

Univerzita Palackého v Olomouci

Diplomová práce

Olomouc 2016

Bc. Petra Škrobalová

Univerzita Palackého v Olomouci
Přírodovědecká fakulta
Katedra ekologie a životního prostředí

Skryté riziko legionel v železniční dopravě

Diplomová práce

Bc. Petra Škrobalová

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Hydrobiologie

Forma studia: Prezenční

Olomouc 2016

Vedoucí práce: RNDr. Vladimír Drašar

Čestné prohlášení:

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně v průběhu prezenčního magisterského studia pod vedením RNDr. Vladimíra Drašara z Národní referenční laboratoře pro legionely (NRL legionely) ve Vyškově. Čerpala jsem z uvedených literárních zdrojů v závěru práce.

V Olomouci

.....

Bc. Petra Škrobalová

Poděkování:

Touto cestou bych ráda poděkovala svému vedoucímu diplomové práce RNDr. Vladimírovi Drašarovi za vedení práce a poskytnutí pracovních podmínek na pracovišti NRL legionely ve Vyškově a doc. RNDr. Martinovi Rulíkovi Ph. D. za rady a konzultace při psaní této práce.

Tato diplomová práce vznikla za finanční podpory VKV Praha s.r.o. pracoviště Studénka, která uhradila veškeré odběry a provedené analýzy a poskytla informace o fungování systémů vodního hospodářství železničních vozidel.

Abstrakt

Bakterie rodu *Legionella* jsou přirozenou součástí všech vodních ekosystémů, tj. jezera, řeky, ale i půda. Přes tyto rezervoáry se dostávají do vodovodních systémů uměle vytvořených člověkem, které také představují systémy vodního hospodářství u železničních vozidel, trajektů, letadel.

Tyto vodovodní systémy osídlené legionelou mohou představovat určitá zdravotní rizika pro cestující a zaměstnance. Pro přežití legionel je kromě vlhkého prostředí nutné optimální teplotní rozmezí a přítomnost některých kovů, které tvoří vodovodní síť. Jsou schopné ve vodním prostředí přežívat měsíce.

Cílem bylo analyzovat zdravotní rizika legionel v železničních vozidlech, protože ucelená data v tomto oboru chybí. Experiment byl založen na odběru 78 vzorků vody z toalet vagónů. 65 vzorků bylo pozitivních na výskyt legionel. Nejčastěji vyskytujícím se druhem byla *Legionella pneumophila* sg. 1, která je hlavní příčinou legionelózy v Evropě. Pravděpodobně byl nalezen i nový druh, potvrzený sekvencí genu *mip*.

Aktuální návrh systému vodního hospodářství vlaku nemůže zabránit vzniku bakterie *Legionella*. Ale existují nápravná opatření, která by zabránila vzniku. Jsou navržena v této práci. Jejich realizace je v rukou železničních managementů. Riziko legionely existuje ve vlacích především pro zaměstnance údržby, méně pro cestující veřejnost.

Klíčová slova: *Legionella* sp., legionelóza, vlakové soupravy, WC moduly, legislativa

Abstract

Bacteria of the genus *Legionella* represent a natural part of water ecosystems, such as lakes, rivers, but can be found also in soil. They pass from these sites, through water treatment plants, to man-made artificial water systems. Cold water containing small amounts of *Legionella* transports them in water mains both to big buildings but also to public transport vehicles such as trains, ferries and airplanes.

These water systems colonized by *Legionella* can pose a possible health risk to passengers and staff. An optimal temperature range and the presence of growth factors (metals), provide *Legionella* suitable condition for survival and multiplication. Once the system has been colonized, it is very difficult to eradicate the bacterium.

The aim of the work was to analyze the health risk of *Legionella* in railway carriages. The experiments were based on the collection of 78 samples of water from toilets on board the various types of trains, of which 65 samples were positive. *Legionella pneumophila* dominated, including the virulent sequencing type of serogroup 1. A novel species has been revealed by serology and *mip gene* sequencing.

The current design of train water system cannot prevent *Legionella* occurrence in. But there exist remedial measures and corrective actions to prevent it. They are proposed in this work. Their implementation is in the hands of railway managements. The risk of *Legionella* exists in trains especially for staff maintenance, less for travelling public.

Keywords: *Legionella* sp., legionellosis, railway, WC moduls, legislation

Obsah

Abstrakt.....	5
Abstract.....	6
Obsah	7
Použité zkratky	8
1 Úvod	9
2 Cíle práce.....	10
3 Znalosti o bakterii rodu <i>Legionella</i>	11
3.1 Bakterie <i>Legionella</i>	11
3.2 Ideální podmínky	12
3.3 Legionelóza.....	12
3.4 Diagnostika	15
4 <i>Legionella</i> a vlaky	17
5 Vlakové soupravy.....	18
6 Rizikové faktory a související opatření ve vlacích.....	20
7 Změněná legislativa.....	23
8 Materiál a metody.....	27
8.1 Lokalita	27
8.2 Odběr vzorků.....	28
8.3 Zpracování v laboratoři	30
9 Výsledky.....	32
10 Diskuze	39
11 Závěr	42
12 Literatura.....	43
13 Přílohy.....	48

Použité zkratky

ACES	N-2acetamido-2-aminoethansulfonová kyselina
BCYE	kultivační médium pro kultivaci legionel (Buffered Charcoal Yeast Extract)
ČD	České dráhy a. s.
ČR	Česká republika
DFA	přímá imunofluorescence (Direct Fluorescent Antibody)
DNA	deoxyribonukleová kyselina
ELISA	enzymatická imunoanalýza (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay)
EPIDAT	Epidemiologická databáze infekčních onemocnění
EU	Evropská unie (European Union)
EWGLI	Evropská pracovní skupina pro legionelové infekce (European Working Group for <i>Legionella</i> Infections)
HSE	Healthy and Safety Executive
KTJ	kolonii tvořící jednotka (Colony forming units)
NRL	Národní referenční laboratoř
PBS	fosfátový pufr (Phosphate Buffered Saline)
PCR	polymerázová řetězová reakce (Polymerase Chain Reaction)
RISC	Výboru pro interoperabilitu a bezpečnost v železniční dopravě (Railway Interoperability and Safety Committee)
rRNA	ribosomální ribonukleová kyselina
SK	Slovensko
sp.	druh (Species)
sg	sérotyp, séroskupina (Subgroup)
TSI	Technické specifikace pro interoperabilitu
UIC	Mezinárodní železniční unie (Union International de Chemim de Fer)
VKV	Výzkum kolejových vozidel

1 Úvod

Tato diplomová práce se zabývá tématem „Skryté riziko legionel v železniční dopravě“. Toto téma se zaobírá výskytem legionel v systému vodního hospodářství ve vlakových soupravách.

Rod *Legionella* byl poprvé popsán v roce 1979 po propuknutí pneumonie během sjezdu Amerických vojenských legionářů, který se konal o 3 roky dříve. Na počest onoho sjezdu byla bakterie pojmenována jako *Legionella pneumophila*. *Legionella* je gram-negativní bakterie nacházející se jak ve vodním, tak v uměle vytvořeném prostředí jako jsou klimatizace, sprchy, toalety, vířivky či lázně. Bakterie může vyvolat onemocnění člověka, kdy nejčastějším agens je *L. pneumophila* způsobující až 95% všech infekcí. Projevy infekce jsou respiračním typem, kdy se může jednat o 2 druhy onemocnění. Prvním druhem je legionářská nemoc, což je těžký zápal plic - pneumonie, a druhým Pontiacká horečka připomínající chřipku. Mezi rizikové faktory legionářské nemoci patří věk nad 50 let, kouření cigaret, pití alkoholu, imunosuprese nebo již probíhající plicní onemocnění. V roce 1986 v Londýně byla založena Evropská pracovní skupina pro legionelové infekce (EWGLI - The European Working Group for *Legionella* Infections), jejímž úkolem je zajistit detekci a kontrolu nad zdroji legionelóz v evropských zemích nejen pro cestující, ale i zaměstnance (www.ewgli.org).

V rámci teoretické části jsou popsány vlakové soupravy a konstrukční typ WC modulu, který je dnes zaváděn do všech vagónů. Dále jsou rozvedeny rizikové faktory, které představuje bakterie *Legionella* a možná související opatření k jejich snížení ve vlakových soupravách.

Experimentální část je založena na vlastních odběrech vod z železničních vagónů a následné analýze vzorků. Je zde popsána metodika experimentu a vyhodnocení výsledků nalezených legionel a hodnocení zdravotního rizika.

Získané výsledky mohou vést k zamyšlení a k posouzení možného rizika nákazy, které hrozí nejen u našich železničních dopravců.

2 Cíle práce

- Shrnutí základních poznatků o bakterii *Legionella*
- Seznámení se s fungováním vodovodního hospodářství ve vlakových jednotkách
- Práce v terénu pro doplnění výsledků o další typy vlaků (Panter, RegioJet, LEO Express, ...)
- Vyhodnocení zdravotního rizika nálezů legionel z hlediska současných poznatků
- Testy a návrhy preventivních opatření, které je možno ve vlakových jednotkách realizovat

3 Znalosti o bakterii rodu *Legionella*

3.1 Bakterie *Legionella*

Rod bakterie *Legionella* byl objeven relativně nedávno. Svůj název bakterie získala po objevení se „záhadné nemoci“ v roce 1976 ve Filadelfii na sjezdu Amerických vojenských legionářů. Infekce se rozšířila kontaminovaným aerosolem z klimatizace v hotelu, ve kterém účastníci bydleli, a způsobila závažné onemocnění plic, pneumonii. Nakazilo se 221 účastníků, z nichž zemřelo 34 (Fraser et al., 1977).

Bakterie rodu *Legionella* se vyskytuje ve všech přírodních biotopech i umělých vodních systémech. Je rozšířena kosmopolitně a schopna odolávat různému pH, teplotám, obsahu kyslíku a živin. Přirozeným prostředím jsou přírodní zdroje typu jezera, vodní nádrže, řeky, potoky, termální vody aj. Byla také nalezena v prameništích, sedimentech, vlhkých půdách, kompostech (Fields et al., 2002; Gast et al., 2011) a slané vodě (Pagnier et al., 2012). Přežívá i v suchém prostředí, ale nemnoží se (Newton et al., 2010). Vzhledem k lepším životním podmínkám se nachází v oblastech umělých vodních nebo zavlažovacích systémů. Výhodným prostředím jsou hlavně místa se stagnující vodou, jako jsou sprchové hlavice, toalety, vany, whirlpools, klimatizace, ohřívače vody či zásobníky na teplou vodu, lázně nebo odpařovací chladicí věže. Může se vyskytovat i ve znečištěných podzemních vodách a být zanesena do nádrží a systémů s vodou, kde se vyskytují optimální podmínky pro její růst (Bartram et al., 2007).

Legionella je gram-negativní, aerobní pohyblivá bakterie tyčkovitého tvaru, která patří do čeledi *Legionellaceae*. Jedná se o nesporulující a neopouzdrěnou bakterii pohybující se pomocí polárních nebo subpolárních bičků (Fields et al., 2002; Botzenhart et al., 2003). K 1. 4. 2016 je známo 60 druhů rodu *Legionella*, avšak tento počet neustále narůstá, a minimálně 20 druhů je spojováno s lidskou infekcí. Legionelózu způsobuje rozšířený druh *Legionella pneumophila*, která stojí téměř za všemi epidemickými a sporadickými onemocněními. Rozděluje se do 16 sérologických skupin. Nejčastějším druhem onemocnění je *L. pneumophila* sérotyp (subgroup - sg) 1, sg. 3, 4 a 6 se také vysoce podílejí na vzniku infekce (Bartram et al., 2007; Newton et al., 2010). Mezi další non-pneumophila druhy způsobující infekci u lidí patří *Legionella anisa*, *L. bozemanii*, *L. erythra*, *L. longbeachae* a *L. micdadei* (Newton et al., 2010).

