

Infektionsquellensuche bei ambulant erworbenen Fällen von Legionärskrankheit – Ergebnisse der LeTriWa-Studie; Berlin, 2016–2020

Autorinnen und Autoren: ¹Ann-Sophie Lehfeld, ¹Dr. Udo Buchholz, ¹Dr. Heiko J. Jahn, ¹Dr. Bonita Brodhun, ¹Marina M. Lewandowsky, ¹Franziska Reber, ²Kristin Adler, ²Jaqueline Bochmann, ²Dr. Christina Förster, ²Madlen Koch, ²Yvonne Schreiner, ²Fabian Stemmler, ³Dr. Corinna Gagell, ³Edith Harbich, ³Dr. Markus Petzold, ⁴Dr. Sina Bärwolff, ⁴Dr. Birte Schilling, ⁵Dr. Andreas Beyer, ⁵Dr. Silvia Schmidt, ⁶Ute Geuß-Fosu, ⁷Martina Hänel, ⁸Dr. Patrick Larscheid, ⁸Dr. Jakob Schumacher, ⁹Dr. Lukas Murajda, ¹⁰Dr. Nicolai Savaskan, ¹⁰Dr. Klaus Morawski, ¹¹Dr. Uwe Peters, ¹¹Anke Hinzmann, ¹²Dr. Raimund Pitzing, ¹³Eva Bednarz, ¹³Thomas Siedentopf, ¹⁴Gudrun Widders, ¹⁴Dr. Ines Abdelgawad, ¹⁵Dr. Nicoletta Wischnewski, ¹⁵Dr. Irina Zuschneid, ¹⁶Dr. Iskandar Atmowihardjo, ¹⁷Dr. Keikawus Arastéh, ¹⁷Prof. Dr. Steffen Behrens, ¹⁸Dr. Petra Creutz, ¹⁶PD Dr. Johannes Elias, ¹⁷Martina Gregor, ¹⁶Prof. Dr. Stefan Kahl, ¹⁷Dr. Henning Kahnert, ¹⁷Viktor Kimmel, ¹⁷Dr. Josefa Lehmke, ¹⁷Dr. Pascal Migaud, ¹⁸Dr. Agata Mikolajewska, ¹⁸Dr. Verena Moos, ¹⁷Maria-Barbara Naumann, ¹⁷Prof. Dr. Wulf Pankow, ¹⁷Prof. Dr. Hans Scherübl, ¹⁶Prof. Dr. Bernd Schmidt, ¹⁸Prof. Dr. Thomas Schneider, ¹⁷Dr. Hartmut Stocker, ¹⁸Prof. Dr. Norbert Suttorp, ¹⁷Dr. Dorina Thiemig, ¹⁹Dr. Carsten Gollnisch, ¹⁹Uwe Mannschatz, ¹Prof. Dr. Walter Haas, ²Benedikt Schaefer, ³Dr. Christian Lück

¹ Robert Koch-Institut, Abteilung für Infektionsepidemiologie, Fachgebiet für Respiratorisch übertragbare Erkrankungen

² Umweltbundesamt, Fachgebiet II, 3.5: Mikrobiologie des Trink- und Badebeckenwassers

³ Konsiliarlabor für Legionellen, Technische Universität Dresden

⁴ Gesundheitsamt Berlin Tempelhof-Schöneberg

⁵ Gesundheitsamt Berlin Steglitz-Zehlendorf

⁶ Gesundheitsamt Berlin Lichtenberg

⁷ Gesundheitsamt Berlin Marzahn-Hellersdorf

⁸ Gesundheitsamt Berlin Reinickendorf

⁹ Gesundheitsamt Berlin Mitte

¹⁰ Gesundheitsamt Berlin Neukölln

¹¹ Gesundheitsamt Berlin Pankow

¹² Gesundheitsamt Berlin Friedrichshain-Kreuzberg

¹³ Gesundheitsamt Berlin Treptow-Köpenick

¹⁴ Gesundheitsamt Berlin Spandau

¹⁵ Gesundheitsamt Berlin Charlottenburg-Wilmersdorf

¹⁶ DRK Kliniken Berlin

¹⁷ Vivantes Kliniken Berlin

¹⁸ Charité – Universitätsmedizin Berlin

¹⁹ Hygieneinspektionsstelle für Trinkwassersysteme (AHT)

Der Bericht über die „Infektionsquellensuche bei ambulant erworbenen Fällen von Legionärskrankheit – Ergebnisse der LeTriWa-Studie; Berlin, 2016–2020“ erfolgte bereits in zwei Teilen im Epidemiologischen Bulletin (Ausgabe [27](#) und [28/2022](#)). In diesem Dokument werden die Methodik sowie die Ergebnisse noch etwas detaillierter beschrieben. Vorläufige Ergebnisse wurden auch bereits 2020 im Journal PloS One unter dem Titel „Source attribution of community-acquired cases of Legionnaires' disease-results from the German LeTriWa study; Berlin, 2016-2019“ veröffentlicht (1).

Zusammenfassung

Hintergrund/Zielsetzung: Bei ambulant erworbenen Fällen von Legionärskrankheit (AE-LK) ist die Infektionsquelle meistens unbekannt. Es wird vermutet, dass mit Legionellen kontaminiertes häusliches Trinkwasser eine häufige Ursache ist. Um hierzu mehr Evidenz zu generieren, kooperierten das Robert Koch-Institut (RKI), das Umweltbundesamt (UBA) und das Konsiliarlabor (KL) für Legionellen in einer vom Bundesministerium für Gesundheit geförderten Studie zum Thema „Legionellen in der Trinkwasser-Installation“ (LeTriWa-Studie). Eines der Teilprojekte hatte zum Ziel, in Zusammenarbeit und enger Abstimmung mit den Berliner Gesundheitsämtern und Krankenhäusern herauszufinden, bei wie vielen Fällen von AE-LK evidenzbasiert eine Infektionsquelle identifiziert werden kann.

Methodik: Bei allen Berliner Meldefällen von Legionärskrankheit wurde zeitnah die Abnahme einer zusätzlichen Urin- und tiefen Atemwegsprobe initiiert, welche an das KL geschickt wurden. In die Studie einwilligende Patientinnen und Patienten wurden mittels eines ausführlichen Fragebogens befragt, u. a. um potenzielle Infektionsquellen zu eruieren. Aus dem Haushalt der Erkrankten und bei in Frage kommenden externen, außerhäuslichen Infektionsquellen wurden Wasserproben genommen. Für eine Risikobewertung der häuslichen Trinkwasser-Installation (TWI) wurde die Durchführung einer weitergehenden Untersuchung im Rahmen einer Gefährdungsanalyse initiiert. Alle Umweltproben wurden im Labor des UBA auf Legionellen untersucht. Die Isolate wurden im KL typisiert und – soweit verfügbar – mit dem bei der Fallperson identifizierten Stamm abgeglichen. Die erhobenen Befunde wurden für die Zuordnung einer Infektionsquelle mit Hilfe einer im Rahmen des Projekts entwickelten Evidenz-Matrix nach mikrobiologischen und epidemiologischen Gesichtspunkten bewertet. Anhand von drei Evidenztypen (mikrobiologische, Cluster- und analytisch-vergleichende Evidenz) konnten wir die Studienteilnehmenden entweder einer externen Infektionsquelle außerhalb des häuslichen Bereichs, eine nicht an das häusliche Trinkwasser angeschlossene Infektionsquelle im häuslichen Bereich (z. B. Luftbefeuchter) oder dem häuslichen Trinkwasser zuordnen. Eine Wasserquelle wurde über **mikrobiologische Evidenz** einem Fall zugeordnet, wenn sie (i) einen Stamm enthielt, der dem monoklonalen Antikörper(MAb)-typ 3/1 angehört und zu den MAb 3/1-positiven Stämmen zählt und es keinen Widerspruch im Abgleich des Patienten- und Umweltstamms (bzgl. MAb-Typ/-Subtyp oder Sequenztyp (ST)) gab, oder (ii) wenn der Stamm der erkrankten Person mit dem Umweltstamm mindestens auf MAb-Typ-Ebene übereinstimmte. Eine Quelle wurde anhand von **Cluster-Evidenz** einem Fall zugeordnet, wenn mindestens zwei Fälle zur selben potenziellen Quelle innerhalb von zwei Jahren exponiert waren. Wir verglichen zudem statistisch die Häufigkeit der Exposition gegenüber einer möglichen Infektionsquelle von Fällen und Kontrollen (**analytisch-vergleichende Evidenz**).

Für jeden Studienteilnehmenden strebten wir an, zwei Kontrollpersonen zu rekrutieren, die ebenfalls befragt wurden und bei denen in gleicher Weise Standard-Haushaltsproben wie bei den Fallpersonen genommen wurden. Zudem wurde versucht, vom Betreiber der TWI eine Erlaubnis für eine kostenfreie Gefährdungsanalyse, einschließlich einer weitergehenden Untersuchung, zu erhalten.

Ergebnisse: Insgesamt konnten wir 147 Studienteilnehmende (LeTriWa-Fälle) einschließen und 217 Kontrollpersonen rekrutieren. Die LeTriWa-Fälle waren im Median 68 Jahre alt (Spannweite 25–93)

und mehrheitlich männlich (n = 96; 65 %). Bei 84 LeTriWa-Fällen konnte aus den Patientenproben der MAb-Typ identifiziert werden, bei 83 (99 %) ein MAb 3/1-positiver Stamm und bei einem ein MAb 3/1-negativer Stamm. Im Vergleich zu den Kontrollpersonen (nicht infiziert) war der Fallstatus (infiziert) nicht mit einer höheren Legionellenkonzentration in den Standard-Haushaltsproben assoziiert, jedoch hochsignifikant mit dem Vorhandensein eines MAb 3/1-positiven Stammes (Odds Ratio (OR) = 4,5; 95 %-Konfidenzintervall (KI) = 2,0–10,8; p < 0,001).

Bei 23 (16 %) der 147 LeTriWa-Fälle konnte eine externe, außerhäusliche Quelle und bei 40 (27 %) Fällen das häusliche Trinkwasser als wahrscheinliche Infektionsquelle zugeordnet werden. Das Tragen einer unzureichend desinfizierten Zahnprothese war die einzige häusliche Nicht-Trinkwasserquelle, die signifikant mit dem Fallstatus assoziiert war (OR = 2,3; 95 % KI = 1,04–5,24; p = 0,04) und ermöglichte eine Quellen-Zuordnung von weiteren 6 % der Fälle. Mit insgesamt 49 % konnten wir etwa die Hälfte der LeTriWa-Fälle einer wahrscheinlichen Infektionsquelle auf Evidenz-Basis zuordnen.

Schlussfolgerungen: Wir konnten unter Verwendung eines neuartigen Matrix-Konzepts in Berlin der Hälfte der LeTriWa-Fälle eine wahrscheinliche Infektionsquelle zuordnen. Die Ergebnisse unterstützen die Bedeutung von häuslichem Trinkwasser als Ursache für AE-LK. Etwa die Hälfte aller Studienfälle blieben allerdings unerklärt. Die Ergebnisse der Standard-Haushaltproben legen nahe, dass nicht die Kontamination mit jeglichen Legionellen oder die Höhe der Legionellenkonzentration die Personen gefährdet, sondern vielmehr der Legionellenstamm, insbesondere das Vorhandensein von MAb 3/1-positiven Stämmen. Weitere Untersuchungen und/oder Analysen sind erforderlich, um zu verstehen, welche Faktoren zur Kontamination von häuslichem Trinkwasser mit pathogenen Legionellen beitragen und welche Faktoren eine Infektion zu verhindern helfen.

Einführung

Die Legionärskrankheit ist eine nach Infektionsschutzgesetz (IfSG) meldepflichtige Pneumonie, die durch eine (laborbestätigte) Legionelleninfektion verursacht wird. Legionellen sind wasserbürtige Bakterien und kommen typischerweise in Wassersystemen oder in Biofilmen vor. Als virulenzassoziiert gelten Legionellenstämme mit dem monoklonalen Antikörpertyp 3/1 (MAb 3/1-positiv) (2, 3). Eine Infektion erfolgt in der Regel durch das Einatmen erregerrhaltiger Aerosole (4). Übertragungen konnten schon mit einer Vielzahl von Infektionsquellen assoziiert werden, wie z. B. Aerosole von Verdunstungskühlanlagen (5, 6), Whirlpools (7, 8) und von häuslichen sanitären Anlagen (z. B. Dusche) (9). Im häuslichen Bereich kann Trinkwasser (TW) auch für andere Zwecke verwendet werden, z. B. zum Füllen des Behälters von Luftbefeuchtern oder von Geräten, die von Personen mit Schlafapnoe verwendet werden (CPAP-Geräten). Insbesondere eine unzureichend hygienische Handhabung der Wasserquelle kann dann ebenfalls zu Fällen von Legionärskrankheit führen (10-12). Die Letalität der Legionärskrankheit liegt bei etwa 5 % (13).

Epidemiologisch werden reiseassoziierte und krankenhausassoziierte von ambulant erworbenen Fällen von Legionärskrankheit unterschieden, wobei das Gros (mindestens 70 % aller Meldefälle) auf AE-LK entfällt (14). Dabei ist die Epidemiologie von AE-LK, die nicht Teil eines größeren Ausbruchs sind, nur unzureichend erforscht. In bisherigen Studien gelang der Nachweis von Infektionsquellen nur in etwa 5–10 % der Fälle (15-17). Dies ist zum Teil darauf zurückzuführen, dass ein Fall von Legionärskrankheit üblicherweise nur dann einer Infektionsquelle zugeordnet wird, wenn eine genotypische, auf identischen Sequenztypen basierende Übereinstimmung gefunden wurde. Oft ist es aber schwierig, zusätzlich zu den Wasserproben aller potenziellen Infektionsquellen auch tiefe Atemwegsproben der erkrankten Person (für Kultur und PCR) zu gewinnen. Während größere Ausbrüche oftmals mit Verdunstungskühlanlagen in Verbindung gebracht werden, treten die meisten

Erkrankungsfälle nur sporadisch auf. Laut einer Übersichtsarbeit tragen vor allem häusliches Trinkwasser (hTW), aber auch Wassersysteme in großen Gebäuden und das Fahren mit dem Auto zu einem beträchtlichen Teil der sporadischen Fälle bei (18). Auch Verdunstungskühlanlagen würden eine „vermutlich signifikante Rolle“ spielen. Im selben Artikel wurde auch festgestellt, dass die definitive Identifikation von Infektionsquellen bei sporadischen Fällen schwierig sei und meistens nicht gelinge (18). Obwohl Fälle von AE-LK im Prinzip vermeidbar sind, fehlt bisher Evidenz, inwiefern die verschiedenen Wasserquellen zu einem relevanten Infektionsrisiko werden können. Vor allem bei hTW wird davon ausgegangen, dass dieses eine wichtige Rolle für AE-LK spielt. Die Erkenntnisse zu den beitragenden Infektionsquellen bilden letztlich die Basis, um geeignete Vorgaben zur Vermeidung der Entstehung von Infektionsquellen zu formulieren und damit eine wirksame Prävention zu fördern.

Ziel

Das Ziel eines Teilprojekts der Berliner LeTriWa-Studie („Legionellen in der Trinkwasser-Installation“) war es, herauszufinden, bei wie vielen Fällen von AE-LK wir eine evidenzbasierte Infektionsquelle identifizieren können.

Methoden

1. Eckdaten der Studie

Studienpartner und -dauer

Die Berliner LeTriWa-Studie war ein gemeinsames Projekt des Robert Koch-Instituts, des Umweltbundesamtes und des Konsiliarlabors für Legionellen und wurde in enger Kooperation mit dem Berliner Landesamt für Gesundheit und Soziales (LAGeSo), den 12 Berliner Gesundheitsämtern und insgesamt 15 Berliner Krankenhäusern (davon 13 im Rahmen der Fall-Identifikation und Infektionsquellensuche und 14 im Rahmen der Kontrollrekrutierung) durchgeführt. Die Feldphase dauerte von Dezember 2016 bis Dezember 2020.

Vorbereitendes Expertentreffen

Zur Diskussion und Verfeinerung des Studienkonzepts organisierten wir im Vorfeld der Studie ein Treffen mit nationalen und internationalen Expertinnen und Experten. Es wurden sowohl die Studienfragen und Details zum Studiendesign als auch das inhaltliche Vorgehen diskutiert.

Berichtszeitraum

Wir berichten über die Ergebnisse der Auswertungen zu Fällen, die dem RKI zwischen dem 01.12.2016 und 31.08.2020 übermittelt wurden bzw. der Kontrollpersonen, die bis zu diesem Zeitpunkt rekrutiert wurden.

Ethikvotum und Datenschutzkonzept

Der Ethikantrag für die Studie wurde von der Ethikkommission der Charité (Medizinische Universität Berlin, Campus Charité Mitte, Charitéplatz 1, 10117 Berlin), unter der Antragsnummer EA1/303/15 begutachtet und positiv beschieden. Darüber hinaus wurde mit dem Datenschutzbeauftragten des RKI ein Datenschutzkonzept erstellt und anschließend der Bundesbeauftragten für den Datenschutz und die Informationsfreiheit vorgelegt und von dieser genehmigt.

Registrierung der Studie im Deutschen Register Klinischer Studien

Die Studie wurde im Deutschen Register für Klinische Studien mit der Kennung DRKS00009831 (https://www.drks.de/drks_web/navigate.do?navigationId=trial.HTML&TRIAL_ID=DRKS00009831) registriert.

