

Két budapesti termálfürdő mikrobiológiai vizsgálata (Budapest, Magyarország) – a fürdőzés és a medenceüzemeltetés hatása a vízminőségre

Lippai Anett^{*,**}, Farkas Rózsa^{*}, Szuróczi Sára^{*}, Szabó Attila^{*}, Felföldi Tamás^{*}, Marwene Toumi^{*}, Tóth Erika^{*}

^{*} Eötvös Loránd Tudományegyetem, Mikrobiológiai Tanszék

^{**} Biokör Technológiai és Környezetvédelmi Kft. (e-mail: lippai.anett@gmail.com)

DOI:10.59258/hk.13169



Kivonat

Magyarországon a fürdővizek vizsgálata a jogszabályoknak megfelelően higiénés megközelítésből történik, szabványos módszerek alkalmazásával. Munkánk során két termálfürdő vizsgálatát végeztük el (a kútvizektől a különböző üzemeltetésű medencéig) tenyésztési módszerekkel, valamint molekuláris módszereket alkalmazva, mint a taxon-specifikus polimeráz láncreakció (PCR), multiplex PCR és az újgenerációs szekvenálás. A termálfürdőkben főként olyan baktériumokat mutattunk ki, amelyek a vizek természetes közösségalkotói, azonban néhány oportunistá patogén taxon pl. *Pseudomonas aeruginosa*, *P. stutzeri*, *Acinetobacter johnsoni*, *Acinetobacter baumannii*, *Moraxella osloensis*, *Microbacterium paraoxydans*, *Legionella* spp., *Stenotrophomonas maltophilia* és *Staphylococcus aureus* is megjelent az általunk alkalmazott módszerekkel. A töltő-ürítő üzemeltetésű medencékre magasabb mikroszkópos sejtszám, összes heterotróf csíraszám, microcococcus szám, és magasabb *P. aeruginosa* és *S. aureus* szám volt jellemző, mint a vízforgatásos medencékre. Azok a baktériumok, amelyek egyértelműen humán eredettel hozhatók összefüggésbe (pl. bőr eredettel) a medencékben kisebb, mint 1% relatív abundancia értékkel rendelkeztek, előfordulásuk sporadikus (szórványos) volt. Az első, majd az azokat követő 4 hónapon át tartó mintavételek higiénés eredményei azt mutatták, hogy a vízforgatással rendelkező medencék jobb vízminőséggel rendelkeznek, mint a töltő-ürítő üzemeltetésű medencék.

Kulcsszavak

Amplikon szekvenálás, bakteriális diverzitás, medence üzemeltetés, fürdő, kútvizek és medencevizek.

Microbiological investigations of two thermal baths (Budapest, Hungary) – effect of bathing and pool operation type on water quality

Abstract

In Hungary, which is famous for its thermal baths, according to the regulations, waters are investigated in hygienic aspects with standard cultivation methods. In the present study, two thermal baths were investigated (the well and three different pool waters in both) using cultivation methods, taxon-specific polymerase chain reactions (PCRs), multiplex PCRs and next-generation amplicon sequencing. Mainly members of the natural microbial community of the well waters and bacteria originating from the environment were detected but several opportunistic pathogenic taxa, e.g. *Pseudomonas aeruginosa*, *P. stutzeri*, *Acinetobacter johnsoni*, *Acinetobacter baumannii*, *Moraxella osloensis*, *Microbacterium paraoxydans*, *Legionella* spp., *Stenotrophomonas maltophilia* and *Staphylococcus aureus* were revealed by the applied methods. Pools with charging-unloading operation had higher microscopic cell counts, colony-forming unit (CFU) counts, number of cocci, *P. aeruginosa* and *S. aureus* compared to the recirculation systems. Bacteria originating from human sources (e.g. skin) were identified in the pool waters with less than 1% relative abundance, and their presence was sporadic in the pools. Comparing the microbiological quality of the pools based on the first sampling time and the following four months' period it was revealed that recirculation operation type has better water quality than the charging-unloading pool operation from a hygienic point of view.

Keywords

Amplicon sequencing, bacterial diversity, pool operation type, spa, well and pool waters.

BEVEZETÉS

Magyarország fővárosa méltán híres gazdag termálfürdő készletéről. A termálfürdők felhasználása igen széles körű, alkalmazásuk főként gyógyászati és rekreációs célú (Goldscheider és társai 2010). A közös fürdőzésnek ismert mikrobiológiai kockázatai vannak, ezért a fürdővizek fertőtlenítése, a közegészségügyi szempontból veszélyt jelentő mikroorganizmusok eliminálása a megfelelő higiénés állapot fenntartásához nélkülözhetetlen (Peters 2016). Magyarországon a 37/1996 (X.18.) NM rendeletnek megfelelően a medencevizek üzemeltetésének két típusa van: a vízforgatásos medencék, amelyek szűrő-forgató berendezéssel ellátottak és a vizeket üzemelés közben folyamatosan fertőtlenítik, illetve a töltő-ürítő medencék, amelyek fertőtlenítés nélkül üzemelnek. Fertőtlenítés során leggyakrabban a klór-alapú fertőtlenítőszeret használják,

amelyeknek néhány hátránya is ismert, pl. a klór-rezisztens mikroorganizmusok kialakulása és elterjedése, valamint a klórozási melléktermékek jelenléte (Peters 2016). Magyarországon a jelenlegi szabályozás értelmében a termálfürdők fertőtlenítése akkor megengedett, ha az alkalmazott fertőtlenítőszer nem károsítja azokat a kémiai komponenseket (pl. bromid, szulfid, jodid), amelyek a gyógyhatásért felelősek, bár megjegyzendő, hogy ezt a hatásmechanizmust laboratóriumi és klinikai kísérletek még nem támasztották alá. Ezt a jogi szabályozást követve számos magyarországi termálfürdőben üzemeltetnek töltő-ürítő medencéket, amelyeket friss pótvízzel (kútvízzel) töltenek fel a fürdőzés során (Vargha és társai 2015).

A termálfürdők – beleértve a kútvizeket és medencevizeket – rendszeresen vizsgálni kell az üzemeltetőnek, továbbá az illetékes hatóság is végez ellenőrzéseket. A

laboratóriumi vizsgálatok során szabványos tenyésztési módszerekkel történik a higiénés paraméterek kimutatása. A vizsgálatok kiterjednek a fekális eredetű mikrobák (pl. termotoleráns coliform), a nem fekális eredetű szennyeződést mutató baktériumok (*Legionella* spp., *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus aureus*), valamint a patogén vagy fakultatív patogén mikroorganizmusok azonosítására is (MSZ 13690-3:1989, MSZ 15234:2012, 49/2015 (XI.6.)).

A termálfürdők mikrobiális közösségének vizsgálatával kapcsolatban azonban igen kevés információ áll rendelkezésünkre, kevés olyan kutatást ismerünk, amelyek a tenyésztési, mikroszkópos és molekuláris módszereket együttesen alkalmazzák a vizek „rejtett” diverzitásának feltárása érdekében (Vartoukian és társai 2010). Néhány molekuláris vizsgálatot (PCR, kvantitatív PCR, microarray vizsgálatok) már alkalmaztak korábban kórokozók kimutatására (Deshmukh és társai 2016), azonban ezek a módszerek mindig az adott patogén mikrobára fókuszálnak. Az újgenerációs szekvenálás azonban lehetőséget biztosít arra, hogy azonosítsuk és jellemezzük a vizsgált ökoszisztéma mikrobiális közösségét akkor is, ha a közösség egyes tagjai alacsony számban vannak jelen (Ghilamical és társai 2017).

Munkánk során két budapesti termálfürdő vizsgálatát végeztük el (TB1 és TB2). A TB1 fürdőt ellátó kútvíz 372 méter mélyről, 44 °C-os hőmérséklettel tör a felszínre, míg a TB2 termálfürdő kútvíze 1246 méter mélyről, 76 °C-kal érkezik a fürdőbe. Mindkét fürdőre jellemző, hogy különböző hőmérsékletű, elhelyezkedésű és üzemeltetésű medencékkel rendelkezik. Munkánk célkitűzései a következők voltak: 1) a kútvizek természetes mikrobaközösségeinek vizsgálata, 2) a medencék üzemelte-

tésének a mikrobiális közösségekre kifejtett hatásának vizsgálata, továbbá 3) a termálvizek higiénés státuszának jellemzése és a fürdőzők hatásának vizsgálata. Munkánk során tenyésztési és tenyésztéstől független módszereket alkalmaztunk.

MÓDSZEREK

Mintavétel

A TB1 termálfürdő esetében a kútvíz mintavétele (W1) a fürdőben található falikútból történt, továbbá mintát vettünk három medencéből (PCU38_1, PCU20_1, PCIRC38_1). A TB2 termálfürdőben a kútvíz mintavétele (W2) szintén ivókútból történt és a TB1 fürdőhöz hasonlóan három medencéből (PCU38_2, PCU20_2, PCIRC38_2) történt mintavétel. A kútvizek és a medencék jellemzőit az 1. táblázat szemlélteti.

Az első mintavételeket követően további 4 alkalommal vettünk mintát: (1) a fürdők nyitását megelőzően és (2-4) a fürdők nyitását követően a kútvizekből és a medencevizekből egyaránt. Utóbbi esetekben feljegyeztük a medencékben tartózkodó fürdőzők számát is.

A vízminták vétele (1 liter/minta) aszeptikus módon, tiszta, steril üveg edényzetbe történt, amelybe sterilizálás előtt nátrium-tioszulfát-pentahidrátot adagoltunk a vízmintákban esetlegesen található fertőtlenítőszer semlegesítése céljából. A kútvizek mintavétele falikútból/ivókútból történt, a medencevizeket 10-30 cm-re a vízfelszíntől, merítési módszerrel vételeztük, követve az MSZ EN ISO 19458:2007 szabvány utasításait. A vízmintákat jégakkukkal ellátott hűtőládában szállítottuk (4 °C) a laboratóriumba, a mintafeldolgozást a mintavételt követő 1 órán belül elkezdtük.

