

POJAVNOST *Pseudomonas aeruginosa* U VODI ZA PIĆE I BAZENSKOJ VODI NA PODRUČJU PRIMORSKO-GORANSKE ŽUPANIJE U PETOGODIŠNJEM RAZDOBLJU (2016.-2020.)

Smolčić, Katarina

Master's thesis / Diplomski rad

2021

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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:184:654365>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-12**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
SANITARNOG INŽENJERSTVA

Katarina Smolčić

POJAVNOST *Pseudomonas aeruginosa* U VODI ZA PIĆE I BAZENSKOJ VODI NA PODRUČJU
PRIMORSKO-GORANSKE ŽUPANIJE U PETOGODIŠNJEM RAZDOBLJU (2016.-2020.)

Diplomski rad

Rijeka, 2021.

SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
SANITARNOG INŽENJERSTVA

Katarina Smolčić

POJAVNOST *Pseudomonas aeruginosa* U VODI ZA PIĆE I BAZENSKOJ VODI NA PODRUČJU
PRIMORSKO-GORANSKE ŽUPANIJE U PETOGODIŠNJEM RAZDOBLJU (2016.-2020.)

Diplomski rad

Rijeka, 2021.

Ovim se radom najljepše zahvaljujem mentorici doc. dr. sc. Arijani Cenov, dipl. sanit. ing. na ukazanoj pomoći, odvojenom vremenu, korisnim savjetima i idejama prilikom izrade i pisanja ovog diplomskog rada.

Od srca se zahvaljujem i izv. prof. dr. sc. Dariji Vukić Lušić, dipl. sanit. ing. na korisnim sugestijama te nesebičnoj pomoći i strpljenju. Bez njenog truda i odvojenog vremena, proces pisanja potrajao bi duže.

Srdačno zahvaljujem i Nastavnom zavodu za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije zbog ustupljene pomoći, te opskrbe svim potrebnim materijalima i sredstvima prilikom provođenja eksperimentalnog dijela rada.

No ipak najveće hvala mojim roditeljima, posebice djedu i baki, koji su mi osigurali stambeno i financijsko pitanje, te još jednom veliko hvala svima na motivaciji i potpori tijekom cjelokupnog studiranja jer bez njih ne bih bila ovdje gdje danas jesam.

Zahvaljujem i svim profesorima, kolegicama i kolegama na razumijevanju, podršci, pomoći te ugodnom druženju tijekom studiranja.

Ovaj rad posvećujem mom djedu, koji je izrazio veliku želju stajati uz mene u prvom redu na obrani diplomskog rada i dodjeli diplome, obzirom na to da je cijelo vrijeme bio moja pomoć i desna ruka.

Katarina Smolčić

SAŽETAK:

Obzirom na činjenicu da je voda osnovna potreba svakog živog bića, bitno je osiguravati njenu zdravstvenu ispravnost, bilo da se radi o vodi za ljudsku potrošnju ili onoj namijenjenoj rekreaciji i rehabilitaciji. U ovom radu ispitana je prisutnost mikrobiološkog pokazatelja *P. aeruginosa* u vodi za piće (N=4171) kao i u bazenskoj vodi (N=5059) na području Primorsko-goranske županije tijekom petogodišnjeg razdoblja (2016.-2020.). Također, prikazana je zakonska legislativa te su uspoređeni nacionalni zakonski propisi sa susjednim zemljama i šire, vezano uz korištenje *P. aeruginosa* kao mikrobiološkog pokazatelja u vodi za piće i bazenskoj vodi.

Prema dobivenim rezultatima, udio *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka bio je sličan kod vode za piće (3,9%) i bazenske vode (4,6%), s najvećim brojem pozitivnih uzoraka u kategoriji niskog opterećenja (<10 CFU/100 mL). Raširenost ove bakterije bila je najizraženija u toplijem razdoblju godine (srpanj-listopad). *P. aeruginosa* statistički je značajno povezan s većinom ispitanih mikrobioloških i fizikalno kemijskih pokazatelja. *P. aeruginosa*-pozitivni uzorci vode za piće u najvećem broju su prikupljeni tijekom tehničkih pregleda zgrada, a kod bazena najveći udio pozitivnih uzoraka imali su zabavni i jacuzzi/hidromasažni bazeni. Veći udio pozitivnih uzoraka imali su otvoreni u odnosu na zatvorene bazene, kao slatki u odnosu na bazene punjene morskom vodom. Prema namjeni bazena, najveći stupanj opterećenosti bakterijom *P. aeruginosa* zabilježen je kod rehabilitacijskih bazena.