2. Definitionen und verwendete Begriffe

2.1. Falldefinition und Expositions-kategorien

Fall von Legionärskrankheit: Bei den gemäß dem IfSG gemeldeten Fällen von Legionärskrankheit werden das klinische Bild und Laborbefunde übermittelt. Das klinische Bild wird mit der Diagnose einer Lungenentzündung (Pneumonie) oder eines krankheitsbedingten Todes erfüllt. Die Laborbestätigung entsprechend der Referenzdefinition des RKI umfasst eines der folgenden Elemente: 1) positiver Urinantigentest; 2) positive Legionellenkultur aus einer Patientenprobe; 3) positiver Nukleinsäuretest; 4) signifikanter Anstieg des Antikörpertiters zwischen zwei Proben; oder 5) ein einzelner signifikant erhöhter Antikörpertiter für *Legionella (L.) pneumophila* Serogruppe 1 (Lp1). Fälle von Legionärskrankheit sind den Gesundheitsämtern zu melden und werden von diesen über die zuständigen Landesbehörden an das RKI übermittelt. Die Referenzdefinition eines Falles von Legionärskrankheit ist erfüllt bei „klinisch-labordiagnostischer Erkrankung“ (akute Pneumonie + labordiagnostischer Nachweis einer Legionelleninfektion) oder „klinisch-epidemiologisch bestätigter Erkrankung“. Letztere ist definiert als das Vorliegen eines klinischen Bildes einer Legionärskrankheit ohne labordiagnostischen Nachweis, aber mit epidemiologischer Bestätigung, d. h. eine Exposition zu einer Expositionsquelle, zu der sowohl der klinisch-epidemiologisch bestätigte Fall als auch ein weiterer klinisch-labordiagnostisch bestätigter Fall innerhalb von zwei Jahren exponiert waren. Beispiele für solche Expositionsquellen sind Schwimmbäder, Whirlpools, Duschen, oder Aerosole aus Verdunstungskühlanlagen. In diesen Fällen liegt ein Cluster vor.

Infektionsperiode: Zur Erhöhung der Sensitivität verwendeten wir im Rahmen der Studie für die Periode, in der sich der Fall mit Legionellen wahrscheinlich infizierte, einen Zeitraum von 14 Tagen vor Erkrankungsbeginn (19) (in der Surveillance wird normalerweise eine Periode von 2–10 Tagen vor Erkrankungsbeginn verwendet (20)).

Ein **LeTriWa-Fall** ist definiert als ein Meldefall von Legionärskrankheit, der die Referenzdefinition des RKI (20) erfüllt und die folgenden weiteren Eigenschaften hat:

- Meldung zwischen 01.12.2016 und 31.08.2020
- Alter 18 Jahre oder älter
- Klassifizierbarkeit des Falles in eine der Expositions-kategorien „ambulant erworben“ (inkl. pflegeheimassoziiert), krankenhausassoziiert, reiseassoziiert
- Keine Reiseassoziation (s. u.)
- Keine Krankenhausassoziation (s. u.)
- Fähigkeit zur adäquaten Kommunikation mit dem Studienpersonal (keine Demenz, ausreichende Deutschkenntnisse)
- Schriftliche Einwilligung zur Studienteilnahme

Ein **Nicht-LeTriWa-Fall** ist wiederum definiert als ein Meldefall von Legionärskrankheit, der die Referenzdefinition des RKI erfüllt, zwischen dem 01.12.2016 und 31.08.2020 gemeldet und an das RKI übermittelt wurde und nicht in die Studie einwilligte oder sonstige Einschlusskriterien nicht erfüllte.

Fälle mit einer **Reiseassoziation** wurden im Rahmen der LeTriWa-Studie bei folgender Konstellation ausgeschlossen:

- Mehr als 10 der 14 Tage der Infektionsperiode vor Symptombeginn während einer Reise außerhalb von zu Hause übernachtet, oder
- Identifikation eines MAb 3/1-positiven Stammes im Wasser der TWI der Reiseunterkunft (nur kommerzielle Unterkünfte; Übernachten bei z. B. Verwandten zählt als AE-LK) UND

keine weitere bekannte Exposition zu einer anderen potenziellen Infektionsquelle (z. B. hTW), bei der ein Stamm identifiziert wurde, der zu einem gleichen oder höheren Niveau des Erregerabgleichs führte (kein gleich-/ oder höherwertiger mikrobiologischer Score; s. Tabelle 2).

Eine **Krankenhausassoziation** lag vor, wenn die Fallperson mindestens eine Nacht in der relevanten Infektionsperiode in einem Krankenhaus oder in einer Reha-Einrichtung übernachtete.

2.2. Trinkwasserverordnung und Typen von Wasserproben

Trinkwasserverordnung

Die Trinkwasserverordnung (TrinkwV) (21) regelt die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch, um die „menschliche Gesundheit vor den nachteiligen Einflüssen, die sich aus der Verunreinigung von Wasser ergeben, das für den menschlichen Gebrauch bestimmt ist“, zu schützen. Im Fokus steht die Untersuchung von Wasserproben auf Legionellen in Großanlagen¹ zur Trinkwassererwärmung. Für Legionellen ist ein so genannter „technischer Maßnahmenwert“ definiert, „bei dessen Überschreitung eine von der TWI ausgehende vermeidbare Gesundheitsgefährdung zu besorgen ist und Maßnahmen zur hygienisch-technischen Überprüfung der TWI im Sinne einer Gefährdungsanalyse eingeleitet werden“ (§ 3 Nummer 9 TrinkwV). Dieser Wert liegt bei 100 koloniebildenden Einheiten (KBE)/100 ml. Eine Gefährdungsanalyse beinhaltet eine Ortsbesichtigung, Beschreibung der Wasserversorgungsanlage, Feststellung von Abweichungen von den allgemein anerkannten Regeln der Technik und eine so genannte weitergehende Trinkwasseruntersuchung.

Typen von Wasserproben

In der DIN EN ISO 19458 sind Probennahmetypen aus TWI definiert. Bei einer Probennahme nach Zweck c wird das Trinkwasser sofort nach Öffnen des Wasserhahnes, „wie es verbraucht wird“, abgenommen und untersucht (22). So kann die Beschaffenheit des Trinkwassers in speziellen Situationen, z. B. bei Erkrankungen, bewertet werden. Obwohl nach technischem Regelwerk in der Stockwerksanschlussleitung („Endstrecke“) ein Inhalt von bis zu 3 Litern Wasser zulässig ist, beabsichtigt die Wasserprobennahme nach Zweck b, durch Entnahme des Wassers ab dem zweiten Liter, vorwiegend das Wasser aus dem Leitungsstrang, d. h. vor der Endstrecke, zu testen. Die Endstrecke ist der Teil der TWI zwischen Abgang vom Steigstrang bis zur Entnahmestelle beim Verbraucher. Bei einer Zweck b-Probe wird das Wasser aus der Entnahmestelle, welche zuvor abgeflammt oder mit 70 % Ethanol oder Isopropanol desinfiziert wird, erst nach Ablauflassen von 1 Liter abgenommen. In den Fall- bzw. Kontrollhaushalten nahmen wir zusätzlich zu Wasserproben auch Biofilmprouben (Abstriche), z. B. von der Öffnung des Wasserhahns, der Innenseite des Perlators oder den Innenseiten des Duschschauchs bzw. vom Duschkopf.

¹ Großanlagen sind Anlagen mit Speicher-Trinkwassererwärmern oder zentralen Durchfluss-Trinkwassererwärmern, die einen Inhalt von > 400 L und/oder > 3 L in mindestens einer Rohrleitung zwischen dem Abgang des Trinkwassererwärmers und Entnahmestelle haben.

2.3. Typen von Infektionsquellen

Wir kategorisierten potenzielle Infektionsquellen in die folgenden drei Typen und stellten dabei das hTW in den Mittelpunkt, da davon ausgegangen wurde, dass dieses eine wichtige Rolle für AE-LK spielt.

1. Häusliches Trinkwasser

HTW ist Wasser, welches von der lokalen Wasserversorgung zur Verfügung gestellt wird und in der häuslichen Umgebung abgenommen werden kann. In Wohnungen von Fällen und Kontrollen wurden (in der angegebenen Reihenfolge) vom Waschbecken im Bad eine Zweck c-Probe, ein Abstrich und eine Zweck b-Probe sowie von der Dusche im Bad eine Zweck c-Probe und ein Abstrich genommen. Diese fünf Proben sind die sogenannten *Standard-Haushaltsproben*. Sollte es mehrere in Frage kommende benutzte Bäder im Haus oder zwei bewohnte Wohnungen (auch Wohnung von Partnern, Schrebergarten o. ä.) geben, so wurden diese Standard-Haushaltsproben aus dem Bad genommen, welches die Person häufiger benutzte bzw. aus der Wohnung, die sie häufiger bewohnte. Nur bei Fallpersonen wurden ggf. darüber hinaus weitere Proben aus dem Haushalt zur Infektionsquellensuche genommen, wie z. B. ein zweites Waschbecken oder die Spüle in der Küche, die sogenannten *zusätzlichen Haushaltsproben*, die nicht zu den Standard-Haushaltsproben zählen. Proben aus Zweitwohnungen dienen ebenfalls zur Infektionsquellensuche und zählen ebenfalls nicht zu den Standard-Haushaltsproben.

2. Häusliche Nicht-Trinkwasserquelle

Eine häusliche Nicht-Trinkwasserquelle (hNTW-Quelle) bezeichnet eine Quelle im häuslichen Bereich, bei der die Wasser- oder Biofilmprobe nicht direkt aus einer Zapfstelle mit Trinkwasser entnommen wurde, sondern z. B. aus einem Gefäß, welches über längere Zeit gestanden hat (z. B. Wasserbehälter einer CPAP-Maske, Luftbefeuchter oder Sprühflasche für Pflanzen). Die hNTW-Quellen wurden nur bei Fällen beprobt.

3. Externe Quelle

Externe Quellen sind Wasserquellen außerhalb des häuslichen Wohnbereichs eines Falles. Dabei kann es sich sowohl um eine Trinkwasserquelle (z. B. Waschbeckenwasser von der Arbeitsstelle der Fallperson oder Duschwasser in einem Schwimmbad) als auch um eine Nicht-Trinkwasserquelle handeln (z. B. Verdunstungskühlanlagen, Wasser einer Scheibenwischanlage oder gechlortes Badebeckenwasser). Externe Quellen als mögliche Infektionsquellen wurden nur bei Fällen in Form von Wasser- und ggf. Biofilmpollen beprobt.

3. Labormethoden

Diagnostik und Typisierung der Patientenproben

Von Patientinnen und Patienten mit diagnostizierter Legionärskrankheit wurden im Krankenhaus zusätzliche Proben (Urin und Atemwegssekret aus den unteren Atemwegen) abgenommen und zur Typisierung ans KL geschickt. Dort wies das KL zunächst Antigen (Lipopolysaccharid) für *L. pneumophila* Serogruppe 1 mittels Urinantigentest nach. War das Ergebnis des Urinantigentests negativ, wurde der Urin 10-fach konzentriert und 15 Minuten bei 95 °C erhitzt, um die Konzentration des Legionellenantigens zu erhöhen. Bei genügend Antigen wurde mit einem „in-house“ ELISA der MAb-Typ direkt ermittelt, wobei der Fokus auf den virulenzassoziierten MAb 3/1-Subtypen lag (gemäß dem „Dresdner Panel“) (23, 24). Lp1-Bakterien können gemäß dem „Dresdner Panel“ in MAb-Typen eingeteilt werden. Ein wichtiger Typ sind die MAb 3/1-positiven Stämme, von denen man annimmt, dass sie besonders virulent sind, da sie häufig mit Erkrankungen assoziiert sind. Unter den MAb 3/1-positiven Stämmen werden vier MAb-Subtypen unterschieden: Knoxville, Philadelphia, Benidorm und

France/Allentown (s. Abbildung 1) (25, 26). Respiratorische Proben wurden mittels Kultur und PCR auf *L. pneumophila* und Lp1 untersucht. Bei Proben mit mittlerem oder hohem DNA-Gehalt wurde eine direkte sequenzbasierte Typisierung durchgeführt. Wenn Legionellen kulturell angezüchtet werden konnten, wurde eine phänotypische und genotypische Sub-Typisierung zur Bestimmung des monoklonalen Subtyps bzw. des Sequenztyps durchgeführt. Wenn kein kultureller Legionellennachweis möglich war, jedoch per PCR eine mittlere bis hohe Menge an DNA nachgewiesen werden konnte, so wurde die direkte Sequenztypisierung aus der DNA angestrebt (27).

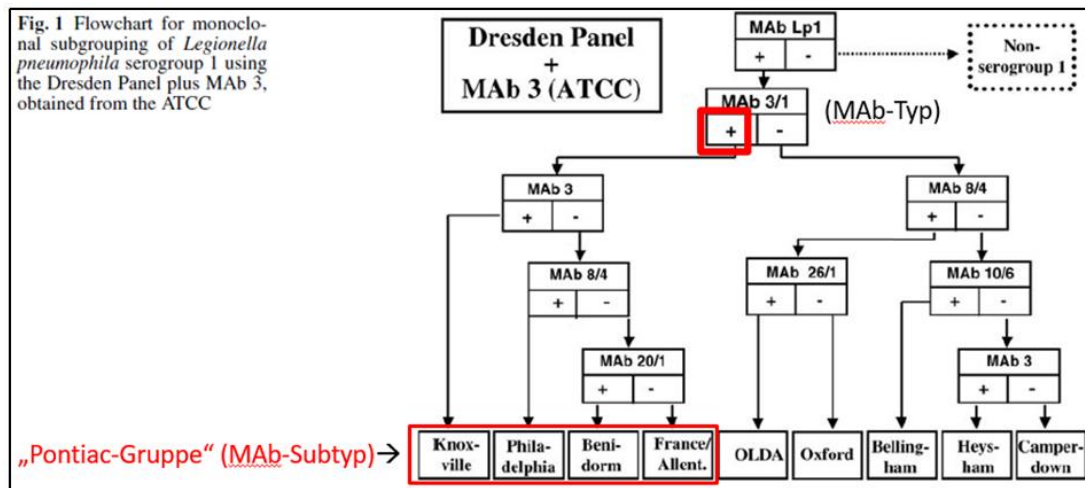


Abbildung 1: Das Dresdner Panel unterteilt die *L. pneumophila* Serogruppe 1 (Lp1)-Stämme in MAb 3/1-positive und MAb 3/1-negative MAb-Typen und -Subtypen (24).

Typisierung der Umweltproben (Wasser- und Biofilmpöben)

Alle Wasserproben wurden im Labor des UBA gemäß DIN EN ISO 11731 auf die Konzentration von Legionellen und Abstriche wurden qualitativ auf die Anwesenheit von Legionellen untersucht. Lp1 und ausgewählte Serogruppen 2–15 sowie *Legionella non-pneumophila*-Isolate wurden zur Subtypisierung an das KL geschickt. Pro Wasserversystem und Beprobungsgang (d. h. Haushaltsproben, externe Proben oder weitergehende Untersuchungen während der Gefährdungsanalyse) wurden maximal 20 Legionellenkolonien verschickt. Im KL wurden diese auf Serogruppen und die MAb-Typen und -Subtypen untersucht (23). Im Rahmen des Projektes wurde pro Beprobungsgang von einzelnen Kolonien der ST bestimmt.

4. Studienablauf

Infektionsquellensuche

Zunächst nahmen die Gesundheitsämter und nach Zustimmung zur Kontaktaufnahme auch das RKI-Studententeam Kontakt mit der erkrankten Person auf. Nach der schriftlichen Einwilligung in die Studie führten wir eine detaillierte Befragung mittels standardisiertem Fragebogen durch, in der wir u. a. nach Expositionen in den 14 Tagen vor Symptombeginn fragten und weitere Daten erhoben wie z. B. bestimmte Vorerkrankungen, Raucherstatus oder Details zur häuslichen Trinkwasserversorgung.² Außerdem nahmen wir die fünf Standard-Haushaltsproben (s. oben) im Badezimmer des Fallhaushalts sowie ggf. weitere zusätzliche Haushaltsproben (z. B. von der Küchenspüle oder vom Waschbecken des

² Eine Version des Fragebogens, die für die Nutzung von Gesundheitsämtern gedacht ist, findet sich auf der [Webseite des RKI](#).

Gäste-WCs). Bei Eruiierung weiterer potenzieller Infektionsquellen wurden weitere Proben von hNTW-Quellen und potenziellen externen Quellen genommen (s. Abbildung 2 und Abbildung 3).

Damit das Gesundheitsamt über die Ergebnisse der Haushaltsproben hinaus die Situation einschätzen und ggf. Maßnahmen ergreifen konnte, wurde – soweit möglich – eine Gefährdungsanalyse mit weitergehender Untersuchung der TWI durch Sachverständige durchgeführt (28).

Kontrollgruppe

Für jeden LeTriWa-Fall wurden zwei hinsichtlich Altersgruppe (< 50, 50–74, > 74 Jahre) und Krankenhaus (ggf. selber Wohnbezirk) gepaarte Kontrollpersonen rekrutiert, die aus einem anderen Grund als einer Pneumonie stationär aufgenommen worden waren. Für die Kontrollpersonen wurde der gleiche standardisierte Fragebogen verwendet, es wurden ebenfalls die Standard-Haushaltsproben genommen und es wurde versucht eine Gefährdungsanalyse zu initiieren, darüber hinaus wurden aber keine weiteren Proben genommen (s. Abbildung 2).