1. táblázat. Mintavételi helyek és azok jellemzői

Megjegyzés: W=kútvizek, CU=töltő-türítő üzemeltetésű medencék, CIRC=vízforogtató medencék. NA=nem értelmezhető

Table 1. Characteristics of the samples

Note: W1, W2: well; PCU38_1, PCU20_1, PCIRC38_1, PCU38_2, PCU20_2, PCIRC38_2: pools. NA: not applicable; CU: charging-unloading systems; CIRC: recirculation systems

Minta jele	Hőmérséklet (°C)	Elhelyezkedés	Üzemeltetés	Fürdőzők száma a mintavételkor
W1	44	NA*	NA*	NA*
PCU38_1	38	Beltéri	CU	12
PCU20_1	20	Beltéri	CU	1
PCIRC38_1	38	Kültéri	CIRC	8
W2	76	NA*	NA*	NA*
PCU38_2	38	Beltéri	CU	1
PCU20_2	20	Beltéri	CU	1
PCIRC38_2	38	Kültéri	CIRC	11

*nincs adat

Kútvizek fizikai és kémiai jellemzőinek vizsgálata

A kútvizek fizikai-kémiai vizsgálataihoz szabványos módszereket alkalmaztunk az alábbi szabványok szerint: nátrium és kálium tartalom meghatározás az MSZ EN ISO 11885:2009, kalcium tartalom az MSZ 448-3:1985, magnézium tartalom az MSZ 448-3:1985, klorid tartalom az MSZ 448-15:1982, fluorid tartalom az MSZ EN ISO 10304-1:2009, szulfát tartalom az MSZ 448-13:1983 és hidrogén-karbonát tartalom az MSZ EN ISO 9963-2:1998 alapján.

Szabványos mikrobiológiai vizsgálatok

A fürdővizek higiénés állapotának vizsgálataihoz szintén szabványos módszereket használtunk: fekáli coliform, micrococcus, *S. aureus* és *Pseudomonas aeruginosa* kimutatása az MSZ 13690-2:1989; *Legionella* spp. meghatározás az MSZ EN ISO 11731-2:2008; az összes telepszám vizsgálata pedig az MSZ EN ISO 6222:2000 szabványok szerint történtek, utóbbi esetben húspepton (DSMZ medium 1, www.dsmz.de) és 10% R2A agar táptalajok felhasználásával (DSMZ medium 830).

Vízminták mikroszkópos sejtszámának meghatározása

A fürdővízben található baktériumok mikroszkópos sejtszámát DAPI festést követően epifluoreszcens mikroszkóp (Nikon 80i) és Image ProPlus programcsomag segítségével határoztuk meg (Máthé és társai 2014). A medencevizekből 10 ml-t, a kútvizekből 200 ml-t koncentráltunk steril polikarbonát szűrőn keresztül (Millipore, Billerica, MA, USA), majd a filtereket 2%-os paraformaldehid oldatban termosztáltuk egy éjszakán át 4 °C-on.

Speciális tenyésztési vizsgálatok és az izolált baktériumtörzsek azonosítása

A speciális tenyésztési vizsgálatok során 10% R2A táptalajt, valamint szerves anyagokat alacsony koncentrációban tartalmazó úgynevezett Minimál Médium táptalajt alkalmaztunk, amelyeket kétféle szilárdító ágenssel láttunk el: agar-aggarral és gellángumival (Szuróczki és társai 2016). A táptalajok elkészítéséhez desztillált víz helyett a fürdők saját kútvizét használtuk fel. A lemezeket a W1 kútvíz esetében 44 °C-on 9 napig, a W2 kútvíz esetében 55 °C-on 7 napig inkubáltuk. A PCU38_1, PCU38_2, PCIRC38_1, PCIRC38_2 vízmintákat 37 °C-on 7 napig, míg a PCU20_1 és PCU20_2 vízmintákat 20 °C-on 7 napig termosztáltuk. A kútvizek tenyésztési vizsgálata során PUF (poliuretán) tömbökkel ellátott dúsító leveket is alkalmaztunk (Szuróczki és társai 2016), ezekben az esetekben a W1 kútvizét 44 °C-on 3 héten át, a W2 kútvizet pedig 55 °C-on, szintén 3 héten át inkubáltuk.

Az izolált baktériumtörzsekből a DNS kivonását Szuróczki és társai (2016) által leírt módon; a 16S rRNA gén felszaporítását pedig Kalwasinska és társai (2015) által leírt módon végeztük el. A felszaporított 16S rRNA gén fragmentumokat *Bsu*RI és *Msp*I enzimekkel emésztettük, majd a baktériumtörzseket ARDRA módszer szerint csoportosítottuk. A csoport reprezentatív és a csoportokon kívül eső baktériumtörzsek 16S rRNA génszekvencia analízisét a Szuróczki és társai (2016) által leírt módon végeztük el, minimum 98,65% szekvenciaazonosság esetében tekintettük a törzseket azonos fajba tartozónak (Kim és társai 2014). A szekvenciák a GenBank adatbázisban az MH790296-MH790311, MH915675-MH915682 és MH917333-MH917341 (TB1 fürdő), valamint az MN096612-MN096646 és MN096669-MN096733 (TB2 fürdő) azonosítók alatt érhetőek el.

Molekuláris módszerek

A vízminták molekuláris vizsgálataihoz a medencevizekből 200 ml-t, a kútvizekből 500 ml-t koncentráltunk steril, celullóz-észter filteren keresztül (Whatman ME 25/21 STL, GE Healthcare Life Sciences, New Jersey, USA).

Taxon-specifikus PCR vizsgálatok

A taxon-specifikus PCR vizsgálatok során a következő baktériumok kimutatása történt: *P. aeruginosa*, Lavenir és társai (2007) által; *Legionella* spp., Cloud és társai (2000) által; *Legionella pneumophila*, Fiume és társai (2005) által; coliform baktériumok Bej és társai (1990) által; *Acinetobacter baumannii*, Tsai és társai (2018) által; valamint *Stenotrophomonas maltophilia*, Filho és társai (2004) által leírt módszer alapján.

Multiplex PCR vizsgálatok

Multiplex PCR vizsgálatok segítségével mutattuk ki a széles spektrumú β -laktamáz és a makrolid rezisztenciáért felelős géneket: *ermA*, *ermB*, *ermC*, *msrA* és *mef* géneket minden mintából, követve Trung és társai (2015) és Zmantar és társai (2011) leírásait.

Újgenerációs szekvenálás (NGS)

A 16S rRNA gén felszaporítása, szekvenálása és a baktérium taxonok azonosítása Szabó és társai (2017) által leírt módon történt, azzal az eltéréssel, hogy a 27F (Lane 1991) és 534R primereket (Muyzer és társai 1993) használtuk fel a V1-V3 régiók felszaporításához. A szekvencia adatok az NCBI Sequence Read Archive adatbázisában a BioProject ID PRJNA602207 azonosító alatt találhatóak meg. A statisztikai értékelés során taxonómiai rangokat határoztunk meg. Amennyiben egy bizonyos értéket nem ért el az adott taxonómiai rang, azt a taxonómiai szintet úgynevezett unclassified (nem osztályozható) kifejezéssel jelöltük meg.

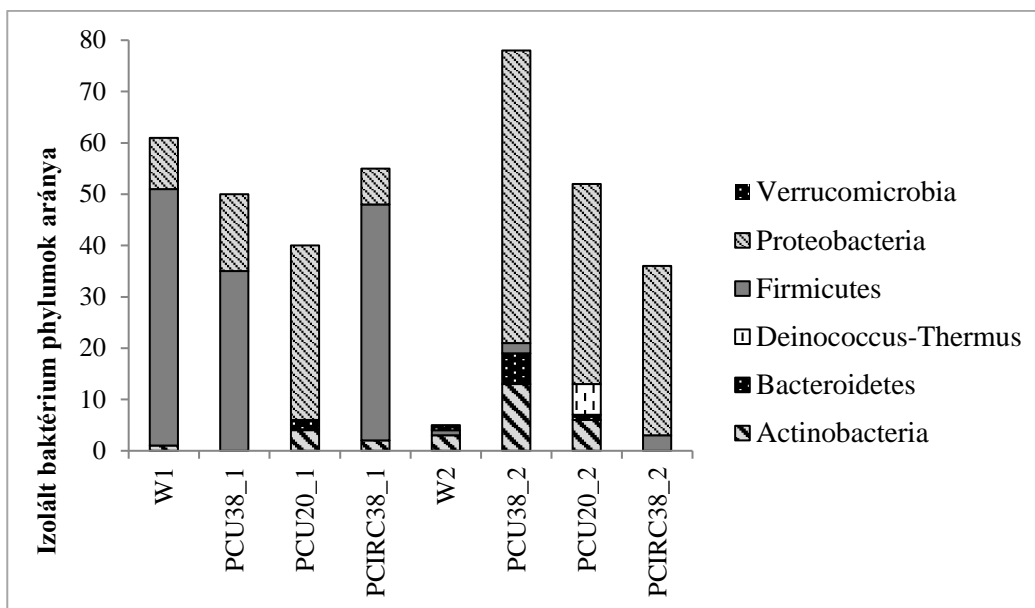
EREDMÉNYEK

Fizikai-kémiai vizsgálatok eredményei

A W1 kútvíz kémiai összetétele a következő: 155 mg/ml Na^+ , 148 mg/ml Ca^{2+} , 184 mg/ml Cl^- , 600 mg/ml SO_4^{2-} , 145 mg/ml F^- és 380 mg/ml HCO_3^- tartalom; a W2 kútvíz pedig 175 mg/ml Na^+ , 152 mg/ml Ca^{2+} , 195 mg/ml Cl^- és 550 mg/ml HCO_3^- tartalommal jellemezhető.