Republika Hrvatska (RH), Srbija i Crna Gora su zemlje koje su u svoje nacionalne propise uključile *P. aeruginosa* kao pokazatelj zdravstvene ispravnosti vode za piće i ambalažirane vode dok su Slovenija i Bosna i Hercegovina ispitivanje ove bakterije ograničile samo na ambalažiranu vodu. U RH stav je stručnjaka da je *P. aeruginosa* potrebno ispitivati na mjestima od javnozdravstvenog interesa (bolnice, domovi za starije i nemoćne). Pri procjeni zdravstvene ispravnosti bazenske vode ovaj se parametar ispituje u svim zemljama obuhvaćenim ovim istraživanjem.

Ključne riječi: *Pseudomonas aeruginosa*, Primorsko-goranska županija, biofilm, bazenska voda, voda za piće

ABSTRACT:

Given the fact that water is a basic need of every living being, it is important to ensure its health, whether it is water for human consumption or that intended for recreation and rehabilitation. In this paper, the presence of the microbiological indicator *P. aeruginosa* in drinking water (N=4171) as well as in pool water (N=5059) in the Primorje-Gorski Kotar County during the five-year period (2016.-2020.) was examined. Also, the legislation is presented and the national legislation is compared with neighboring countries and beyond, related to the use of *P. aeruginosa* as a microbiological indicator in drinking water and pool water.

According to the obtained results, the proportion of *P. aeruginosa*-positive samples was similar in drinking water (3,9%) and pool water (4,6%), with the highest number of positive samples in the low load category (<10 CFU / 100 mL). The prevalence of this bacterium was most pronounced in the warmer period of the year (July-October). *P. aeruginosa* is statistically significantly associated with most of the examined microbiological and physicochemical parameters. *P. aeruginosa*-positive samples of drinking water were mostly collected during technical inspections of buildings, and in the case of swimming pools, the largest share of positive samples were in entertainment and jacuzzi / hydromassage pools. They had a higher proportion of positive samples than outdoor pools, as well compared to seawater-filled pools. According to the purpose of the pool, the highest degree of *P. aeruginosa* load was recorded in rehabilitation pools.

The Republic of Croatia, Serbia and Montenegro are countries that have included *P. aeruginosa* in their national regulations as an indicator of the health safety of drinking water and packaged water, while Slovenia and Bosnia and Herzegovina have limited the testing of this bacterium to packaged water only. In the Republic of Croatia, the opinion of experts is that *P. aeruginosa* should be examined in places of public health interest (hospitals, homes for the elderly and infirm). When assessing the health safety of pool water, this parameter is tested in all countries covered by this study.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, Primorje-Gorski Kotar County, biofilm, pool water, drinking water

SADRŽAJ:

1	UVOD	1
1.1	Voda kao resurs	1
1.2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1
1.2.1	Općenito	1
1.2.2	Izvori i pojavnost	3
1.2.3	Putevi prijenosa	4
1.2.4	Značajnost u vodi za piće	4
1.2.5	Značajnost u bazenskoj vodi	6
1.3	Zakonska legislativa	8
1.3.1	Voda za piće	8
1.3.2	Bazenske vode	14
2	CILJ RADA	21
3	MATERIJALI I METODE	22
3.1	Područje i razdoblje ispitivanja	22
3.2	Prikupljanje i analiza uzoraka	22
3.3	Metode	23
3.3.1	Mikrobiološki pokazatelji	23
3.3.2	Fizikalno-kemijski pokazatelji	29
3.4	Statistička obrada podataka	29
4	REZULTATI	31
4.1	Voda za ljudsku potrošnju	31
4.1.1	Korelacijska analiza	34
4.2	Bazenska voda	35
4.2.1	Korelacijska analiza	42
4.3	Usporedba nacionalnih zakonskih propisa sa susjednim zemljama i šire	43
4.3.1	Voda za ljudsku potrošnju	43
4.3.2	Bazenska voda	44
5	RASPRAVA	45
5.1	Voda za piće	45
5.2	Bazenska voda	48
5.3	Zakonska regulativa	51
6	ZAKLJUČCI	53
7	LITERATURA	55

