

PSEUDOMONAS AERUGINOSA IN NATURAL POOLS

Causes, measures, relevance, test procedures and limits



POLYPLAN GmbH 29 years of water

>> LAKES AND URBAN WATERS – Design and Monitoring



>> NATURAL POOLS – Design and Monitoring



>> RESEARCH AND DEVELOPMENT



>> SHRIMP FARMING WITH BIOL. WATERTREATMENT



>> TECHNICAL BUILDING EQUIPMENT



ARCHIV DES BADEWESENS



04/07

Pseudomonas aeruginosa in Naturfreibädern

Broschen, Maßnahmen, Referenz, Testverfahren und Grenzwerte

Ulrich Grottel und Ulrike Bress, (Hilgen Grottel) Bremen

Seit über zehn Jahren stellen die Indikatorparameter *Pseudomonas aeruginosa* (E. coli) bei der Überwachung der Wasserqualität in Naturfreibädern Anlass zu Diskussionen und Kontroversen. Hierbei geht es um mögliche Ursachen und Maßnahmen, die Bewertung der Relevanz des Risikos, die Validität der Messverfahren und nicht zuletzt um die Ermittlung und Festlegung von Grenzwerten.

Im Folgenden wird der aktuelle Stand dieser Diskussionen zusammengefasst

und es wird die Frage aufgeworfen, ob der aktuell in Deutschland gültige Grenzwert von 10 KBE/100 ml tatsächlich noch akzeptiert werden sollte.

Für die hygienische Überwachung von Naturfreibädern werden gemäß der gültigen Empfehlung des Umweltbundesamtes (UBA) [1] auf der aktuellen Richtlinie zum Bau und Betrieb von Naturfreibädern [2] drei Indikatorparameter herangezogen: *Escherichia coli* (E. coli), *Intestinale Enterokokken* und *Pseudomonas aeruginosa* (E. coli).

(E. coli, *Intestinale Enterokokken* und *Pseudomonas aeruginosa* (E. coli).

Für die Indikatorparameter E. coli und *Intestinale Enterokokken* liefern die gültigen Messverfahren [3] verlässliche Ergebnisse. Die Ursachen im Falle einer Überschreitung liegen nicht in der Praxis sondern leicht kontrollierbar und entsprechend können zielgerichtet Maßnahmen durchgeführt werden. Aus diesen Gründen wird aktuell die Grenzwerte relativ eng gefasst sind (E. coli: ≤ 100 KBE/100 ml; *Intestinale Enterokokken*: ≤ 10 KBE/100 ml), können es im Bereich von Naturfreibädern nicht aufrechterhalten werden.

Eine Analyse der Daten von 41 Bädern von der Bundesarchiv Naturfreibäder (BA) von den Jahren 2005 bis 2013 (siehe Abbildung 1) ergibt eine Überschreitungsfähigkeit im Beckenwasser für E. coli von 3,54 % und für *Intestinale Enterokokken* von 2,00 %. Im Beckenwasser kam es bei E. coli in 1,68 % der Messungen zu Überschreitungen und bei den *Intestinale Enterokokken* bei 1,56 %.

Für P. aeruginosa liegen keine Messverfahren vor. Die Ursachen sind schwer zu ermitteln und die Maßnahmen in der Praxis entsprechend beschränkt. Zusätzlich existieren

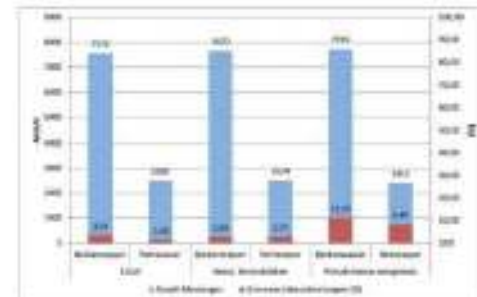


Abbildung 1: Anzahl der Überschreitungen (Überschreitungen) der Indikatorparameter E. coli, *Intestinale Enterokokken* und *Pseudomonas aeruginosa* in 41 Naturfreibädern von 2005 bis 2013.