A baktériumközösségek vizsgálatának eredményei Kútvizek mikrobiális közösségei

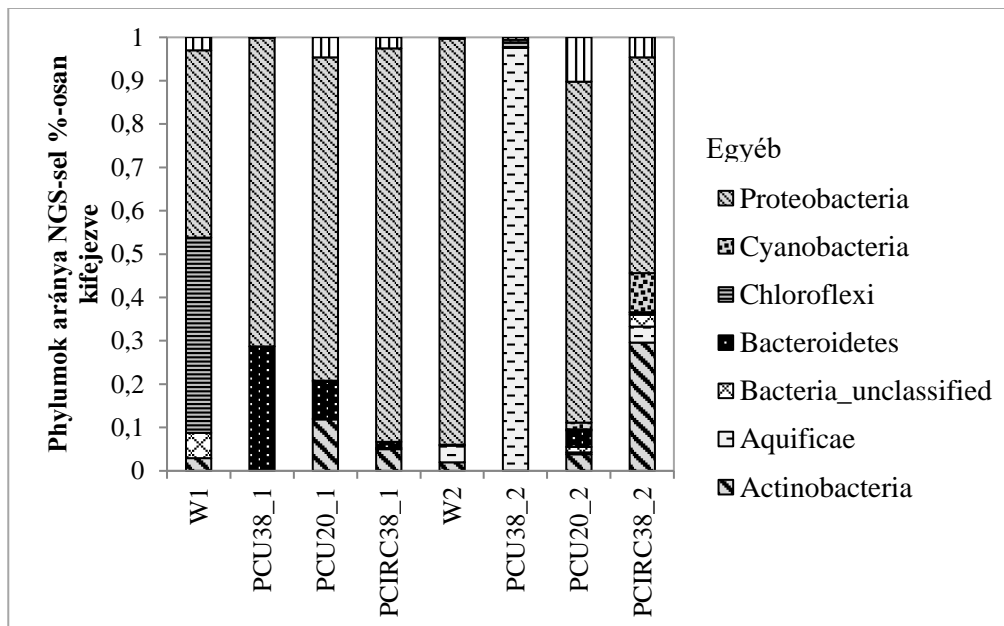
A tenyésztési vizsgálatok alapján a 44 °C-os TB1 termálfürdő kútvizében (W1 minta) a Firmicutes phylum tagjai domináltak, a Bacilli osztály képviselőit tudtuk kimutatni legnagyobb számban. Jellemző nemzetségek a kútvízben a *Brevibacillus*, a *Micrococcus*, a *Brevundimonas* és a *Ferrovibrio* voltak a tenyésztési vizsgálatok alapján. A 76 °C-os TB2 termálfürdő kútvizében (W2 minta) esetében dominánsnak az Actinobacteria phylumot találtuk, de megjegyzendő, hogy a tenyésztésbe vont izolátumok száma alacsony volt (1. ábra). A W2 kútvízben a W1 kútvízhez hasonlóan szintén kimutattuk a *Brevibacillus*, *Micrococcus* nemzetségeket, továbbá a W2 kútvíz egyedi jellemzői voltak a *Meiothermus*, a *Mycobacterium* és a *Roseimicrobium* nemzetségek is.



1. ábra. A vízmintákból tenyésztési módszerekkel kimutatott phylumok
 Megjegyzés: A minták jelölései megegyeznek az 1. táblázatban feltüntetett jelölésekkel
 Figure 1. Phylum-level distribution of bacterial strains detected in the water samples with cultivation
 Note: Notations showed in Table 1.

Újgenerációs szekvenálás (NGS) segítségével a TB1 termálfürdő esetében a Proteobacteria és a Chloroflexi phylum bizonyult dominánsnak, magas relatív abundancia értékekkel volt jellemezhető a Betaproteobacteria, Gammaproteobacteria és az Anaerolineae osztály. A TB1 termálfürdő vizsgálata során számos esetben a statisztikai értékelésnél az „unclassified” (nem osztályozható) rangot jelöltük meg: az unclassified *Anaerolineae* (Anaerolineaceae) és unclassified *Zoogloea* (Rhodocyclaceae) csoport tagjai voltak ebben a fürdőben dominánsak. Viszonylag magas relatív

abundancia értékkel mutattuk ki továbbá a *Sulfurovum*, *Shewanella*, *Pseudomonas*, *Actinomyces*, *Mycobacterium* és *Thiofaba* nemzetségeket is. A TB2 termálfürdő esetében a Proteobacteria phylum szintén domináns volt, az Alphaproteobacteria és a Gammaproteobacteria osztály tagjait detektáltuk (2. ábra). Domináns nemzetségek ebben a termálfürdőben a *Methylobacterium* és a *Pseudomonas* voltak, továbbá magas relatív abundancia értékekkel azonosítottuk a *Sulfurihydrogenibium*, *Shewanella*, *Mycobacterium* és *Actinomyces* nemzetségeket is.



2. ábra. A vízmintákból kimutatott phylumok NGS vizsgálatok segítségével
 Megjegyzés: A minták jelölései megegyeznek az 1. táblázatban feltüntetett jelöléssel
 Figure 2. Phylum-level distribution of amplicon sequencing reads in the water samples detected with NGS
 Note: Notations showed in Table 1.

Medencevizek mikrobiális közösségei

Tenyésztéses vizsgálatok során a TB1 termálfürdő medencevizében a Firmicutes és Proteobacteria phylumok voltak dominánsak, a Bacilli és Betaproteobacteria osztály tagjait sikerült legnagyobb számban tenyésztésbe vonni. Ez alól kivételt a 20 °C-os medence jelentett (PCU20_1), ahol főként az Alphaproteobacteria osztály képviselőit mutattuk ki. A TB2 termálfürdő medencéiben szintén a Proteobacteria phylum volt domináns az Alpha- és Gammaproteobacteria osztályok jelenlétéből adódóan. A TB1 termálfürdő medencéinek jellemző baktérium nemzetségei: a *Brevibacillus*, a *Bacillus*, a *Hydrogenophaga* és a *Rhizobium* voltak, míg a TB2 termálfürdő esetében a *Ferrovibrio*, a *Pseudomonas*, a *Rheinheimera*, a *Microbacterium* és a *Porphyrobacter* nemzetség volt domináns.

A molekuláris vizsgálatok eredményei alapján mindkét fürdő medencéiben a Proteobacteria phylum (kivéve a PCU38_2 mintát), azon belül az Alpha-, a Beta- és a Gammaproteobacteria osztályok jelentek meg a legmagasabb relatív abundanciával, előfordulási arányuk azonban különböző volt az egyes medencékben. A tenyésztéses eredményekkel összehasonlítva a *Hydrogenophaga*, a *Pseudomonas*, a *Rheinheimera*, a *Rhizobium*, a *Flavobacterium*, az *Acidovorax*, a *Brevundimonas*, a *Shingomonas* nemzetségeket NGS segítségével is kimutattuk. Kizárólag molekuláris módszerrel azonosítottuk a *Sulfurovum*, a *Thiofaba*, a *Methylobacterium*, a

Methyloversatilis, a *Moraxella*, a *Cloacibacterium* és a *Sulfurihydrogenibium* nemzetségeket, mint a baktériumközösségek fontos tagjait.

Medencevizek higiénés vizsgálatainak eredményei Mikroszkópos sejtszám meghatározásának és a tenyésztéses, szabványos vizsgálatok eredményei

A mikroszkópos sejtszámok – ahogyan az összes telepesség értékek is – 1-2 nagyságrenddel magasabbak voltak a medencékben, mint a kútvizekben. A medencék magasabb sejtszám értékei a nyitás előtti (fürdőzők nélküli) minták esetében is megfigyelhetők voltak. A töltő-ürítő üzemeltetésű medencék sejtszáma szintén magasabbnak bizonyult a vízforgatásos medencékhez képest (2. táblázat).

Az összes heterotróf csíraszám a 10% R2A és húspepton agaron, valamint a *Micrococcus*, a *S. aureus* és a *P. aeruginosa* száma szintén minden esetben a töltő-ürítő medencék vizében volt magasabb. Fekál coliform és *Legionella* spp. baktériumokat nem mutattunk ki egyetlen mintából sem (3/a és 3/b táblázat). Az MSZ 13690-3:1989, az MSZ 15234:2012 és a 49/2015 (XI.6.) EMMI rendelet határértékei szerint a PCU38_1 minta (TB1 fürdő) a *Micrococcus* és *P. aeruginosa* esetében azonban meghaladta a határértékeket. A *P. aeruginosa* száma szintén határérték feletti volt a PCIRC38_1 (TB1) és a PCIRC38_2 (TB2) medencék esetében. A kútvizek minden esetben megfelelő higiénés minőségűek voltak.

2. táblázat. Mikroszkópos sejtszám meghatározásának eredményei 4 egymást követő hónap mintavételei során

Megjegyzés: A minták jelölése megegyezik az 1. táblázatban feltüntetett jelölésekkel
Table 2. Microscopic cell counts of the samples during the 4 months period

Note: Notations are shown in Table 1.