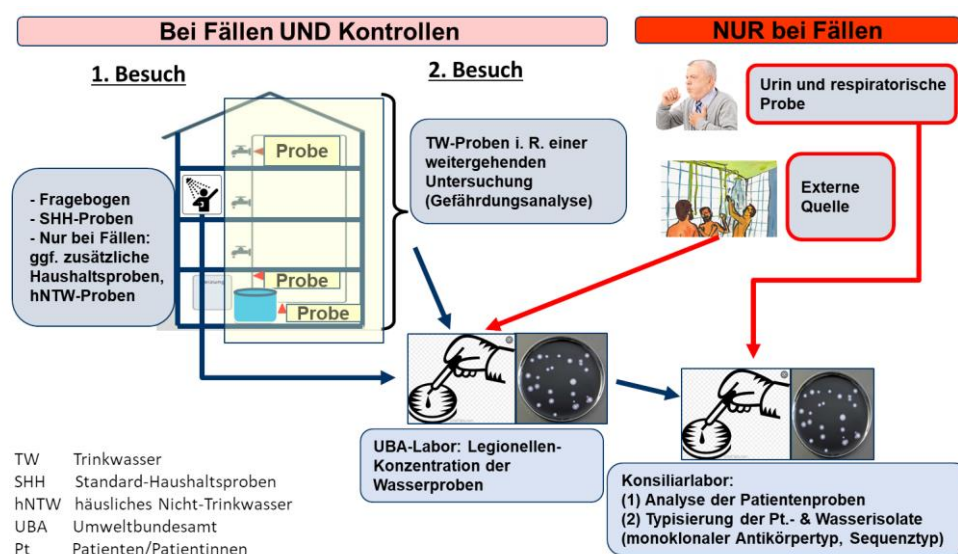


Abbildung 2: Datenerhebung bei Fällen und Kontrollen

Bewertung der Ergebnisse im Rahmen der Infektionsquellen-Zuordnung

Wir entwickelten eine Evidenz-Matrix, um die erhobenen Befunde für die Zuordnung einer Infektionsquelle nach mikrobiologischen und epidemiologischen Gesichtspunkten bewerten zu können. In der Evidenz-Matrix werden für die verschiedenen Typen von Infektionsquellen (externe Quellen, hNTW-Quellen und hTW-Quellen) die jeweils vorliegenden Evidenztypen (mikrobiologische Evidenz, Cluster-Evidenz oder analytisch-vergleichende Evidenz) dargestellt (s. Tabelle 1). Die ersten beiden Evidenzarten wurden vollständig auf individueller Basis bewertet, während der analytisch-vergleichende Ansatz statistische Methoden verwendete.

Tabelle 1: Evaluierte Infektionsquellen und Evidenztypen dargestellt in einer Evidenz-Matrix.

Infektionsquelle	Evidenztyp		
	mikrobiologische Evidenz	Cluster-Evidenz	analytisch-vergleichende Evidenz
	individuelle Bewertung		statistische Bewertung
Externe Quelle			
Häusliche Nicht-Trinkwasserquelle			
Häusliche Trinkwasserquelle			

Evidenztypen

Im Folgenden werden die drei Evidenztypen näher erläutert:

Mikrobiologische Evidenz: Sie ergibt sich aus dem Vergleich der Patientenbefunde mit den Befunden der potenziellen Infektionsquelle (s. Tabelle 2). Es war vorher bereits bekannt, dass die Mehrheit der Isolate bei Infektionen beim Menschen in Deutschland MAb 3/1-positiv waren (sogenannte Virulenzassoziation), während dies für die meisten Umweltisolate aus routinemäßig genommenen Wasserproben in Deutschland nicht der Fall war (29). Da auch bei LeTriWa die MAb-Typen in allen typisierbaren Urinproben der Erkrankten MAb 3/1-positiv waren (s. Abschnitt „Mikrobiologische Ergebnisse der LeTriWa-Fälle“) und der Fallstatus signifikant mit dem Vorhandensein eines MAb 3/1-positiven Stammes in einer der Standard-Haushaltsproben assoziiert war (s. auch Tabelle 10), haben wir einem Fall eine potenzielle Infektionsquelle zugeschrieben, wenn wir einen MAb 3/1-positiven Stamm in einer potenziellen Infektionsquelle fanden, selbst wenn keine Informationen zum MAb-Typ der erkrankten Person vorlagen (Tabelle 2; Kategorie 2). Hatten wir einen anderen MAb-Typ, MAb-Subtyp oder ST bei der erkrankten Person im Vergleich zur potenziellen Infektionsquelle gefunden, wurde diese Quelle dem Fall auf mikrobiologischer Ebene nicht zugeordnet (Tabelle 2; Kategorie 1b). Je spezifischer der mikrobiologische Abgleich gelang (auf MAb-Typ-Ebene < auf MAb-Subtyp-Ebene < auf ST-Ebene < Gesamtgenom-Übereinstimmung), desto höher war der vergebene mikrobiologische Score (Tabelle 2; ab Kategorie 3). Hatten mehrere Infektionsquellen aus unterschiedlichen Typen von Infektionsquellen den gleichen Score und eine der Infektionsquellen war das hTW, so wurde das hTW zugeordnet. Bei allen anderen Fällen entschieden wir nach Einzelfall (s. Abschnitt „Diskrepante Evidenzbefunde“).

Tabelle 2: Mikrobiologische Evidenz. Mögliche Konstellationen der Typisierungsergebnisse von Fall- bzw. Umweltstämmen einer in Frage kommenden Wasserquelle.

Kategorie	Patientenstamm*	Umweltstamm*	Score	Mikrobiologische Evidenz vorhanden
1a	Lp1 mit/ohne weitere Informationen	keine Probe genommen ODER keine Legionellen nachgewiesen	0	nein
1b	Lp1 und ggf. MAb-Typ, MAb-Subtyp oder ST bekannt	Spezies, SG, MAb-Typ, MAb-Subtyp oder ST nicht übereinstimmend	0	nein
1c	Lp1, MAb-Typ nicht bekannt	Lp1, MAb-Typ 3/1-negativ	0	nein
2	Lp1, MAb-Typ nicht bekannt	Lp1, MAb-Typ 3/1-positiv	3	ja
3	Lp1, MAb-Typ 3/1 bekannt	Lp1, MAb-Typ 3/1-identisch	4	ja
4	Lp1, MAb-Subtyp bekannt	Lp1, MAb-Subtyp identisch	5	ja
5	Lp1, MAb-Subtyp und ST bekannt	Lp1, MAb-Subtyp und ST identisch	6	ja
6	Lp1, MAb-Subtyp, ST und WGS bekannt	Lp1, MAb-Subtyp, ST und WGS identisch	7	ja

SG = Serogruppe; Lp1 = *Legionella pneumophila* Serogruppe 1; MAb-Typ/-Subtyp = monoklonaler Antikörpertyp/-subtyp; ST = Sequenztyp; WGS = Whole genome sequencing (Gesamtgenomsequenzierung);

* Bei Lp1-positiven Patientenproben war es nicht immer möglich, den MAb-Typ zu bestimmen. Wenn die Urinprobe mit dem ELISA nicht reaktiv war, konnte nicht festgestellt werden, ob der verursachende Stamm MAb 3/1-positiv oder MAb 3/1-negativ war, da ein negativer Test entweder auf eine niedrige Antigenkonzentration eines MAb 3/1-positiven Stammes oder auf einen MAb 3/1-negativen Stamm zurückzuführen sein könnte. Hingegen war es bei den Umweltproben immer möglich den MAb-(Sub-)Typ zu bestimmen.

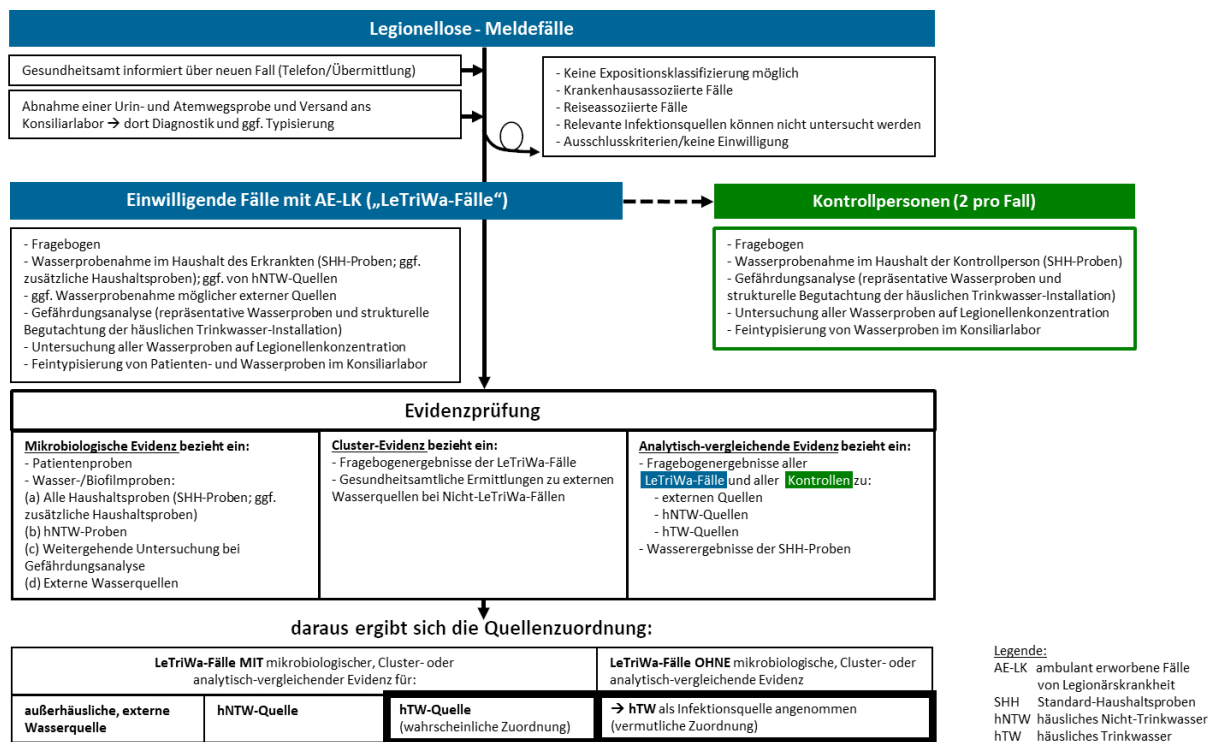
Cluster-Evidenz: Unter Verwendung des Ansatzes von Den Boer et al. (16) definierten wir einen Fall als Teil eines Clusters, wenn die Fallperson die gleiche Exposition zu einer potenziell infektiösen Quelle innerhalb von zwei Jahren nach Auftreten der Symptome hatte, wie mindestens eine andere Fallperson. Der andere Fall oder die anderen Fälle, der/die zu dem Cluster beitragen, können dabei auch andere gemeldete und nicht in die Studie eingeschlossene Fälle von Legionärskrankheit (Nicht-LeTriWa-Fälle) sein. Bei bestimmten Fallkonstellationen kann es vorkommen, dass eine gemeinsame Expositionsquelle für einen Cluster-Fall das hTW ist und für den anderen dem Cluster zugeordneten Fall eine externe Infektionsquelle. Wenn die das Cluster auslösende Wasserquelle z. B. die TWI eines Wohngebäudes mit dazugehörigem Schwimmbad ist, dann wäre die Infektionsquelle für einen dort wohnenden Fall von Legionärskrankheit das hTW und für einen nicht dort wohnenden Fall von Legionärskrankheit (z. B. ein Besucher des Schwimmbads) eine externe Infektionsquelle. Im Folgenden werden diese Konstellationen als „gemischtes“ Cluster bezeichnet.

Analytisch-vergleichende Evidenz: Sie ergibt sich aus dem statistischen Vergleich der Häufigkeit der Exposition unter den LeTriWa-Fällen zu einer möglichen Infektionsquelle mit der Häufigkeit der Exposition unter den Kontrollpersonen. Zum Beispiel kann ein signifikant höherer Anteil der Fälle im Vergleich zu den Kontrollen gegenüber Abwasser exponiert gewesen sein. Die Art der Exposition wurde größtenteils aus den Fragebögen entnommen, aber wir verglichen auch Expositionen gegenüber z. B. MAb 3/1-positivem Trinkwasser, das aus dem Wasserhahn oder der Dusche im Badezimmer entnommen wurde (Standard-Haushaltsproben). So berechneten wir die Anteile der LeTriWa-Fälle und Kontrollen, die gegenüber MAb 3/1-positivem Trinkwasser im Bad exponiert waren und verglichen diese Anteile miteinander. Wenn eine Expositionsvariable als statistisch signifikant identifiziert wurde, berechneten wir den Populations-attributablen Anteil (= der Anteil der Fälle, der verhindert werden kann, wenn die Exposition völlig eliminiert werden könnte) nach der Formel:

$$\frac{\text{Odds Ratio} - 1}{\text{Odds Ratio}} \times \text{Anteil der Fälle mit der Exposition}$$

Zuordnung einer Infektionsquelle zu einem Fall

Wir versuchten, alle relevanten potenziellen Infektionsquellen der LeTriWa-Fälle zu beproben. Sodann wurde den Fällen eine der drei Infektionsquellen (externe Quelle, hNTW-Quelle, hTW-Quelle) entweder auf mikrobiologischer Basis, über eine Cluster-Evidenz oder über die analytisch-vergleichende Evidenz zugeordnet („wahrscheinliche Zuordnung“). Dafür wurde jede Infektionsquelle mit vorliegender Evidenz in die Matrix eingetragen. Dabei war es sowohl möglich, dass für eine Wasserquelle mehr als ein Evidenztyp zutrifft (z. B. mikrobiologisch und Cluster-Evidenz), als auch, dass bei einem Fall zwei Infektionsquellen in Frage kamen. Hatten mehrere unterschiedliche Typen von Infektionsquellen den gleichen Grad an Übereinstimmung und eine der Infektionsquellen war das hTW, so wurde letzteres zugeordnet. Bei allen anderen Fällen entschieden wir nach Einzelfall. Bei den LeTriWa-Fällen, bei denen alle relevanten Infektionsquellen beprobt werden konnten, denen jedoch keine externe, hNTW- oder hTW-Quelle auf Evidenzbasis zugeschrieben werden konnte, wurde angenommen, dass das hTW für die Infektion verantwortlich war („vermutliche Zuordnung“ des hTW; s. Abbildung 3).



⊖ = Fälle, die die Einschlusskriterien für einen LeTriWa-Fall nicht erfüllten.

Abbildung 3: Ausführliches Schema der Infektionsquellensuche

Non-Responder-Analyse

Zu den Non-Respondern zählen – im Gegensatz zu den Nicht-LeTriWa-Fällen, zu denen z. B. auch Krankenhausassoziierte Fälle gehören – nur Fälle von AE-LK, die an der Studie hätten teilnehmen können, aber eine Studienteilnahme abgelehnt hatten und Fälle, die zwar eingewilligt hatten, bei denen die Infektionsquellensuche aber nicht abgeschlossen werden konnte (z. B. weil eine relevante externe Quelle nicht beprobt werden konnte). In einer Non-Responder-Analyse wurden das Alter, Geschlecht und der Wohnort (Stadtbezirksebene) der Non-Responder mit den LeTriWa-Fällen verglichen (Studienteilnehmende).

Datenverarbeitung und statistische Analyse

Die Daten wurden in Microsoft Excel (Microsoft Office Professional Plus 2019, Redmond, WA, USA) verarbeitet und in Microsoft Excel oder in Stata, Version 17 (Stata Corporation, College Station, TX, USA), analysiert. Die statistische Analyse war weitgehend deskriptiv. Fehlende Daten wurden nicht imputiert (mittels statistischer Verfahren ersetzt). Zur Bewertung der analytisch-vergleichenden Evidenz führten wir bivariate Analysen relevanter Variablen durch und berechneten Odds Ratios mit 95 %-Konfidenzintervallen für den Fallstatus mittels der ctable-Funktion in Stata unter Verwendung der Option zur Berechnung exakter p-Werte nach Fisher.

Qualitätssicherung

Die RKI-Mitarbeitenden, die auch Umweltproben nahmen (Haushaltsproben und ggf. externe Proben), waren für die Abnahme von Wasserproben nach DIN EN ISO 19458 (22) zertifiziert und in das Qualitätsmanagementsystem des UBA-Labors eingebunden. Das Labor des UBA ist von der Deutschen Akkreditierungsstelle DAkkS für die Untersuchung von Trinkwasser gemäß Trinkwasserverordnung (2001) akkreditiert (21). Mit Ausnahme der externen Quellen (die nur bei Fällen beprobt wurden) waren die Mitarbeitenden des UBA-Labors bezüglich des Fall- bzw. Kontrollstatus der eingehenden Proben verblindet. Die Entnahme von Wasserproben externer Quellen sowie die Gefährdungsanalysen wurden von einer vom UBA beauftragten akkreditierten Hygieneinspektionsstelle durchgeführt. Deren Mitarbeitende waren ebenfalls in das Qualitätsmanagementsystem des Labors des UBA eingebunden. Ihnen wurde nicht mitgeteilt, ob eine zu untersuchende TWI zu einer Fall- oder einer Kontrollperson gehörte.

