



# JURNAL LABORATORIUM KHATULISTIWA

e-ISSN : 2597-9531

p-ISSN : 2597-9523



## Evaluasi Robustness Metode Deteksi Cepat Berbasis MPN untuk *Legionella pneumophila* terhadap Gangguan Mikroflora Non-Target pada Sampel Air dari Menara Pendingin

Phisa Isyah Ulfia<sup>1</sup>✉, Hendra Budi Sungkawa<sup>1</sup>, Imma Fatayati<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Medical Laboratory Technology, Poltekkes Kemenkes Pontianak

email: [ulfia\\_phisa@gmail.com](mailto:ulfia_phisa@gmail.com)

**Submitted:** 27 Mei 2025; **Revised:** 29 Mei 2025; **Accepted:** 30 Mei 2025;

**Published:** 31 Mei 2025

### ABSTRACT

*Legionellosis is an infection caused by Legionella pneumophila, commonly transmitted through artificial water systems such as cooling towers. Early detection of this pathogen is crucial, particularly in high-risk facilities. This study aimed to assess the robustness of a rapid detection method based on the Most Probable Number (MPN) principle, focusing on the effectiveness of pretreatment in reducing interference from non-target microorganisms. A total of 30 positive trays from Legiolert™ tests were subcultured on Tryptic Soy Agar (TSA) to identify any surviving non-target microbes. Robustness was defined by the proportion of trays without non-target microbial growth. Results showed a robustness rate of 93.33%, with full robustness (100%) observed in low and moderate microbial load groups, and 75% in the high-load group. A non-parametric binomial test using SPSS was performed to evaluate the statistical significance of the deviation from the robustness cut-off. The resulting p-value was 0.446 ( $p > 0.05$ ), indicating no statistically significant difference. These findings demonstrate that the Legiolert™ method maintains reliable performance even in complex sample matrices, supporting its use in routine water quality monitoring in accordance with Indonesian Ministry of Health Regulation No. 2 of 2023.*

**Keywords:** *Legionella pneumophila, robustness, competing microbes, MPN, method verification*

### ABSTRAK

Legionellosis merupakan infeksi yang disebabkan oleh *Legionella pneumophila*, dengan sistem distribusi air buatan seperti menara pendingin sebagai sumber utama penularan. Deteksi dini sangat penting, khususnya pada fasilitas dengan risiko tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk menilai robustness metode deteksi cepat berbasis prinsip Most Probable Number (MPN), dengan

fokus pada efektivitas pretreatment dalam menekan gangguan dari mikroorganisme non-target. Sebanyak 30 tray positif dari uji Legiolert™ disubkultur pada media Tryptic Soy Agar (TSA) untuk mendeteksi pertumbuhan mikroba non-target yang mungkin bertahan. Robustness dihitung berdasarkan proporsi tray yang tidak menunjukkan pertumbuhan mikroba non-target. Hasil menunjukkan tingkat robustness sebesar 93,33%, dengan ketangguhan penuh (100%) pada kelompok dengan beban mikroba rendah dan sedang, serta 75% pada kelompok beban tinggi. Uji binomial non-parametrik menggunakan SPSS menunjukkan nilai p sebesar 0,446 ( $p > 0,05$ ), menandakan bahwa deviasi terhadap nilai cut-off tidak signifikan secara statistik. Temuan ini menunjukkan bahwa metode Legiolert™ tetap andal meskipun digunakan pada sampel dengan matriks kompleks, serta mendukung penerapannya dalam pemantauan kualitas air sesuai dengan regulasi terbaru (Permenkes No. 2 Tahun 2023).

**Kata kunci:** Legionella pneumophila, robustness, mikroba kompetitor, MPN, verifikasi metode

## PENDAHULUAN

*Legionella pneumophila* merupakan bakteri patogen yang dapat menyebabkan Legionellosis, suatu bentuk infeksi saluran pernapasan akut yang dapat menimbulkan dampak serius terutama pada kelompok dengan sistem imun rendah. Penularan terjadi melalui inhalasi aerosol air terkontaminasi, Sistem air lingkungan yang kompleks seperti menara pendingin, kolam spa, dan pipa air panas berpotensi menjadi reservoir bagi bakteri ini <sup>1</sup>. Penyakit ini merupakan ancaman kesehatan publik yang dikategorikan sebagai *new emerging disease* oleh Kementerian Kesehatan dan berpotensi KLB <sup>2</sup>.

