**PROCJENA RIZIKA ZA *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* U VODI ZA LJUDSKU POTROŠNJU**

Na sjednici Stručnog povjerenstva za vodu namijenjenu ljudskoj potrošnji odlučeno je da se temeljem predstavljenog Mišljenja Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo “Određivanje *Pseudomonas aeruginosa* u vodi za ljudsku potrošnju i maksimalno dopuštena koncentracija“ od 21. siječnja 2020. godine prihvati kao procjena rizika za  *Pseudomonas aeruginosa* u vodi za ljudsku potrošnju kako slijedi:

1. **Uvod**

Određivanje *Pseudomonas aeruginosa* (*P.aeruginosa)* u vodi za ljudsku potrošnju propisano je Pravilnikom o parametrima sukladnosti, metodama analize, monitoringu i planovima sigurnosti vode za ljudsku potrošnju te načinu vođenja registra pravnih osoba koje obavljaju djelatnost javne vodoopskrbe („Narodne novine“, broj 125/17) koji je podzakonski akt Zakona o vodi za ljudsku potrošnju („Narodne novine“, broj 56/13, 64/15, 104/17, 115/18), kojim su preuzete odredbe Direktive Vijeća 1998/83/EZ od 3. studenoga 1998. o kvaliteti vode namijenjene za ljudsku potrošnju (u daljnjem tekstu „Direktiva“) i Direktive Komisije (EU) 2015/1787 оd 6. listopada 2015. o izmjeni priloga II. i III. Direktivi Vijeća 98/83/EZ o kvaliteti vode namijenjene za ljudsku potrošnju (SL L 260, 7. 10. 2015.), u daljnjem tekstu DWD.

Države članice Europske unije (EU), osim što su obvezne preuzeti odredbe DWD, mogu u svojim nacionalnim propisima definirati i druge pokazatelje koji nisu obuhvaćeni DWD. Tako je Republika Hrvatska (RH) iskoristila tu mogućnost i propisala određivanje dodatnih pokazatelja i za mnoge od njih definirala maksimalno dopuštene koncentracije (MDK). Jedan od takvih pokazatelja je ***P. aeruginosa* koji se prema DWD treba određivati samo u vodama u boci**, ali je RH definirala da se određuje i u uzorcima vode za ljudsku potrošnju.

Neke zemlje EU također propisuju određivanje *P. aeruginosa* u vodi za ljudsku potrošnju, ali samo u određenim objektima (npr. bolnicama i domovima za starije i nemoćne), odnosno objektima u kojima borave imunokompromitirane osobe, pri čemu nisu pokazatelj definirali kroz zakonodavstvo vezano za vodu za ljudsku potrošnju i postavljanje MDK vrijednosti već kroz smjernice za pojedinu vrstu objekata. Smjernicama se definira postupanje ovisno o broju kolonija koji se pronađe u pojedinom uzorku.

Uvrštavanje pokazatelja *Pseudomonas aeruginosa* u nacionalno zakonodavstvo RH rezultiralo je problemom u interpretaciji značaja detekcije *Pseudomonas* spp. u vodi za ljudsku potrošnju i algoritmu postupanja, i kao takav postoji već dulji niz godina kao jedan od većih problema javnog zdravstva u Hrvatskoj.

Tako se na primjer mogu izdvojiti tri slučaja pojave onečišćenja vode za ljudsku potrošnju *P. aeruginosa* u proteklih dvadesetak godina u Hrvatskoj:

Prije dvadeset godina u jednom je kafiću u Zadru dulje razdoblje na jednom izljevnom mjestu bio prisutan *P.* *aeruginosa*. Ponavljanje uzorkovanja (desetaka uzoraka), dezinfekcija klorom i spaljivanje nisu pomogli te je na kraju zamijenjena slavina i *P.* *aeruginosa* je „nestao“ – međutim, pitanje je bilo do kada?

Prije pet - šest godina u jednom vrtiću u Puli u vodi za piće pojavio se *P.* *aeruginosa* te ni ovoga puta nijedna od primijenjenih mjera nije dala rezultat (dugotrajno istjecanje vode, dezinfekcija, spaljivanje, promjena slavina... ). Tada se promijenio kompletan razvodni sustav i problem se riješio – do kada?

