

Hinweise für die Überwachung von Kleinbadeteichen zur Bestimmung von *P. aeruginosa* nach dem DIN EN ISO 16266 Verfahren. Dieses Verfahren ersetzt aus normungstechnischen Gründen die nahezu wortgleiche Textfassung des DIN EN 12780 Verfahrens.

Am 5. Mai 2008 fand im Umweltbundesamt in Zusammenarbeit mit dem Niedersächsischen Landesgesundheitsamt ein Fachgespräch zum Nachweisverfahren für *P. aeruginosa* aus Wasser insbesondere unter dem Aspekt Kleinbadeteiche/Oberflächengewässer statt. Eingeladen waren Fachleute und Vertreter der zuständigen Stellen der Bundesländer.

Im Wesentlichen wurde über zwei Probleme (siehe A, B), die sich bei der Anwendung der o.g. Normen ergeben, gesprochen. Die Ergebnisse führten in der Schwimm- und Badebeckenkommission (BWK) zu folgenden Feststellungen:

A) Die Norm DIN EN 12780 (alt) ist wie auch die DIN EN ISO 16266 (neu) primär für die Zählung von *P. aeruginosa* in abgefülltem Wasser vorgesehen. Auch andere Wasserarten mit geringer Begleitflora können entsprechend dieser Norm untersucht werden. Die Anwendung auf Kleinbadeteiche oder Oberflächengewässer mit störender Begleitflora ist in der Norm dagegen nicht vorgesehen und hat teilweise erhebliche Schwierigkeiten bereitet. So kann es bei solchen Wässern, selbst bei verdünnten Proben, immer wieder zu einem Überwachsen des Membranfilters durch Kolonien kommen, von denen zudem viele im UV-Bereich fluoreszieren oder leuchten. Eine sachgerechte Bearbeitung solcher Proben ist unter üblichen Laborbedingungen nur mit erheblichem Aufwand möglich. Dagegen können Pyocyanin-bildende *P. aeruginosa* (blau-grüne Kolonien) selbst auf Filtern mit störender Begleitflora mit hinreichender Sicherheit erkannt werden.

B) Die Bildung von Ammoniak aus Acetamid reicht als Bestätigungsreaktion für *P. aeruginosa* Bakterien, die aus Proben mit starker Begleitflora stammen und die auf Cetrimid-Agar fluoreszierende Kolonien bilden, allein nicht aus und muss um eine weitere Reaktion ergänzt werden. In der DIN EN 12780 wurde bereits im informativen Anhang, der nicht Teil der Norm war, und in der Empfehlung des UBA/ der BWK (Bundesgesundheitsblatt 7/2007) darauf hingewiesen, dass durch eine Bebrütung bei 42 °C *P. aeruginosa* von anderen Pseudomonaden, insbesondere von *P. fluorescens* und *P. putida* abgegrenzt werden kann. Dies kann auch bei der Untersuchung sauberer Wässer hilfreich sein.

Aufgrund der Ablösung des DIN EN 12780 Verfahrens durch die nahezu wortgleiche DIN EN ISO 16266 konnte im nationalen Vorwort eine Präzisierung vorgenommen werden, die die Kritik an der DIN EN 12780 auffängt und die Bebrütung bei 42 °C zur Differenzierung des *P. aeruginosa* von anderen Pseudomonaden in der DIN EN ISO 16266 verankert.

Trotz dieser Verbesserung bleibt das Problem, dass bei störender Begleitflora das Erkennen insbesondere der nicht blau-grünen Kolonien gestört ist.

Für den Nachweis von *P. aeruginosa* aus Kleinbadeteichen und Oberflächengewässern mit hoher Begleitflora muss daher ein geeignetes Untersuchungsverfahren erarbeitet werden.

Bis zur Vorlage dieses Verfahrens gibt es im Sinne einer Übergangsregelung zwei mögliche Vorgehensweisen:

- Erfassung aller *P. aeruginosa*-Kolonien mit zusätzlichem Bestätigungsschritt Fluoreszierende Kolonien auf Cetrimidagar werden zunächst mittels der Acetamid-Reaktion geprüft. Ammoniak bildende Kolonien werden zusätzlich bei 42°C bebrütet. *P. aeruginosa* muss bei dieser Temperatur wachsen (s. nationales Vorwort zur DIN EN ISO 16266:2007). Dieses Vorgehen löst aber nicht das unter A) genannte Problem der störenden Begleitflora und des damit verbundenen sehr hohen Laboraufwandes.
- Alleinige Zählung der blau-grünen Kolonien Um die hohe Arbeitsbelastung für die Bestätigung der Kolonien bei überwachsenen Filtern zu vermeiden, kann als zweite Vorgehensweise im Sinne einer Übergangsregelung eine alleinige Zählung der blau-grünen (Pyocyanin-bildenden) Kolonien auf Cetrimidagar bei der quantitativen Analyse von Kleinbadeteichwasser und Oberflächenwässern mit hoher Begleitflora erwogen werden. Zur Absicherung kann eine zusätzliche Bestätigung nach B) Absatz 1 sinnvoll sein. Unter bestimmten Bedingungen kann auch der Einsatz eines allgemein anerkannten Identifizierungssystems hilfreich sein. Bei dieser Vorgehensweise ist zu bedenken, dass mit einer Untererfassung von ca. 11% zu rechnen ist (persönl. Mitteilung Heine-meyer). Bei stark bewachsenen Agarplatten besteht jedoch auch bei der ersten Vorgehensweise die Gefahr, dass u.U. nicht alle *P. aeruginosa*-Kolonien erkannt werden. Um eventuelle Defizite bei der Überwachung auszugleichen, kann überlegt werden, die Zahl der Proben zu erhöhen.

Bei der Angabe der Ergebnisse sollte deutlich gemacht werden, welche Vorgehensweise für den Nachweis von *P. aeruginosa* gewählt wurde.