TOPICS

1. CHARACTERISTICS
2. HYGIENIC RELEVANCE
3. LIMITS
4. MEASURING METHODS
5. ENTRY SOURCES AND MEASURES
6. DANA EVALUATION: PSEUDOMONAS AERUGINOSA
7. CONCLUSION



1. CHARACTERISTICS

>> Rod bacteria

>> occurs ubiquitously in **surface water**, in **ground water**, in **soil** and on **plants**

>> Optimal growth temperature: **15–30 °C**

>> It is considered a so-called "puddle bacteria" because it is often found in small remnants of **stagnant water**

>> Has the ability to form **biofilms** and can multiply in **very clean water**



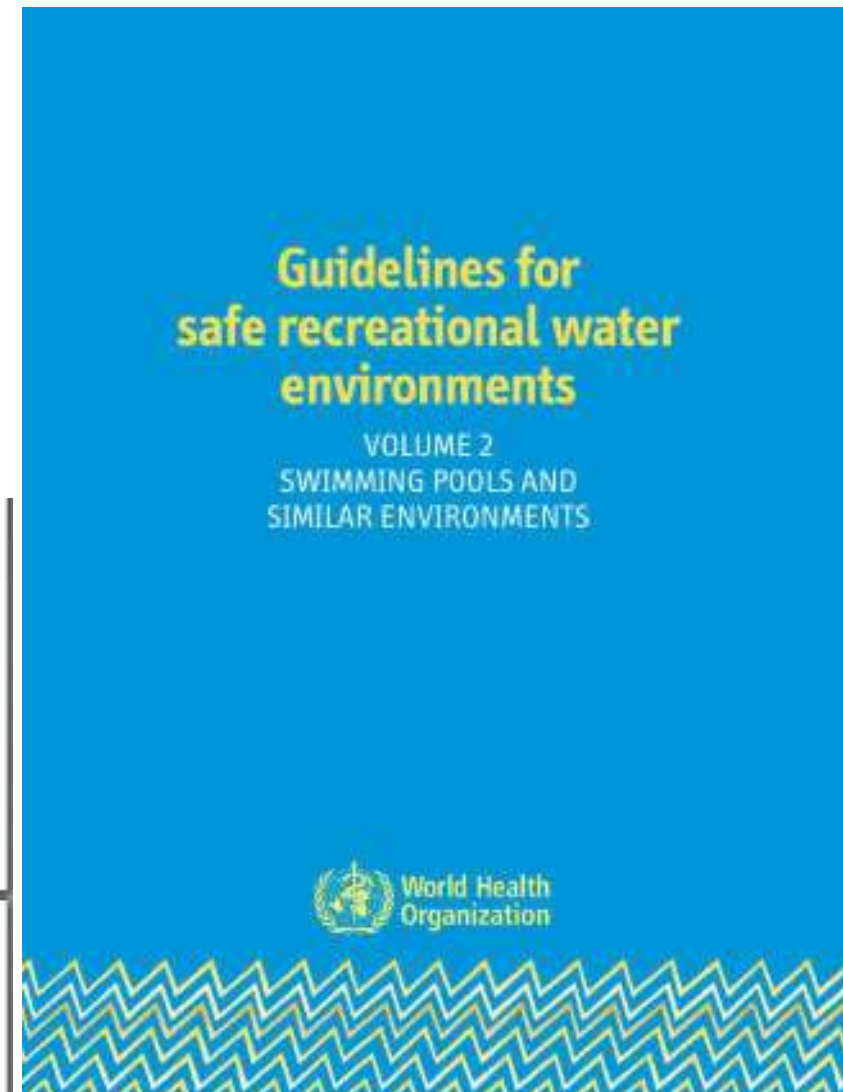
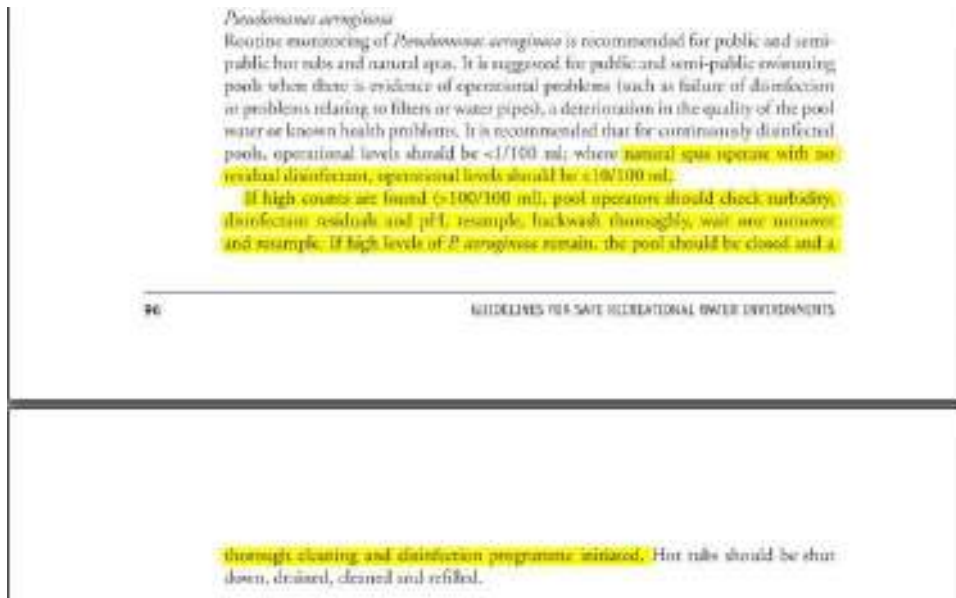
Pseudomonas aeruginosa (https://de.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas_aeruginosa)

