren<sup>[17]</sup>. Dieser Test, der Legipid®-Legionellenschnelltest (Zertifizierungs-Nr. 111101 AOAC-RI), wurde bereits von Laboren im öffentlichen Gesundheitswesen bewertet<sup>[18]</sup>.

Abb. 3 zeigt, wie sich **Legionellen**-Zellen an die Antikörper binden, die auf der Magnetpartikeloberfläche immobilisiert wurden, um Bakterien-Partikel-Komplexe zu bilden, die wiederum farblich markiert und anschließend photometrisch bestimmt werden können.

### VOLLAUTOMATISCHE LEGIONELLE-NANALYSE MIT LEGIOLAB®

Bei praktisch durchzuführenden, manuellen Analysen ist es wichtig, Fehler in der Handhabung ausschließen zu können, um wiederholbare Ergebnisse zu erhalten. Hierzu wurden die einzelnen Analyseschritte des vor Ort durchführbaren Legipid®-Legionellenschnelltests

in ein vollständig automatisiertes Gerät, das LEGIOLAB®, überführt. Diese automatische Vor-Ort-Messung der **Legionella** spp.-Konzentration ermöglicht das rechtzeitige Ergreifen von Maßnahmen und die Erkennung und Vermeidung von potentiellen Gefahrenquellen. Abb. 1 zeigt den automatischen Legionellendetektor, der die Schritte der Probenahme, Probenfiltration, Filterauswaschung, Reagenzienpipettierung, Entsorgung des flüssigen Abfalls und die Sterilisation und Reinigung der probeführenden Komponenten. Die Dauer von der Probenahme bis zum Ergebnis beträgt weniger als 2 Stunden.

LEGIOLAB® kann über eine Schnittstelle mit dem PC oder einem Notebook verbunden werden. Dies ermöglicht eine hohe Effizienz und vermeidet Transkriptionsfehler bei der manuellen Übertragung von Daten und Werten.

### ERGEBNISSE DES FELDVERSUCHS

Tab. 1 zeigt die Ergebnisse, die bei der Untersuchung von Proben mit bekannten Sollwerten für beide Methoden analysiert wurden.

CFU <sub>eq</sub> /untersuchter Probemenge	LEGIOLAB®-Ergebnis nach Wiederholungs-Nr., geprüfte Transmission/Probemenge					Durchschnittliche Transmission bei 455 nm	CFU <sub>eq</sub> /untersuchte Menge log <sub>10</sub>
	1	2	3	4	5		
340.000	0,02	0,02	0,03	0,03	0,03	0,02	5,53
20.500	0,31	0,30	0,35	0,33	0,30	0,32	4,31
3.980	0,59	0,62	0,61	0,61	0,57	0,60	3,60
175	0,78	0,79	0,78	0,77	0,78	0,78	2,24
53	0,92	0,87	0,91	0,92	0,90	0,90	1,72

Tab. 1: Beziehung zwischen dem Analyseergebnisses des LEGIOLAB® und der Konzentration von Legionella spp

Tab. 2 zeigt die Ergebnisse einer ersten Feldprüfungsrunde aus 60 Wasserproben. Die Daten wurden gemäß den Aktions- und Alarmstufen untersucht, die in den Leitlinien für europäische technische Zulassungen definiert sind<sup>[19]</sup>, die wiederum Maßnahmen für mehr als 10.000 CFU/L (4,0 log<sub>10</sub>) in Kühltürmen aufzeigen. Die Leistungsfähigkeit von LEGIOLAB® war vergleichbar mit der von Legipid® (Sensibilität 100 %, Spezifizität 92,6 % und Genauigkeit 96,7 %).

Die Ergebnisse bewiesen die Äquivalenz zwischen den Methoden bei niedrigen **Legionella**-spp-Konzentrationen (2 – 3 log<sub>10</sub> CFU<sub>eq</sub>/untersuchtem Volumen), mittleren (3 – 4 log<sub>10</sub> CFU<sub>eq</sub>/untersuchtem Volumen) und hohen Konzentrationen (mehr als 4 log<sub>10</sub> CFU<sub>eq</sub>/untersuchtem Volumen) in Kühlwassermatrizen.

Tab. 3 zeigt die Ergebnisse einer zweiten Feldprüfungsrunde mit dem LEGIOLAB® in einem zweiundneunzigstägigen Einsatz in Valencia (Spanien), wie in Abb. 4 gezeigt.

