

# Zaštita Jadranskog mora od ispuštanja balastnih voda iz brodova - procjena mikrobiološkog opterećenja Riječke luke

---

**Načinović, Dalan**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2018**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:554175>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-03-17**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U RIJECI  
MEDICINSKI FAKULTET  
DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ  
SANITARNOG INŽENJERSTVA**

Dalan Načinović

**ZAŠTITA JADRANSKOG MORA OD ISPUŠTANJA BALASTNIH  
VODA IZ BRODOVA – PROCJENA MIKROBIOLOŠKOG  
OPTEREĆENJA RIJEČKE LUKE**

Diplomski rad

Rijeka, 2018. god.



SVEUČILIŠTE U RIJECI - MEDICINSKI FAKULTET

**DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ  
SANITARNOG INŽENJERSTVA**

Dalan Načinović

**ZAŠTITA JADRANSKOG MORA OD ISPUŠTANJA BALASTNIH  
VODA IZ BRODOVA – PROCJENA MIKROBIOLOŠKOG  
OPTEREĆENJA RIJEČKE LUKE**

Diplomski rad

Rijeka, 2018. god.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Nastavnom zavodu za javno zdravstvo Primorsko – goranske županije u gradu Rijeci, pod stručnim vodstvom mentorice doc.dr.sc. Darija Vukić Lušić, dipl.sanit.ing. Rad je predan na ocjenu povjerenstvu radi stjecanja zvanja magistra sanitarnog inženjerstva na Medicinskom fakultetu – Rijeka.

## ZAHVALA

Prvenstveno želim se zahvaliti svojoj mentorici doc.dr.sc. Darija Vukić Lušić dipl.sanit.ing. na ukazanom trudu, vremenu i beskonačnom strpljenju te na danim smjernicama i stručnom znanju kojim mi je pomogla pri izradi ovog diplomskog rada. Bez njezine podrške i svesrdne pomoći ovaj rad ne bi ugledao svjetlo dana. Također, zahvalu upućujem i Centru za istraživanje mora (CIM) Instituta “Ruđer Bošković” u Rovinju koji mi je ustupio podatke iz međunarodnog projekta BALMAS za izradu ovog diplomskog rada. Posebnu zahvalnost iskazujem svojoj djevojci, kolegama, kolegicama i svim dragim prijateljima koji su mi bili bezuvjetna podrška i pomoć tijekom svih mojih godina studiranja, na svim lijepim trenucima koje smo proveli zajedno.

Veliko hvala mojoj obitelji koja je vjerovala u mene i koja me poticala da iz dana u dan budem sve bolji. Najljepše hvala mojim roditeljima koji su sve ovo omogućili.

Mentor rada: doc.dr.sc. Darija Vukić Lušić, dipl.sanit.ing.

Završni rad obranjen je dana \_\_28.09.2018.\_\_ u Rijeci na Nastavnom Zavodu za javno zdravstvo Primorsko – goranske županije pred povjerenstvom u sastavu:

1. doc.dr.sc. Željko Linšak, dipl.sanit.ing.doc.

2. dr.sc. Dražen Lušić, dipl.sanit.ing.

3. doc.dr.sc. Darija Vukić Lušić, dipl.sanit.ing.

Rad ima \_\_53\_\_ stranice, \_\_18\_\_ slika, \_\_2\_\_ tablica, \_\_40\_\_ literaturnih navoda.

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 Pomorski promet</b> .....	<b>2</b>
1.1.1 More – medij komunikacije .....	3
1.1.2 More – platforma pomorskih aktivnosti .....	3
<b>1.2 Stabilitet broda</b> .....	<b>4</b>
1.2.1 Balast .....	5
1.2.2 Balastne vode .....	6
1.2.2.1 Tehnički aspekti .....	6
1.2.2.2 Negativni aspekti .....	7
<b>1.3 Zakonska regulativa i propisi</b> .....	<b>8</b>
1.3.1 MARPOL .....	9
1.3.2 Pravilnik o upravljanju i nadzoru balastnih voda (NN 128/2012) .....	10
<b>1.4 Projekt BALMAS</b> .....	<b>11</b>
<b>2 CILJ ISTRAŽIVANJA</b> .....	<b>13</b>
<b>3 PODRUČJE ISPITIVANJA I METODE</b> .....	<b>14</b>
<b>3.1 Područje ispitivanja</b> .....	<b>14</b>
3.1.1 Luka Rijeka .....	14
3.1.2 Okolno područje (kakvoća mora na plažama grada Rijeke od 2009.-2017.) .....	15
<b>3.2 Mikrobiološke metode ispitivanja</b> .....	<b>16</b>
3.2.1 Morska voda .....	16
3.2.1.1 <i>Escherichia coli</i> – EC .....	16
3.2.1.2 <i>Crijevni enterokoki</i> – IE .....	17
3.2.1.3 <i>Clostridium perfringens</i> – CP .....	18
3.2.1.4 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> – PA .....	18
3.2.1.5 <i>Staphylococcus aureus</i> – SA .....	18
3.2.1.6 <i>Salmonella</i> spp. ....	19
3.2.1.7 <i>Shigella</i> spp. ....	20
3.2.1.8 <i>V. cholerae</i> .....	21
3.2.2 Sediment .....	23
<b>3.3 Statistička obrada rezultata</b> .....	<b>23</b>
3.3.1 Korelacijska analiza .....	24
3.3.2 Mann-Whitney U test .....	24
3.3.3 Kruskal-Wallis H test .....	24

<b>4</b>	<b>REZULTATI.....</b>	<b>25</b>
4.1	Vremenske varijacije – sezone .....	25
4.1.1	Vodeni stupac .....	25
4.1.2	Sediment.....	28
4.2	Prostorne varijacije – lokacije.....	30
4.2.1	Vodeni stupac .....	30
4.2.2	Sediment.....	32
4.3	Vodeni stupac vs sediment.....	34
4.4	Luka Rijeka vs okolno područje .....	35
4.5	Proširena mikrobiološka analiza .....	37
4.6	Korelacijska analiza .....	40
<b>5</b>	<b>RASPRAVA .....</b>	<b>42</b>
<b>6</b>	<b>ZAKLJUČCI.....</b>	<b>48</b>
<b>7</b>	<b>LITERATURA .....</b>	<b>49</b>



## SAŽETAK

Sustavno praćenje kakvoće morske vode predstavlja izniman javnozdravstveni značaj za Republiku Hrvatsku, koja svoj gospodarski razvoj temelji na turizmu. U ovom radu ispitivano je mikrobiološko opterećenje Luke Rijeka, kao najveće hrvatske luke sjevernog Jadrana. U razdoblju od 11.09.2014. do 11.11.2015. godine, provedeno je sedam uzorkovanja mora i sedimenta u Luci Rijeka na 4 lokacije: LRI01, LRI04, LRI05 i JPG28. Osim na pokazatelje propisane Pravilnikom o upravljanju i nadzoru balastnih voda (NN 128/2012), *E. coli*, enterokoke i *V. cholerae* (O1 i O139), ispitani su i dodatni mikrobiološki pokazatelji:

*C. perfringens*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Salmonella* spp, *Shigella* spp i enterovirusi.

Rezultati ispitivanja pokazali su da nema značajnih sezonskih varijacija (uz najopterećenije zimsko razdoblje). Najveća mikrobiološka opterećenost utvrđena je kod lokacija LRI01 i LRI04. U vodi je koncentracija *E. coli* 2,5 puta, a enterokoka 1,5 puta veća u odnosu na sediment (log cfu 100/g). Na prostoru Luke Rijeka koncentracije indikatora fekalnog onečišćenja gotovo su dva reda veličine veće u odnosu na okolno područje. Od dodatnih mikrobioloških pokazatelja najveći broj utvrđen je za *C. perfringens*, čija je koncentracije u sedimentu veća nego u vodi. *P. aeruginosa* javlja se u manjem broju (veća koncentracije u vodi nego u sedimentu), a *S. aureus* je prisutan u najmanjem broju (samo u vodi, dok u sedimentu nije dokazan). *Salmonella* spp dokazana je u 29 % ispitanih uzoraka vode (8/28). *Shigella* spp i enterovirusi nisu utvrđeni u niti jednom uzorku. Rezultati istraživanja ukazuju kako na prostoru Luke Rijeka postoji stalan izvor fekalnog onečišćenja zbog čega ne dolazi do sezonskih varijacija u broju fekalnih bakterija te kako zbog toga veliki broj uzoraka morske vode nije sukladan sa propisanim kriterijima. Rezultati pokazuju promjenjivu, ali značajnu fekalnu onečišćenost morske vode i sedimenta na prostoru Luke Rijeka.

**Ključne riječi:** balastne vode, Luka Rijeka, Jadran, mikrobiološki pokazatel

## SUMMARY

Systematic monitoring of sea water quality represents exceptional public health importance for the Republic of Croatia, whose economic development is based on tourism. In this paper, the microbiological load of Luke Rijeka, as the largest Croatian port of the northern Adriatic, was examined. In the period from 11.09.2014. to 11.11.2015. ,seven sea water and sediment sampling were carried out at port of Rijeka on 4 locations: LRI01, LRI04, LRI05 and JPG28. Except for the indicators prescribed by the Ordinance on ballast water management and control (NN 128/2012), *E. coli*, *Enterococci* and *V. cholerae* (O1 and O139), there were also investigated additional microbiological indicators: *C. perfringens*, *P. aeruginosai* *S. aureus*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* Enteroviruses. The test results showed that there are no significant seasonal variations (with the most loaded winter period). The highest microbiological load was found at locations LRI01 and LRI04. The water concentration of *E. coli* is 2.5 times, and the *enterococci* is 1.5 times higher than the sediment (log cfu 100 / g). In the area of port of Rijeka concentrations of indicators of fecal contamination are almost two orders of magnitude larger than the surrounding area. Of the additional microbiological indicators, the highest number was found for *C. perfringens*, whose concentrations in the sediment are higher than in the water. *P. aeruginosa* appears in a smaller number (higher concentrations in water than in sediment), and *S. aureus* is present in the smallest number (only in water, while in the sediment it has not been proved). *Salmonella spp* was detected in 29% of the tested water samples (8/28). *Sgihella spp* and enteroviruses were not detected in any sample. The results show that there is a constant source of fecal pollution in the area of port of Rijeka, which is why seasonal variations in the number of fecal bacteria do not occur, and therefore a large number of sea water samples do not comply to the prescribed criteria. The results show changeable but significant fecal contamination of sea water and sediment in the area of port of Rijeka.

**Key words:** Ballast water, port of Rijeka, Adriatic, microbiological indicator

## 1. UVOD

Novi podaci i znanje o morskom okolišu pomažu nam sagledati more kao cjelinu, mjesto u kojem se kontinuirano odvijaju često vrlo složeni, povezani ili međusobno isprepleteni prirodni procesi, koji u konačnici imaju dalekosežan utjecaj na život ljudi.

Čovječanstvo je na svom evolucijskom putu kroz povijest postupnim razvitkom pomorstva savladalo zakonitosti plovidbe, koje su povećale domet putovanja i omogućile razvoj svjetske pomorske trgovine. Povezanost mora i čovjeka posebno je izražena kod primorskih naroda, kao što je recimo slučaj sa velikim dijelom hrvatskog stanovništva (Istra, Kvarner, otoci, sjeverna, srednja i južna Dalmacija) čija je povijest, sadašnjost ali nedvojbeno i budućnost obilježena morem te događajima i aktivnostima vezanim uz more. Koliki je značaj i utjecaj mora na globalnoj razini možda najbolje predočuje podatak kako pomorski promet predstavlja osnovu nacionalnog prosperiteta svake razvijene države svijeta. Upravo promet svjetskim morima i oceanima predstavlja temeljni čimbenik u povezivanju svijeta u jedinstvenu gospodarsku i ekonomsku cjelinu. Međutim, globalno povezivanje ljudi i roba, donosi i određene negativne aspekte, a koji se prvenstveno odnose na onečišćenje okoliša. Aktivnosti vezane uz more, kao što su iskorištavanje morskih i podmorskih i, pomorski promet, potrebno je provoditi na način koji neće trajno štetno djelovati na okoliš.

Klimatske promjene usko su povezane s pomorskim prometom i iskorištavanjem morskih resursa. Navedene aktivnosti samostalno mogu prouzročiti neželjeni negativan utjecaj na okoliš (npr. onečišćenje), no također, i klimatske promjene mogu značajno utjecati na obje aktivnosti (npr. otvaranje novih pomorskih ruta, ekstremne vremenske prilike).

Cilj ovog diplomskog rada bio je procijeniti mikrobiološko opterećenje na prostoru Luke Rijeka, te procijeniti značaj balastnih voda, koje u suvremenom pomorskom prometu imaju važnu ulogu.

## 1.1 Pomorski promet

Promet svjetskim morima i oceanima predstavlja najvažniji oblik prometa roba na Zemlji te obuhvaća oko 80% globalne trgovine. [1] Iz tog razloga pomorski promet predstavlja glavnu pokretačku snagu koja postaje nositelj trgovinske razmjene na svjetskoj razini.

Budući da se danas glavina sveukupnog međunarodnog prometa roba odvija morskim pravcima, intenzitet, struktura, količine, dinamika i smjerovi pomorskih robnih pravaca postaju relevantnim mjerilom tj. pokazateljem koncentracije i učinkovitosti globalnog prometa.

Pomorski promet nam ukazuje na smještaj i značaj određenog svjetskog centra potrošnje i proizvodnje, odnosno središta gospodarskog razvoja. Također nas upućuje na to kakva je međunarodna raspodjela rada te kakav je gospodarski stupanj razvijenosti pojedine države. Zbog toga je od velike važnosti ustanoviti aktualno stanje, a zatim i pokušati izraditi prognozu budućih morskih trgovačkih puteva te dijagnosticirati postojeće i možebitne buduće ekološke probleme koji su povezani sa ovakvom vrstom gospodarske aktivnosti.

Kako bi mogao iskoristiti prirodna dobra koje mu je more pružalo čovjek je u početku počeo razvijati primitivne djelatnosti (ribarstvo, spužarstvo, koraljarstvo) koje su koristile more kao prirodan izvor bogatstva. Na taj si je način čovjek osigurao izvor hrane (ribe, školjke, alge, rakovi, puževi, glavonošci), izvor materijala (koralji, spužve, alge) za izradu korisnih predmeta te izvor soli kao sredstva za konzerviranje hrane. [2] U suvremeno doba čovjek sve više počinje koristiti resurse iz mora pa se osim već navedenog more počinje koristiti za proizvodnju kuhinjske soli, eksploataciju zemnog plina, nafte, bakra, mangana i drugih ruda. Uz more se počinju razvijati različite vrste turizma dok se u samom moru razvija marikultura.[2]

Iako je more oduvijek imalo bitnu ulogu u životu ljudi te se tijekom povijesti ta uloga povećala, smatra se da bi u budućnosti uloga mora mogla postati presudna za opstanak čovjeka na zemlji. Suvremenim načinom života čovjek je u mnogim segmentima onečistio prirodu, uključujući i resurs pitke vode. Ukoliko se trendovi ne promjene, za očekivati je da čovječanstvo ostane uskraćeno za dovoljne količine pitke vode, te bi u tom slučaju desalinizacija mora predstavljala alternativu.

### **1.1.1 More – medij komunikacije**

Komunikacija morima i oceanima u početku bila kratka i teška jer se zasnivala isključivo na snazi čovjeka. No čovjek postupno napreduje u svom razvoju, upoznaje snagu prirodnih sila (vjetra) što mu pomaže u širenju vidika i otkrivanju novih i nepoznatih krajeva i ljudi. Razvojem pogonskih tehnologija komunikacija putem mora se sve više razvija i dobiva na ekonomskoj vrijednosti. Navigacija morskim putevima sve je sigurnija što pojednostavljuje i olakšava komunikaciju.

Razvojem tehnologije u brodarstvu dolazi do ubrzanog razvoja djelatnosti koje koriste more kao medij komunikacije, poput brodarstva i pomorske trgovine te brodogradnje, ratne vojne mornarice te održavanja kanalske, lučke i sigurnosne infrastrukture, kao i nautički turizam, čiji je procvat jasno povezan sa pojavom masovnog turizma. [2]

### **1.1.2 More – platforma pomorskih aktivnosti**

Svjetsko more osim što služi kao osnovna platforma za obavljanje najznačajnijih pomorskih aktivnosti također predstavlja i prirodni put koji povezuje svih šest naseljenih kontinenata na Zemlji u jednu cjelinu. Upravo zbog toga svjetska mora predstavljaju uz zrakoplovni promet najznačajniji oblik međusobnog povezivanja kontinenata. Još jedna važna činjenica koja utječe na konkurentnost pomorskog prometa u odnosu na sve ostale vrste prometa jest to što za obavljanje ove vrste prometa nije potrebna izgradnja zahtjevne infrastrukture.

Naime, pomorski promet osim izgradnje terminala (luka) ne zahtjeva nikakvu ostalu infrastrukturu što ga danas čini najjeftinijom vrstom prometa u svijetu.

Osim toga, ekonomskoj isplativosti pomorskog prometa pridonose i veliki prijevozni kapaciteti brodova. [2]

Načelno, pogodnosti pomorskog prometa dostupne su ljudima iz svih zemalja svijeta, premda, naravno, prednost imaju zemlje sa direktnim izlazom na more. Posebne pogodnosti imaju one države koje imaju veću razvedenost svoje morske obale te zemlje sa izlazom na takozvana topla mora. Zemlje koje nemaju direktan izlaz na otvoreno more (Austrija, Švicarska,...) na različite načine postaju ovisne o zemljama preko kojih ostvaruju vezu sa ostatkom svijeta. Te zemlje potpisivanjem posebnih ugovora ostvaruju pravo na korištenje tranzitnih luka. [2] Neke su zemlje upravo zahvaljujući položaju svojih luka na prometnim morima postale svjetske velesile (Velika Britanija). Najveće europske luke (London, Rotterdam, Amsterdam) sagrađene su upravo na ušćima velikih europskih rijeka što ih čini savršenim nastavkom prirodnog vodenog puta. [1] Na taj način omogućen je efikasan, nesmetan, brz i jeftin protok ljudi i roba.