Ergebnisse

1. Beschreibende Eckdaten der Studie

1.1. Studienpopulation

Vom 01.12.2016 bis zum 31.08.2020 (45 Monate oder 3 ¾ Jahre) wurden von den Berliner Gesundheitsämtern 486 Fälle von Legionärskrankheit an das RKI übermittelt, für 435 Fälle lagen ausreichende Informationen vor, um sie einer der drei Expositionskategorien „ambulant erworben“ (inkl. pflegeheimassoziiert), krankenhausassoziiert oder reiseassoziiert zuordnen zu können (s. Abbildung 4). Insgesamt konnten wir 337 Fälle als Fälle von AE-LK klassifizieren. Nach Abzug der Fälle, die die Einschlusskriterien nicht erfüllten, verblieben 258 Fälle, die für den Einschluss in die Studie in Frage kamen. Von diesen lehnten 111 (43 %) eine Teilnahme schon gegenüber dem Gesundheitsamt (primäre Ablehnung der Studienteilnahme; n = 73) oder gegenüber den RKI-Mitarbeitenden (sekundäre Ablehnung; n = 26) ab, oder sie willigten zwar in die Studie ein, jedoch konnte die Infektionsquellensuche bei ihnen nicht abgeschlossen werden (z. B. weil eine relevante potenzielle externe Quelle nicht beprobt werden konnte; n = 12). 147 (56 %) Fälle willigten zur Studienteilnahme ein („LeTriWa-Fälle“). Der Vergleich der „Non-Responder“ (n = 111) mit den 147 LeTriWa-Fällen ergab keine signifikanten Unterschiede bezüglich Alter und Geschlecht, es gab aber einen signifikanten Unterschied bezüglich der Verteilung ihrer Wohnorte in den Berliner Bezirken.

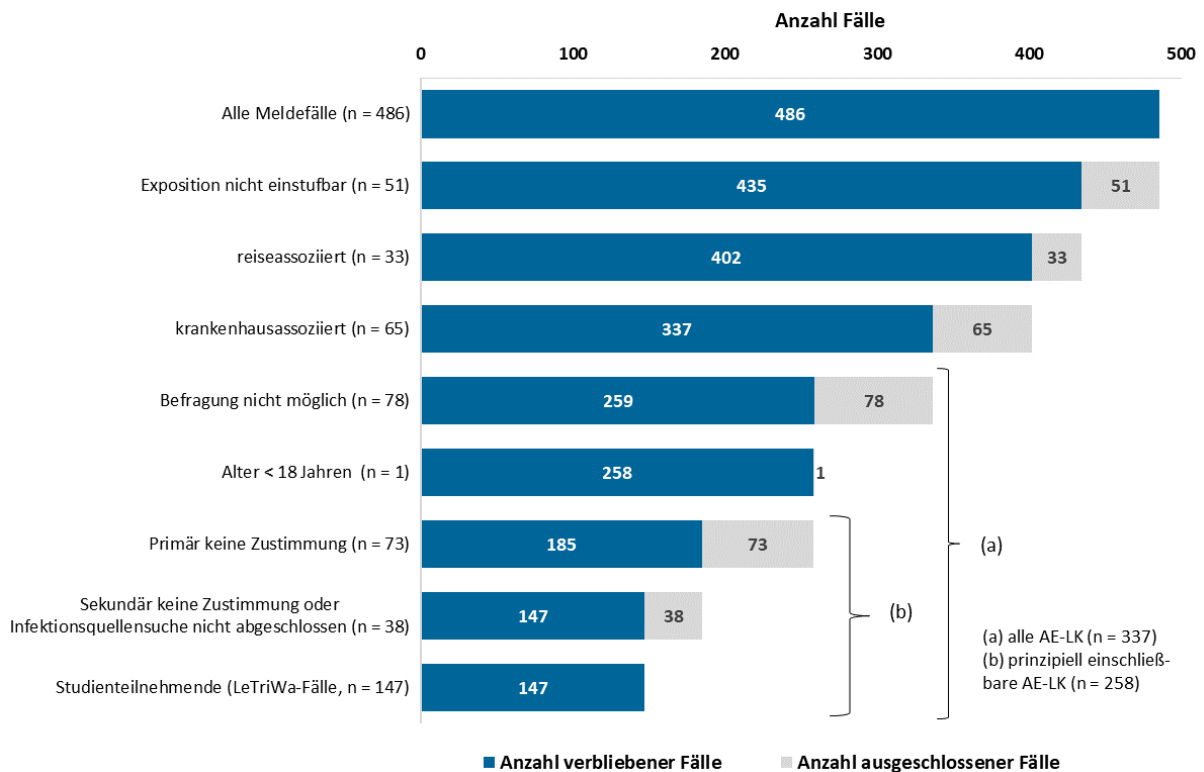


Abbildung 4: Aufteilung der an das RKI übermittelten Fälle von Legionärskrankheit nach Kategorien. AE-LK = ambulant erworbene Fälle von Legionärskrankheit.

Die LeTriWa-Fälle (n = 147) waren im Median 68 Jahre alt (Spannweite 25–93 Jahre), häufiger männlich (65 %) und fast zur Hälfte Raucher (48 %). Etwa ein Drittel der Fälle (30 %) hatte keine Vorerkrankungen, 54 % hatten eine leichte prädisponierende Vorerkrankung (z. B. Vorerkrankungen der Lunge oder des Herzens) und 16 % eine stark disponierende Vorerkrankung (Immunschwäche). Insgesamt rekrutierten wir 217 Kontrollpersonen, die sich bei den Basisvariablen – bis auf Raucherstatus und Bildungsgrad – nicht signifikant von den Fallpersonen unterschieden.

1.2. Mikrobiologische Ergebnisse der LeTriWa-Fälle

Bei 82 (56 %) der 147 LeTriWa-Fälle stand eine Urin- und Atemwegsprobe zur weiteren Typisierung zur Verfügung, bei 51 (35 %) LeTriWa-Fällen stand nur eine Urinprobe zur Verfügung und bei den restlichen 14 (10 %) LeTriWa-Fällen war nur die initial gewonnene Urinprobe positiv. Bei ihnen konnte jedoch weder die initial genommene positive Urinprobe asserviert noch eine zusätzliche Patientenprobe genommen und ans KL verschickt werden. Somit lagen für insgesamt 133 (90 %) der 147 LeTriWa-Fälle Patientenproben vor, die im KL untersucht werden konnten.

Von den insgesamt 82 zur Verfügung stehenden tiefen Atemwegsproben lagen bei 56 (68 %) Sputumproben, bei 23 (28 %) lag Trachealsekret und bei 2 (2 %) eine Bronchiallavage vor. Bei einer Atemwegsprobe war der Ursprung nicht bekannt. Von den 82 Atemwegsproben waren 50 (61 %) im KL PCR-positiv und von diesen 11 Kultur-positiv auf *L. pneumophila*. Der ST konnte bei 25 Fällen identifiziert werden (30 % der 82 Fälle mit Atemwegsproben bzw. 17 % von allen 147 LeTriWa-Fällen). Dabei wurde am häufigsten, nämlich 11-mal (44 %) der ST182 („Berliner Klon“) identifiziert und 14-mal andere Sequenztypen.

Von den 133 Fällen mit eingesandter Urinprobe konnte die Legionelleninfektion bei 113 (85 %) mittels eines zweiten Urinantigentests bestätigt werden. Bei 83 (73 %) der 113 LeTriWa-Fälle mit im KL

bestätigter Legionelleninfektion konnte aus dem Urin der MAb-Typ untersucht werden, dieser war immer MAb 3/1-positiv (virulenzassoziiert). Wenn die Urinproben mit dem ELISA nicht reaktiv waren, konnte aus dem Urin nicht festgestellt werden, ob der verursachende Stamm MAb 3/1-positiv oder MAb 3/1-negativ war, da ein negativer Test entweder auf eine niedrige Antigenkonzentration eines MAb 3/1-positiven Stammes oder auf die Tatsache zurückzuführen sein könnte, dass der verursachende Stamm MAb 3/1-negativ war. In 49 (59 %) der Urinproben konnte eine weiterführende MAb-Typisierung den MAb-Subtyp „Knoxville“ identifizieren. Darüber hinaus identifizierten wir zusätzlich noch in fünf respiratorischen Proben den MAb-Subtyp, der viermal zu den MAb 3/1-positiven Stämmen gehörte (zweimal „Benidorm“, jeweils einmal „Knoxville“ und „Allentown“) und einmal zu den MAb 3/1-negativen Stämmen (Subtyp „OLDA“). Somit waren 50 (93 %) von 54 Erkrankten mit identifizierbarem MAb-Subtyp mit einem Stamm des MAb-Subtyps Knoxville, zwei (4 %) mit einem Stamm des MAb-Subtyps Benidorm und jeweils einer mit dem MAb-Subtyp Allentown (2 %) und OLDA (2 %) infiziert.

1.3. Anzahl beprobter Infektionsquellen der LeTriWa-Fälle

Bei 145 (99 %) aller 147 LeTriWa-Fälle wurden die Standard-Haushaltsproben genommen, bei 76 (51 %) darüber hinaus auch zusätzliche Haushaltsproben. Bei 66 (45 %) Fällen wurden auch hNTW-Quellen und bei 65 (44 %) potenzielle externe Infektionsquellen beprobt. Bei 46 (31 %) der 147 LeTriWa-Fälle wurde eine Gefährdungsanalyse im Rahmen der Studie durchgeführt. Die Beprobung des Haushalts wurde im Median 23 Tage nach Auftreten der Symptome durchgeführt, mit einem Minimum von 8 Tagen und einem Maximum von 175 Tagen. Der Durchschnitt lag bei 29 Tagen. Proben von externen Quellen wurden im Median 50 Tage nach Auftreten der Symptome entnommen, mit einem Minimum von 13 Tagen und einem Maximum von 431 Tagen. Der Durchschnitt lag hier bei 84 Tagen.

2. Ergebnisse der Infektionsquellensuche nach Evidenztyp

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Infektionsquellensuche zunächst anhand der drei Evidenztypen (mikrobiologische, Cluster- und analytisch-vergleichende Evidenz) beschrieben.

2.1. Mikrobiologische Evidenz

Basierend auf der mikrobiologischen Evidenz konnten wir 56 (38 %) LeTriWa-Fälle einer wahrscheinlichen Quelle zuordnen (s. Tabelle 3; ab Kategorie 2). Davon ordneten wir 19 (34 %) allein aufgrund des Nachweises eines MAb 3/1-positiven Umweltstammes einer Wasserquelle zu, zu der die erkrankte Person exponiert war (s. Tabelle 3, Kategorie 2). Bei weiteren 9, 18 und 7 Fällen wurde eine Wasserquelle zugeordnet, weil der MAb-Typ, MAb-Subtyp oder ST zwischen Patienten- und Umweltprobe übereinstimmte. Bei 3 weiteren Fällen konnte ein Umweltstamm (ST182) mit einem Patientenstamm (ST182) mittels Gesamtgenomsequenzierung verglichen werden. Die Unterschiede betragen weniger als 3 SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms). In 6 Fällen stimmte der MAb-(Sub-)Typ des Falls mit dem MAb-(Sub-)Typ der Wasserquelle überein, der ST jedoch nicht, so dass die jeweilige Wasserquelle auf mikrobiologischer Basis nicht zugeordnet werden konnte (Teilmenge von Kategorie 1b in Tabelle 3).

Tabelle 3: Mikrobiologische Evidenz. Konstellationen der Typisierungsergebnisse von Fall- bzw. Umweltstämmen für die für jeden Fall am besten passende(n) Wasserquelle(n) und Anzahl der LeTriWa-Fälle pro Kategorie; N = 147.

Kategorie	Patientenstamm*	Umweltstamm*	Score	Anzahl Fälle
1a	Lp1 mit/ohne weitere Informationen	Keine Probe genommen ODER Keine Legionellen nachgewiesen	0	29
1b	Lp1 und ggf. MAb-Typ, MAb-Subtyp oder ST bekannt	Spezies, SG, MAb-Typ, MAb-Subtyp oder ST nicht übereinstimmend	0	45
1c	Lp1, MAb-Typ nicht bekannt	Lp1, MAb-Typ 3/1-negativ	0	17
2	Lp1, MAb-Typ nicht bekannt	Lp1, MAb-Typ 3/1-positiv	3	19
3	Lp1, MAb-Typ 3/1 bekannt	Lp1, MAb-Typ 3/1-identisch	4	9
4	Lp1, MAb-Subtyp bekannt	Lp1, MAb-Subtyp identisch	5	18
5	Lp1, MAb-Subtyp und ST bekannt	Lp1, MAb-Subtyp und ST identisch	6	7
6	Lp1, MAb-Subtyp, ST und WGS bekannt	Lp1, MAb-Subtyp, ST und WGS identisch	7	3

SG = Serogruppe; Lp1 = *Legionella pneumophila* Serogruppe 1; MAb-Typ/-Subtyp = monoklonaler Antikörpertyp/-subtyp;

ST = Sequenztyp; WGS = Whole genome sequencing (Gesamtgenomsequenzierung);

* Bei Lp1-positiven Patientenproben war es nicht immer möglich, den MAb-Typ zu bestimmen. Wenn die Urinprobe mit dem ELISA nicht reaktiv war, konnte nicht festgestellt werden, ob der verursachende Stamm MAb 3/1-positiv oder MAb 3/1-negativ war, da ein negativer Test entweder auf eine niedrige Antigenkonzentration eines MAb 3/1-positiven Stammes oder auf einen MAb 3/1-negativen Stamm zurückzuführen sein könnte. Hingegen war es bei den Umweltpollen immer möglich den MAb-(Sub-)Typ zu bestimmen.

2.1. Cluster-Evidenz

Bei 16 LeTriWa-Fällen identifizierten wir eine Exposition zu einer Infektionsquelle, zu der mindestens ein weiterer Fall (LeTriWa- oder Nicht-LeTriWa-Fall) innerhalb von zwei Jahren exponiert war. Das Intervall zwischen dem Auftreten des 1. und des 2. Falls eines Clusters betrug mindestens 11 Tage und maximal 460 Tage (ca. 15 Monate). Der Mittelwert und der Median betragen 186 bzw. 185 Tage (ca. 6 Monate). Anhand der gemeinsamen Bewertung mit den Ergebnissen der Untersuchungen der Nicht-LeTriWa-Fälle konnten 10 Cluster identifiziert werden, mit insgesamt 25 Fällen (16 LeTriWa-Fälle und 9 Nicht-LeTriWa-Fälle). Die 10 Cluster bestanden aus 9 Clustern mit 2 Fällen und einem Cluster mit 7 Fällen und teilten sich wie folgt auf:

- 3 Cluster (mit jeweils 2 Fällen), bei denen die dem Cluster zugehörigen Fälle eine Exposition zur gleichen externen Quelle angegeben hatten.
- 3 Cluster (mit jeweils 2 Fällen), bei denen die beteiligten Fälle zu ihrem hTW exponiert waren. Dazu zählt ein Cluster, welches aus einem Reinfektionsfall bestand (d. h. eine Person erkrankte zweimal an der Legionärskrankheit (Zeitspanne zwischen den Infektionen: 7 Monate), wobei die zweite Infektion nicht im Zusammenhang mit der ersten stand und jede Infektion für sich als separater Fall übermittelt wurde (30). Diese Erkrankungsereignisse der Einzelperson bildeten somit aufgrund der zwei Infektionen das Cluster).
- 3 gemischte Cluster (mit jeweils 2 Fällen), bei denen die Wasserquelle bei einem der assoziierten Fälle eine externe Quelle war, während sie bei dem anderen assoziierten Fall formal das hTW war (z. B. ein Wohnkomplex mit Schwimmbad mit einem dort nicht wohnenden Fall (extern, z. B. Besucher des Schwimmbads) und einem dort wohnenden Fall).
- 1 gemischtes Cluster mit 7 Fällen, bei dem dieselbe Wasserquelle (Krankenhaus) bei 3 Fällen eine externe Quelle (Arbeitsplatz oder Besucher) war und 4 andere Fälle als Patientinnen/Patienten erkrankten (krankenhausassoziiert).
- Es gab kein Cluster mit Hinweisen auf eine Infektion durch eine hNTW-Quelle.

In 4 (40 %) der 10 Cluster gehörte mindestens ein Fall nicht zum selben Berliner Bezirk.

2.2. Analytisch-vergleichende Evidenz

Keine der im Fragebogen abgefragten Expositionen zu externen, außerhäuslichen Infektionsquellen war statistisch signifikant mit dem Auftreten von AE-LK assoziiert. Basierend auf den Ergebnissen der Fragebögen identifizierten wir unzureichend desinfizierte Zahnprothesen als mögliche hNTW-Quelle. Diese war signifikant mit dem Fallstatus assoziiert (siehe Abschnitt „hNTW als Infektionsquelle für AE-LK“). Auf Grundlage der mikrobiologischen Ergebnisse der Standard-Haushaltproben konnten wir zeigen, dass der Fallstatus mit dem Vorhandensein eines MAb 3/1-positiven Stammes in mindestens einer der fünf Standard-Haushaltproben hochsignifikant assoziiert war (siehe Abschnitt „hTW als Infektionsquelle für AE-LK“, Tabelle 10).

3. Ergebnisse der Infektionsquellensuche nach Art der Quelle

Die oben beschriebenen Ergebnisse der drei Evidenztypen werden nun nach Art der Infektionsquelle (externe, hNTW- und hTW-Quelle) dargestellt.