3.2 Ideální podmínky

Ideální teplotou pro reprodukci bakterie je rozmezí mezi 25°C - 45°C, optimální růstová teplota je okolo 35°C (Fields et al., 2002; Hosein et al., 2005; Huang et al., 2010). Ideálním pH pro bakterii *Legionella* je rozpětí mezi 6 - 8 (Ohno et al., 2003; Huang et al., 2010). Také pro svou reprodukci potřebuje dostatek živin a přítomnost volně žijících organismů jako jsou měňavky (rody *Acanthamoeba*, *Hartmannella*); (Lau et al., 2009), prvoci (r. *Tetrahymena*); (Fields, 1993) a řasy (r. *Phormidium*, *Oscillatoria*); (Botzenhart et al., 2003). Při nepříznivých podmínkách přetrvává v latentní fázi a využívá k tomu biofilmy (mikrobiální společenstvo uložené v polysacharidové vrstvě přichycené k podkladu), kde je nutričně soběstačná a podílí se na soužití s dalšími mikroorganismy. Biofilm je také ideálním úkrytem před působením dezinfekce. Dezinfekční látka se naváže na organickou hmotu a tím dojde k omezení šíření účinné dezinfekce na větší vzdálenosti v síti (Rulík et al., 2011). Vhodným povrchem pro kolonizaci a tvorbu biofilmu jsou vnitřní stěny potrubí vodovodních sítí, mezi které lze zařadit i systém vodního hospodářství železničních vozidel. Ve vodovodním potrubí poté dochází k uvolňování částí biofilmu s potenciálními patogeny, které se mohou dostat k uživateli. Při teplotě vody 60°C je omezena tvorba biofilmu a tím pádem se snižuje i výskyt bakterie (Bartram et al., 2007; Woods, 2012). Dalšími faktory umožňující růst legionel jsou snížený průtok vody, stagnace vody, velké objemy zásobníků teplé vody, přítomnost mrtvých ramen potrubí, složení a vnitřní povrch potrubního systému, přítomnost vodního kamene a usazenin, nedostatečná údržba a ošetření rozvodů, absence technického zabezpečení (Steinert et al., 2002).

3.3 Legionelóza

Legionelóza je pojem zahrnující onemocnění způsobené bakterií *Legionella*. Rod *Legionella* je označován jako patogenní. Může způsobovat řadu neméně závažných onemocnění, např. tzv. Pontiackou horečku, ale největší riziko představuje tzv. legionářská nemoc. Jedná se o potencionální smrtelnou formu zápalu plic, která se projevuje zmateností, malátností, bolestmi hlavy a břicha, zvýšenou teplotou nebo poruchami gastrointestinálního traktu. Respirační selhání je jednou z příčin úmrtí člověka (Pond, 2005; Woods, 2012). Pontiacká horečka - také označovaná jako Lochgoilheadská horečka - je benigní formou legionelózy a projevuje se jako chřipkové onemocnění doprovázené bolestmi hlavy, horečkou, malátností, myalgií (svalová bolest) bez známek pneumonie

(Glick et al., 1978; Steinert et al., 2002). Není prokázán vliv rizikových faktorů na onemocnění (Tossa et al., 2006; Bartram et al., 2007).

K vyvolání onemocnění u člověka dochází inhalací infekčního aerosolu, který obsahuje bakterii *Legionella*. Vznik aerosolu je důsledkem mechanického působení při dopadu kapaliny na povrch, kdy dojde k jejímu roztříštění - kapka padající z kohoutku, při splachování toalety, sprchování atd. Čím menší jsou kapénky aerosolu, tím hlouběji se dostanou do dýchacích cest a mohou přivodit nebezpečnější onemocnění. Nemoci způsobené bakterií *Legionella* sp. byly zjištěny nejen u lidí, ale také u některých zvířat (např. myši, morčata, křasy, aj.) náchylných k experimentálním infekcím (Botzenhart et al., 2003). Dodnes neexistuje důkaz o přenosu infekce z člověka na člověka či mezi zvířaty (Macela et al., 2006; Bartram et al., 2007). Dávka způsobující onemocnění u člověka je velice nízká, protože infekce může propuknout díky jediné bakterie obsažené v aerosolu. Velikost kapének s přeživší bakterií je do 5 mikronů. Kontaminovaný aerosol může způsobit onemocnění na vzdálenost 3,2 km (Botzenhart et al., 2003).

Epidemiologická klasifikace legionelóz je dělena do 4 skupin:

- Cestovní (Travel Associated Legionnaires` Disease - TALD) - k nakažení pacienta dochází při pobytu v hotelech nebo v zařízeních hromadného ubytování (lázně, hostely, wellness střediska), kde strávil 2 - 10 dní. Onemocnění většinou propuká až po návratu domů. Mezi cestovní legionelózy se neklasifikují onemocnění, ke kterým došlo v soukromých bytech a domech. Z hlediska klasifikace dle Kvášové (2000) se rozdělují na případy:
 - a) ojedinělé (sporadické) - hlášeny případy bez časové a místní souvislosti.
 - b) hromadné (clustery) - hlášeny 2 a více infekce během 6 měsíců ze stejného ubytovacího zařízení.
 - c) vázané - hlášeny 2 a více infekce v období více než 6 měsíců ze stejného ubytovacího zařízení.
- Komunitní (Community Acquired Pneumonia - CAP) - vzniká v běžném prostředí mimo nemocnice nebo zařízení sociální péče. Jde především o veškeré rezervoáry s vodou - chladicí věže, klimatizace, fontány, teplovodní systémy v budovách, akvaparky, sauny, aj. (Skříčková, 2010). Ke komunitním legionelózám dnes řadíme i onemocnění osob v domácím prostředí (koupelny). V dnešní době dochází ke zvýšenému nárůstu výskytu tzv. „panelákových legionelóz“, kdy

teplovodní systémy celých sídlišť nejsou dostatečně kontrolovány a udržovány (Drašar et al., 2010).

- Nozokomiální (Hospital Acquired Infection - HAI) - k nákaze pacienta dochází při pobytu ve zdravotnickém zařízení (vodní rozvody, respirátory, inhalátory, rehabilitační a vířivé bazény). Vysoké riziko hrozí pacientům se sníženou imunitou po transplantacích či s onkologickými onemocněními, malignitou, onemocněním *diabetes mellitus* (cukrovka), (Chalupa, 2000).
- Profesionální - nákaza člověka je spojená s pobytem na pracovišti a výkonem práce, kde se využívá voda a vytváří se aerosol (výrobní autoskel, plastů, myčky, zemědělství, sklárny, stomatologické přístroje, aj.)

Po kontaktu s bakterií *Legionella* trvá v průměru 2 - 10 dní než dojde k propuknutí prvních příznaků legionářské nemoci. Infekci jsou vystaveni všichni lidé, ale jako u každé jiné nemoci hraje důležitou roli stav imunitního systému. Určité skupině lidí hrozí vyšší riziko nákazy. Patří mezi ně kuřáci, alkoholici, lidé trpící respiračním onemocněním (astma, bronchitida, aj.) nebo onemocněním ledvin, plic a srdce a lidé se sníženou imunitou, dále skupina osob po transplantacích, chemoterapiích, radioterapiích nebo po splenektomii (chirurgické odstranění sleziny). Také lidem starším 45 let hrozí vyšší riziko nákazy a je potvrzeno, že muži jsou náchylnější k infekci než ženy (Stout a Yu, 1997; Gutiérrez et al., 2006; Bartram et al., 2007).

Při včasném zjištění infekce, se dá nemoc léčit podáváním antibiotik, která představují kauzální léčbu (léčí původ onemocnění). V lehčích případech onemocnění se pacientovi podávají antibiotika řady makrolidové (azithromycin, erythromycin), chinolinové (ciprofloxacin, levofloxacin) a tetracyklinové (Fields et al., 2002; Steinert et al., 2002).

Dozor nad legionelózami v rámci Evropy má Evropská pracovní skupina pro legionelové infekce (EWGLI), která vznikla roku 1986. Jejími členy jsou vědci podílející se na zvyšování znalostí o epidemiologických a mikrobiologických aspektech legionářské nemoci (www.ewgli.org). Každý rok je hlášeno kolem 5,5 tisíc případů nakažených lidí legionelózou, v průměru se jedná o 1 případ na 100 tisíc obyvatel. Z toho je cca 850 případů cestovních legionelóz. K rizikovým zemím patří Francie, Itálie, Velká Británie a Španělsko (Joseph, 2009).

V České republice je povinné nahlásit onemocnění legionelózou, které je následně evidováno a analyzováno v databázi infekčních onemocnění EPIDAT. Během let 2001 - 2011 bylo v průměru hlášeno 20 případů onemocnění legionelózou za rok (Petrovová, 2010).

3.4 Diagnostika

Legionella nemá žádné specifické příznaky lišící se od pneumonie (zápal plic) nebo infekce jiného původu. Diagnóza infekce bakterií *Legionella* využívá laboratorních metod k její detekci, které se často kombinují. Prozatím neexistuje žádná metoda, která by dokázala rychle a přesně identifikovat známé druhy způsobující legionelózu.

Mezi diagnostické metody patří následující:

- kultivace - metoda založená na cíleném udržování či rozmnožování bakterie *Legionella* v laboratorních podmínkách, což umožňuje její bližší určení. Bakterie se nechá růst na půdě BCYE (Buffered Coal Yeast Agar) s vysokým obsahem aktivního uhlí, pyrofosfátu železitého a aminokyselinou L-cysteinu a pomocí pufru ACES se udržuje pH v hodnotách 6,9 - 7,0. Kultivace misek probíhá při teplotě 36 +/-1°C po dobu 10 dní. Do půdy se mohou přidat antibiotika, aby se omezil růst doprovodné mikroflóry. Na agarové půdě BCYE rostou bakterie v šedobílých, lesklých, okrouhlých, ostře ohraničených koloniích o průměru cca 1 mm (Obr. č. 1). Jejich okraje mohou vykazovat červenou, modrou nebo zelenou autofluorescenci, podle které se dají některé druhy rozpoznat (Murdoch, 2003; Miskowski, 2007).



Obr. č. 1 Kolonie bakterie *Legionella* na BCYE agaru (foto: Škrobalová)

- detekce močového antigenu - metoda založená na využití imunoanalýzy ELISA. Jedná se o rychlou a jednoduchou metodu. V moči pacienta se nachází specifický antigen (látka vyvolávající specifickou imunitní odpověď), který lze po třech dnech od příznaků rozpoznat. Po tomto pozitivním testu lze nasadit antibiotickou léčbu. Test je specifický pouze pro *L. pneumophila* sg. 1, ostatní druhy a sérotypy mohou zůstat neodhaleny (Fields et al., 2002; Murdoch, 2003).
- přímá imunofluorescence (Direct Fluorescent Antibody, DFA) - jedna z prvních metod používaných k detekci bakterie *Legionella*. Touto metodou mohou být bakterie detekovány v respiračních sekretech a plicních tkáních i po již zahájené antibiotické léčbě. Výhodou je výsledek poskytnutý během 2 - 4 hodin (Fields et al., 2002; Murdoch, 2003).
- detekce nukleových kyselin pomocí PCR - metoda PCR (Polymerase chain reaction) je jeden z mála testů sloužící k detekci infekce všemi známými druhy legionel. Je to specifická a citlivá metoda. K detekci bakterie slouží geny 5S rRNA, 16S rRNA a *mip* (macrophage infectivity potentiator). Bakterie *Legionella* se nenachází v lidské mikroflóře, proto nález její DNA vede k prokázání legionelové infekce (Levin, 2009).
- sérologie - metoda založená na průkazu specifických protilátek a antigenů pomocí sérologických testů. Tyto testy jsou dostupné, citlivé a specifické, bohužel nevýhodou je časová náročnost. U člověka jsou využívány imunoglobuliny třídy IgA, IgG a IgM. K potvrzení infekce je nutná sérokonverze (zvýšení protilátek). Často využívané metody jsou enzymová imunoanalýza, mikroaglutinace, nepřímá imunofluorescence a ELISA (Murdoch, 2003).

V laboratoři lze vyšetřovat různé druhy klinického materiálu, např. respirační sekret, sputum, sekret z bronchoalveolární laváže, pleurální tekutina, sérum, krev, moč aj. Kultivace by měla být provedena vždy, když dojde k hospitalizaci pacienta s podezřením na pneumonii. Pozitivní kultivace má šanci identifikovat zdroj a zamezit šíření nákazy. Díky dostupnosti a využívání diagnostických testů můžeme charakterizovat epidemiologii legionářské nemoci, její výskyt a geografické rozdíly (Fields et al., 2002; Botzenhart et al., 2003).