Minta jele	Mikroszkópos sejtszám nyitás előtt, 1. nap	Mikroszkópos sejtszám nyitás után, 2. nap	Mikroszkópos sejtszám nyitás után, 3. nap	Mikroszkópos sejtszám nyitás után, 4. nap
	sejt/ml			
W1	$1,5 \times 10^4$	$1,1 \times 10^4$	$5,9 \times 10^4$	$2,7 \times 10^4$
PCU38_1	$5,9 \times 10^5$	$3,9 \times 10^6$	$5,1 \times 10^5$	$2,4 \times 10^6$
PCIRC38_1	$2,0 \times 10^5$	$2,8 \times 10^5$	$8,6 \times 10^4$	$3,8 \times 10^5$
W2	$4,8 \times 10^3$	$5,5 \times 10^4$	$6,2 \times 10^3$	$3,9 \times 10^3$
PCU38_2	$1,9 \times 10^6$	$2,9 \times 10^6$	$9,8 \times 10^5$	$1,9 \times 10^6$
PCIRC38_2	$2,7 \times 10^4$	$2,0 \times 10^6$	$4,5 \times 10^5$	$7,5 \times 10^5$

3/a táblázat. A vízminták higiénés vizsgálata során kapott eredményei
Megjegyzés: A minták jelölései megegyeznek az 1. táblázatban feltüntetett jelöléssel
Table 3a. Hygienic parameters of the water samples. NA: not applicable

Note: Notations are shown in Table 1.

Minta jele	Mikroszkópos sejtszám	10% R2A médium	Nutrient médium	Fekál coliform szám	Micrococcus szám	<i>Staphylococcus aureus</i> száma	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> száma	<i>Legionella</i> spp. száma
	sejt/ml	TKE/ml		TKE/100 ml				
W1	$1,4 \times 10^4$	$1,7 \times 10^2$	$2,0 \times 10^1$	0	0	0	0	0
PCU38_1	$4,9 \times 10^6$	$4,0 \times 10^5$	$2,0 \times 10^4$	0	4 020*	18	80*	0
PCU20_1	$2,6 \times 10^6$	$1,7 \times 10^5$	$2,3 \times 10^3$	0	2 000	0	50	0
PCIRC38_1	$7,8 \times 10^5$	$1,3 \times 10^5$	$1,6 \times 10^3$ *	0	76	0	15*	0
W2	$6,1 \times 10^3$	$1,2 \times 10^2$	0	0	0	0	0	0
PCU38_2	$1,4 \times 10^6$	$6,4 \times 10^4$	$1,7 \times 10^3$	0	2 000	10	50	0
PCU20_2	$3,7 \times 10^5$	$8,2 \times 10^3$	$6,5 \times 10^3$	0	400	0	0	0
PCIRC38_2	$9,0 \times 10^5$	$2,2 \times 10^3$	$1,5 \times 10^2$	0	50	0	10*	0

*Meghaladja a jelenlegi szabályozás szerinti határértéket

*Exceeded the standard limit values

3/b táblázat. Határértékek az MSZ 13690-3:1989; az MSZ 15234:2012 szabványok és a 49/2015 (XI. 6.) EMMI rendelet szerint
Megjegyzés: A minták jelölései megegyeznek az 1. táblázatban feltüntetett jelöléssel

Table 3b. Standard limit values due to Hungarian regulation according to MSZ 13690-3:1989; MSZ 15234:2012 and 49/2015 (XI. 6.) EMMI Order

Note: Notations are shown in Table 1.

Üzemeltetés típusa	Határértékek				
	<i>E. coli</i>	Micrococcus	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Legionella</i>
	TKE/100 ml				TKE/1000 ml
Töltő-ürítő	100	2 500	20	50	100
Vízforgatásos	1	250	1	2	100

Taxon-specifikus PCR és multiplex PCR vizsgálatok eredményei

Taxon-specifikus PCR módszerrel *A. baumannii* és *L. pneumophila* baktériumokat egy mintából sem mutattunk ki. A *P. aeruginosa* megtalálható volt a PCU38_2 medencéző mintában (ezt a baktériumot tenyésztés

vizsgálatokkal nagy számban mutattunk ki szinte minden medencéből (3/a táblázat)). Coliform baktériumokat mindkét 38 C-os töltő-ürítő medencében detektáltunk (PCU38_1; PCU38_2), míg a *S. maltophilia* a TB2 fürdő minden mintájában és a TB1 fürdő PCU38_2 medence mintájában volt jelen (4. táblázat).

4. táblázat. Potenciális patogén szervezetek a két vizsgált budapesti termálfürdőben

Megjegyzés: A minták jelölései megegyeznek az 1. táblázatban feltüntetett jelölésekkel

Table 4. Potentially pathogenic bacteria identified from the two thermal baths in Budapest

Note: Notations are shown in Table 1.

Nemzetség	Fürdő	Vizsgálat	Fajok	Kockázati csoport	Lehetséges betegség	Medence típusa
<i>Acinetobacter</i>	TB1, TB2	NGS és tenyésztés	<i>johnsonii</i>	2	Pneumónia	CU*
			<i>baumannii</i>	2	Pneumónia, szepszis, meningitisz, húgyúti gyulladás	CU
<i>Moraxella</i>	TB1, TB2	NGS és tenyésztés	<i>osloensis</i>	2	kötőhártya gyulladás	CU és CIRC
<i>Cloacibacterium</i>	TB1, TB2	NGS	–	1	Húgyúti gyulladás	CU és CIRC
<i>Stenotrophomonas</i>	TB1, TB2	Taxon-specifikus PCR	<i>mastophiila</i>	2	Pneumónia, endocarditis	CU és CIRC
<i>Pseudomonas</i>	TB1, TB2	NGS, taxon-specifikus PCR és tenyésztés	<i>aeruginosa</i>	2	Bőrfertőzések, lágy szövetek gyulladása, húgyúti, gastro-intesztinális megbetegedések	CU és CIRC
			<i>alcaligenes</i>	2	Szepszis, endocarditis	CU és CIRC
			<i>stutzeri</i>	1	Szepszis, légúti, húgyúti megbetegedések	CU
<i>Legionella</i>	TB1, TB2	NGS	–	2	Legionárius betegség, Pontiac láz	CU és CIRC
<i>Staphylococcus</i>	TB1, TB2	NGS és tenyésztés	<i>aureus</i>	2	Bőrfertőzések, légúti, idegrendszeri megbetegedések	CU és CIRC
<i>Microbacterium</i>	TB1	tenyésztés	<i>paraoxydans</i>	1	Hashártya gyulladás, katéterrel összefüggő fertőzések	CIRC
<i>Brevundimonas</i>	TB1, TB2	NGS és tenyésztés	<i>nasdae</i>	1	Pneumothorax, mellhártyagyulladás	CU

*CU-töltő-ürítő üzemeltetésű medencék, CIRC-vízforgatásos medencék

* CU-charging-unloading systems; CIRC-recirculation systems

Multiplex PCR vizsgálatokkal makrolid-rezisztencia géneket nem mutattunk ki, ESBL gének esetében

pozitív eredményt a PCU38_1 töltő-ürítő medencében kaptunk.

A tenyésztési vizsgálatok és az NGS eredményeinek összehasonlítása higiénés vonatkozásban

A vizsgáló módszerek összehasonlításánál fontos figyelembe venni, hogy molekuláris módszer segítségével több taxon detektálására volt lehetőség, mint a tenyésztési vizsgálatok során. Másrészt azonban az NGS segítségével nemzetségek szintjén tudtuk meghatározni a baktériumokat, míg a tenyésztés segítségével faji szintű információhoz jutunk.

A legtöbb potenciálisan patogén szervezetet tenyésztéssel és NGS segítségével is azonosítottuk (4. táblázat). Mindkét termálfürdő esetében kimutattunk olyan baktériumokat, amelyek összefüggésbe hozhatók humán eredettel (pl. bőrrel), azonban obligát kórokozókat nem, csupán néhány opportunistá patogén baktériumot izoláltunk a medencevizekből tenyésztési módszerekkel. Ilyen opportunistá patogén pl. a *Pseudomonas stutzeri* (PCU38_1), az *Acinetobacter johnsonii* (PCU20_1; PCU20_2), az *A. baumannii* (PCU20_2), a *Brevundimonas nasdae* (PCU20_1; PCU38_2), a *Pseudomonas alcaligenes* (PCIRC38_1; PCU38_2; PCU20_2), a *Microbacterium paraoxydans* (PCIRC38_1; PCU38_2), a *P. aeruginosa* (TB2 minden medencéjéből) és a *Moraxella osloensis* (PCU38_2; PCU20_2) (4. táblázat). Vizsgálataink alapján ezek előfordulási aránya a fertőtlenítést nem alkalmazó töltő-ürítő medencékben volt nagyobb. Az NGS vizsgálatok azt mutatták, hogy az opportunistá patogének relatív abundanciája (a *Pseudomonas* kivételével) minden mintában alacsony volt.

NGS módszer segítségével mutattuk ki a medencékből a *Moraxella* és a *Cloacibacterium* nemzetséget, amelyek viszonylag magas relatív abundancia értékkel rendelkeztek. Tenyésztéssel a *M. osloensis* a TB2 fürdő töltő-ürítő medencéiben is jelen volt, a vízforgatásos medencékből azonban nem sikerült tenyésztésbe vonni. A *Cloacibacterium* nemzetséget kizárólag NGS módszerrel azonosítottuk, melyek a vízforgatásos és a töltő-ürítő medencékben egyaránt előfordultak.

A fürdőző hatás és a medencék higiénés státuszának vizsgálata érdekében az NGS eredményeit 1% relatív abundancia alatt is megvizsgáltuk. Ebben az esetben számos olyan nemzetséget azonosítottunk, amelyek humán eredettel összefüggésbe hozhatók, mint pl. *Dermabacter*, *Dermacoccus*, *Mobilicoccus*, *Kytococcus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus* (3. ábra). Ezek a baktériumok sporadikusan mindkét üzemeltetésű medencében előfordultak. Az *Acinetobacter* nemzetséget tenyésztéssel és molekuláris módszerrel is kimutattuk: az *A. johnsonii* a 20 °C-os töltő-ürítő medencékben (PCU20_1; PCU20_2), az *A. baumannii* baktérium pedig a TB2 termálfürdő töltő-ürítő medencében volt jellemző.

