

Problematika *Pseudomonas aeruginosa* v přírodních koupacích vodách

celostátní konzultační den CZŽP
„Aktuální témata z hygieny životního prostředí“
SZÚ, 21.3.2013

RNDr. Jaroslav Šašek
Státní zdravotní ústav, Praha



charakteristika

- Gram negativní, pohyblivé, nesporulující tyčinky, velikosti cca 0,5-1 μm x 1,5-3 μm , aerobní až fak. anaerobní,
- **všeobecně rozšířené v prostředí**, odolné vůči zevním vlivům, ATB, soli, barvivům, teplotě do 42°C,
- **růstově nenáročné**, bez požadavku organických růstových faktorů, **schopné využít i velmi nízké konc. živin (5-10 $\mu\text{g C/l}$)**, **schopné metabolizovat i těžko rozložitelné substráty** – což je preferuje v konkurenci s ostatní mikroflórou
- extracelulární produkty (pigmenty, enzymy, toxiny) s ATB aj. účinky, atakující mikroflóru i člověka
- **vysoká afinita k plastům** (osídlování whirlpoolů, hadic apod.)
- schopnost tvorby mukoidních kmenů (rezistence vůči dezinfekci)
- silné proteolytické vlastnosti

zdroje

- voda – je přirozený reservoár *P. aeruginosa* (její výskyt signalizuje kontaminaci vody povrchovými splachy (plošné a difuzní zdroje), domácimi a zemědělskými odtoky, ČOV)
- hlavní zdroj kontaminace povrchové vody *P. aeruginosou* – splašky (přítomna v 90%),
- zemědělská půda
- široce rozšířena na rostlinách – rajče, celer aj. zelenina
- trávicí trakt zvířat, hmyz
- potraviny (zejm. ryby, vejce, ev. i maso a jiné), kosmetika
- normální mikroflora zdravých osob (kolonizuje povrch kůže, zejm. v ohybech, sliznice respiračního a trávicího traktu) – 2,6 - 25%; hospitalizace vede k růstu nosičství v GI (růst k 38 %)
- nozokomiální nákazy (vážný problém)

kontaminace vod —→ fekální původ (humánní, animální)
nefekální původ ” ”
+ z prostředí

(povrchové přítoky, prach, listí, hmyz, hlodavci, ptáci,
rostlinstvo, odpady, potraviny, předměty aj.)

přežívání v prostředí

Mena, Gerba, 2009

sladké vody: > 28 dní

podzemní voda: > 12 dní

říční voda: > 8 dní

balená pramenná voda: > 33 dní

destilovaná voda: > 7 dní

minerální voda: > 20 dní

teplotní tolerance

pseudomonády – růst v rozpětí 4 °C – 43°C

psychrofilní druhy růst i < 0°C

růst při 42 °C – *P. aeruginosa*, optimum – 37°C

(růst nemusí být kvantitativní ???)

Bergey's Manual

růst při 41°C – fluorescentní druhy: *P. aeruginosa*

nefluorescentní: *P. stutzeri*, *P. mendocina*, *P. alcaligenes*, *P. pseudoalcaligenes*

biochemické testy (zkapalňování želatiny, štěpení argininu, ...)

onemocnění

- kožní infekce
- oční infekce
- záněty středního a vnějšího ucha
- ranné infekce
- respirační infekce
- gastrointestinální infekce (zejm. malé děti)
- infekce urogenitálního traktu
- kojenecké gastroenteritidy a meningitidy
- endokaritidy
- sepse

infekční dávka

- orální inf. dávka (člověk) = 10^{8-9} KTJ (Rusin, 1997)
- intranasální ID₅₀ (myš) = $2,7 \cdot 10^7$ KTJ (Mena, Gerba, 2009)
bez odezvy ($1,6 \cdot 10^3$ KTJ) (Rice et al.,2012)
subletální dávka - 10^6 KTJ „
kalkulace rizika pro zdravé osoby $> 10^7$ KTJ „
- folliculitis (vznik) = $> 10^3 - 10^6$ KTJ/ml (Price&Ahearn, 1988,
Dadswell, 1997)
možný i při jednotkách ktj/ml

podmínky napomáhající vzniku systémového onemocnění (predispoziční faktory)

nejprve povrchová kolonizace P. aeruginosou, později vnik onemocnění

- defekty fagocytózy (porucha imunity)
- rozsáhlé popáleniny
- maligní procesy (zejm. leukémie)
- aplikace cytostatik, imunosupresiv, kortikoidů
- dlouhodobé podávání antibiotik (vede k osídlení rezistentními pseudomonádami)
- těžké operace
- nemocniční procedury (dlouhodobé zavedení cévních a močových katetrů)
- diabetes aj. závažné choroby

etiologie infekcí asociované s neupravenou rekreační vodou

údaje z USA 1991-2000; Craun et al., 2005

- neidentifikované případy (21%) – jedná se zejm. o viry
- Shigella (21%)
- Naegleria fowleri (17%)
- E. coli O 157:H7 (9%)
- Schistosoma (9%)
- Norovirus (6%)
- Leptospira (5%)
- Giardia (4%); Cryptosporidium (3%)
- ostatní agens (5%) – S. typhi (1,4%), adenovirus (0,7%), enterovirus (0,7%), hepatitis A (0,7%), Microcoelus (0,7%), **Pseudomonas (0,7%)**