4 *Legionella* a vlaky

Jak je známo, bakterie *Legionella* je zodpovědná za legionelózu, což je souhrnný název pro nespočet nemocí zvaných pneumonie. Proto je důležité, aby lidé vyskytující se v blízkosti zdrojů s vyššími koncentracemi bakterie *Legionella* dbali na zdravotní a bezpečnostní předpisy. U takových lidí je potřeba klást důraz na opatření ke snížení nebo zamezení vystavení se bakterii. Mezi možné zdroje nákazy patří lázně, termální prameny, veřejná prostranství, hotely, ale také hromadná doprava jako jsou autobusy, lodě, trajekty, vlaky, atd. Jakýkoli vodní systém, který má vhodné podmínky, může být zdrojem pro vývoj a růst bakterií *Legionella* a to včetně systémů vodního hospodářství železničních souprav.

Přítomnost bakterie v systémech vodního hospodářství železničních souprav představuje riziko nejen pro personál, ale také pro cestující. Nicméně koncentrace bakterií je závislá na rychlosti množení a schopnosti způsobit infekci u člověka. Vzhledem k nepodloženým důkazům o možnosti vzniku nákazy člověka bakterií *Legionella*, vyskytující se v systému vodního hospodářství vlaku, není známa žádná legislativa. K tomuto tématu bylo publikováno několik studií, ale závěry naznačují, že žádná rizika nikomu nehrozí. Existující údaje o výskytu bakterie ve vlakových nádržích pocházejí z Velké Británie, Itálie a České republiky.

Ve Velké Británii se při rutinních odběrech a testování vodních nádrží toalet zjistila přítomnost vysokých koncentrací bakterie *Legionella* (Gardner, 2012). Po ovzorkování dalších železničních souprav se přítomnost bakterie potvrdila. Na základě těchto zjištění se železniční podniky řídí HSE (Health and Safety Executive) publikací a následujícími dvěma dokumenty: L8 - Legionářská nemoc (2013) a HSG274 - Technická kontrola: Legionelóza (2014), které poskytují komplexní poradenství o právních a kontrolních aspektech managementu legionely.

HSE navrhl limity bakterie *Legionella* pro vzorkování. Pokud by bakterie byla nalezena ve více než 100, ale méně než 1000 KTJ/L, je nutné systém znovu ovzorkovat. Dojde-li k podobným výsledkům, je potřeba provést kontrolní opatření a posouzení možného rizika, popř. nápravná opatření jako dezinfekce systému. Vyskytne-li se bakterie ve více než 1000 KTJ/L je třeba přezkoumat kontrolní a nápravná opatření, včetně

dezinfekce systému. Testování by mělo poté probíhat v pravidelných intervalech, dokud nedojde k uspokojivým výsledkům (HSE, 2014).

V České republice dodnes neexistuje žádná platná, ani účinná legislativa na ochranu veřejného zdraví. V této oblasti nemají ani hygienické stanice žádné kompetence provádět kontroly stavu sociálních zázemí ve vlakových vozidlech. Proto kontrola hygieny a sociálního zázemí je pouze na majitelích a provozovatelích železniční dopravy.

5 Vlakové soupravy

Současný vývoj sociálního zázemí a vodního hospodářství železničních vagonů je takový, že toalety zrekonstruovaných i nových vagonů jsou navrženy jako tzv. uzavřený systém vodního hospodářství. To znamená, že voda vytékající samospádem z vodojemu je využita pro splachování toalety a následně odváděna s exkrementy do odpadní nádrže. Voda přitékající do umyvadla končí obvykle odpadem na kolejovém svršku, u vysokorychlostních tlakotěsných vozů musí být již odváděna také do odpadních nádrží přes pachový uzávěr.

Ve všech vlacích, rozlišujících se podle délky cestování na příměstské, vnitrostátní a mezinárodní, je vybavenost přizpůsobena délce cestování. Můžeme říci, že vybavenost modernizovaných toalet je u všech typů vlaků téměř stejná a liší se kvalitou a designem provedení. Každá toaleta obsahuje předepsané zařizovací předměty jako je umyvadlo, mísa WC, zásobník na ručníky nebo osušovač rukou, dávkovač mýdla, zásobník na toaletní papír, odpadkové koše, madla, zrcadlo a věšáky (obr. č. 2). Technika provozu WC mísy je prováděna dvěma způsoby:

1) do kolejiště - nejstarší systém, který vypouští exkrementy přímo na koleje. V současné době přetrvává u starších nerekonstruovaných vozů a postupně se od něj upouští.

2) s uzavřeným okruhem - systém neuvolňuje exkrementy na koleje, ale do odpadní nádrže, která je vybavena snímači hladiny, odsávacím a odpadním potrubím a případně temperací proti zamrznutí bioodpadu u externích nádrží. Tento typ se v současné době rozšiřuje do všech modernizovaných a nových železničních vozidel (Škrobalová, 2013).



Obr. č. 2 Vybavení toalet (foto: Škrobalová)

K příměstským vlakům řadíme např. City Elefant, Regionova, Panter, Pantograf aj. Rychlíky a vnitrostátní vlaky jsou vybaveny jako vlaky příměstské - zde jsou také zařazeny vlaky dopravce LEO Express a RegioJet. Mezi mezinárodní vlaky patří např. EuroCity, InterCity, Express, EuroNight aj. Vyšší úroveň i prostředí jsou pro tyto vlaky samozřejmostí. Nejčastěji do ČR jezdí mezinárodní vlaky z Německa a ze Slovenska (Dufka, 2016).

Ve všech kategoriích vlaků jsou již zabudovány i toalety pro tělesně handicapované osoby. Vybavení je pak uzpůsobeno pro pohyb a otáčení invalidního vozíku, doplněno sklopným madlem, ovládání dveří je provedeno prosvětlenými a akustickými tlačítky pro otevírání a zavírání či zamčení dveří, zařízením pro přivolání pomoci i stolkem pro přebalování dětí (VKV Praha, osobní sdělení).

6 Rizikové faktory a související opatření ve vlacích

Riziko pro člověka je určováno postupně 5 etapami.

1. Kontaminace vodního zdroje, tj. počáteční zdroj bakterie *Legionella*. Je nutné předpokládat, že bakterie mohou být přítomny ve vodě přenášené do vodního hospodářství železničních vagónů. Z toho vyplývá, že by měla být zavedena opatření kontroly přenosu vody z veřejného vodovodního řádu do systému vozidla.

2. Amplifikace ve vodě, tj. schopnost bakterie množit se, aby bylo dosaženo koncentrace způsobující riziko. Následující body ukazují, co má vliv na rychlost a schopnost množení bakterie *Legionella*. Ohled by měl být brán jak na pozemní zařízení, tak na vodní hospodářství železničních vozů (ATOC, 2014).

- teplota - (viz Ideální podmínky pro růst bakterie *Legionella*). Vhodné by bylo skladovat vodu při teplotě 60°C a při odtoku by měla dosáhnout minimální teploty 50°C (HSE, 2014). Je důležité si uvědomit, že teplota je významným faktorem při určování tempa růstu bakterií a je nutné počítat s dalšími zdroji tepla, jako jsou sluneční záření a výfukové potrubí motoru. Vhodné by bylo vzít v úvahu testování a sledování teploty vody (Woods, 2012).
- přítomnost živin - bakterie *Legionella* vyžaduje přísun živin, aby se mohla množit. Zdroji živin jsou dostupné organismy žijící ve vodě samotného systému, jako například řasy, améby a jiné bakterie, a také sedimenty, kaly a jiné materiály v rámci systému vlaku. Doporučením by bylo vyvarovat se používání materiálů poskytujících mikroorganismům živiny pro jejich růst. Vhodné jsou nízko-korozní materiály (měď, plast, nerez ocel, aj.), které dosahují nejlepších výsledků a jsou snadno čistitelné a dezinfikovatelné. Vhodným řešením by také bylo proplachovat/čistit/dezinfikovat nádrže s vodou, aby došlo k odstranění usazenin, kalů, vodního kamene, atd. (ATOC, 2014)
- přítomnost biofilmů - biofilmy přispívají k bakteriálnímu růstu a chrání bakterii *Legionella* před nepříznivými teplotami a koncentracemi biocidů, které by jinak zabíjely nebo inhibovaly tyto volně se pohybující organismy ve vodě. Doporučení jsou stejná jako u přítomnosti živin.
- materiály používané ve vodovodním řádu a vodním hospodářství vlaku - vhodné materiály pro využití ve vodních systémech jsou uvedeny výše v bodě

přítomnost živin. I když není možné používané materiály vyměnit za vhodnější, je důležité pochopit, jak přispívají k celkovému riziku a určit tak optimální dávkování dezinfekce.

- systém propustnosti - voda vyskytující se v klidném stádiu, pravděpodobně poskytuje ty nejlepší podmínky pro existenci bakterie. Naopak, pravidelné proplachování systému vody zabraňuje její amplifikaci. Tzn., že toalety v soupravách vypravených na delší vzdálenosti budou častěji propláchnuty než ty na kratší vzdálenost. Ale je důležité mít na paměti, že zvýšené množství průtoků ve vodním hospodářství vlaků nenabízí ochranu před rizikem. Vezme-li se voda na neobvyklém či nepravidelně používaném místě, může dojít ještě k větší kontaminaci. Je také nutné poznamenat, že systémy obsahují místa, kde voda může stagnovat, např. kohouty, trysky, hadice, aj. Zvýšená pozornost by měla být věnována soupravám, které byly dlouhodobě mimo provoz z důvodu čekání na opravu nebo generální opravy.
- hadicové spoje a fitinky - špatný stav hadic připojených k vodovodnímu řádu pro tankování vozidla vodou představuje značné riziko. Poškozené hadice nebo hadice ležící na zemi by se neměly používat a měly by být sterilizovány roztokem. Jinak to může vést k opětovné kontaminaci nebo k množení bakterie *in situ* (přímo na místě).

Správné hadice, připojení a hygienické režimy by měly splňovat následující body, aby efektivně snížily celkové riziko (Woods, 2012).

- a) použití vhodných kvalitních hadic
- b) výměna opotřebovaných nebo poškozených hadic
- c) správné skladování hadic (např. na cívku) nejsou-li používány
- d) umístění konců hadic do dezinfekčního roztoku nejsou-li využívány
- e) zajistit, aby hadice byly trvale připojeny na plnicích místech
- f) zakrytí přípojných míst vlaku, když se nepoužívají
- g) čištění/dezinfekce přípojných míst vlaku před použitím

Mohou být přijata různá opatření k inhibici růstu bakterie, ale není možné jí zcela zabránit. Proto je nutné použít nějakou formu chemického dávkování jak ve vodovodním řádu, tak ve vodním hospodářství vlaku. Vzhledem k množství faktorů a potencionální variability není možné stanovit konkrétní dávkování jako optimum pro všechny případy. Železniční podniky by si měly stanovit, zda založí dávkovací režim chemikálií na základě výsledků testování vody nebo přijmou konkrétní periodicitu dávkování (Woods, 2012).

3. Přenos, tj. vytvoření aerosolů dostatečně velkého pro výskyt bakterie, ale dostatečně malého, aby mohl být inhalován hluboko do plic. Hlavními faktory ovlivňující produkci aerosolu v nepitných systémech souprav jsou (ATOC, 2014):

- průtok - čím rychlejší průtok vody vytékající z vodovodního kohoutku nebo dodáním do záchodové mísy, tím větší promíchání vody a také produkce většího množství aerosolu. V praxi jsou proto vodojemy umístěny nad toaletními kabinkami a voda je vypouštěna samospádem, díky tomu má voda nižší tlak a průtok.
- konstrukce vodovodních kohoutků - kohoutky jsou vybaveny tryskou štěpící průtok vody do menších kapek, které mohou vytvářet aerosol. Odstraněním trysek z kohoutků by snížilo jejich cenu a došlo by ke snížení možného rizika nákazy.
- konstrukce umyvadla - voda dopadající v pravém úhlu k povrchu umyvadla bude mít za následek větší produkci aerosolu než voda dopadající na povrch ve větším úhlu. Řešením by bylo změnit odpovídajícím způsobem úhel kohoutku.
- typ WC - moderní vakuové WC systémy využívají méně vody než běžné systémy a pravděpodobně způsobují menší produkci aerosolu z důvodu odvodu vody do odpadní nádrže. Přesto vede výměna toalet za vakuové pouze k opatření pro snížení rizika, které přináší *Legionella*.

