

Úvod do problematiky legionel: Kde hledat problémy s legionelami ve vodovodních rozvodech ?

RNDr. Helena Sedláčková
ZÚ Ostrava - pracoviště Olomouc
Wolkerova 74/6, Olomouc



Jak to začalo :

červen 1976 Philadelphia - Bellevue Stratford hotel: konference Americké legie

- epidemie neznámého onemocnění :
- 221 případů, 34 + (legionářská nemoc)
- neznámý původce a zdroj
- prosinec 1976 : nový druh bakterie :

Legionella

- spojeno s obdobnými případy (izoláty 1947)
a epidemiemi (1965 Washington 81 př. /14 +)
- 1968 Pontiac - Pontiac fever (144 př. / 0 +)



2 typy onemocnění :

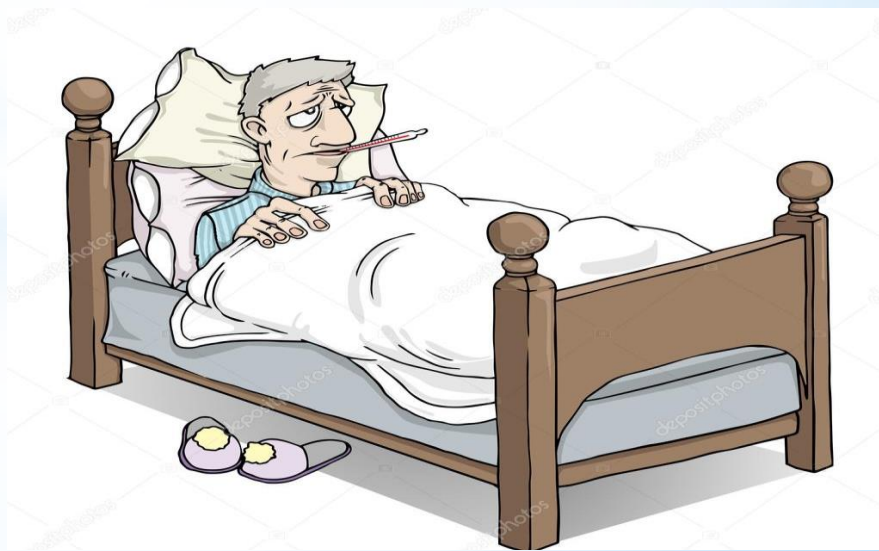
1. Legionelový zápal plic :

atypická pneumonie až sepse s multiorgánovým selháním :

suchý kašel, bolesti na hrudníku, horečka, třes, bolesti hlavy, svalů, malátnost, únava, zmatenost, halucinace, v 25 - 50% průjem, zvracení (i absces plic)

Inkubační doba 2 - 10 dní (v průměru 6)

- úmrtnost dříve až 30% (dle zdravotního stavu), dnes v průměru 8%
- nozokomiální nákazy 50%
- vysoké hodnoty CRP !!!



2. Pontiacká horečka :

chřipce podobné onemocnění :

slabost, únava, horečka a zimnice, bolesti svalů, kloubů, bolesti hlavy, průjem, zvracení, dušnost, suchý kašel

Inkubační doba 12 - 48 hod (po 3 - 7 dnech odezní bez léčby)

Napadá i mladé jedince (onemocní 70 - 90% osob v kontaktu s agens)

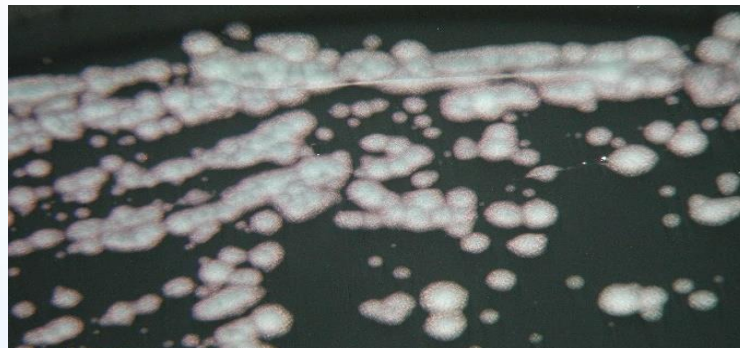
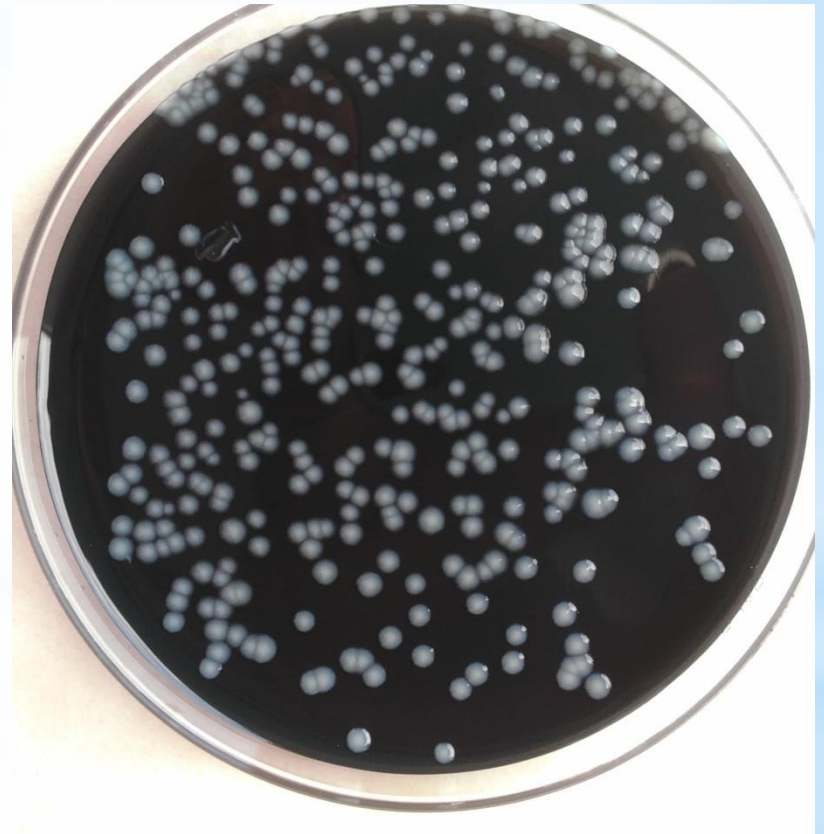
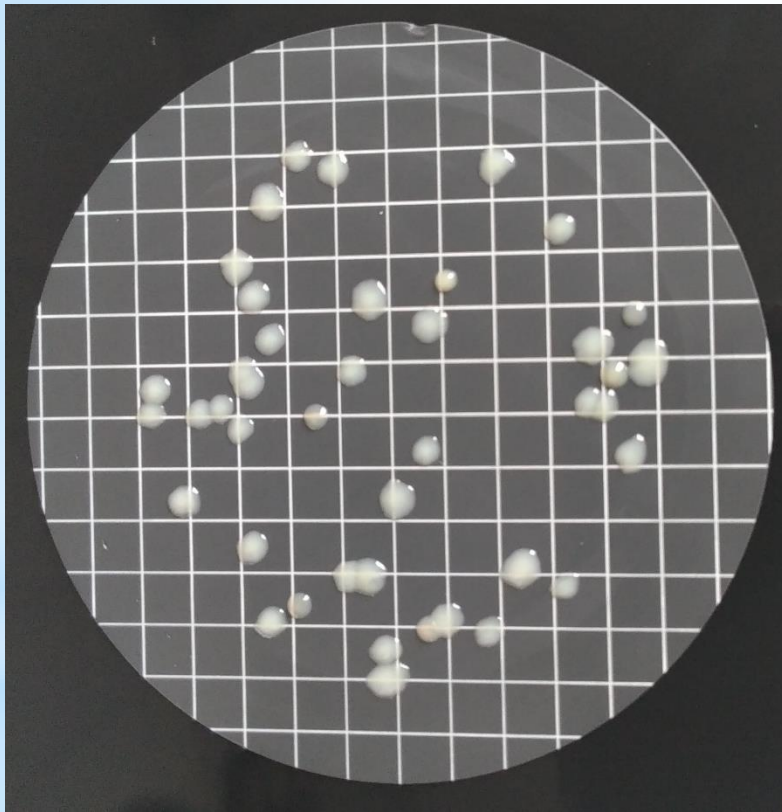


Co vlastně jsou legionely :

- ☐ g- bakterie, nejbližší příbuzné - coxiely
- ☐ původní výskyt : vlhké prostředí, voda, půda, komposty, louže
- ☐ osidlují lidmi vytvořené rozvody vody a související zařízení :
 - systémy související s klimatizací, chladicí věže (až 30% nákaz)
 - rozvody teplé a studené vody
 - vysokotlaké vodní čisticí stroje (vapky)
 - vodní trysky k zubařským křeslům
 - zvlhčovače vzduchu a rozprašovače vody
 - lázeňské bazény, vyhřívané lázně a vířivky (trysky)
 - okrasné fontánky
 - ostřikovače, myčky aut
 - odpadní vody, kaly
 - komposty a substráty



A takhle vypadají



Jak se nakazíme :

- aspirace částec vodního aerosolu s legionelami
- typický pacient: muž, kuřák, nad 50 let
- poměr pohlaví muži - ženy 2,6:1
- nejohroženější : chronické choroby, imunosuprese (Crohnova choroba), maligní onemocnění, nikotinismus, alkoholismus, diabetes
- děti málo vnímavé („pošli napřed do sprchy děti, pak manželku, až nakonec se osprchuj sám“)
- nepřenáší se z člověka na člověka !!!