Sejak pandemi COVID-19, kesadaran akan pentingnya kesehatan lingkungan meningkat secara signifikan, mendorong permintaan dan pengawasan mikrobiologi di berbagai sektor, dengan prioritas pada pengendalian kualitas air dan udara di fasilitas umum untuk mencegah penyebaran penyakit <sup>3</sup>. Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 2 Tahun 2023 mengharuskan pemantauan rutin kualitas air dan lingkungan minimal 1 (satu) bulan sekali, termasuk mengatur pengujian *Legionella sp.* pada air kolam renang dan spa dengan standar baku mutu kesehatan lingkungan (SBMKL)  $<1$  CFU/100 mL <sup>4</sup>. Deteksi dini keberadaan *L. pneumophila* menjadi aspek krusial dalam pengendalian infeksi dan pengurangan risiko wabah<sup>5</sup>. Seiring dengan meningkatnya pengawasan kesehatan lingkungan, kebutuhan akan metode deteksi yang cepat dan akurat pun meningkat <sup>3</sup>.

Metode kultur menggunakan media spesifik masih menjadi baku emas atau referensi utama untuk identifikasi bakteri *Legionella sp.* Sesuai ISO 11731:2017 kultur bakteri ini menggunakan media Buffered Charcoal Yeast Extract (BCYE) yang diinkubasi pada suhu 35°C dalam atmosfer 2,5% CO<sub>2</sub> hingga 10 hari <sup>6</sup>. Masa inkubasi yang panjang pada metode kultur dengan media BCYE menyebabkan penundaan yang signifikan dalam memperoleh hasil laboratorium. Penundaan ini dapat mengakibatkan keterlambatan dalam upaya pengendalian risiko, dalam menutup akses atau mengisolasi area yang berpotensi terinfeksi untuk mencegah penyebaran bakteri, <sup>3</sup> sehingga diperlukan metode alternatif yang lebih cepat dan efisien dalam memberikan hasil yang valid untuk kepentingan kesehatan masyarakat.

Beberapa metode pengujian lain yang mendukung dalam identifikasi bakteri *Legionella sp* adalah metode molekuler yang didasarkan pada deteksi DNA *Legionella sp* yang terbukti sangat spesifik dan sensitif. Metode ini dapat membedakan antara spesies dan serogrup secara kualitatif namun tidak dapat membedakan secara pasti apakah DNA yang terdeteksi berasal dari organisme hidup atau mati <sup>7</sup>. Metode ini juga belum memenuhi persyaratan regulasi sesuai Permenkes Nomor 2 Tahun 2023 yang mensyaratkan pengujian kuantitatif atau enumerasi.

Metode uji yang didesain untuk enumerasi dan mendeteksi bakteri *Legionella sp.* adalah Legiolert (*IDEXX Laboratories, Westbrook, USA*) yang didasarkan pada pendekatan angka paling mungkin (MPN) untuk kuantifikasi *Legionella pneumophila* yang merupakan spesies penyebab utama penyakit *Legionnaires*. Dalam penelitian yang dipublikasikan, metode ini menunjukkan kinerja yang sama dengan metode kultur dan mampu memberikan hasil dalam tujuh hari dengan persiapan dan analisis sampel yang lebih sederhana <sup>7</sup>.

Metode ini telah tervalidasi oleh AFNOR, sebuah badan sertifikasi yang diatur oleh standar EN ISO 17065 dan memenuhi persyaratan metode cepat di laboratorium yang terakreditasi ISO 17025:2017 di Indonesia. Laboratorium yang menggunakan metode yang telah tervalidasi, untuk memastikan hasil pengujian yang valid perlu dilakukan proses verifikasi menyeluruh termasuk uji *robustness* sehingga dapat diimplementasikan secara valid dalam pengujian mikrobiologi lingkungan<sup>8</sup>.

