

黃文貴

高雄榮民總醫院 微生物科

前 言

退伍軍人症(Legionnaire's disease)最初引人注意是在 1976 年 7 月發生於 美國費城一家旅社舉行「退伍軍人協會年會」時造成嚴重肺炎流行，當時 造成 221 人罹病，34 位患者死亡。六個月後病患檢體經由美國疾病管制中心 (CDC)分離及鑑定出其致病源為一革蘭陰性桿菌的嗜肺性退伍軍人桿菌 (*Legionella pneumophila*)[1]；雖然當時懷疑是與空調系統有關，但是疑似感染源處並無分離出細菌，隨後爆發的群突發感染個案也都認為與冷卻水 塔污染有關。利用已發現之病原菌作為抗原發現，嗜肺性退伍軍人桿菌引起人類疾病，其實可追溯至 1947 年可證明退伍軍人症感染的存在[2]。利用儲 存的血清檢體，證實 1965 年已在美國華盛頓特區引起精神病院肺炎之流行 [3,4]，在美國以外之國家亦被證實有多次偶發性及流行性之病例報告 [5-10]。直到 1980 年英國的 Tobin 首度由一位院內感染的退伍軍人症患者病房的蓮蓬頭及供水系統中分離出退伍軍人桿菌；1982 年美國的 Stout 證實醫院供水系統中如存有退伍軍人桿菌，則院內感染退伍軍人症病例將會持續產生。這兩篇研究報告顯示，引起院內感染的來源可能 是與醫院的供水系統有關 [12]。而 2002 年本院證實東南亞首例由家庭用水系統中，免疫機能缺損病患感染退伍軍人桿菌血清 6 型[13]。

臨 床

由於實驗室診斷技術的進步與流行病學調查的資料完整，讓我們了解嗜肺性退伍軍人症桿菌 (*Legionella pneumophila*) 除了可以引起嚴重性的退 伍軍人症 (Legionnaires' disease)亦可以引起自行痊癒類似一般感冒症狀的 龐帝克熱(Pontiac fever)；退伍軍人症為社區性及醫院內感染的肺炎之重要 病原菌，但是由於其臨床表現常呈現不典型，而且治療的用藥與一般社區性 肺炎致病菌不同，所以其併發症及致命性不亞於其他肺炎致病菌；因此早期正確診斷並快速使用有效之抗微生物製劑，對於臨床治療退伍軍人症非常重 要。美國疾病管制中心每年大約會收到 8,000 至 18,000 個退伍軍人症之病例報 告，然而事實上卻尚有很多的病例未通報或被診斷出來，故此病的發生率將 比以上的報告病例高出許多。成人由公共場所感染的肺炎約 1-5% 是由退伍軍人症肺炎桿菌所引起的，大部份為散發性病例。一般人都有可能受到感 染，但年齡 20 歲以下者很少見，而且醫院內感染的病例也發生過幾次流 行。退伍軍人症的感染者好發年齡長者、吸煙者、糖尿病者、慢性肺部疾病 者、腎臟病或惡性腫瘤患者、免疫機能受損者、使用類固醇患者及器官 移植者。感染者通常以高燒、發冷及乾咳或咳少量痰液等臨床表現，亦有人呈現肌肉酸痛、頭痛、腹痛、胃口不佳及腹瀉，甚至於產生中樞神經學變化與肝腎功能異常。胸部 X 光的表現亦與其他的肺炎感染無法區別；必須仰賴 實驗室的具特異性培養及抗原抗體的偵測協助診斷。男女性別罹患比例約為 25:1。退伍軍人症的死 亡率約為 5-30%。目前國內對退伍軍人症之診斷多依賴痰液或尿液抗原之檢測或血清學之抗體效價變化，而少做臨床檢體之培養。痰液或尿液抗原檢測雖可快速診斷但只限於少數血清型，而血清學之診 斷需急性

期及恢復期二次效價之比較方能確立診斷，對於病人之臨床治療緩不濟急。台灣地區亦有利用間接免疫螢光法(Indirect immunofluorescent test; IFA)測定正常男性青年血清中 *L. pneumophila* 抗體效價之研究，以作為診斷此病參考[13]，台灣地區第一例退伍軍人症病例報告於 1983 年被證實[14]，後來陸陸續續又有其他病例被發現，其中包括有兒童病例[13-15]。