Ekologie legionel :

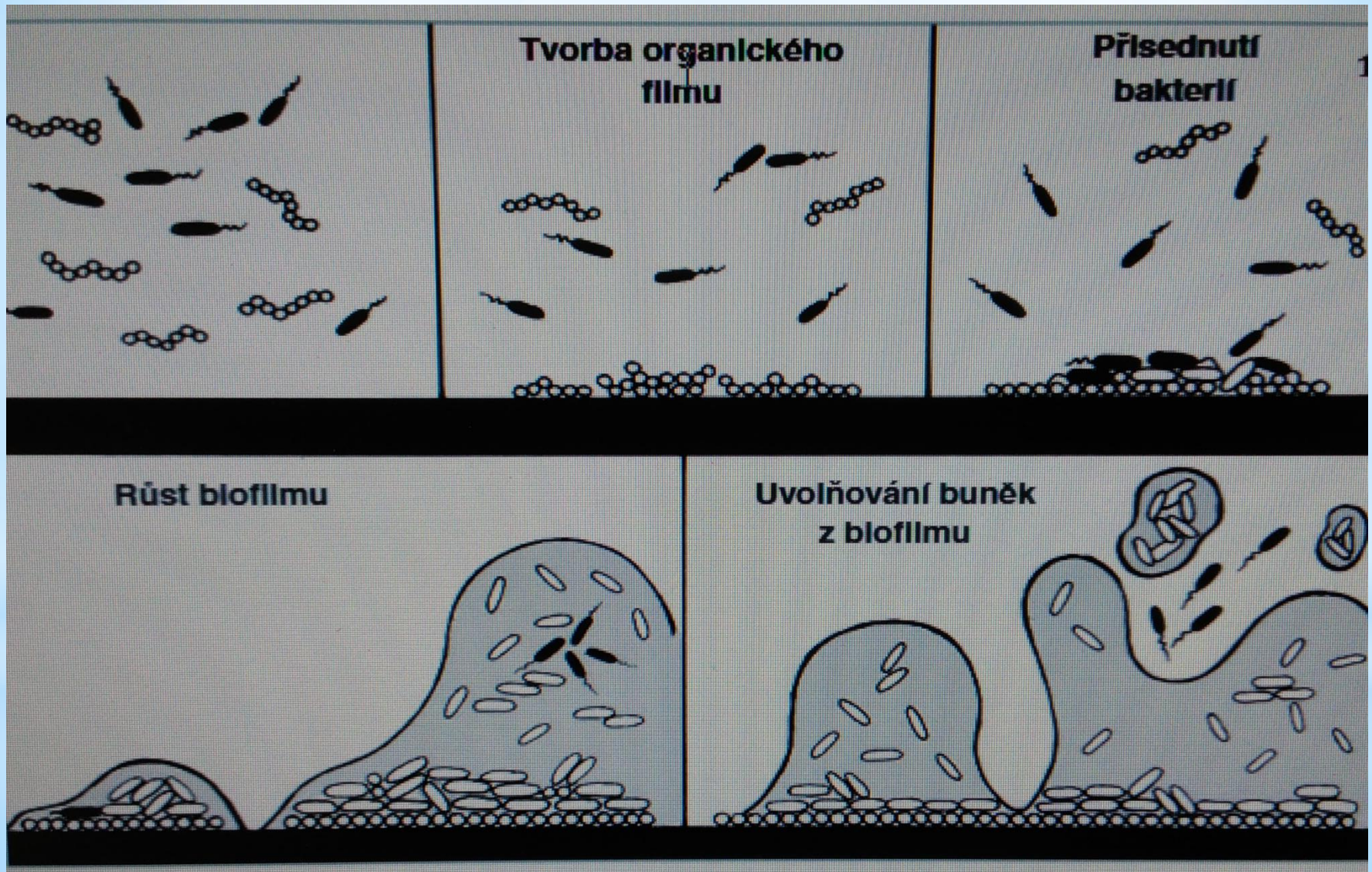
- intracelulární parazité (améby, někt. prvoci, lidské alveolární makrofágy, epitel alveolů)
- optimální teplota množení 25 - 45 °C (améby)
- pod 20 °C přežijí, ale nerozmnožují se
- přežijí 70 °C / 30 min - VBNC stav
- termodesinfekce ?????

Podpora rozvoje :

- rez, usazeniny v trubkách, vodní kámen
- nedostatečná průběžná desinfekce vody, kolísání teplot, teplota pod 50 °C na koncovce :
biofilmy

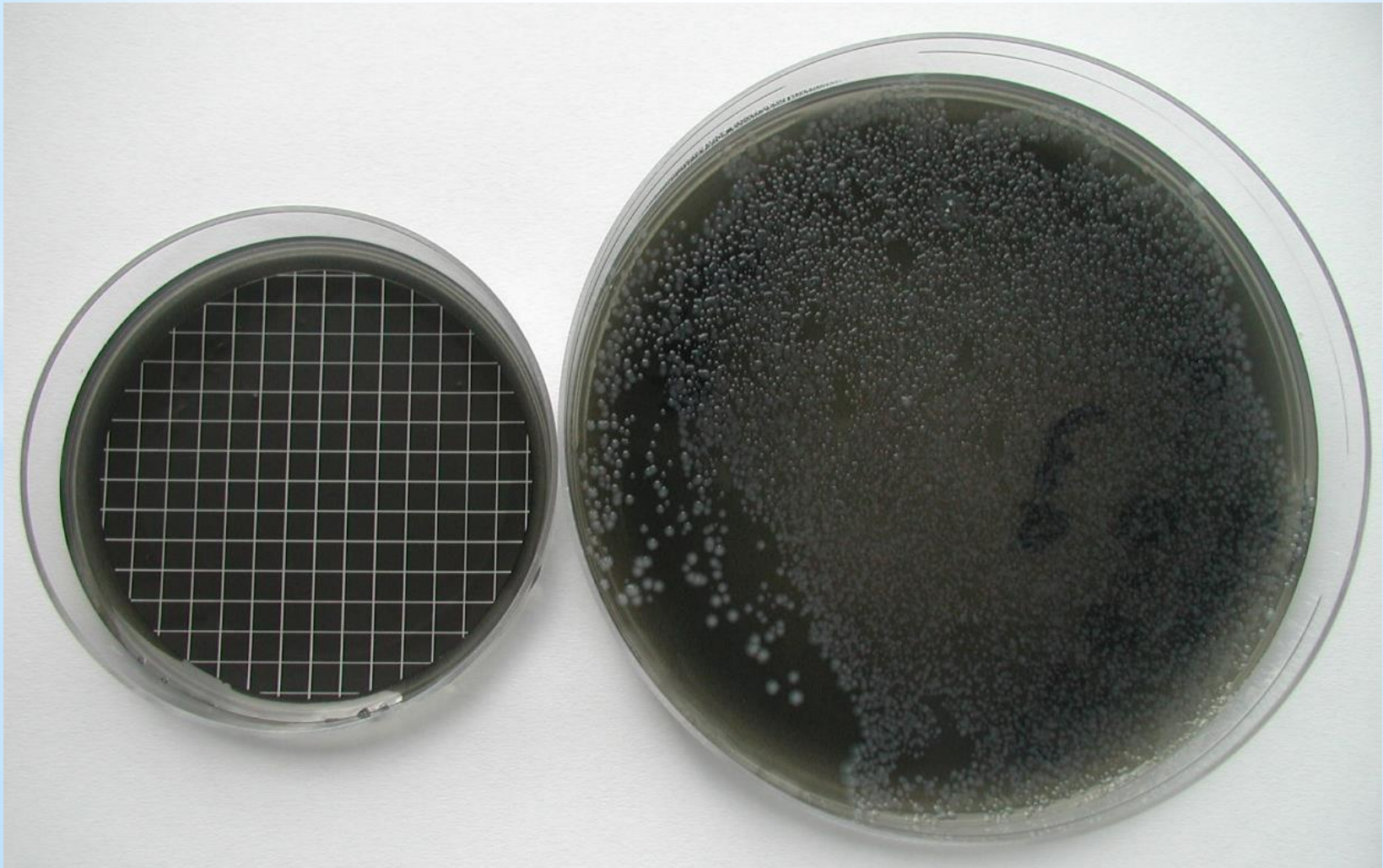


Biofilmy a jejich tvorba - klíč k pochopení problému



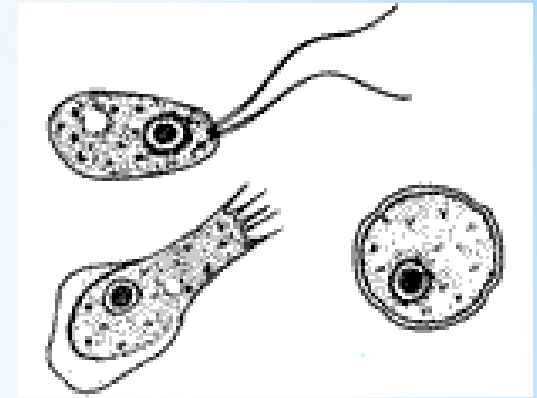


je - li MF (voda) negativní, neznamená to, že v biofilmech potrubí nežijí legionely