1 UVOD

1.1 Voda kao resurs

Voda je nezamjenjivi čimbenik nužan za razvoj života na nekom području. Čini 2/3 ljudskog organizma, a pri njenom manjku remete se normalne životne funkcije. Voda za piće jedina je namirnica koju koristi cjelokupno stanovništvo, bez obzira na socioekonomski status, zemljopisni položaj, vjeru, rasu i sl. Prema UNESCO-ovom izvješću, Republika Hrvatska (RH) se po bogatstvu i dostupnosti vodnih resursa nalazi pri samom vrhu zemalja Europe ali i svijeta. Rezerve pitke vode koje Hrvatska posjeduje su značajne, a većini građana voda za piće dostupna je izravno iz slavine. Pijenje vode iz slavine je način konzumacije koji se koristi u sve manjem broju zemalja, kako zbog narušene kakvoće vode tako i zbog snažne promidžbe upotrebe ambalažirane vode. Vodne rezerve kojima raspolažemo potrebno je racionalno koristiti i dodatno zaštititi od različitih vrsta onečišćenja, u cilju zaštite i očuvanja javnog zdravlja kao i samog okoliša.

Korištenje vode za piće i sanitarne potrebe svakako ima prednost u odnosu na korištenje vode za druge namjene. Velike količine vode koriste u poljoprivredi, industriji, za proizvodnju energije, također i u farmaceutske i rekreativne svrhe. Naime, wellness turizam je grana koja u RH sve više raste, što je u skladu sa svjetskim trendovima. Vodeća turistička središta u Hrvatskoj za svoje goste i lokalno stanovništvo šire ponudu rekreativnih mogućnosti. Tako su bazeni postali nezaobilazni dio ponude suvremenog turizma, koji se osim u rekreativne svrhe koriste kao lječilišni i rehabilitacijski. Iz prethodno navedenog vidljivo je da nam voda pruža brojne blagodati, što u ubrzanom načinu života pridonosi pozitivnim zdravstvenim učincima te nam pomaže u očuvanju fizičke kondicije. Međutim, ukoliko se bazenska voda i bazenski prostori pravilno ne održavaju ili se korisnici ne pridržavaju higijenskih pravila, moguća je izloženost kemijskom ili mikrobiološkom onečišćenju. Osiguranje i kontrola dobre kvalitete bazenske vode minimalizira štetan utjecaj na čovjekovo zdravlje, te je značajno javno-zdravstveno pitanje.

1.2 *Pseudomonas aeruginosa*

1.2.1 Općenito

Rod *Pseudomonas* pripada porodici Pseudomonadaceae, među kojima je najznačajniji *Pseudomas aeruginosa*. *Pseudomonas* je gram-negativan, ravni štapić, koji u vlažnoj sredini može preživjeti mjesecima. Zbog svoje sposobnosti preživljavanja u različitim okolišnim uvjetima, ova bakterija sveprisutna je u okolišu. Jedna od karakteristika pseudomonasa je i

termorezistentnost – podnosi temperaturne raspone od 4 do 42 °C, što ju što joj omogućava preživljavanje u različitim medijima: vrućim kupkama, destiliranoj vodi, vodama tekućicama i stajaćicama, bazenskim vodama i sl. (1).

P. aeruginosa ima sposobnost stvaranja biofilma, na što je vodoopskrbni sustav izrazito osjetljiv i često je korišten model za njihovo proučavanje. Može kolonizirati nove površine ili se pridružiti postojećima. Biofilmove definiramo kao tanke složene formacije mikroorganizama i želatinoznog matriksa, izgrađene od ekstracelularnih polimernih supstanci (EPS) koje izlučuju prisutni mikroorganizmi. Smatramo ih glavnim izvorima mikroorganizama u vodoopskrbnoj mreži (2). Na njihov rast i razvoj utječe nekolicina faktora kao što su: temperatura, pH, tvrdoća vode, prisustvo dezinficijensa i sl. (3). Biofilm ima zaštitnu ulogu za bakterije jer im omogućava lakši opstanak te pojačanu otpornost na dezinficijense i antibiotike. Osim što smanjuje kvalitetu vode, formiranje biofilma predstavlja rizik za ljudsko jer može sadržavati opasnije bakterije, poput koliformnih organizama i *E.coli*. Jednom uspostavljeni, biofilmovi mogu biti teški za uklanjanje iz umjetnih vodnih sustava jer im je potreban biodisperzant, odnosno kemikalija za razgradnju biofilma ili fizičko uklanjanje prije dezinfekcije (4). Prilagodljivost *P. aeruginosa* različitim okruženjima i sposobnost napredovanja u uvjetima prisutnim u biofilmovima, povezuje se s njegovom sposobnošću da kao akceptor elektrona umjesto kisika koristi nitrat. Ako kisik, nitrat i nitrit nisu dostupni, *P. aeruginosa* može rasti ili preživjeti pomoću fermentacije arginina, odnosno piruvata.