微生物學

退伍軍人桿菌屬於 Legionellaceae 科，包含有 43 種以上不同種(species)的細菌，其中與人類疾病有關的菌種約有 20 種；及有 65 種以上的血清型 (serogroup)。退伍軍人桿菌屬是小的且多型性革蘭氏陰性桿菌，而且生長的營養需求特殊，為水中常在細菌，最佳的繁殖環境是溫暖的 32-45°C；存活溫度範圍：0-63°C，pH：5.0-8.5，水中溶解氧濃度:0.2-15ppm[15]。嗜肺性退伍軍人桿菌是其中最重要、最常見的一種；退伍軍人症 90%以上都是由嗜肺性退伍軍人桿菌第 1 型血清型所造成的。嗜肺性退伍軍人桿菌可分為 15 種血清型，其中以 1、4 及 6 型常見。其他會造成人類感染的菌種包括：*L. micdadei* (Pittsburgh pneumonia agent)、*L. bozemanii*, *L. dumoffii*, *L. ciniciatiensis*, *L. feeleii*, *L. longbecchae* 及 *L. orkridgensis*。退伍軍人桿菌屬常存在於自然界及人造的水及土壤環境中，但也能夠在醫院及住家的水供應系統內發現和分離出來微量的細菌存在。

退伍軍人桿菌屬對於生長營養需求條件挑惕，在一般細菌培養常規用的 BAP 及 chocolate 培養基中幾乎不生長，故 1976 年美國疾病管制局微生物專家研究人員調查「退伍軍人協會年會」嚴重群突發感染時，發展出添加 L-cysteine 氨基酸、ferric pyrophosphate、alpha ketoglutarate 與具有維持培養基 pH 值範圍於 6.9±0.05 狹窄的酸鹼值的 ACES 緩衝劑的特殊基礎培養基-buffer-charcoal yeast extract agar(BCYE)。由於退伍軍人桿菌生長速度緩慢，需要 3 至 5 天始可觀察到菌落生長出來；此時菌落亦容易被含有正常菌叢之痰液、氣管穿刺抽取物等上呼吸道檢體中的其他快速生長菌所覆蓋而不易觀察。利用抗微生物劑添加於培養基中以抑制檢體中污染菌，故分離臨床檢體中病原菌需同時使用 BCYE 和兩種選擇性培養基-PAC,PAV，分別是含添加 polymyxin B，anisomycin，及 vancomycin 等抗微生物劑及 bromocresol purple、bromothymol blue 染料的 BCYE-PAV 培養基，讓 *L. pneumophila* 菌落呈現淡綠色，*L. micdadei* 菌落呈現藍色；BCYE-PAC 培養基需要添加 polymyxin B，anisomycin，及 cefamandole 等抗微生物劑。退伍軍人桿菌培養的檢體，必須於病患開始使用抗生素前收集；由於收集過程中會受上呼吸道菌叢污染，故收集後需置於 4°C 保存待送。常規的革蘭氏染色於退伍軍人桿菌感染時痰液不具有診斷價值，由於呈現陰性非常淡染的紅色，故痰液進行革蘭氏染色時，可能只見到許多的多核型性白血球存在，而有意義細菌未被染色，可使用 0.05% basic fuchsin 複染劑代替，但仍然是無法區別是何種革蘭氏陰性菌。痰液檢體亦需要以 pH 2.2 的 0.2M HCL-KCL 酸液處理 4 分鐘，或者以 50°C 水箱中加熱 30 分鐘後立即冷卻，以減少檢體中污染菌的過度生長而影響判讀。同時要注意培養基中的抗微生物劑會影響到部份退伍軍人桿菌生長，特別是 cefamandole 對 *L. micdadei* 具有生長抑制性，但是此菌可於 PAV 中可以生長。瓊脂平板於 70-80%高濕度的 35°C(二氧化碳不需要)溫箱中孵育後，第 3 天開始以解剖顯微鏡(dissecting microscope)觀察菌落型態；退伍軍人菌菌落初期呈現微突、圓形且非常淡的藍色中心部份呈現些微切割玻璃狀及周圍呈現淡虹彩色彩；孵育較久的菌落將會逐漸變白色的蠟狀，當以接種環挑取時會有整塊菌落被挑起的現象；孵育 10 天後如沒有發現疑似菌落，培養報告則為陰性[15]。