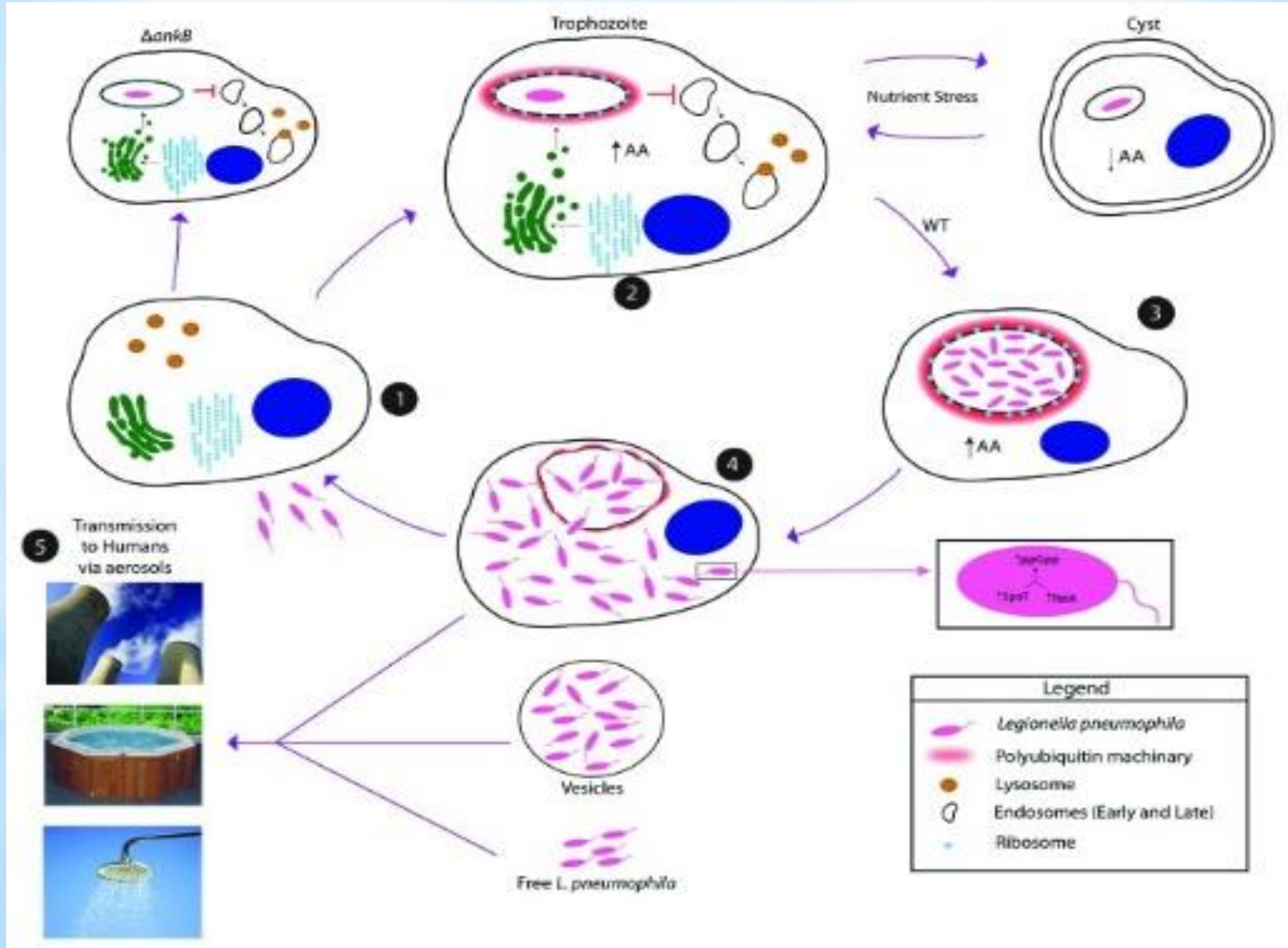


Role améb

- améby jsou běžnou složkou biofilmu
- primární hostitel pro legionelu >>> množení
- zvyšují odolnost legionel vůči dezinfekci (améby zvládají až 70 mg/l Cl₂)
- zvyšují odolnost vůči termodezinfekci - cysty přežijí 60 °C
- patogenní améby mohou být rovněž cestou přenosu legionel na hostitele
- člověk nakažen „omylem“ - není finální hostitel

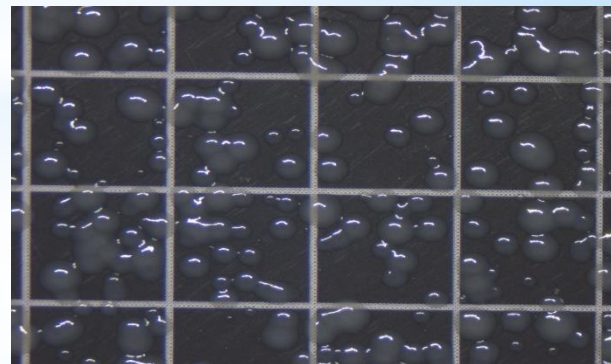
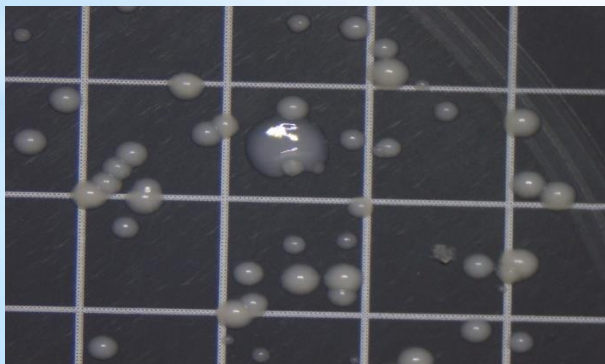


Množení legionel uvnitř améb (fagosomy), vznik LCV



Taxonomie legionel : 1. serologie

- založeno na vlastnostech bakteriální stěny legionel a vazných místech, které jsou na ní umístěny (epitopy) - reakce s protilátkou a vznik sraženiny (vizualizace)
- přes 90 % případů legionelózy je způsobeno bakterií *Legionella pneumophila* (15 sérotypů), klinicky nejvýznamnější *L. pneumophila* sg. 1
- z ostatních druhů legionel (celosvětově) nejčastěji původci onemocnění *L. longbeachae*, *L. feeleyi*, *L. micdadei*, *L. anisa*