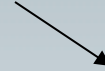
legislativa (koupací vody)

- Směrnice EP a rady 2006/7/ES z 15.2.2006 o řízení jakosti vod ke koupání a o zrušení směrnice 76/160/EHS
- vyhláška MZ ČR č. 238 /2011 Sb. o stanovení hygienických požadavků na koupaliště, sauny a

parametry kvality – jen fekální indikátory (EC, enterokoky),
nikoliv patogeny

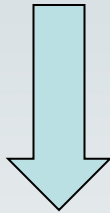
– pouze u nádrží ke koupání a staveb ke koupání dle vyhl. 238/2011 Sb., část třetí, §13-15 je zařazena i **Pseudomonas aeruginosa**

přírodní koupaliště



dle II. části, vyhlášky č. 238/2011 Sb.

*rybníky, jezera, lomy, řeky, přehrady
a j.nádrže*



více otevřené znečištění (z přítoků,
okolí)

poměr : objemu vody/ osobu
(vysoký)

viz tvorba koupacího profilu

dle III. ČÁSTI, VYHL.Č. 238/2011 Sb.

nádrže a stavby ke koupání



znečištění - ze zdroje, osob, okolí
přítok – pitná voda, podzemní, povrchová

poměr: objem vody / osobu
(nižší)



rozdíly se mohou projevit v limitech



korelace indikátorů se zdravotními symptomy z koupacích vod

- **nejlépe** korelují **enterokoky** a **E. coli**
- korelaci vykazují i **FC** a **stafylokoky**
 - ve vztahu k počtu koupajících se
 - a některým zdravotním symptomům – ušní, kožní, respirační a enterické onemocnění a celkovou nemocností z koupacích vod

FS (enterokoky) – těsněji korelovány k GI než TC a FC

TC (celkové) a FC (fekální) – lépe indikují kožní onemocnění a celkovou nemocnost než FS

korelace

(2)

Ferley et al., 1989

korelační koeficient:

pro GI: FS (enterokoky) (r = 0,55)
FC (fekální), TC (celkové) (r = 0,33; 0,30)

pro kožní infekce: Pseudomonas spp. (r = 0,73)
FC (fekální) (r = 0,67)
Aeromonas spp. (r = 0,51)

počty *P. aeruginosa* a koupací aktivity

Cabelli a Fraser in Seyfried a Cook, 1984

růst počtů i o logaritmický řád v době vrcholu koupacích aktivit (od 11 h – 17 h) – **resuspendace sedimentů**
(**rezervoár mikroorganismů**)

denní doba	počet koupajících se osob	<i>P. aeruginosa</i> ktj / 100 ml vody	<i>P. aeruginosa</i> ktj/ 100 g sedimentů dna
Ráno	23	0	612
Odpoledne	135	42	12

počty *P. aeruginosa* a vliv návštěvnosti

vliv návštěvnosti včetně péče o pláže a provoz zařízení
Kawarta Lake, Kanada

Počty *P. aeruginosa*
v ktj/ 100 ml nebo 100 g

	Veřejné pláže	Privátní pláže	
Volná voda	122,6	0,7	
Sediment dna	142,8	0,5	

počty *P. aeruginosa* & onemocnění (povrchové vody) 1

Seyfried, Cook, 1984

oblast velkých kanadských jezer –

případy infekce vnějšího ucha při koupání osob – kombinace

- ve věku pod 19 let
- při vyšší frekvenci koupání (min 5x týdně)
- s dřívější ušní patologií

při zvýšených počtech *P. aeruginosa* ve vodě i v sedimentu dna:

ve vodě = ϕ 122 ktj / 100 ml (rozpětí 2 – 1.600 ktj /100 ml)

počty *P. aeruginosa* v povrchových vodách bez vztahu k onemocnění

/Mena, Gerba, 2009/

jezera:

denzity:

0 – 100 KTJ /100 ml

0 - >1.000 KTJ /100 ml

31 - 524 KTJ / 100 ml

řeky:

denzity:

33 KTJ /100 ml

268 - 536 /100 ml

počty *P. aeruginosa* v bazénech a whirlpoolech a onemocnění 1

/Dadswell, 1997/

vznik otitis externa (zánět ucha):

5 -19 KTJ/100 ml - (attack rate 45%) - hydroterapeutický bazén

vznik folliculitis:

5,4 . 10 ² KTJ/ ml	- (24% attack rate)	- koupelové bazény
9 - 3,4 . 10 ³ KTJ/ ml	- (72% attack rate)	- ” ”
3 KTJ /100 ml	- (53% attack rate)	- ” ”
900 KTJ/ 100 ml	(26 osob)	- whirlpool (Mena, Gerba, 2009)

počty *P. aeruginosa* v bazénech a whirlpoolech a onemocnění 2

Mena, Gerba, 2009

infekce močových cest:

9.000 KTJ /100 ml	(2 osoby)	whirlpool
-------------------	-----------	-----------

ranné infekce:

>180 KTJ /100 ml	(4 osoby)	whirlpool
------------------	-----------	-----------

pneumonie:

2,3 . 10 ⁵ KTJ / ml	(1 osoba)	whirlpool
--------------------------------	-----------	-----------

riziko onemocnění

Státní univerzita v Georgii, Atlanta, USA

Price, Ahearn, 1988

- riziko pro zdravé osoby – až při počtech $> 10^3$ / ml
(ve whirlpoolech jsou – denzity 10^{4-6} / ml)

riziko pseudomonádové folikulitidy nelze vyloučit ani při
jednotkách KTJ /ml

pro vznik infekce je významější než počty spíše doba
expozice kontaminované vodě a **predispoziční faktory**
(věk, pohlaví, dřívější prodělané choroby)

vztah počtů *P. aeruginosa* & vznik onemocnění

- není jednoznačný, vedle počtu v KTJ
 - uplatňují se zde i predispoziční faktory, zdrav. stav
(věk, pohlaví, expozice vodě, zdravotní stav, prodělaná onemocnění atd.)
 - expozice vodě (frekvence a délka koupání)

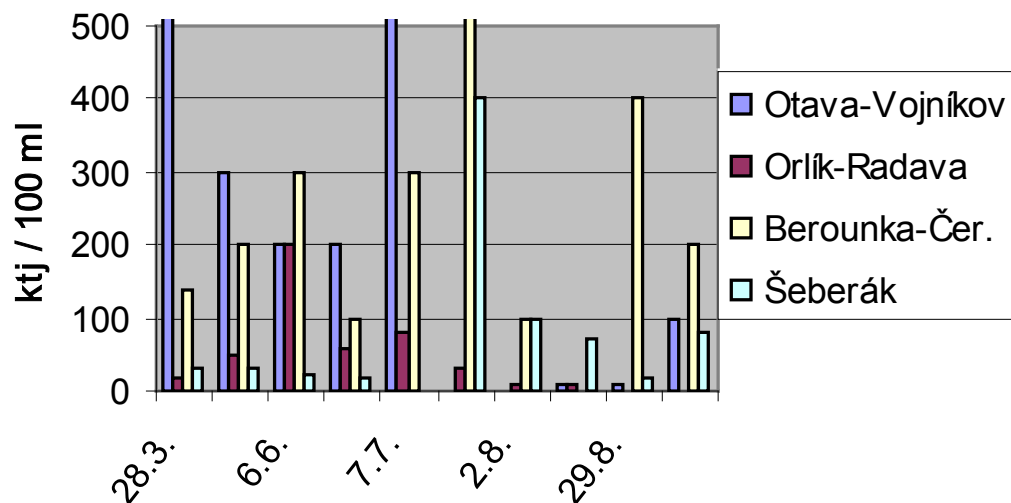
Počty *P. aeruginosa*
a přírodní koupaliště

počty *P. aeruginosa* v koupacích vodách (grant MEKOVOD 2011-2012)

- denzity na řekách – **stovky** ktj /100 ml (v maximech až 1.500 KTJ/ 100 ml)
 - stojaté vody/ nádrže – **desítky** ktj / 100 ml (v maximech stovky KTJ/ 100 ml)
 - stavby/ nádrže pro účely koupání (dle části III, vyhl. 2382011 Sb.) nebyly sledovány;
- údaje SRN (Heynemayer, Luden, 2009) – **21,5% nádrží > 10 ktj/100 ml**