### ZUSAMMENFASSUNG

Die durch LEGIOLAB® erhaltenen Daten können als Grundlage für das Einleiten von Maßnahmen entsprechend der geltenden Richtlinien bilden, um das Risiko von Erkrankungen durch Legionellenkontamination zu vermeiden. Das Risiko einer Legionellenerkrankung für die Bevölkerung kann somit reduziert werden. LEGIOLAB® kann innerhalb von 2 Stunden verifizierbare Ergebnisse zu Legionellenvorkommen liefern. Dadurch können wirksame und kontrollierbare Präventivmaßnahmen, wie z. B. weiter-

LEGIOLAB®-Analyseergebnisse						
	Aktion	Alarm	Zufriedenstellend		Insgesamt	
			≥10 <sup>4</sup> CFU <sub>eq</sub> /L	≥10 <sup>3</sup> CFU <sub>eq</sub> /L		
Legipid®-Analyseergebnisse	Aktion	≥10 <sup>4</sup> CFU <sub>eq</sub> /L	16	1	0	17
	Alarm	≥10 <sup>3</sup> CFU <sub>eq</sub> /L	1	5	0	6
	Zufriedenstellend	<10 <sup>3</sup> CFU <sub>eq</sub> /L	1	3	33	37
	Insgesamt		18	9	33	60

Tab.2: Beziehung zwischen dem Analyseergebnis des LEGIOLAB® und der Konzentration von Legionella spp

gehende Überwachung, Reinigung und Desinfektion, ergriffen werden. Eine automatische *Legionellenerkennung* eliminiert Handhabungsfehler bei manuellen Methoden. Die im LEGIOLAB® installierte Robotertechnik reduziert die Variabilität der Ergebnisse, verhindert Auszählfehler (wie z. B. beim kulturellen Nachweis), Probenverunreinigungen während des

Tests und Fehler bei der Transkription. Rechtzeitige Maßnahmen führen zu einer erhöhten Betriebszeit und reduzierte Verzögerungen in der Ursachenanalyse. Kühltürme können eine erhöhte Gefahr für Erkrankungen durch Legionellen darstellen. Das optimale Betreiben von Kühltürmen ist dadurch als essentiell anzusehen. Aus diesem Grund war das Ziel

der Studie, die Entwicklung eines vollständig automatisch arbeitenden Gerätes, um entsprechende Informationen vor Ort zu erhalten.

Autoren:

siehe Vorspann (1. Seite)

EWK Kühlturm GmbH

48607 Ochtrup

Fotos/Grafiken: EWK Kühlturm

[www.ewk-kuehlturm.de](http://www.ewk-kuehlturm.de)