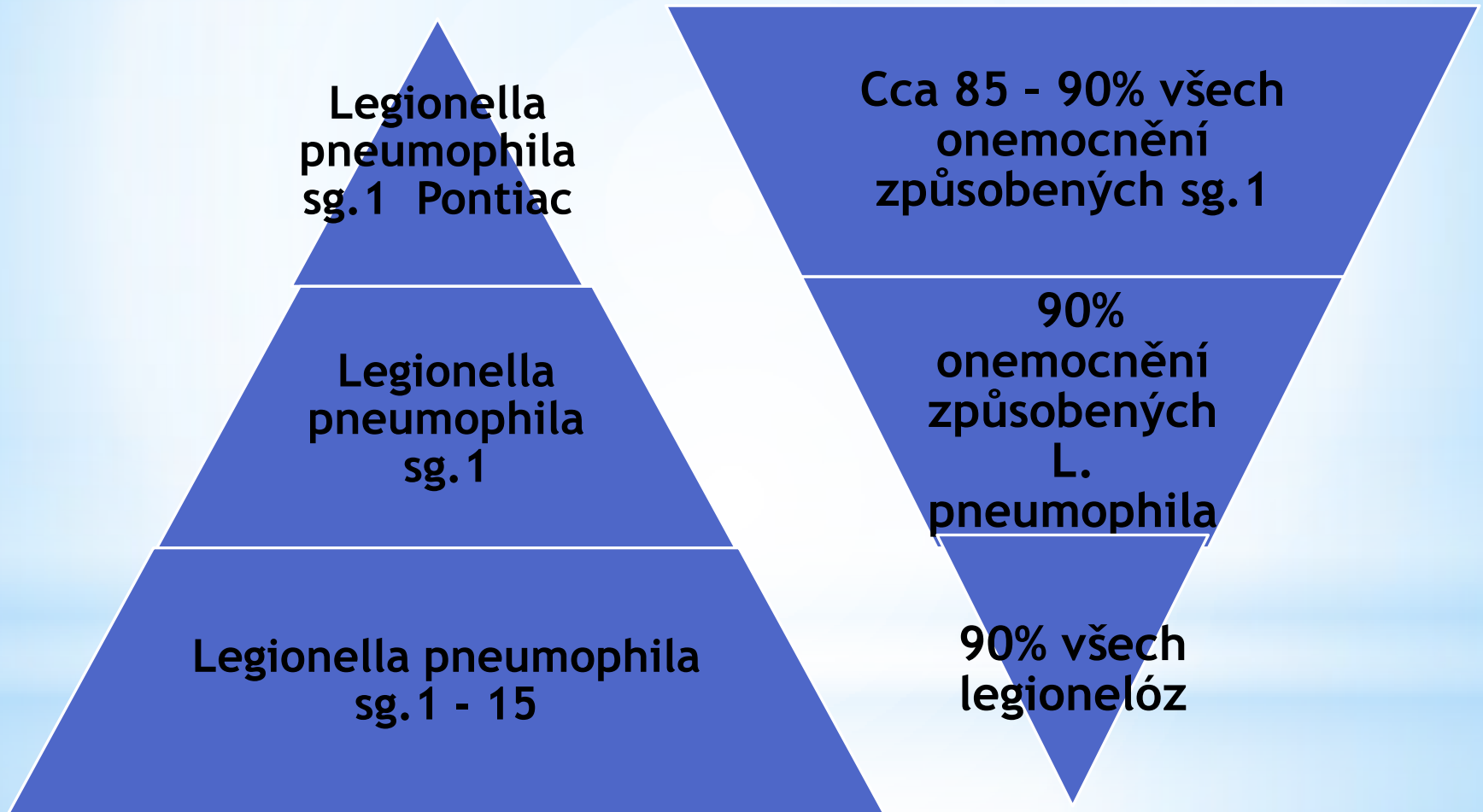


Drážďanský panel : podrobné serologické rozdělení *L. pneumophila* sg. 1 na podskupiny

I. PONTIAC	II. OLDA	III. BELLINGHAM
Philadelphia	Oxford	Bellingham
Knoxville	Camperdown	
Allentown	Heysham	
France	Olda	
Benidorm		

Klasifikace podskupin *L. pneumophila* sg. 1 pomocí monoklonálních protilátek
(dle Joly a kol., 1986).

Význam jednotlivých seroskupin a podskupin *L. pneumophila* :



Taxonomie legionel : 2. PCR

- dnes taxonomická klasifikace legionel založena na variabilitě genu mip (metoda volby)
- *L. pneumophila* sg.1 :
v rámci epidemiologických šetření potřeba podrobnější diferenciaci - sekvenace několika vybraných genů
laA, pilE, asd, mip, mompS, proA a neuA :
sekvenační typy (ST)
- vznik databáze ST (ECDC)
- u nás nejčastější sekvenační typy izolované z klinických isolátů
L.p.sg.1: ST 62, ST 1, ST 20, ST 23
- serologicky : MAb France/Allentown + Knoxville



Proč se nám tak úporně drží v trubkách:

....bylo nebylo..... připlavaly se studenou vodou
..... našly vhodné trubky.....zahřály se našly prima améby.....
.....pomnožily seznovu se pomnožily
..... a našly nás

- dlouhé umělé systémy trubek s teplou vodou
- nevhodné materiály na potrubí (levný PP)
- špatná izolace paralelního vedení teplé a studené vody
- kolísání teploty + dezinfekce, malý odběr vody
- usazeniny + rez v potrubí
- slepá ramena (i neobsazené byty na stoupačce)

....rozvoj biofilmu amébylegionely????



Jak se můžeme bránit :

- regulace teploty (50 – 55°C) v rámci celého systému teplé vody (brání rozvoji biofilmu)
- pravidelné odkalování zásobníků teplé vody
- eliminace slepých rozvodů
- aplikace dezinfekčních činidel
monochloramin, ClO₂ (pronikají do biofilmů)
- měděné trubky ???
- termodezinfekce ???
- bakteriociny - naděje budoucnosti ?!



Legislativa ČR : **vyhl.252 /2004 :**

Mikrobiologické, biologické, fyzikální, chemické a organoleptické ukazatele teplé vody podle § 3 odst. 3 zákona a jejich hygienické limity

Ukazatel	Jednotka	Teplá voda z pitné vody	Teplá voda z jiné než pitné vody	Typ limitu	Vysvětlivky
Legionella spp.	KTJ/100 ml	100	100	MH	1
Legionella spp.	KTJ/100 ml	0	0	NMH	2

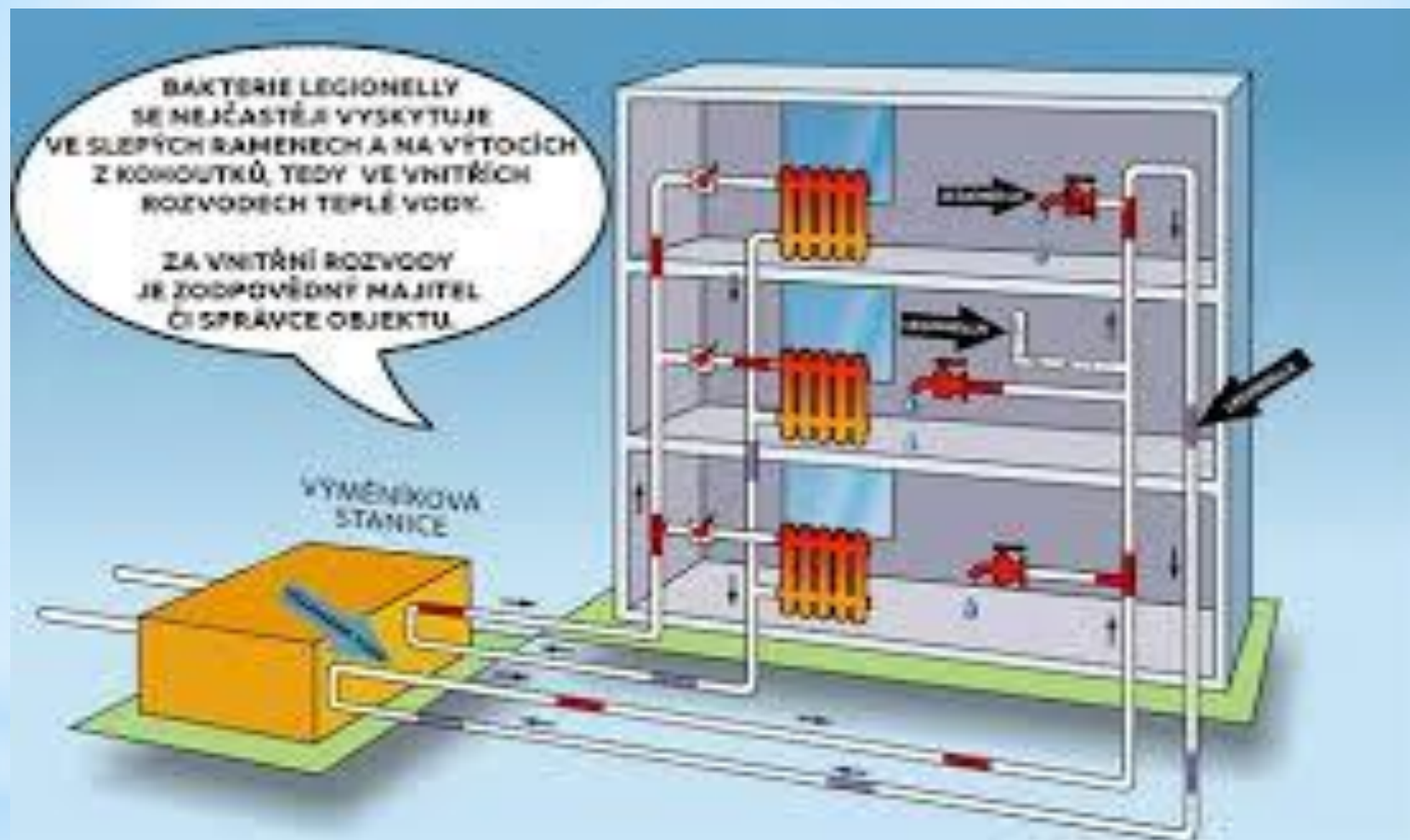
1. Limit jako mezní hodnota platí pro zdravotnická a ubytovací zařízení, pro teplou vodu dodávanou do sprch umělých nebo přírodních koupališť a pro pitnou vodu použitou pro výrobu teplé vody;
pro ostatní objekty platí jako doporučená hodnota, o kterou je nutné pomocí technických opatření usilovat.
2. Limit jako nejvyšší mezní hodnota platí pro oddělení nemocnic, kde jsou umístěni imunokompromitovaní pacienti...