2. HYGIENIC RELEVANCE

- >> **indicator for water-associated pathogens** in hospital hygiene and bathing water
- >> German Federal Environmental Agency "It is known that this **pathogen can occur in small nutrient-rich bathing lakes** and is not indicated by fecal indicators (E. coli and enterococci). With the installation of technical systems for water treatment in natural pools **potential growth opportunities for P. aeruginosa (biofilm formation)** are created "
- >> Usually **no risk to the healthy population**. Critical for people with
 - > **cystic fibrosis**
 - > **open wounds**
 - > **severely immunosuppressed persons treated with immunosuppressants**
- >> The following diseases can be induced by P.a.:
 - > **Auditory canal inflammation (otitis externa)**
 - > **Hair follicles (folliculitis) /**
 - > **Corneal inflammation (keratitis) (especially with contact lens wearers)**
 - > **chronic wound infections**
- >> In particular otitis externa and folliculitis / bath dermatitis are well documented as bathwater associated pseudomonas infections
- >> Drinking contaminated water or contact with intact skin does not result in transmission

3. LIMITS

- >> **Germany:** ≤ 10 CFU/100 ml
- >> **Lower saxony** (Germany) ≤ 100 CFU/100 ml
- >> **Denmark** ≤ 50 CFU/100 ml
- >> **Worldwide** ≤ 100 CFU/100 ml (WHO recommendation)



4. MEASURING METHODS DIN Method

>> DIN EN ISO 16266

>> **Recommendation of the Swimming and Bathing Water Commission** (Germany) in the Bundesgesundheitsblatt (2009).

- > DIN-method is primarily for waters with little flora. This can cause measuring problems.
- > Until better methods are developed the following methods are recommended:
 1. Detection of all *P. aeruginosa* Colonies with additional measurement. Fluorescent colonies on cetrimide agar are first tested by the acetamide reaction. Ammonia-forming colonies are additionally incubated at 42 °C.
 2. Counting of the blue-green (pyocyanin-forming) colonies on cetrimide agar.



NORM | 2008-05

DIN EN ISO 16266:2008-05

Wasserbeschaffenheit - Nachweis und Zählung von *Pseudomonas aeruginosa* - Membranfiltrationsverfahren (ISO 16266:2006);
Deutsche Fassung EN ISO 16266:2008

4. MEASURING METHODS Genetical testing

>> 2014: Quantitative measurements of *Pseudomonas aeruginosa* with gen probes (Cordes, ASA-Spezialenzyme)

- > Greater accuracy of the gene probe method
- lower counts of P.a. were detected.

>> 2015: Field trial in Germany, Switzerland, Denmark and Poland.

- > The original assumption that the gene probes detect lower bacterial counts by avoiding incorrect determinations could not be confirmed by the available data. However, it has been found that the gene probe test is less affected by the bacterial accompanying flora compared to the method DIN EN 16266.
- > It has also been shown that the results obtained with the use of the modified DIN method can result in falsified results
- > Too long or too warm storage of the samples can falsify the results.

Quantitative Bestimmung von *Pseudomonas aeruginosa* mittels Gensonden

Untersuchung eines neuen Nachweisverfahrens in Schwimmbecken mit biologischer Wasseraufbereitung

Dr. Ines Cordes und Peter Hübner, ASA Spezialenzyme GmbH, Hildesheim

Fazit
Die derzeitige Nachweismethode für *Pseudomonas aeruginosa* (PS, aeruginosa) nach DIN EN 16266 hat den Nachteil, dass sie ursprünglich für die Untersuchung von keimarmen Wässern, wie z.B. Trinkwasser oder Bädern nach DIN 19643, vorgesehen war. Bei Anwendung dieses Tests in Freizeidümmen mit biologischer Wasseraufbereitung kann die dort vorhandene Begleitflora den Test massiv stören und die Auswertung erschweren. Dabei werden mit diesem Test oft zu hohe Keimzahlen gemessen.