## **1.2 Stabilitet broda**

Stabilnost broda odnosno stabilitet broda je svojstvo koje omogućuje brodu da zadrži uspravan položaj pri svim uvjetima plovidbe. Zbog raznih okolnosti brod se tijekom same plovidbe ili tijekom boravka na vezu naginje oko osi. Naginjanje broda oko uzdužne osi je najosjetljivije jer se tako brod najviše izlaže riziku od prevrtanja. Dakle, svojstvo ili sposobnost broda da se odupire silama koje ga pokušavaju prevrnuti, te da se automatski vrati u uspravan položaj odmah po završetku djelovanja takvih sila naziva se stabilitetom broda. [3] Kada brod uronimo u vodu (more), na njega će početi djelovati sile uzgona i težine. Sila uzgona djeluje okomito prema gore dok težina djeluje suprotno odnosno u smjeru okomito prema dolje.

Brod će plivati sve dok je sila uzgona veća od njegove težine, tj. ako je lakši od težine istisnute vode. Brod će dakle plivati dok god je težina cijelog broda jednaka težini vode koju je uronjeni dio broda istisnuo.[3]

Za sigurnost i stabilnost broda potrebno zadovoljiti nekoliko osnovnih uvjeta plovnosti:

1. Brod će plivati ako mu je prosječna gustoća manja od gustoće tekućine u koju je uronjen
2. Sila uzgona i sila težine moraju biti u ravnoteži
3. Brod mora posjedovati stabilnu ravnotežu
4. Sila uzgona i sila težine moraju se nalaziti na istome pravcu koji je vertikalalan na teretnuvodenu liniju.[3]

### **1.2.1 Balast**

Plovidba i stabilnost brodova nezamisliva je bez balasta. Ovdje je zapravo riječ o masi (balastu) koja se dodaje u brodske balastne tankove kako bi se stvorilo određeno opterećenje i ravnoteža samoga broda. [4]

Korištenje balasta donosi brojne pogodnosti za samu plovidbu i stabilnost broda u cjelini. Neki od prednosti korištenja balasta jesu: smanjenje dinamičkog i statičkog opterećenja broda tijekom vremena kada je brod prazan, a važnu ulogu ima i tijekom same plovidbe pri čemu smanjuje otpore koji se javljaju. Još jedna prednost upotrebe balasta očituje se u vidu sniženja težišta broda kako bi mu se na taj način povećala stabilnost tijekom plovidbe. Tankovi za dodavanje balasta mogu biti smješteni na dnu broda (središnji) ili se mogu nalaziti na bočnim stranama broda. Balastna se masa dakle ukrcava u brodove radi postizanja stabilneta i smanjenja naprezanja broda te zbog kontrole nagiba i gaza.

U prošlosti su brodovi kao masu za balast koristili drvo, pijesak i kamenje dok se krajem 19. stoljeća počinje koristiti voda. Princip korištenja balasta zapravo je vrlo jednostavan, kada brod iskrca svoj teret, ukrcat će balastnu masu i obrnuto.

Početak korištenja vode kao balastne mase krajem 19. stoljeća značajno je olakšan, pojednostavljen i pojeftinjen postupak izmjene balasta. No nažalost osim navedenih prednosti pri korištenju vode kao balastne mase, pojavili su se i problemi u vidu onečišćenja izazvanih upravo izmjenom takvih balastnih voda.

## **1.2.2 Balastne vode**

Balastne vode ili vodeni balast je masa u ovome slučaju morske vode koju brodovi ukrcavaju usvoje balastne tankove kako bi postigli stabilnost, te povećali dubinu gaza kod plutajućeg ili plovnog objekta-broda. Na taj se način olakšava upravljanje brodom tijekom same plovidbe. Vodeni se balast kao tip balastne mase počeo koristiti paralelno sa pojavom prvih brodova čiji su trupovi bili izgrađeni od čelika, otprilike prije 130 godina. Vodeni se balast obično ukrcava u luci u kojoj brod vrši iskrcaj svog tereta, a ispušta se najčešće u sljedećoj luci u kojoj će brod ukrcati svoj sljedeći teret. Količina vodenog balasta koju brod može primiti ovisit će o veličini i tipu samoga broda.

### **1.2.2.1 Tehnički aspekti**

Kao što je već spomenuto u prijašnjem tekstu osnovna je svrha balastne mase odnosno balastne vode poboljšati tehničke karakteristike broda. Upumpavanjem balastnih voda u balastne tankove koji se nalaze unutar broda, brod dobiva na stabilnosti poprečnog i uzdužnog nagiba. Zatim, smanjuje se naprezanje trupa broda tijekom plovidbe, kompenzira se promjena težine u različitim nivoima broda do koje dolazi zbog potrošnje pitke vode i goriva. Također korištenjem balastnih voda poboljšava se i pogon, a sve to dovodi do boljih manevarskih karakteristika čime se postiže lakša upravljivost broda.

U suvremeno doba korištenje balastnih voda u očuvanju strukturnog integriteta i stabilnosti modernih vrsta brodova od ogromne je važnosti za pomorski promet.



Tome u prilog govori i podatak kako u svijetu godišnje brodovi ukupno prevezu više od 12 milijardi tona balastnih voda. [5] Tako velike količine morske vode koje se koriste kao balastna masa, osim što sa tehnološkog aspekta donosi velike prednosti pomorskoj trgovini i pomorskom prometu uopće, također za posljedicu ima ekološko onečišćenje mora koje se očituje kroz ekspanziju agresivnih invazivnih vrsta koje balastnim vodama bivaju ispuštene u novi ekosustav.

### **1.2.2.2 Negativni aspekti**

Problem do kojeg dolazi korištenjem vodenog balasta prvi je puta zabilježen davne 1903. godine kada su u Sjevernome moru pronađene tropske alge kremenjašice. No međutim njihov negativan utjecaj na postojeću zajednicu biljaka i životinja nije bio uočen sve do pred kraj 20. stoljeća. [6]

Na svu složenost i ozbiljnost ovog rastućeg ekološkog problema s kojim se danas susreću gotove sve pomorske države svijeta najbolje ukazuje podatak kako se u samo 1 m<sup>3</sup> odenog balasta može nalaziti između 3.000 – 10.000 različitih morskih organizama. [5] Kada tu brojku pomnožimo s kapacitetom balastnih tenkova u suvremenim preookeanskim brodovima koji se mjeri u tisućama tona, dolazimo do ogromnog broja morskih organizama koji se svakodnevno prevoze iz svog domicilnog staništa u neke nove ekosustave. Uslijed sve većeg broja plovila koja plovo svjetskim morima, i zbog sve bolje prometne povezanosti svjetskih luka, posljedično dolazi do eksponencijalnoga rasta broja neautohtonih biljnih i životinjskih vrsta. Neki od najčešćih organizama koji se nalaze u balastnim vodama su: ribe, rakovi, puževi, školjke, alge, bakterije, virusi te ličinke i ciste.

Određeni dio navedenih morskih organizama ne preživi prolaz kroz balastni sustav broda (balastne pumpe, filtere, ventile, usisne rešetke i uvijete koji vladaju u balastnim tankovima).[5]

Dio organizama koji u sedimentu ili tankovima preživi, biva ispušten u novi ekosustav, nerijetko na drugom kraju svijeta. Morski organizmi koji su na ovaj način ispušteni u akvatorij u kojem nisu autohtoni mogu lako postati vrlo opasni za sredinu u kojoj su se našli. Negativan ekološki utjecaj novo unesenih vrsta biljaka i životinja prvenstveno se očituje u tome što je strana flora i fauna u „moru domaćinu „puno agresivnija od prirodno prisutnih autohtonih vrsta. Zbog izostanka prirodnih predatora strane vrste počinju dominirati u novom ekosustavu što dovodi do smanjenja bioraznolikosti tog prostora.

Smanjenje biološke raznolikosti na nekom prostoru sa sobom povlači i druge negativne posljedice. Jedan od takvih negativnih utjecaja je svakako ekonomski. Do njega dolazi jer morski organizmi uneseni balastnim vodama uzrokuju štetu u turizmu, obalnoj industriji i ribarstvu. Međutim, pored svega navedenog jedan od najvećih rizika korištenja balastnih voda je mogući štetan utjecaj na zdravlje ljudi. Naime, balastnim vodama mogu se širiti toksični patogeni organizmi. Toksične alge prenijete ovim putem pri povoljnim uvjetima mogu cvjetati, te lako dospjeti u školjkaše, koji se njima hrane filtrirajući more. Konzumacija takvih školjkaša izazvat će kod ljudi trovanje, budući alge ispuštaju toksine. Osim trovanja, konzumacija toksičnih organizama kod čovjeka može izazvati i brojne druge negativne posljedice kao što su: pad obrambenog sustava, hormonalni disbalans, oštećenja pri porođaju, promjene u rastu, genske promjene, tumore, pa čak i smrt.

### **1.3 Zakonska regulativa i propisi**

Budući da su se kroz godine praćenja balastne vode prepoznate kao vektor prijenosa štetnih organizama i patogena u morskom ekosustavu, sukladno tome pojavila se potreba za regulacijom korištenja balastnih voda. [7] Zbog toga je Međunarodna pomorska organizacija je 2004. godine donijela Međunarodnu konvenciju o nadzoru i upravljanju brodskim balastnim vodama i sedimentom (International Convention on the Management of Ships' Ballast Water and Sediments). [8]

Bio je ovo prvi korak prema reguliranju ovog područja. Međutim to nije bila prva Međunarodna konvencija kojom se pokušalo spriječiti onečišćenje mora. Prethodila joj je na primjer Međunarodna konferencija iz 1973.godine, održana u Londonu gdje je i usvojena Konvencija o sprečavanju onečišćenja mora sa brodova.

### **1.3.1 MARPOL**

Na Međunarodnoj konferenciji o onečišćenju mora održanoj u Londonu u razdoblju od 8.listopada do 2. studenog 1973. godine donesena je Konvencija o sprečavanju onečišćenja mora sa brodova – MARPOL (u daljnjem tekstu MARPOL). MARPOL je tijekom godina doživio izmjene i nadopune pa tako u sadašnjoj formi sadrži dva Protokola i 6 Priloga.

Protokoli:

1. Protokol I – Odredba o izvještavanju o nezgodama s štetnim tvarima
2. Protokol II – Arbitraža

Prilozi:

- Prilog I – Pravila o sprečavanju onečišćenja uljem
- Prilog II – Pravila o sprečavanju onečišćenja štetnim tekućim tvarima koje se prevoze u trupu
- Prilog III – Pravila o sprečavanju onečišćenja štetnim tvarima u pakiranom obliku
- Prilog IV – Pravila o sprečavanju onečišćenja fekalijama
- Prilog V – Pravila o sprečavanju onečišćenja otpacima
- Prilog VI – Pravila o sprečavanju onečišćenja zraka s brodova [9]

Uviđajući potrebu za zaštitom i očuvanjem okoliša, a s posebnim naglaskom na očuvanje morskog okoliša 1973. godine donijet je MARPOL kao svojevrsan nastavak i nadopuna Međunarodne konvencije o sprečavanju onečišćenja mora uljem iz 1954. godine.

Konvencija je pružila velik i značajan doprinos u očuvanju obalnog i morskog okoliša od onečišćenja. Do kojeg može doći zbog namjernog, slučajnog ili nemarnog ispuštanja štetnih tvari sa brodova u more.

S ciljem da se onečišćenje mora izazvano slučajnim ispuštanjem svede na najmanju moguću mjeru, a namjerno onečišćenje potpuno ukloni, bilo je potrebno donijeti novi skup pravila, obavezujuća za sve stranke koje sudjeluju u pomorskom prometu. U želji da se zadani cilj i ostvari donesen je MARPOL.

Za razliku od prijašnjih konvencija, MARPOL je donio niz novih proširenih pravila koja se nisu ograničila samo na onečišćenja izazvana uljem, već i ostale vrste onečišćenja, čime je zaštita mora i morskog okoliša podignuta na novu višu razinu.

### **1.3.2 Pravilnik o upravljanju i nadzoru balastnih voda (NN 128/2012)**

Osim dosad navedenih međunarodnih zakonskih propisa i regulativa postoje naravno i druge koje su propisane od strane pojedinih zemalja na čijem se teritoriju prevoze i ispuštaju balastne vode. Za teritorij Republike Hrvatske, Ministarstvo pomorstva, prometa i infrastrukture donijelo je uz suglasnost ministra zaštite okoliša i prirode Pravilnik o upravljanju i nadzoru balastnih voda (NN 128/2012). [10]

Navedeni pravilnik donesen je s ciljem da se na teritoriju Republike Hrvatske unaprijedi zaštita okoliša utvrđivanjem općih načela i postupaka upravljanja i nadzora brodskim balastnim vodama i talozima u brodovima, dok plove u unutarnjim morskim vodama, teritorijalnom moru i zaštićenom ekološko – ribolovnom pojasu Republike Hrvatske, kao i na brodovima hrvatske državne pripadnosti neovisno o tome gdje plove. Osim općih odredbi, Pravilnik također sadrži objašnjene i definira ključne izraze koji su bitni za razumijevanje Pravilnika. Nadalje Pravilnik predviđa preventivne mjere, opće obaveze, prijavu balastnih voda, izuzeća, inspekcijski nadzor te dužnosti posade. [10]

## 1.4 Projekt BALMAS

Međunarodni strateški projekt akronima BALMAS ili svojim punim nazivom Ballast Water Management System for Adriatic Sea Protection je kao što mu i sam naziv sugerira osmišljen kao projekt koji će povezivati znanstvena istraživanja Jadrana, stručnjake i odgovorne nacionalne institucije da bi se uklonio neželjeni rizik po okoliš i ljude prijenosom HAOP kroz kontrolu i upravljanje brodskim balastnim vodama. Uočena je potreba za prekograničnom suradnjom u rješavanju ovoga problema zbog specifičnosti, podijeljenosti, ranjivosti, ekonomske važnosti i poluzatvorenog oblika Jadranskog mora.

Jadransko je more vrlo osjetljivo i jedinstveno područje. Jadransko more je poluzatvoreno more, ograničene izmjene vode s drugim morima, što ga čini izuzetno osjetljivim na bilo koji oblik zagađenja, unos alohtonih vrsta, a time i na sve opasnosti koje prijete od balastnih voda. Ekonomski i društveni razvoj priobalnih država značajno ovisi o čistom i očuvanom Jadranu. Jadransko more ne samo da predstavlja pomorski pravac kojim se koriste međunarodni brodovi u transportu dobara u ili iz Europe već je i mjesto intenzivnog lokalnog prometa. Jadran je more koje posjeduje karakteristična morfološka i hidrografska obilježja što ovo područje čini bitno drugačijim u odnosu na ostatak Sredozemnog mora. Jadransko je more reprodukcijски vrlo aktivno područje, sa jednim od najbogatijih „bazena“ na Mediteranu. Upravo iz tog razloga novo unesene vrste ovdje pronalaze izrazito povoljne uvjete za razmnožavanje i daljnje širenje. Unos novih neautohtonih vrsta i patogena korištenjem brodskih balastnih voda predstavlja problem koji zabrinjava.

Volumen balastnih voda koji se ispusti u lukama Jadrana je više od 9,5 milijuna tona godišnje.[11]Uzimajući u obzir porast pomorske trgovine taj bi se broj ubrzo mogao i znatno povećati. U Europi se za praćenje utjecaja ne autohtonih vrsta godišnje potroše bilijarde eura, a više od 9.000 ne autohtonih vrsta je zabilježeno u Sredozemnom moru. Najviše u odnosu na sva ostala europska mora.

Do sada je u Jadranskom moru zabilježeno 70 alohtonih vrsta, a za većinu se zna da su ovdje dospjele balastnim vodama. Od tih vrsta, 12 se nalazi na listi „100 najgorih“.[8] Vrijednost projekta premašuje iznos od 7,5 milijuna eura. [12]

Jadranske zemlje priznaju kako je problem balastnih voda vrlo složen i kritičan te kako je ključna prepreka u postupku ispunjavanja zahtjeva nedostatak podataka i znanja. Zajednički pristup svih uključenih zainteresiranih strana je ključan u rješavanju ovog problema.

Projekt BALMAS je namijenjen pronalaženju praktičnih rješenja za upravljanje balastnim vodama u Jadranskom moru. Projekt uključuje 17 partnera iz 6 zemalja koje imaju izlaz na Jadransko more: Italija, Slovenija, Hrvatska, Crna Gora, Bosna i Hercegovina i Albanija. [8]

Voditelj cjelokupnog projekta je Slovenski institut za vode, dok su Hrvatski partneri u projektu uz Ministarstvo pomorstva, prometa i infrastrukture još i Sveučilište u Dubrovniku, Hrvatska udruga poslodavaca-brodara u međunarodnoj plovidbi Mare Nostrum, Centar za ispitivanja mora Instituta Ruđer Bošković i Institut za oceanografiju i ribarstvo Split. [13]

## **2 CILJ ISTRAŽIVANJA**

Cilj provedenog istraživanja bio je da se temeljem rezultata koji su dobiveni iz međunarodnog projekta BALMAS procijeni mikrobiološko opterećenje morske vode i sedimenta Luke Rijeka. Uspoređene su vrijednosti na ispitivanim mjernim postajama unutar Luke Rijeka.