Preventivní kontroly teplé vody :

- jsou tyto limity účinné a jaké je opravdové riziko přítomnosti legionel ????
- většina legionelóz - jen několik vybraných subtypů *L.pneumophila* sg.1
- tyto jsou nebezpečné už svou přítomností ve vodě (???? limit 100 KTJ/ 100 ml)
- u ostatních seroskupin obvykle nevadí mnohem vyšší hodnoty - legislativní páka na provozovatele a výrobce TV ????
- rozvody obytných domů mimo regulaci ?



Rozvod teplé vody v panelovém domě - odlišný od rozvodu SV:



centrální dodávka teplé vody (VS mimo objekt) : dodavatel ručí za kvalitu k patě domu, dále je to problém vlastníka domovních rozvodů, cirkulace nevyužité vody zpět do VS

Termodezinfekce ?

Hotel 5*

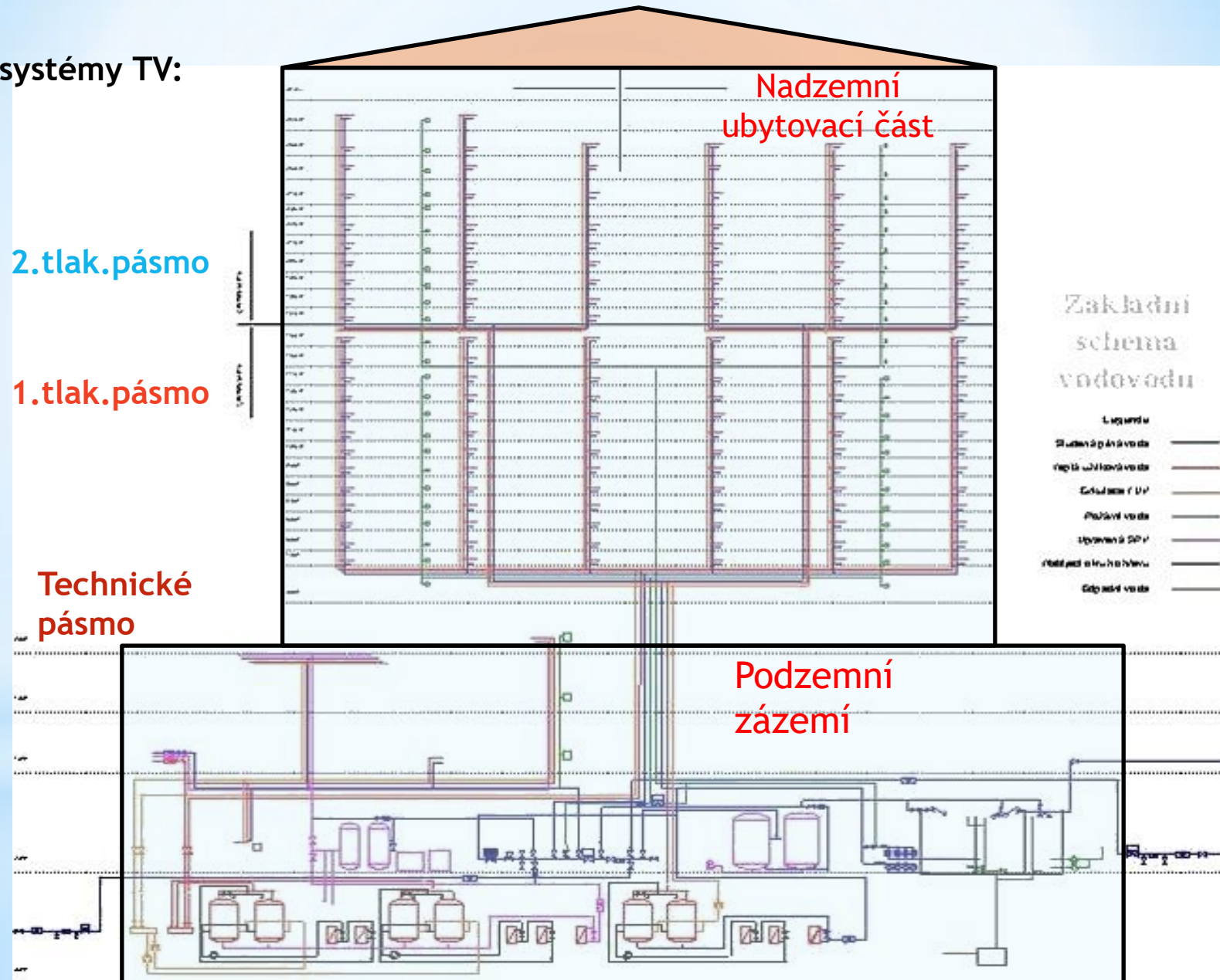
1 hotel -

3 různé systémy TV:

2.tlak.pásmo

1.tlak.pásmo

Technické
pásmo



Termodezinfekce rozvodů - pomoc nebo cesta do pekel ?

- není příliš efektivní, zejména v okrajových částech rozvodu TV
- *L. pneumophila* mnohem odolnější než jiné legionely, s opakováním roste tolerance k vyšší teplotě
- selekce virulentních kmenů
- VBNC

What says the Guidelines / Regulations

Country	Temperature	Time	Flushing (T° x Time)	Frequency
Spain	70 °C 70 °C	2 h 4 h	60 °C x 5 m 60 °C x 5 m	Monthly/Annually
UK	> 60 °C	1 h	> 60 °C x 5 m	
Italy	65 °C 70-80 °C	30 m 3 d	30 m x 60 °C	Daily
Netherlands	60-65-70 °C	20-10-5 m		Weekly (*)
Australia (South)	> 70 °C		70 °C x 5 m	Bi-annually
Germany	> 70° C		70 °C x 2 m	
France	> 60 °C 70° C	30 m		Daily
EU Guidelines	70-80 °C	3 d	> 65 °C x 5 m	

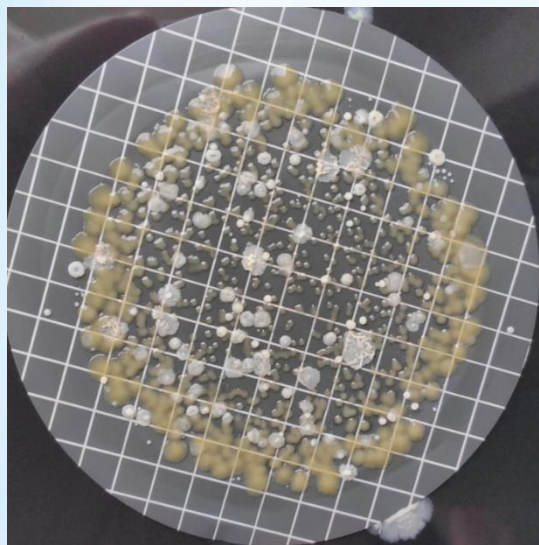
(*) If water is not heated at 60°C

.... výsledný efekt nebývá dlouhodobý ...

Case studies on thermal disinfection

Study	Site	Outcome
Bédard et al, 2016	Hospital	Success and failure
Borella et al, 2016	Hospital	Short term effect
Casari et al, 2007	Hospital	Unsuccessful
Chen et al, 2005	Hospital	Unsuccessful
Peiró Callizo et al, 2005	Hospital	Successful
Perola et al, 2005	Hospital	Unsuccessful
Schulze-Röbbcke et al, 1990	Hospital	Short term effect
Steinert et al, 1998	Hospital	Short term effect
Zacheus et al, 1996	Households	Short term effect
Farhat et al, 2010	Lab-scale Unit	Short term effect
Farhat et al, 2012	Lab-scale Unit	Short term effect
Ji et al, 2018	Lab-scale Unit	Short term effect