Die Empfindlichkeit des Untersuchungsverfahrens (LOA) von 2000, den Test bei 42 °C durchzuführen, führte zu hohen Falschpositiv-Raten, was jedoch nicht das Problem der internen Begleitflora. Daher wird ein neues Nachweisverfahren vorgeschlagen, das auf dem Prinzip der Gensondentechnik beruht. Vergleichende Untersuchungen mit der herkömmlichen Nachweismethode nach DIN EN 16266 zeigten, dass das Gensondenverfahren reproduzierbare Ergebnisse liefert, nicht so anfällig für Störungen durch Begleitflora ist und zudem weniger Zeitaufwand erfordert. Die Möglichkeit des Einsatzes des Gensondenverfahrens als generelles Nachweisverfahren für PS, aeruginosa wird diskutiert.

Unabhängig von der Nachweismethode werden verschiedene Aspekte der Probennahme und Probenvorbereitung diskutiert.

Einkleitung
PS, aeruginosa ist ein ubiquitär (überall) vorkommendes Bakterium, das auch in keimarmen Wässern aus Trinkwasser und Schwimmbecken vorkommt. PS, aeruginosa hat einen geringen Nährstoffbedarf und ist in der Lage, die unterschiedlichsten Substrate zu verwerten.^{1,2,3,4} PS, aeruginosa kommt für immunresponsivsten Menschen geordnet sehr selten und nicht durch Infektion mit Bakterien aus der Umwelt, sondern durch Kontakt mit kontaminiertem Wasser, wie z.B. Trinkwasser oder Bädern, nach DIN 19643, zustande. Bei Anwendung in Schwimmbecken mit biologischer Wasseraufbereitung kann es den Nachteil, dass die in diesem Begleitflora vorhandenen Be-

Logos Bio, Pseudomonaden & Co.
Bei Pseudomonaden sind diese Erreger haben ein hohes Potenzial, die Gesundheit und das Wohlbefinden von Mensch und Tier zu gefährden. Sie sind daher als Krankheitserreger (pathogen) und als Zoonoseerregung (zoonotisch) eingestuft. Die Erreger sind in der Umwelt weit verbreitet und können in der Natur vorkommen.

Logos Bio, Pseudomonaden & Co.
Hildesheim, P.O. Box 10000, 31120 Hildesheim, Tel. 05131 10000-1000, Fax 05131 10000-1000, E-Mail: info@logos-bio.de, www.logos-bio.de

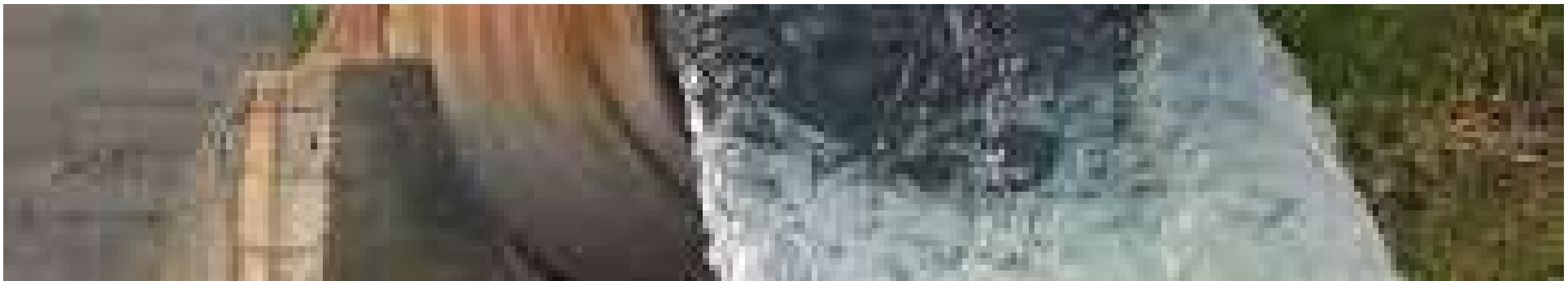
5. ENTRY SOURCES AND MEASURES Fill water

Source

- >> Waterworks
- >> Water supply network
- >> In **5,2 % of die buildings studied P. a. was found in the tap water** (Kistemann, T. et al. (2010))
 - > Among other factors, iron pipes in particular were a risk factor.