Po pitanju rezistencije na klorne preparate, ubrajamo ga u skupinu umjerene rezistencije ili perzistentnosti na klor. Kloriranje se postiže primjenom klora, monokloramina ili klor dioksida. Iako otpornost na kloriranje ovisi o soju, *P. aeruginosa*, posebice kada je povezan s biofilmom, može preživjeti koncentracije klora koje se primjenjuju pri dezinfekciji vode za piće. Smatra se da je uzrok povećane rezistencije stanica *P. aeruginosa* uklopljenih u biofilm, formiranje gore već spomenute ekstracelularne polimerne supstance (EPS), koja je smještena na površini stanične membrane. EPS troši ostatke dezinficijensa te utječe na dostupnost reaktivnih mjesta na površini stanice što odgađa interakciju između dezinficijensa i stanične membrane. Uz to, EPS smanjuju propusnost membrane za dezinficijense pri čemu smanjuje mogućnost pojave većih oštećenja bakterije što omogućava bržu regeneraciju nakon potrošnje dezinficijensa (5).

Unatoč tome što *P. aeruginosa* preferira način života biofilma, nije uvijek identificiran unutar takvih sustava i rijetko se otkriva pomoću metoda uzgoja. Prilikom identifikacije *P. aeruginosa* na odgovarajućim podlogama, služimo se njezinim biokemijskim osobinama u koje ubrajamo stvaranje pozitivne citokromoksidaze, oksidaze i katalaze, proizvodnju amonijaka iz arginina, rast na citratu kao jedinom izvoru ugljika poput ostalih fluorescentnih *Pseudomonasa* te sintezu zeleno-žutog fluorescentnog pigmenta pioverdina kao i ne-fluorescentnog plavičastog pigmenta piocijanina (5). Proizvodnja pioverdina i piocijanina karakteristična je samo za vrstu *P. aeruginosa* u rodu *Pseudomonas* i često se koristi u svrhu identifikacije. Pioverdin je siderofor čija je uloga antagonista prema drugim mikroorganizmima. Piocijanin je fenazin kojeg proizvodi *P. aeruginosa*; ti spojevi djeluju antimikrobno i antimikotično.

1.2.2 Izvori i pojavnost

P. aeruginosa oportunistički je patogen koji izaziva bolest uglavnom kod ljudi sa oslabljenim imunitetom, dok se kod zdravih ljudi bolest rjeđe javlja (6). U rizičnu populaciju ubrajamo novorođenčad, bolesnike s neutropenijom, bolesnike s opeklinama, bolesnike koji koriste invazivne uređaje (npr. kateter, endotrahealna cijev, ventilator...), bolesnike koji imaju osnovnu plućnu bolest poput bronhiektazije ili cistične fibroze (5) kao i osobe s fizičkim oštećenjima očiju (6). Kod korisnika hidromasažnih kada (eng. hot tube) primarni je uzrok folikulitisa, kod osoba koje duže borave u vodi uzrokuje upalu vanjskog uha ili „plivačko uho“ (otitis externa ili eng. swimmer's ear). Glavni je uzrok morbiditeta i mortaliteta kod bolesnika s cističnom fibrozom (7) obzirom na veću sklonost ovih bolesnika kolonizaciji *P. aeruginosa*, što dovodi do ozbiljnih progresivnih plućnih infekcija (8).

Pseudomonas posjeduje urođenu rezistenciju na antibiotike zbog niske propusnosti vanjske membrane kao i izbacivanja antibiotika iz stanice (eng. efflux). Uz to, neki sojevi *P. aeruginosa* mutiraju na mjestima vezanja fluorokinolona uz povećano stvaranje beta-laktamaze ili cefalosporinaze. *P. aeruginosa* često razvija dodatne mehanizme rezistencije (npr. iz plazmida) kao i multiplu rezistenciju (otpornost na više vrsta lijekova) tijekom tretmana liječenja. Rezistencija na lijekove predstavlja glavni izazov prilikom liječenja infekcije uzrokovane *P. aeruginosa*, obzirom da predstavlja drugi vodeći uzrok bolničkih infekcija uzrokovanih gram-negativnim bakterijama.