Jak fungují bakteriociny : viditelné i při zpracování vzorků

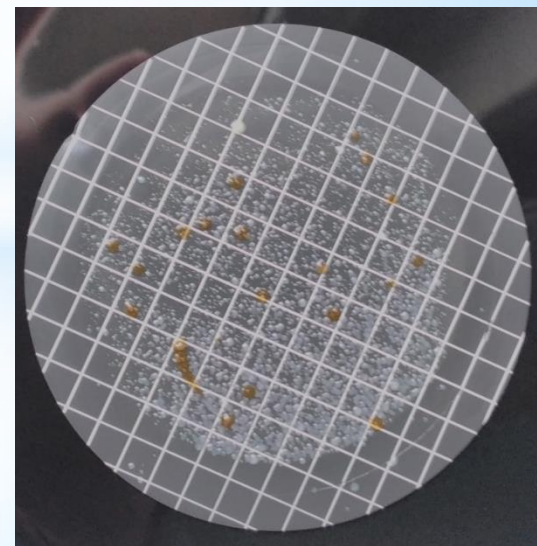


1. přerostlý MF - žádné legionely

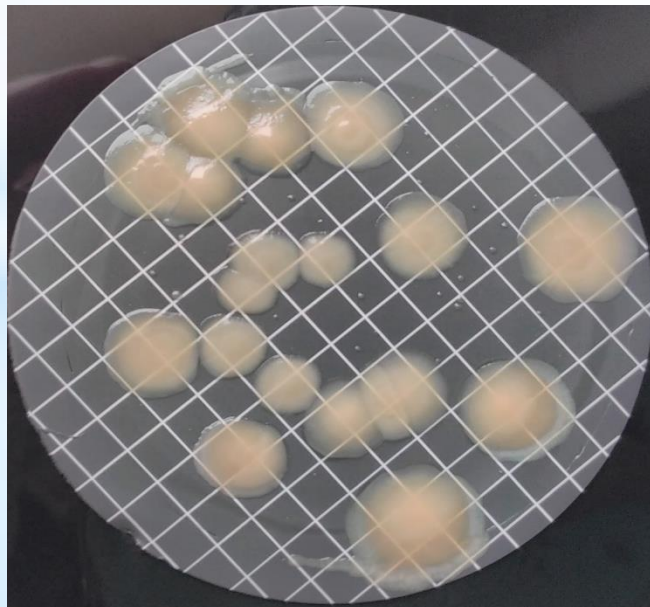
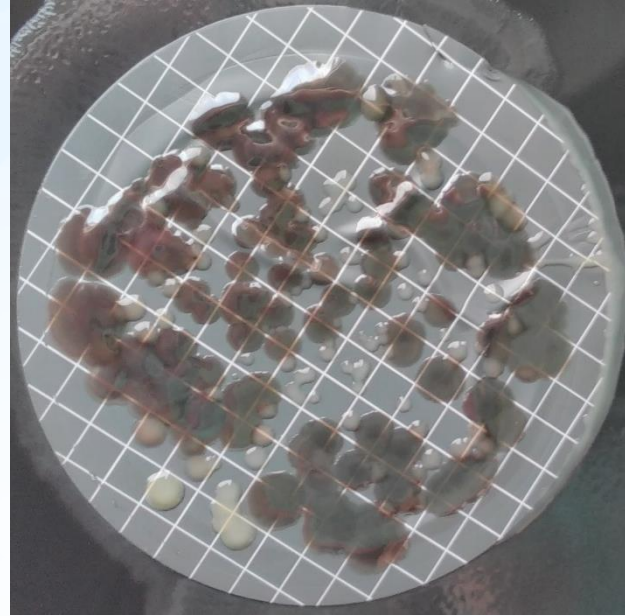
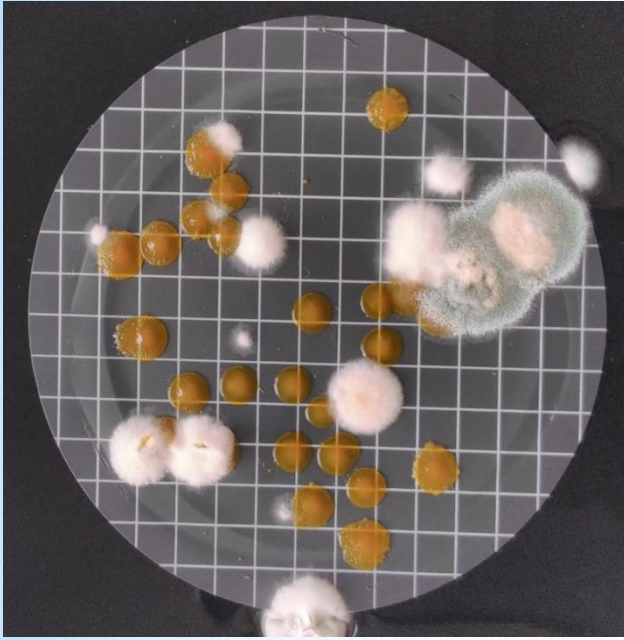
2. ALE na souběžně kultivované misce vysoké počty



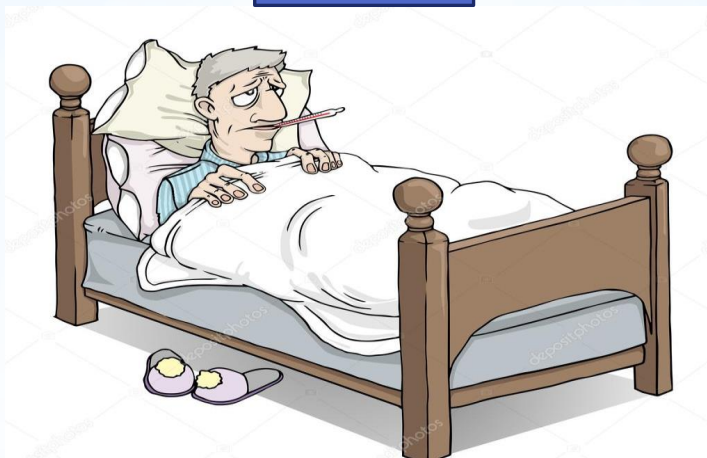
3. Po kyselém promytí podrůstají legionely i na MF



Konkurenční prostředí mnoha bakterií přirozeně potlačuje růst legionel :



Epidemiologické šetření : co může být zdrojem



Co pro mne znamenají informace získané z chorobopisu :

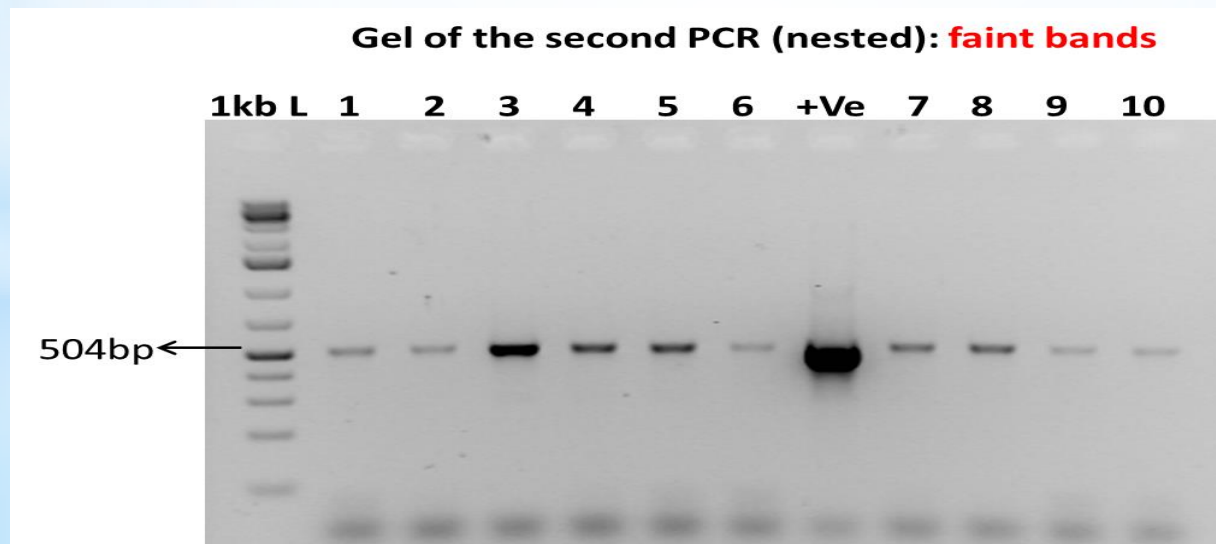
Močový antigen (serologický průkaz) :



Výsledky v řádu minut. Téměř výhradně selektivní pro *L. pneumophila* sg.1
Můžeme začít léčit, ale nezískáme kmen k EPI šetření, nelze stanovit ST