Počty *P. aeruginosa* metodou dle ČSN EN ISO 16266

Pseudomonas aeruginosa v roce 2011

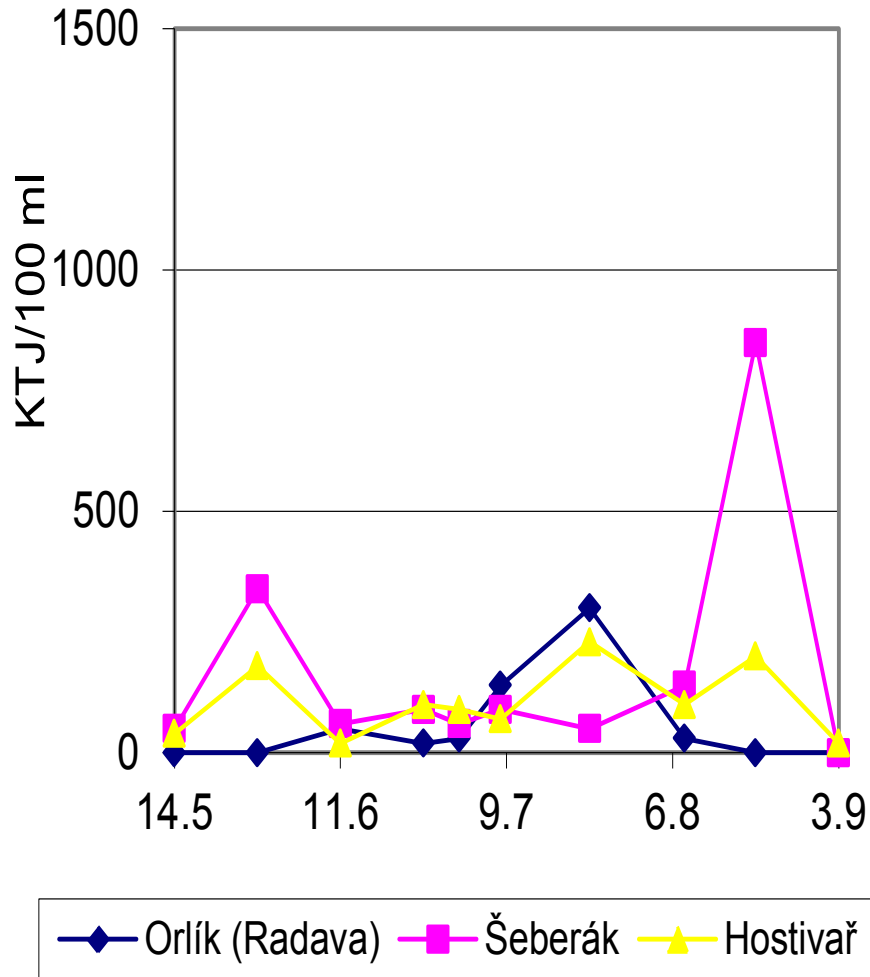


ktj/100 ml	Otava-Vojník	Orlík-Radava	Berounka-Čer.	Šeberák
28.3.2011	600	20	140	30
17.5.	300	50	200	30
6.6.	200	200	300	23,5
20.6.	200	60	100	20
7.7.	600	80	300	10
18.7.	0	30	600	400
2.8.	0	10	100	100
15.8.	10	10	0	70
29.8.	10	0	400	20
31.10.	100	0	200	80

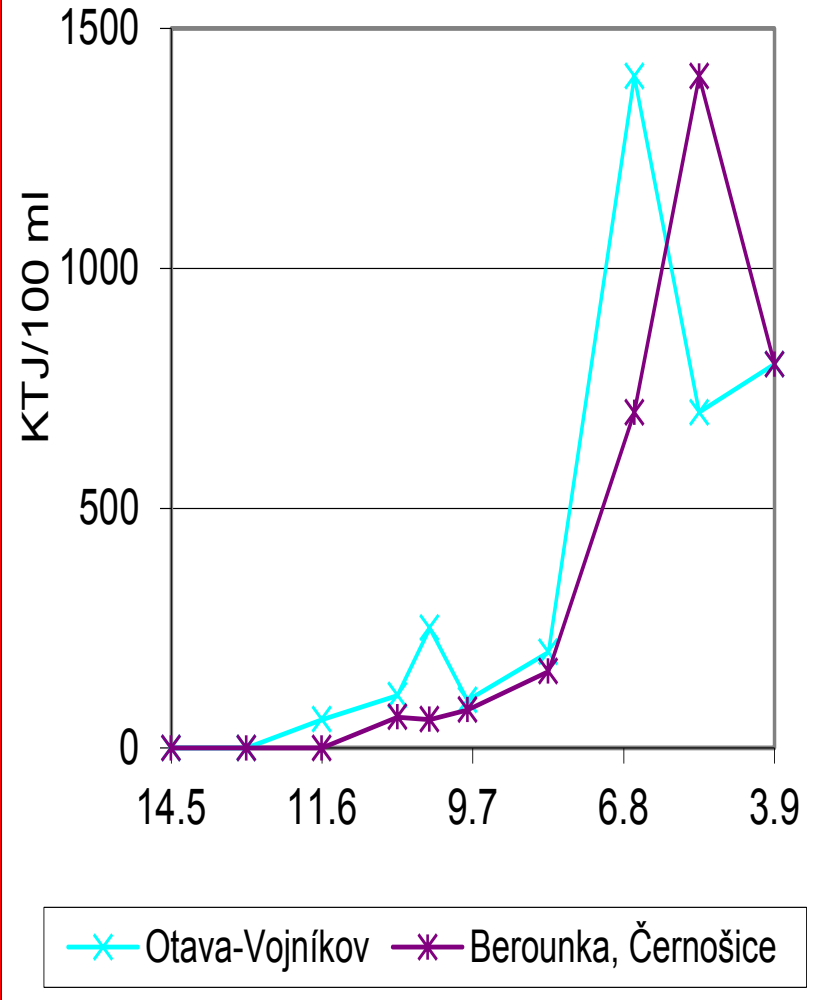
2012

P.aerugi nosa CN agar CFU/ 100 ml	Otava - Vojníkov	Orlík-Radava	Berounka- Černošice	Šeberák	Hostivař
14.5.	0	0	0	50	40
28.5.	0	0	0	340	180
11.6.	50	50	0	60	20
25.6.	20	20	65	90	100
1.7.	30	30	60	60	90
8.7.	140	140	80	90	70
23.7.	300	300	160	50	230
8.8.	30	30	120	140	100
20.8.	0	0	1400	850	200
3.9.	0	0	800	0	20

Počty *P.aeruginosa* na CN agaru dle ISO 16266 - v r. 2012 (nádrže)



Počty *P.aeruginosa* na CN agaru dle ISO 16266 - v r. 2012 (řeky)



Stavby nádrže / povolené k účelu koupání dle části III vyhl. č. 238/2011 Sb.:

Heinemeyer, Luden, 2009, SRN

ze souboru 5 nádrží – 21,5% vykazuje počty > 10 ktj/ 100 ml

55% případů stanoveno dle EN 12780 = EN ISO 16266

falešně pozitivní výsledky

*ne P. aeruginosa & P. fluorescens, P. putida a jiné
pseudomonády či NFT*

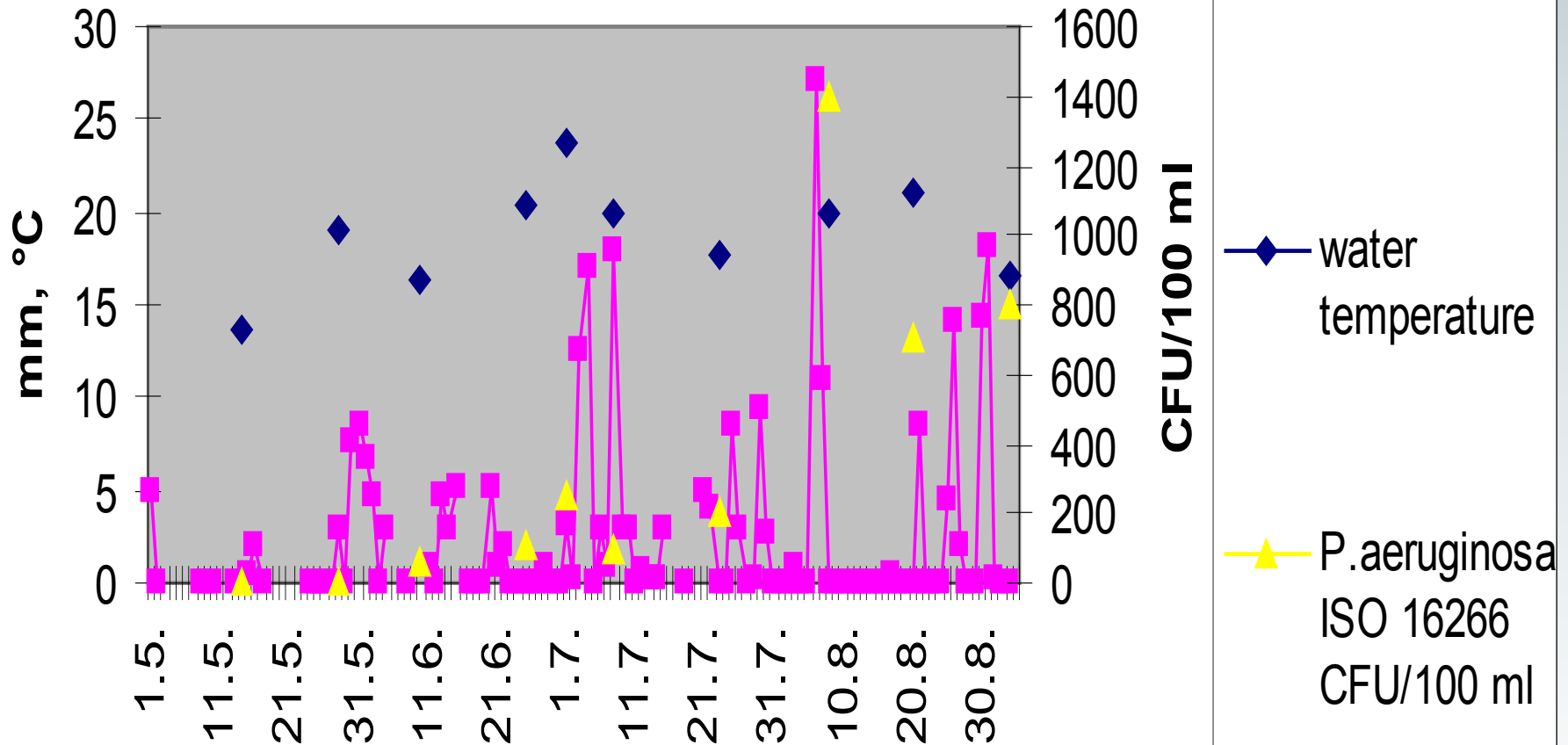
řešení: *současná norma (ISO 16266) není vhodná pro povrchové vody (určena pro pitnou, balenou, bazény)*