*Robustness* atau Ketangguhan metode adalah derajat ketertiruan hasil uji yang diperoleh dari analisis sampel yang sama dalam berbagai kondisi uji normal, seperti laboratorium, analisis, instrumen, bahan pereaksi, suhu, hari yang berbeda, dll. Ketangguhan biasanya dinyatakan sebagai tidak adanya pengaruh perbedaan operasi atau lingkungan kerja pada hasil uji<sup>9</sup>.

*Robustness* merupakan parameter yang mengukur sejauh mana metode tetap dapat memberikan hasil yang akurat dan konsisten meskipun terdapat variasi atau gangguan dalam kondisi lingkungan atau sampel, termasuk keberadaan mikroorganisme non-target<sup>10</sup>. Gangguan dari flora mikroba kompetitor dalam sampel air dapat memengaruhi efektivitas metode deteksi, menyebabkan hasil negatif palsu atau menurunkan kepekaan analitik. *Robustness* penting untuk menjamin bahwa metode dapat tetap efektif meskipun dalam kondisi lingkungan yang tidak ideal<sup>9</sup>. Pada kasus pengujian air dari menara pendingin, keberadaan biofilm, endapan organik, serta populasi mikroorganisme lain dapat mengganggu spesifisitas metode<sup>11</sup>. Oleh karena itu, pengujian *robustness* menjadi langkah penting untuk mengevaluasi kelayakan metode MPN dalam aplikasi rutin laboratorium, khususnya pada sampel air lingkungan yang kompleks. Dengan demikian, penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi seberapa besar gangguan dari mikroflora latar belakang mempengaruhi ketangguhan metode deteksi cepat *L. pneumophila*.

## METODE

Penelitian ini merupakan studi kuasi-eksperimental yang dilakukan di Laboratorium Biologi, Balai Labkesmas Batam. Sampel uji diperoleh dari air menara pendingin fasilitas umum yang telah menunjukkan hasil positif presumtif terhadap *L. pneumophila*. Pengujian dilakukan menggunakan metode deteksi cepat berbasis warna yang dirancang khusus untuk air *non-potable*. Protokol metode ini mencakup tahap *pretreatment*, yang bertujuan untuk meningkatkan selektivitas dan menekan pertumbuhan mikroorganisme non-target tanpa bersifat bakterisidal terhadap *L. pneumophila*, sehingga penting untuk menjamin efektivitas deteksi di lingkungan nyata yang kompleks<sup>12</sup>.

Sebanyak 30 tray positif disubkultur ke media TSA kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 35°C. Pertumbuhan mikroorganisme non-target pada media TSA diamati secara makroskopis dan dihitung sebagai parameter untuk menilai ketangguhan metode. Ketangguhan diklasifikasikan ke dalam tiga kelompok berdasarkan tingkat beban mikroba kompetitor: rendah (<10 CFU/mL), sedang (10–100 CFU/mL), dan tinggi (>100 CFU/mL). Persentase tray tanpa pertumbuhan mikroba non-target dihitung sebagai nilai *robustness*. Data dianalisis menggunakan uji binomial menggunakan SPSS untuk mengetahui signifikansi secara statistik.

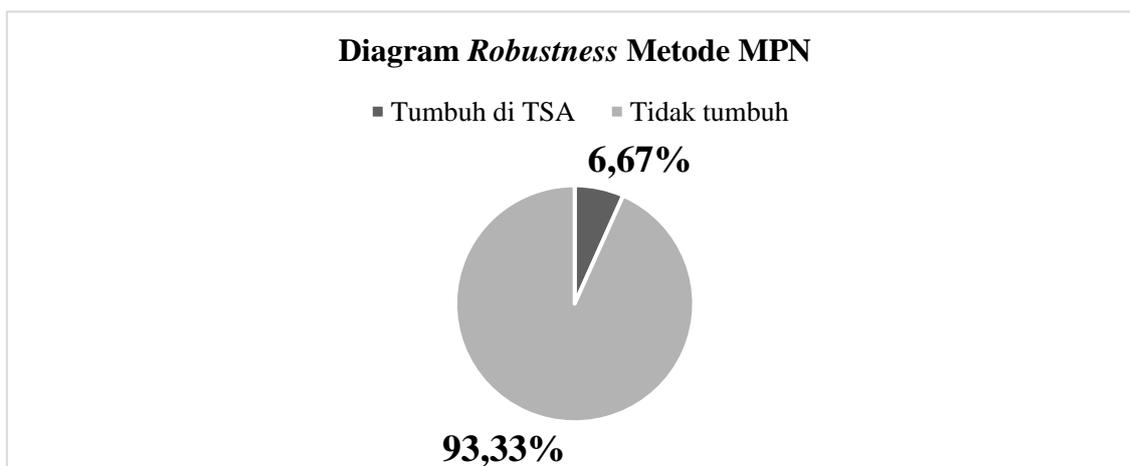
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji *Robustness* bertujuan untuk menilai efektivitas larutan *pretreatment* dalam menekan interferensi bakteri non target terhadap deteksi *L.pneumophila* menggunakan metode *Legiolert*. Evaluasi *robustness* menjadi krusial dalam menjamin validitas metode deteksi *Legionella* di lingkungan berisiko tinggi, karena hasil positif palsu atau negatif palsu dapat berdampak langsung terhadap keselamatan publik, terutama di fasilitas pelayanan kesehatan dan sistem air tertutup.