A *Microbacterium* nemzetség (amelynek szintén vannak opportunistá patogén képviselői) szintén jelen voltak, az *M. paraoxydans* baktériumot sikerült tenyésztésbe vonni a TB2 fürdő töltő-ürítő medencéjéből (PCU38_2) és a TB1 fürdő vízforgatásos medencéjéből (PCIRC38_1) (4. táblázat).

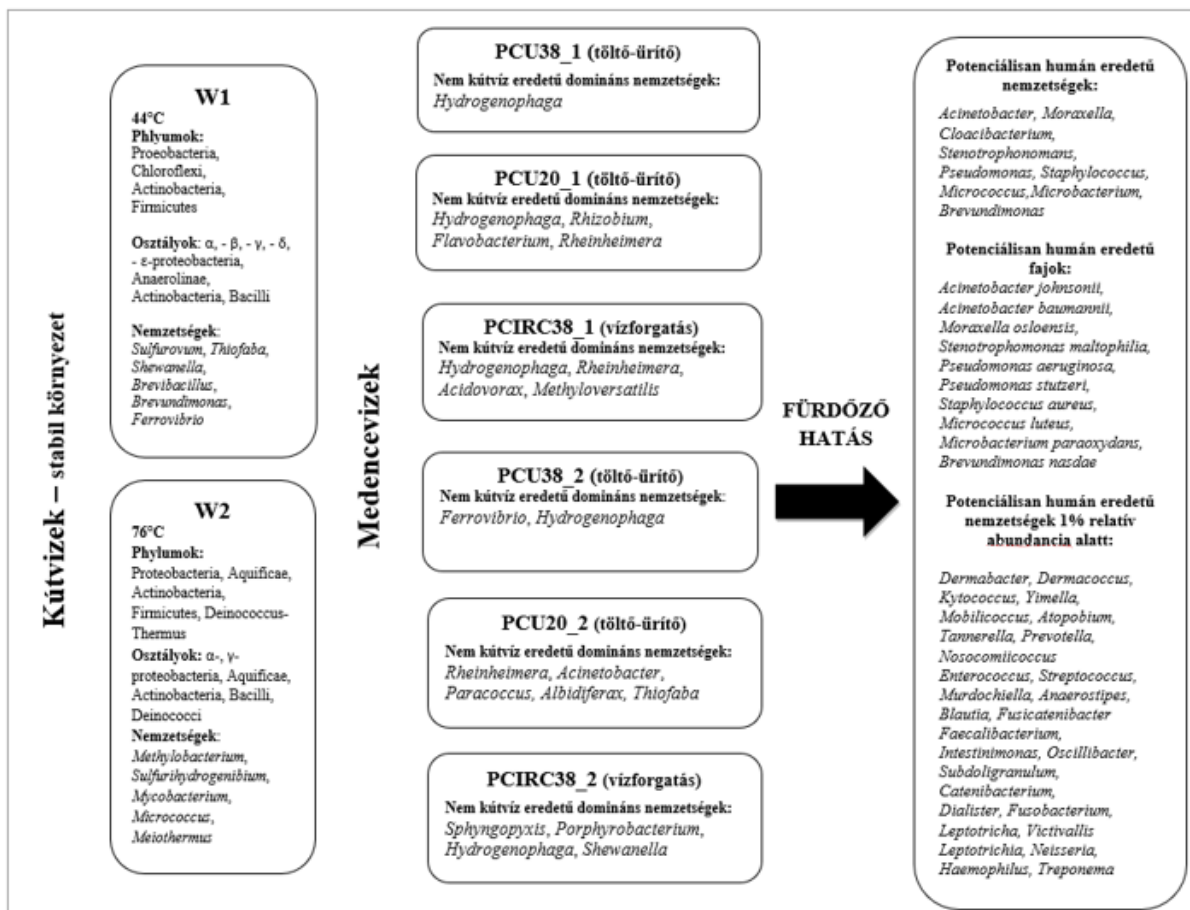
KÖVETKEZTETÉSEK

A fürdőzés napjainkban is népszerű tevékenység rekreációs, oktatási és rehabilitációs lehetőségei miatt (Neumann és társai 2001, Rapolineé és társai 2015). A közös fürdőzésnek azonban ismertek a mikrobiológiai kockázatai, ezért a fürdővizek mikrobiológiai vizsgálata a közegészségügyben központi szerepet játszik (Vargha és társai 2015). A medencevíz jól ismert közvetítő közeg különböző betegségek terjesztésében (bakteriális fertőzések, paraziták, illetve vírusok által okozott megbetegedések) (Rabi és társai 2007), habár fontos megjegyezni, hogy a vízzel közvetített betegségek száma világszinten alacsony (Dale és társai 2010). Magyarországon kevés információ áll rendelkezésünkre fürdővíz eredetű megbetegedésekkel kapcsolatban, a jelenlegi szabályozás a bakteriális szennyezettségre fektet hangsúlyt, holott ismertek egyéb kórokozók (pl. egysejtűek, vírusok), amelyek fürdővízzel terjedve közegészségügyi kockázatot jelentenek (Vargha és társai 2015).

Munkánk során két budapesti gyógyfürdő mikrobiológiai vizsgálatát végeztük el a kútvizektől a medencevizekig. Eredményeink alapján a kimutatott baktériumok főként a természetes mikroba közösség tagjai voltak, amelyek fontos szerepet töltenek be a vízi ökoszisztémákban. Ezek a mikroorganizmusok anyagcsere sajátosságaik révén befolyásolják a vízminőséget, továbbá ezen mikrobák ismerete segít megérteni a prokarióták és a környezet közötti kapcsolatot (Valeriani és társai 2018).

Mivel a kútvizek nincsenek kitéve külső hatásnak, stabil bakteriális közösség alakulhat ki bennük. Feltehetően a kútvizek szulfát tartalmának köszönhetően mutattunk ki a W1 kútvízben olyan baktériumokat, amelyek a kén körforgalmában fontos szerepet töltenek be (*Sulfurovum*, *Thiofabia*). A termálforrások a folyamatos szulfid ellátás révén a kén-oxidáló baktériumok jellemző élőhelyei, ezen baktériumok jelenléte pedig meghatározó, a karbonát egyensúlyban betöltött szerepük miatt (Valeriani és társai 2018). A *Sulfurovum* nemzetség a TB2 kútvízében szintén megtalálható volt, míg a kemolitoautotróf és termofil *Sulfurihydrogenibium* kizárólag a 76 °C-os W2 kútvízben volt jelen (3. ábra). A fertőtlenítést nem alkalmazó töltő-ürítő medencékben ennek a nemzetségnek magas relatív abundanciája volt megfigyelhető.

Tenyésztéssel és NGS módszerrel is számos olyan baktériumot mutattunk ki, amelyek vizes közegek jellemző tagjai, pl. *Mycobacterium*, *Flavobacterium*, *Acidovorax*, *Methyloversatilis*, *Rheinheimera*, *Hydrogenophaga*, *Rhizobium*, *Brevundimonas*, *Sphingomonas*, *Pseudomonas* (Sikorski és társai 2002, Busse és társai 2003, Kumar és társai 2014, Szuróczi és társai 2016) (3. ábra). A *Pseudomonas* nemzetséget például dél-afrikai termálforrásokból szintén kimutatták molekuláris módszerrel, más (a Proteobacteria phylumba tartozó) nemzetségek mellett (*Hydrogenophaga*, *Mycobacterium*) (Tekere és társai 2015). Az NGS vizsgálatok számos esetben az úgynevezett "unclassified" (nem osztályozható) taxonómiai szintet jelölték meg a nemzetségek esetében, amely felhívja a figyelmet arra, hogy a termálvizek a tudomány számára eddig ismeretlen baktériumokat is tartalmazhatnak, ennek igazolására természetesen további vizsgálatok szükségesek.



3. ábra. A bakteriális közösségek összetételében bekövetkezett változások a kútvizektől a medencevizekig, figyelembe véve a fürdőző hatást

Megjegyzés: A minták jelölése megegyezik az 1. táblázatban feltüntetett jelölésekkel

Figure 3. Changes in the bacterial community structures from the wells to the pools highlighting the bathing effect

Note: Notations are shown in Table 1.

A kútvizekből a medencevizekbe érve a baktériumok új környezetbe kerülnek, ahol számos tényezővel kell szembenéniük. Többek között a fürdőző hatás és a vízkezelés befolyásolja a baktériumok növekedését és megváltoztatja a bakteriális közösségeket. A tenyésztési módszerekkel kapcsolatban továbbá fontos megjegyezni, hogy a heterotróf mikrobák könnyen túlnőhetnek a lassabban növő társaikat.

Feltehetően a fertőtlenítőszer adagolás hiányában a mikroszkópos sejtszám és összes heterotróf telepszám magasabb volt a töltő-űrítő rendszerű medencék esetében, mint a vízforgatással üzemelő medencékben, amelyeket folyamatosan fertőtlenítenek. A kútvizekhez képest azonban minden medence mikroszkópos sejtszáma és összes heterotróf telepszáma magasabb volt. A mikroszkópos sejtszámokat a töltő-űrítő medencékben a nyitás előtti mintavétel során is jelentősen magasabbnak találtuk a vízforgatásos medencékhez képest, amely arra enged következtetni, hogy a medencék faláról származó biofilm is hozzájárul az emelkedett értékekhez. Fontos azonban megjegyezni, hogy a fürdőzők száma, a medencék mérete, a víz-hőmérséklet és egyéb külső környezeti hatások is befolyásolják a medencék vízminőségét.