U vodi u izbjegličkom kampu u Slavonskom Brodu tijekom migrantskog vala 2015./2016. godine pojavljuje se *P.* *aeruginosa,* i to od 1 do 5 kolonija. Nakon dugotrajnog ispiranja *Pseudomonas aeruginosa* nestaje – međutim, ostaje pitanje dokad?

Ova tri primjera ukazuju da je pojavnost *P.* *aeruginosa* moguća u bilo kojem razvodnom sustavu. Mjere dezinfekcije najčešće ne pomažu jer se dezinficira medij (voda) niskim koncentracijama dezinficijensa, a *P. aeruginosa* najčešće se udomaći na instalacijama par metara prije samog izljevnog mjesta (slavine) i najčešće iziskuje visoke koncentracije dezinficijensa.

U Smjernicama za kvalitetu vode za piće Svjetske zdravstvene organizacije zaključuje se, da iako pojavnost *P. aeruginosa* može biti javnozdravstveno važna u određenim objektima kao što su bolnice, nema dokaza da je uobičajeno korištenje vode za ljudsku potrošnju izvor infekcije u općoj populaciji. Mjere kontrole, poput uklanjanja organskog ugljika, ograničavanja vremena zadržavanja vode u distribucijskim sustavima i održavanja rezidualnog dezinficijensa, imaju za cilj svesti na najmanju moguću mjeru rast biofilma, a time smanjiti i mogućnost pojave *P. aeruginosa*. Mjerama kontrole koje su dizajnirane da minimiziraju rast biofilma, uključujući uklanjanja organskog ugljika, ograničavanje vremena zadržavanja vode u distribucijskim sustavima i održavanju rezidualnog dezinficijensa, trebalo bi smanjiti pojavnost ovih organizama. Nadalje, Smjernice ističu da se *P. aeruginosa* može procijeniti i određivanjem kolonija heterotrofnih bakterija (HPC), koji ako se određuju zajedno s parametrima kao što su rezidualna dezinfekcijska sredstava mogu ukazati na uvjete koji bi mogli podržati *P. aeruginosa*.

**1.1 *Pseudomonas aeruginosa* i vodoopskrbni sustavi**

Vodoopskrbni sustavi sadrže složene zajednice mikroorganizama, bez obzira radi li se o samoj vodi ili o biofilmu s kojim je voda u kontaktu. Iako obrada vode za piće i dezinfekcija znatno smanjuju rizik od izloženosti štetnim i opasnim mikroorganizmima, oportunistički patogeni (OP) često se otkrivaju u različitim dijelovima vodoopskrbnog sustava. Mnogi od ovih OP, poput *Legionell*a spp., *Mycobacterium* spp., *P. aeruginosa* i neki od *Acanthamoeba* spp., mogu predstavljati značajan rizik za osobe s oslabljenim imunitetom tako što kod pojedinaca mogu uzrokovati manje ili veće zdravstvene probleme i u konačnosti mogu uzrokovati izbijanjem ozbiljnijih infekcija.

*P*. *aeruginosa* je gram-negativna bakterija, obično se nalazi u vlažnim sredinama. *P.* *aeruginosa* uspijeva u okolišima siromašnim hranjivim tvarima s raznim temperaturama i može biti jedna od vrsta u biofilmu, gdje sloj sluzi veže mješovitu populaciju bakterija na površinama. Iako će većina bakterija ostati fiksirana unutar biofilma, neke će se odvojiti što rezultira slobodno lebdećim (planktonskim) oblicima koji mogu uzrokovati kontaminaciju vodenog sloja iznad biofilma.

*P. aeruginosa* formira bioﬁlmove na gotovo svim površinama. Biofilm je složen sloj mikroorganizama koji su se pričvrstili i izrasli na površini razvodnog sustava. Širok je spektar mikroorganizama koji međusobno djeluju i izlučuju egzopolisaharide. Na taj način bakterije i drugi jednostanični organizmi, poput ameba i bičaša, ostaju u zaštićenom stanju. Rast mikroorganizama unutar biofilmova vodoopskrbnih sustava povezan je s korozijom cijevi i prisutnošću različitih elemenata u vodi, te sedimentima u vodoopskrbnim sustavima.