Hal ini penting karena *Legionella* merupakan bakteri yang tumbuh relatif lambat, sehingga keberadaan bakteri heterotrof lain dalam sampel air dapat mengganggu hasil deteksi, baik melalui kompetisi nutrisi maupun produksi metabolit sekunder yang bersifat menghambat<sup>13</sup>. Uji

dilakukan terhadap 30 *well* positif dengan cara menumbuhkan isolat pada media universal *Tryptic Soy Agar* (TSA). Media ini digunakan untuk mengamati kemungkinan keberadaan bakteri non target yang tidak sepenuhnya dieliminasi selama proses *pretreatment* karena kemampuannya untuk menyediakan nutrisi untuk dapat ditumbuhkan oleh hampir semua jenis bakteri<sup>14</sup>.

Langkah ini diambil untuk melengkapi uji konfirmasi dari *well* positif *Legiolert*, serta memastikan bahwa kondisi *pretreatment* tidak bersifat bakterisidal terhadap *L. pneumophila*, melainkan cukup selektif dalam menekan flora pengganggu. Dengan kata lain, *robustness* tidak hanya menilai ketahanan metode terhadap gangguan luar, tetapi mengevaluasi potensi *carryover* atau keberadaan mikroorganisme lain yang dapat memengaruhi interpretasi hasil, terutama pada sampel lingkungan kompleks. Untuk memvisualisasikan proporsi isolat yang berhasil ditekan oleh *pretreatment*, berikut disajikan diagram distribusi *robustness* berdasarkan hasil pertumbuhan isolat pada media TSA.



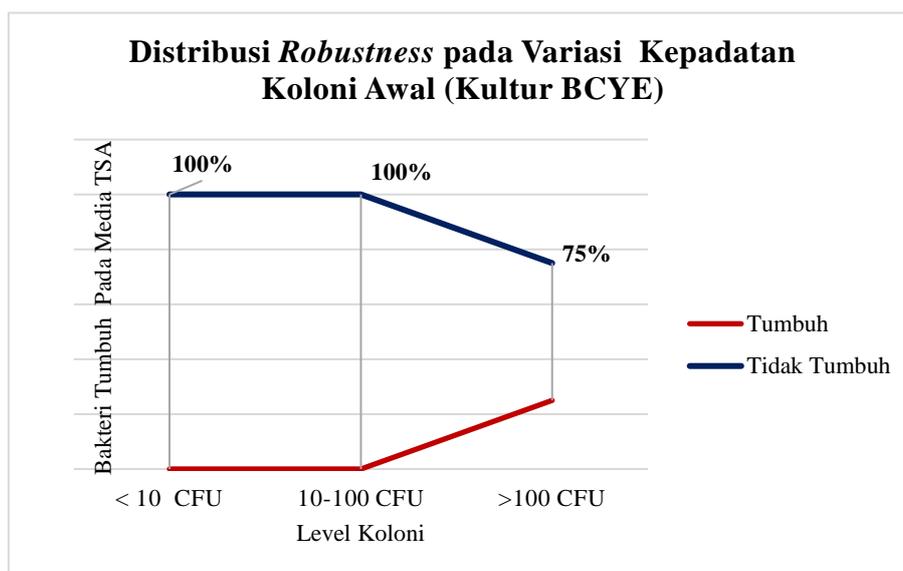
**Gambar 1. Proporsi Robustness Metode MPN Berdasarkan Hasil Pertumbuhan Isolat pada Media TSA**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa 28 dari 30 isolat (93,33%) tidak menunjukkan pertumbuhan pada media TSA, adanya 6,67% isolat yang tetap tumbuh menunjukkan adanya potensi kegagalan *pretreatment* pada kondisi tertentu, yang perlu dianalisis lebih lanjut. dengan mempertimbangkan faktor-faktor seperti kepadatan mikroba. Sebagai tindak lanjut dilakukan analisis eksploratif terhadap distribusi isolat berdasarkan kepadatan koloni awal yang diperoleh dari kultur pada media BCYE. Meskipun pengelompokan kepadatan tidak ditentukan secara eksplisit dalam rancangan awal penelitian, variasi alami jumlah koloni yang muncul memberikan peluang untuk mengamati pengaruh beban mikroba terhadap efektivitas *pretreatment*. Distribusi data tersebut disajikan pada Tabel 1.