Measures

- >> Testing of filling water (almost never done)
- >> Take appropriate action if necessary



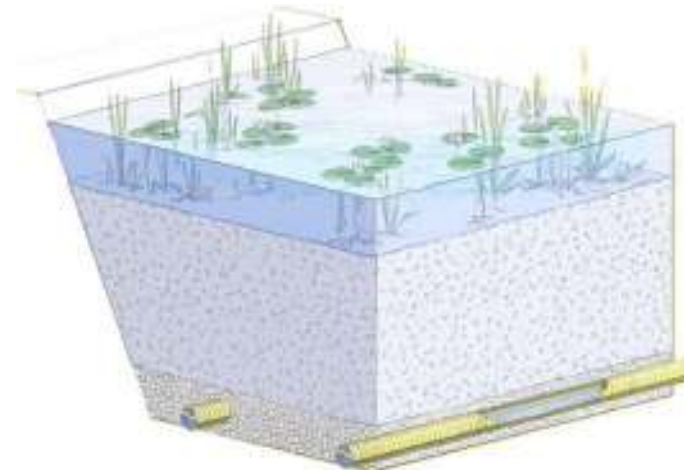
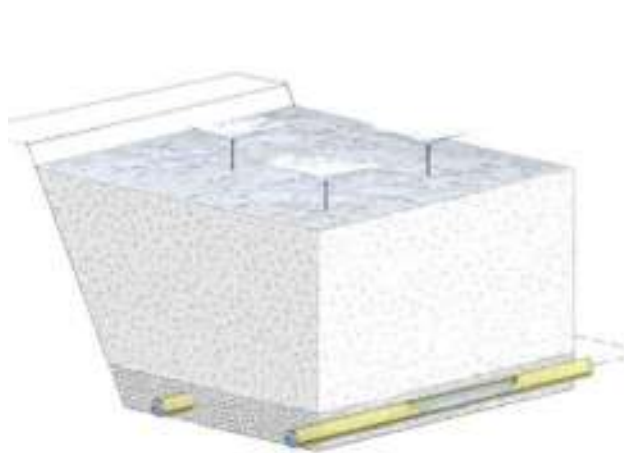
5. ENTRY SOURCES AND MEASURES Filter

Source

- >> Colmated filters.
- >> Anaerobic conditions in a filter

Measures

- >> Check for puddles on filtersurface and check redox potential (filter inflow and outflow)
- >> Adapt flowrate and remove colmatations.



5. ENTRY SOURCES AND MEASURES Biofilm from pool walls

Source

- >> Biofilm on the ground and the wall of the pool.
- >> Tear off of biofilm fragments from the wall and the ground (during cleaning or if biofilm growth is high)

Measures

- >> Regular cleaning of biofilm
- >> Take samples with sufficient lag to cleaning (fragments of biofilm should be cleaned manually or by filter)



5. ENTRY SOURCES AND MEASURES Wind

Source

- >> **Organic and anorganic particles with P.a. can enter the pool by the wind**
- >> First hints were found during experiments in a natural pool in Herrenberg (Germany) **P.a. was found in a control vessel**
- >> **Experiments in a natural pool in Dortmund (Germany) showed no results** yet because P.a. did not show up at all during the phase of the experiment. The experiments will be continued.

Measures

- >> High flowrate in filter.
- >> Sufficient P.a. reduction by filter.



5. ENTRY SOURCES AND MEASURES Rain

Source

- >> Rain can come in contact with air particles on which bacteria settle (leaching effect)
- >> No studies available at the moment.

Measures

- >> High flowrate in filter.
- >> Sufficient P.a. reduction by filter



5. ENTRY SOURCES AND MEASURES Bathers

Source

- >> Contaminated tap water → Shower → bather
- >> Contaminated soil particles → (puddles) → bather