doplnit normu o další confirmaci, tj. růst při 42°C, biochemické testy

Počty *P. aeruginosa*
&
srážky (mm), teplota vody /
vzduchu - návštěvnost

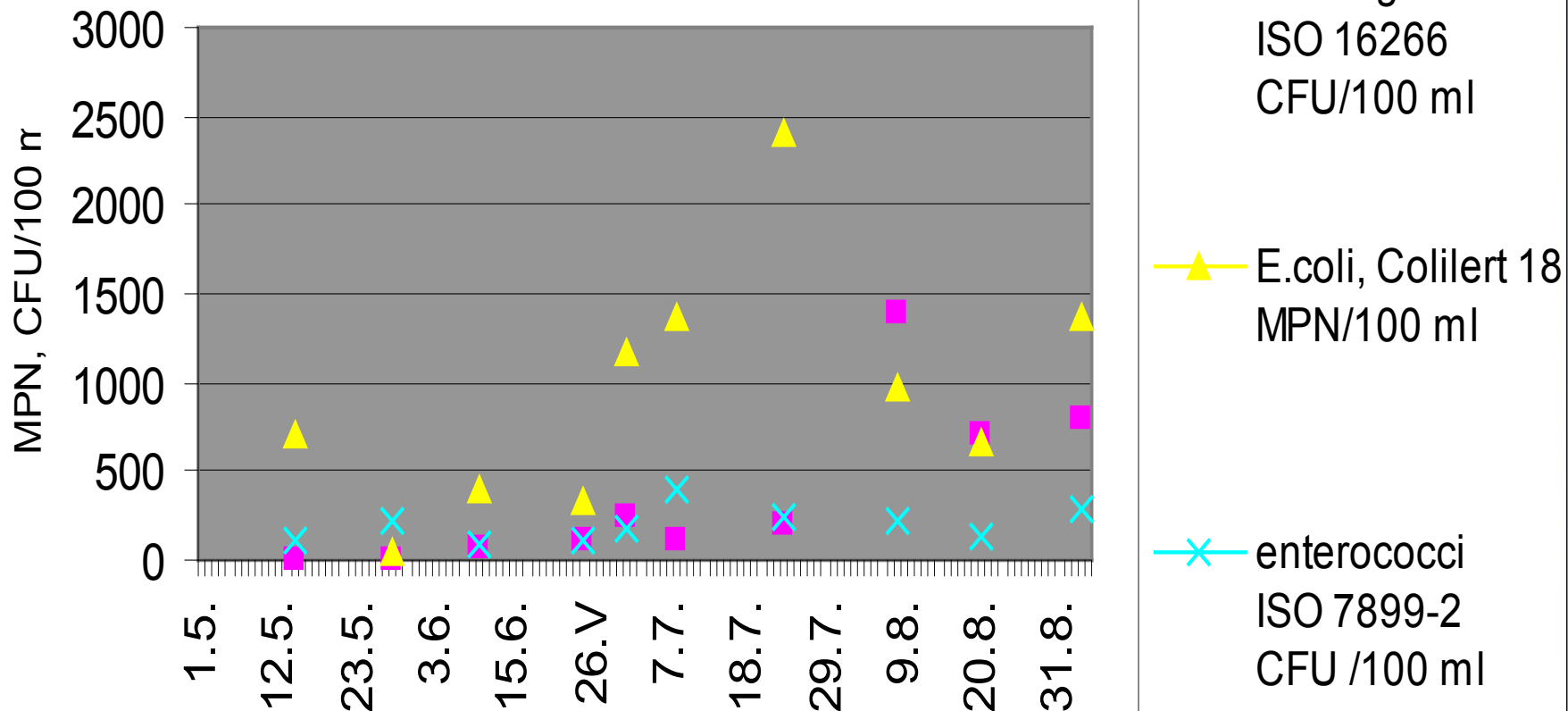
River Otava - Vojníkovo in 2012

P. aeruginosa & rainfall, water temperature



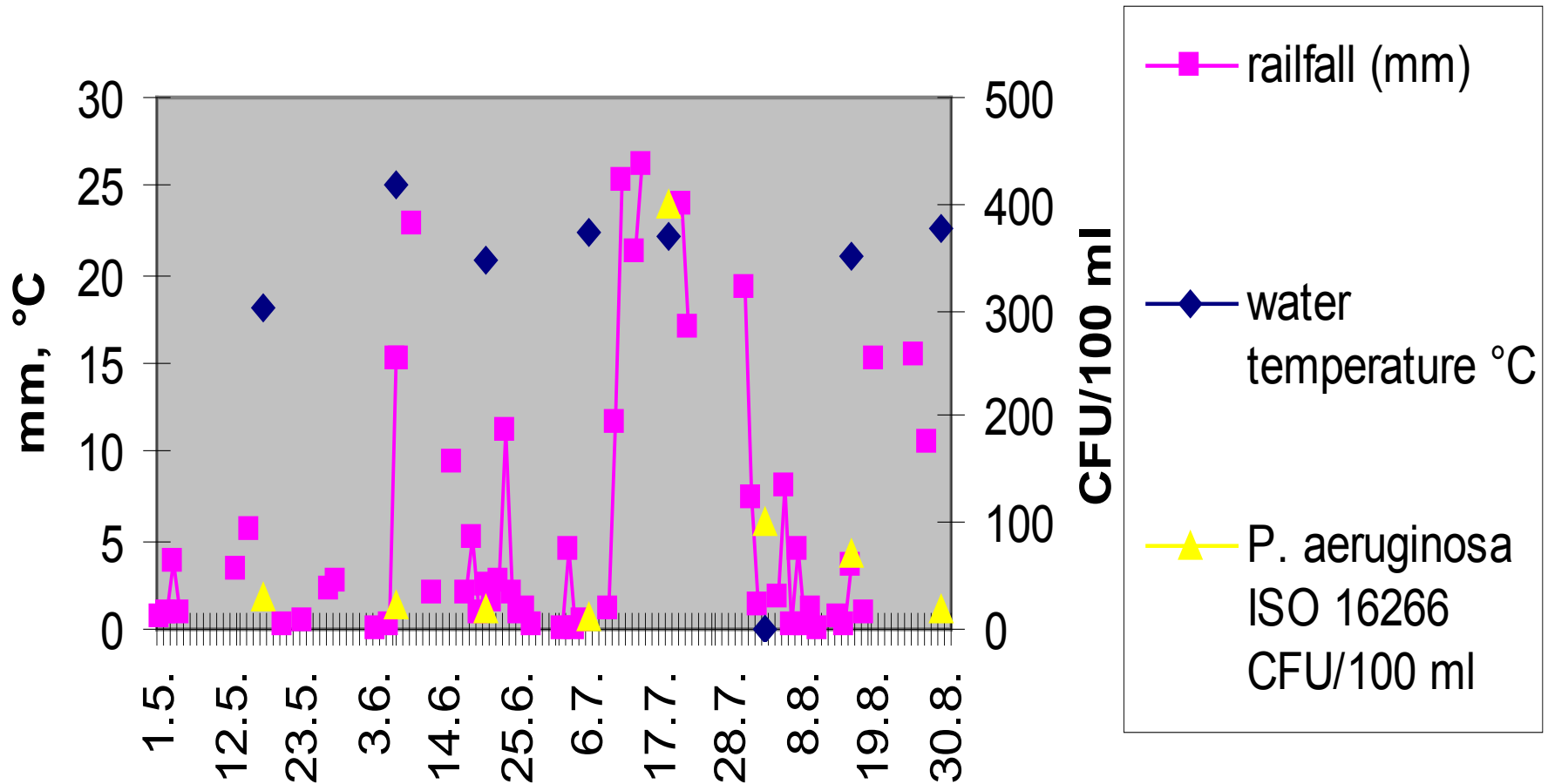
River Otava - Vojníkovo in 2012

P. aeruginosa & *E. coli*, enterococci



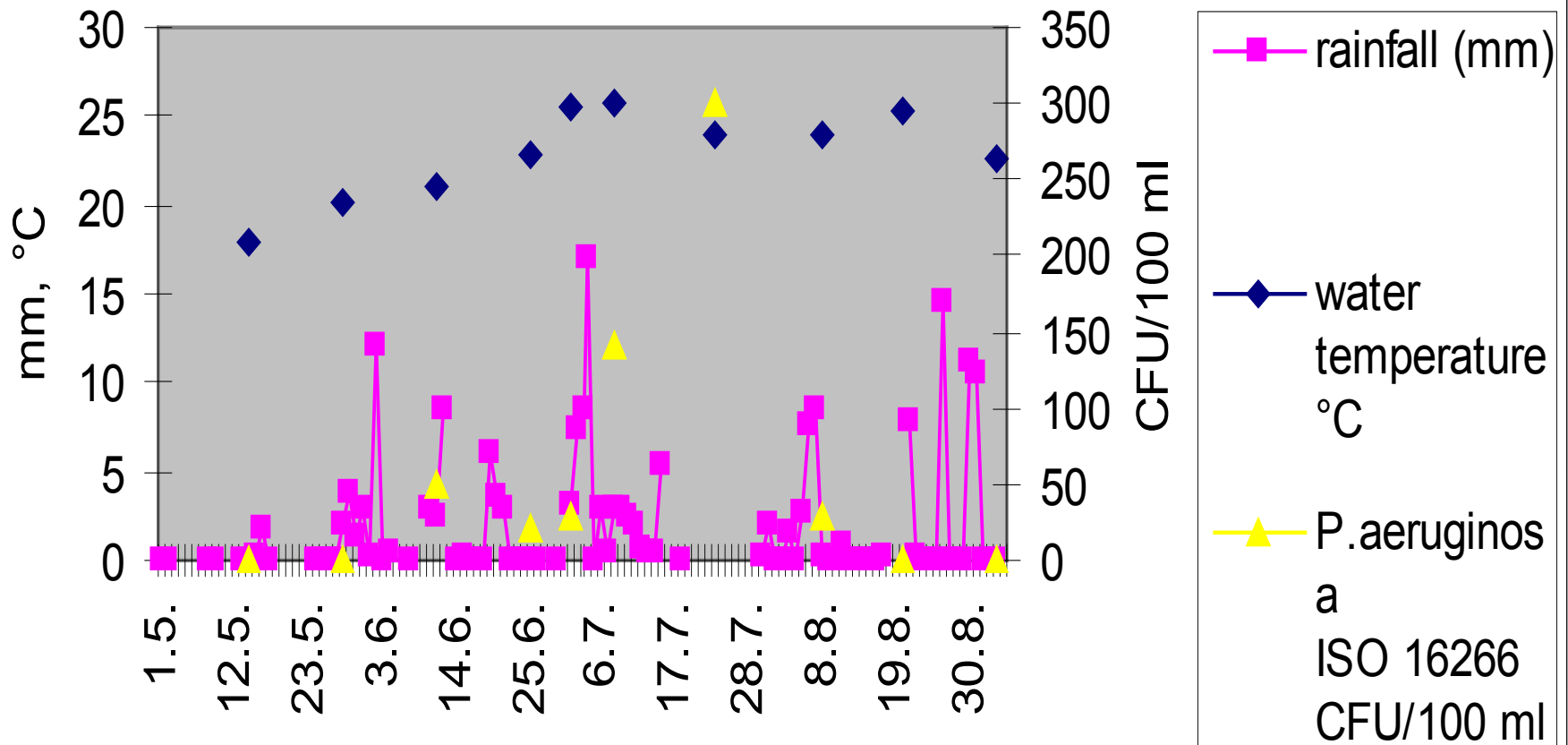
Šeberák pond in 2011

P. aeruginosa & rainfall, water temperature



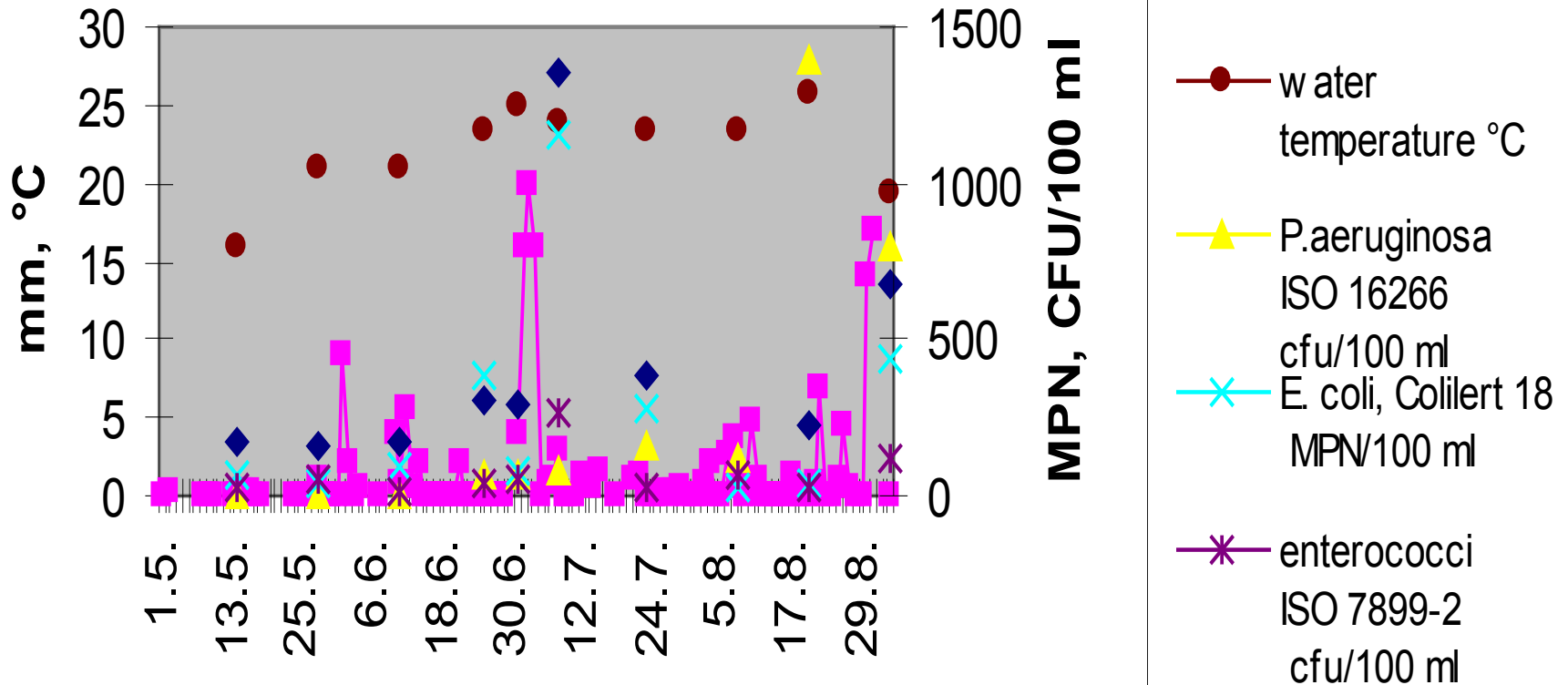
Large dam Orlik-Radava in 2012

P. aeruginosa & rainfall, water temperature



River Berounka-Černošice in 2012

rainfall, water level, temperature, microbial contamination