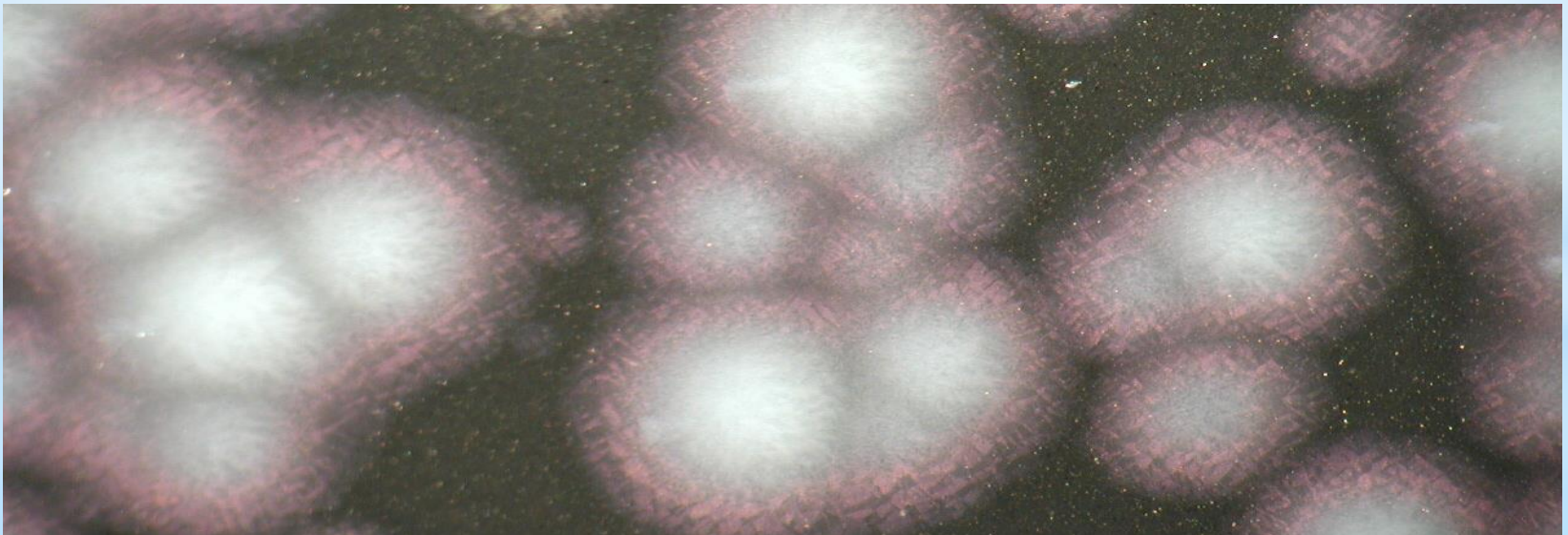
PCR průkaz legionel u pacienta : výsledky v řádu hodin

- lze prokázat ze sputa či BAL (stěr z nosu neprůkazný !!)
- co stanovujeme, závisí na použitém primeru a typu vzorku (*L. sp.*, *L. pneumophila*, ...)
- můžeme léčit, ale opět nemáme kmen k porovnání a nelze stanovit ST
- občas lze prokázat podrobnější charakteristiky pomocí nested PCR



Kultivační průkaz:

- přímý průkaz kmene kultivací ze sputa či BAL - získám kmen, který můžu porovnat s nálezem z prostředí (viz předchozí)
- nelze použít jako základ k léčení (dlouhá doba kultivace)
- pro léčbu druhotný, ale prioritní pro šetření zdroje !!!!!

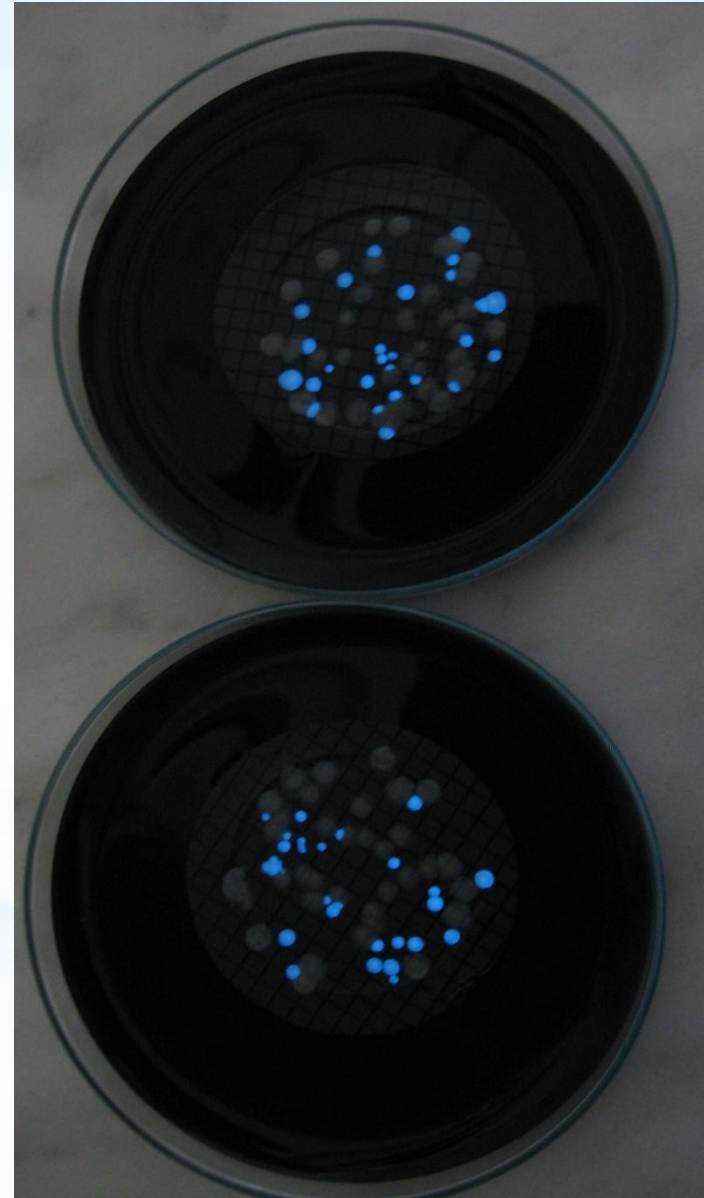
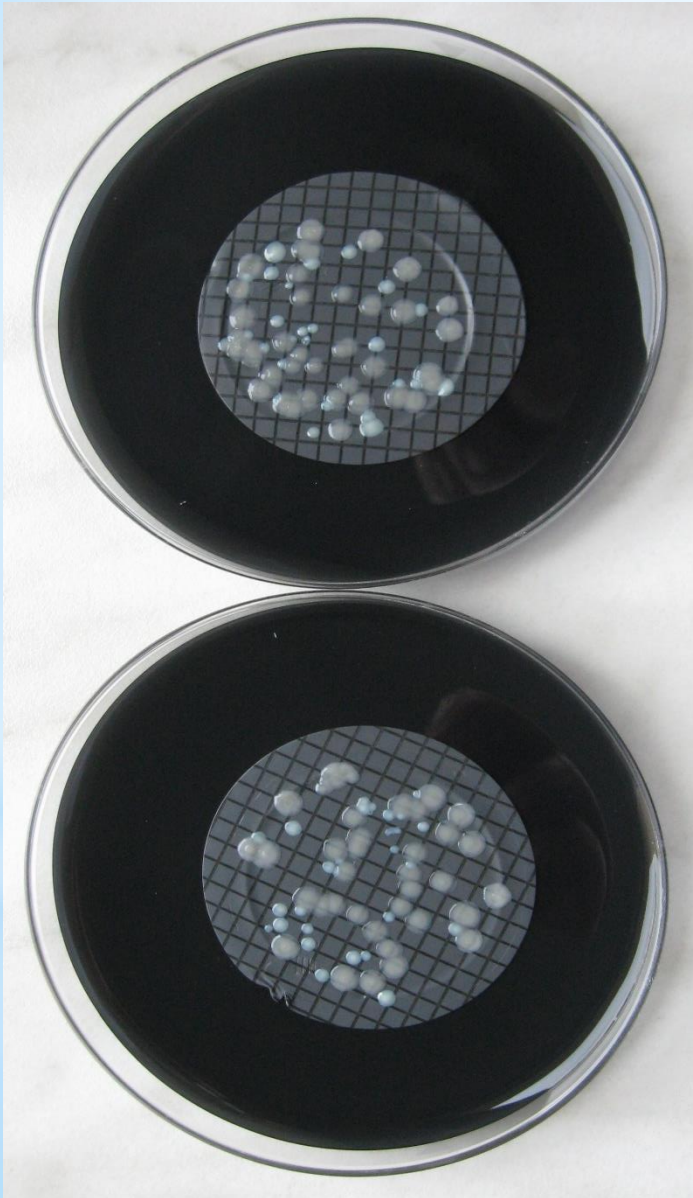


Epidemie legionářské nemoci - i současnost :