No.	Data	Hour	Type*	Result, CFU <sub>eq</sub> /L	No.	Data	Hour	Type*	Result, CFU <sub>eq</sub> /L	No.	Data	Hour	Type*	Result, CFU <sub>eq</sub> /L
1	2018-08-09	11:15:37	S	5,2E+03	45	2018-09-13	9:38:20	CN	Not Detected	89	2018-10-10	12:58:52	S	Not Detected
2	2018-08-09	13:24:17	S	5,1E+03	46	2018-09-13	11:25:27	CN	Not Detected	90	2018-10-15	11:54:28	CP	1,2E+05
3	2018-08-10	9:35:46	S	2,6E+04	47	2018-09-13	13:08:33	CN	Not Detected	91	2018-10-15	13:45:50	S	Not Detected
4	2018-08-10	13:04:25	S	8,0E+02	48	2018-09-13	15:50:07	CN	Not Detected	92	2018-10-15	15:37:44	CP	4,6E+02
5	2018-08-13	15:41:35	S	Not Detected	49	2018-09-13	17:38:55	CN	Not Detected	93	2018-10-16	15:31:37	S	Not Detected
6	2018-08-13	18:41:35	S	Not Detected	50	2018-09-13	19:16:10	CP	1,1E+06	94	2018-10-16	19:46:23	CP	4,7E+02
7	2018-08-14	10:41:35	S	Not Detected	51	2018-09-14	8:05:53	CP	9,8E+05	95	2018-10-17	10:02:46	CP	4,4E+02
8	2018-08-16	9:51:46	S	Not Detected	52	2018-09-14	10:08:33	CN	Not Detected	96	2018-10-17	14:26:41	CP	3,7E+03
9	2018-08-16	11:42:30	S	Not Detected	53	2018-09-14	12:31:36	CP	9,8E+05	97	2018-10-17	18:33:36	S	Not Detected
10	2018-08-20	16:54:58	S	Not Detected	54	2018-09-17	7:55:21	CN	Not Detected	98	2018-10-18	12:34:51	CP	3,9E+05
11	2018-08-22	11:13:57	CP	2,1E+05	55	2018-09-17	9:50:59	S	Not Detected	99	2018-10-18	14:41:50	CP	6,4E+05
12	2018-08-22	13:10:25	S	Not Detected	56	2018-09-17	13:12:07	CP	1,1E+06	100	2018-10-19	0:29:21	CP	1,5E+04
13	2018-08-22	15:41:17	S	Not Detected	57	2018-09-17	15:22:07	CP	1,1E+06	101	2018-10-22	16:42:53	CP	7,9E+02
14	2018-08-23	9:31:46	S	Not Detected	58	2018-09-18	9:38:20	CP	1,1E+06	102	2024-10-24	11:42:52	S	Not Detected
15	2018-08-23	11:22:30	CP	9,8E+05	59	2018-09-18	11:33:59	CN	Not Detected	103	2018-10-24	13:52:40	S	Not Detected
16	2018-08-23	13:04:17	S	4,2E+04	60	2018-09-18	13:20:18	CN	Not Detected	104	2018-10-25	12:10:52	CP	8,2E+04
17	2018-08-24	10:11:32	S	Not Detected	61	2018-09-18	11:33:59	CP	1,1E+06	105	2018-10-25	14:04:07	CP	2,1E+04
18	2018-08-24	11:46:54	S	Not Detected	62	2018-09-18	15:50:07	S	Not Detected	106	2018-10-25	15:59:31	S	Not Detected
19	2018-08-24	13:38:22	S	Not Detected	63	2018-09-18	17:38:55	S	Not Detected	107	2018-10-25	18:02:52	CP	1,1E+04
20	2018-08-28	11:53:59	S	2,9E+04	64	2018-09-19	9:39:50	CN	Not Detected	108	2018-10-26	12:06:26	S	Not Detected
21	2018-08-28	13:40:14	CP	4,0E+05	65	2018-09-19	11:15:24	CP	1,1E+06	109	2018-10-26	14:23:34	S	Not Detected