korelace & fekální indikátory

- korelace s fekálními indikátory - **nízká**
 $r = 0,265$ (enterokoky); **$r = 0,642$** (*E. coli*)

 $r = 0,924$ (*E. coli* & enterokoky)

závěry

- P. aeruginosa* – oportunní patogen, rizikový zejm. pro kojence, malé děti z hlediska pití /pitná voda, balená voda)
- orální inf. dávka pro normální / zdravou populaci (dospělé osoby) činí 10^{8-9} [Rusin et al., 1998]
 - pro koupací vody – předpokládá se, že riziková je denzita nad 10^3 / ml pro zdravou populaci, vyloučit nelze ani nízké denzity (jednotky/ml)
 - významější než samotné **počty** *P. aeruginosa* je **expozice** kontaminované vodě (délka, frekvence) ve spojení s **predispozičními faktory** (věk, pohlaví, dřívější choroby)
 - **infekce vnějšího zvukovodu** byla zaznamenána již při počtech **122 ktj/ 100 ml jezerní vody**, ale **ve spojení** s dalšími podmínkami (frekvence, expozice, věk, predispo.f.)

závěry - pokračování

- infekce z jezerní vody při denzitě 4 (medián) /l [P10-1; P90- 63]
- záněty vnějšího zvukovodu v bazénech již při denzitě 5 -19 ktj /100 ml
- počty *P. aeruginosa* > 1.000 KTJ/ 100 ml v jezerní vodě bez souvislosti s onemocněním
- onemocnění (otitis, folliculitis) z umělých koupališť (plavecké a koupelové bazény, vířivky, hydroterapeutické bazény) zjištěno při počtech *P. aeruginosa* v širokém rozmezí 10^1 KTJ/ 100 ml až 10^3 KTJ/ ml