Također prikazana je razlika između Luke Rijeka i njezinog okolnog područja, koje uključuje kupališnu zonu, sezonske varijacije praćenih pokazatelja te razlike u vrijednostima između vodenog stupca i sedimenta.

### **3 PODRUČJE ISPITIVANJA I METODE**

Podaci za izradu rada dobiveni su od Centra za istraživanje mora (CIM) Instituta “Ruđer Bošković” u Rovinju. Podaci i materijali potječu iz međunarodnog strateškog projekta BALMAS koji je trajao od 1.11.2013 – 31.3.2016 godine. Projekt je uključivao 17 partnera iz 6 zemalja koje imaju izlaz na Jadransko more: Italija, Slovenija, Hrvatska, Crna Gora, Bosna i Hercegovina i Albanija. Uzorkovanje je provedeno u dvanaest luka (Bari, Ankona, Venecija, Trst, Koper, Pula, Rijeka, Šibenik, Split, Ploče, Bar i Drač) na obali Jadranskog mora (slika br. 30).

Odabrane luke su se razlikovale prema prosječnom volumenu prometa i prema volumenu izmijenjenih balastnih voda. U luci Rijeka (Hrvatska) bile su četiri mjerne postaje; tri unutar luke (LRI01, LRI04, LRI05) i jedna izvan luke (JPG28). Za određivanje fekalnih bakterija (u daljnjem tekstu FB), uzorci površinske morske vode prikupljeni su u svakoj luci pomoću sterilnih posuda (kapaciteta 1 litre) ili bočice Niskin (kapacitet 5-12 L), dok su uzorci sedimenta skupljeni pomoću bušilice. Nakon sakupljanja, sloj sedimenta površine (0-2 cm) je prenesen u sterilne cijevi kapaciteta 50-100 ml (tri ponavljanja za svako uzorkovanje).

Radovi uzorkovanja provedeni s malih istraživačkih brodova. Odmah nakon sakupljanja, uzorci su odneseni u laboratorij i obrađeni u roku od nekoliko sati od uzorkovanja.

#### **3.1 Područje ispitivanja**

##### **3.1.1 Luka Rijeka**

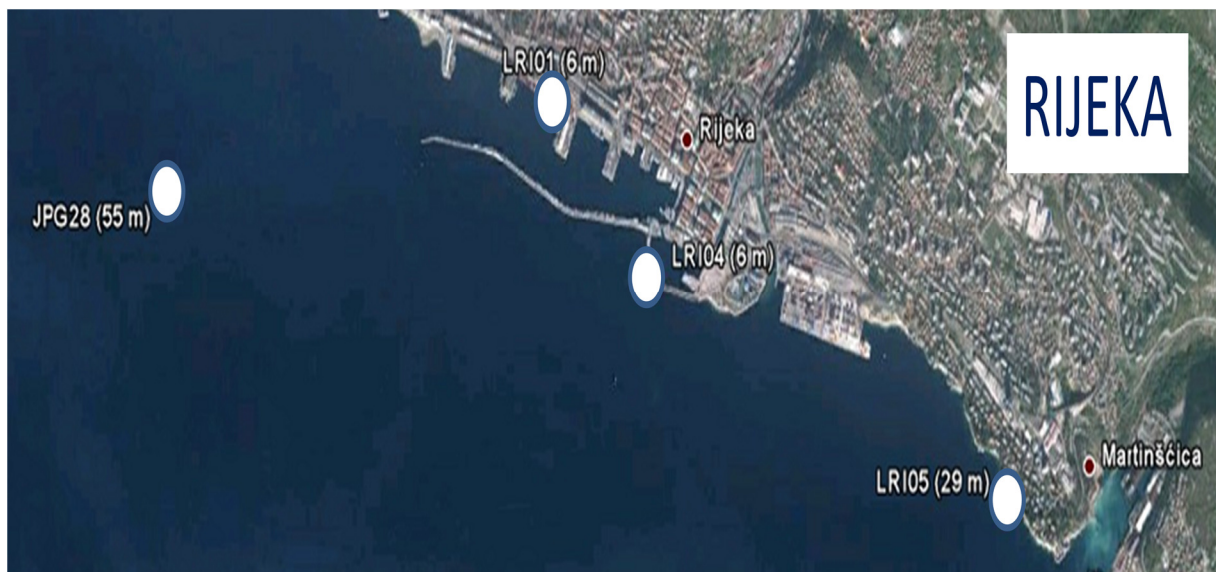
Podaci dobiveni iz Centra za istraživanje mora (CIM) Instituta “Ruđer Bošković” u Rovinju za izradu diplomskog rada odnose se na područje Luke Rijeka u kojoj je u sklopu međudržavnog projekta BALMAS provedena procjena mikrobiološkog opterećenja.

Radi se o projektu koji objedinjuje sve aktivnosti koje su potrebne za učinkovitu i dugoročnu zaštitu Jadranskog mora od negativnih posljedica unosa štetnih alohtonih vrsta balastnim



vodama. Luka Rijeka odabrana je kao jedna od najprometnijih i najznačajnijih luka na sjevernom dijelu Jadranskog mora. Na slici 1 vidimo 4 odabrane lokacije LRI01 (6m), LRI04 (6m), LRI05 (29m) i JPG28 (55m) na kojima su uzimani uzorci.

Istraživanje je provedeno od 11.09.2014. do 11.11.2015. Razdoblja uzorkovanja bila su proljeće (ožujak 2015.), ljeto (srpanj 2015.), jesen (listopad do studeni 2014. i listopad do studeni 2015.) i zima (od prosinca 2014. do veljače 2015.).



Slika 1. : Luka Rijeka

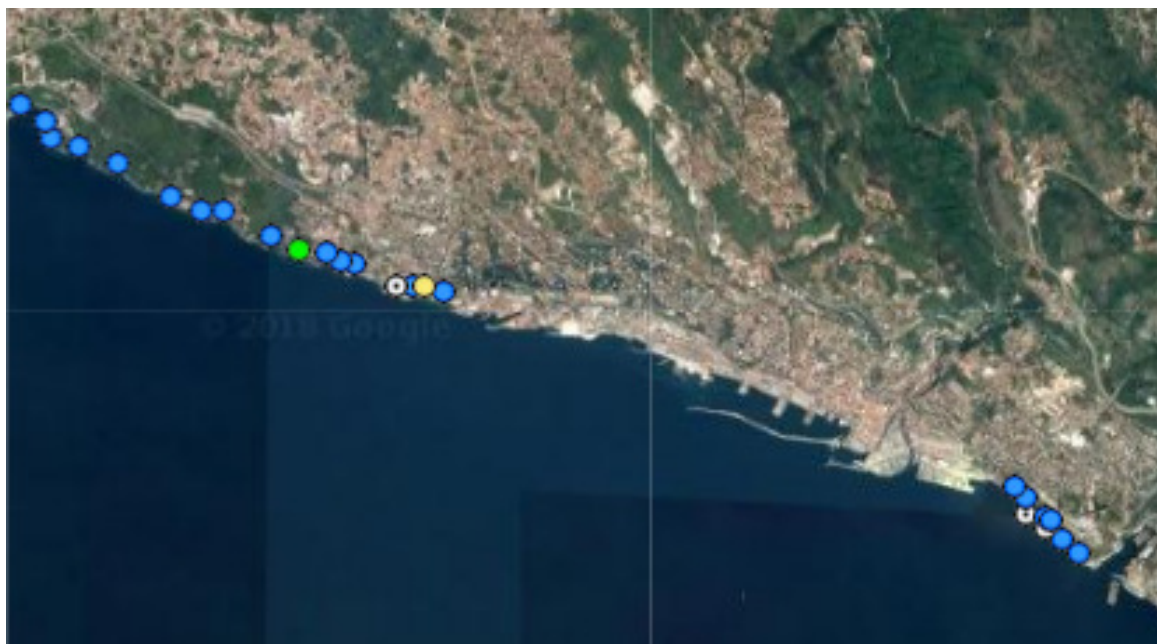
Izvor:

Centar za istraživanje mora (CIM) Instituta "Ruđer Bošković" - Rovinj

### **3.1.2 Okolno područje (kakvoća mora na plažama grada Rijeke od 2009.-2017.)**

Na području grada Rijeke, od Preluka do Pećina (Slika 2) kontrola kakvoće mora provodi se deset puta godišnje tj. tijekom sezone kupanja, u razdoblju od sredine mjeseca svibnja do kraja rujna, tj. od početka do kraja sezone kupanja i to na ukupno 21 mjernoj točki.

Za potrebe istraživanja analizirani su podaci kakvoće mora za kupanje iz nacionalnog programa monitoringa u Primorsko-goranskoj županiji u razdoblju od 2009.-2017. godine. Obuhvaćena je 21 plaža riječkog područja, ukupno 1.892 uzorka.



Slika 2.: Riječko područje istraživanja

Izvor: <http://www.izor.hr/plaze/>

Prema kriterijima Pravilnika o upravljanju i nadzoru balastnih voda (NN 128/2012) gornja granica za *Vibrio cholerae* (O1 i O139) iznosi (1cfu/100ml), a zatim gornja granica za EC iznosi (250cfu/100ml) dok za IE ona iznosi (100cfu/100ml) uzorka. Na temelju mjerenjem ustanovljenog stanja te pravilnikom propisanih kriterija određuje se dali neki određeni uzorak zadovoljava predviđene kriterije tj. jeli sukladan.

## **3.2 Mikrobiološke metode ispitivanja**

### **3.2.1 Morska voda**

#### **3.2.1.1 *Escherichia coli* – EC**

Određivanje *Escherichia coli* (u daljnjem tekstu EC) provedeno na uzorcima morske vode i sedimenta. Broj *E. coli* u morskoj vodi određen je pomoću tehnike membranske filtracije (MF), prema HRN EN ISO 9308-1:2014. Za analizu uzoraka vode, odgovarajući volumen

vode (10, 50 ili 100 ml) profiltriranje vakuum filtracijom (veličina pora 0,45  $\mu\text{m}$ , promjer filtera 47 mm, Sartorius). Filteri su zatim preneseni na CCA hranjivi agar.

HRN EN ISO 9308-1:2014 bazira se na pozitivnoj reakciji  $\beta$  – D – galaktozidaze i  $\beta$  – D – glukuronidaze koju daju kolonije *E. coli*, pri čemu se boje u tamnoplavu do ljubičastu boju. Metoda istovremeno detektira ukupne koliforme i *E. coli*. Ostale koliformne bakterije koje nisu *E. coli* iskazuju samo aktivnost  $\beta$  – D – galaktozidaze i na ploči rastu kao roze do crvene kolonije (CCA, Merck). Uzorak vode filtrira se kroz membranski filter na kojem se tražene bakterije zadržavaju, nakon čega se filter sterilno prenese na hranjivu podlogu. Nakon toga se membranski filter inkubira na temperaturi  $(36\pm 2)^{\circ}\text{C}$  kroz  $(21\pm 3)\text{h}$ .  $\beta$  – D – galaktozidaza pozitivne kolonije (roze do crvene boje) broje se kao vjerojatne koliformne bakterije koje nisu *E. coli*. Kako bi se izbjegli lažno pozitivni rezultati oksidaza pozitivnih bakterija (na primjer, *Aeromonas spp.*) vjerojatne koliformne kolonije potvrđuju se negativnom reakcijom oksidaze.  $\beta$  – D – galaktozidaza i  $\beta$  – D – glukuronidaza za pozitivne kolonije (tamno plava do ljubičasta boja) broje se kao *E. coli*. Broj ukupnih koliforma dobije se kao zbroj oksidaza negativnih kolonija ružičasto-crvene boje i svih tamno plavo-ljubičastih kolonija. Prema broju potvrđenih kolonija izbrojenih na membranskom filteru, izražava se broj *E. coli* koliformnih bakterija prisutnih u 100 ml.

### **3.2.1.2 Crijevni enterokoki – IE**

Crijevni enterokoki ispitani su metodom HRN EN ISO 7899-2:2000 kojom se detektiraju sljedeće vrste roda *Enterococcus*: *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans* i *E. hirae*. Potrebni volumen morske vode profiltrira se preko membranskog filtera (0,45  $\mu\text{m}$ ) koji se zatim prenese na Slanetz i Bartley medij. Medij sadrži natrij azid ( $\text{NaN}_3$ ) koji inhibira rast gram-negativnih bakterija i indikator 2,3,5 – trifeniltetrazolium klorid (TTC otopina), koji crijevni enterokoki reduciraju u crveni formazan. Inkubacija se vrši na  $36\pm 2^{\circ}\text{C}$  tijekom  $44\pm 4\text{ h}$ .

Tipične kolonije su uzdignute, crvene, smeđe ili ljubičaste boje u centru kolonija ili oko njih. Ukoliko tipične kolonije porastu, provodi se dokazni test. Filter se prenese na Žučni – eskulin – azid agar koji se inkubira 2 sata na 44 °C. Crijevni enterokoki hidroliziraju eskulin do krajnjeg produkta 6,7 – dihidroksikumarina koji s Fe<sup>3+</sup> daje tamno do crno obojenu tvar koja difundira u medij (stvara se crni halo).

### **3.2.1.3 *Clostridium perfringens* – CP**

Brojenje bakterije *C. perfringens* provedeno je prema metodi navedenoj u preporukama Direktive Vijeća Europe 98/83/EZ (3. studeni 1998.) o kakvoći vode namijenjene za ljudsku potrošnju. M-CP agar (Membrane ClostridiumPerfringens) inkubira se u anaerobnim uvjetima tijekom 21±3 sata pri 44±1°C . Broje se neprozirne žute kolonije koje se pri izlaganju parama amonij hidroksida (20 do 30 s) oboje u rozo ili crveno.

### **3.2.1.4 *Pseudomonas aeruginosa* – PA**

Prema normi Kakvoća vode – detekcija i brojanje *Pseudomonas aeruginosa* (HRN EN ISO 16266:2008). Uzorci su obrađeni u laboratoriju tehnikom membranske filtracije. Količina od 100 ml uzorka je propuštena kroz membranski filter veličine pora 0,45 µm, koji je stavljen na krutu mikrobiološku podlogu za uzgoj *P. aeruginosa*, Pseudo CN agar. Ova mikrobiološka podloga sadrži cetrimid koji omogućuje proizvodnju piocijanina.

Uzorci su nakon toga inkubirani 37 °C/48 h te su sve plavo-zelene kolonije koje fluoresciraju pod UV svjetlom izdvojene i biokemijski potvrđene biokemijskim testovima.

### **3.2.1.5 *Staphylococcus aureus* – SA**

Utvrđivanje prisutnosti *Staphylococcus aureus* vodi se horizontalnom metodom za brojenje koagulaza-pozitivnih stafilocoka (*Staphylococcus aureus*). Metoda se temelji na normi HRN EN ISO 6888-1:2004. Postupak brojenja koagulaza pozitivnih stafilocoka. Test

koagulaze, provodi se u epruveti sa dodanom plazmom, pri čemu kultura *Staphylococcus aureus* uz dodatak 0,5 ml plazme poslije inkubacije na 37°C daje čvrst koagulum. Test se očitava nakon 4 sata i poslije 24 sata.

### **3.2.1.6 *Salmonella* spp.**

Detekcija *Salmonella* EN ISO 19250:2013 zahtjeva četiri uzastopna stupnja. Pre-enrichment (pred-obogačivanje) je često neophodno kako bi omogućilo dokazivanje niskog broja *Salmonella* ili oštećenih stanica. Neke stanice koje su subletalno oštećene mogu zahtijevati dodatno vrijeme inkubacije. Također, *Salmonella* može biti prisutna u malom broju, a praćena s velikim brojem ostalih rodova porodice *Enterobacteriaceae* ili ostalih porodica. Zbog toga je selektivni enrichment neophodan.

#### **1) Pre-enrichment**

50 ml BPW (Buffered Peptone Water) se inokulira na sobnoj temperaturi s poznatim volumenom uzorka (ili njegovim razrjeđenjem) 37 °C/18 h. Veći volumeni mogu se ukoncentrirati membranskom filtracijom, nakon čega se filter uroni u BPW, najčešće se filtrira 1000-5000 ml

Napomena: za otpadnu vodu se pokazalo da kraće vrijeme inkubacije ili direktna inokulacija na selektivni medij daje bolje rezultate

#### **2) Enrichment u selektivnom tekućem mediju**

Na sobnoj temperaturi temperirani 10 ml Rappaport-Vassiliadis medium sa sojom (RVS bujon) inokuliraju se s 0,1 ml kulture i 10 ml Muller-Kauffmann tetrathionate-novobiocin broth (MKTTn) s 1 ml kulture iz prethodnog stupnja

The RVS bujon se inkubira 41.5 °C/24 h (maks. 42,5 °C) a MKTTn bujon na 37 °C/24h

#### **3) Inokulacija selektivnog krutog medija**

RVS i MKTT bujona inokulirati ezom površinu temperiranih i osušenih ploča 2 selektivna medija

- 2 medija: - XLD 37 °C/24 h (tipične *Salomonella* kolonije obično imaju crni centar i svijetlu prozirnu zonu crvene boje zbog promjene boje indikatora
- po izboru (Hektoan agar)

#### 4) Potvrda biokemijskim i serološkim testovima

sumnjive kolonije izrasle na selektivnim hranjivim medijima presaditi na neselektivni 37 °C/24 h (nutrijent agar) kako bi se dobile pojedinačne kolonije na kojima se provode biokemijski i serološki testovi

#### 3.2.1.7 *Shigella* spp.

Shigela se dokazuje na selektivnom mediju za izolaciju i diferencijaciju *Salmonellai Shigella*.