**Tabel 1. Distribusi Robustness Metode MPN Berdasarkan Kepadatan Koloni Awal (Kultur BCYE)**

Kategori Kepadatan Koloni Awal	Jumlah Isolat	Tidak Tumbuh di TSA	Tumbuh di TSA	Robustness (%)
< 10 CFU/100 mL	10	10	0	100
10–100 CFU/100 mL	12	12	0	100
> 100 CFU/100 mL	8	6	2	75
<b>Total</b>	<b>30</b>	<b>28</b>	<b>2</b>	<b>93,33</b>

Untuk memperjelas tren distribusi *robustness* yang ditunjukkan dalam Tabel 1, data divisualisasikan dalam bentuk grafik pada Gambar 2 untuk mengidentifikasi pola efektivitas *pretreatment* pada berbagai tingkat kepadatan mikroba.



**Gambar 2. Grafik Distribusi *Robustness* Metode MPN pada Variasi Kepadatan Koloni Awal (Kultur BCYE)**

Grafik pada Gambar 2 menunjukkan bahwa pada kelompok kepadatan rendah (<10 CFU/100 mL) dan sedang (10–100 CFU/100 mL), seluruh isolat ( $n = 22$ ) tidak mengalami pertumbuhan pada media TSA, mencerminkan *robustness* metode sebesar 100% pada kedua kategori tersebut. Sebaliknya, pada kelompok kepadatan tinggi (>100 CFU/100 mL), dua dari delapan isolat menunjukkan pertumbuhan, sehingga *robustness* menurun menjadi 75%. Klasifikasi ini bersifat *post hoc* dan digunakan sebagai analisis eksploratif untuk menggambarkan pola alami yang muncul dari distribusi data dan tetap relevan secara metodologis karena mencerminkan keragaman alami karakteristik mikroba dalam sampel lingkungan yang diuji.

Temuan ini mengindikasikan bahwa efektivitas *pretreatment* dalam menekan flora non-target dapat dipengaruhi oleh kepadatan mikroba dalam sampel, sejalan dengan prinsip kompetisi mikroba di mana beban flora non-target yang tinggi dapat meningkatkan peluang mikroorganisme untuk bertahan melewati tahap seleksi<sup>15</sup>. Evaluasi statistik dilakukan menggunakan uji binomial non-parametrik pada software SPSS, dengan hasil observasi 93,33% menghasilkan p-value sebesar 0,446 ( $p > 0,05$ ), menandakan bahwa deviasi terhadap nilai *cut-off* tidak signifikan secara statistik. Dalam konteks laboratorium lingkungan, variasi ini dapat diterima sebagai bentuk variabilitas biologis yang wajar, terlebih untuk metode berbasis MPN yang beroperasi pada sistem semi-kuantitatif dan kompleksitas alami sampel air.