流行病學

由於醫院中各式各樣醫療設備的潮濕環境及水溶液的大量使用，都是可能提供水生微生物滋生的儲藏源。在適合的環境條件下（例如：溫度和營養來源），這些水生微生物將會快速的大量繁殖，甚至於穩定的存活下來或產生對周遭環境具抵抗和感染力的型態。醫療照護的過程而造成病患感染的水生微生物包括：葡萄糖非發酵性革蘭氏陰性菌（glucose nonfermenter gram-negative bacteria; GNFGNB）、非結核分枝桿菌（non-tuberculosis mycobacteria; NTM）和退伍軍人症桿菌屬（*Legionella* spp.）。水生微生物於醫院環境的傳播方式，可經由(1)直接的接觸傳染，例如：水療法(hydrotherapy)；(2)飲用被污染的水；(3)間接的接觸傳染，例如：接觸到被水污染的醫療設備；(4)吸入(inhalation)被污染的水霧氣；(5)嗆入(aspiration)被污染的水。醫院內與葡萄糖非發酵性革蘭氏陰性菌和非結核分枝桿菌感染常經由第一至第三傳播途徑有關係；至於退伍軍人症桿菌屬則常經由被污染的水霧氣吸入或嗆入傳播而造成病患的呼吸道感染。

空調用冷卻水塔 (cooling tower)、蒸發凝聚器(evaporative condenser)、熱水供應系統、旋渦、除濕機、噴水池、蓮蓬頭及自來水水龍頭等含高水份環境，都是有利此菌繁殖最佳的場所。社區性與醫院內的退伍軍人症是病患暴露於環境中被退伍軍人症桿菌屬污染的水環境，所引起的肺炎感染及身體多處器官同時被影響的嚴重性感染症。雖然此感染症的臨床表徵主要是以呼吸道感染表現，但是其感染源卻是與環境中水的品質有關。在國外的許多研究顯示，醫院內退伍軍人症桿菌屬群突發感染的產生，大都是由於病患暴露於蓮蓬頭、水龍頭、呼吸治療器、室內空氣潮濕器 (room-air humidifier)等環境下發生。會增加此菌於人造水環境產生移生 (colonization)和放大(amplification)的因素，包括：(1)水溫度 25°-42 °C(77-107.6°F)，(2)水流滯留，(3)水垢及沉積物產生例如：生物膜 (biofilm)，(4)可能支持退伍軍人症桿菌屬於細胞內生長的水中自由生活阿米巴原蟲(free-living aquatic amoebae)存在，此菌可於自然環境中的單一細胞原蟲內及人體支氣管巨噬細胞內繁殖。

環境採檢

退伍軍人症感染的預防與控制方法建議採用 1993 年於美國國內首次發表的賓州費城 Allegheny County 健康部建議指引[16]，根據該指引醫院環境調查採檢方法是，根據各醫院床數多寡採集適當足量的檢體，規模如小於 500 床則採集 10 個點病房檢體，如大於 500 床則每 100 床採集 2 個點病房檢體。該指引有三個主要的建議：1.找出問題的癥結-進行供水系統的退伍軍人菌培養，2.病例的診斷-提供臨床醫師隨手可及的實驗室診斷方法，3.感染源的消毒-評估各種方法減少醫院供水系統中退伍軍人菌屬的暴露。環境調查的樣本含空調系統中的冷卻水、供水系統內水、熱水系統內水，供水系統末端水龍頭或蓮蓬頭中的水垢棉籤拭子及水樣本。檢體需以低溫保存運送方式送達實驗室後，水龍頭或蓮蓬頭中的水垢棉籤拭子以 pH 2.2 的 0.2M HCL-KCL 酸液處理 3 分鐘；水檢體以 0.22~90 子 m 濾膜過濾方式加以濃縮水樣本中的細菌，然後接種於具選擇與區分性環境檢體專用的 BCYE 瓊脂平板 -DGVP(含有 glycine, vancomycin, polymyxin B, bromothymol blue 及 bromocresol purple 染料)或 CCVC 中，培養於 70-80%溼度 35°C 培養箱，三天後開始以解剖顯微鏡觀察菌落型態，再以直接螢光染色法加以血清分型。將所有分離菌株皆置於-70°C 低溫冰箱中保存，以供將來做進一步抗血清和分子生物學分型研究用。以建立各院環境受此菌污染的流行病學基本資料，同時作為進行醫院環境消毒的指標。