3.1. Externe Wasserquelle als Infektionsquelle für AE-LK

3.1.1. Mikrobiologische Evidenz für eine externe Infektionsquelle

Insgesamt führten wir 82 externe, außerhäusliche Beprobungen bei 65 (44 %) aller 147 LeTriWa-Fälle durch, d. h. wir haben 0,56 externe Beprobungen pro LeTriWa-Fall durchgeführt (82/147). Bei 25 (17 %) der 147 LeTriWa-Fälle fanden wir einen MAb 3/1-positiven Stamm in einer der externen Wasserquellen. Bei 4 Fällen wurde eine mögliche externe Quelle jedoch nicht zugeordnet, da der ST der Wasserquelle (ST182) nicht mit dem der erkrankten Person übereinstimmte (ST war undefiniert, aber ST182 wurde ausgeschlossen). Die Infektionsquellen der verbliebenen 21 Fälle waren externe Trinkwasserquellen und keine war eine externe Nicht-Trinkwasserquelle (z. B. gechlortes Badebeckenwasser oder Abwasser). Die Mehrheit der Fälle mit mikrobiologischer Evidenz für eine externe Infektionsquelle war dabei gegenüber einer untersuchungspflichtigen TWI exponiert (12 (75 %) von 16 Fällen mit vorhandener Information).

Die Exposition gegenüber mikrobiologisch bestätigten Infektionsquellen erfolgte in 10 (48 %) der 21 Fälle am Arbeitsplatz, darunter bei drei Fällen in jeweils einem Gastronomie-Betrieb (Bäckerei, Großküche, Café), bei drei Fällen in jeweils einem Firmen-/Bürogebäude (Druckerei, Schleiferei, Kanzlei), bei zwei Fällen in einem Krankenhaus (ein Fall als dort Arbeitender und ein Fall als dort temporär Arbeitender) und bei je einem Fall bei einer Tätigkeit in der ambulanten Pflege sowie einer Tätigkeit als Reinigungskraft in einer Fabrik. In weiteren 7 Fällen (33 %) erfolgte die mikrobiologische Bestätigung in einer Dusche eines Schwimmbades, in 2 Fällen (9 %) in einer besuchten Wohnung und jeweils in einem Fall (5 %) in einer Werkstatt (im Keller eines Wohnhauses, in dem der Erkrankte selbst nicht wohnte) und in einem besuchten Krankenhaus (, Spalte „mikrobiologische Evidenz“). Der infizierende Stamm war in allen Fällen ein MAb 3/1-positiver Stamm und wurde bei 8 (38 %) der 21 Fälle im Duschwasser (von besuchten Schwimmbädern oder am Arbeitsplatz), bei weiteren 9 (43 %) im Wasser aus dem Wasserhahn und bei 4 Fällen (19 %) sowohl im Wasser aus dem Wasserhahn als auch im Duschwasser gefunden.

3.1.2. Cluster-Evidenz für eine externe Infektionsquelle

Insgesamt konnten wir bei 10 LeTriWa-Fällen eine Zugehörigkeit zu insgesamt 7 (z. T. gemischten) Clustern mit Evidenz zu einer externen Infektionsquelle identifizieren (Tabelle 4, Spalte „Cluster-

Evidenz“), zu denen auch noch Nicht-LeTriWa-Fälle beitrugen. In 5 der 7 Cluster waren insgesamt 7 LeTriWa-Fälle involviert, für die auch mikrobiologische Evidenz vorlag (damit waren 7 (33 %) von 21 Fällen mit mikrobiologischem Nachweis auch einem Cluster zugehörig). Bei weiteren 3 LeTriWa-Fällen war die Definition für ein Cluster mit externer Quelle ohne mikrobiologische Evidenz erfüllt.

Mit insgesamt 3 Clustern identifizierten wir Schwimmbäder als häufigste externe Infektionsquelle mit Cluster-Evidenz. Die anderen externen Infektionsquellen mit Cluster-Evidenz kamen vereinzelt vor und sind in Tabelle 4 dargestellt. Neun der 10 LeTriWa-Fälle mit Cluster-Evidenz für eine externe Infektionsquelle wurde die entsprechende Quelle auch als wahrscheinlich ursächliche Infektionsquelle zugeordnet. Bei dem anderen Fall gab es jedoch auch eine mikrobiologische Evidenz für eine andere externe Quelle, welche bei der Quellenzuschreibung den Vorrang erhielt (s. Abschnitt „Diskrepante Evidenzbefunde“).

Insgesamt wurden somit 9 von 23 (39 %) LeTriWa-Fällen u. a. aufgrund von Cluster-Evidenz einer externen Quelle zugeordnet (s. Tabelle 4, Spalte „Cluster-Evidenz“).

Tabelle 4: Auflistung der externen Infektionsquellen der 147 LeTriWa-Fälle, für die es eine mikrobiologische oder Cluster-Evidenz gab, sowie die Zahl der Fälle, die der jeweiligen Quelle zugeordnet wurden; gruppiert nach Evidenztyp. Es ist zu beachten, dass nicht jede Quelle mit Evidenz dem Fall als wahrscheinliche Infektionsquelle zugeordnet wurde (s. Erklärungen im Text und Abschnitt „Diskrepante Evidenzbefunde“).

	Mikrobiologische Evidenz ¹		Cluster-Evidenz ³		zugeordnete Fälle
	Infektionsquelle (zuordenbar)	Anzahl Quellen	zugeordnete Fälle	Anzahl Quellen	zugeordnete Fälle
externe Quelle					
Arbeitsort (ohne Krankenhaus)	8	8	1	1	
Schwimmbad-Dusche	7	7	3 ⁷	4	
Besuchte Wohnung	2	2	0	0	
Werkstatt	1	1	1	1	
Krankenhaus (Arbeitsort bzw. Besuch)	1	3	1 ⁶	3 ⁶	
Golfplatz	0	0	1	0	
Zwischensumme (Anzahl zuordenbarer Infektionsquellen)	19^{1,2}	NA	7⁵	NA	
Zwischensumme (Anzahl zugeordneter LeTriWa-Fälle)	NA	21³	NA	9³	23/147 (16 %) ⁴

NA = nicht anwendbar

¹ individuelle, fallbezogene Evidenz ab Score 3, d. h. auch Übereinstimmungen von MAb 3/1-negativen Stämmen

² bei einem Fall können mehrere Infektionsquellen verdächtig sein

³ eine Infektionsquelle kann (bei Clustern) mit mehreren Fällen assoziiert sein, LeTriWa- oder Nicht-LeTriWa-Fälle

⁴ einem Fall kann eine Infektionsquelle u. U. auf Grundlage von mikrobiologischer UND Cluster-Evidenz zugeordnet werden, daher ergibt sich aus den „Zwischensummen (Anzahl zugeordneter LeTriWa-Fälle)“ nicht unbedingt die Anzahl in der rechten Spalte

⁵ in 5 der 7 Cluster gab es mindestens einen Nicht-LeTriWa-Fall

⁶ die Infektionsquelle „Krankenhaus“ fungierte bei zwei Fällen als Arbeitsort und bei einem anderen als besuchter Ort

⁷ bei einem Cluster fungierte eine Trinkwasserquelle für einen Clusterfall als hTW-Quelle und für den zweiten Clusterfall als externe Quelle; die Fälle werden in den jeweiligen Kategorien (häusliche Trinkwasserquelle bzw. externe Quelle) aufgeführt

3.1.3. Analytisch-vergleichende Evidenz für eine externe Infektionsquelle

Der Fallstatus war mit keiner der insgesamt 35 Variablen zu potenziellen externen Infektionsquellen, die im Fragebogen abgefragt wurden, statistisch signifikant assoziiert (z. B. Friseur- oder Zahnarztbesuch, Spazieren bei regennasser Straße oder „außerhalb des eigenen Haushalts geduscht“). Eine Auflistung der abgefragten Expositionen ist in Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5: Auflistung der abgefragten Expositionen zu potenziellen externen Infektionsquellen.

Expositionen zu potenziellen externen Infektionsquellen	
Abwasser	Inhalationstherapie außerhäuslich
Asphalt-bearbeitenden Maschinen	Kühlflüssigkeiten
außerhalb des Haushalts geduscht	Kühltürme
außerhalb des Haushalts übernachtet	LKW-Benutzung
Autobenutzung	Nutzung einer Scheibenwischanlage
Autofahren bei nasser Straße	physiotherapeutische/physikalische Therapie mit Wasser
Autofahren i. R. von beruflichen Tätigkeiten	Schwimmbadbesuch
Autowaschanlage	Spazieren bei nasser Straße
Badeseen	Spring-/Zierbrunnen außerhalb des Haushalts
Benutzung der öffentlichen Verkehrsmittel	Sprinkleranlagen außerhäuslich
Besuch im Fitnessstudio	Spülmaschine (z. B. auf Arbeit)
Besuch im Gartencenter	Vernebelungskosmetik außerhäuslich
Besuch von Sauna & Spa Einrichtungen	Wasserfontänen
Eiswürfel außerhalb des Haushalts verzehrt bzw. gekauft und verzehrt	Wasser-Vernebelung (z. B. Obst-/Gemüse-Abteilung in Supermärkten)
Erdarbeiten	Whirlpools
Friseurbesuch (inkl. Haarwäsche/-befeuchtung)	Wohnmobilnutzung
Geburtsbadewannen	Zahnarztbesuch
Hochdruckreiniger	

3.2. hNTW als Infektionsquelle für AE-LK

3.2.1. Mikrobiologische Evidenz für eine hNTW-Quelle

Insgesamt nahmen wir bei 66 (45 %) aller LeTriWa-Fälle Proben von 95 hNTW-Quellen, im Durchschnitt von 0,65 Quellen pro LeTriWa-Fall. Wir fanden Legionellen in 17 (18 %) der 95 möglichen Quellen. In 4 Fällen identifizierten wir eine MAb 3/1-positive hNTW-Quelle, davon bei 3 Fällen in Übereinstimmung mit dem Patientenstamm (s. Tabelle 6): einen Luftbefeuchter, eine Gießkanne und einen Wasserspender mit integriertem Wasserfilter, die jedoch alle nicht als Infektionsquelle zugeordnet wurden, weil auch das Trinkwasser MAb 3/1-positive Stämme enthielt und damit den Vorrang bei der Quellenzuschreibung erhielt (s. Abschnitt „Diskrepante Evidenzbefunde“). Wir haben bei 18 LeTriWa-Fällen die Zahnprothese bzw. deren Aufbewahrungsbehältnisse beprobt und konnten in 2 Fällen Legionellen nachweisen. Einmal konnten im Abstrichmaterial einer Zahnprothese Legionellen bestätigt werden, jedoch nicht die Spezies *L. pneumophila*. In einem Abstrich, welcher von der Zahnprothese genommen und in der Aufbewahrungsflüssigkeit eingeschickt wurde, konnte *L. pneumophila* Serogruppe 1 nachgewiesen werden. Nur einer dieser 18 Fälle gehörte zu den 9 Fällen, die basierend auf analytisch-vergleichender Evidenz der hNTW-Quelle (Zahnprothesen) zugeordnet wurden (s. Abschnitt „Analytisch-vergleichende Evidenz für eine hNTW-Quelle“).

3.2.2. Cluster-Evidenz für eine hNTW-Quelle

Keine hNTW-Quelle war mit einem Cluster assoziiert.

Tabelle 6: Auflistung der häuslichen Nicht-Trinkwasserquellen der 147 LeTriWa-Fälle, für die es eine mikrobiologische oder Cluster-Evidenz gab, sowie die Zahl der Fälle, die der jeweiligen Quelle zugeordnet wurden; gruppiert nach Evidenztyp. Es ist zu beachten, dass nicht jede Quelle mit Evidenz dem Fall als wahrscheinliche Infektionsquelle zugeordnet wurde (s. Erklärungen im Text und Abschnitt „Diskrepante Evidenzbefunde“).

Infektionsquelle (zuordenbar)	Mikrobiologische Evidenz ¹		Cluster-Evidenz		zugeordnete Fälle
	Anzahl Quellen	zugeordnete Fälle	Anzahl Quellen	zugeordnete Fälle	Anzahl Fälle
häusliche Nicht-Trinkwasserquelle					
Gießkanne	1	0	0	0	
Raumluftbefeuchter	1	0	0	0	
Wasserspender mit integriertem Wasserfilter	1	0	0	0	
Zwischensumme (Anzahl zuordenbarer Infektionsquellen)	3 ^{1,2}	NA	0	NA	
Zwischensumme (Anzahl zugeordneter LeTriWa-Fälle)	NA	0	NA	0	0/147 (0 %)

NA = nicht anwendbar

¹ individuelle, fallbezogene Evidenz ab Score 3, d. h. auch Übereinstimmungen von MAb 3/1-negativen Stämmen

² bei einem Fall können mehrere Infektionsquellen verdächtig sein

3.2.3. Analytisch-vergleichende Evidenz für eine hNTW-Quelle

In der bivariaten Analyse betrug das Odds Ratio für das Tragen von Zahnprothesen 1,7 (95 % KI = 1,1–2,6; p = 0,03). Wenn für Altersgruppe, auch für 5-Jahres Altersgruppen, adjustiert wurde, änderte dies den Effekt nicht (adjustiertes OR = 1,7; 95 % KI = 1,1–2,7; p = 0,03).

In der stratifizierten Analyse (Einschluss nur derjenigen, die eine Zahnprothese trugen) fanden wir heraus, dass der Effekt des Tragens von Zahnprothesen durch zwei andere Variablen modifiziert wurde: (1) das Einlegen der Zahnprothese in eine Desinfektionslösung und (2) Alkoholkonsum, d. h. nicht alkoholabstinent zu sein. Das höchste OR mit 3,4 (95 % KI = 1,2–9,7) hatten Fälle, die keine Reinigungslösung verwendeten und alkoholabstinent waren (s. Tabelle 7; rechte zwei Spalten). Zu dieser Gruppe zählten 15 LeTriWa-Fälle, aber nur 9 (6 %) waren nicht schon durch eine andere Evidenz einer anderen Infektionsquelle zugeordnet. Das entsprechende Populations-attributable Risiko betrug 7 %.

Tabelle 7: Assoziation zwischen dem Tragen von Zahnprothesen, mit/ohne Reinigung in Desinfektionsmittel, mit/ohne Alkoholabstinenz und Legionärskrankheit. N = Anzahl Fälle bzw. Kontrollen mit vorhanden Informationen zu allen drei analysierten Variablen.*

Variable	LeTriWa-Fälle (N = 127) n (%)	Kontrollen (N = 211) n (%)	Odds Ratio (95 % KI)	p-Wert	Odds Ratio (95 % KI)	p-Wert
trägt keine ZP	74 (58 %)	138 (65 %)	1 (Referenz)			
trägt ZP, Reinigungslösung ja, nicht alkoholabstinent	10 (8 %)	27 (13 %)	0,7 (0,3–1,5)	0,35	1 (Referenz)	
trägt ZP, Reinigungslösung ja, alkoholabstinent	14 (11 %)	12 (6 %)	2,2 (1,0–5,0)	0,06	3,2 (1,1–9,1)	0,03
trägt ZP, Reinigungslösung nein, nicht alkoholabstinent	14 (11 %)	22 (10 %)	1,2 (0,6–2,5)	0,64	1,7 (0,6–4,6)	0,28
trägt ZP, Reinigungslösung nein, alkoholabstinent	15 (12 %)	12 (6 %)	2,3 (1,0–5,2)	0,04	3,4 (1,2–9,7)	0,02

ZP = Zahnprothese, KI = Konfidenzintervall. * Da die Fragen zum Tragen und Reinigen der Zahnprothese erst nachträglich im Fragebogen aufgenommen wurden, liegen diese Daten nicht für alle Fälle bzw. Kontrollen vor.

LeTriWa-Fälle waren mit keiner anderen der insgesamt 24 abgefragten möglichen Expositionen zu einer hNTW-Quelle (z. B. Aquarium, Raumluftbefeuchter oder Nutzung eines Gartenschlauchs) signifikant assoziiert. Eine Übersicht der abgefragten Variablen findet sich in Tabelle 8.

Tabelle 8: Auflistung der abgefragten Expositionen zu potenziellen häuslichen Nicht-Trinkwasserquellen.