Penelitian ini menggunakan metode deteksi cepat berbasis warna yang telah divalidasi secara internasional dan umum digunakan untuk mendeteksi *Legionella pneumophila*<sup>16</sup>. *Robustness* yang tinggi menunjukkan ketangguhan metode dalam kondisi lingkungan kompleks. Keberhasilan *pretreatment* dalam menekan interferensi, terutama pada kelompok beban rendah dan sedang, menunjukkan bahwa metode tetap dapat membedakan *L. pneumophila* dari flora kompetitor. Keberadaan mikroba non-target berpotensi mempengaruhi pembacaan hasil MPN berbasis warna, terutama jika mikroba tersebut memiliki aktivitas metabolik serupa atau mengubah warna media<sup>1</sup>.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa desain biokimiawi metode tetap dapat membedakan *L. pneumophila* dari flora kompetitor. Meskipun terjadi penurunan performa pada kelompok beban tinggi, hal ini tetap berada dalam batas keberterimaan, terlebih bila mempertimbangkan kategori sampel sebagai “*difficult samples*”<sup>17</sup>. Yusuf et al., (2024) menekankan bahwa

penggunaan *difficult samples* untuk menguji *robustness* dapat memengaruhi hasil evaluasi, sehingga penyesuaian batas keberterimaan dapat dipertimbangkan asalkan dilakukan secara transparan dan terdokumentasi. Dalam penelitian ini, isolat yang tetap tumbuh pada media TSA menunjukkan dominasi koloni flora non-target yang tinggi, yang mengindikasikan bahwa sampel tersebut termasuk kategori *difficult samples* yang secara alami menantang performa metode.

Dengan demikian, metode ini dinilai andal untuk digunakan pada pengawasan kualitas air lingkungan, terutama pada fasilitas berisiko tinggi, serta sesuai dengan regulasi terbaru seperti Permenkes No. 2 Tahun 2023. Keunggulan ini menjadikan metode Legiolert sebagai alternatif yang valid dan efisien untuk diterapkan dalam pengawasan kualitas air di fasilitas berisiko tinggi seperti hotel, rumah sakit, dan sistem HVAC (*Heating, Ventilation, and Air Conditioning*). Dengan mempertimbangkan kecepatan, kemudahan penggunaan, dan ketahanannya terhadap gangguan flora non-target, metode ini menunjukkan potensi besar untuk diadopsi secara lebih luas dalam sistem pengawasan Legionella. Penelitian ini juga memberikan kontribusi penting dalam memperkuat bukti lapangan terkait efektivitas metode deteksi cepat di lingkungan nyata, menjadikannya relevan untuk mendukung kebijakan kesehatan masyarakat berbasis data mikrobiologi yang valid.

## PENUTUP

Metode deteksi cepat berbasis MPN menunjukkan tingkat *robustness* sebesar 93,33% terhadap interferensi mikroflora non-target dari sampel air menara pendingin. Nilai ini tidak berbeda signifikan secara statistik dari *cut off* 95% menggunakan binomial non-parametrik menggunakan software SPSS *p-value* sebesar 0,446 ( $p > 0,05$ ). *Robustness* metode tetap tinggi pada kondisi beban mikroba rendah dan sedang, dan hanya menunjukkan sedikit penurunan pada beban tinggi yang tidak signifikan secara statistik. Hasil ini mendukung kelayakan metode untuk digunakan dalam pengawasan kualitas air lingkungan, khususnya pada fasilitas dengan risiko tinggi seperti menara pendingin, rumah sakit, atau instalasi pengolahan air.

Penelitian lanjutan disarankan untuk mengevaluasi parameter verifikasi lainnya meliputi sensitivitas, spesifisitas dan efektivitas *pretreatment* pada kondisi kualitas air yang beragam, seperti sampel dengan kadar sisa klor rendah, angka HPC tinggi, atau pH yang bervariasi. Pendekatan ini bertujuan untuk mengukur kinerja metode secara menyeluruh dan menilai sejauh mana faktor-faktor lingkungan tersebut memengaruhi kemampuan *pretreatment* dalam menekan flora non-target dan menjaga *robustness* metode deteksi