#### PRINCIP METODE:

- mikroorganizmi koji fermentiraju jedan od tri šećera u mediju stvaraju žuto-ružičaste kolonije
- ostali stvaraju zelene/plavo-zelene kolonije
- H<sub>2</sub>S poz mikroorganizmi stvaraju kolonije s crnim centrom
- prisustvo zelenih/plavo-zelenih kolonija sa/bez crnim centrom (karakterističnih kolonija) ukazuje na moguće prisustvo *Salmonella* i *Shigella*
- dodatak mješavine žučnih soli i boje onemogućava rast Gram (+)

#### POSTUPAK:

preenrichment u bufferedpeptone water (BPW) - 37 °C /18 h

enrichment sa Rappaport-Vassiliadis and Selenitecystinebroth → Inkubirati na 37 °C /24-48 h

#### ČITANJE:

kolonije *Salmonella* su zelene/plavo-zelene sa/bez crnim centrom

kolonije Shigella su zelene/plavo-zelene bez crnog centra

#### **POTVRDA:**

karakteristične kolonije potvrđuju se biokemijskim i imunološkim testovima

#### **3.2.1.8 *V. cholerae***

Prema uvjetima Pravilnika o upravljanju i nadzoru balastnih voda (NN 128/2012) *Vibrio cholerae*, uz *E. coli*, crijevne enterokoke, predstavlja mikrobiološki pokazatelj kakvoće balastnih voda. Metoda kultivacije i identifikacije *V. cholerae* provodila se prema normi HRS ISO/TS 21872-1:2008 i HRN ISO 21528-2:2008, modificiranoj za potrebe analize balastnih voda i uzoraka sedimenata. Indikatorski mikroorganizmi, kao standard za ljudsko zdravlje, uključuju:

Toksični mikroorganizam *Vibrio cholerae* (O1 i O139) s manje od 1 kolonije (cfu) na 100 mililitara ili manje od 1 kolonije (cfu) po 1 gramu (mokra težina) uzorka zooplanktona.

#### **MORSKA VODA**

Priprema uzorka:

- ✓ Bocu s uzorkom dobro promućkati da se uzorak homogenizira.

Direktno nasađivanje na krute podloge:

- ✓ Volumen od 100 mL nasađuje se metodom membranske filtracije na podloge:
- ✓ TCBS (Oxoid) za *Vibrio cholerae*
- ✓ Kromogenu krutu podlogu ChromIDVibrio (BioMérieux) za *Vibrio cholerae*

Nasađivanje na obogaćeni bujon:

- ✓ Volumen od 100 mL uzorka prenesen je u ASPW bujon u sterilnoj boci zapremine 1 L, te se bujon inkubiralo na 41,5 °C .

#### Presaðivanja inkubiranih bujona:

- ✓ Nakon inkubacije od 5-7 h s površine ASPW bujona otpipetirati 1 mL te staviti u epruvetu s 10 mL ASPW bujona. Također, po kap s površine bujona (eža od 10 µL), razmazati na selektivnu TCBS podlogu i izabranu kromogenu podlogu (ChromIDVibrio). Obje podloge inkubirati na 37 °C/24 h .
- ✓ Oba nasađena bujona (1L i 10 ml) inkubirati na 41,5 °C/17-19 h. Nakon inkubacije bujona (1L i 10 ml), ponoviti postupak razmaza s ežom od 10 µL na TCBS i Cromo ID Vibrio. Na taj način dobivamo izolate na selektivnim podlogama koji su se namnožili u bujonima nakon cca 5, 20 i 25 sati.

#### Identifikacija:

- ✓ Kolonije *Vibrio cholerae* na TCBS su srednje velike (cca 3 mm) žute, masne, blago ispupčene u sredini. Kolonije *Vibrio cholerae* na Cromo ID *Vibrio* su sitnije (cca 1-2 mm) plave, tamnijeg centra i svijetlog, hrapavog prstena.
- ✓ Sumnjive kolonije pikirati te nasaditi na dvostruki šećer (inkubacija na 37 °C/24 h).
- ✓ *Vibrio cholerae* cijepa šećere na način da dno požuti (cijepa glukozu) a kosina ostane crvena (ne cijepa laktozu) (blag rast kolonija na kosini, bez mirisa).
- ✓ Sumnjive kolonije nasaditi na biokemijski niz koji uključuje: saharozu, manitol, laktozu, indol, pokretljivost, lizin, arginin i ornitin te kontrolu LAO (lizin, arginin, ornitin). Biokemijski niz inkubirati na 37 °C/24 h.
- ✓ Za daljnu izolaciju *Vibrio cholerae* koristiti API (ID 32 E) te VITEK\* 2 GN.
- ✓ Serološkim testovima potvrditi antigenski serotip *V. cholerae* O1 ili O139.

#### Iskazivanje rezultata:

- ✓ Za uzorke vode rezultat se izražava kao broj kolonija u 100 ml vode (cfu/100m).



## SEDIMENT

Priprema uzorka:

- ✓ 50 g sedimenta staviti u 900 ml ASPW (alkaline saline peptone water) pH 7,1, inkubirati 41°C/5-7 h te iz boce 1 ml staviti u epruvetu od 10 ml ASPW te epruvetu inkubirati 41 °C/17-19 h.
- ✓ Iz boce s 50 g sedimenta uzeti s ezom od 10 µL kap sa površine te razmazati na TCBS i ChromIDVibrio (37°C/24h).

Presaðivanja inkubiranih bujona i Identifikacija:

- ✓ Daljnji tijek analize isti je kao postupak opisan kod analize uzoraka morske vode.

### 3.2.2 Sediment

- ✓ 50 g sedimenta izvagati te staviti u sterilnu bocu od 500 ml
- ✓ Dodati 500 ml fosfatnog pufera
- ✓ Bocu mućkati 3-5 min
- ✓ Pustiti da se talog istaloži
- ✓ Iz boce, sterilnom pipetom izdvojiti 25 m pufera.
- ✓ Profiltrirati kroz sterilni filter
- ✓ Filter inkubirati na selektivnoj podlozi

### 3.3 Statistička obrada rezultata

Shapiro-Willk test korišten je za testiranje podataka na normalnost distribucije. Obzirom da pretpostavka o normalnoj distribuciji podataka nije zadovoljena, za daljnju analizu podataka korišteni su neparametrijski testovi.

### **3.3.1 Korelacijska analiza**

Korelacijskom analizom ispituje se povezanost dvaju varijabli, međutim ne i jačina povezanosti odnosno njihova uzročno posljedična veza. Njena se brojčana vrijednost za podatke koji ne prate normalnu distribuciju iskazuje Spearmanovim koeficijentom korelacije ( $r_s$ ).

### **3.3.2 Mann-Whitney U test**

Mann-Whitney U test je neparametrijski test koji se koristi za ispitivanje razlike između dvije nezavisne grupe podataka na neprekidnoj skali. Manje je osjetljiv na ekstremne vrijednosti, čime se smatra izrazito pogodnim za primjenu prilikom nepravilne distribucije podataka. Alternativa je parametrijskom t-testu.

### **3.3.3 Kruskal-Wallis H test**

Kruskal-Wallis H test je neparametrijski test koji se koristi za ispitivanje razlike triju ili više nezavisnih skupina podataka na neprekidnoj skali. Alternativa je parametrijskoj ANOVA-i.

## 4 REZULTATI

Mjerenja su provedena u razdoblju od rujna 2014. do studenog 2015. godine na 4 lokacije: LRI01 (6m), LRI04 (6m), LRI05 (29m) i JPG28 (55m). Cilj ispitivanja bio je procjena mikrobiološkog opterećenja vodenog stupca i sedimenta Luke Rijeka.

U svrhu dobivanja što jasnije i sveobuhvatnije slike mikrobiološkog opterećenja morskog okoliša u Luci Rijeka, u uzorcima je ispitano devet pokazatelja: EC - *Escherichia coli*, IE - crijevni enterokoki, VC O1 - *Vibrio cholerae* tip O1, VC O139 - *Vibrio cholerae* tip O139, CP - *Clostridium perfringens*, PA - *Pseudomonas aeruginosa*, SA - *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp i *Shigella* spp.

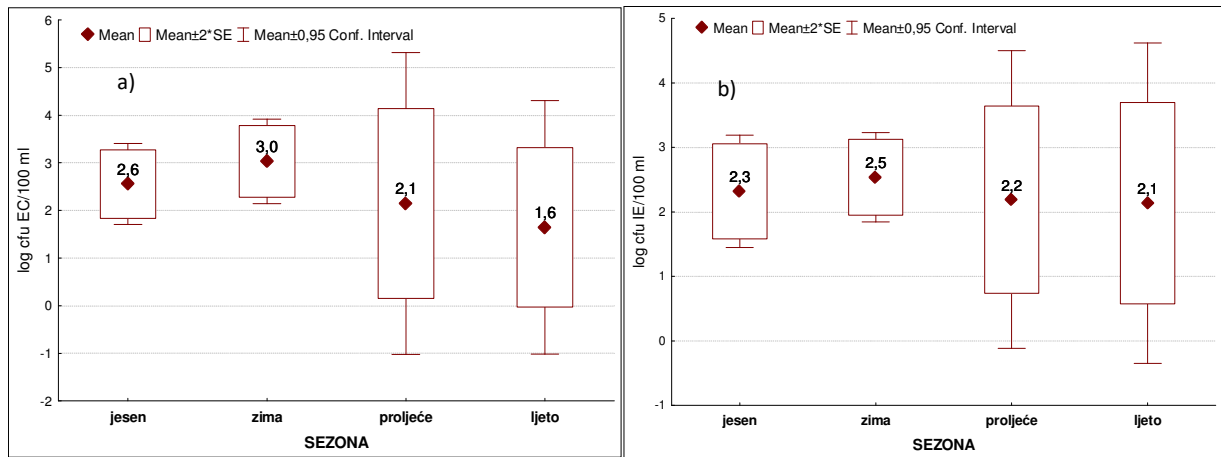
### 4.1 Vremenske varijacije – sezone

Sezonske varijacije ispitanih pokazatelja praćene su u uzorcima vode i sedimenta na četiri točke ispitivanja lokacije Luka Rijeka.

#### 4.1.1 Vodeni stupac

Kruskal-Wallis H testom nije dokazana statistički značajna razlika u vrijednostima EC i ENT u vodi uzorkovanoj u Luci Rijeka u različitim sezonama uzorkovanja. Najveća srednja vrijednost za pokazatelj EC javlja se zimi (Srednja vrijednost (SV)  $\pm$  standardna devijacija (SD):  $3,0 \pm 1,1$  log cfu/100 ml) a najniža u ljeto (SV= $1,6 \pm 1,7$  log cfu/100 ml) (Slika 3.a)

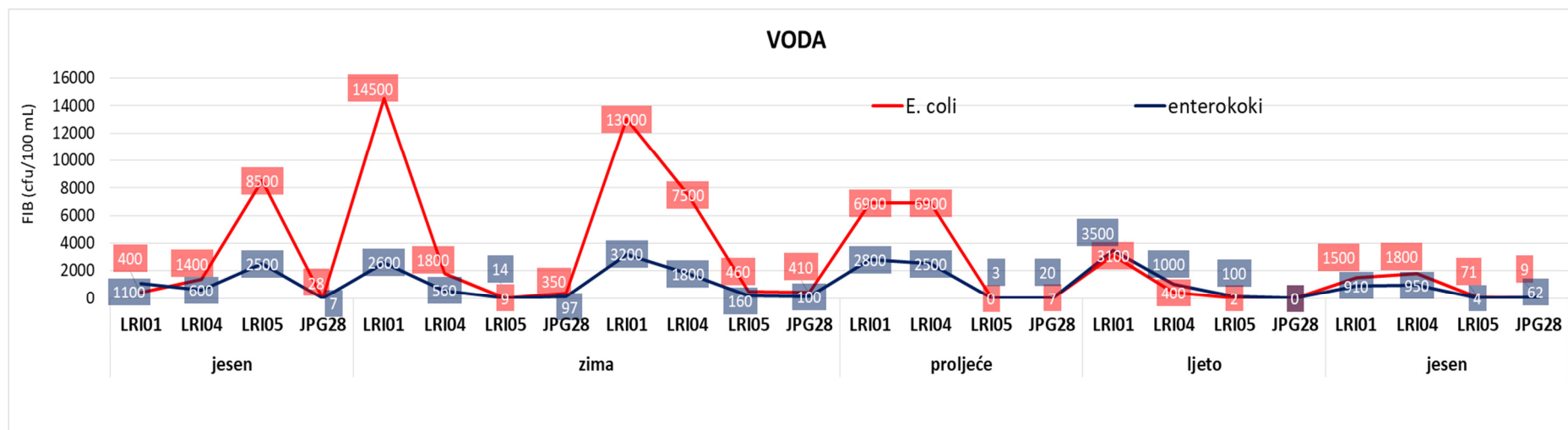
Za enterokoke primijećena je ista sezonska distribucija (zimi: SV= $2,5 \pm 0,8$  log cfu/100 ml; ljeto:  $2,1 \pm 1,6$  log cfu/100 ml) (Slika 3. b)



Slika 3. : Srednje vrijednosti koncentracije indikatora fekalnog onečišćenja u vodi Luke Rijeka tijekom četiri sezone ispitivanja a) *E. coli* (EC), b) enterokoki (IE)

„Boxplotovi“ prikazuju: srednja vrijednost- Mean (♦), standardna pogreška aritmetičke sredine – SE („Box“); i 95 %-tni interval pouzdanosti ("Whisker") (Mann-Whitney test)

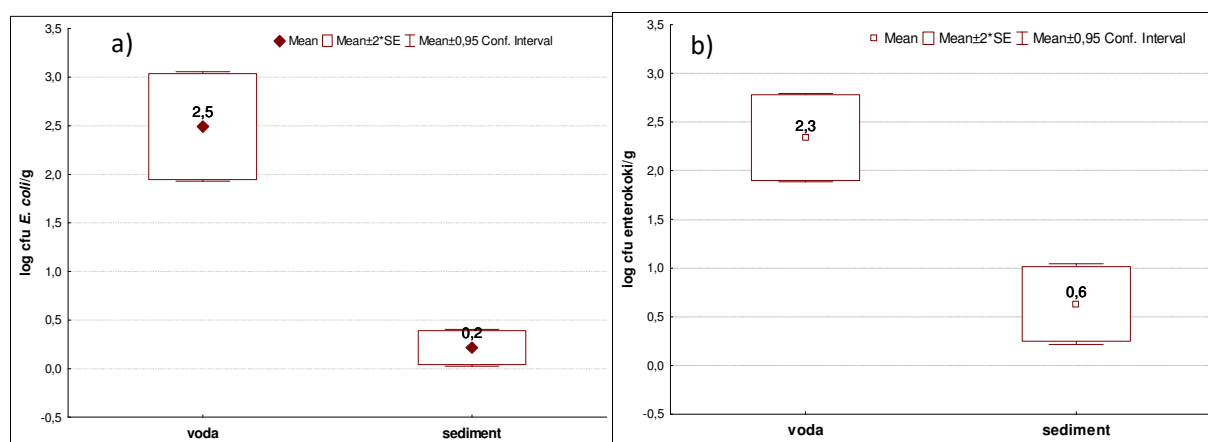
Na Slici 4. vidljivo je da su se vrijednosti EC u morskoj vodi kretale od 0 do 14.500 cfu/100 ml, a za IE od 0 do 3.500 cfu/100 ml. Najveća koncentracija EC zabilježena je u zimskom periodu, dok je najveća koncentracija IE zabilježena u ljetnom razdoblju (Slika 4.).



Slika 4. : Prikaz vrijednosti fekalnih indikatorskih bakterija (FIB = EC + IE) u vodi Luke Rijeka tijekom različitih sezona

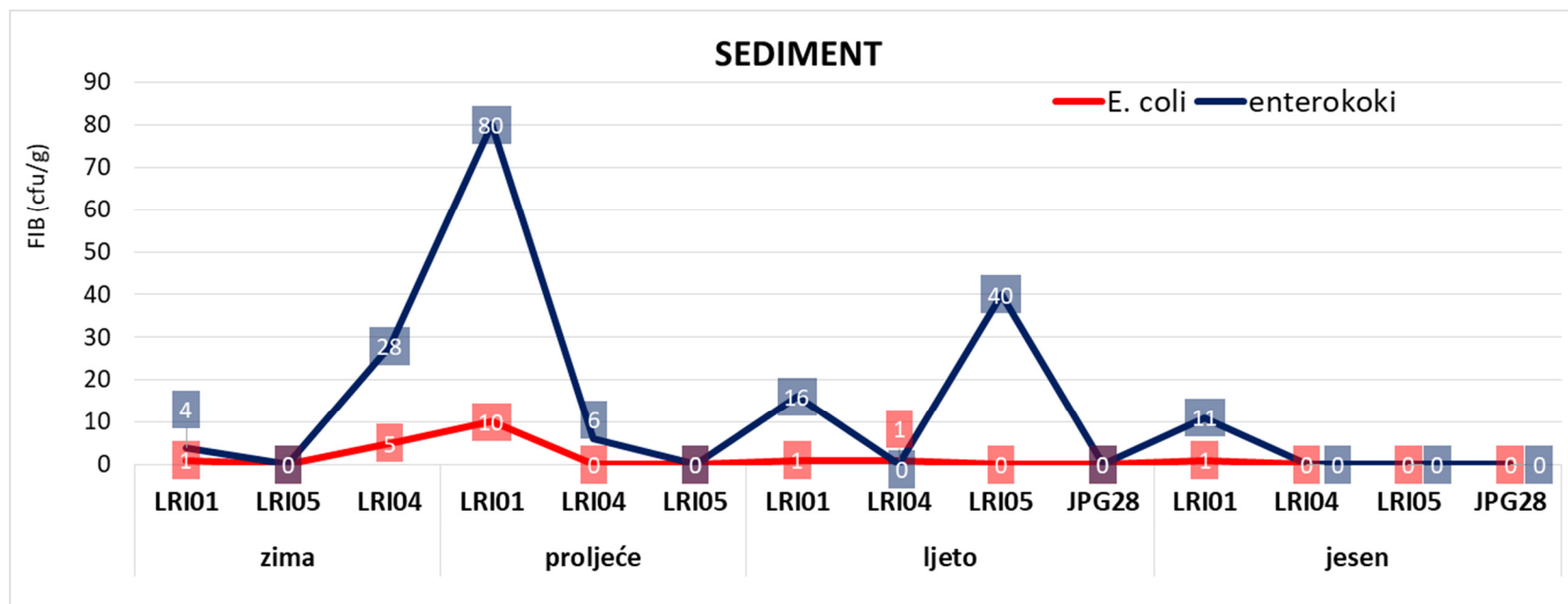
## 4.1.2 Sediment

Statističkom analizom nije dokazana značajna razlika u vrijednostima EC i ENT u sedimentu uzorkovanom u akvatoriju Luke Rijeka u različitim sezonama (Kruskal-Wallis H test). Najveća srednja vrijednost za pokazatelj EC javlja se zimi (SV=0,4±0,1 log cfu/g) a najniža u jesen (SV=0,1±0,2 log cfu/g) (Slika 5.a). Za enterokoke je najveća srednja vrijednost zabilježena u proljeće (SV=0,9±1,0 log cfu/g) a najniža u ljeto (SV=0,3±0,8 log cfu/g) (Slika 5.b).