Prisutnost *P. aeruginosa* uglavnom je vezan uz otvore na vodoopskrbnom sustava (npr. slavine) i uglavnom se nalazi unutar zadnja dva metra prije točke ispuštanja vode. Uređaji ugrađeni na ili blizu otvora za slavinu (kao npr. ispravljači protoka - perlatori) mogu pogoršati problem, tako da se na nakupljenom kamencu formira biofilm koji sa svojim hranjivim sastojcima stimulira rast mikroorganizama, pružajući optimalne uvjete za oksidaciju i ispiranje hranjivih sastojaka. Stoga se *P.aeruginosa* (između ostalih) tu vrlo lako može udomaćiti.

Otpornost na biocidni tretman znači da dezinfekcijsko sredstvo može ubiti samo planktonsku populaciju, ostavljajući biofilm u velikoj mjeri netaknutim. Stoga, biofilm može predstavljati značajan rezervoar koji otpušta planktonske stanice *P. aeruginosa* u vodeni stup između tretmana šok-klorom. Dokazano je da *P. aeruginosa* u prisutnosti 1-3 mg/L klora stvara biofilmove koji su zahtijevali šok tretmane klora od 10 mg/L kako bi se smanjila količina biofilma.

**3. UZORKOVANJE I ANALIZA UZORAKA**

Naslage biofilma mogu postojati na vodovodnim materijalima u cijelom vodoopskrbnom sustavu. Tamo gdje je prisutan, većina *P. aeruginosa* naći će se unutar dva metra od točke dovoda vode na izlazu - to jest nakon što voda napusti razvodni sustav.

Iako je većina bakterija zarobljena u biofilmu, dio bakterija će se neprestano oslobađati iz njega u obliku slobodno lebdećih pojedinačnih stanica (planktonski oblici), a dijelovi biofilma se mogu odvojiti u grudice. Broj ovih planktonskih bakterija vremenom će se povećavati u vodi uz biofilm, kada je voda malog protoka ili stagnira, a kada se voda koristi i teče kroz cjevovod ili slavinu koji sadrže biofilm onda će se razrijediti.

Uzorkovanje vode obavlja se prema normi HRN EN ISO 19458:2008-Kakvoća vode-Uzorkovanje za mikrobiološku analizu (ISO 19458;2006; EN ISO 19458:2006).

Učestalost i opseg mikrobiološkog uzorkovanja voda treba odrediti procjenom rizika.

Uzorci se obrađuju prema HRN EN ISO 16266:2008- Kakvoća vode – Detekcija i brojenje *Pseudomonas aeruginosa* - Metoda membranske filtracije (ISO 16266;2006:EN ISO 16266:2008).

**4. RIZIK ZA ZDRAVLJE**

Prisutnost *P. aeruginosa* u vodi za ljudsku potrošnju ne predstavlja opasnost za zdravlje opće populacije. Međutim prepoznat je kao uzročnik intrahospitalnih infekcija, predstavljajući opasnost za osobe oslabljenog imunološkog sustava, u bolnicama, na odjelima za imunokompromitirane pacijente kao primjerice hematologija, okologija, odjeli za dijalizu i sl), te jedinicama intenzivnog liječenja. Često se povezuje s potencijalom izazivanja infekcije u gotovo bilo kojem organu ili tkivu u bolesnika kompromitiranih nekom bolesti, dobi ili imunološkim nedostatkom. Njegov značaj kao patogenog mikroorganizma potenciran je otpornošću na antibiotike, faktorima virulencije i sposobnošću prilagođavanja širokom rasponu okoliša.