## DAFTAR RUJUKAN

1. Bartram J, Chartier Y, Lee J V, Pond K, Surman-Lee S. Legionella and the prevention of legionellosis. Geneva: World Health Organization; 2007. 252 p.
2. Moehario L, Tjoa E, Taslim MJ, Angelina Y. Comparison of BCYE and BMPA Media on Recovery Rate of Legionella pneumophila. Health Science Journal of Indonesia. 2020 Jun 30;11(1):32–7.
3. Walker JT, McDermott PJ. Confirming the Presence of Legionella pneumophila in Your Water System: A Review of Current Legionella Testing Methods. J AOAC Int. 2021 Jul 1;104(4):1135–47.
4. Kementerian Kesehatan RI. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 2 Tahun 2023 [Internet]. 2023 [cited 2024 Oct 29]. Available from: <https://peraturan.go.id/id/permenkes-no-2-tahun-2023>

5. Environmental Health and Safety. Legionella Exposure Control Plan Safety Program [Internet]. Columbus; 2020 [cited 2024 Dec 11]. Available from: [https://ehs.osu.edu/sites/default/files/legionella\\_exposure\\_control\\_plan.pdf](https://ehs.osu.edu/sites/default/files/legionella_exposure_control_plan.pdf)
6. Mercante JW, Winchell JM. Current and emerging legionella diagnostics for laboratory and outbreak investigations. *Clin Microbiol Rev*. 2015 Jan 1;28(1):95–133.
7. Scaturro M, Buffoni M, Girolamo A, Cristino S, Girolamini L, Mazzotta M, et al. Performance of legiolert test vs. Iso 11731 to confirm legionella pneumophila contamination in potable water samples. *Pathogens*. 2020 Sep 1;9(9):1–8.
8. Badan Standardisasi Nasional. SNI ISO/TR 13843:2011 Kualitas Air - Pedoman Validasi Mikrobiologi. Jakarta; 2011.
9. Riyanto. VALIDASI & VERIFIKASI METODE UJI Sesuai dengan ISO/IEC 17025 Laboratorium Pengujian dan Kalibrasi. Yogyakarta: Dee Publish; 2014.
10. Parshionikar S, Haugland RA, Shanks O, Hunt ME, Cottrill M, Grimm A, et al. Method Validation of U.S. Environmental Protection Agency Microbiological Methods of Analysis [Internet]. Washington, D.C: Eastern Research Group, Inc; 2009 Oct [cited 2024 Dec 11]. Available from: [https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-01/documents/final\\_microbiology\\_method\\_guidance\\_110409.pdf](https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-01/documents/final_microbiology_method_guidance_110409.pdf)
11. Pearson B, Weas A. Legionella 2019: A Position Statement and Guidance Document [Internet]. Rockville, Maryland; 2019 [cited 2024 Dec 7]. Available from: <https://www.awt.org/pub/?id=035c2942-03be-3bff-08c3-4c686fb7395c>
12. IDEXX Laboratories. Legiolert Pretreatment Product Insert. IDEXX Laboratories, Inc. Westbrook, Maine; 2024.
13. Rech MM, Swalla BM, Dobranic JK. Evaluation of Legiolert for Quantification of Legionella pneumophila from Non-potable Water. *Curr Microbiol*. 2018 Oct 1;75(10):1282–9.
14. Kasiyati M, St S, Imun M, Raudah S, Si S, Si M, et al. Pengetahuan Media Untuk Mahasiswa Teknologi Laboratorium Medis [Internet]. 1st ed. Yogyakarta: CV. Eureka Media Aksara; 2023 [cited 2025 Apr 16]. Available from: <http://repository.stikeswirahusada.ac.id/id/eprint/471/1/TEKNOLOGI%20LAB%20ME%20DIS.pdf>
15. Ghoull M, Mitri S. The Ecology and Evolution of Microbial Competition. *Trends Microbiol* [Internet]. 2016 Oct 1 [cited 2025 May 5];24(10):833–45. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0966842X16300749>
16. IDEXX Laboratories. Validation of Legiolert for the Enumeration of Legionella pneumophila from Water. 2023 Mar;(AFNOR Certification Number IDX 33/06-06/19).
17. Yusuf E, Schijffelen MJ, Leeflang M. How to verify and validate a clinical microbiology test before it can be used in routine diagnostics: a practical guide. Vol. 30, *Clinical Microbiology and Infection*. Elsevier B.V.; 2024. p. 1261–9.