Slika 5. : Srednje vrijednosti koncentracije indikatora fekalnog onečišćenja u sedimentu Luke Rijeka tijekom četiri sezone ispitivanja a) *E. coli* (EC), b) enterokoki (IE) „Boxplotovi“ prikazuju: srednja vrijednost- Mean (♦), standardna pogreška aritmetičke sredine – SE („Box“); i 95 %-tni interval pouzdanosti ("Whisker") (Mann-Whitney test)

Iz Slike 6 vidimo da su se vrijednosti mjerenja za *E. coli* (EC) za uzorke morskog sedimenta kretale od 0 do 10 cfu/g, a za pokazatelj enterokoki (IE) od 0 do 80 cfu/g. Najveća koncentracija EC zabilježena je u proljeće (10 cfu/g), kao i najveća koncentracija IE (80 cfu/g).



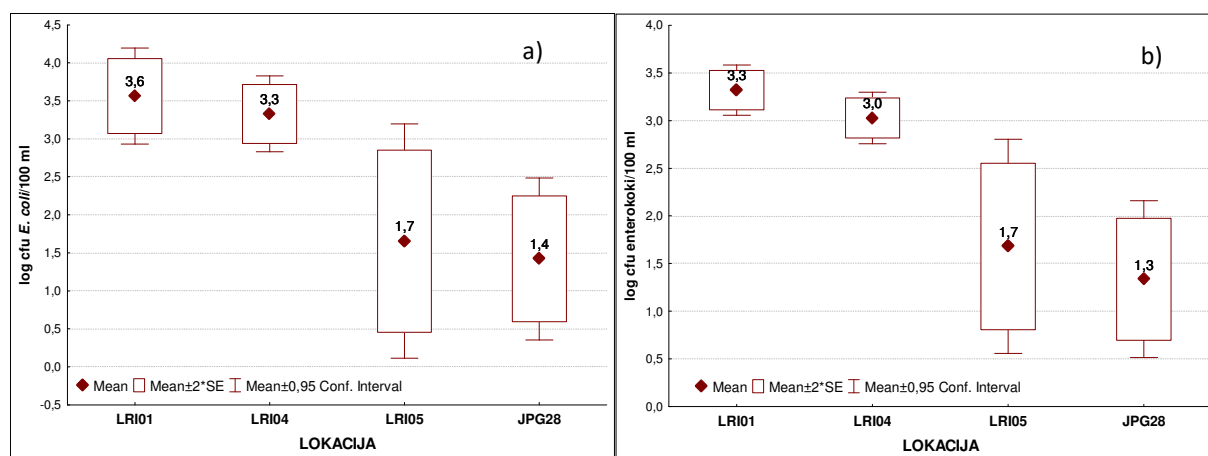
Slika 6. : Prikaz vrijednosti fekalnih indikatorskih bakterija (FIB = EC + IE) u sedimentu Luke Rijeka tijekom različitih sezona

## 4.2 Prostorne varijacije – lokacije

### 4.2.1 Vodeni stupac

Analiza podataka ukazala je na statistički značajnu razliku u koncentracijama *E. coli* između lokacija LRI01 i JPG28 (Kruskal-Wallis H test,  $H(3, N=24)=11,806$ ,  $p=0,008$ ) (Slika 7.a) te za enterokoke između lokacija LRI01 vs JPG28 i LRI05 (Kruskal-Wallis H test,  $H(3, N=24)=15,492$ ,  $p=0,001$ ) (Slika 7.b).

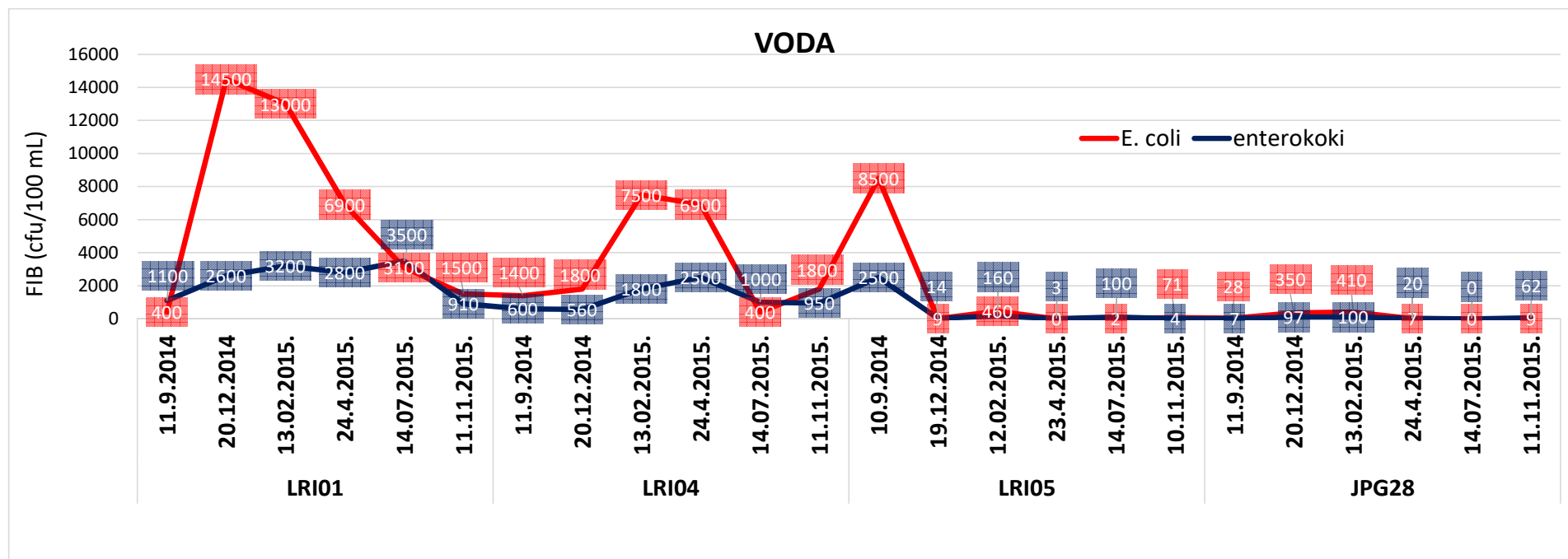
LRI01 i LRI05 dvije su mikrobiološki najopterećenije lokacije. Srednja vrijednost koncentracije *E. coli* za lokaciju LRI01 bila je  $3,6 \pm 3,3$  log cfu/100 ml, a za enterokoke  $3,3 \pm 0,3$  log cfu/100 ml. Za lokaciju LRI05 srednja vrijednost *E. coli* bila je  $3,3 \pm 0,5$  log cfu/100 ml a za enterokoke  $3,0 \pm 0,3$  log cfu/100 ml.



Slika 7. : Srednje vrijednosti koncentracije indikatora fekalnog onečišćenja u vodi Luke Rijeka na četiri lokacije ispitivanja a) *E. coli* (EC), b) enterokoki (IE)  
„Boxplotovi“ prikazuju: srednja vrijednost- Mean (♦), standardna pogreška aritmetičke sredine – SE („Box“); i 95 %-tni interval pouzdanosti („Whisker“) (Mann-Whitney test)



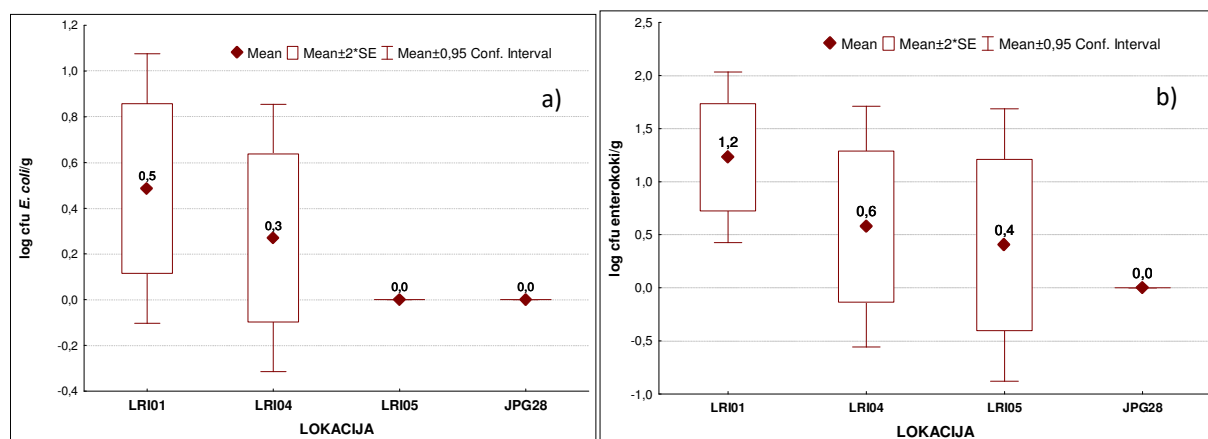
Iz Slike 8. vidljivo je da su se vrijednosti maksimalnih koncentracija FIB (fekalnih indikatorskih bakterija: *E. coli* i enterokoka) javljaju kod lokacije LRI01 (14.500 cfu/100 ml za EC i 13.000cfu/100 ml za enterokoke). Na mikrobiološki manje opterećenju lokaciji LRI05 također se dana 10.09.2014. bilježi visoka vrijednost *E. coli* od 8.500 cfu/100 ml.



Slika 8. : Prikaz vrijednosti fekalnih indikatorskih bakterija (FIB = EC + IE) u vodi Luke Rijeka na različitim lokacijama ispitivanja

## 4.2.2 Sediment

Statističkom analizom pomoću Kruskal-Wallis H testa nije dokazana značajna razlika u vrijednostima EC i ENT u sedimentu na različitim lokacijama uzorkovanim u Luci Rijeka. Najveće koncentracije za FIB mjerene su na lokaciji LRI01 (*E. coli* SV=0,5±0,4 log cfu/g; enterokoki SV=1,2±0,5 log cfu/g) te na lokaciji LRI04 (*E. coli* SV=0,3±0,4 log cfu/g; enterokoki SV=0,6±0,7 log cfu/g) (Slike 9.a i 9.b).

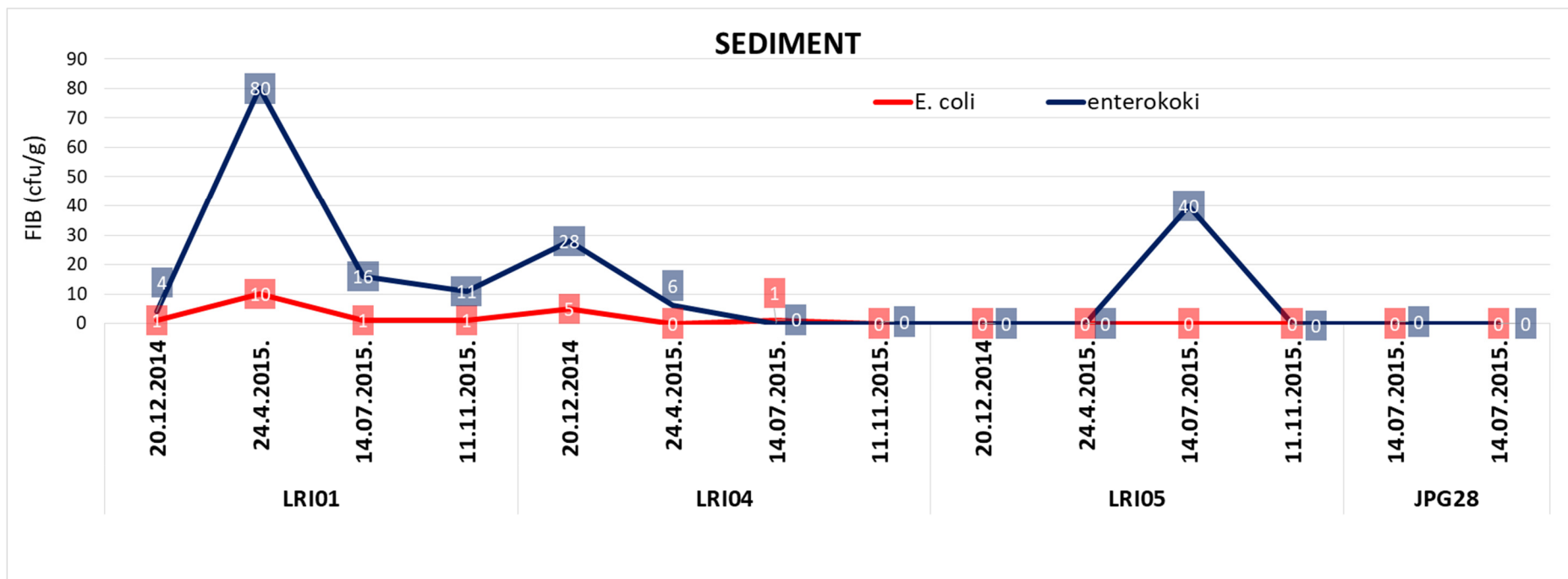


Slika 9. : Srednje vrijednosti koncentracije indikatora fekalnog onečišćenja u sedimentu Luke Rijeka na četiri lokacije ispitivanja a) *E. coli* (EC), b) enterokoki (IE)

„Boxplotovi“ prikazuju: srednja vrijednost- Mean (♦), standardna pogreška aritmetičke sredine – SE („Box“); i 95 %-tni interval pouzdanosti ("Whisker") (Mann-Whitney test)

Slika 10. prikazuje kretanje koncentracija FIB-a (EC i IE) na različitim lokacijama u razdoblju istraživanja.

Maksimalne vrijednosti mjerene se na lokaciji LRI01, za *E. coli* 10 cfu/g, a za enterokoke 80 cfu/g. Na mikrobiološki manje opterećenju lokaciji LRI05 također se dana 14.07.2014. bilježi visoka vrijednost enterokoka od 40 cfu/g.



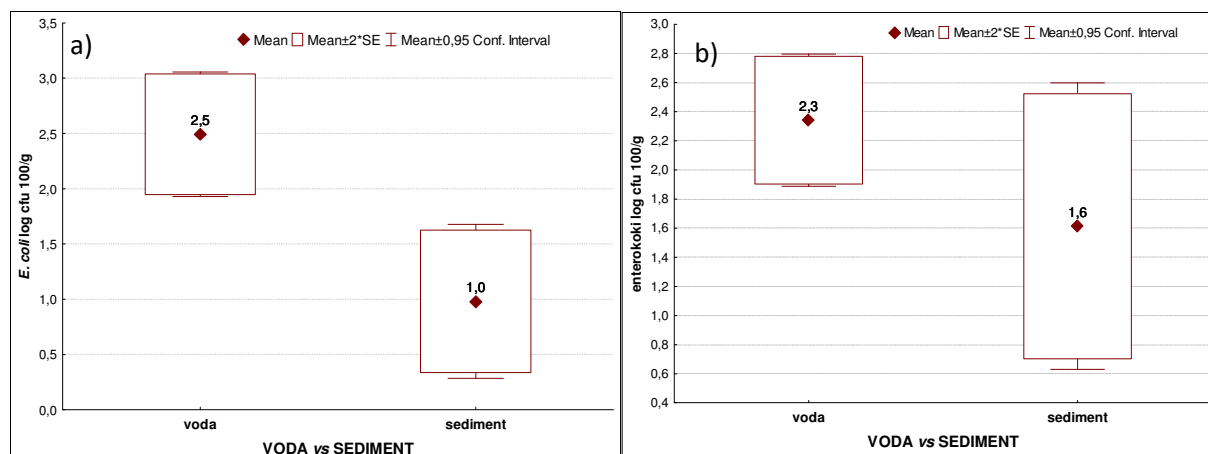
Slika 10. : Prikaz vrijednosti fekalnih indikatorskih bakterija (FIB = EC + IE) u sedimentu Luke Rijeka na različitim lokacijama ispitivanja

### 4.3 Vodeni stupac vs sediment

U cilju usporedbe koncentracija fekalnih indikatora u vodi i sedimentu, vrijednosti su izražene kao cfu 100/g (uz pretpostavku specifične gustoće vode od 1 g/ml).

Analiza podataka Mann-Whitney U testom potvrdila je statistički značajnu razliku u koncentracijama *E. coli* ( $Z=3,0870$ ,  $p=0,002$ ) (Slika 11.a) dok kod enterokoka statistički značajne razlike nije bilo (Slika 11.b).