Munkánk során csupán néhány opportunistá patogén baktériumot mutattunk ki az általunk alkalmazott módszerekkel. Korábbi vizsgálati eredményeket tekintve a töltő-

űrítő medencék esetében változó, hogy mely paraméter okoz határérték túllépést, de számos esetben az *Escherichia coli* fekális indikátor szervezetnek köszönhető a medencék nem megfelelő higiéniés állapota (Vargha és társai 2015). Közegészségügyi szempontból a fekális szennyeződés ad leginkább okot aggodalomra, mivel velük számos mikroorganizmus kerülhet a vizekbe. Míg a *Micrococcus* és a *Staphylococcus* a medencék túlterheltségére utalnak, addig a *Pseudomonas* és *Legionella*, mint úgynevezett technológiai indikátorok a biofilm jelenlétére engednek következtetni (Vargha és társai 2015). A TB1 és TB2 fürdőben szabványos módszerekkel fekáli coliform és *Legionella* spp. szervezeteket nem mutattunk ki, a *Micrococcus*, *P. aeruginosa* és *S. aureus* szám a töltő-űrítő medencékben voltak magasabbak. A vízminőség (a PCU38_1; PCIRC38_1 és PCIRC38_2 medencék kivételével) a hazai szabályozás szerint megfelelő higiéniés állapotúnak bizonyult. Feltehetően a töltő-űrítő rendszernek, a PCU38_1 medence esetében pedig a medence túlterheltségének volt köszönhető a határértéket meghaladó *Micrococcus* szám. A magasabb *P. aeruginosa* a töltő-űrítő PCU38_1 és a vízforgatásos 38 °C-os medencékben pedig biofilmek jelenlétére utal. A mintavételek során biofilm mintákat nem gyűjtöttünk, mivel vizsgálatunk elsődleges célja a termálfürdők vizsgálata, a kútvizek összehasonlítása a medencevizekkel volt.

Számos tanulmány fókuszál medencevizek vizsgálatára, amelyek során a vizsgált medencevizekben a *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* és a *Micrococcus* szám meghaladta a határértékeket szabványos módszereket alkalmazva (Papadopoulou és társai 2008, Agbagwa és társai 2012, Amala és társai 2016). Munkánk során ezeket a baktériumokat többnyire mi is kimutattuk a medencevizekben (*P. aeruginosa*, coliformok és *S. aureus*). A *Micrococcus* nemzetségeknek számos oportunistá patogén tagja ismert, pl. *M. luteus*, amelyet korábban oligotróf közegekből történő tenyésztéssel kimutattak és képes nozokomiális fertőzéseket okozni (Yang és társai 2001).

Kevés információ áll rendelkezésünkre termálfürdők molekuláris módszerekkel történő higiénes vizsgálatára vonatkozóan. Egy esettanulmány Eritrea termálforrásait vizsgálta, ahol a termálvizeket rekreációs céllal használják a fürdőzők. NGS segítségével főként a Proteobacteria és Firmicutes phylum, nemzetségeket tekintve pedig *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Legionella*, *Acinetobacter* és *Moraxella* fordultak elő (Maruyama és társai 2018). Munkánk során a *Moraxella* nemzetséget mi is kimutattuk NGS segítségével, azonban kizárólag a medencevizekből, így feltételezhetően emberi eredettel hozható összefüggésbe a medencevizekben történő megjelenése. Továbbá sikerült tenyésztésbe vonni a *M. osloensis* baktériumot, amely szintén képes fertőzést okozni, korábban klinikai mintákból izolálták a mikrobát (Maruyama és társai 2018, Shah és társai 2019). Vizsgálataink során több olyan baktériumot azonosítottunk, amely összefüggésbe hozható valamilyen megbetegedéssel. Az *Acinetobacter* nemzetséget, amelyről ismert, hogy számos oportunistá patogén képviselője van, munkánk során NGS-sel és tenyésztéssel is kimutattuk. Két képviselőjét sikerült tenyésztésbe vonni: az *A. johnsonii* baktériumot, amely a humán bőr mikrobióta természetes tagja, azonban immunszuppresszált egyéneknél képes fertőzést okozni (Seifert és társai 1993) és az *A. baumannii* baktériumot, amely a légzőszervrendszer kolonizálja, továbbá bőrön, kiválasztó és gasztrointesztinális szervrendszerben is előfordul, nozokomiális fertőzésekért lehet felelős (Hakyemez és társai 2013). Ezeknek a baktériumoknak az előfordulási aránya alacsony volt az általunk vizsgált medencékben, tenyésztéssel a TB2 fürdő 20 °C-os töltő-ürítő medencéjéből mutattuk ki (PCU20_2). Megbetegedésekkel szintén összefüggésbe hozható a tenyésztéssel kimutatott *Microbacterium paroxydans*, amely képes nozokomiális fertőzést okozni immunszuppresszált egyéneknél (Laffineur és társai 2003, Chorost és társai 2018).

A legtöbb azonosított oportunistá patogén a 2-es kockázati csoportba tartozik, előfordulásuk főként a töltő-ürítő rendszerű medencékre volt jellemző, míg 1-es kockázati csoportba tartozó baktériumot csekély mértékben mutattunk ki. A széles spektrumú β -laktamáz (ESBL) gének a töltő-ürítő medencékben szintén humán eredettel összefüggésbe hozható mikrobák jelenlétére utalnak, beleértve a patogén és fakultatív patogén mikrobákat is. Mindezek pedig arra engednek következtetni, hogy a töltő-ürítő medencék üzemeltetése és vízkezelése nem alkalmas a közegészségügyi szempontból problémát jelentő mikroorganizmusok eliminálására.

A hagyományos fertőtlenítőszeres klór-alapú szerek, azonban ismertek úgynevezett alternatív fertőtlenítési eljárások is pl. bromid, ózon, UV, hidrogén-peroxid alkalmazása. Ezek az eljárások általában magasabb költségekkel járnak és speciális üzemeltetéssel használhatók, sokszor önmagukban nem is elegendők, hanem egyéb kiegészítő eljárásként alkalmazhatók a vízminőség javítása érdekében (Kruithof és társai 2007, Holmgreen 2012). Magyarországon is rendelkezésre állnak alternatív fertőtlenítési eljárások, egységes szabályozás az alkalmazott fertőtlenítőszerrel kapcsolatban azonban jelenleg nem ismert, az üzemeltetők maguk választják ki a fertőtlenítőszeret és határozzák meg a fertőtlenítési eljárásokat. Mindenesetre a megfelelő vízkezelés kulcsfontosságú, mivel azáltal a fürdővíz közvetítette közegészségügyi kockázatok csökkenthetők (Vargha és társai 2015).

A megfelelő mikrobiológiai vízminőség fenntartásához a medencéket üzemeltetőknek követniük kell a szabályozásban és műszaki, módszertani leírásokban szereplő szabályokat, útmutatásokat, azonban fontos megjegyezni a fürdőzők felelősségét is, hogy a közfürdőkben a megfelelő tisztálkodási előírásokat kövessék. Ezek nemcsak a víz szemmel látható tisztaságához szükségesek, hanem a fertőzések elkerülése érdekében is.

ÖSSZEFOGLALÁS

Munkánk során két termálfürdő mikrobiológiai vizsgálatát végeztük el tenyésztéssel és molekuláris módszerekkel az ökológiai megközelítéstől a higiénes aspektusokon át. Az eredmények azt mutatták, hogy a kútvizekben főként a természetes mikrobaközösség tagjait sikerült kimutatni, míg a medencevizekben a különböző külső hatásoknak és a fürdőzők hatásának köszönhetően egyéb, nem kútvíz eredetű mikroorganizmusok is megjelentek. A medencevizek vízkezelése, a medencék üzemeltetése hatással van a vízminőségre: higiénes szempontokat figyelembe véve a vízforratásos medencék bizonyultak hatékonyabbnak a töltő-ürítő rendszerű medencékhez képest.

Munkánk során elsőként sikerült feltárni a termálfürdők mikrobiális közösségét, figyelembe véve a fürdőzés és a vízkezelés hatását. A biofilmek vizsgálata minden bizonnyal hozzájárulna a teljesebb összképhez a mikrobiális diverzitás kapcsán, ezek a fajta vizsgálatok lehetnek a következő lépések munkánk folytatásához.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A munka nem jöhetett volna létre az ELTE Kiválósági Programja nélkül (ELTE Kiválósági Program a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal támogatásával, NKFIH-1157-8/2019-DT).

Jelen közlemény magyar nyelvű másodközlés, az IWA Publishing hozzájárulásával készült. Az eredeti angol nyelvű közlemény elérhetősége: Anett Lippai, Rózsa Farkas, Sára Szuróczi, Attila Szabó, Tamás Felföldi, Marwene Toumi, Erika Tóth; Microbiological investigations of two thermal baths in Budapest, Hungary. Report: effect of bathing and pool operation type on water quality. J Water Health 1 December 2020; 18 (6): 1020-1032. doi: <https://doi.org/10.2166/wh.2020.027>.