4. Expozice aerosolů - zamezit zcela vzniku aerosolu při využívání WC jednotek cestujícími ve vlacích není možné. Jedinou možností jak snížit vznik je uzavírání víka toalety při splachování. Vystavení riziku vdechnutí aerosolu, který může uniknout z jednotky WC do vestibulů a sedacích prostor, mohou být i cestující nevyužívající toaletu. Vliv může mít délka cesty, počet toalet ve vlaku a jejich umístění.

5. Hostitelská citlivost, tj. citlivost a náchylnost k onemocnění jednotlivce. Železniční podniky nejsou schopny ovlivnit citlivost jedinců na Legionářskou nemoc či jejich náchylnost k ní (Woods, 2012; ATOC, 2014).

7 Změněná legislativa

Normy Mezinárodní železniční unie (UIC) jsou osnovou pro základní legislativu železničního provozu. Tato unie kontroluje a upravuje spolupráci mezi národními železnicemi. Součástí legislativy unie je i norma UIC 563, která popisuje požadavky na vybavení a podmínky provozu sociálního zázemí vagónů, jejichž součástí nejsou požadavky na složení doplňované vody (Škrobalová, 2013).

V roce 2014 došlo na základě připomínek členů Výboru pro interoperabilitu a bezpečnost v železniční dopravě (RISC) příslušných členských států k novelizaci norem týkajících se Interoperability v dopravě konsolidováním směrnice 2008/57/ES a navazujících nařízení. Postupy pro posuzování shody prvků a subsystémů pro systémy sanitárních zařízení byly novelizovány ve sbírce zákonů L 356 z 12. prosince 2014, kde původní směrnice 2008/232/ES (HIGHT SPEED) a 2011/291/ES (LOCPAS), další byly k 1. 1. 2015 nahrazeny nařízením komise NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) č. 1299/2014 ze dne 18. listopadu 2014 o technických specifikacích pro interoperabilitu subsystému infrastruktura železničního systému v Evropské unii a NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) č. 1302/2014 ze dne 18. listopadu 2014 o technické specifikaci pro interoperabilitu subsystému kolejová vozidla – lokomotivy a kolejová vozidla pro přepravu osob železničního systému v Evropské unii (tab. č. 1)

Tab. č. 1 Vazby mezi nařízeními komise:

	1299/2014	1302/2014
Zařízení pro servis vlaků	4.2.12.2 Vyprazdňování toalet 4.2.12.3 Zařízení na čištění exteriérů vlaků 4.2.12.4 Doplnění vody 4.2.12.5 Doplnění paliva 4.2.12.6 Vnější elektrické přípojky	4.2.11.3 Systém vyprazdňování toalet 4.2.11.2.2 Čištění exteriérů vlaků v myčkách 4.2.11.4 Zařízení pro doplňování vody 4.2.11.5 Rozhraní pro doplňování vody 4.2.11.7 Doplnění paliva 4.2.11.6 Zvláštní požadavky na odstavování vlaků

V NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) č. 1299/2014 ze dne 18. listopadu 2014 o technických specifikacích pro interoperabilitu subsystému infrastruktura železničního systému v Evropské unii se pro nakládání s vodou týkají tyto články:

2. DEFINICE A OBLAST PŮSOBNOSTI SUBSYSTÉMU

2.1. Definice subsystému infrastruktura

Tyto technické specifikace pro interoperabilitu (TSI) zahrnují:

- a) strukturální subsystém infrastruktura;
- b) část funkčního subsystému údržba související se subsystémem infrastruktura (tj.: myčky na čištění exteriérů vlaků, doplňování vody, doplňování paliva, pevná zařízení pro vyprazdňování toalet a vnější elektrické přípojky).

Prvky subsystému infrastruktura jsou popsány v příloze II (2.1. Infrastruktura) směrnice 2008/57/ES.

bod 4.2.12.4 Doplňování vody

1) Pevná zařízení pro doplňování vody musí být kompatibilní s charakteristikami vodovodního systému stanovenými v TSI kolejová vozidla.

2) Pevná zařízení pro dodávku pitné vody v interoperabilní síti (hydranty, rozvody vody v kolejových depech, plnicí spojky, hadice, aj.) se doplňují pitnou vodou vyhovující požadavkům směrnice Rady 98/83/ES.

V NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) č. 1302/2014 ze dne 18. listopadu 2014 o technické specifikaci pro interoperabilitu subsystému kolejová vozidla – lokomotivy a kolejová vozidla pro přepravu osob železničního systému v Evropské unii jsou články dotýkající se požadavků pro plnění vody do vozidel a návaznosti na směrnici o pitné vodě 98/83/ES jsou následující:

bod 4.2.5 Prvky týkající se cestujících

Následující neúplný seznam uvádí pouze pro informaci přehled základních parametrů řešených TSI týkající se osob s omezenou schopností pohybu a orientace, které platí pro konvenční vozidlové jednotky určené k přepravě cestujících:

- sedadla, včetně vyhrazených sedadel,
- prostory pro invalidní vozíky,
- vnější dveře včetně rozměrů, rozhraní ovládacích prvků pro cestující,
- vnitřní dveře včetně rozměrů, rozhraní ovládacích prvků pro cestující,
- toalety,
- průchozí cesty,
- osvětlení,
- informační systém pro cestující,

- změny výšky podlahy,
- držadla/madla,
- spací oddíly s přístupem pro invalidní vozíky,
- poloha schodů pro nástup a výstup včetně schodů a pomůcek pro nástup.

bod 4.2.5.1 Sanitární systémy

1) Pokud je ve vozidle k dispozici vodovodní kohoutek a pokud není voda z kohoutku zajišťovaná v souladu se směrnicí Rady 98/83/ES, musí být viditelně piktogramem označeno, že voda z kohoutku není pitná (obr. č. 3).



Obr. č. 3 Piktogram - Upozornění na skutečnost, že voda není pitná (PN 28 0091; foto: Škrobalová)

2) Sanitární systémy (toalety, umývárny, bar/restaurační zařízení), pokud je jimi vozidlo vybaveno, nesmí umožňovat vypouštění žádných látek, které škodí zdraví lidí nebo poškozují životní prostředí. Vypouštěné látky (tj. upravená voda s výjimkou vody s mýdlem přímo vypouštěné z umýváren) musí být v souladu s následujícími směrnicemi:

- bakteriální obsah vody vypouštěné ze sociálních zařízení nesmí v žádném případě překročit hodnotu bakteriálního obsahu střevních enterokoků a střevních bakterií *Escherichia coli* specifikovanou jako „dobrou“ pro vnitrozemské vody v směrnici Evropského parlamentu a Rady 2006/7/ES o řízení jakosti vod ke koupání,
- při procesu úpravy vody nesmí být používány látky, které jsou uvedeny v příloze I směrnice Evropského parlamentu a Rady 2006/11/ES o znečišťování některými nebezpečnými látkami vypouštěnými do vodního prostředí Unie.

3) Aby byl omezen rozptyl vypouštěné tekutiny podél trati, musí k nekontrolovanému vypouštění z jakéhokoli zdroje docházet pouze směrem dolů, pod rámem skříně vozidla ve vzdálenosti do 0,7 metru od podélné osy vozidla.

4) V technické dokumentaci popsané v bodě 4. 2. 12 musí být uvedeny následující informace:

- přítomnost a typ toalet v jednotce,
- charakteristika splachovacího média, pokud se nejedná o čistou vodu,
- charakter systému pro úpravu vypouštěné vody a normy, podle kterých byla posuzována shoda.

Dále v článku 4. 2. 11 Údržba:

bod 4.2.11.4 Zařízení pro doplňování vody

1) Tento bod se vztahuje na vozidla vybavená vodovodními kohoutky, na které se vztahuje bod 4.2.5.1 této TSI.

2) Voda dodávaná do vlaku až do plnicího rozhraní s kolejovým vozidlem v interoperabilním systému je považována za pitnou ve smyslu směrnice 98/83/ES podle specifikace uvedené v bodě 4.2.12.4 TSI infrastruktura.

Vlakové zařízení na skladování vody nesmí představovat žádná dodatečná rizika pro lidi kromě rizik spojených se skladováním vody doplňované v souladu s výše uvedenými ustanoveními. Tento požadavek se považuje za splněný na základě posouzení materiálu a kvality potrubí a těsnění. Materiál musí být vhodný k přepravě a skladování vody určené k lidské spotřebě.

bod 4.2.11.5 Rozhraní pro doplňování vody

1) Tento bod se vztahuje na vozidla vybavená vodními nádržemi, které zásobují vodou sociální zařízení, na které se vztahuje bod 4.2.5.1 této TSI.

2) Přípojka na plnění vodních nádrží musí být v souladu s obrázkem 1 specifikace uvedené v dodatku J-1, index 64.

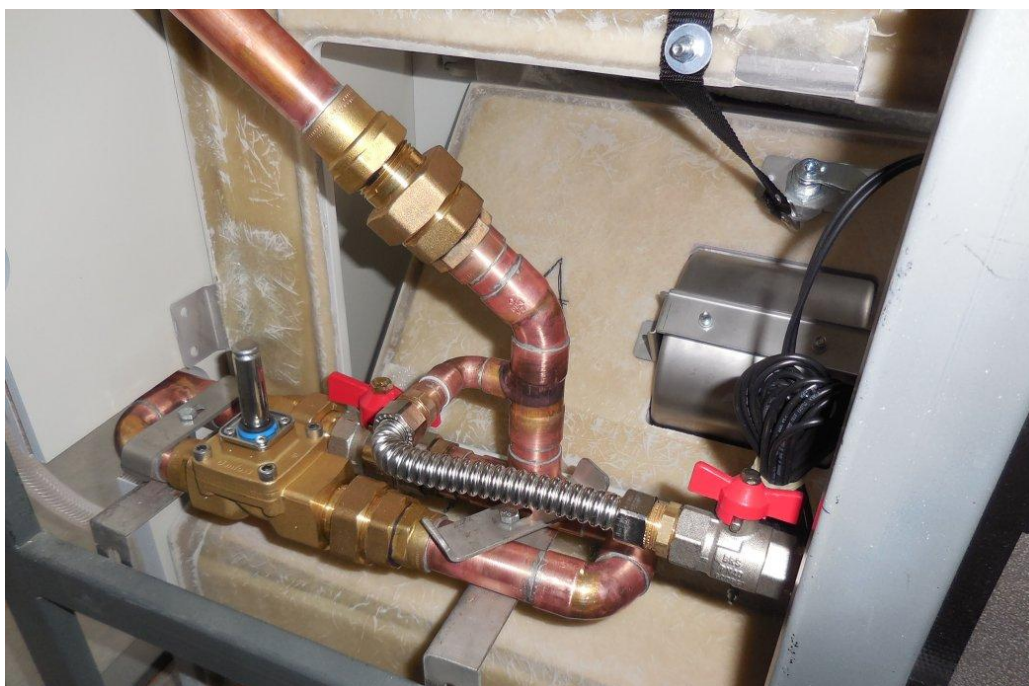
8 Materiál a metody

8.1 Lokalita

Sociální zázemí a vodní hospodářství vlakových souprav je v dnešní době navrhováno a dodáváno jako kompaktní modul včetně uzavřeného systému vodního hospodářství. To znamená, že voda z vodojemu je použita pro splachování WC a následně jímána do odpadní nádrže (Škrobalová, 2013).

Nádrže s vodou neboli vodojemy jsou umístěny ve většině případů pod střechou nad toaletami. Vodojemy jsou vyrobeny z nerez, polypropylenu nebo polyamidu a jsou izolovány. Uvnitř se nacházejí vlnolamy sloužící ke stabilitě nádrže při jízdě vozidla.

System potrubí vodního hospodářství je obvykle vyroben z materiálů pro přepravu a uchování pitné vody podle norem ČSN EN ISO 15 874, ČSN EN ISO 21 003 a ČSN EN 1057. Pro rychlé doplnění vodou je rovnotlaký systém od vzdušněn.