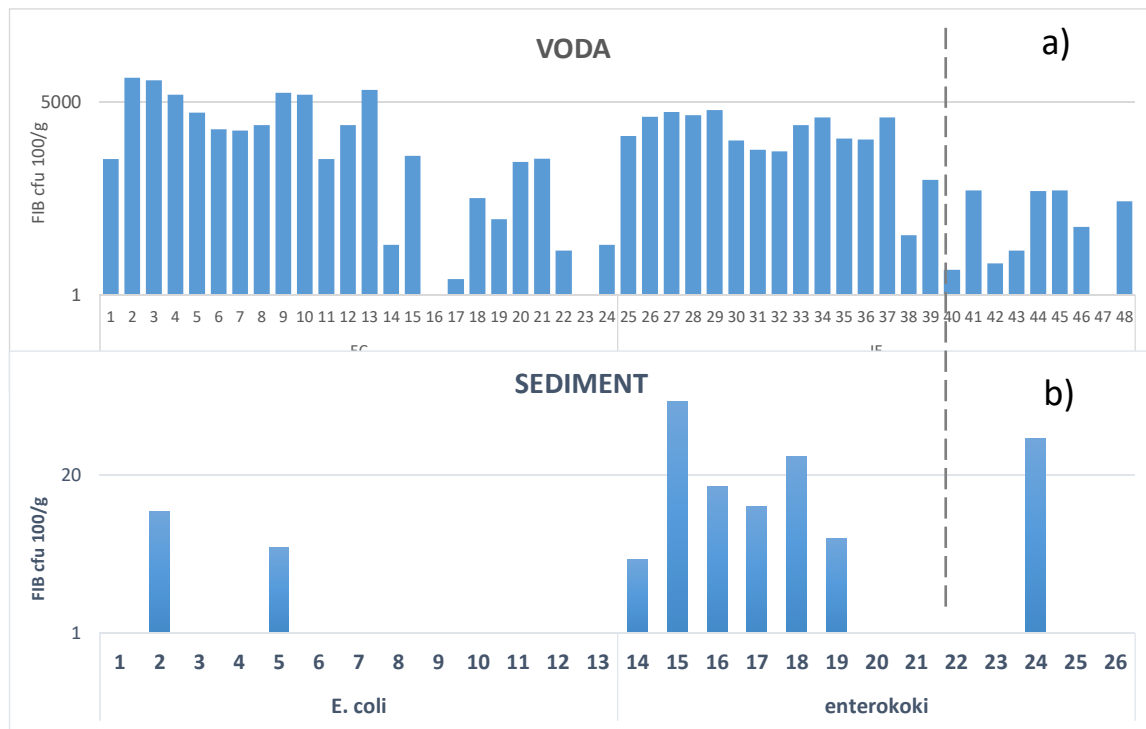
U vodenom stupcu mjerene su, prema jedinici cfu 100/g, značajno veće koncentracije *E. coli* u odnosu na sediment (vodeni stupac  $SV=2,5\pm 1,3\log$  cfu 100/g; sediment:  $SV=1,0\pm 1,2\log$  cfu 100/g). Koncentracija enterokoka također je viša u vodi nego u sedimentu (vodeni stupac  $SV=2,3\pm 1,1\log$  cfu 100/g; sediment:  $SV=1,6\pm 1,7\log$  cfu 100/g). Prema tome, vodaje s *E. coli* 2,5 puta, a s enterokokima 1,5 puta opterećenija u odnosu na sediment (log cfu 100/g).



Slika 11. : Srednje vrijednosti koncentracije indikatora fekalnog onečišćenja (log cfu 100/g) u voda vs sediment Luke Rijeka za a) *E. coli* (EC), b) enterokoke (IE)

„Boxplotovi“ prikazuju: srednja vrijednost- Mean (♦), standardna pogreška aritmetičke sredine – SE („Box“); i 95 %-tni interval pouzdanosti ("Whisker") (Mann-Whitney test)

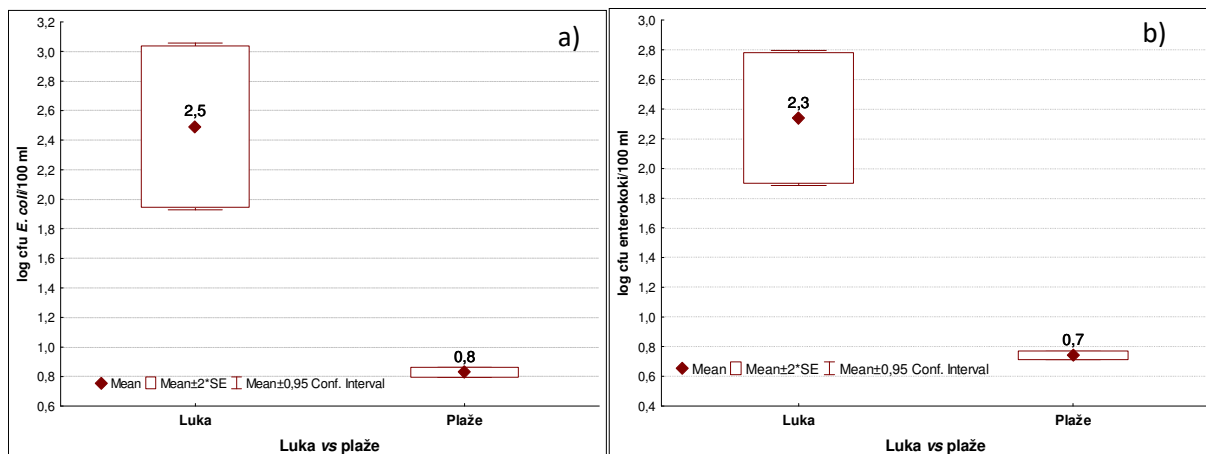
Slika 12. prikazuje kretanje koncentracija FIB-a (EC i IE) u vodenom stupcu i sedimentu tijekom razdoblja istraživanja. Primjećuje se da su veće koncentracije *E. coli* prisutne u vodenom stupcu (maksimalna vrijednost 14.500 cfu 100/g) u odnosu na sediment (maksimalna vrijednost 1.000 cfu 100/g).Maksimalna vrijednost enterokoka mjerena je u sedimentu (8.000 cfu 100/g) dok je u vodi maksimalna vrijednost bila 3.500 cfu 100/g.



Slika 12. : Prikaz vrijednosti fekalnih indikatorskih bakterija (FIB = EC + IE) izraženo u cfu 100/g u a) vodi i b) sedimentu Luke Rijeka u istraživanom razdoblju

#### 4.4 Luka Rijeka vs okolno područje

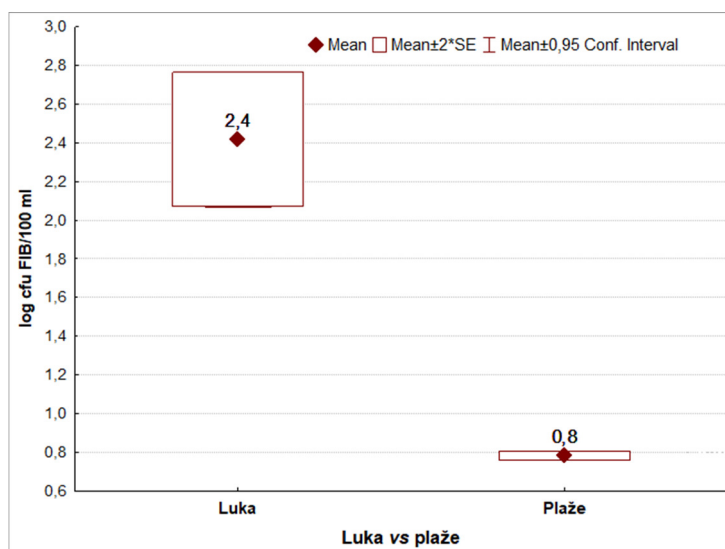
Mann-Whitney U testom analizirana je razlika u koncentraciji indikatora fekalnog onečišćenja na području Luke Rijeka i 21 plaže na području grada Rijeke. Test je ukazao na statistički značajnu razliku u vrijednostima *E. coli* ( $Z=5,700$ ;  $p<0,0001$ , Slika 13.a), koje su u Luci Rijeka imale  $SV=2,5\pm 1,3$  log cfu/100 ml, a na plažama  $SV=0,8\pm 0,7$  cfu/100 ml. Značajna razlika potvrđena je i za enterokoke (Luka Rijeka:  $SV=2,3\pm 1,1$  log cfu/100 ml; plaže:  $SV=0,7\pm 0,6$  log cfu/100 ml) ( $Z=6,405$ ;  $p<0,0001$ , Slika 13.b).



Slika 13. : Srednje vrijednosti koncentracije indikatora fekalnog onečišćenja u Luka Rijeka vs plaže za a) *E. coli* (EC), b) enterokoke (IE)

„Boxplotovi“ prikazuju: srednja vrijednost- Mean (♦), standardna pogreška aritmetičke sredine – SE („Box“); i 95 %-tni interval pouzdanosti ("Whisker") (Mann-Whitney test)

Mann-Whitney U testom utvrđena je statistički značajna razlika u koncentraciji FIB-a (FIB = EC + IE) između Luke Rijeka i plaža grada Rijeke ( $Z=8,492$ ,  $p<0,0001$ , Slika 9). Na Slici 14. prikazano je povećano ukupno fekalno opterećenje Luke Rijeka u odnosu na okolne plaže.



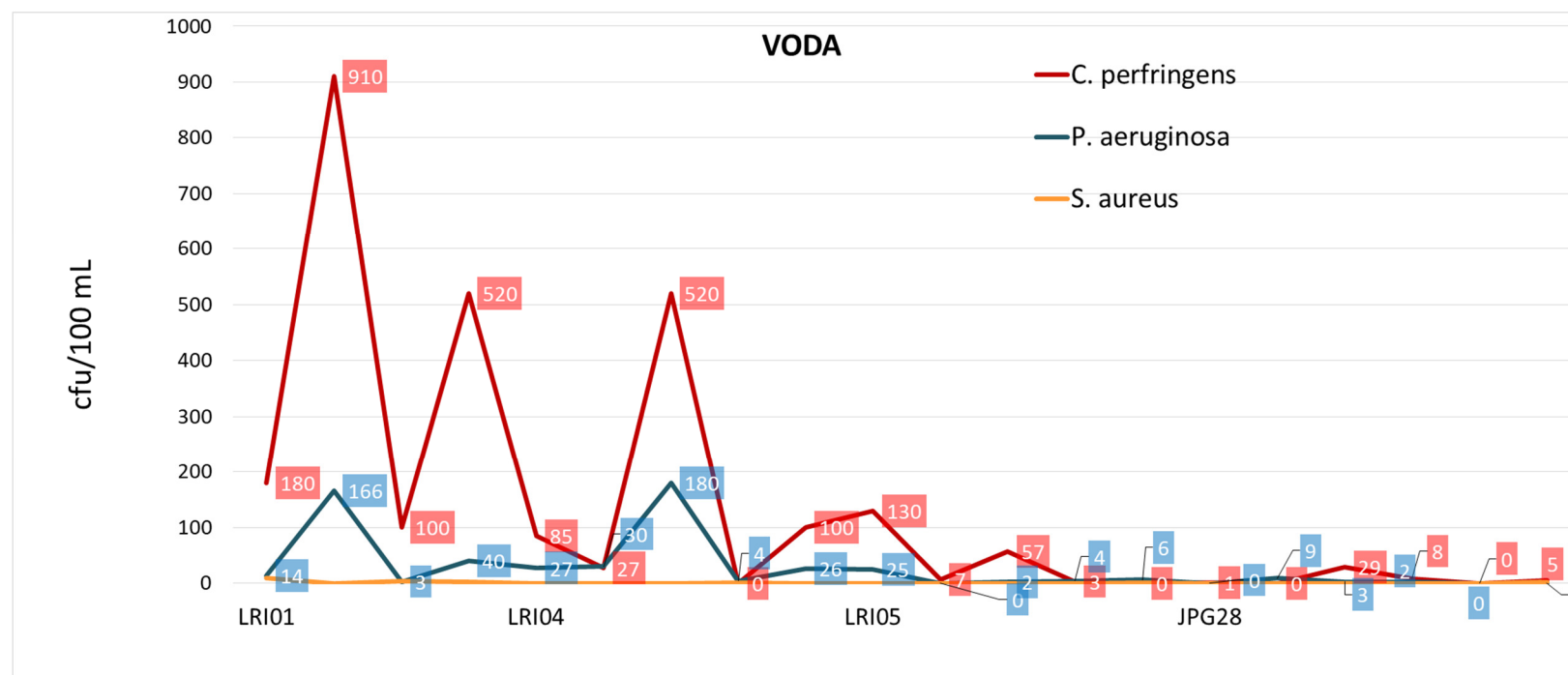
Slika 14. : Srednje vrijednosti koncentracije indikatora fekalnog onečišćenja – FIB-a (FIB=EC + IE) u Luka Rijeka vs plaže

„Boxplotovi“ prikazuju: srednja vrijednost- Mean (♦), standardna pogreška aritmetičke sredine – SE („Box“); i 95 %-tni interval pouzdanosti ("Whisker") (Mann-Whitney test)

## 4.5 Proširena mikrobiološka analiza

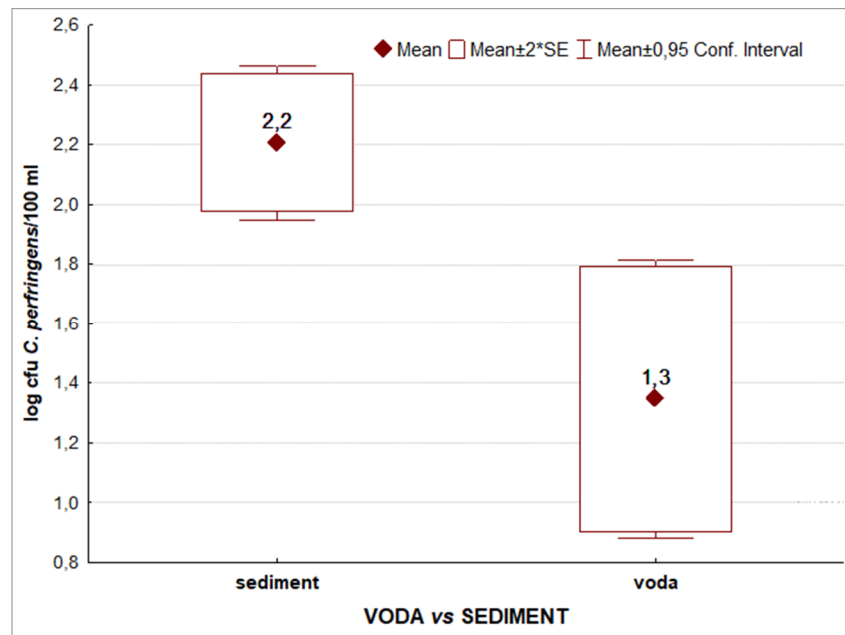
Osim mikrobioloških pokazatelja navedenih u Pravilniku (NN 128/2012), mikrobiološka analiza uključila je i slijedeće pokazatelje: CP - *Clostridium perfringens*, PA - *Pseudomonas aeruginosa*, SA - *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp i *Shigella* spp.

Na Slici 15. prikazane su vrijednosti CP, PA i SA u vodenom stupcu po pojedinim lokacijama.



Slika 15. : Prikaz vrijednosti *C. perfringens*, *P. aeruginosa* i *S. aureus* u vodenom stupcu po pojedinim lokacijama

Na Slici 16 prikazane su srednje vrijednosti *C. perfringens* u vodenom stupcu i sedimentu Luke Rijeka. Mann-Whitney U testom utvrđena je statistički značajna razlika ( $Z=-2,539$ ,  $p=0,01$ , Slika 16). Srednja vrijednost CP za sediment je bila  $SV=2,2\pm 0,4$  log cfu/100 ml, a za vodu  $SV=1,3\pm 1,0$  log cfu/100 ml.