Expositionen zu potenziellen häuslichen Nicht-Trinkwasserquellen	
Aquarium	Raumluftbefeuchter
CPAP-Maske	Spring-/Zimmerbrunnen im Haushalt
Vernebelungskosmetik zu Hause	Sprinkleranlagen zu Hause
Gartendusche	Tragen einer Beißschiene
Gartenschlauch	Tragen einer Zahnprothese
Heimklimagerät	Tragen einer Zahnprothese, Zahnspange oder Beißschiene
Heizkörperbefeuchtung	Tragen einer Zahnspange
Inhalationstherapie zu Hause	Wasserfiltergeräte
mit Blumenerde hantiert	Zahnprothese, nachts getragen
mit Kompost hantiert	Zahnprothese, tagsüber getragen
Munddusche	Wassersprudelgerät (z. B. Sodastream)
private Wasserquelle am Haus	Wasservernebelung zur Befeuchtung/Bewässerung von Pflanzen im eigenen Gewächshaus

3.3. hTW als Infektionsquelle für AE-LK

3.3.1. Mikrobiologische Evidenz für hTW

In allen fünf Standard-Haushaltsproben gelang ein mikrobiologischer Nachweis, sodass wir alle Arten von Standard-Haushaltsproben als mögliche Infektionsquelle den Fällen zuordnen konnten (s. Tabelle 9). Darüber hinaus gab es einzelne Proben von zusätzlich genommenen Haushaltsproben, z. B. aus dem Wasserhahn einer Küchenspüle oder aus der Schwimmbaddusche eines Wohnkomplexes, die ebenfalls auf mikrobiologischer Ebene eine Zuordnung der Wasserquelle zu einem Fall erlaubten. Wasserproben aus weitergehenden Untersuchungen (Zweck b und (im Rahmen der Studie genommene) Zweck c-Proben) bestätigten in 9 Fällen den Nachweis aus den Standard-Haushaltsproben bzw. in einem Fall den Nachweis aus den zusätzlichen Haushaltsproben und führten bei 2 zusätzlichen LeTriWa-Fällen zu weiteren Zuschreibungen von hTW als wahrscheinliche Infektionsquelle. Von diesen konnte in einem Fall nur durch die genommene Zweck c-Probe im Rahmen der weitergehenden Untersuchung die mikrobiologische Evidenz für die Ansteckung durch das hTW hergestellt werden. In einem Fall stimmte der ST des Patienten nicht mit dem in der betreffenden Wasserprobe überein. Damit war für diesen Fall eine sicherere Zuschreibung von hTW nicht möglich. Aufgrund der Identifikation eines MAb 3/1-positiven Stammes in einer der Standard-Haushaltsproben wurde der Fall auf Basis der analytisch-vergleichenden Evidenz dennoch dem hTW zugeschrieben (s. Abschnitt „Analytisch-vergleichende Evidenz für hTW“). Insgesamt wurde hTW als Infektionsquelle 35 LeTriWa-Fällen auf Basis mikrobiologischer Evidenz zugeordnet (s. Tabelle 9).

3.3.2. Cluster-Evidenz für hTW

Ein LeTriWa-Fall gehörte zu einem Cluster mit hTW als Infektionsquelle (Wohnhaus mit Schwimmbad), bei dem es einen zusätzlichen mikrobiologischen Nachweis gab (in der Schwimmbaddusche im Haus; Tabelle 9). Ein weiteres Cluster ergab sich aufgrund eines Reinfektionsfalls (eine Person mit zwei voneinander getrennten Legionellen-Infektionen), zu dem es eine zusätzliche mikrobiologische Evidenz für hTW gab (Zweck c-Probe aus der Spüle) (30). Jeweils 2 LeTriWa-Fälle waren in 2 anderen

Clustern zu hTW desselben Trinkwassersystems exponiert gewesen, zu beiden Clustern fehlt aber eine mikrobiologische Bestätigung. Somit wurden insgesamt 4 hTW-Quellen einem Cluster als auslösend zugeordnet, denen 6 LeTriWa-Fälle u. a. aufgrund von Cluster-Evidenz zugeordnet wurden (Tabelle 9).

Tabelle 9: Auflistung der häuslichen Trinkwasserquellen der 147 LeTriWa-Fälle, für die es eine mikrobiologische oder Cluster-Evidenz gab, sowie die Zahl der Fälle, die der jeweiligen Quelle zugeordnet wurden; gruppiert nach Evidenztyp. Unterschiedliche Entnahmestellen aus der gleichen Trinkwasserversorgung und unterschiedliche Probenahmetypen derselben Entnahmestelle wurden bei der mikrobiologischen Evidenz als separate Proben dargestellt, wurden jedoch nicht als unterschiedliche Infektionsquellen gewertet. Es ist zu beachten, dass nicht jede Quelle mit Evidenz dem Fall als wahrscheinliche Infektionsquelle zugeordnet wurde (s. Erklärungen im Text und Abschnitt „Diskrepante Evidenzbefunde“).

Infektionsquelle (zuordenbar)	Mikrobiologische Evidenz ¹		Cluster-Evidenz ³	zugeordnete Fälle
	Anzahl Proben	Anzahl Quellen	Anzahl Quellen	Anzahl Fälle
häusliche Trinkwasserquellen				
Standard-Haushaltsproben				
Wasserhahnwasser, Zweck c	23	0		
Wasserhahn, Biofilm	13	0		
Wasserhahnwasser, Zweck b	17	0		
Dusche, Zweck c	19	0		
Dusche, Biofilm	10	0		
zusätzliche Haushaltsproben				
Spüle (Küche)	4	1 ⁶		
Schwimmbad-Dusche im Haus	1	1 ⁵		
zweites Badezimmer (Wasserhahn)	3	0		
Proben eines zweiten Haushalts				
Zweck c, Zweck b oder Biofilm	4	0		
Proben aus weitergehender Untersuchung (i. R. einer Gefährdungsanalyse)				
Wasserhahnwasser, Zweck b	36	1		
Trinkwassererwärmer, Zweck b	2	0		
Wasserhahnwasser, Zweck c	6	0		
häusliches Trinkwasser, Zugehörigkeit zu einem Cluster	0	2		
Zwischensumme (Anzahl zuordenbarer Infektionsquellen)	35	4		
Zwischensumme (Anzahl an Wasserproben der Infektionsquellen)	139 ^{1,2}	NA		
Zwischensumme (Anzahl zugeordneter LeTriWa-Fälle)	35	6 ³		39/147 (26,5 %) ⁴

NA = nicht anwendbar

¹ individuelle, fallbezogene Evidenz ab Score 3, d. h. auch Übereinstimmungen von MAb 3/1-negativen Stämmen

² für einen Fall kann der mikrobiologische Nachweis für hTW über mehrere Entnahmestellen bzw. Probenahmetypen erfolgt sein, z. B. durch eine Zweck b-Probe vom Wasserhahnwasser, eine Zweck c-Probe von der Dusche und von der Spüle in der Küche

³ eine Infektionsquelle kann (bei Clustern) mit mehreren Fällen assoziiert sein, LeTriWa- oder Nicht-LeTriWa-Fälle

⁴ einem Fall kann eine Infektionsquelle u. U. auf Grundlage von mikrobiologischer UND Cluster-Evidenz zugeordnet werden, daher ergibt sich aus den „Zwischensummen (Anzahl zugeordneter LeTriWa-Fälle)“ nicht unbedingt die Anzahl in der rechten Spalte

⁵ bei diesem Cluster fungierte eine Trinkwasserquelle für einen Clusterfall als hTW-Quelle und für den zweiten Clusterfall als externe Quelle; die Fälle werden in den jeweiligen Kategorien (häusliche Trinkwasserquelle bzw. externe Quelle) aufgeführt

⁶ bei diesem Cluster handelt es sich um das Cluster aufgrund des Reinfektionsfalls

3.3.3. Analytisch-vergleichende Evidenz für hTW

Bei dieser Analyse sollte nicht nur eruiert werden, ob es eine statistische Evidenz mit hTW gibt, sondern auch, welche mikrobiologischen Indikatoren statistisch mit dem Auftreten von AE-LK assoziiert sind. Wir analysierten das Vorkommen von (1) jeglichen Legionellen (unabhängig von Spezies, Serogruppe oder MAb-Typ), (2) *L. pneumophila*, (3) Lp1, (4) ob die Legionellenkonzentration (jegliche Legionellen) größer als 100 KBE/100 ml war und das Vorkommen von (5) MAb 3/1-positiven Stämmen (Tabelle 10,

Abschnitt A). Das Auftreten von Fällen war nicht signifikant assoziiert mit der Exposition gegenüber jeglichen Legionellenarten oder *L. pneumophila* und auch nicht mit einer erhöhten Legionellenkonzentration (> 100 KBE/100 ml; nur analysierbar bei den drei Standard-Haushaltswasserproben, nicht bei den Biofilmpöben). Jedoch war der Fallstatus signifikant mit der Variable „Lp1 in einer Standard-Haushaltsprobe“ assoziiert (Tabelle 10, Abschnitt A). Auch in den Einzelproben, z. B. Wasserhahn, Zweck b, identifizierten wir keine statistische Assoziation mit dem Vorkommen jeglicher Legionellen bzw. dem Vorkommen einer Legionellenkonzentration von > 100 KBE/100 ml (nicht in Tabelle 10 dargestellt).

LeTriWa-Fälle waren jedoch hochsignifikant assoziiert mit dem Vorhandensein von MAb 3/1-positiven Stämmen in den Standard-Haushaltsproben (OR = 4,5; 95 % KI = 2,0–10,8; $p < 0,001$; Tabelle 10, Abschnitt A). Das Populations-attributable Risiko für MAb 3/1-positive Standard-Haushaltsproben betrug 16 %. Bei 97 % (28/29) der LeTriWa-Fälle mit MAb 3/1-positiven Standard-Haushaltsproben gelang der Nachweis auch in einer der beiden Zweck c-Proben und bei 41 % (12/29) war mindestens eine der beiden Zweck c-Proben MAb 3/1-positiv, während in der Zweck b-Probe keine MAb 3/1-positiven Stämme identifiziert werden konnten. Werden die fünf Standard-Haushaltsproben separat betrachtet, so war das Odds Ratio für die Zweck c- und Zweck b-Probe vom Wasserhahn deutlich höher als das für die Zweck c-Probe von der Dusche (Tabelle 10, Abschnitt C). Insgesamt unterstützte die analytisch-vergleichende Evidenz den mikrobiologischen Nachweis in 28 von 35 Fällen (80 %) und führte bei einem zusätzlichen Fall, bei dem der ST des Erkrankten nicht mit dem des Umweltstamms übereinstimmte (d. h. keine mikrobiologische Evidenz), aufgrund der analytisch-vergleichenden Evidenz dennoch zur Zuschreibung von hTW als Infektionsquelle. Bei den 7 Fällen mit mikrobiologischer Evidenz und fehlender analytisch-vergleichender Evidenz waren z. B. andere Haushaltsproben – die nicht wie die Standard-Haushaltsproben mit der Kontrollgruppe statistisch ausgewertet werden konnten – MAb 3/1-positiv (z. B. Zweck c-Probe aus der Spüle) oder ein MAb 3/1-positiver Stamm wurde in einer Probe im Rahmen der weiterführenden Untersuchung während der Gefährdungsanalyse identifiziert.

Wenn die Analyse auf Fälle und Kontrollen ohne MAb 3/1-positive Standard-Haushaltsproben beschränkt wurde (Tabelle 10, Abschnitt B), waren die OR bezüglich einer möglichen Assoziation zwischen dem Fallstatus und dem Vorkommen jeglicher Legionellen bzw. *L. pneumophila* bzw. Lp1 sowie einer erhöhten Legionellenkonzentration (> 100 KBE/100 ml) nahe 1 und statistisch nicht signifikant. Dies weist darauf hin, dass der Zusammenhang mit Lp1 durch die Anwesenheit von MAb 3/1-positiven Stämmen statistisch verzerrt ist, oder anders ausgedrückt, nur deshalb besteht, weil die identifizierten MAb 3/1-positiven Stämme auch Lp1 angehörten.

Tabelle 10: Abschnitt A: Assoziation von ambulant erworbenen Fällen von Legionärskrankheit und Exposition gegenüber verschiedenen Arten der Kontamination mit Legionellen-Bakterien in mindestens einer der Standard-Haushaltsproben. Abschnitt B: wie unter A, jedoch auf die Fälle und Kontrollen beschränkt, bei denen in den Standard-Haushaltsproben keine MAb 3/1-positive Stämme gefunden wurden. Abschnitt C: Exposition gegenüber den einzelnen MAb 3/1-positiven Standard-Haushaltsproben separat analysiert (analytisch-vergleichende Evidenz). Es konnten insgesamt bei 145 LeTriWa-Fällen und 191 Kontrollpersonen die Standard-Haushaltsproben abgenommen werden.

	LeTriWa-Fälle			Kontrollen			Odds Ratio (95 % KI)	p-Wert
	N	n	%	N	n	%		
A: Alle Standard-Haushaltsproben von Fällen und Kontrollen								
jegliche Legionellen	145	85	59	191	116	61	0,9 (0,6–1,5)	0,74
> 100 KBE/100 ml in mind. einer der drei Standard- Wasserproben	144	62	43	191	83	43	1,0 (0,6–1,6)	1
Lp	145	62	43	191	67	35	1,4 (0,9–2,2)	0,17
Lp1	145	55	38	191	48	25	1,8 (1,1–3,0)	0,01
Lp1, MAb 3/1-negativ ¹	145	35	24	191	41	21	1,2 (0,7–2,0)	0,60
Lp1, MAb 3/1-positiv ¹	145	29	20	191	10	5	4,5 (2,0–10,8)	< 0,001
B: Fälle und Kontrollen OHNE MAb 3/1-positive Standard-Haushaltsproben								
jegliche Legionellen	116	56	48	181	106	59	0,7 (0,4–1,1)	0,10
> 100 KBE/100 ml in mind. einer der drei Standard- Wasserproben	115	40	35	181	75	41	0,8 (0,5–1,3)	0,27
Lp	116	33	28	181	57	31	0,9 (0,5–1,5)	0,61
Lp1	116	26	22	181	38	21	1,1 (0,6–2,0)	0,77
C: MAb 3/1-positive Standard-Haushaltsproben separat dargestellt								
Wasserhahn, Zweck c, MAb 3/1-positiv	141	22	16	183	4	2	8,3 (2,7–33,7)	< 0,001
Wasserhahn, Biofilm, MAb 3/1-positiv	136	12	9	183	4	2	4,3 (1,3–18,8)	0,01
Wasserhahn, Zweck b, MAb 3/1-positiv	144	17	12	189	3	2	8,3 (2,3–44,9)	< 0,001
Dusche, Zweck c, MAb 3/1-positiv	130	18	14	169	9	5	2,9 (1,2–7,5)	0,01
Dusche, Biofilm, MAb 3/1-positiv	135	10	7	169	4	2	3,3 (0,9–14,7)	0,05

KI = Konfidenzintervall, Lp = *Legionella pneumophila*, Lp1 = *Legionella pneumophila* Serogruppe 1, MAb = monoklonaler Antikörper.
¹ In den Standard-Haushaltsproben eines Falles oder einer Kontrolle lassen sich u. U. sowohl MAb 3/1-positive als auch MAb 3/1-negative Legionellenstämme finden. Daher ist z. B. die Summe der Fälle mit mindestens einer MAb 3/1-positiven Probe und mindestens einer MAb 3/1-negativen Proben größer als die Zahl der Fälle mit Lp1 in den Standard-Haushaltsproben.

Wir analysierten den Kontakt zu weiteren potenziellen hTW-Quellen wie Spül- und Waschmaschine unter den Fällen, bei denen eine Exposition zu hTW wahrscheinlich oder vermutlich mit der Legionärskrankheit assoziiert war. Die OR für die beiden Infektionsquellen Spül- und Waschmaschine lagen unter 1 und waren statistisch nicht signifikant.

Bezüglich der Eigenschaften der TWI bzw. der TW-Versorgung erfassten wir eine Reihe von Variablen, einschließlich der Untersuchungspflicht der häuslichen TWI. Die Untersuchungspflicht wird in einem zukünftigen Artikel thematisiert. Weitere Variablen, wie z. B. die Wassererwärmung durch elektrische Durchlauferhitzer, waren ebenfalls nicht signifikant assoziiert. Eine Auflistung der abgefragten Expositionen zu hTW bzw. der Eigenschaften der häuslichen TWI ist in Tabelle 11 dargestellt.

Tabelle 11: Auflistung weiterer Expositionen zu häuslichen Trinkwasserquellen sowie Eigenschaften der häuslichen Trinkwasser-Installation bzw. Warmwasserversorgung.

Expositionen zu potenziellen häuslichen Trinkwasserquellen bzw. Eigenschaften der Trinkwasser-Installation
Kontakt zu weiteren, nicht beprobten, potenziellen häuslichen Trinkwasserquellen
Waschmaschine
Spülmaschine
Eigenschaften der Trinkwasser-Installation / Warmwasserversorgung
Fernwärme
Untersuchungspflicht der Trinkwasser-Installation
Probleme mit dem Warmwassersystem in der Expositionsperiode
Warmwassererzeugung im Keller
elektrischer Durchlauferhitzer in der Wohnung
Warmwassererzeugung in der Wohnung
Fußbodenheizung im Bad
Gastherme in der Wohnung
Verbrühungsschutz an der Dusche
Reparaturen am kommunalen Wassersystem in der Expositionsperiode

3.4. Diskrepanze Evidenzbefunde

Aufgrund des Konzepts der Matrix war es möglich, mehr als eine potenzielle Infektionsquelle für einen einzelnen Fall zu identifizieren. Diskrepanze Evidenzbefunde fanden wir jedoch nur bei insgesamt 10 LeTriWa-Fällen. Bei zwei in Frage kommenden Infektionsquellen gaben wir der individuell bewerteten Evidenz (mikrobiologische und Cluster-Evidenz) immer den Vorrang vor statistisch bewerteten Hinweisen (analytisch-vergleichende Evidenz). So wurden z. B. Fälle, die sowohl eine analytisch-vergleichende Evidenz für Zahnprothese als Infektionsquelle als auch eine mikrobiologische oder Cluster-Evidenz zu hTW hatten, dem hTW zugeordnet. Hatten mehrere verschiedene Quellen einen gleich hohen Grad an mikrobiologischer Übereinstimmung und eine Quelle davon war das hTW, so entschieden wir uns bei allen Fällen für das hTW als die wahrscheinlichere Infektionsquelle. Dies betraf vor allem hNTW-Quellen, bei denen wir davon ausgingen, dass das enthaltene Wasser ursprünglich aus der Leitung der häuslichen TWI stammte. Darüber hinaus gab es bei 2 Fällen andere Evidenz-Konstellationen, die wir wie folgt bewerteten: (1) Bei einem Fall lag für eine externe Quelle (Exposition i. R. einer sportlichen Aktivität) eine Cluster-Evidenz vor und für eine weitere externe Quelle (Exposition i. R. des Arbeitsumfelds) gab es einen mikrobiologischen Nachweis. Weil das Cluster nur aus zwei Personen bestand und weil zur zweiten Quelle ein häufigerer Kontakt vorlag, gaben wir der Quelle mit dem mikrobiologischen Nachweis den Vorrang. (2) Bei einem Fall fanden wir einen MAb 3/1-positiven Stamm sowohl beim Patientenmaterial als auch in den Standard-Haushaltsproben, jedoch widersprach der ST des Falles dem ST des häuslichen TW-Stammes. Es lag somit keine mikrobiologische Evidenz vor. Der Fall hatte dennoch eine analytisch-vergleichende Evidenz für hTW und wurde dieser Infektionsquelle zugeschrieben.