Measures

- >> Check water supply net
- >> Showering before swimming



5. ENTRY SOURCES AND MEASURES Swimming toys

Source

>> P.a. can be found on plastic swimming toys if not maintained well

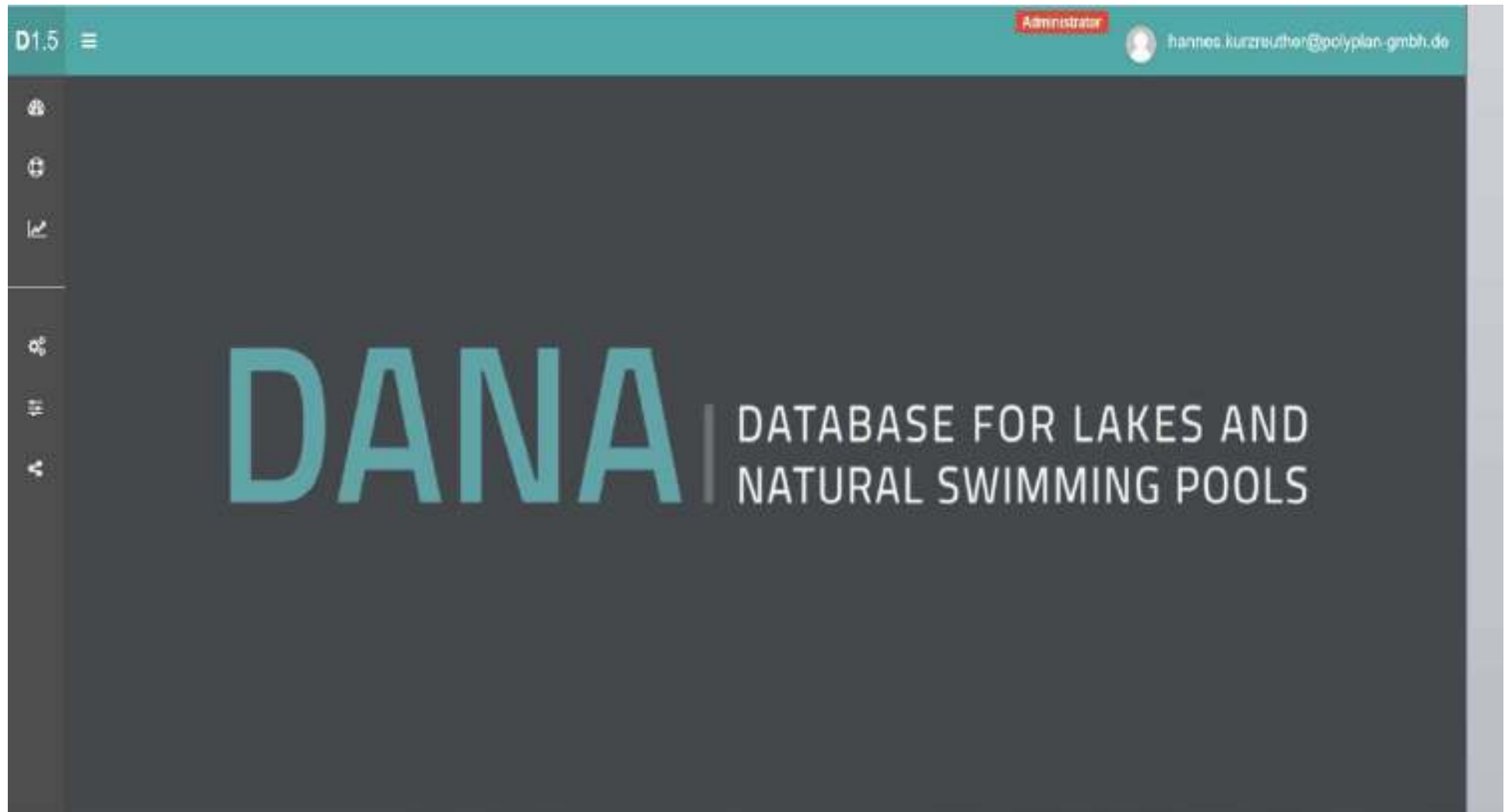
Measures

>> Clean and dry properly

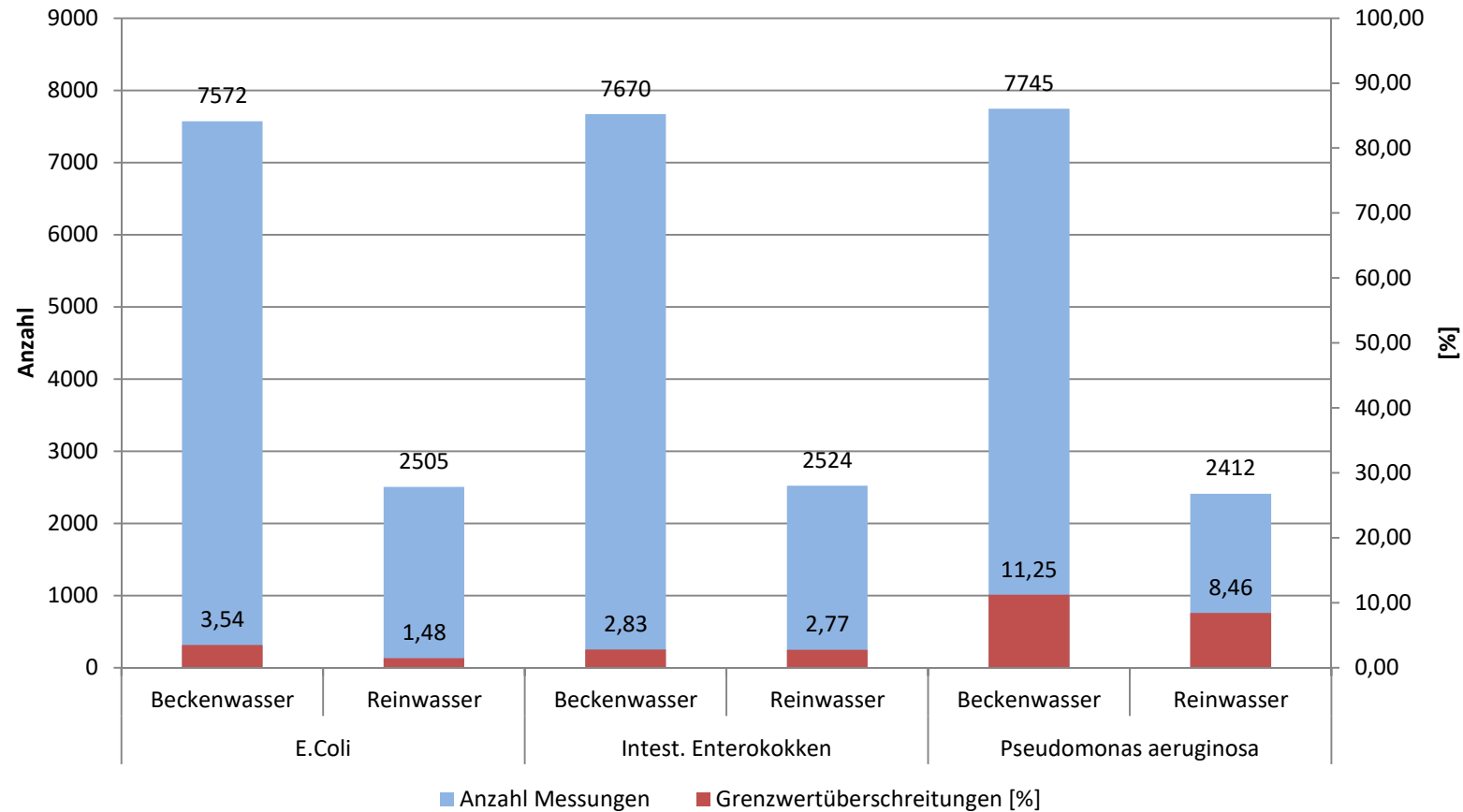
>> Store dry



6. DANA EVALUATION: PSEUDOMONAS AERUGINOSA

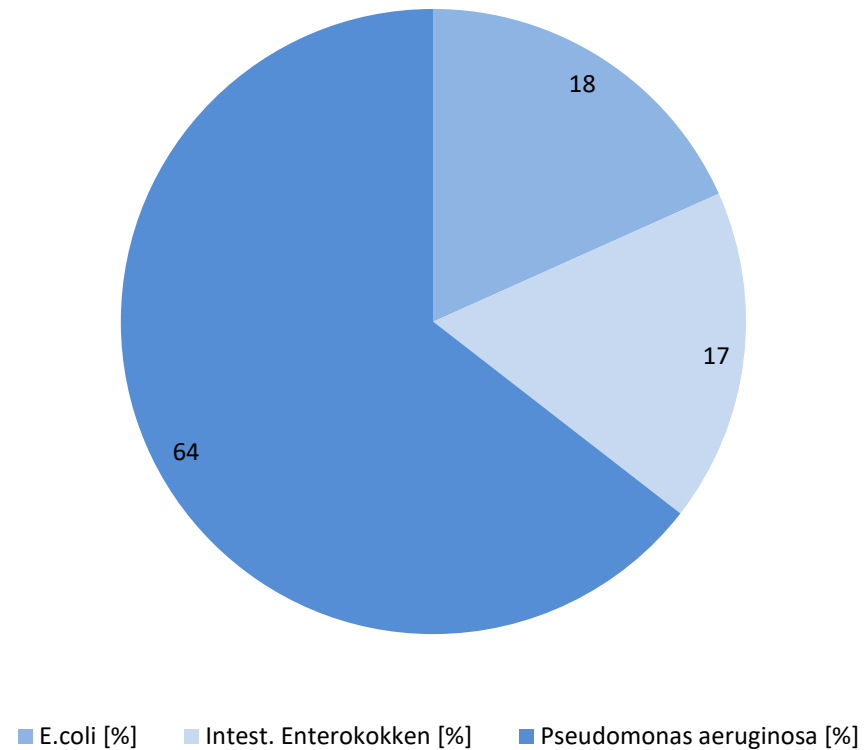


6. DANA EVALUATION: PSEUDOMONAS AERUGINOSA



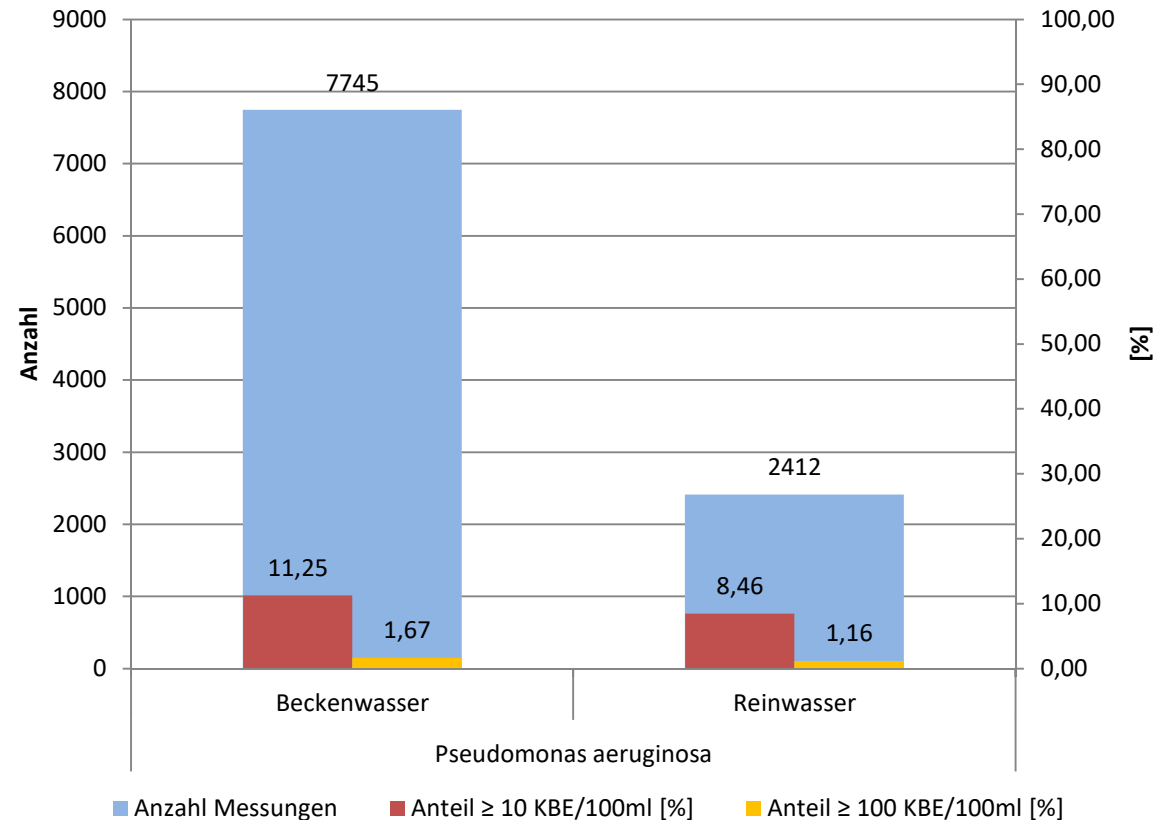
Pool- and Clearwater values und Reinwasserwerte (Number of measurements and percentage of limit violations): E.coli, Intest. Enterokokken, Pseudomonas aeruginosa; Number of pools: 43; Years: 2005-2018; Source: Datenbank Naturfreibäder (DANA)