將疑似菌落同時分別接種於 BAP 及 BCYE 瓊脂平板上，置於潮濕的 35°C 溫箱中孵育隔日觀察，進行 L-cysteine 的營養需求性試驗；挑取只有於 BCYE 瓊脂平 板上生長而 BP 上不生長的菌落，由於退伍軍人症桿菌屬的生化反應 不明顯，鑑定及分型方法都是以接合螢光之單株抗血清進行免疫螢光 L. pneumophila (serogroup 1-14) 抗體作直接免疫螢光法(Direct Immunofluorescent Test; DFA) 分別加以測其抗原型。同時將 BCYE 瓊脂平 板置於長波 365-nm 的紫外線燈下觀察菌落的自發性螢光產生；與疾病有關 的 L. bozemanii, L. dumoffii, L. cherrii, L. gormanii, L. tucsonensis 及 L. anisa 皆 會產生藍-白色螢光，L. rubrilucens, L. erythra 則會產生紅色螢 光；這將會幫 助限定選取單株抗血清進行免疫螢光分型及鑑定的範圍，以節省時間及試劑的耗損。

臨床實驗診斷

嗜肺性退伍軍人桿菌是存在於大自然的有水環境中，常引起醫院內及社區 性致死率高的肺炎感染；由於大部份醫院實驗室無法進行此菌的培養，再加上 臨床醫師不熟悉此疾病，而造成許多病例沒有被診斷出來。由於病患痰液檢體 於收集中很容易被上呼吸道的正常菌叢污染，而無法分離出此種挑剔性的細 菌，需要輔以其他血清學的病患尿液抗原測定及血清抗體測定，將可提高對退 伍軍人症的診斷率。臨床上診斷為肺炎病患皆同時收集呼吸道分泌物、血清及 尿液(急性期及恢復期-3 週後分別收集一次)。呼吸道分泌物收集即刻進行細菌 培養和血清以酵素免疫分析法(ELISA)進行病患抗體 IgG+IgM 效價定性篩檢測 定，再以間接免疫螢光法 (IFA)定量效價測定，尿液檢體則以快速的 Binax NOW Legionella Urinary Antigen Test 免疫呈色法 (immunochromatographic membrane assay; ICT)30 分鐘內可以獲知是否有嗜肺性退伍軍人桿菌血清型 1 型的抗 原 存在。利用直接螢光免疫法(DFA)偵測退伍軍人症患者痰液中的抗原方法，由 於呼吸道中移生菌叢 (例如：Bacteroides fragilis, Pseudomonas spp., Stenotrophomonas maltophilia)會有假陽性的結果，再加上檢體中致病 菌的量 不多而有假陰性的結果，目前已經逐漸不被採用[15]。利用間接螢光免疫法(IFA)偵測退伍軍人症 患者血清中的抗體效價，由於 螢光染色的結果判讀較主觀，而 且根據本國疾病管制局的陽性判讀標準 $\geq 1:256$ 效價，診斷正確性不佳，唯有 恢復期抗體較急性期有四倍上升具診斷價值，利用血清學之診斷需 急性期及恢 復期二次效價之比較方能確立診斷，對於病人之臨床治療緩不濟急；目前國外逐漸採用 ELISA 測定 IgG+IgM 效價替代。同時所有病患皆接受胸部 X 光、 生化學及血液學方面之檢查。

合併採用傳統的培養技術結合及應用間接螢光免疫法及酵素免疫分析法偵測血清中的抗體效價，並應用最 新的酵素免疫法偵測患者尿液中的抗 原，以協助臨床快速診斷退伍軍人症感染。檢驗的標本將包含痰液、 血液、 尿液，依照本研究計劃對於痰液進行傳統的細菌和退伍軍人肺炎桿菌的培養 及直接螢光免疫法偵 測抗原；血清則於感染急性期和恢復期分別收集血液，以 進行間接螢光免疫法、酵素免疫分析法偵測抗體效 價；同時於感染急性期和 恢復期收集病患尿液，經由酵素免疫法偵測是否有 LP1 抗原的存在。

結 論

當病患移生上列任何細菌時，通常最後都會產生感染症狀。在醫療照護過 程中與病患直接接觸的使用醫 療儀器與設備，如果於清洗的過程中使用被污 染的自來水，將會讓病患暴露於感染的危險。被細菌移生的 病患亦可能成爲傳 播感染的來源，特別是當病患使用的醫療設備較有潮溼的環境，如：呼吸器。在水中環 境廣泛存在的細菌如：退伍軍人症桿菌、綠膿桿菌、假單胞菌屬、 蔥頭伯克氏單胞菌及不動桿菌都是醫院