4. Zusammenfassende Zuordnung der Infektionsquellen nach Art der Quelle und Evidenztyp

Insgesamt konnten – **nach Evidenzkategorie aufgeschlüsselt** – 56 (38 %) der 147 LeTriWa-Fälle durch mikrobiologische Evidenz und 15 (10 %) durch Cluster-Evidenz zugeordnet werden (s. Tabelle 12). Hier sind auch einige Fälle mit Doppel-Evidenz dabei, vor allem mit mikrobiologischer und Cluster-Evidenz. Daher konnten insgesamt 62 (42 %) Fälle aufgrund mikrobiologischer ODER Cluster-Evidenz zugeordnet werden. Bei insgesamt 38 (26 %) der 147 LeTriWa-Fälle gab es eine analytisch-

vergleichende Evidenz für eine Infektionsquelle (s. Tabelle 12), wobei bei 10 (7 %) der 147 Studienfälle die Infektionsquelle ausschließlich aufgrund einer analytisch-vergleichenden Evidenz zugeordnet wurde.

Tabelle 12: Aufgrund mikrobiologischer Evidenz, Cluster-Evidenz oder analytisch-vergleichender Evidenz zugeordnete Infektionsquellen der 147 LeTriWa-Fälle, gruppiert nach Art der Infektionsquelle (externe Quelle, häusliche Nicht-Trinkwasserquelle, häusliche Trinkwasserquelle) und Evidenztyp; innerer 3x3-Zellenblock. Rechte Spalte: Anzahl der Fälle, die pro Art der Infektionsquelle zugeordnet wurden. Vorletzte Zeile: Anzahl der Fälle, die pro Art des Evidenztyps zugeordnet wurden. Pro Fall können mehrere Evidenztypen pro Infektionsquelle zutreffen, daher ergibt sich aus der Summe der jeweiligen Zeilen nicht unbedingt die Gesamtanzahl der Fälle in der rechten Spalte. N = Anzahl Fälle.

Typ der Infektionsquelle	Mikrobiologische Evidenz	Cluster-Evidenz	Analytisch-vergleichende Evidenz	Gesamtanzahl Fälle pro Quellentyp
	N	N	N	N
Externe Quelle	21	9	0	23 (16 %)
Häusliche Nicht-Trinkwasserquelle	0	0	9	9 (6 %)
Häusliche Trinkwasserquelle	35	6	29	40 (27 %)
Summe aller zugeordneten LeTriWa-Fälle pro Evidenztyp	56 (38 %)	15 (10 %)	38 (26 %)	
Gesamtsumme aller zugeordneten LeTriWa-Fälle				72 (49 %)

Aufgeschlüsselt nach **Typ der Infektionsquelle** konnten 23 (16 %) der 147 Fälle einer externen Quelle zugeordnet werden, alle aufgrund individueller (mikrobiologischer oder Cluster-) Evidenz (s. Tabelle 12 und Abbildung 5). Neun Fälle (6 %) wurden einer hNTW-Quelle zugeordnet, alle ausschließlich aufgrund analytisch-vergleichender Evidenz. 39 (26,5 %) Fälle wurden aufgrund individueller Evidenz (mikrobiologische oder Cluster-Evidenz) und 1 (0,7 %) Fall wurde ausschließlich aufgrund analytisch-vergleichender Evidenz einer hTW-Quelle zugeordnet (gesamt = 40 Fälle; 27 %). **In der Gesamtschätzung konnten somit 72 (49 %) der 147 Studienfälle einer wahrscheinlichen Infektionsquelle auf Evidenzbasis zugeordnet werden.** Die Aufschlüsselung nach Typ der Infektionsquelle und (einzelnem oder kombiniertem) Evidenztyp aller Fälle ist in Abbildung 5 dargestellt.

Mikrobiologische, Cluster- oder analytisch-vergleichende Evidenzkriterien ergänzten sich als kombinierte Evidenz in 37 (51 %) der 72 Evidenz-bestätigten Fälle. Trotz der umfassenden Untersuchungen im Rahmen der Studie konnte für 75 (51 %) LeTriWa-Fälle keine ursächliche Infektionsquelle auf Evidenzbasis gefunden werden. In Abwesenheit einer Evidenz für eine externe bzw. hNTW-Quelle nahmen wir an, dass sie sich über hTW angesteckt hatten (vermutliche Zuordnung). Somit wurden insgesamt 78 % (d. h. 27 % (evidenzbasiert; „wahrscheinlich“) + 51 % („vermutlich“)) hTW zugeordnet.

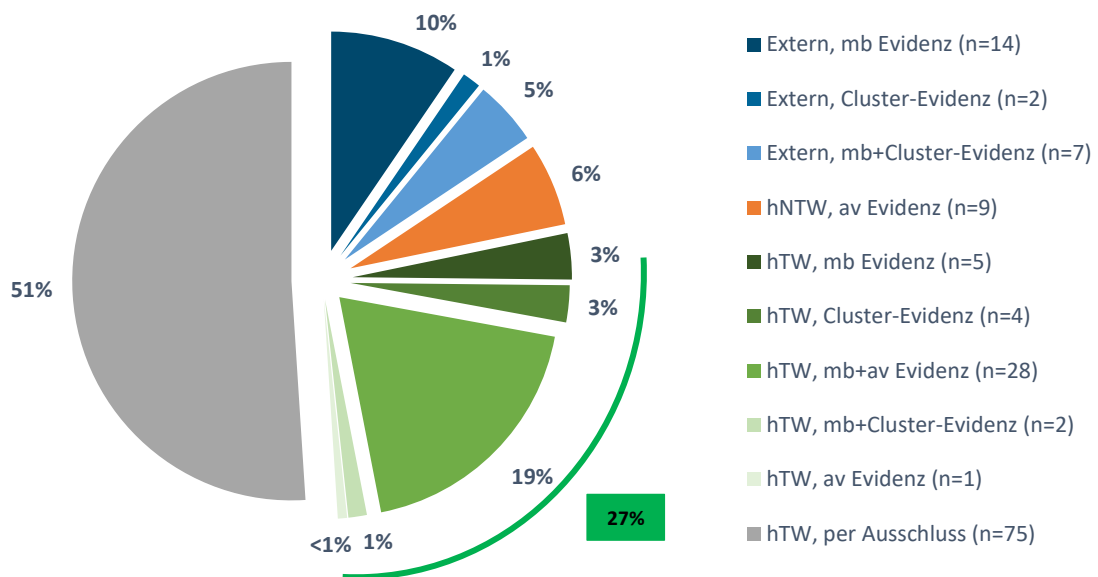


Abbildung 5: Den LeTriWa-Fällen zugeordnete Infektionsquellen nach Typ der Infektionsquelle und Evidenztyp. Externe Quellen (blau), häusliches Nicht-Trinkwasser (hNTW, orange), häusliches Trinkwasser (hTW, grün) und Evidenztypen (mikrobiologisch (mb), Cluster, analytisch-vergleichend (av)); grüner Viertelkreis: Anteil von Fällen mit Evidenz-basierter Zuordnung von häuslichem Trinkwasser. N = 147 Fälle.

Diskussion

Auf der Grundlage unserer detaillierten Untersuchungen und unseres konzeptionellen Ansatzes konnten wir etwa die Hälfte der LeTriWa-Fälle einer wahrscheinlichen Infektionsquelle zuordnen: 16 % einer externen Quelle, 9 % einer hNTW- und 27 % einer hTW-Quelle.

Voraussetzung für den Erfolg der LeTriWa-Studie war die enge **Vernetzung und gute Kommunikation** zwischen den beteiligten Gesundheitsämtern und dem RKI / UBA zur Rekrutierung der Fälle sowie zur Gewinnung der Wasserproben, zwischen den Krankenhäusern und dem RKI für die Abnahme zusätzlicher Patientenproben und Kontrollrekrutierung, sowie zwischen dem RKI, UBA und KL auf der Ebene der Probenprozessierung bis hin zur Typisierung. Im Rücklauf erhielten Krankenhäuser die Ergebnisse aus dem KL zu den Patientenproben. Das einen Fall bearbeitende Gesundheitsamt erhielt einen detaillierten und übersichtlichen Befundbericht, welcher im Rahmen der Studie entwickelt wurde und sowohl die Patienten- als auch die Wasserprobenergebnisse der potenziellen Infektionsquellen übersichtlich zusammenfasste und sehr positiv aufgenommen wurde.

Wir haben ein **neuartiges, umfassendes Konzept** entwickelt, bei dem drei Typen von Infektionsquellen für AE-LK (extern, hNTW- und hTW-Quelle) unterschieden werden, die wir einem bestimmten Fall anhand von mindestens einem von drei Evidenztypen (mikrobiologisch, Cluster und analytisch-vergleichend) zuordnen konnten. Die Quellenkategorien wurden mit einer bestimmten Begründung gewählt, da es wichtig ist zu verstehen, wie hoch der Anteil der Fälle ist, die sich außerhalb des eigenen Hauses infizieren und wie hoch der Anteil der Fälle ist, die sich durch den direkten Einfluss des hTW infizieren. Was die Art des Nachweises betrifft, so wurde in anderen Untersuchungen im Ausland nur ein mikrobiologischer Nachweis (eine genotypische Übereinstimmung) verwendet (15, 16), um eine Quelle einem einzelnen Fall zuzuordnen. Dadurch konnte nur bei wenigen sporadischen Fällen eine gesicherte Quelle identifiziert werden.

Wegen der statistisch hochsignifikanten Assoziation der Anwesenheit von MAb 3/1-positiven Stämmen in den Standard-Haushaltsproben mit dem Fallstatus sahen wir es – zusätzlich zur vorbestehenden Kenntnis, dass MAb 3/1-positiv Stämme als virulenzassoziiert angesehen werden – als gerechtfertigt an, die Identifizierung eines MAb 3/1-positiven Legionellenstamms in einer Probe aus einer Wasserquelle als mikrobiologische Evidenz für die Wasserquelle als Infektionsquelle zu akzeptieren, d. h. selbst dann, wenn Informationen über den MAb-Typ der Fallperson fehlten. Letztlich konnte 38 % der Studienfälle aufgrund mikrobiologischer Befunde einer Quelle zugeordnet werden (s. Tabelle 12). Ähnlich wie Den Boer et al. haben wir auch die Zugehörigkeit zu einem Cluster als Beweis einbezogen, d. h. wenn zwei Fälle derselben Quelle ausgesetzt waren (innerhalb von zwei Jahren nach Auftreten der Symptome) (16). Die Daten der Kontrollgruppe nutzten wir für eine dritte Art von Evidenz, die analytisch-vergleichende Evidenz. Diese drei Evidenzarten unterstützten sich in vielen Studienfällen gegenseitig. Die Zuordnungsrate von etwa 50 % wurde nach unserer Kenntnis bislang in der Literatur nicht erreicht (15, 16). Dennoch bedeutet dies, dass selbst bei diesem sensitiven Ansatz die andere Hälfte unerklärt blieb. Zu den Hypothesen gehören, dass wir die Umweltproben nicht zum „richtigen“ Zeitpunkt entnommen haben (z. B. wenn die Legionellenkontamination oder das Vorhandensein verschiedener Legionellenstämme nicht immer in gleichem Ausmaß vorhanden ist) oder dass sich die verursachenden Bakterien an einer nicht beprobten Entnahmestelle befanden.

Wir haben überzeugende Hinweise **für hTW als Infektionsquelle** gefunden, da in mehr als der Hälfte der Fälle mit zugeordneter wahrscheinlicher Quelle (27 %) hTW zugeordnet werden konnte. Vor Studienbeginn war weitgehend unklar, welche Bedeutung das Vorhandensein „jeglicher Legionellen“ (unabhängig von der Legionellenkonzentration), eine erhöhte Legionellenkonzentration oder das Vorhandensein bestimmter Stämme (*L. pneumophila*, *L. pneumophila* Serogruppe 1 oder bestimmter MAb-Typen oder -Subtypen) in Wasser- oder Biofilmpollen für das Auftreten eines Falles hat. Mithilfe der in Fall- und Kontrollhaushalten genommenen Standard-Haushaltsproben konnten wir analysieren, ob und inwieweit das Auftreten eines Falles mit diesen Parametern assoziiert war. Wir beobachteten einen Unterschied zwischen Fällen und Kontrollen für „jegliche Legionellen“, *L. pneumophila* und Lp1: Das OR stieg mit zunehmender Spezifität des Parameters („jegliche Legionellen“ < „über 100 KBE/100 ml“ < *L. pneumophila* < Lp1) an und war für Lp1 sogar statistisch signifikant (s. Tabelle 10, Abschnitt A). Das signifikante Ergebnis für das Vorliegen von Lp1 in den Standard-Haushaltsproben war aber nur dann signifikant, wenn MAb 3/1-positiv Proben eingeschlossen waren. Wurden die Parameter „jegliche Legionellen“, *L. pneumophila* und Lp1 nur für die Fälle und Kontrollen ohne MAb 3/1-positiv Standard-Haushaltsproben analysiert, so näherte sich das OR einem Wert um 1 an. Darüber hinaus war der Fallstatus auch nicht mit einer höheren Legionellenkonzentration in den Standard-Haushaltswasserproben assoziiert. Zusammenfassend und in Übereinstimmung mit Harrison et al. (31) und Ditommaso (3) deutet dies darauf hin, dass in einer bestimmten Wasserquelle nur oder vor allem dann ein Risiko besteht, wenn sie einen MAb 3/1-positiv Stamm enthält. Um solche TWI zu erkennen könnte als Hinweis auch der Nachweis eines MAb 3/1-positiv Stammes in einer Zweck c-Probe zielführend sein. HTW war schließlich auch der einzige Infektionsquellentyp, für den wir Nachweise aus allen drei Evidenztypen hatten. Dies unterstreicht weiter die Bedeutung von hTW für die Epidemiologie von AE-LK.

An dieser Stelle soll betont werden, wie wichtig es ist, bei einem gegebenen Fall immer die **höchste mikrobiologische Evidenz** anzustreben, auch deshalb, weil so gut wie jeder Fall zu einem Cluster oder gar Ausbruch gehören könnte. Dies belegt der mit 10 % relativ hohe Anteil an Fällen, der auf Basis der Cluster-Evidenz einer Infektionsquelle zugeordnet werden konnte. Für die mikrobiologische Untersuchung gehört zum einen die Beprobung des Fallhaushalts, die grundsätzliche Durchführung einer Gefährdungsanalyse, die Erhebung epidemiologischer Informationen zu weiteren

Expositionsorten und die Beprobung eventuell in Frage kommender potenzieller externer Quellen. Zum anderen sollte auf Patientenebene immer versucht werden, zeitnah tiefe Atemwegsproben zu gewinnen, aus denen sich im Idealfall Legionellen für die Genotypisierung anzüchten lassen. Eventuell lässt sich auch über eine PCR oder direkte Sequenztypisierung ein ST nachweisen. Trachealsekret oder Material aus einer Bronchiallavage haben dabei die beste Aussagekraft. Tiefes Sputum ist ein kein optimaler Ersatz, kann aber ebenfalls zur Identifizierung des ST führen.

Externe Infektionsquellen trugen mit 16 % zu einem erheblichen Teil zu den LeTriWa-Fällen bei und wurden diesen auch zugeordnet, selbst wenn bei einigen Fällen in den häuslichen Wasserproben sehr viel höhere Legionellenkonzentrationen gefunden werden konnten, jedoch keine virulenten Legionellenstämme. Dies weist darauf hin, dass alle in Betracht kommenden Wasserquellen bei der Infektionsquellensuche einbezogen werden sollten, auch wenn die Exposition zur Wasserquelle nur von kurzer Dauer war. Bemerkenswert ist, dass 39 % der Fälle (9/23), die auf eine externe Infektionsquelle zurückgeführt wurden, Teil eines Clusters waren. Der wahrscheinliche Grund ist, dass es sich dabei oft um Wasserquellen handelte, denen generell viele Personen ausgesetzt sind. Dabei sollte ein besonderes Augenmerk auf Schwimmbadbesuche gelegt werden, welche Anlass zur Beprobung sein sollten, wenn bei der Fallperson eine entsprechende Exposition vorgelegen hatte. Bei Schwimmbadbesuchen ist davon auszugehen, dass nicht der Aufenthalt in gechlortem Wasser, sondern eher das Duschen die relevante Exposition ist. Die mit einer Arbeitsstelle in Zusammenhang stehenden Infektionsquellen sind sehr heterogen. Unter anderem identifizierten wir Fälle, die sich wahrscheinlich während ihrer Arbeit in einem Krankenhaus bzw. in einem Altenpflegeheim ansteckten. Beides sind Expositionsorte, denen auch im Rahmen der Übermittlung aufgetretener Fälle von Legionärskrankheit eine besondere Bedeutung zukommt. Neben diesen bekannten Infektionsquellen überwog bei den auf mikrobiologischer Evidenz bestätigten Fällen mit externer Quelle jedoch die Exposition zu Wasserquellen in anderen Arbeitsplatzsettings wie z. B. im Gastronomiebereich aber auch in Firmen-/Bürogebäuden. Hierbei sollte auch ein Augenmerk auf Expositionen nur zu Wasserhahnwasser gelegt werden. Wir konnten etwa 43 % der LeTriWa-Fälle mit mikrobiologischer Evidenz für eine externe Wasserquelle auf Basis eines MAb 3/1-positiven Befunds NUR am Waschbecken zuschreiben. Die Zuschreibungen der externen Quellen beruhen alle auf mikrobiologischer und/oder Cluster-Evidenz. Keine der im Fragebogen abgefragten Expositionen zu externen Wasserquellen war statistisch signifikant mit dem Fallstatus assoziiert.