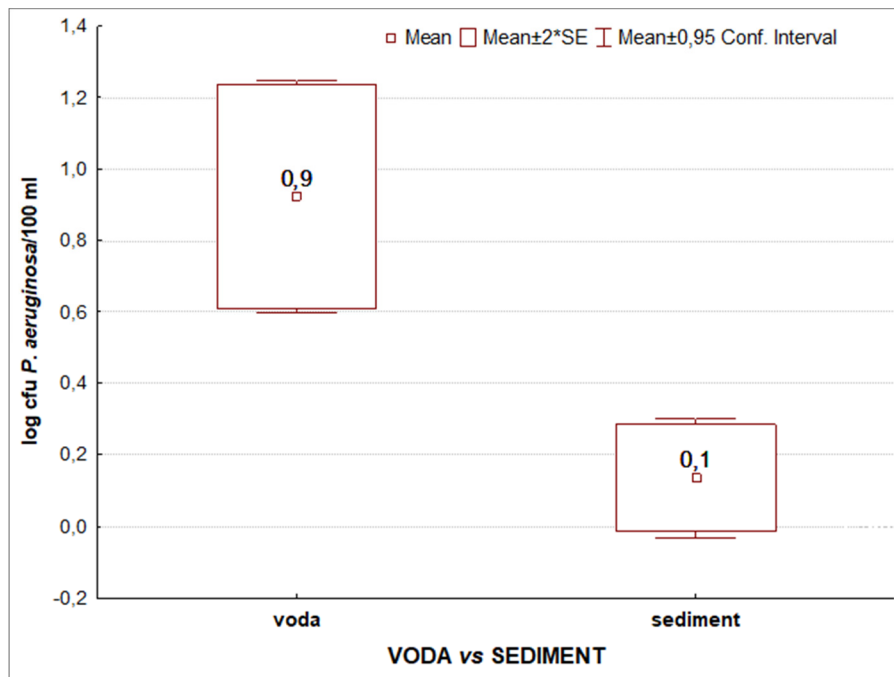


Slika 16. : Srednje vrijednosti koncentracije *C. perfringens* u sedimentu i vodenom stupcu

„Boxplotovi“ prikazuju: srednja vrijednost- Mean (♦), standardna pogreška aritmetičke sredine – SE („Box“;) i 95 %-tni interval pouzdanosti ("Whisker") (Mann-Whitney test)

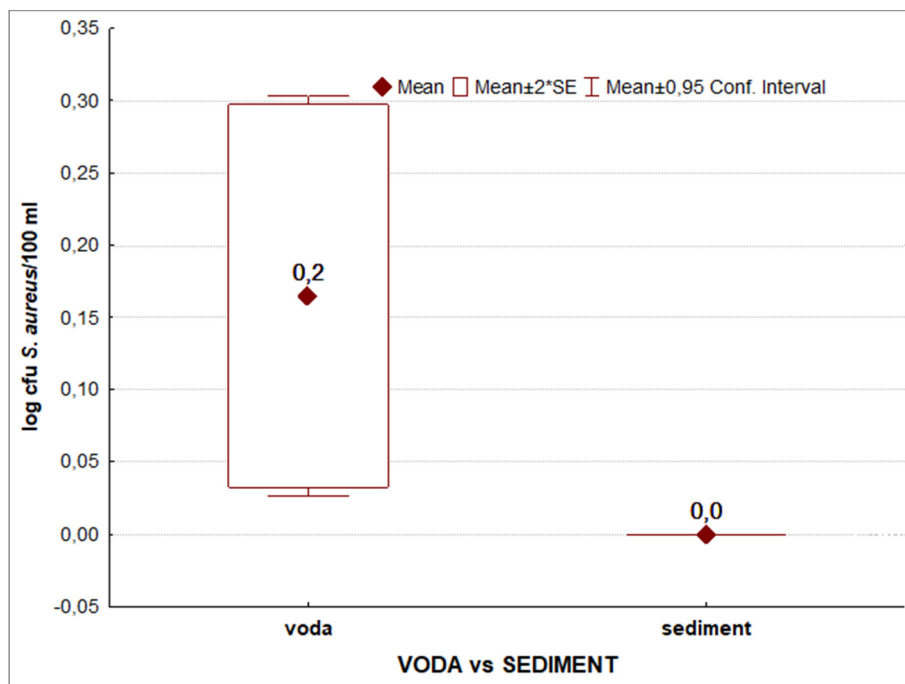
Statističkom analizom podataka dobivenih ispitivanjem *P. aeruginosa* utvrđena je značajna razlika u između vodenog stupca i sedimenta (Mann-Whitney U test,  $Z=-2,539$ ,  $p=0,01$ , Slika 17.) ( $Z=3,138$ ,  $p=0,001$ , Slika 17.). Srednja vrijednost PA za vodu je bila  $SV=0,9\pm 0,7$  log cfu/100 ml, a za sediment  $SV=0,1\pm 0,2$  log cfu/100 ml.





Slika 17. : Srednje vrijednosti koncentracije *P. aeruginosa* u vodenom stupcu i sedimentu „Boxplotovi“ prikazuju: srednja vrijednost- Mean (♦), standardna pogreška aritmetičke sredine – SE („Box“;) i 95 %-tni interval pouzdanosti ("Whisker") (Mann-Whitney test)

Analizom rezultata ispitivanja mikrobiološkog pokazatelja *S. aureus* Mann-Whitney testom utvrđena je statistički značajna razlika u koncentraciji te bakterije između vodenog stupca i sedimenta (Mann-Whitney U test,  $Z=1,976$ ,  $p=0,04$ , Slika 18.). Srednja vrijednost SA za vodu je bila  $SV=0,2\pm 0,3$  log cfu/100 ml, dok u sedimentu nije pronađena niti jedna bakterija.



Slika 18. : Srednje vrijednosti koncentracije *S. aureus* u vodenom stupcu i sedimentu

„Boxplotovi“ prikazuju: srednja vrijednost- Mean (♦), standardna pogreška aritmetičke sredine – SE („Box“;) i 95 %-tni interval pouzdanosti ("Whisker") (Mann-Whitney test)

Salmonella spp detektirana je u 8 uzoraka vode od ukupno ispitanih 28 uzoraka (29 %), a niti u jednom uzorku sedimenta (od 15 ispitanih).

Shigella spp i enterovirusi nisu detektirani niti u jednom ispitanom uzorku vode i sedimenta.

## 4.6 Korelacijska analiza

Korelacijska analiza provedena je u cilju utvrđivanja međusobne povezanosti ispitanih mikrobioloških pokazatelja. U Tablicama 1. i 2. navedeni su korelacijski faktori ( $r_s$ ) uz razinu značajnosti od 0,05.

Primjenom Spearmanove korelacijske analize u morskoj je vodi utvrđena značajna pozitivna korelacija EC sa IE i CP ( $r_s=0,90$ ,  $r_s=0,52$ ), IE sa CP ( $r_s=0,50$ ), CP i PA ( $r_s=0,64$ ) (Tablica 1.).

Tablica 1. : Spearmanova korelacija ispitanih pokazatelja u vodi

	<i>E. coli</i>	Crijevni enterokoki	<i>C. perfringens</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>
<i>E. coli</i>	–				
Crijevni enterokoki	<b>0,90</b>	–			
<i>C. perfringens</i>	<b>0,52</b>	0,51	–		
<i>P. aeruginosa</i>	0,08	<b>0,09</b>	<b>0,64</b>	–	
<i>S. aureus</i>	0,22	<b>0,27</b>	0,08	-0,02	–

\* tamnije otisnuti rs koeficijenti znak su statistički značajne korelacije

U sedimentu značajna korelacija utvrđena je između EC i IE ( $r_s=0,62$ ), te CP i PA ( $r_s=0,56$ ) (Tablica 2.).

Tablica 2. : Spearmanova korelacija ispitanih pokazatelja u sedimentu

	<i>E. coli</i>	Crijevni enterokoki	<i>C. perfringens</i>	<i>P. aeruginosa</i>
<i>E. coli</i>	–			
Crijevni enterokoki	<b>0,62</b>	–		
<i>C. perfringens</i>	0,24	0,24	–	
<i>P. aeruginosa</i>	0,34	<b>0,43</b>	<b>0,56</b>	–

\* tamnije otisnuti rs koeficijenti znak su statistički značajne korelacije

## 5 RASPRAVA

Jadransko more, kao sastavni dio nacionalnog teritorija, predstavlja područje koje je od značajnog interesa za Republiku Hrvatsku te ono sukladno Ustavu Republike Hrvatske (NN 85/2010) ima posebnu zaštitu. Praćenje kakvoće mora u Jadranskom moru zahtjevan je međunarodni zadatak koji obuhvaća ispitivanje kemijskih, fizikalnih i bioloških parametara morske vode i morskoga sedimenta.

Kao jedan od projekata s ciljem zaštite morskog okoliša Jadranskog mora, osmišljen je i realiziran projekt BALMAS. Riječ je o prvoj studiji koja je provela istraživanje uključujući veći broj velikih komercijalnih luka [12] smještenih unutar istog, jadranskog bazena. Istovremenim uzimanjem uzoraka morske vode i sedimenta na unaprijed odabranih lokacijama, analizom te statističkom obradom dobivenih rezultata, praćene su vremenske i prostorne varijacije promatranih pokazatelja, uključujući i razinu fekalne kontaminacije. Unatoč globalnom povećanju svijesti o jačem stupnju onečišćenja luka [14], samo je nekoliko studija istraživalo razine FIB-a u lučkoj morskoj vodi ili sedimentima [15,16,17,18,19]. Sustavna istraživanja, koja su na vremenskoj i prostornoj skali rezultirala kvantificiranjem onečišćenja FIB-om, nisu provedena.

Cilj ovog diplomskog rada bio je usmjeren na ispitivanje opterećenja mikrobiološkim pokazateljima na području Luke Rijeka. Mjerne postaje na kojima je provedeno uzorkovanje mora i morskog sedimenta smještene su na prostoru akvatorija Luke Rijeka (LRI01, LRI04, LRI05 i JPG28). Mikrobiološki parametri (EC i IE) se smatraju najznačajnijim indikatorima sanitarno-fekalnog onečišćenja mora otpadnim vodama [20], a služe za procjenu mogućih zdravstvenih rizika prouzrokovanih patogenim bakterijama. Njihova prisutnost upozorava na potencijalni rizik od pojave zaraznih bolesti uslijed izloženosti morskoj vodi tijekom kupanja ili rekreacije, putem inhalacije, gutanja ili kontakta s kožom.

Rezultati ovog istraživanja ukazuju na veću opterećenost morske vode u Luci Rijeka tijekom zimskog perioda s oba ispitivana mikrobiološka pokazatelja (maksimalna vrijednost *E. coli*: 14.500 cfu/100 ml, enterokoki: 3.500 cfu/100 ml). Sediment je s *E. coli* bio najopterećeniji također zimi, s maksimalnom vrijednosti od 80 cfu/100 ml, a s enterokokima u proljeće, s maksimalnom vrijednosti od 10 cfu/100 ml. Međutim, navedene razlike nisu se pokazale statistički značajnim. To sugerira da varijacije u broju FIB-a u lučkoj morskoj vodi ne ovise o sezonskoj varijaciji, obrnuto od onoga što je poznato kod ostalih patogena koji su autohtoni u vodenom okolišu (npr. *Vibriospecies*) [21]. Većina prethodno provedenih studija koje su istraživale sezonsku varijabilnost FIB-a u vodi, povezivale su varijacije s režimom oborina i sa sezonskom varijacijom temperature [22,23]. Poznato je da fizikalno-kemijske varijable, među kojima temperatura, UV zračenje, pH, salinitet, kisik i koncentracija hranjivih tvari, mogu imati važnu ulogu u određivanju sudbine FIB-a u vodenim sustavima.

Jedan od mogućih razloga je to što se tijekom zime uslijed čestih padalina velike količine slatke vode slijevaju u more. To dovodi do smanjenja saliniteta mora, što pogoduje preživljavanju patogenih mikroorganizama. [24]. To se posebno odnosi na lokaciju LRI01, koja se nalazi na području izrazito slabe cirkulacije morske vode. Također, temperatura mora najniža je u zimsko doba, što također predstavlja jedan od čimbenika koji pogoduje opstanku patogenih mikroorganizama [25,26]. Od četiri istraživane lokacije, dvije su se lokacije, i za vodeni stupac i za sediment, izdvojile kao jače mikrobiološki opterećene (LRI01 i LRI04). Za rezultate ispitivanja vode na lokaciji LRI01 to je i statistički potvrđeno. Iako je lokacija LRI05 bila manje opterećena FIB, u jednom se uzorkovanju u vodenom stupcu također se bilježe visoke vrijednosti za *E. coli* (dana 10.08.2014., EC=8.500 cfu/100 ml) au sedimentu za enterokoke (dana 14.07.2014., IE=40 cfu/100 ml).

Razlogom za najveću opterećenost lokacije LRI01 fekalnim materijalom smatra se utjecaj balastnih voda koje potječu sa brodova koji uplovljavaju u Luku Rijeka. Drugi čimbenik koji doprinosi ovakvom rezultatu jest nedovoljan intenzitet cirkulacije morske vode u poluzatvorenom bazenu Luke Rijeka, što dodatno pridonosi pogoršanju kakvoće priobalnog mora na ovom području. [27] JPG28 lokacija, najmanje opterećena fekalnim materijalom, nalazi se na otvorenom moru, zbog čega je izložena snažnijem intenzitetu morskih struja koje potencijalno onečišćenje odnose u smjeru kretanja morskih struja. Osim blizine uzroka onečišćenja, razlozi za varijacije u vrijednostima koncentracije FIB-a na pojedinim lokacijama na području Luke Rijeka mogu se promatrati kroz prizmu dosad poznatih studija koje ukazuju da koncentracija fekalnih indikatorskih bakterijau površinskim vodama značajno varira, ovisno o mjestu i vremenu uzorkovanja, inaktivaciji sunčevom svjetlosti, varijacijama u intenzitetu miješanja morate sezonskim oscilacijama oborina.

Promatrajući vrijednosti ispitivanih fekalnih indikatora (*E. coli* i enterokoka) u vodenom stupcu i sedimentu (cfu 100/g), uočava se da je u vodi opterećenje *E. coli* puno jače nego u sedimentu. Srednja vrijednost u vodi iznosila je  $SV=2.877\pm 4.301$  cfu 100/g, a u sedimentu  $SV=1.000\pm 282$  cfu 100/g. U sedimentu su izmjerene više koncentracije enterokoka, sa srednjom vrijednosti od  $SV=1.320\pm 2.282$  cfu 100/g, u odnosu na vodeni stupac ( $SV=1.024\pm 1.185$  cfu 100/g). Na logaritamskoj skali u vodenom stupcu je srednja vrijednost za *E. coli*  $SV=2,5\pm 1,3$  log cfu 100/g, a u sedimentu  $SV=1,0\pm 1,2$  log cfu 100/g. Koncentracija enterokoka također je viša u vodi ( $SV=2,3\pm 1,1$  log cfu 100/g) u odnosu na sediment ( $SV=1,6\pm 1,7$  log cfu 100/g). Prema navedenim vrijednostima može se primijetiti da je u vodi koncentracija *E. coli* 2,5, a enterokoka 1,5 puta veća nego u sedimentu.

Kod najvećeg broja istraživanih luka projekta BALMAS, sediment je bio jače opterećen brojem indikatorskih bakterija u odnosu na vodu [28].

Unatoč činjenici da su sedimenti u morskim lukama fekalno jače onečišćeni, do sada nije provedeno sustavno praćenje količine FIB-a, odnosno praćenje razlike u njihovoj koncentraciji na mjernim postajama u lukama i okolnim područjima. Poznato je da sedimenti utječu na postojanost FIB-a [29], obzirom da vezivanje na površinu sedimenta pogoduje bakterijama u preživljavanju u van-enteričnom okruženju, omogućavajući fizikalnu i kemijsku zaštitu od biotičkih i abiotičkih stresova [30]. Međutim, čimbenici koji reguliraju postojanost FIB-a u sedimentima i dalje su slabo poznati. Valovi, intenzivan pomorski promet te jaružanje mora mogu suspendirati onečišćujuće tvari pohranjene u sedimentima te ih na taj način prenijeti u okolna područja [31,32]. Uspoređujući stupanj fekalnog onečišćenja u Luci Rijeka i plažama na području grada Rijeke (21 lokacija ispitivanja u nacionalnom monitoringu kakvoće mora za kupanje), očekivano, uočava se znatno viši stupanj onečišćenja na prostoru Luke Rijeka. Obrada rezultata kakvoće mora za kupanje na riječkim plažama od 2009. do 2017. godine (N=1.892) pokazuje da je srednja vrijednost za *E. coli* bila 33 cfu/100 ml a enterokoka 17 cfu/100 ml. Usporedba navedenih vrijednosti s vrijednostima dobivenim ispitivanjem morske vode Luke Rijeka (*E. coli*: SV=2.877, enterokoki: SV=1.024 cfu/100 ml) ukazuje da su vrijednosti fekalnih indikatora u Luci Rijeka za gotovo dva reda veličine veće od vrijednosti mjerenih na kupališnim prostorima. Navedeno ukazuje na to da je Luka Rijeka značajno fekalno kontaminirana. Kao razlog tome nameće se intenzivan pomorski promet, budući je Luka Rijeka tranzitna luka s velikim brojem brodova koji svakodnevno uplovljavaju u luku i pritom ispuštaju balastne vode koje predstavljaju izvor FIB-a. Osim toga mnoge luke prihvaćaju (ili su u prošlosti prihvaćale) netretirane ili samo djelomično tretirane komunalne otpadne vode okolnih gradova. Također, pomorske luke često su smještene na ušću, u uvalama ili umjetnim zatvorenim sustavima gdje je cirkulacija ograničena. Treba uzeti u obzir da su te razlike izraženije u pojedinim lukama, poput Luke Rijeka, a manje u nekim drugim, primjerice Veneciji, gdje je brojnost FIB-a slična između luke i okolnih područja [28].

Ta odstupanja mogu, uz ostale razloge, ovisiti također o različitoj strategiji uzorkovanja. Naime, kod pojedinih istraživanih luka, lokacije ispitivanja područja izvan luke bile su smještene na većoj udaljenosti od potencijalnih izvora fekalnog onečišćenja, dok su kod drugih luka poput Venecije, ne-lučke lokacije bile smještene u blizini središta grada, sa značajnim doprinosom FIB-a iz samog grada [33,34].

Od dodatnih mikrobioloških pokazatelja ispitani su *C. perfringens*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Salmonella* spp, *Shigella* spp i enterovirusi. Od ispitanih dodatnih pokazatelja najveća brojnost zabilježena je za *C. perfringens*, sa statistički značajno višim vrijednostima u sedimentu (SV=203 cfu/100 ml) u odnosu na vodeni stupac. Brojnost *P. aeruginosa* bila je manja u odnosu na *C. perfringens*, s višim vrijednostima u vodi (SV=27 cfu/100 ml) nego u sedimentu (SV=1 cfu/100 ml). *S. aureus* bio je prisutan u najmanjem broju, u vodi sa srednjom vrijednosti SV=1 cfu/100 ml, dok u sedimentu njegova prisutnost nije potvrđena. *Salmonella* spp je potvrđena kod 29 % ispitanih uzoraka vode, dok u uzorcima sedimenta nije nađena. *Shigella* spp i enterovirusi nisu nađeni u niti jednom uzorku.