Infekcije s *P. aeruginosa* mogu biti povezane s korištenjem vrućih kada, hidromasažnih kada (jacuzzi), bazena, ali se uglavnom javljaju u bolnicama, posebno jedinicama za intenzivnu njegu i to kod pacijenata s kirurškim rezom i kod kojih su korišteni invazivni uređaji. Rizična populacija uključuje novorođenčad, bolesnike s visokim stupnjem neutropenije, bolesnike s teškim opeklinama, bolesnike s invazivnim uređajima (npr. vaskularni i mokraćni kateteri, endotrahealna cijev, respirator) i pacijente s plućnim bolestima kao što su bronhiektazije i cistična fibroza. *P. aeruginosa* može uzrokovati razne infekcije, uključujući pneumoniju, bakteremiju, urosepsu i infekcije rana.

Ovaj potencijal *P. aeruginosa* da u određenim okolnostima uzrokuje ozbiljne infekcije, potaknuo je raspravu o potrebi zakonskog reguliranja *P. aeruginosa* kroz propis o hrani i vodi i u drugim zemljama (npr. SAD) . Zaključeno je da se radi o široko rasprostranjenom mikroorganizmu s kojim je čovjek svakodnevno u kontaktu npr. kroz hranu, poglavito povrće, a u manjoj mjeri putem vode. Zbog ovakve rasprostranjenosti, mjere koje bi se trebale poduzimati u svrhu njegovog uklanjanja iz hrane i vode rezultirale bi stvaranjem nusprodukata dezinfekcije koji su opasniji od samog mikroorganizma. U tom je smislu inicijativa reguliranja *P. aeruginosa* krozpropise vezane za vodu za ljudsku potrošnju ocijenjena kontraproduktivnom jer nema jasne javnozdravstvene koristi.

**5. PRIMJERI POSTUPANJE U SLUČAJU UTVRĐIVANJA *Pseudomonas aeruginosa* PREMA SMJERNICAMA IZ VELIKE BRITANIJE**

*P. aeruginosa se* u vodoopskrbnom razvodnom sustavuuobičajeno javlja na krajevima razvodnog sustava (obično do 2 metra prije slavine) kao posljedica različitih procesa između organske tvari biofilma, mikroorganizama, kisika, mikroelemenata.

Ako su rezultati ispitivanja zadovoljavajući (***Pseudomonas*** *aeruginosa* **nije detektiran**), nema potrebe ponavljati uzorkovanje tijekom razdoblja od šest mjeseci, osim ako nema promjena u komponentama sustava distribucije vode, isporuke ili konfiguraciji sustava (na primjer, preuređenja koja bi mogla dovesti do stvaranja slijepih završetaka) ili promjena u potrošnji vode.

Ako rezultati pokažu količinu od **1–10 cfu / 100 mL,** treba procijeniti rizik upotrebe takve vode. Istovremeno treba obaviti ponovno ispitivanje izljevnog mjesta.

Ako rezultati ispitivanja nisu zadovoljavajući (**> 10 cfu / 100 mL**), daljnje uzorkovanje, zajedno s inženjerskim pregledom razvodnog sustava, može se upotrijebiti za identificiranje problematičnih područja i modifikacije koje se mogu primijeniti za poboljšanje kvalitete vode. Nakon takvih intervencija vodu treba ponovo uzorkovati.



**Slika 1**. Preuzeto iz Health Technical Memorandum 04-01 Addendum: *Pseudomonas aeruginosa* – advice for augmented care units

|  |  |
| --- | --- |
| **Veći broj kolonija *P. aerugionsa* prije ispiranja (>10 cfu/100 mL) i manji broj kolonija poslije ispiranja (<10 cfu/100 mL)** |  **Predstavlja lokalni problem (nedaleko od izljevnog mjesta)** |
| **Veći broj kolonija *P. aerugionsa* prije ispiranja (>10 cfu/100 mL) i veći broj poslije ispiranja (>10 cfu/100 mL)** | **Ne predstavlja lokalni problem već predstavlja problem unutar samog vodoopskrbnog sustava** |

**Tablica 1.** Tumačenje rezultata s obzirom na broj kolonija *P. aeruginosa* prije i poslije ispiranja

U analizi voda osim kvalitativnog utvrđivanja vrste onečišćenja od važnosti je i kvantitativno utvrđivanje kako ostalog mikrobiološkog tako i kemijskog stanja ispitivanog uzorka. Također je bitno da u rješavanju problema sudjeluju stručnjaci koji neće podleći pritisku lokalne politike i koji će znati propisati prave mjere zaštite javnog zdravlja.