Prisutnost multirezistentnih *P. aeruginosa* u rekreacijskom okruženju, predstavlja rizik za imunokompromitirane osobe, kod kojih otežano liječenje ima veće implikacije.

Infekcije pseudomonasom rezistentnim na lijekove često rezultira povećanim troškovima liječenja, produljenim boravkom u bolnici te većim morbiditetom i smrtnošću. Praćenje rezistentnih sojeva *P. aeruginosa* može imati veliki značaj za prevenciju potencijalnih epidemija koje mogu izbiti u budućnosti, obzirom na sklonost ove bakterije brzom razmnožavanju u uvjetima kada koncentracija klora padne ispod preporučenih vrijednosti (7).

Voda zatvorenih bazena predstavlja važan rezervoar pseudomonasa, gdje mokra koža korisnika i povoljna temperatura vode pružaju idealne uvjete za razmnožavanje ove bakterije. Uočeno je da kompleksni cjevovodi, koje je zbog njihove složenosti teško čistiti, predstavljaju važan čimbenik kontaminacije pseudomonasom (7).

Iz prethodno navedenog je vidljivo da je *P. aeruginosa* čest organizam u okolišu, sposoban kolonizirati različite niše vodenog okoliša kao i brojna vlažna mjesta u tlu (5). To zahvaljuje dobroj prilagodbi uvjetima okoliša, mogućnošću preživljavanja u širokom temperaturnom rasponu te minimalnim nutritivnim zahtjevima. Najčešće je prisutna gram-negativna bakterija koja se može razmnožavati u vodenom okruženju ali i na površini pogodnih organskih materijala u kontaktu s vodom. Izolirana je iz niza vlažnih okruženja poput umivaonika, vodenih kupki, sustava tople vode, tuševa i spa bazena (8).

1.2.3 Putevi prijenosa

Iako značajan izvor zaraze predstavljaju vodene kupke, tuševi, bazenski okoliš i slična mjesta, infekcije se u najvećem broju slučajeva pojavljuju ipak u zdravstvenim ustanovama, jedinicama intenzivnog liječenja, domovima za starije i nemoćne te drugim institucijama u kojima borave imunokompromitirane osobe. Posljedica je to rezistentnosti brojnih sojeva na niz antimikrobnih sredstava, što otežava stanje u bolničkim uvjetima. Glavni put infekcije je izlaganje osjetljivog tkiva (posebno rana i sluznica) kontaminiranoj vodi ili kontaminiranim kirurškim instrumentima tijekom zahvata (6). *P. aeruginosa* se može prenijeti između pacijenata, putem ruku zdravstvenih radnika i sl.

1.2.4 Značajnost u vodi za piće

Kontrola kakvoće vode za ljudsku potrošnju od posebnog je značaja za javne vodoopskrbne sustave za koje je vezan veliki broj korisnika. U tu svrhu provode se ispitivanja vode na kemijske i mikrobiološke pokazatelje koji su propisani važećim pravilnikom.

Prethodno je navedeno kako *P. aeruginosa* može biti značajan u određenim okruženjima, poput zdravstvenih ustanova, jedinica intenzivnog liječenja, domova za starije i nemoćne te drugim institucijama, međutim nema dokaza da je konzumiranje i upotreba vode za piće u takvim ustanovama povezana s negativnim zdravstvenim učinkom u općoj populaciji. Međutim, prisustvo velikog broja *P. aeruginosa* u vodi za piće, posebice u ambalažiranoj ("flaširanoj") vodi, pogoršava senzorska svojstva vode, kao što su okus, miris i mutnoća (4). Iako se takva voda ne smatra opasnom za zdravu populaciju, zdravstveni problemi mogu se pojaviti kod imunokompromitiranih osoba (djeca, starija populacija, bolesnici). Prisustvo *P. aeruginosa* u vodi također služi kao dobar pokazatelj stanja, odnosno čistoće distribucijskog sustava. Ovo je vrlo značajno za unutarnju mrežu u objektima, koja nije pod kontrolom kao vanjska vodovodna mreža.