Im Durchschnitt haben wir bei etwa zwei von drei LeTriWa-Fällen eine **hNTW-Quelle** mikrobiologisch untersucht. Zwar konnten wir keinen Fall einer Ansteckung durch hNTW auf mikrobiologischer Basis zuordnen, allerdings erscheint dieser Übertragungsweg prinzipiell möglich zu sein. Zum einen fanden wir Legionellen in mehreren Quellen (einschließlich eines MAb 3/1-positiven Stammes in vier hNTW-Quellen), auch wenn wir letztendlich keinen Fall auf Basis von mikrobiologischer oder Cluster-Evidenz zuordnen konnten, da entweder auch ein Nachweis im hTW gelang (woher das Wasser wahrscheinlich ursprünglich stammte) oder der ST des Umweltstamms nicht mit dem des Falls übereinstimmte. Zum anderen fanden wir über den analytisch-vergleichenden Ansatz einen deutlichen Zusammenhang zwischen Fallstatus und dem Tragen von Zahnprothesen. Es gab Hinweise darauf, dass das "ragen von Zahnprothesen ein – auch vom Alter – unabhängiger Risikofaktor ist und kein zufälliger Befund oder ein Proxy für etwas anderes. Nur die Personen, die ihre Zahnprothesen nicht in Reinigungslösung desinfizieren, scheinen gefährdet zu sein. Dies deutet darauf hin, dass sich Legionellen auf den Oberflächen oder in den Nischen der Zahnprothesen ansiedeln, von wo aus sie eingeatmet oder aspiriert werden könnten. Auch der zunächst überraschende Befund einer „schützenden“ Wirkung von Alkoholkonsum könnte dahingehend erklärt werden, dass Alkohol die auf den Zahnprothesen sitzenden Legionellen „desinfiziert“, also abtötet. Auf Basis dieses Befunds – und keiner weiteren

Evidenz für eine andere Infektionsquelle bei den jeweiligen Fällen – konnten wir 6 % der LeTriWa-Fälle einer hNTW-Quelle zuordnen. Auf mikrobiologischer Ebene ist die Evidenz noch gering: Bei zwei LeTriWa-Fällen konnten Legionellen und einmal die Serogruppe 1 in der von der Zahnprothese bzw. der Aufbewahrungsflüssigkeit genommenen Probe nachgewiesen werden. Aufgrund der geringen DNA-Menge im Untersuchungsmaterial war aber eine weitere Typisierung nicht möglich. In einer Gesamtbetrachtung sind diese Ergebnisse zwar auffällig, bedürfen aber noch weiterer Forschung.

Eine gewisse Einschränkung unserer Evidenz-Matrix besteht darin, dass es möglich ist, dass für einen Fall zwei verschiedene, miteinander „konkurrierende“ Quellen in Frage kommen. Dies betraf allerdings nur wenige Fälle (7 %; 10/147), bei denen wir versucht haben die wahrscheinliche Infektionsquelle auf Einzelfallbasis zuzuordnen. Andererseits eröffnet die Verwendung von drei Evidenzarten die Möglichkeit, den Nachweis für eine bestimmte Infektionsquelle durch voneinander unabhängige Evidenzkriterien zu unterstützen. In unserer Studie traf das für die Hälfte der Evidenz-bestätigten Fälle zu.

Eine weitere Limitation ist, dass unsere Studie auf die Stadt Berlin beschränkt war, dies erlaubte aber im Gegenzug auch die Erhebung besonders detaillierter Informationen. Da sich sowohl die Legionellenökologie als auch die Patientenstämme von einer geografischen Region zur anderen unterscheiden können (32, 33) und z. B. der Berliner Klon ST182 außerhalb von Berlin/Brandenburg nicht häufig anzutreffen ist, ist nicht bekannt, inwieweit unsere Ergebnisse auf andere Regionen oder Länder übertragbar sind. Wir glauben jedoch, dass viele Ergebnisse, wie z. B. die Assoziation zwischen der Erkrankung und dem Vorhandensein virulenter (MAb 3/1-positiver) Stämme im hTW im Gegensatz zur fehlenden Assoziation zwischen Erkrankung und Legionellenkonzentration im hTW an sich, verallgemeinerbar sind.

Als weitere Limitation ist zu erwähnen, dass sich die im Februar 2020 auch in Deutschland auswirkende Corona-Pandemie zur Folge hatte, dass im Jahr 2020 nur noch im Januar und im Sommer, unter großen Sicherheitsauflagen und in sehr eingeschränktem Maße, weitere Daten erhoben werden konnten. Zudem musste die Kontrollsuche wegen der Hygienevorschriften der Krankenhäuser eingestellt werden, so dass die angestrebten zwei Kontrollen pro Fall nicht erreicht werden konnten.

Fazit

Wir konnten unter Verwendung eines neuartigen Matrix-Konzepts in Berlin der Hälfte der LeTriWa-Fälle eine wahrscheinliche Infektionsquelle zuordnen. Dies unterstreicht die Bedeutung von hTW als Ursache für AE-LK und führte auch zu einer neuen Hypothese über eine Infektionsquelle (das Tragen von unzureichend desinfizierten Zahnprothesen). Etwa die Hälfte aller Studienfälle blieben allerdings unerklärt. Die Ergebnisse der Standard-Haushaltproben legen nahe, dass nicht die Kontamination mit jeglichen Legionellen oder die Höhe der Legionellenkonzentration die Personen gefährdet, sondern vielmehr der Legionellenstamm und in dieser Studie insbesondere das Vorhandensein von MAb 3/1-positiven Stämmen. Weitere Untersuchungen und/oder Analysen sind erforderlich, um zu verstehen, welche Faktoren zur Kontamination von hTW mit pathogenen Legionellen beitragen und welche Faktoren eine Infektion zu verhindern helfen.

Interessenkonflikt

Alle Autorinnen und Autoren geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Finanzielle Unterstützung

Die LeTriWa-Studie wurde durch das Bundesministerium für Gesundheit (Projektnummer ZMVI5-2515-FSB-759) unterstützt.

Danksagung

Unser Dank gilt den Berliner Gesundheitsämtern und den kooperierenden Berliner Krankenhäusern sowie dem Labor Berlin (Dr. Bettina Eberspächer) und der SYNLAB-Medizinisches Versorgungszentrum Berlin GmbH (Dr. Martin Eisenblätter), die durch ihre freundliche und tatkräftige Unterstützung maßgeblich zur Durchführung der LeTriWa-Studie beigetragen haben. Weiterhin möchten wir uns bei den an der Studie teilnehmenden Patientinnen und Patienten sowie den Kontrollpersonen für Ihre Zeit und Mithilfe bedanken.

Ebenfalls bedanken möchten wir uns bei den Gesundheitsämtern in München (Bayern), Oberhavel, Dahme-Spreewald, Teltow-Fläming und Barnim (Brandenburg), Vorpommern-Greifswald und Vorpommern-Rügen (Mecklenburg Vorpommern), Osnabrück und Goslar (Niedersachsen) sowie Ostholstein (Schleswig-Holstein) für ihre Unterstützung bei der Infektionsquellensuche außerhalb Berlins; den Expertinnen und Experten des wissenschaftlichen Vorbereitungstreffens (Petra Brandsema, Dr. Gavin Dabrera, Dr. Sjoerd M. Euser, Prof. Dr. Martin Exner, Wolfgang Hentschel, PD Dr. Klaus Heuner, Prof. Dr. Thomas Kistemann, Dr. John Lee, Dr. Birgit Mendel, Dr. Marius Hausner, Jürgen Thelen, Dr. Jost Wingender), PD Dr. Dirk Werber, Dr. Daniel Sagebiel und Dr. Claudia Simon (Landesamt für Gesundheit und Soziales, Berlin (LAGeSo)); Matthias an der Heiden, Jörg Lekschas, Helmut Fouquet, Katharina Schmitt, Antonia Mehlitz, Marie Reupke, Karina Preußel (alle RKI); bei Frau Jensen für logistische Unterstützung und Katie Jacques, Anna Nolden, Corinna Fruth, Magdalena Simstich und Phillip Gierke (alle RKI) für ihre Mitwirkung bei der Feldarbeit.

Literatur

1. Buchholz U, Jahn HJ, Brodhun B, Lehfeld AS, Lewandowsky MM, Reber F, et al. Source attribution of community-acquired cases of Legionnaires' disease-results from the German LeTriWa study; Berlin, 2016-2019. *PLoS One*. 2020;15(11):e0241724.
2. Stout JE, Joly J, Para M, Plouffe J, Ciesielski C, Blaser MJ, et al. Comparison of molecular methods for subtyping patients and epidemiologically linked environmental isolates of *Legionella pneumophila*. *J Infect Dis*. 1988;157(3):486-95.
3. Ditommaso S, Giacomuzzi M, Rivera SR, Raso R, Ferrero P, Zotti CM. Virulence of *Legionella pneumophila* strains isolated from hospital water system and healthcare-associated Legionnaires' disease in Northern Italy between 2004 and 2009. *BMC infectious diseases*. 2014;14:483.
4. Prussin AJ, 2nd, Schwake DO, Marr LC. Ten Questions Concerning the Aerosolization and Transmission of *Legionella* in the Built Environment. *Build Environ*. 2017;123:684-95.
5. Ricketts KD, Joseph CA, Lee JV, Wilkinson P. Wet cooling systems as a source of sporadic Legionnaires' disease: a geographical analysis of data for England and Wales, 1996-2006. *J Epidemiol Community Health*. 2012;66(7):618-23.
6. Walser SM, Gerstner DG, Brenner B, Holler C, Liebl B, Herr CE. Assessing the environmental health relevance of cooling towers--a systematic review of legionellosis outbreaks. *International journal of hygiene and environmental health*. 2014;217(2-3):145-54.
7. Beyrer K, Lai S, Dreesman J, Lee JV, Joseph C, Harrison T, et al. Legionnaires' disease outbreak associated with a cruise liner, August 2003: epidemiological and microbiological findings. *Epidemiology and infection*. 2007;135(5):802-10.
8. Jernigan DB, Hofmann J, Cetron MS, Genese CA, Nuorti JP, Fields BS, et al. Outbreak of Legionnaires' disease among cruise ship passengers exposed to a contaminated whirlpool spa. *Lancet*. 1996;347(9000):494-9.
9. Breiman RF, Fields BS, Sanden GN, Volmer L, Meier A, Spika JS. Association of shower use with Legionnaires' disease. Possible role of amoebae. *JAMA*. 1990;263(21):2924-6.
10. Stolk JM, Russcher A, van Elzaker EP, Schippers EF. [Legionella pneumonia after the use of CPAP equipment]. *Ned Tijdschr Geneesk*. 2016;160:A9855.
11. Endo K, Ito K. [Case of Legionella pneumonia caused by a household humidifier]. *Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi*. 2009;47(5):388-92.
12. Bonilla Escobar BA, Montero Rubio JC, Martinez Juarez G. [Legionella pneumophila pneumonia associated with the use of a home humidifier in an immunocompetent girl]. *Medicina clinica*. 2014;142(2):70-2.
13. Brodhun B, Buchholz U. Epidemiologie der Legionärskrankheit in Deutschland – Entwicklungen in den Jahren 2010 bis 2020. *Epid Bull*. 2021;42:3-17.
14. Robert Koch-Institut. Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2018, Berlin 2019. Verfügbar unter: <https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Jahrbuch/Jahrbuecher/2018.html?nn=2374622>. Aufgerufen am: 19.08.2021.
15. Campese C, Bitar D, Jarraud S, Maine C, Forey F, Etienne J, et al. Progress in the surveillance and control of Legionella infection in France, 1998-2008. *Int J Infect Dis*. 2011;15(1):e30-7.
16. Den Boer JW, Euser SM, Brandsema P, Reijnen L, Bruin JP. Results from the National Legionella Outbreak Detection Program, the Netherlands, 2002-2012. *Emerging infectious diseases*. 2015;21(7):1167-73.
17. Den Boer JW, Verhoef L, Bencini MA, Bruin JP, Jansen R, Yzerman EP. Outbreak detection and secondary prevention of Legionnaires' disease: a national approach. *International journal of hygiene and environmental health*. 2007;210(1):1-7.

18. Orkis LT, Harrison LH, Mertz KJ, Brooks MM, Bibby KJ, Stout JE. Environmental sources of community-acquired legionnaires' disease: A review. *International journal of hygiene and environmental health*. 2018;221(5):764-74.
19. Den Boer JW, Yzerman EP, Schellekens J, Lettinga KD, Boshuizen HC, Van Steenberghe JE, et al. A large outbreak of Legionnaires' disease at a flower show, the Netherlands, 1999. *Emerging infectious diseases*. 2002;8(1):37-43.
20. Robert Koch-Institut. Falldefinitionen des Robert Koch-Instituts zur Übermittlung von Erkrankungs- oder Todesfällen und Nachweisen von Krankheitserregern Ausgabe 2019 gemäß § 11 Abs. 2 des Gesetzes zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen (Infektionsschutzgesetz - IfSG). Verfügbar unter [https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/IfSG/Falldefinition/Downloads/Falldefinitionen_des_RKI_2019.pdf? blob=publicationFile](https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/IfSG/Falldefinition/Downloads/Falldefinitionen_des_RKI_2019.pdf?blob=publicationFile). Abgerufen am: 13.03.2022.
21. Bundesministerium der Justiz. Verordnung über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch (Trinkwasserverordnung - TrinkwV). 2001. Verfügbar unter: https://www.gesetze-im-internet.de/trinkwv_2001/TrinkwV.pdf. Aufgerufen am 13.03.2022.
22. DIN EN ISO 19458. Wasserbeschaffenheit - Probenahme für mikrobiologische Untersuchungen. Berlin: Beuth-Verlag; 2006.
23. Helbig JH, Uldum SA, Bernander S, Luck PC, Wewalka G, Abraham B, et al. Clinical utility of urinary antigen detection for diagnosis of community-acquired, travel-associated, and nosocomial legionnaires' disease. *J Clin Microbiol*. 2003;41(2):838-40.
24. Helbig JH, Jacobs E, Luck C. Legionella pneumophila urinary antigen subtyping using monoclonal antibodies as a tool for epidemiological investigations. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* : official publication of the European Society of Clinical Microbiology. 2012;31(7):1673-7.
25. Gaia V, Fry NK, Afshar B, Luck PC, Meugnier H, Etienne J, et al. Consensus sequence-based scheme for epidemiological typing of clinical and environmental isolates of Legionella pneumophila. *J Clin Microbiol*. 2005;43(5):2047-52.
26. Lück C, Fry NK, Helbig JH, Jarraud S, Harrison TG. Typing methods for Legionella. In: Buchrieser C, Hilbi H (eds) *Legionella-Methods and Protocols*, vol20 *Methods in Molecular Biology Humana* Press-Springer Science, 2013; pp 119-148.
27. Lück C. Legionellose Diagnostik - Update 2019. *Der Mikrobiologie* 29. 2019(4):109-14.
28. Umweltbundesamt. Empfehlungen für die Durchführung einer Gefährdungsanalyse gemäß Trinkwasserverordnung. In: 3.5 FI, editor. Bad Elster: Umweltbundesamt (UBA); 2012. p. 11.
29. Lück C. Legionella pneumophila : Genetische Diversität von Patienten- und Umweltisolaten. [Legionella pneumophila : genetic diversity of patients and environmental isolates]. *Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz*. 2011;54(6):693-8.
30. Buchholz U, Reber F, Lehfeld A-S, Brodhun B, Haas W, Schaefer B, et al. Probable reinfection with Legionella pneumophila – A case report. *International journal of hygiene and environmental health*. 2019;222(2):315-8.
31. Harrison TG, Afshar B, Doshi N, Fry NK, Lee JV. Distribution of Legionella pneumophila serogroups, monoclonal antibody subgroups and DNA sequence types in recent clinical and environmental isolates from England and Wales (2000-2008). *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* : official publication of the European Society of Clinical Microbiology. 2009;28(7):781-91.
32. van der Lugt W, Euser SM, Bruin JP, den Boer JW, Yzerman EPF. Wide-scale study of 206 buildings in the Netherlands from 2011 to 2015 to determine the effect of drinking water management plans on the presence of Legionella spp. *Water research*. 2019;161:581-9.
33. Borchardt J, Helbig JH, Luck PC. Occurrence and distribution of sequence types among Legionella pneumophila strains isolated from patients in Germany: common features and differences to other regions of the world. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* : official publication of the European Society of Clinical Microbiology. 2008;27(1):29-36.