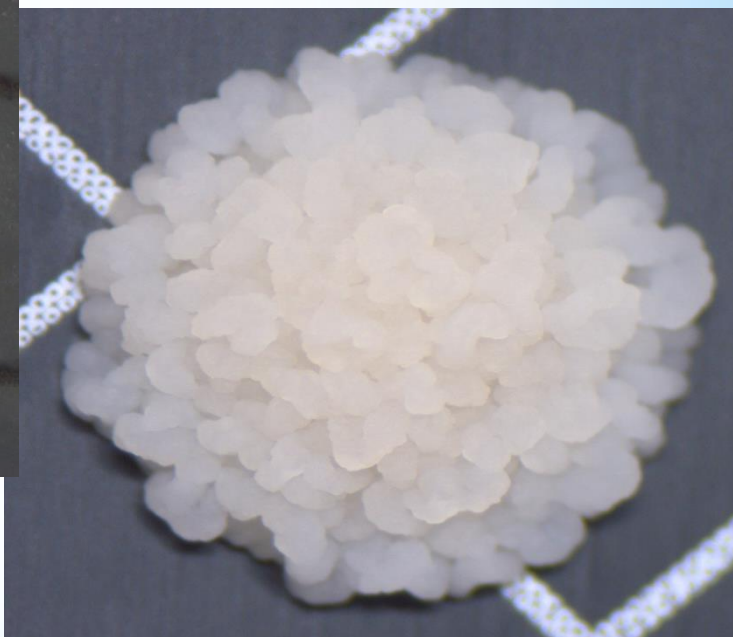
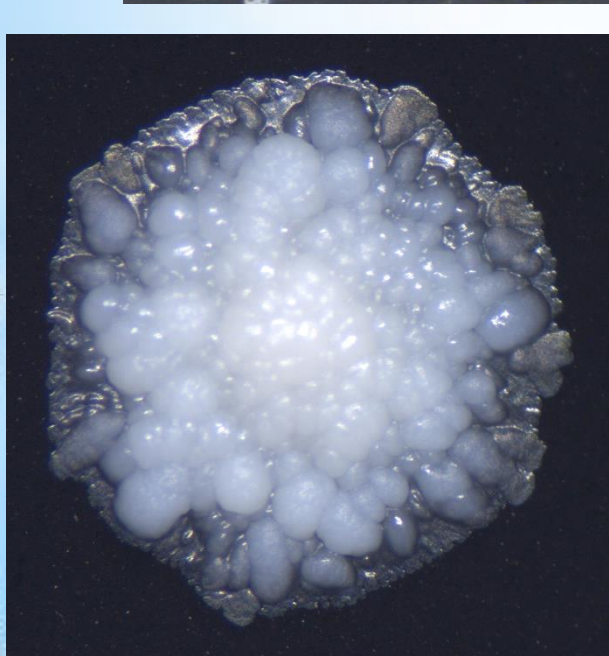
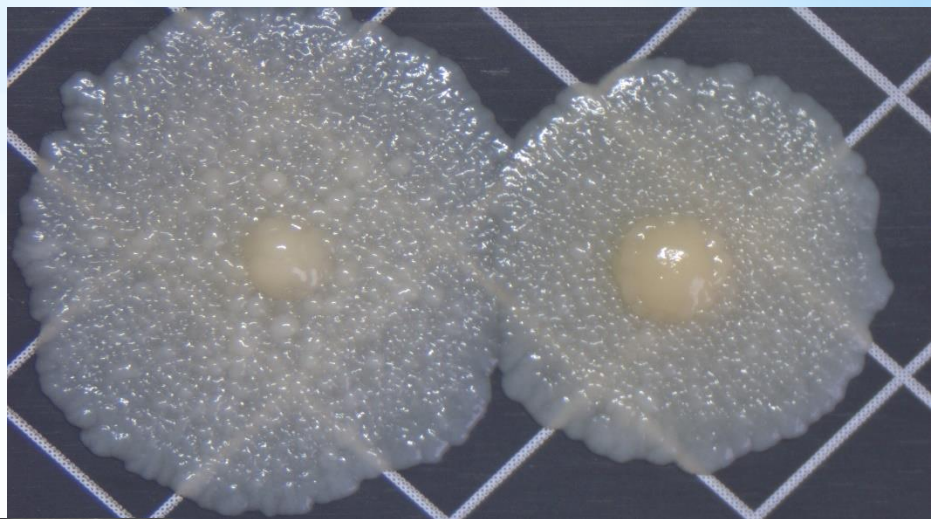
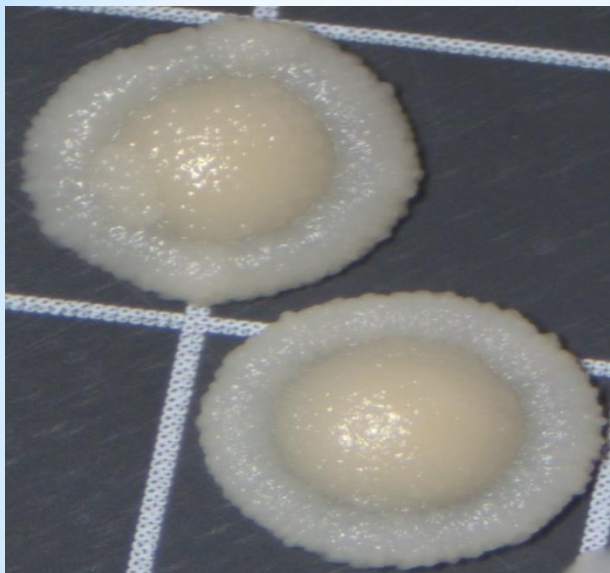
- 2014 Vila Franca de Xira, Portugal - 334 případů listopad 2014, pravděpodobný zdroj průmyslová chladicí věž
- Palmanova in Mallorca, Spain - 18/1+ , září až říjen 2017, neidentifikovaný zdroj (pravděp. jeden z hotelů)
- Brescia, Lombardie, Italy - 651 případů pneumonie září - říjen 2018, pravděpodobný zdroj zavlažovací systém napojený na řeku Chiesa

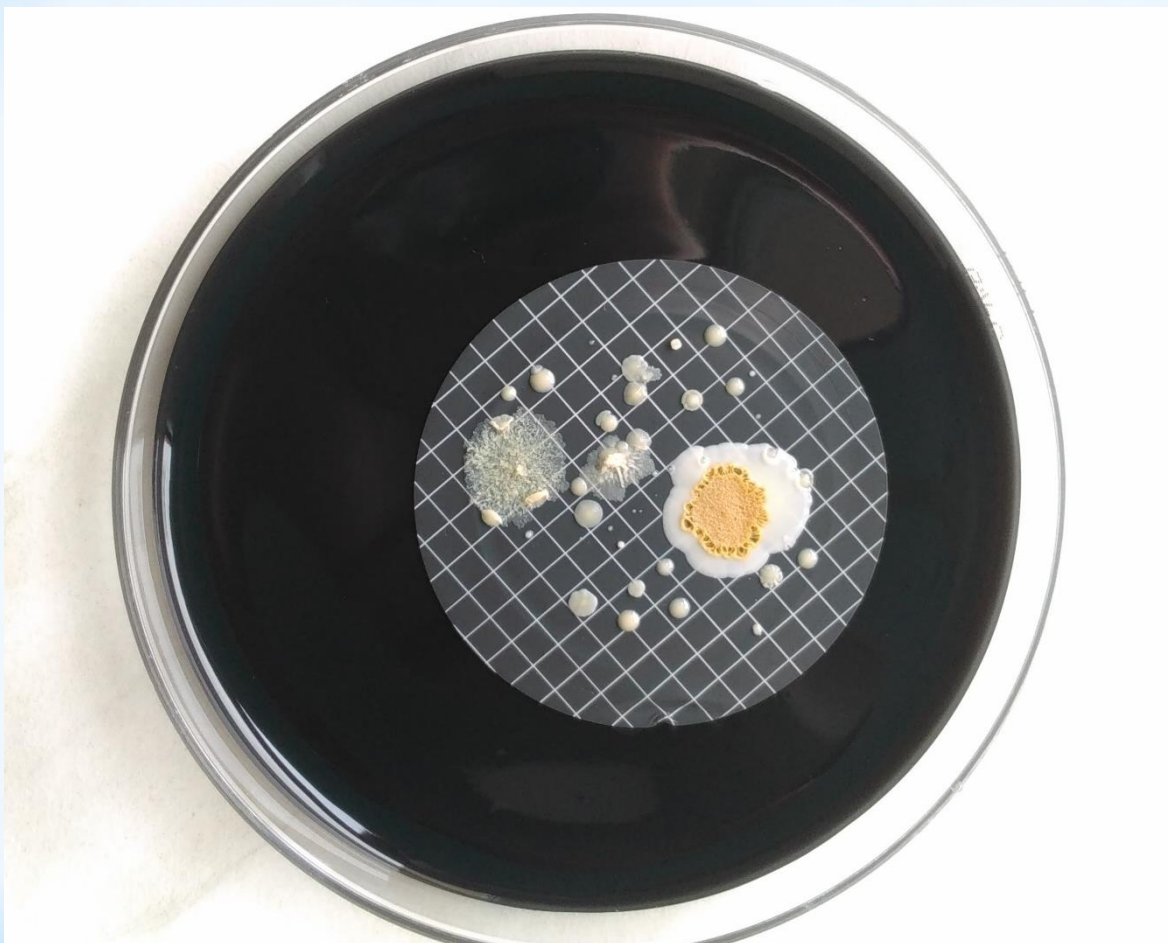


Zajímavosti z praxe : BW+ legionely



Mykobakterie doprovázející legionely - běžný doprovod v teplých bazéncích





Děkuji za pozornost !

www.ecdc.europa.eu