的水環境常見葡萄糖非發酵性革蘭氏陰性菌，是與臨床和病患照護接觸而獲得感染有絕對相關的；其特性是對於營養條件的需求非常低（例如：可於蒸餾水中存活），而且可以忍受寬廣的物理環境（例如：溫度的變化），故是造成與使用醫療設備有關的肺炎、泌尿道感染、血流感染病原菌。由於這些細菌會經由醫護人員的手部傳播而感染病患，造成嚴重的院內感染的產生。故在醫院內的各醫療單位特別是加護病房及燒傷治療單位，一定要避免這些水中細菌的散播；醫護人員必須有良好的衛生習慣，於照顧病患後絕對遵守洗手要求，並且要戴手套及穿戴適當的隔離衣物，以保護病患不受感染；並且同時要排除醫院環境中可能會造成污染的來源，以避免醫療設備及儀器被污染而間接感染到病患。住院病患大多數是免疫及防禦機能較差的人，然而與水接觸又是不可避免的，所以如何提供品質好而且安全的水於醫院中使用是迫切需要的。一般為維持水的良好品質，蓄水池的固定清洗及消毒，維持管路的流暢與維修都是常規的保養工作。

根據美國賓州費城 Allegheny County 健康部建議，當醫院環境調查結果顯示，供水系統末端培養退伍軍人症桿菌陽性率達 30% 以上，表示環境污染的情形嚴重及住院易感受 (susceptible) 病患可能被感染，必須採取適當的環境消毒方法，以避免醫院內感染群突發病例的產生；該城市根據此標準執行後，發現院內感染退伍軍人症桿菌的比率由 31% 降至 8.4% 成果顯著[12]。因為醫院的特殊環境其供水系統的消毒是必要且持續的進行，消毒的方式有：暫時性的加熱-沖洗（終端出口 60°C 水溫，30 分鐘流放）、暫時性(20-50 ppm)或持續性-加氯 (0.5-1 ppm)、持續性-紫外線-臭氧(1-2 ppm)、添加二氧化氯(chloride dioxide 3-5 ppm)或 monochloramines 化學物及銅-銀離子產生(銅離子 0.2-0.8 ppm, 銀離子 0.02-0.08 ppm)系統等方法[17]。暫時性的加熱-沖洗消毒法雖然簡單易操作，但祇適用於適當的消毒設備無法立即使時的爭取時效緊急替代措施，消毒時需要大量人力支援與病患被燙傷的可能，供水系統很快又會被污染而無長期效果。雖然暫時或持續性-加氯消毒法目前仍然是使用最廣泛的方法，也是首度被應用於消毒退伍軍人症桿菌，但是由於殘餘氯或有效氯必須隨時監測，而氯化物亦有致癌及造成管路破損的缺點，再者實驗室也證實退伍軍人症桿菌對於氯具有抗性，因此已經重新評估此方法的可行性。臭氧消毒法於熱水供應系統中離子會被破壞而無法產生消毒效果，同時也會造成管路的損壞，此方法不適用於醫院使用。紫外線輻射消毒法裝設及維修容易，大多於用水量較少的特殊單位局部或新設備啓用的消毒，無法去除遠端污染處。對醫院內供水系統中存在的退伍軍人症桿菌屬有效的消毒方法，必須使用藉由水流將消毒劑有效送達消除遠端出口的微生物方法，包括加氯消毒法及銅-銀離子產生系統等全面供水系統消毒方法。當退伍軍人症桿菌屬躲藏於儲水槽或管路中的水垢或沉澱物的生物膜中時，即使使用有效的全面供水系統消毒方法，仍然無法完全消滅它。由於醫院供水系統是可能的主要感染源，所以管路的設計就應該避免死角，以免有水滯留的產生，儲存水塔的定期消毒與清洗也是必須的。故供水系統的消毒工作必須結合有效的消毒方法和避免水垢或沉澱物的生物膜產生。供水系統的修理工程後，應避免經管路的壓力瞬間提高，而將原躲藏於管路壁上生物膜內的菌株沖出，造成管路內菌量遽增而感染病患。建築工程的挖掘進行也應該避免塵土飛揚，而造成土壤中細菌散佈於空氣中，四處飛揚被病患吸入。銅-銀離子產生系統是目前先進的處理醫院環境水生微生物方法。醫院經採取適當的環境消毒方法加以撲滅水中退伍軍人菌後，應再多次進行環境培養偵測，以確定消毒效果並評估是否可以降低住院病患由飛沫或吸入感染此菌。

目前醫療單位的大樓皆屬於密閉性建築物，空調系統之使用極為頻繁，而且供水系統的密佈，供水系統中退伍軍人症桿菌的移生現象，已經是證實會造成嚴重的院內群突發感染；為避免退伍軍人症於醫院內流行，進行醫療單位內基本流行病學的調查及定期消毒和定期檢驗為極重要之工作。由於退伍軍人症的肺