Obr. č. 4 Příklad části vodních rozvodů (foto: Škrobalová)

Potrubí je obvykle sestaveno z těchto komponent. Z vodojemu vede spojovací hadice (potravinářská) pro přívod vody do systému napojuje se na měděné potrubí vedoucí vodu do ohřívače. Trubky jsou pájené nebo lisované a propojené tvarovkami (kolena, oblouky, téčka). Potrubí je propojeno pomocí fitinků a výkonných prvků, jako jsou ruční a elektromagnetické ventily, filtry (obr. č. 4). Součástí je také nerezový ohřívač vody, který ji ohřívá na teplotu 35°C a pomocí elektromagnetického ventilu je voda dávkována vodní

baterií do umyvadla. V ústí baterie byl prováděn odběr vzorků (obr. č. 6 - místo je označeno červeným textem). Z ohřívače vede odvodušňovací polyuretanová hadička, která odvádí vzduchové bubliny z ohřívače (obr. č. 6) a odvodušňuje tak celý vodní systém.

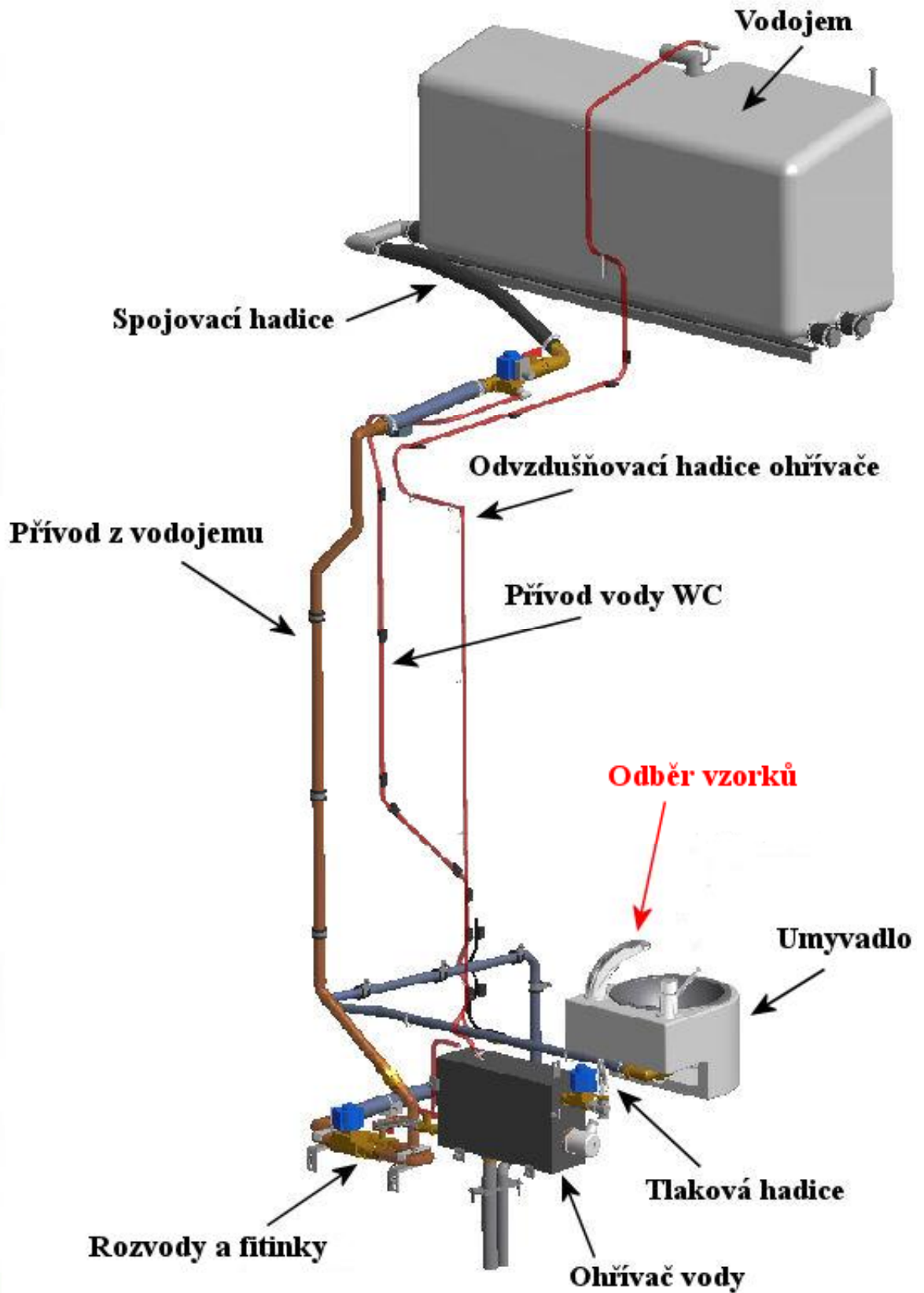
Plnění vodojemu je prováděno v depech. Plnicí hrdla se nacházejí na obou stranách vozidla. Tato místa nejsou většinou chráněna a hrozí možná kontaminace. K plnění vozu je využita voda napojená na veřejný vodovodní řád (VKV Praha, osobní sdělení).

8.2 Odběr vzorků

Vzorky vody byly sbírány ve vlakových soupravách na nádražích v České republice. Z každého druhu vlaku byly odebrány nejméně 4 vzorky z různých vagónů. Odběr vzorku byl proveden do sterilní skleněné zábrusové lahve po několikanásobném odpuštění vody z odtokového raménka (obr. č. 5 a 6) ve vlakovém modulu WC. Při odběru byla též měřena teplota vody. Následně byly vzorky zaznamenány do protokolu o odběru vzorků vody na legionelu (příloha č. 1) a odvezeny do NRL pro legionely ve Vyškově.



Obr. č. 5 Měření teploty a odběr vody z odtokového raménka ve WC modulu (foto: Škrobalová)



Obr. č. 6 3D model vodního hospodářství vlakové soupravy (VKV Praha)

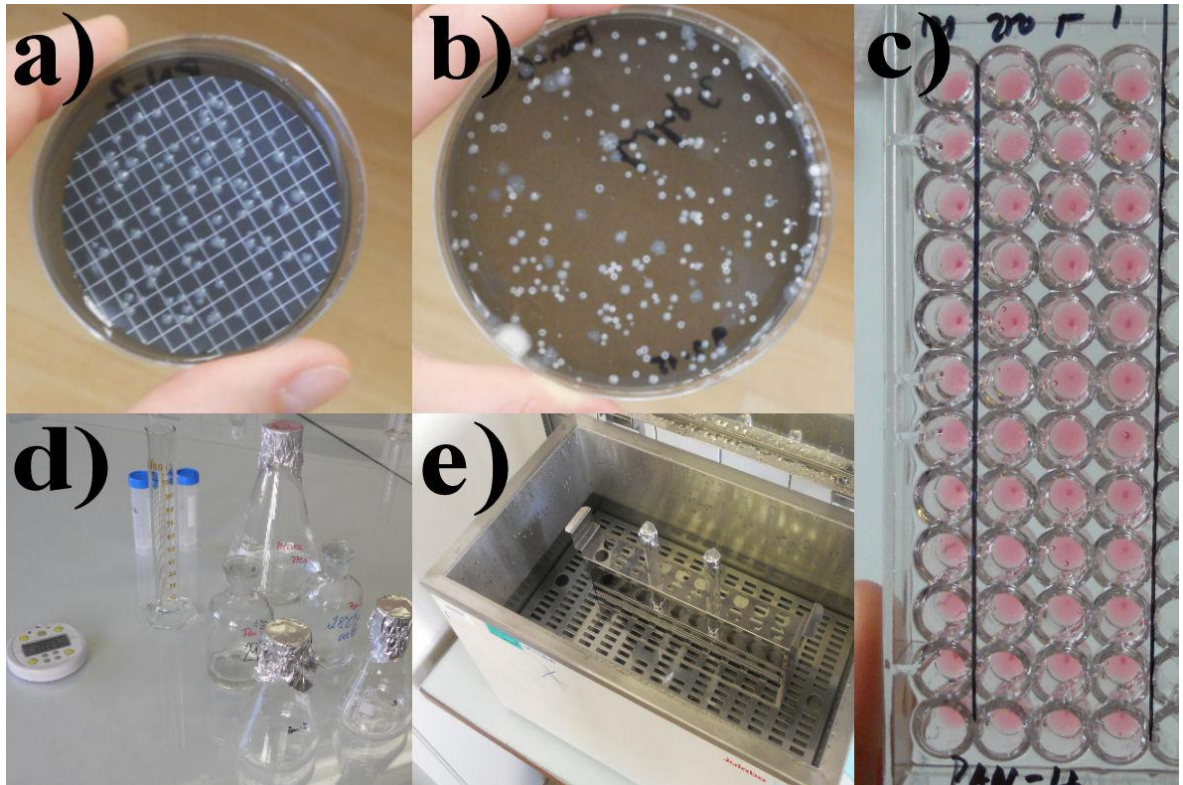
8.3 Zpracování v laboratoři

Na povrch již připravených Petriho misek s kultivačním médiem BCYE byly naočkovány vzorky vody. Byl nanesen 0,5 ml vzorku na plotnu a tekuté inokulum bylo stejnoměrně rozetřeno po povrchu. Pro každý vzorek byly dvě Petriho misky. Po vstřebání inokula do média byly misky otočeny dnem vzhůru a byly inkubovány v termostatu při 36 +/-1°C po dobu 10 dnů. Poté bylo ještě přefiltrováno 50 ml vzorku vody přes membránový filtr o porozitě 0,22 µm. Membránový filtr byl přenesen na připravenou Petriho misku a inkubován za stejných podmínek (obr. č. 7a).

Třetí den byly misky poprvé prohlédnuty a následující den byly provedeny první odečety a první izolace z jednotlivých zástupců morfologických skupin. Z každého morfotypu byly izolovány nejméně 3 typické kolonie. Posléze byly misky kontrolovány a dodatečné růsty kolonií byly připočítány k prvním odečetům (obr. č. 7b).

U vzorků odebraných z osobního vlaku Panter bylo použito kyselé promytí (obr. č. 7d) pro eliminaci doprovodné mikroflóry a bakteriálních druhů. Promytí bylo provedeno pomocí pufu HCl:KCl v poměru 1 : 1 (50 ml:50 ml). Vzorky vody byly ohřány na teplotu 50°C (obr. č. 7e) a poté smíchány s pufem v poměru 1:1, aby byl inhibován zbytek mikroflóry. Kyselé promytí bylo použito z důvodu, že většina bakterií nepřežije pH 2. Po ochlazení roztoku byl proveden stejný postup kultivace a hodnocení misek.

K potvrzení a identifikaci izolátů byl použit kvantitativní mikroaglutinační test s polyklonálními králičími séry. Test byl proveden v mikrotitrační destičce typu U. Nejprve se každý kmen testoval v sestavě sér *Legionella pneumophila* sg. 1 - 15. Při negativní reakci byl použit panel se séry *Legionella* species 1 - 48 obsahující známé druhy. Do první jamky bylo napipetováno 50 µl séra ředěného ve zkumavce 1:128 v PBS 6,4 s želatinou. Do každé další jamky bylo napipetováno o polovinu méně než do první jamky. Do každé jamky bylo přidáno 25 µl pracovního roztoku zkoumaného kmene. Mikrotitrační destička byla ponechána v plastickém sáčku při laboratorní teplotě přes noc. Ráno byla na 2 hodiny dána do lednice pro zvýraznění reakce. Poté proběhly odečety. U negativní reakce se objevil bodový knoflík na dně jamky, který stékal v šikmé poloze. Při pozitivní reakci došlo k aglutinaci (shlukování) na dně jamky (obr. č. 7c).



Obr. č. 7 a) kolonie bakterie *Legionella* na membránovém filtru, b) kolonie bakterií a plísní na Petriho misce, c) mikrotitrační destička s pozitivními i negativními reakcemi d) chemikálie a vzorky ke kyselému promytí, e) ohřev vzorků pro kyselý promytí (foto: Škrobalová)

9 Výsledky

Celkem bylo odebráno 78 vzorků vody z vlakových souprav různých dopravců - 6 vzorků odebraných z vlaků LEO Express, 8 vzorků z vlaků RegioJet a 64 vzorků z příměstských a vnitrostátních vlaků Českých drah (ČD). Po odebrání vzorků a po kultivaci bylo zjištěno 65 pozitivních vzorků (83,3%) a 13 negativních vzorků (16,7%) na výskyt bakterie *Legionella*. Nejčastěji vyskytujícím se druhem ve vzorcích vody byla *L. pneumophila* sg. 1 v počtu 40 vzorků (61,5%), kdy byla nalezena sama či v koexistenci s dalšími druhy legionely. V tabulkách níže jsou rozebrány výsledky jednotlivých železničních dopravců v České republice. Data z roku 2010 (tab. č. 10, 11 a 12) byla poskytnuta firmou VKV Praha a také byla inspirací pro další odběry a napsání této diplomové práce.