U pionirskoj studiji, Carney [35], kao niti Obiri-Danso i Jones [36], nisu utvrdili sezonsku varijabilnost fekalnih koliforma u sedimentima estuarija. Obzirom da se u rutinskom monitoringu kakvoće mora na plažama uzorci sedimenta ili pijeska ne uzimaju [37], te da su propisi prvenstveno usredotočeni na morsku vodu zanemarujući sediment [38], ovi rezultati naglašavaju potrebu ispitivanja sedimenta [39,40] kako bi se dodatno unaprijedila praksa upravljanja kvalitetom vode i te postiglo sveobuhvatnije razumijevanje potencijalnih rizika za zdravlje ljudi.

Korelacijskom analizom ispitanih mikrobioloških pokazatelja utvrđena je u vodi značajna pozitivna korelacija između *E. coli* i enterokoka i *C. perfringens*; enterokoka i *C. perfringens*; te *C. perfringens* i *P. aeruginosa*. U sedimentu značajna pozitivna korelacija utvrđena je između *E. coli* i enterokoka, te *C. perfringens* i *P. aeruginosa*.



Rezultati provedenog istraživanja predstavljaju jasne pokazatelje utjecaja brojnih ljudskih aktivnosti koje se odvijaju u lukama. Rezultati pokazuju promjenjivu, ali značajnu fekalnu onečišćenost vode i sedimenta na prostoru Luke Rijeka. Budući da se u narednim godinama očekuje povećanje aktivnosti u Luci Rijeka, zbog porasta pomorskog prometa i globalizacije trgovine, podaci prikupljeni ovim istraživanjem pružaju ključne informacije u donošenju odluka o zaštiti javnog zdravlja te predstavljaju podršku donositeljima odluka pri provedbi zaštite okoliša.

## 6 ZAKLJUČCI

1. Analiza rezultata ispitivanja sa mjernih postaja pokazala je kako nema značajnih sezonskih razlika između koncentracija ispitivanih FIB-a (EC i IE) kod uzoraka morske vode i sedimenta, iako je zimsko razdoblje najopterećenije.
2. Od četiri istraživane lokacije, mikrobiološki najopterećenije po svim ispitanim pokazateljima (i vodi i u sedimentu) su lokacije LRI01 i LRI04, a najmanje JPG28
3. U vodi je opterećenje *E. coli* 2,5 puta, a enterokoka 1,5 puta veće nego u sedimentu (log cfu 100/g)
4. Znatno viši stupanj onečišćenja (gotovo dva reda veličine veće koncentracije) zabilježene su na prostoru Luke Rijeka u odnosu na okolno područje.
5. Od dodatnih mikrobioloških pokazatelja najveći broj utvrđen je za *C. perfringens*, čija koncentracije je veća u sedimentu nego u vodi, zatim za *P. aeruginosa*, čije je broj veći u vodi nego u sedimentu; *S. aureus* se javlja u najmanjem broju u vodi, dok u sedimentu nije detektiran, *Salmonella* spp detektirana je u 29 % ispitanih uzoraka vode, *Sgihella* spp i enterovirusi nisu utvrđeni u niti jednom uzorku.
6. Značajna pozitivna korelacija u vodi utvrđena je između *E. coli*, enterokoka i *C. perfringens*; enterokoka i *C. perfringens*; te *C. perfringens* i *P. aeruginosa*. U sedimentu značajna pozitivna korelacija utvrđena je između *E. coli* i enterokoka, te *C. perfringens* i *P. aeruginosa*.

## 7 LITERATURA

1. Pomorski promet. Dostupno na: [https://hr.wikipedia.org/wiki/Pomorski\\_promet](https://hr.wikipedia.org/wiki/Pomorski_promet)
2. Pomorstvo. Dostupno na:  
<http://www.unizd.hr/Portals/1/nastmat/pomgeograf/Razvoj%20pomorstva.pdf>
3. Stabilitet broda. Dostupan na: [https://hr.wikipedia.org/wiki/Stabilitet\\_broda](https://hr.wikipedia.org/wiki/Stabilitet_broda)
4. Balast. Dostupno na: <https://hr.wikipedia.org/wiki/Balast>
5. Balastne vode. Dostupno na:  
[http://www.pfst.unist.hr/uploads/ZMMO\\_predavanje\\_7.pdf](http://www.pfst.unist.hr/uploads/ZMMO_predavanje_7.pdf)
6. Luka Trivić, Balastne vode, 2016. Dostupno na:  
<https://repositorij.vuka.hr/islandora/object/vuka:521/preview>
7. Projekt BALMAS. Dostupno na: <http://acta.izor.hr/wp/djelatnosti/medunarodna-suradnja-i-projekti/projekt-balmas/>
8. Sustav upravljanja balastnim vodama za zaštitu Jadranskog mora. Dostupno na:  
<https://www.irb.hr/Istrazivanje/Zavodi/Centar-za-istrazivanje-mora/Laboratorij-za-procese-u-ekosustavu-mora/Sustav-upravljanja-balastnim-vodama-za-zastitu-Jadranskog-mora-engl.-BALLast-Water-MAnagement-System-For-Adriatic-Sea-Protection-BALMAS>
9. MARPOL. Dostupno na:  
[https://www.pfri.uniri.hr/web/dokumenti/uploads\\_nastava/20180227\\_184444\\_zec\\_ZMMO\\_.Marpol\\_v20.pdf](https://www.pfri.uniri.hr/web/dokumenti/uploads_nastava/20180227_184444_zec_ZMMO_.Marpol_v20.pdf)
10. Ministarstvo mora, prometa i infrastrukture. Dostupno na:  
<http://www.mppi.hr/default.aspx?id=13801>
11. Poslovni dnevnik. Dostupno na: <http://www.poslovni.hr/hrvatska/tankeri-godisnje-u-jadran-izbace-95-milijuna-tona-balastnih-voda-50736>

12. Predstavljeni rezultati BALMAS-a, projekta koji štiti Jadransko more. Dostupno na:  
<http://studentski.hr/studenti/vijesti/predstavljeni-rezultati-balmas-a-projekta-koji-stiti-jadransko-more>
13. Ministarstvo mora, prometa i infrastrukture. Dostupno na:  
<http://www.mppi.hr/default.aspx?id=13801>
14. Chiaretti, G., Onorati, F., Borrello, P., Orasi, A., Mugnai, C., 2014. Coastal microbial quality of surface sediments indifferent environments along the Italian coast. *Environ. Sci. Processes Impacts* 16, 2165–2171.
15. Jeng, W.L., Han, B.C., 1994. Sedimentary coprostanol in Kaohsiung harbour and the Tan-Shui estuary, Taiwan. *Mar. Pollut. Bullet.* 28, 494–499.
16. Wong, Y.S., Tam, N.F.Y., Lau, P.S., Xue, X.Z., 1995. The toxicity of marine sediments in Victoria Harbour, Hong Kong. *Mar. Pollut. Bull.* 31, 464–470.
17. Luna, G.M., Dell’Anno, A., Pietrangeli, B., Danovaro, R., 2012. A new molecular approach based on qPCR for the quantification of fecal bacteria in contaminated marine sediments. *J. Biotech.* 157, 446–453.
18. Ng, C., Le, T.H., Goh, S.G., Liang, L., Kim, Y., Rose, J.B., Yew-Hoong, K.G., 2015. A comparison of microbial water quality and diversity for ballast and tropical harbor waters. *PloS One* 10, e0143123.
19. Dheenan, P.S., Jha, D.K., Das, A.K., Vinithkumar, N.V., Devi, M.P., Kirubakaran, R., 2016. Geographic information systems and multivariate analysis to evaluate fecal bacterial pollution in coastal waters of Andaman, India. *Environ. Poll.* 214, 45–53.
20. Kakvoća mora na morskim plažama u Primorsko-goranskoj županiji u 2016.  
Dostupno na: <https://www2.pgz.hr/doc/graditeljstvo/okolis/2017/kvaliteta-mora2016.pdf>

21. Oberbeckmann, S., Fuchs, B. M., Meiners, M., Wichels, A., Wiltshire, K. H., Gerdt, G., 2012. Seasonal dynamics and modeling of a *Vibrio* community in coastal waters of the North Sea. *Microb.Ecol.* 63, 543–551.
22. Hong, H., Qiu, J., Liang, Y., 2010. Environmental factors influencing the distribution of total and fecal coliform bacteria in six water storage reservoirs in the Pearl River Delta Region, China. *J. Environ. Sci.* 22, 663-668.
23. Pan, X., Jones, K.D., 2012. Seasonal variation of fecal indicator bacteria in storm events within the US stormwater database. *Wat. Sci. Technol.* 65, 1076–1080.
24. Bordalo, A.A., Onrassami, R., Dechsakulwatana, C., 2002. Survival of faecal indicator bacteria in tropical estuarine waters (Bangpakong River, Thailand). *J. Appl. Microbiol.* 93, 864–871.
25. Ishii, S., Ksoll, W.B., Hicks, R.E., Sadowsky, M.J., 2006. Presence and growth of naturalized *Escherichia coli* in temperate soils from Lake Superior watersheds. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 612–621.
26. An, Y.-J., Kampbell, D.H., Breidenbach, G.P., 2002. *Escherichia coli* and total coliforms in water and sediments at lake marinas. *Environ. Pollut.* 120, 771–778.
27. Perini, L., Quero, G.M., García, E.S., Luna, G.M., 2015. Distribution of *Escherichia coli* in a coastal lagoon (Venice, Italy): temporal patterns, genetic diversity and the role of tidal forcing. *Water Res.* 87, 155–165.

28. Luna, Gian Marco; Manini, Elena; Turk, Valentina; Tinta, Tinkara; D'Errico, Giuseppe; Baldrighi, Elisa; Baljak, Vanja; Buda, Donatella; Cabrini, Marina; Campanelli, Alessandra; Cenov, Arijana; Del Negro, Paola; Drakulović, Dragana; Fabbro, Cinzia; Glad, Marin; Grilec, Dolores; Grilli, Federica; Jokanović, Sandra; Jozić, Slaven; Kauzlarić, Vesna; Kraus, Romina; Marini, Mauro; Mikuš, Josip; Milandri, Stefania; Pećarević, Marijana; Perini, Laura; Quero, Grazia Marina; Šolić, Mladen; Vukić Lušić, Darija; Zoffoli, Silvia. Status of faecal pollution in ports: A basin-wide investigation in the Adriatic Sea. *Marine pollution bulletin*. (2018) (prihvaćen za objavljivanje)
29. Anderson, K.L., Whitlock, J.E., Harwood, V.J., 2005. Persistence and differential survival of fecal indicator bacteria in subtropical waters and sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 3041–3048.
30. Hassard, F., Gwyther, C. L., Farkas, K., Andrews, A., Jones, V., Cox, B., Brett, H., Jones D.L., McDonald J.E., Malham S.K., 2016. Abundance and distribution of enteric bacteria and viruses in coastal and estuarine sediments– areview. *Front. Microbiol.* 7, 1692.
31. Zhang, L., Ye, X., Feng, H., Jing, Y., Ouyang, T., Yu, X., Liang, R., Gao, C., Chen, W., 2007. Heavy metal contamination in western Xiamen Bay sediments and its vicinity, China. *Mar. Pollut. Bull.* 54, 974–982
32. Laitano, M.V., Castro, Í.B., Costa, P.G., Fillmann, G., Cledón, M., 2015. Butyltin and PAH contamination of Mar del Plata port (Argentina) sediments and their influence on adjacent coastal regions. *Bull. Environ. Contamin. Toxicol.* 95, 513–520.
33. Quero, G.M., Fasolato, L., Vignaroli, C., Luna, G.M., 2015. Understanding the association of *Escherichia coli* with diverse macroalgae in the lagoon of Venice. *Sci. Rep.* 5, 10969.

34. Perini, L., Quero, G.M., García, E.S., Luna, G.M., 2015. Distribution of *Escherichia coli* in a coastal lagoon (Venice, Italy): temporal patterns, genetic diversity and the role of tidal forcing. *Water Res.* 87, 155–165.
35. Carney, J.F., Carty, C.E., Colwell, R.R., 1975. Seasonal occurrence and distribution of microbial indicators and pathogens in the Rhode River of Chesapeake Bay. *Appl. Microbiol.* 30, 771–780
36. Obiri-Danso, K., Jones, K., 1999. Distribution and seasonality of microbial indicators and thermophilic campylobacters in two freshwater bathing sites on the River Lune in northwest England. *J. Appl. Microbiol.* 87, 822–832.
37. Vogel, L.J., Edge, T.A., O'Carroll, D.M., Solo-Gabriele, H.M., Robinson, C.E., 2017. Evaluation of methods to sample fecal indicator bacteria in foreshore sand and pore water at freshwater beaches. *Water Res.* 121, 204–212
38. Zhang, Q., He, X., Yan, T., 2015. Impact of indigenous microbiota of subtidal sand on fecal indicator bacteria decay in beach systems: a microcosm study. *Environ. Sci. Water Res. Technol.* 1, 306–315
39. Lee, C.M., Lin, T.Y., Lin, C.C., Kohbodi, G.A., Bhatt, A., Lee, R., Jay, J.A., 2006. Persistence of fecal indicator bacteria in Santa Monica Bay beach sediments. *Water Res.* 40, 2593–2602
40. Luna, G.M., Vignaroli, C., Rinaldi, C., Pusceddu, A., Nicoletti, L., Gabellini, M., Danovaro, R., Biavasco, F., 2010. Extraintestinal *Escherichia coli* carrying virulence genes in coastal marine sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 76, 5659–5668.

## POPIS SLIKA

Slika 1. : Luka Rijeka .....	15
Slika 2. : Riječko područje istraživanja.....	16
Slika 3. : Srednje vrijednosti koncentracije indikatora fekalnog onečišćenja u vodi Luke Rijeka tijekom četiri sezone ispitivanja a) <i>E. coli</i> (EC), b) enterokoki (IE) .....	26
Slika 4. : Prikaz vrijednosti fekalnih indikatorskih bakterija (FIB = EC + IE) u vodi Luke Rijeka tijekom različitih sezona .....	27
Slika 5. : Srednje vrijednosti koncentracije indikatora fekalnog onečišćenja u sedimentu Luke Rijeka tijekom četiri sezone ispitivanja a) <i>E. coli</i> (EC), b) enterokoki (IE) .....	28
Slika 6. : Prikaz vrijednosti fekalnih indikatorskih bakterija (FIB = EC + IE) u sedimentu Luke Rijeka tijekom različitih sezona.....	29
Slika 7. : Srednje vrijednosti koncentracije indikatora fekalnog onečišćenja u vodi Luke Rijeka na četiri lokacije ispitivanja a) <i>E. coli</i> (EC), b) enterokoki (IE).....	30
Slika 8. : Prikaz vrijednosti fekalnih indikatorskih bakterija (FIB = EC + IE) u vodi Luke Rijeka na različitim lokacijama ispitivanja .....	31
Slika 9. : Srednje vrijednosti koncentracije indikatora fekalnog onečišćenja u sedimentu Luke Rijeka na četiri lokacije ispitivanja a) <i>E. coli</i> (EC), b) enterokoki (IE).....	32
Slika 10. : Prikaz vrijednosti fekalnih indikatorskih bakterija (FIB = EC + IE) u sedimentu Luke Rijeka na različitim lokacijama ispitivanja.....	33
Slika 11. : Srednje vrijednosti koncentracije indikatora fekalnog onečišćenja (log cfu 100/g) u voda vs sediment Luke Rijeka za a) <i>E. coli</i> (EC), b) enterokoke (IE) .....	34
Slika 12. : Prikaz vrijednosti fekalnih indikatorskih bakterija (FIB = EC + IE) izraženo u cfu 100/g u a) vodi i b) sedimentu Luke Rijeka u istraživanom razdoblju .....	35



Slika 13. : Srednje vrijednosti koncentracije indikatora fekalnog onečišćenja u Luka Rijeka vs plaže za a) <i>E. coli</i> (EC), b) enterokoke (IE) .....	36
Slika 14. : Srednje vrijednosti koncentracije indikatora fekalnog onečišćenja – FIB-a .....	36
Slika 15. : Prikaz vrijednosti <i>C. perfringens</i> , <i>P. aeruginosa</i> i <i>S. aureus</i> u vodenom stupcu po pojedinim lokacijama .....	37
Slika 16. : Srednje vrijednosti koncentracije <i>C. perfringens</i> u sedimentu i vodenom stupcu..	38
Slika 17. : Srednje vrijednosti koncentracije <i>P. aeruginosa</i> u vodenom stupcu i sedimentu ..	39
Slika 18. : Srednje vrijednosti koncentracije <i>S. aureus</i> u vodenom stupcu i sedimentu .....	40

## **POPIS TABLICA**

Tablica 1. : Spearmanova korelacija ispitanih pokazatelja u vodi .....	41
Tablica 2. : Spearmanova korelacija ispitanih pokazatelja u sedimentu .....	41

## **ŽIVOTOPIS**

Rođen sam 14. listopada 1991. u Puli kao prvo dijete u obitelji oca Josipa i majke Irene. Svoj obrazovni put započeo sam sada već davne 1998. godine kada krećem u osnovnu školu „Ivo Lola Ribar“ – Labin, a završavam 2006. godine. Zatim se iste godine upisujem u srednju školu „Mate Blažina“ u Labinu – smjer opća gimnazija. Srednju školu završio sam 2010. godine. Po završetku srednjoškolskog obrazovanja upisao sam se na Sveučilišni studij Sanitarnog inženjerstva na Medicinskom fakultetu u Rijeci. Nakon uspješno završenog preddiplomskog sveučilišnog studija Sanitarnog inženjerstva, 2016. godine nastavljam sa obrazovanjem i upisujem se na Diplomski sveučilišni studij Sanitarnog inženjerstva.