IRODALOMJEGYZÉK

- Agbagwa, O.E., Young-Harry, W.M. (2012). Health implications of some public swimming pools located in Port Harcourt, Nigeria. *Pub. Health Res.*, 2(6). pp. 190-196. <https://doi.org/10.5923/j.phr.20120206.03>
- Amala, S.E., Aleru, C.P. (2016). Bacteriological quality of swimming pools water in Port Harcourt Metropolis. *Natural Science*, 8. pp. 79-84. <https://doi.org/10.4236/ns.2016.83010>
- Bej, A.K., Steffan, R.J., Dicesare, J., Haff, L., Atlas, R.M. (1990). Detection of coliform bacteria in water by polymerase chain reaction and gene probes. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56(2). pp. 307-314. <https://doi.org/10.1128/aem.56.2.307-314.1990>
- Busse, H.J., Denner, E.B.M., Buczolits, S., Salkinoja-Salonen, M. (2003). *Sphingomonas aurantiaca* sp. nov., *Sphingomonas aerolata* sp. nov. and *Sphingomonas faeni* sp. nov., air- and dustborne and Antarctic, orange-pigmented, psychrotolerant bacteria, and emended description of the genus *Sphingomonas*. *Int J Syst Evol Microbiol.* 53 pp. 1253-1260. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.02461-0>
- Chorost, M.S., Simth, N.C., Hutter, J.N., Ong, A.C., Stam, J.A., McGann, P.T., Hinkle, M.K., Schaecher, K.E., Kamau, E. (2018). Bacteraemia due to *Microbacterium paraoxydans* in a patient with chronic kidney disease, refractory hypertension and sarcoidosis. *JMM Case Rep.*, 5(11). <https://doi.org/10.1099/jmmcr.0.005169>
- Cloud, J.L., Carroll, K.C., Pixton, P., Erali, M., Hilyard, D.R. (2000). Detection of *Legionella* species in respiratory specimens using PCR with sequencing confirmation. *J. Clin. Microbiol.*, 38 pp. 1709-1712. <https://doi.org/10.1128/jcm.38.5.1709-1712.2000>
- Dale, K., Kirk, M., Sinclair, M., Hall, R., Leder, K. (2010). Reported waterborne outbreaks of gastrointestinal disease in Australia are predominantly associated with recreational exposure. *Austr. N. Z. J. Public Health*, 34(5). pp. 527-530. <https://doi.org/10.1111/j.1753-6405.2010.00602.x>
- Deshmukh, R.A., Joshi, K., Bhand, S., Roy, U. (2016). Recent developments in detection and enumeration of waterborne bacteria: a retrospective minireview. *Microbiology Open*, 5(6). pp. 901-922. <https://doi.org/10.1002/mbo3.383>
- Filho da Silva, L.V.F., Tateno, A.F., Velloso, L.F., Levi, J.E., Fernandes, S., Bento, C.N.O., Rodriguez, J.C., Ramos, S.R.T.S. (2004). Identification of *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* complex, and *Stenotrophomonas maltophilia* in respiratory samples from cystic fibrosis patients using multiplex PCR. *Pediatr. Pulm.*, 37 pp. 537-547. <https://doi.org/10.1002/ppul.20016>
- Fiume, L., Bucca Sabattini, M.A., Poda, G. (2005). Detection of *Legionella pneumophila* in water samples by species-specific real-time and nested PCR assays. *Lett. Appl. Microbiol.*, 41. pp. 470-475. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765x.2005.01779.x>
- Ghilamicael, A.M., Budambula, N.L.M., Anami, S.E., Mehari, T., Boga, H.I. (2017). Evaluation of prokaryotic diversity of five hot springs in Eritrea. *BMC Microbiology*, 17 203. <https://doi.org/10.1186/s12866-017-1113-4>
- Goldscheider N., Mádl-Szőnyi J., Erőss A., Schill E. (2010). Review: Thermal water resources in carbonate rock aquifers. *Hydrogeol. J.*, 18. pp. 1303-1318. <https://doi.org/10.1007/s10040-010-0611-3>
- Hakyemez, I.N., Kucukbayrak, A., Tas, T., Yikilgan, B., Akkaya, A., Yasayacak, A., Akdeniz, H. (2013). Nosocomial *Acinetobacter baumannii* infections and changing antibiotic resistance. *Pak. J. Med. Sci.*, 29(5). pp. 1245-1248.
- Holmgreen, J. (2012). Options for rainwater disinfection. *Water Quality Products*. <https://www.wqpmag.com/options-rainwater-disinfection>
- Kalwasinska, A., Felföldi, T., Walczak, M., Kosobucki, P. (2015). Physiology and molecular phylogeny of bacteria isolated from alkaline distillery lime. *Pol. J. Microbiol.*, 64(4). pp. 369-377. <https://doi.org/10.5604/17331331.1185236>
- Kim, M., Oh, H.S., Park, S.C., Chun, J. (2014). Towards a taxonomic coherence between average nucleotide identity and 16S rRNA gene sequence similarity for species demarcation of prokaryotes. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 64. pp. 346-351. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.059774-0>
- Kumar, M., Yadav, A.N., Tiwari, R., Prassana, R., Saxena, A.K. (2014). Evaluating the diversity of culturable thermotolerant bacteria from four hot springs of India. *Int. J. Biodivers. Biopros. Dev.*, 1(3). pp. 127-131. <https://doi.org/10.4172/2376-0214.1000127>
- Kruithof, J.C., Kamp, P.C., Martin, B.J. (2007). UV/H₂O₂ treatment: A practical solution for organic contaminant control and primary disinfection. *Ozone: Sci. Eng.*, 29. pp. 273-280. <https://doi.org/10.1080/01919510701459311>
- Laffineur, K.V., Avesani, G., Cornu, J., Charlier, J., Janssens, M., Wauters, G., Delmée, M. (2003) Bacteremia due to a novel *Microbacterium* species in a patient with leukemia and description of *Microbacterium paraoxydans* sp. nov. *J. Clin. Microbiol.*, 41(5) 2242-2246. <https://doi.org/10.1128/jcm.41.5.2242-2246.2003>
- Lane, D.J. (1991). 16S/23S rRNA sequencing. In: E. Stackebrandt and M. Goodfellow (eds.) *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics*. Wiley, New York, USA, pp. 115-175.
- Lavenir, R., Jocktane, D., Laurent, F., Nazaret, S., Cournoyer, B. (2007). Improved reliability of *Pseudomonas aeruginosa* PCR detection by the use of the species-specific ecfX gene target. *J. Microbiol. Meth.*, 70. pp. 20-29. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2007.03.008>
- Maruyama, Y., Shigemura, T., Aoyama, K., Nagano, N., Nakazawa, Y. (2018). Bacteremia due to *Moraxella osloensis*: a case report and literature review. *Braz. J. Infect. Dis.*, 22(1). pp. 60-62. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2017.10.008>
- Máthé I., Borsodi A.K., Tóth E.M., Felföldi T., Jurecska L., Krett G., Kelemen Z., Elekes E., Barkács K., Márialigeti K. (2014). Vertical physico-chemical gradients with distinct microbial communities in the hypersaline and heliothermal Lake Ursu (Sovata, Romania). *Extremophiles*, 18. pp. 501-514. <https://doi.org/10.1007/s00792-014-0633-1>
- MSZ 448-13:1983 Ivóvíz vizsgálat. Szulfátion meghatározása
- MSZ 448-15:1982 Ivóvíz vizsgálat. Kloridion meghatározása

MSZ 448-3:1985 Ivóvíz vizsgálat. Kalcium- és magnéziumion meghatározása

MSZ 13690-2:1989 Fürdővíz. Mintavétel és bakteriológiai vizsgálat

MSZ 13690-3:1989 Fürdővíz. Minősítés bakteriológiai vizsgálat alapján

MSZ 15234:2012 Fürdőmedencék kezelése vízforgatással

MSZ EN ISO 6222:2000 Víztisztaság. Tenyésztendő mikroorganizmusok számának meghatározása. Telepszám-meghatározás agar táptalaj beoltásával (ISO 6222:1999). Magyar Szabványügyi Testület, Budapest.

MSZ EN ISO 9963-2:1998 Víztisztaság. A lúgosság meghatározása. 2. rész: A karbonátlúgosság meghatározása (ISO 9963-2:1994) Magyar Szabványügyi Testület, Budapest.

MSZ EN ISO 10304-1:2009 Az oldott anionok meghatározása ionkromatográfiával. 1. rész: A bromid, a klorid, a fluorid, a nitrát, a nitrit, a foszfát és a szulfát meghatározása (ISO 10304-1:2007). Magyar Szabványügyi Testület, Budapest.

MSZ EN ISO 11731-2:2008 Víztisztaság. Legionella kimutatása és megszámlálása. 2. rész. Közvetlen membránszűrési módszer kis baktériumszámú vizek esetén (ISO 11731-2:2004). Magyar Szabványügyi Testület, Budapest.

MSZ EN ISO 11885:2009 Egyes kiválasztott elemek meghatározása induktív csatolású plazma ionforrású optikai emissziós spektrometriával (ICP-OES) (ISO 11885:2007). Magyar Szabványügyi Testület, Budapest.

MSZ EN ISO 19458:2007 Víztisztaság. Mintavétel mikrobiológiai vizsgálatokhoz. Magyar Szabványügyi Testület, Budapest.