V tabulkách č. 2 a 3 jsou shrnuty výsledky železničního dopravce LEO Express jedoucí ve směru Praha - Bohumín. Přítomnost bakterie *Legionella* zde nebyla prokázána. Teplota vody byla naměřena v rozmezí 13 - 16°C, což nejsou optimální podmínky pro růst a množení bakterie.

Tab. č. 2 Nálezy legionel ve WC modulech vlaku LEO Express - odběr 7. 4. 2013, směr vlaku Praha - Bohumín

Vlak	Číslo vagónu	Teplota °C	<i>Legionella</i> KTJ/100ml*	Identifikace
LEO Express L1356	480 002-5 B	15	0	-
	480 002-5C	15	0	-
LEO Express L1353	480 002-5 D	16	0	-

*KTJ/100ml - počet kolonie tvořících jednotek vyskytujících se ve 100ml vody

Tab. č. 3 Nálezy legionel ve WC modulech vlaku LEO Express - odběr 8. 2. 2015, směr vlaku Praha - Bohumín

Vlak	Číslo vagónu	Teplota °C	<i>Legionella</i> KTJ/100ml*	Identifikace
LEO Express L1355	480 002-4 B	16	0	-
	480 002-4 C	13	0	-
	480 002-4 D	14	0	-

*KTJ/100ml - počet kolonie tvořících jednotek vyskytujících se ve 100ml vody

V tabulkách č. 4 a 5 jsou shrnuty výsledky železničního dopravce RegioJet jedoucí ve směru Havířov - Praha a Martin (SK) - Praha. Přítomnost bakterie *Legionella* byla prokázána u 7 vzorků (87,5%) z 8. Pokud se teplota vody pohybovala v optimálním rozmezí pro bakterii (tab. č. 4), bakteriální abundance dosahovaly relativně vysokých hodnot v rozmezí 140 - 5 400 KTJ/100ml. Ve vzorcích vody s teplotou až o 21°C nižší než v předcházejícím případě, byly legionely zjištěny rovněž, ale v mnohem nižších abundancích (2 - 40KTJ/100ml, tab. č. 5). Ve vzorcích obou odběrů se vyskytoval druh *L. pneumophila* sg. 1, 3 a 5, který je spojován s onemocněním člověka.

Tab. č. 4 Nálezy legionel ve WC modulech vlaku RegioJet - odběr 6. 4. 2013, směr vlaku Havířov - Praha

Vlak	Číslo vagónu	Teplota °C	<i>Legionella</i> KTJ/100ml*	Identifikace
RegioJet IC1012	18 91 000-8	29	2 000	<i>L. pneum.</i> sg. 1
	30 90 012-8	33	5 400	<i>L. pneum.</i> sg. 5
RegioJet IC1007	30 90 021-9	26	0	-
	18 91 020-6	28	140	<i>L. pneum.</i> sg. 1

*KTJ/100ml - počet kolonie tvořících jednotek vyskytujících se ve 100ml vody

Tab. č. 5 Nálezy legionel ve WC modulech vlaku RegioJet - odběr 8. 2. 2015, směr vlaku Martin (SK) - Praha

Vlak	Číslo vagónu	Teplota °C	<i>Legionella</i> KTJ/100ml*	Identifikace
RegioJet IC1006	19 90 010-7 a	11	40	<i>L. pneum.</i> sg. 3
	19 90 010-7 b	13	10	<i>L. pneum.</i> sg. 3
	30 90 037-5 a	15	6	<i>L. pneum.</i> sg. 3
	30 90 037-5 b	15	2	<i>L. pneum.</i> sg. 3

*KTJ/100ml - počet kolonie tvořících jednotek vyskytujících se ve 100ml vody

V tabulkách č. 6 až 11 jsou shrnuty výsledky železničního dopravce České dráhy (ČD). Vzorke vody byly odebrány jak z příměstských vlaků (tab. č. 6 až 9), tak z vlaků vnitrostátních (tab. č. 10 a 11). Přítomnost bakterie *Legionella* byla prokázána u 58 vzorků (90,6%) z 64. Téměř ve všech odebraných vzorcích se teplota vody pohybovala v optimálních podmínkách pro bakterii. Ve vzorcích se objevily druhy (např. *L. anisa*, *L. erythra*, *L. feeleii*, *L. pneumophila*) spojované s onemocněním člověka, ale také druhy neškodné pro člověka (např. *L. brunensis*, *L. geestiana*, *L. rubrilucens*, *L. worsleiensis*). Po laboratorním zpracování byl nalezen kmen, který se po sekvenaci genu *mip* ukázal jako druh nový pro vědu (viz. tab. č. 9 - č. vlaku 914 029).

V tabulce č. 6 jsou shrnuty výsledky z příměstských vlaků Panter jedoucích v okolí Brna a Prostějova. Přítomnost bakterie byla prokázána ve všech analyzovaných vzorcích v rozsahu od 16 - 3 200 KTJ/100ml. Teplota vody dosahovala optimální teploty v rozmezí 25 - 29°C. Ve vzorcích byla nalezena *L. anisa* a *L. pneumophila* sg. 1 a 6, které jsou obě spojované s onemocněním člověka.

Tab. č. 6 Nálezy legionel ve WC modulech vlaku ČD - Panter - odběr 8. 2. 2015, směr vlaku Brno - Březová nad Svitavou *), Brno - Letovice **), Prostějov - Šumperk ***)

Vlak	Číslo vagónu	Teplota °C	<i>Legionella</i> KTJ/100ml*	Identifikace
Os 4716 *)	640 005-5	25	3 200	<i>L. pneum.</i> sg. 1 <i>L. pneum.</i> sg. 6
	642 005-3	29	400	<i>L. pneum.</i> sg. 1 <i>L. pneum.</i> sg. 6
Os 4720 *)	642 004-6	28	90	<i>L. pneum.</i> sg. 1 <i>L. pneum.</i> sg. 6
	640 004-8	27	100	<i>L. anisa</i>
Os 4723 **)	650 006-0	27	88	<i>L. pneum.</i> sg. 1 <i>L. pneum.</i> sg. 6
	650 005-2	26	500	<i>L. pneum.</i> sg. 1 <i>L. pneum.</i> sg. 6
Os 3732 ***)	640 002-2	21	16	<i>L. pneum.</i> sg. 1 <i>L. pneum.</i> sg. 6
	642 002-0	26	32	<i>L. pneum.</i> sg. 1 <i>L. pneum.</i> sg. 6

*KTJ/100ml - počet kolonie tvořících jednotek vyskytujících se ve 100ml vody

V tabulce č. 7 jsou shrnuty výsledky příměstských vlaků City Elefant ze směru Opava - Český Těšín a zpět. Přítomnost bakterie byla prokázána v 6 analyzovaných vzorcích v rozsahu 2 - 500 KTJ/100ml. Teplota vody (18 - 35°C) se ve většině případů

vyskytovala v optimálním rozmezí. Ve vzorcích byla nalezena *L. anisa* a *L. pneumophila* sg. 1, které jsou obě spojované s onemocněním člověka.

Tab. č. 7 Nálezy legionel ve WC modulech vlaku ČD - City Elefant - odběr 12. 8. 2012, směr vlaku Opava-Český Těšín

Vlak	Číslo vagónu	Teplota °C	<i>Legionella</i> KTJ/100ml*	Identifikace
Os S1	471 024-0	35	500	<i>L. pneum.</i> sg. 1
	071 024-4	20	25	<i>L. pneum.</i> sg. 1 <i>L. anisa</i>
Os S1	071 054-1	18	0	-
	471 035-6	32	54	<i>L. pneum.</i> sg. 1 <i>L. pneum.</i> sg. 6
Os S1	471 057-0	31	2	<i>L. pneum.</i> sg. 1
	971 035-1	25	0	-
Sp R1	971 054-2	24	0	-
	071 057-4	28	20	<i>L. anisa</i>

*KTJ/100ml - počet kolonie tvořících jednotek vyskytujících se ve 100ml vody

V tabulce č. 8 jsou shrnuty výsledky z příměstských vlaků Regionova ze směru Olomouc - Drahanovice a Nový Jičín - Suchdol nad Odrou. Přítomnost bakterie byla prokázána v obou analyzovaných vzorcích v rozsahu 170 - 30 000 KTJ/100ml. Teplota vody byla optimální rozmezí. Ve vzorcích byla nalezena *L. pneumophila* sg. 1 spojovaná s onemocněním člověka.

Tab. č. 8 Nálezy legionel ve WC modulech vlaku ČD - Regionova - odběr 8. 2. 2015, směr vlaku Olomouc - Drahanovice *), Nový Jičín - Suchdol nad Odrou **)

Vlak	Číslo vagónu	Teplota °C	<i>Legionella</i> KTJ/100ml*	Identifikace
Os 14017 *)	914 094	33	30 000	<i>L. pneum.</i> sg. 1
Os 13363 **)	914 020	22	170	<i>L. pneum.</i> sg. 1

*KTJ/100ml - počet kolonie tvořících jednotek vyskytujících se ve 100ml vody

V tabulce č. 9 jsou shrnuty výsledky příměstských vlaků odstavených v železničních depech po celé Moravě. Přítomnost bakterie rodu *Legionella* byla prokázána ve všech analyzovaných vzorcích v rozsahu 6 - 24 000KTJ/100ml. Teplota vody (19 - 29°C) se ve většině případů vyskytovala v optimálním rozmezí. Ve vzorcích byly nalezeny duhy bakterie spojované s onemocněním člověka - *L. anisa*, *L. erythra*, *L. feeleii* a *L. pneumophila* sg. 1, 3 a 12. V této analyzované skupině vzorků byl také nalezen nový druh rodu bakterie *Legionella*, který čeká na své popsání.

Tab. č. 9 Nálezy legionel ve WC modulech vlaku ČD - odběry v příměstských vlacích provedených v depech (14. 7. 2010 *), 26. 8. 2010 **), 8. 8. 2010 ***)

Depo	Číslo vlaku	Teplota °C	Legionella KTJ/100ml*	Identifikace
Valašské Meziříčí *)	914 118	27	4 900	<i>L. pneum.</i> sg. 3 <i>L. erythra</i>
	914 091	28	1 200	<i>L. anisa</i>
Suchdol nad Odrou *)	914 021	29	1 800	<i>L. pneum.</i> sg. 1 Pont.
Otrokovice **)	914 003	26	24 000	<i>L. pneum.</i> sg. 1 Pont. <i>L. pneum.</i> sg. 1 OLDA <i>L. rubrilucens</i>
	914 052	19	600	<i>L. worsleiensis</i>
	914 029	26	4 000	<i>L. pneum.</i> sg. 12 <i>L. spec. novs</i>
Veselí nad Moravou **)	914 013	21	6	<i>L. pneum.</i> sg. 1 <i>L. anisa</i>
Olomouc **)	954 218	28	400	<i>L. pneum.</i> sg. 3
Bohumín ***)	460 007	19	200	<i>L. pneum.</i> sg. 1 <i>L. anisa</i> <i>L. feeleii</i>
	471 057 a	24	12 000	<i>L. pneum.</i> sg. 12 <i>L. brunensis</i> sg. 2
	471 057 b	21	500	<i>L. pneum.</i> sg. 12 <i>L. brunensis</i> sg. 2

*KTJ/100ml - počet kolonie tvořících jednotek vyskytujících se ve 100ml vody

V tabulce č. 10 jsou shrnuty výsledky odebrané ze dvou rychlíků jedoucích ve směru Bohumín - Brno. Přítomnost bakterie byla prokázána v 5 analyzovaných vzorcích v rozsahu 20 - 1 500 KTJ/100ml. Teplota vody (17 - 38°C) se ve většině případů vyskytovala v optimálním rozmezí. Ve vzorcích byla nalezena *L. anisa*, která je spojována s onemocněním u člověka.