22	2018-08-28	16:21:19	CP	9,6E+05	66	2018-09-19	12:59:07	CP	1,1E+06	110	2018-10-26	16:21:51	CP	1,5E+05
23	2018-08-29	12:50:14	CP	7,9E+05	67	2018-09-20	8:36:20	CN	Not Detected	111	2018-10-29	9:53:32	S	Not Detected
24	2018-08-29	15:07:35	S	1,6E+04	68	2018-09-20	10:12:18	S	Not Detected	112	2018-10-29	11:48:44	S	Not Detected
25	2018-08-29	17:45:28	S	7,0E+05	69	2018-09-20	11:56:18	S	Not Detected	113	2018-10-29	13:44:23	S	2,1E+02
26	2018-08-30	6:08:33	CP	9,6E+05	70	2018-09-20	13:48:46	CP	1,2E+06	114	2018-10-29	15:38:38	S	Not Detected
27	2018-08-30	7:50:07	CP	1,6E+06	71	2018-09-20	15:40:07	CN	Not Detected	115	2018-10-29	21:59:13	S	Not Detected
28	2018-08-30	9:38:55	CP	6,0E+05	72	2018-09-24	13:08:17	S	2,0E+04	116	2018-10-30	9:26:28	S	Not Detected
29	2018-08-30	11:08:33	CP	9,6E+05	73	2018-09-25	10:36:40	S	Not Detected	117	2018-10-30	11:24:25	S	Not Detected
30	2018-08-30	12:50:07	CP	1,3E+06	74	2018-09-25	13:50:47	CP	1,3E+06	118	2018-11-05	13:24:36	CP	2,6E+05
31	2018-08-30	14:38:55	CP	1,1E+06	75	2018-09-25	15:38:07	S	5,3E+03	119	2018-11-05	15:17:33	S	7,0E+02
32	2018-08-31	12:38:20	S	Not Detected	76	2018-09-25	17:18:50	S	3,1E+02	120	2018-11-05	18:17:32	S	Not Detected
33	2018-08-31	14:25:27	S	Not Detected	77	2018-09-26	8:07:53	CP	1,1E+06	121	2018-11-06	9:58:11	CP	1,2E+05
34	2018-08-31	16:08:33	CP	3,0E+05	78	2018-09-26	10:10:33	CP	1,2E+06	122	2018-11-06	11:57:15	S	Not Detected
35	2018-08-31	18:50:07	S	5,0E+03	79	2018-09-26	12:33:36	CN	Not Detected	123	2018-11-06	13:59:55	S	1,2E+02
36	2018-08-31	20:38:55	S	2,0E+03	80	2018-09-26	13:47:52	CN	Not Detected	124	2018-11-06	16:44:19	CP	2,3E+04
37	2018-08-31	22:04:33	CN	Not Detected	81	2018-09-26	15:15:17	S	Not Detected	125	2018-11-06	19:17:55	S	Not Detected
38	2018-09-03	9:31:46	S	Not Detected	82	2018-09-26	17:50:40	S	Not Detected	126	2018-11-07	10:47:33	S	Not Detected
39	2018-09-03	11:22:30	S	Not Detected	83	2018-09-26	19:07:45	S	Not Detected	127	2018-11-07	13:44:08	CP	1,3E+04
40	2018-09-03	13:04:17	S	Not Detected	84	2018-09-26	21:45:58	S	Not Detected	128	2018-11-07	16:08:33	S	Not Detected
41	2018-09-05	9:26:52	CN	Not Detected	85	2018-09-27	9:49:30	CN	Not Detected	129	2018-11-07	18:50:07	CN	Not Detected
42	2018-09-05	10:16:22	S	Not Detected	86	2018-09-27	11:34:35	S	Not Detected	130	2018-11-08	10:16:35	S	Not Detected
43	2018-09-05	13:30:47	CP	1,1E+06	87	2018-09-27	13:27:53	S	Not Detected	131	2018-11-09	12:39:26	S	Not Detected
44	2018-09-06	10:11:23	CN	Not Detected	88	2018-09-27	15:28:07	S	Not Detected	132	2018-11-09	13:53:41	S	Not Detected