炎感染患者如沒有正確的診斷及迅速給予適當的抗微生物製劑治療，將會有很高的死亡率。疑似感染病患需要收集檢體以協助做快速且正確的診斷，以降低病人住院天數，減少不適當抗微生物製劑的使用，進而提高醫療品質。

各醫療院所應即時建立調查醫院內感染退伍軍人症肺炎桿菌的流行病學資料；並應用適當的環境消毒方式進行滅菌。採用傳統的細菌培養技術，以調查醫院環境內退伍軍人症肺炎桿菌的分佈情形，提供臨床醫師於診斷院內院感染肺炎病患時的流行病學資料及醫院環境衛生的指標。當調查顯示醫院環境確實有受此菌的污染，應將分離的菌株以抗血清和分子生物技術-脈衝式電泳加以分型，以核對院內感染菌株產生時，比對環境中可能的儲存感染源。筆者認為當培養結果如顯示環境中已無此菌存在時，則應計劃於每年常規測試壹次，以建立環境受此菌污染的流行病學資料及確保住院病患生命安全。

參考文獻

1. Dennis PJ: Isolation of Legionellae from Environmental Specimens. In: Harrison TG and Taylor AG eds. A Laboratory Manual for Legionella. Chichester, UK. John Wiley & Sons Ltd., 1988:31-44.
2. Dournon E: Isolation of Legionellae from Clinical Specimen. In: Harrison TG and Taylor AG eds. A Laboratory Manual for Legionella. Chichester, UK. John Wiley & Sons Ltd., 1988:13-30.
3. Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria, 3rd ed. Barrow GI and Feltham RKA eds London. University press, 1993:161-3.
4. Harrison TG, Taylor AG: Identification of Legionellae by Serological Methods. In: Harrison TG and Taylor AG eds. A Laboratory Manual for Legionella. Chichester, UK. John Wiley & Sons Ltd., 1988:207-20.
5. Birtles RJ, Rowbotham TJ, Raoult D, et al: Phylogenetic diversity of intraamoebal legionellae as revealed by 16S rRNA gene sequence comparison. Microbiology 1996;142:3525-30.
6. Blatt SP, Dolan MJ, Hendrix CW, et al: Legionnaires' disease in human immunodeficiency virus-infected patients: eight cases and review. Clin Infect Dis 1994;18:227-32.
7. Boulanger CA, Edelstein PH: Precision and accuracy of recovery of Legionella pneumophila from seeded tap water by filtration and centrifugation. Appl Environ Microbiol 1995;61:1805-9.
8. Edelstein PH, Edelstein MA: Comparison of different agars used in the formulation of buffered charcoal yeast extract medium. J Clin Microbiol 1991;29:190-1.
9. Edelstein PH, Edelstein MAC: Comparison of three buffers used in the formulation of buffered charcoal yeast extract medium. J Clin Microbiol 1993;31:3329-30.
10. Fallon RJ, Rowbotham TJ: Microbiological investigations into an outbreak of Pontiac fever due to Legionella micdadei associated with use of a whirlpool. J Clin Pathol 1990;43:479-83.
11. Fry NK, Warwick S, Saunders NA, et al: The use of 16S investigate the phylogeny of the family Legionellaceae. J Gen Microbiol 1991;137:1215-22.
12. Stout JE, Yu VL: "Legionellosis." N Engl J Med 1997;337:682-7.
13. Chen YS, Lin WR, Liu YC, et al: Residential water supply as a likely cause of community-acquired Legionnaires' disease in an immunocompromised host. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2002;21:706-9.
14. Allegheny County Health Department, Pittsburgh. Approaches to prevention and control of legionella infection in

Allegheny country health care facilities. Pittsburgh, PA: Allegheny Country Health Department;1997:1-15.

15. Stout JE, Rihs JD, Yu VL: Legionella. Patrick RM, Ellen JB, James HJ, et al: Manual of Clinical Microbiology 8th ed. 2003:809-23.

16. Allegheny County Health Department, Pittsburgh. Approaches to prevention and control of legionella infection in Allegheny country health care facilities. Pittsburgh: Allegheny Country Health Department, 1993.

17. Lin YE, Stout JE, Yu VL: Control of Legionella Disinfection, Sterilization, and preservation, 5th ed., Philadelphia Lippincott Williams & Wilkins, 2001:505-12.