Tab. č. 10 Nálezy legionel ve WC modulech vlaku ČD - Rychlík - odběr 15. 10. 2010 směr vlaku Bohumín - Brno

Vlak	Číslo vagónu	Teplota °C	<i>Legionella</i> KTJ/100ml*	Identifikace
R 741	41 848-2	28	500	<i>L. brunensis</i> sg. 2
	41 897-9	38	80	<i>L. brunensis</i> sg. 2
	41 262-7	26	1 500	<i>L. brunensis</i> sg. 2
	38 014-0 I. tř.	17	0	-
R 734	38 016-5 I. tř.	17	0	-
	70 063-7	24	20	<i>L. brunensis</i> sg. 2 <i>L. anisa</i>
	38 120-2	29	1 500	<i>L. brunensis</i> sg. 2
	41 854-0	30	0	-

*KTJ/100ml - počet kolonie tvořících jednotek vyskytujících se ve 100ml vody

V tabulce č. 11 jsou shrnuty výsledky odebrané ze 4 vlakových souprav SC Pendolino jedoucích ve směru Praha - Bohumín. Přítomnost bakterie byla prokázána ve všech vagonech jednotlivých souprav v rozsahu 14 - 6 300KTJ/100ml. Teplota vody (17 - 34°C) se ve většině souprav vyskytovala v optimálním rozmezí. Ve vzorcích byla nalezena *L. anisa* a *L. pneumophila* sg. 1, 5 a 6, které jsou obě spojované s onemocněním člověka.

Tab. č. 11 Nálezy legionel ve WC modulech vlaku ČD - SC Pendolino - odběr 7. 12. 2010 směr vlaku Praha - Bohumín

Vlak	Počet vagónů	Teplota °C	<i>Legionella</i> KTJ/100ml*	Identifikace
SC - 1	7	22 - 29	40 - 6 300	<i>L. pneum.</i> sg. 1 - všude <i>L. anisa</i> <i>L. pneum.</i> sg. 5
SC - 2	9	17 - 34	14 - 2 800	<i>L. pneum.</i> sg. 1 - všude <i>L. anisa</i>
SC - 3	4	17 - 31	22 - 2 900	<i>L. pneum.</i> sg. 1 - všude <i>L. pneum.</i> sg. 6
SC - 4	7	17 - 28	210 - 4 800	<i>L. pneum.</i> sg. 5 - všude

*KTJ/100ml - počet kolonie tvořících jednotek vyskytujících se ve 100ml vody

V tabulce č. 12 jsou shrnuty výsledky odebrané z nádrží, které jsou využívány k plnění vodojemů vlaků. Ve vodě přítomnost bakterie nebyla prokázána. Teplota vody (8 - 27°C) byla vesměs podprůměrnou pro růst a množení bakterie. Ze stěrů, které byly provedeny u plnicích hadic, byly dva pozitivní na nález bakterie. Ze vzorků byly identifikovány *L. anisa*, *L. pneumophila* sg. 3, 4, 6 a 12, které jsou spojovány s onemocněním člověka a *L. geestiana*, která není spojena s onemocněním člověka.

Tab. č. 12 Nálezy legionel odebraných z dep (14. 7. 2010 *), 26. 8. 2010 **), 8. 8. 2010 ***)

Depo	Teplota °C	<i>Legionella</i> KTJ/100ml*	Stěry z plnicí hadice	Identifikace
Valašské Meziříčí *)	27	0	negativní	-
Suchdol nad Odrou *)	23	0	negativní	-
Otrokovice **)	17	0	pozitivní	<i>L. pneum.</i> sg. 4 <i>L. pneum.</i> sg. 6 <i>L. anisa</i> <i>L. geestiana</i>
Veselí nad Moravou **)	17	0	negativní	-
Olomouc **)	18	0	negativní	-
Bohumín ***)	8	0	pozitivní	<i>L. pneum.</i> sg. 3 <i>L. pneum.</i> sg. 12

*KTJ/100ml - počet kolonie tvořících jednotek vyskytujících se ve 100ml vody

10 Diskuze

Souhrn výsledků

V experimentální části této diplomové práce byl prokázán výskyt bakterie *Legionella* v systému vodního hospodářství vlakových jednotek. Výsledky byly porovnány s italskou studií Quaranta et al. (2012), u které byl také prokázán výskyt bakterie v systémech vodního hospodářství vlakových souprav. Ve studii pracovali s 636 pozitivními vzorky odebranými z toalet, což bylo 58% z celkového počtu odebraných vzorků. Nejčastěji vyskytujícím se druhem byla *Legionella pneumophila* sg. 1, která tvořila 62% z celkového počtu pozitivních vzorků, a která způsobuje až 90% všech onemocnění legionelózou.

Z výsledků této práce vyplývá, že 83,3% vzorků bylo pozitivních na bakterii *Legionella* sp. V 61,5% byla přítomna *L. pneumophila* sg. 1, která je univerzálním patogenem napříč Evropy. Přestože v ČR nebyla zatím prokázána souvislost nakažení mezi člověkem a legionelou pocházející z vody vlaku, je zde potencionální riziko nákazy. Zde vyvstává otázka, zdali je možné snížit výskyt či eliminovat bakterii v systému vodovodního hospodářství vlakových vozidel, nebo najít alespoň návrhy a opatření, které by pomohly.

Analýza u šesti odebraných vzorků z vlaku LEO Express byla negativní. Odběr z roku 2013 by se dal odůvodnit tím, že vlaky byly nové a teprve se u nás zaváděly i tím, že teplota vody neměla teplotu, kterou doporučuje norma UIC 563. Odběr z roku 2015 lze odůvodnit pouze nízkou teplotou vody. Ostatní odebrané vzorky vody u dvou dalších dopravců (RegioJet a ČD) byly téměř všechny pozitivní a vykazovaly nález na bakterii.

Důvodem, proč se liší jednotlivé odběry vody na počty legionel KTJ ve 100ml, není pouze teplota. Ta samozřejmě hraje důležitou roli při množení a růstu bakterií, ale nedá se říci, že s větší teplotou poroste i počet kolonií. Faktorem, který může také ovlivňovat počet legionel, je dezinfekce a časté doplňování vody. Pokud dochází k doplňování vody každý den, dochází k míchání vody a to pro volně se pohybující bakterie není příznivé. Mohou se tedy penetrovat do biofilmu. Poté je při odběrech vody standardním způsobem nemusíme nalézt. Dezinfekce může také způsobovat snížené počty či vymizení legionel. Bohužel dezinfekce na bázi chloru nemá vliv na biofilm (HSE, 2014). Může tedy dojít k uvolnění

bakterie z biofilmu a následné kontaminaci pitné vody ve vodojemu dopuštěné z vodovodního řádu v depech.

Podle vyhlášky 252/2004 Sb., která stanovuje hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody, je mezní hodnota pro bakterie *Legionella* stanovena na hodnotě 100KTJ/100ml. Podle výsledků, kde bylo zjištěno 65 pozitivních vzorků, tuto hodnotu přesáhlo 42 vzorků (64,6%). U těchto vzorků jsou hodnoty větší až 300krát. Je tedy otázkou, zda dochází k pravidelnému čištění 1krát za 3 měsíce, jak stanovuje Směrnice ředitele O12 č. 4: Čištění a dezinfekce nádrží na pitnou vodu v jídelních a lůžkových vozech.

Ve více jak 50% odebraných pozitivních vzorků byly nalezeny dva a více druhy legionel. Za prvé to může být výsledek již kontaminované hadice vodovodního řádu či samotné vody. Za druhé to může být způsobeno plněním vodojemů v různých depech. Podle tab. č. 12 můžeme teoreticky stanovit, kde došlo k plnění vody do vodojemů v námi odebraných vlacích. V depu Bohumín byla nalezena *L. pneumophila* sg. 3 a 12. Lze předpokládat, že zde byla plněna vlaková souprava RegioJet (tab. č. 5) i vlaková souprava ČD (tab. č.9). V depu Otrokovice byla nalezena *L. anisa* a *L. pneumophila* sg. 4 a 6. Můžeme tedy odhadovat, že vlaky ČD - Panter (tab. č. 6) zde byly doplněny vodou, než se vydaly na trasu v okolí Brna.

V tabulce č. 9 - číslo vlaku 914 029 - byl objeven nový druh legionely. Tento druh byl na základě sekvence genu *mip* potvrzen jako zcela nový. K popisu nového druhu legionely jsou ale přísná pravidla. Je potřeba mít alespoň dva izoláty z různých prostředí a vybavenou laboratoř k fenotypové a genotypové analýze, kterou NRL pro legionely nemá. Následujícím popisem a analýzou nového druhu by se dále mohla zabývat výzkumná centra.

Legislativa

Zatím nebyly publikovány práce, které by dokázaly přímou návaznost legionelózy vzhledem k cestě vlakem, i když určité podezření se objevilo i v ČR. V návaznosti na to neexistuje žádná legislativa, která by ošetřovala hygienické požadavky. Proto nedochází ke kontrolám a čištění systémů vodního hospodářství vlakových souprav, které zásobují veškeré toalety vodou. Jedinou normou, kterou by se železniční dopravci měli řídit, je mezinárodní norma UIC 563. Požadavky na pitnou vodu doplňovanou do vodojemů nejsou

vyžadovány, pouze v restauračních vozech. Proto záleží na každé vozovně a stanici, jak doplňuje vodu do vodojemů a za jakých podmínek vodu uchovává pro následující použití. Provozovatelé železničních vozidel by si měli uvědomit, že nehrozí riziko nákazy pouze cestujícím, ale také jejich zaměstnancům a že je jejich morální povinností dbát na jejich zdraví.

Ve Velké Británii byl zahájen výzkum na zjištění, jaké riziko hrozí, je-li nalezena bakterie *Legionella* ve vlaku s nepitnou vodou. Studie došla k závěrům, že je potřeba snížit její vysoké koncentrace ve vodě a proto se přiklonili k doporučením z HSE publikace a dokumentů L8 a HGS274.

Nápravná opatření

Nejčastěji používanými metodami k dezinfekci systémů jsou chemické prostředky na bázi chlóru. Chlornany je vhodné použít při vysokých koncentracích bakterie a zajistit tak kontinuální pokles na nižší hodnoty. Oxid chloričitý neboli chlórdioxid je účinný při dezinfekci vody. Působí nejen na volně se vyskytující legionely, ale má také vynikající penetraci do biofilmů. Další výhodou jsou menší korozivní účinky než při dávkování chlórem (Srinivasan et al., 2003). Problematické by bylo dávkování v tak malém rozsahu. Monochloramin se také využívá jako dezinfekční prostředek v úpravách teplé vody. Ve vlacích však není použitelný. Účinným dezinfekčním prostředkem je také peroxid vodíku. Bohužel látka špatně proniká do biofilmů, pokud vůbec. Je ale méně korozivní, nehrozí nebezpečí požití, nezapáchá. Nevýhodou této dezinfekce je nestabilita látky (ATOC, 2014).

Vhodnou metodou by bylo využití membránových filtrů s porozitou 0,2 μ m. Nevýhodou je krátká životnost filtrů, tzn. častá výměna, a finanční náročnost (Vonberg et al., 2008). Dalšími metodami dezinfekce by mohla být dezinfekce ultrafialovým světlem, která není dobrou volbou u malých vodovodních systémů a nepatří mezi levné. Tepelná dezinfekce není praktická pro studené vodní systémy, které se nacházejí ve vlacích.

Snížení počtu legionel v systému vodního hospodářství by bylo možné dosáhnout nárazovým či periodickým propláchnutím vodou s teplotou přes 70°C (Tablan et al., 2003), pokud by to materiály a technologie dovolily. Sanovat by se také dalo nárazovým přechlorováním nebo propařením systému.

11 Závěr

Tato diplomová práce se zabývala tématem výskytu bakterie *Legionella* v systémech vodního hospodářství železničních vozidel. Cílem práce bylo shrnout dostupné znalosti o bakterii *Legionella* a seznámit se s fungováním systému vodního hospodářství ve vlakových jednotkách a zjištění možných rizik, které bakterie představuje v těchto systémech.