**6. ZAKLJUČAK**

Znanstvenici i stručnjaci na svjetskoj razini, kao i stručnjaci okupljeni u Svjetskoj zdravstvenoj organizacija, smatraju da *P. aeruginosa* ne treba regulirati kroz propisivanje MDK vrijednosti u vodi za ljudsku potrošnju. Sukladno tome, niti Europska komisija nije regulirala potrebu praćenja *P. aeruginosa* kroz DWD. Nadalje, važno je istaknuti da niti revidirana DWD, koja je upravo u završnoj fazi pripreme prije usvajanja, ne uključuje praćenje *P. aeruginosa,* za razliku od npr. praćenja *Legioenlla spp*. u prioritetnim objektima.

Kontraproduktivnost mjera uklanjanja *P. aeruginosa* dokumentirana je i na spomenutim vlastitim primjerima uklanjanja *P. aeruginosa* iz vodoopskrbnih sustava na području RH.

S obzirom na izostanak dokaza da uobičajeno korištenje vode za ljudsku potrošnju predstavlja izvor infekcija sa *P. aeruginosa* u općoj populaciji, mišljenja samo da je praćenje *P. aeruginosa* potrebno ograničiti na bolnice i domove za starije i nemoćne, kroz jasno definirane nacionalne smjernice, kao što je praksa u drugim zemljama članicama EU (npr. Francuska, Velika Britanija).

*P. aeruginosa* je trenutno definiran u važećem Pravilniku kao indikatorski pokazatelj s postavljenom MDK vrijednosti od 0 /100 mL. Povisivanjem MDK vrijednost na 10 cfu/100 mL trenutno bi se riješio problem pojavnosti malog broja kolonija npr. u dječjim vrtićima. Međutim, istovremeno bi trebalo i dalje zadržati MDK od 0 cfu/100 ml u bolnicama.

Mišljenja smo da bi do usvajanja nove DWD možda bilo korisno zadržati postojeće stanje. Nakon što se nova DWD usvoji i bude se prenosila u nacionalno zakonodavstvo smatramo da bi se praćenje *P. aeruginosa* trebalo riješiti u dijelu koji se odnosi na procjenu rizika u kućnim/domaćim/internim instalacijama s time što bi se praćenje *P. aeruginosa* ograničilo na bolnice i domove za starije i nemoćne, a za *Legionella* spp. i na ostale objekte kao što su npr. hoteli, kampovi itd. Za oba mikroorganizma bit će potrebno napraviti nacionalne smjernice.

 **LITERATURA**

[1] Department of Health, *Health Technical Memorandum 04-01 - Addendum: Pseudomonas aeruginosa – advice for augmented care units;* DH, Estates & facilities, Quarry Hill 2013.

[2] K. Qin, I. Struewing, J. Santo Domingo, D. Lytle, J. Lu: Opportunistic Pathogens and Microbial Communities and Their Associations with Sediment Physical Parameters in Drinking Water Storage Tank Sediments. *Pathogens* **6** (4) 2017 54

[3] K. D. Mena, C.P. Gerba: Risk Assessment of *Pseudomonas aeruginosa* in Water. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* **20** (2009) 71-115

[4] S. A. Rice et al.: Risk assessment of Pseudomonas aeruginosa in swimming pools. *J. Water Health* **10** (2) (2012) 181-196

[5] HSG282, *The control of legionella and other infectious agents in spa-pool systems*, 1.ed., The Stationery Office, Norwich, 2017.

[6] J. De Victorica, M. Galván: *Pseudomonas aeruginosa* as an indicator of health risk in water for human consumption. *Water Science and Technology*, **43** (2001) 49–52.

[7] C. Hardalo, S.C. Edberg: *Pseudomonas aeruginosa*: Assessment of risk from drinking-water. *Critical Reviews in Microbiology*, **23** (1997) 47–75.