Muyzer, G., de Waal, E.C., Uitterlinden, A.G. (1993). Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59. pp. 695-700. <https://doi.org/10.1128/aem.59.3.695-700.1993>

Neumann, L., Sukenik, S., Bolotin, A., Abu-Shakra, M., Amir, M., Flusser, D., Buskila, D. (2001). The effect of balneotherapy at the Dead Sea on the quality of life of patients with fibromyalgia syndrome. *Clin. Rheumatol.*, 29. pp. 15-19. <https://doi.org/10.1007/s100670170097>

Papadopoulou, C., Economou, V., Sakkas, H., Gousia, P., Giannakopoulos, X., Dontorou, C., Filioussis, G., Gesoulis, H., Karanis, P., Leveidiotou, S. (2008). Microbiological quality of indoor and outdoor swimming pools in Greece: Investigation of the antibiotic resistance of the bacterial isolates. *Int. J. Hyg. Environ. Health.* 211. pp. 385-397. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2007.06.007>

Peters, M. (2016). Microbiology in swimming pools. UV-based treatment versus chlorination. <https://doi.org/10.4233/uuid:6461fab4-564a-4b91-851f-d27c96434991>

Rabi, A., Khader, Y., Alkafajei, A., Aqoulah, A.A. (2007). Sanitary conditions of public swimming pools in Amman, Jordan. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 4(4). pp. 301-306. <https://doi.org/10.3390/ijerph200704040006>

Rapolienė, L., Razbadauskas, A., Jurgelėnas, A. (2015). The reduction of distress using therapeutic

geothermal water procedures in a randomized controlled clinical trial. *Adv. Prev. Med.*

<https://doi.org/10.1155/2015/749417>

Seifert, H., Baginski, R., Schulze, A., Pulverer, G. (1993). The distribution of *Acinetobacter* species in clinical culture materials. *Int. J. Med. Microbiol.*, 279(4). pp. 544-552. [https://doi.org/10.1016/s0934-8840\(11\)80427-5](https://doi.org/10.1016/s0934-8840(11)80427-5)

Shah, S.S., Ruth, A., Coffin, S.E. (2019). Infection due to *Moraxella osloensis*: Case report and review of the literature. *Clin. Infect. Dis.*, 30(1) pp. 179-181. <https://doi.org/10.1086/313595>

Sikorski, J., Mohle, M., Wackernagel, W. (2002). Identification of complex composition, strong strain diversity and directional selection in local *Pseudomonas stutzeri* populations from marine sediment and soils. *Environ. Microbiol.*, 4(8). pp. 465-476. <https://doi.org/10.1046/j.1462-2920.2002.00325.x>

Szabó A., Korponai K., Kerepesi Cs., Somogyi B., Vörös L., Bartha D., Márialigeti K., Felföldi T. (2017). Soda pans of the Pannonian steppe harbor unique bacterial communities adapted to multiple extreme conditions. *Extremophiles*, 21. pp. 639-649. <https://doi.org/10.1007/s00792-017-0932-4>

Szuróczi S., Kéki Zs., Káli Sz., Lippai A., Tóth E. (2016). Microbiological investigations on the water of a thermal bath at Budapest. *Acta Microbiol. Immunol. Hung.*, 63(2). pp. 229-241. <https://doi.org/10.1556/030.63.2016.2.7>

Tekere, M., Lötter, A., Olivier, J., Venter S. (2015). Bacterial diversity in some South African hot water ponds: A metagenomic analysis. *Proceedings World Geohot Water Congress, Melbourne, Australia.* pp. 1-8.

Trung, N.T., Hien, T.T.T., Huyen, T.T.T., Quyen, D.T., Binh, M.T., Hoan, P.Q., Meyer, C.G., Velavan, T.P., Song, L.H. (2015). Simple multiplex PCR assays to detect common pathogens and associated genes encoding for acquired extended spectrum betalactamases (ESBL) or carbapenemases from surgical site specimens in Vietnam. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.*, 14. 23. <https://doi.org/10.1186/s12941-015-0079-z>

Tsai, H.C., Chou, M.Y., Shih, Y.J., Huang, T.Y., Yang, P.Y., Chiu, Y.C., Chen, J.S., Hsu, B.M. (2018). Distribution and genotyping of aquatic *Acinetobacter baumannii* strains isolated from the Puzi River and its tributaries near areas of livestock farming. *Water*, 10. 1374. <https://doi.org/10.3390/w10101374>

Valeriani, F., Crognale, S., Protano, C., Gianfranceschi, G., Orsini, M., Vitali, M., Spica, V.R. (2018). Metagenomic analysis of bacterial community in a travertine depositing hot spring. *New Microbiol.*, 41(2). pp. 126-135.

Vargha M., Róka E., Barna Zs., Kiss Cs. (2015). Magyarországi fürdők mikrobiológiai vízminősége. - Országos Közegészségügyi Központ Országos Környezetegészségügyi Igazgatóság Vízhigiénés osztály. Magyar Fürdőszövetség Közgyűlés 2015. pp. 1-6.

Vartoukian, S.R., Palmer, R.M., Wade, W.G. (2010). Strategies for culture of 'unculturable' bacteria. *FEMS Microbiol. Lett.*, 309. pp. 1-7. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2010.02000.x>

Yang, S., Sugawara, S., Monodane, T., Nishijima, M., Adachi, Y., Akashi, S., Miyake, K., Hase, S., Takada, H.

(2001). *Micrococcus luteus* teichuronic acids activate human and murine monocytic cells in a CD14- and Toll-like receptor 4-dependent manner. *Infect. Immun.*, 69(4). pp. 2025-2030. <https://doi.org/10.1128/iai.69.4.2025-2030.2001>

Zmantar, T., Koudhi, B., Miladi, H., Bakhrouf, A. (2011). Detection of macrolide and disinfectant resistance genes in clinical *Staphylococcus aureus* and coagulase-

negative staphylococci. *BMC Res. Notes*, 4. 453. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-4-453>

37/1996 (X. 18.) NM rendelet a közfürdők létesítésének és üzemeltetésének közegészségügyi feltételeiről.

49/2015 (XI. 6.) EMMI rendelet a Legionella által okozott fertőzési kockázatot jelentő közegekre, illetve létesítményekre vonatkozó közegészségügyi előírásokról.

SZERZŐK



LIPPAI ANETT okleveles biológus, MSc diplomáját az ELTE Mikrobiológiai Tanszékén szerezte 2012-ben. Phd fokozatot 2023-ban szerzett az ELTE Környezettudományi Doktori Iskola Környezetbiológia programjában. Kutatási témája: magyarországi gyógyfürdők mikrobiológiai vizsgálata volt. Jelenleg a Biokör Technológiai és Környezetvédelmi Kft. mikrobiológiai és ökotoxikológiai laboratóriumvezetője, ahol környezeti mikrobiológiai és ökotoxikológiai vizsgálatokat végez, illetve koordinálja a vizsgálólaboratórium tevékenységét. 2015 óta tagja a Magyar Hidrológiai Társaságnak.



FARKAS RÓZSA 2019-től PhD hallgató az ELTE TTK Mikrobiológiai Tanszékén, témája: Geológiai és antropogén szennyező anyagok hatása vizes környezetek mikrobiális közösségeire. Emellett 2022-től egy gyógyszerkutatást támogató multinacionális cégnél (IQVIA) globális, késői fázisú klinikai kutatásokra specializált törzskönyvező.



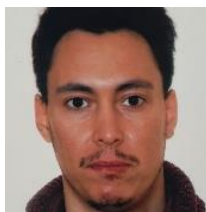
SZURÓCZKI SÁRA 2015-ben biológusként (MSc) végzett az Eötvös Loránd Tudományegyetemen. Diplomamunkáját az ELTE Mikrobiológiai Tanszékén írta, melyben a Gellért-fürdő baktériumközösségeit vizsgálta tenyésztési módszerekkel. 2022-ben az Eötvös Loránd Tudományegyetemen doktori fokozatot (PhD) szerzett környezettudományokból. Doktori értekezésének témája a Fertő mikrobaközösségeinek összetétele a nádas borítottság függvényében volt.



SZABÓ ATILA okleveles biológus, MSc diplomáját az ELTE Mikrobiológiai Tanszékén szerezte 2012-ben. Phd fokozatot 2019-ben szerzett az ELTE Biológia Doktori Iskola Kísérletes Növénybiológia programjában. A Svéd Agrártudományi Egyetem és az ÖK Vízi Ökológiai Intézet munkatársa. Kutatási területe a vizes élőhelyek mikrobiális ökológiai vizsgálata, elsősorban genomikai, metagenomikai módszerek segítségével.



FELFÖLDI TAMÁS biológus, PhD fokozatát az Eötvös Loránd Tudományegyetem Mikrobiológiai Tanszékén szerezte meg. Az ELTE egyetemi docense, a Genomikai Laboratórium vezetője; az ELKH ÖK Vízi Ökológiai Intézetének tudományos főmunkatársa, a Mikrobiális Ökológiai Kutatócsoport vezetője. Jelenlegi kutatási területe természetes vizes élőhelyek mikrobiális ökológiáját és gerinctelenek molekuláris taxonómiáját öleli fel, amiket új fajok leírása egészít ki. 2009 óta tagja a Magyar Hidrológiai Társaságnak.



MARWENE TOUMI biotechnológus, BSc diplomáját Bejában a Higher Institute of Biotechnology Intézetében. 2017-2022 között az ELTE Mikrobiológiai Tanszék PhD hallgatója. Vízi ökoszisztémák mikrobiális közösségének kutatásával foglalkozik, tenyésztési és tenyésztéstől független módszerekkel. Jelenleg a ThermoFisher Scientific munkavállalója.



TÓTH ERIKA okleveles biológus, MSc diplomáját az ELTE-n szerezte 1989-ben. Phd fokozatot 2001-ben szerzett az ELTE Biológia Doktori Iskola Genetika programjában, egy miázist okozó légyfaj kórokozásának mikrobiológiai hátterét vizsgálva. Azóta az ELTE mikrobiológiai Tanszékén dolgozik, jelenleg egyetemi tanár, 2017-2023 között tanszékvezető, 2018 óta az ELTE Környezettudományi Doktori Iskolájának biológiai programvezetője, az iskola törzstagja. Kutatásai során mikrobiális ökológiai, alkalmazott mikrobiológiai és prokarióta taxonómiai témákkal foglalkozik. 2022-től az MTA doktora. 2006 óta tagja a Magyar Hidrológiai Társaságnak.