V praktické části práce byla vypracována metodika experimentu a rozbor výsledků. Ve skupině analyzovaných vzorků bylo nalezeno 9 druhů bakterie *Legionella*, z toho jeden druh byl dosud nepopsán. Nejčastěji byla zastoupena *L. pneumophila* sg. 1, která představuje největší riziko nákazy pro člověka. Dalšími nalezenými druhy spojovanými s onemocněním člověka byly např. *L. anisa* či *L. erythra*. Výsledky byly dále rozebrány v diskuzi. Všechny druhy legionely byly nalezeny ve veřejně dostupných železničních vozidlech. Dodnes nebyla sepsána žádná legislativa, která by udávala, jak ošetřovat vodu ve vodojemech železničních vozidel a jak zamezit přítomnosti mikroorganismům. Proto byla také navržena možná prozatímní řešení vedoucí ke snížení počtu bakterie a potenciálního rizika ve vlakových soupravách.

12 Literatura

ATOC/GN013 (2014): ATOC Guidance Note - Control of risk posed by the presence of Legionella Bacteria in on-train non-potable water systems, s. 1-23. Dostupné z: <http://www.rssb.co.uk/rgs/oodocs/ATOCGN013%20Iss%202.pdf>, naposledy navštíveno: 1. 5. 2016

Bartram J., Chartier Y., Lee J., Bond K., Surman-Lee S. (2007): Legionella and the Prevention of Legionellosis. Geneva, Switzerland: World Health Organization Press, c2007, xxiv, 252 p. ISBN 9241562978. Dostupné z: http://www.who.int/water_sanitation_health/emerging/legionella.pdf, naposledy navštíveno: 1. 5. 2016

Botzenhart, K., Bartram J., Butler J. a Havelaar A. H. (2003): Legionella, s. 1-22. Dostupné z: http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/en/admicrob4.pdf, naposledy navštíveno: 1. 5. 2016

ČD PN 28 0091 (2011): Vnitřní označení osobních a motorových vozů a elektrických a motorových jednotek, Technické normy a předpisy ČD

Drašar V., Mentasti M., Palepou Ch., Polcar R., Buchtová H. (2010): Současné trendy v průkazu zdroje nálezů z vody – panelákové a lázeňské legionelózy. In: Sborník konference Pitná voda 2010. W&ET Team, České Budějovice, s. 75-76. ISBN 978-80-254-6854-8.

Dufka J. (2016): Zařizovací předměty v mobilních prostředcích. Topení, instalatérství, 2016/1 s. 62 - 69.

Fields B. S. (1993): Legionella and protozoa: interaction of a pathogen and its natural host. Washington, DC, American Society for Microbiology: 129–136.

Fields B. S., Benson R. F., Besser R. E. (2002): Legionella and Legionnaires' disease: 25 years of investigation. Clin Microbiol Rev 15: s. 506-526.

Fraser D. W., Tsai T. R., Orenstein W., Parkin W. E., Beecham H. J., Sharrar R. G., Harris J., Mallison S. M., Martin S. M., McDade J. E., Shepard C. C., Brachman P. S. (1977): Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia. N Engl J Med 297: s. 1189-1197.

Gardner B. (2012). Legionnaires bug lurking in a third of train loos. Dostupné z: http://www.theargus.co.uk/news/10067438.Legionnaires_bug_lurking_in_a_third_of_train_loos/, navštíveno naposledy: 1. 5. 2016

Gast R. J., Moran D. M., Dennett M. R., Wurtsbaugh W. A., Amaral-Zettler L. A. (2011): Amoebae and Legionella pneumophila in saline environments. J Water Health, 9(1): s. 37-52.

Glick T. H., Gregg M. B., Berman B., Mallison G., Rhodes JR. W. W., Kassanoff I. (1978): Pontiac Fever - An epidemic of unknown etiology in a health department: I. Clinical and epidemiological aspects. Am. J. Epidemiol., s. 149-160.

Gutiérrez F., Masiá M., Mirete C., Soldán B., Rodríguez J. C., Padilla S., Hernández I., Royo G., Martín-Hidalgo A. (2006): The influence of age and tender on the population-based incidence of community-acquired pneumonia caused by different microbial pathogens. Journal of Infection, s. 166 - 174.

Hosein I. K., Hill D. W., Tan T. Y., Butchart E. G., Wilson K., Finlay, G. Burge S., Ribeiro C. D. (2005): Point-of-care controls for nosocomial legionellosis combined with chlorine dioxide potable water decontamination: a two-year survey at a Welsh teaching hospital. Journal of Hospital Infection, s. 100 – 106.

Huang S. W., Hsu B. M., Wu S. F., Fan Ch. W., Shih F. Ch., Ji D. D. (2010): Water quality parameters associated with prevalence of Legionella in hot spring facility water bodies. Water Research., vol. 44, issue 16, s. 4805-4811.

HSE publication (2013): L8 - Legionnaire`s disease - The control of legionella bacteria in water systems Approved Code of Practise and guidance on regulations, s. 1 - 57, dostupné z: <http://www.hse.gov.uk/pubns/priced/l8.pdf>, naposledy navštíveno: 1. 5. 2016

HSE publication (2014): HSG274 Legionnaire`s disease Technical Guide Part2: The control of legionella bacteria in hot and cold water systém, s. 1 - 65, dostupné z: <http://www.hse.gov.uk/pubns/priced/hsg274part2.pdf>, naposledy navštíveno: 1. 5. 2016

Chalupa P. (2000): Legionelóza se šíří hlavně vzdušnou cestou. Dostupné z: <http://zdravi.e15.cz/clanek/priloha-lekarske-listy/legioneloz-a-se-siri-hlavne-vzdušnou-cestou-128591>, naposledy navštíveno: 1. 5. 2016

Joseph C. (2009): Legionnaires' disease in Europe 1995 - 2008: Trends and Challenges. In: Abstract book. The 7th International Conference Legionella 2009. Paris, France: Institute Pasteur, s. 4.

Kvášová S. (2000): Věstník Ministerstva zdravotnictví České republiky 1/2000. Dostupné z: http://www.mzcr.cz/Legislativa/dokumenty/vestnik_3597_1769_11.html, naposledy navštíveno: 1. 5. 2016

Lau H. Y., Ashbolt N. J. (2009): The role of biofilms and protozoa in Legionella pathogenesis: implications for drinking water. J Appl. Microbiol. 107(2), s. 368-378.

Levin A.S. (2009): Nosocomial legionellosis: preventiv and management. Expert Rev Anti Infect Ther, 7, s. 57-68.

Macela A., Stulík J., Trebichavský I., Kroča M., Janovská S. (2006): Infekční choroby a intracelulární parazitizmus bakterií. Praha: Grada, ISBN: 8024706644.

Miskowski D. (2007): An overview of Legionella Analyses. Dostupné z: www.legionellatesting.com/legionella-article.html, naposledy navštíveno: 1. 5. 2016

Mudroch, D. R. (2003): Diagnosis of Legionella infection. Medical Mikrobiology 36: s. 64-69.

Newton H. J., Ang D. K. Y., van Driel I. R., Hartland E. L. (2010). Molecular pathogenesis of infection cause by Legionella pneumophila. Clin Mikrobiol Rev Vol 23(2), s. 274-298.

Ohno A., Kato N., Yamada K., Yamaguchi K. (2003): Factors Influencing Survival of Legionella pneumophila Serotype 1 in Hot Spring Water and Tap Water. Applied and Environmental Microbiology, 69 (5), s. 2540 – 2547.

Pagnier I., Boughalmi M., Croce O., Robert C., Raoult D., La Scole B. (2012): Genome Sequence of Legionella tunisiensis Strain LegM^T, a New Legionella Species Isolated from Hypersaline Lake Water. J. Bacteriol. vol. 194 no. 21, s. 59 -78.

Petrovová M. (2010): Legionely a legionářská nemoc. Causa subita, časopis pro lékaře v praxi, Praha: International medical publications, roč. 13, č. 5, s. 216-219. ISSN 1212-0197.

Pond K. (2005): Water recreation and disease: plausibility of associated infections : acute effects, sequelae, and mortality. Seattle: published on behalf of the World Health Organization by IWA Publishing, s. 76-92.

Quaranta G., Vincenti S., Ferriero A. M., Boninti F., Turnaturi C., Gliubizzi M. D., Munafó E., Ceccarelli G., Causarano C., Accorsi M., Del Nord P., Ricciardi W., Laurenti P. (2012): Legionella on board trans: effectiveness of environmental surveillance and decontamination. BMC Public Health, 12:618. doi: 10.1186/1471-2458-12-618.

Rulík M., Holá V., Růžička F., Votava M., Baudišová D., Gallo J., Kaprálová S., Kohušová K., Koukalová D., Kúdela V., Mikeš J., Novotný R., Siglová M., Toršová V., Zimák J. (2011): Mikrobiální biofilmy. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, s. 447, ISBN: 978-80-2442-747-8.

Skříčková J. (2010): Komunitní pneumonie v intenzivní medicíně. Dostupné z: <http://zdravi.e15.cz/clanek/postgradualni-medicina/komunitni-pneumonie-v-intenzivni-medicine-455587>, naposledy navštíveno: 1. 5. 2016

Srinivasan A., Bova G., Ross T., Mackie K., Paquette N., Merz W., Perl T. M. (2003): A 17 Month Evaluation of a Chlorine Dioxide Water Treatment System to Control Legionella Species in a Hospital Water Supply. Inf. Control. Hosp. Epidemiol., s. 575–579

Steinert M., Hentschel U., Hacker J. (2002): Legionella pneumophila: an aquatic microbe goes astray. FEMS microbiology reviews. Amsterdam: Elsevier, vol. 26, no. 2, s. 149-162.

Stout, J. E. and Yu, V. L. (1997): Legionellosis. N Engl J Med 337: s. 682-687.

Škroblová P. (2013): Zdravotní riziko legionel ve vlcích a jeho hodnocení. Olomouc, bakalářská práce (Bc.). Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta.

Tablan O. C., Anderson L. J., Besser R., Briges C., Hajjeh R. (2003): Guidelines for preventing healthcare-associated pneumonia, MMWR, 53.RR-3: s. 1-36.

Tossa P., Deloge-Abarkan M., Zmirou-Navier D., Hartemann P., Mathieu L. (2006): Pontiac fever: an operational definition for epidemiological studies. BMC Public Health, 6: 112.

Úřední věstník Evropské unie (2014): NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) č. 1299/2014 ze dne 18. listopadu 2014 o technických specifikacích pro interoperabilitu subsystému infrastruktura železničního systému v Evropské unii, L 356/1, dostupné z: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/HTML/?uri=CELEX:32014R1299&from=CS>, naposledy navštíveno: 1. 5. 2016

Úřední věstník Evropské unie (2014): NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) č. 1302/2014 ze dne 18. listopadu 2014 o technické specifikaci pro interoperabilitu subsystému kolejová vozidla – lokomotivy a kolejová vozidla pro přepravu osob železničního systému v Evropské unii, L 356/288, dostupné z: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/HTML/?uri=CELEX:32014R1302&from=CS>, naposledy navštíveno: 1. 5. 2016

Vonberg RP, Sohr D, Bruderek J, Gastmeier P. (2008). Impact of a silver layer on the membrane of tap water filters on the microbiological quality of filtered water. *BMC Infect Dis*; 8: 133.

Woods M. (2012): Identification and analysis of risks posed by Legionella bacteria in on-train non-potable water systems. s. 1-44.

13 Přílohy

Příloha č. 1 Protokol o odběru vzorků vody na legionely

Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě

Národní referenční laboratoř pro legionely

Zkušební laboratoř akreditovaná ČIA pod č.1393

Masarykovo nám. 16
CZ – 682 01 Vyškov

Tel: 517 333401 Fax: 517 347288
e-mail: vladimir.drasar@zu.cz

Protokol o odběru vzorků vody na legionely č. / 201

Zákazník :

Odběrové místo :

Důvod :

Datum

Měření teploty

v proudu vody sondou

Hodina odběru

Teploměr

Transportní teplota **BCH**

Způsob vzorkování

podle EU Guidelines, 2005

SOP VZ OV 009 (ČSN EN ISO 5667-1, 3, ČSN ISO 5667-14, ČSN ISO 11731, ČSN 060320)

Doručeno

Č.vz	Prot.č.	Místo odběru - označení vzorku	° C	Poznámka
Doplňkové údaje :				
Zákazník :		Vzorky odebral :		

Použité zkratky : TT - termotaška s chladičnými vložkami BCH - bez chlazení