6. DANA EVALUATION: PSEUDOMONAS AERUGINOSA



Percentage of limit exceedances for pool water and pure water values : E.coli, Intest. Enterokokken, Pseudomonas aeruginosa; Number of pools: 43; Years: 2005-2018; Source: Datenbank Naturfreibäder (DANA)

6. DANA EVALUATION: PSEUDOMONAS AERUGINOSA



Becken- und Reinwasserwerte Pseudomonas aeruginosa (Anzahl der Messungen und prozentualer Anteil der Messwerte ≥ 10 KBE/100ml + ≥ 100 KBE/100ml); Anzahl Bäder: 43; Zeitraum: 2005-2018; Quelle: Datenbank Naturfreibäder (DANA)

7. CONCLUSION

>> Looking at

- >The difficulties in measuring P.a.
- >The difficulties in finding the causes for P.a. and accordingly to find proper measures
- >The different assessments regarding the limits

...it seems reasonable to question the limit of the German Federal Environmental Agency /FLL of 10 CFU/100ml.

>> An adoption of the maximum limit proposed by the WHO (100 CFU/100ml) would eliminate 85% of the limit-overruns of P.a.. This would mean a lot less trouble for natural pool operators.

>> Assuming that the limit values specified by the WHO are harmless, the majority of the limit value exceedances would be hygienically irrelevant.

>> It would be necessary to examine what determines the different limits and whether an adaption to the international WHO standard is justifiable from a hygienically perspective.

>> Additionally it should be examined whether a different assessment of pool and pure water, as well as first, second and third sampling is to be made.

THANK YOU FOR YOUR ATTENTION!