\* S= sample, CP= control positive (different levels), CN= control negative

Tab. 3: Erste Feldprüfrunde: Vergleich der Aktions-/Alarmstufen mit Hilfe der immunmagnetischen, separationsbasierten Methode (IMS) Legipid® und LEGIOLAB® für die Legionella-spp-Bestimmung

## Literatur:

- [1] Swartz, M.N. Clinical Aspects of Legionnaires' Disease (klinische Aspekte der Legionärskrankheit) *Ann. Intern. Med.* 1979; 90, 492–495.
- [2] Lück, C. Legionella – a case for culture (Legionellen - ein Fall für die Kultur) *Indian J Med Res* 2010, 131, 736–738.
- [3] Fields BS. The social life of Legionellae (das Sozialleben der Legionellen) In: Marre R, Abu Kwaik Y, Bartlett C, Cianciotto NP, Fields BS, Frosch M, et al., Herausgeber, Legionella. Washington, D.C.: ASM Press; 2002. p. 135-42.
- [4] Valster RM, Wullings BA, Bakker G, Smidt H, van der Kooij, D. Free-Living Protozoa in Two Unchlorinated Drinking Water Supplies, Identified by Phylogenetic Analysis of 18S rRNA Gene Sequences (Frei lebende Protozoen in zwei ungechlorten Trinkwasserbecken, identifiziert durch phylogenetische Analyse von 18S rRNS Gensequenzen). *Appl. Environ. Microbiol.* 2009;75: 4736–4746.
- [5] Garrison, LE, Kunz, JM, Cooley, LA. Vital signs: deficiencies in environmental control identified in outbreaks of Legionnaires' disease—North America (Vitalparameter: Mängel bei der Umweltkontrolle, die durch den Ausbruch der Legionärskrankheit sichtbar werden - Nordamerika), 2000-2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2016;65(22):576–584.
- [6] Pierre DM, Baron J, Yu VL, Stout JE. Diagnostic testing for Legionnaires' disease (Diagnoseprüfung für die Legionärskrankheit). *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials.* 2017;16:59.
- [7] Farnham A, Alleyne L, Cimini D, Balter S. Legionnaires' Disease Incidence and Risk Factors (Auftreten und Risikofaktoren der Legionärskrankheit), New York, New York, USA, 2002–2011. *Emerging Infectious Diseases.* 2014;20(11):1795-1802.
- [8] Beauté J, on behalf of the European Legionnaires' Disease Surveillance Network in Europe (im Namen des europäischen Überwachungsnetzwerks für die Legionärskrankheit in Europa), 2011 bis 2015 *Eurosurveillance.* 2017;22(27):30566.
- [9] International Organization for Standardization. 1998. ISO 11731:1998. Water quality—detection and enumeration of Legionella (Wasserqualität – Erkennung und Aufzählung der Legionellen). International Organization for Standardization, Genf, Schweiz.
- [10] International Organization for Standardization. 2004. ISO 11731-2:2004. Water quality – Detection and enumeration of Legionella (Wasserqualität - Erkennung und Aufzählung der Legionellen) – Teil 2: Direct membrane filtration method for waters with low bacterial counts (direkte Membranfiltrationsmethode für Wasserkörper mit niedrigen Bakterienzahlen). International Organization for Standardization, Genf, Schweiz.
- [11] Lee, T.C., Vickers, R.M., Yu, V. L., Wagener, M. M. Growth of 28 Legionella species culture media: a comparative study (Wachstum der Kulturmedien von 28 Legionellen-Arten: Eine Vergleichsstudie). *J. Clin. Microbiol.* 1993, 31, 2764–2768.
- [12] Garcia, M.T., Jones, S., Pelaz, C., Millar, R.D., Abu Kwaik, Y. Acanthamoeba polyphaga resuscitates viable non-culturable Legionella pneumophila after disinfection (Acanthamoeba polyphaga belebt nach der Desinfektion lebensfähige, unkultivierbare Legionella pneumophila wieder). *Environ. Microbiol.* 2007; 9:1267–1277.
- [13] Benowitz, Isaac, et al. Rapid Identification of a Cooling Tower-Associated Legionnaires' Disease Outbreak Supported by Polymerase Chain Reaction Testing of Environmental Samples (Rasche Identifizierung des Ausbruchs einer kühlturnbedingten Legionärskrankheit, unterstützt von einer Polymerase-Kettenreaktionsprüfung von Umweltprouben), New York City, 2014-2015. *Journal of Environmental Health,* 2018, 80(8):8-12.
- [14] Taylor, M.J., Bentham, R.H., Ross, K.E. Limitations of Using Propidium Monoazide with qPCR to Discriminate between Live and Dead Legionella in Biofilm Samples (Begrenzungen im Einsatz von Propidium-Monooxid bei qPCR zur Unterscheidung zwischen lebenden und toten Legionellen in Biofilmproben). *Microbiol. Insights.* 2014, 7: 15-24.
- [15] Peter A, Thompson KC, Routledge EJ. Barriers to effective Legionella control in a changing world: a practitioner's view. (Barrieren für die effektive Legionellen-Kontrolle in einer sich wandelnden Welt: Sicht eines Fachspezialisten.) *Environmental Technology Reviews,* 2017; 6 (1):145-155.
- [16] Bedrina B., Macián S, Catalán V, Solís, I, Fernández-Lafuente R, Baldrich E., Rodríguez G. Fast immunosensing technique to detect Legionella pneumophila in different natural and anthropogenic environments: assessment and validation (Schnelle Immunerkennungstechnik zum Erkennen von Legionella pneumophila in verschiedenen natürlichen und anthropogenen Umgebungen: Beurteilung und Bewertung). *BMC Microbiol.* 2013; 13:88.
- [17] Rodríguez, G., Bedrina, B., Jiménez, M. Method modification of the legipid® legionella fast detection test kit (Modifizierung der Methoden des Legipid®-Prüfkoffers zur raschen Erkennung von Legionellen). *JAOAC Int.* 2014; 97: 1403-1409.
- [18] Diaz-Flores A, Montero JC, Castro FJ, et al. Comparing methods of determining Legionella spp. in complex water matrices (Vergleich der Methoden zur Erkennung von Legionella spp. in komplexen Wassermatrizen). *BMC Microbiology.* 2015;15:91.
- [19] European Technical Guidelines for the Prevention, Control and Investigation of Infections Caused by Legionella Species (Europäische technische Richtlinien für die Prävention, Kontrolle und Untersuchung von Infektionen, die von Legionellen-Arten verursacht werden). 2017.

Online erhältlich: <https://ecdc.europa.eu/en/publications-data/european-technical-guidelines-prevention-control-and-investigation-infections>