Kako je kontrola kakvoće vode za ljudsku potrošnju od posebnog značaja za javne vodoopskrbne sustave, suzbijanje *P. aeruginosa* u ovakvim sustavima od posebnog značaja. Utjecaj na njegovu pojavnost unutar dijelova sustava javne vodoopskrbe ima način gradnje distribucijske mreže, odabir materijala, tip slavina i dizajn ventila. Često korišteni plastični i elastomerni materijali kao što su polipropilen, polietilen, nitril-butadien-kaučuk, PVC, silikon, lateks i sl., podržavaju nastanak debljeg i mnogo gušćeg sloja biofilma, u odnosu na bakar, staklo i nehrđajući čelik. Iako je bakar materijal čije se korištenje danas prilikom gradnje izbjegava isključuje, u starijoj infrastrukturi on prevladava i time predstavlja značajan problem. Svojstvo bakrenih iona je njihova toksičnost zbog koje nije zabilježen rast biofilma na bakrenim cjevovodima. Međutim, iako je bolje koristiti bakrene materijale u odnosu na materijale koji pospješuju stvaranje biofilma, njihovo korištenje može ometati otkrivanje *P. aeruginosa* metodama uzgoja u vodi iz slavina, što rezultira podcijenjenim stvarnim bakterijskim opterećenjem u vodi. Do ovoga dolazi zbog pojave vijabilnih ali nekultivabilnih – VBNC oblika *P. aeruginosa*, koji tako u prisutnosti bakra ili klora ostaje neotkriven standardnim metodama uzgoja. Stanice su u nekultivabilnom obliku još uvijek žive i metabolički aktivne, ali ne uspijevaju se razmnožavati i rasti na uobičajenim hranjivim podlogama u laboratorijskim uvjetima (5).

Učinkovitost dezinfekcije klorom obično se procjenjuje metodama kultivacije, koje ne uzimaju u obzir VBNC stanje (5). Mjere suzbijanja usmjerene prema smanjenju rasta biofilma uključuju postupke optimizacije uklanjanja organskog ugljika, ograničeno vrijeme zadržavanja vode u distribucijskom sustavu te održavanje rezidualne količine dezinficijensa.

U većini provedenih istraživanja utjecaja dezinficijensa na *P. aeruginosa* korištene su kultivacijske metode, koje ne uzimaju u obzir VBNC oblik *P. aeruginosa*. Dodatni problem je što se istraživanja provode u laboratorijskim uvjetima, na biofilmovima koji sadrže jedne do dvije vrste, što nije reprezentativno obzirom da je u realnim uvjetima biofilm formiran od većeg broja vrsta. Nadalje, učinkovitost dezinfekcijskog postupka u vodoopskrbnom sustavu velikih objekata, uvelike ovisi o hidrauličkim uvjetima koji određuju vrijeme zadržavanja dezinficijensa u sustavu te osiguravaju djelovanje dezinficijensa u najudaljenijim točkama u mreži. Promjenjivi protoci koje susrećemo u zgradama poput bolnica, također mogu utjecati na održavanje rezidua dezinficijensa, temperature ili hidraulike na pojedinom izljevnom mjestu, posebno u blizini mjesta odlaganje radne odjeće. Svi ti nepovoljni uvjeti pružaju optimalne uvjete VBNC oblicima *P. aeruginosa* za povratak u kultivabilno stanje, što predstavlja rizik za zdravlje ljudi (5).

Tijekom ispitivanja ukupnog broja kolonija (broj aerobnih heterotrofnih bakterija, UBB; eng. HPC – heterotrophic plate count) odrede se različite vrste mikroorganizama, između ostalih i *P. aeruginosa*. Tako *P. aeruginosa*, kao uobičajeni okolišni mikroorganizam, u kombinaciji s drugim pokazateljima kao što je koncentracija rezidualnog klora, ukazuje na uvjete povoljne za rast mikroorganizama. S druge strane, *E. coli* ili termotolerantni koliformi ne mogu se upotrijebiti u te svrhe.

Ove vrste testova namijenjene su oporavku širokog spektra mikroorganizama iz vode, koje zajednički nazivamo postupcima "određivanja kolonija heterotrofnih bakterija" ili "HPC testovima". Ovaj test se može koristiti u kombinaciji s drugim parametrima, kao što su rezidue dezinficijensa, kako bi se naznačili uvjeti koji podržavaju rast ovih organizama. Sam test ne navodi organizme koji su otkriveni. Rast nakon tretmana pitkom vodom obično se naziva "ponovni rast" kojem pridonose temperatura, dostupnost hranjivih sastojaka i nedostatak dezinficijensa. Povišene razine HPC-a javljaju se u statičnim dijelovima cjevovodnih distribucijskih sustava, flaširanoj vodi, vodoopskrbnim uređajima i sl. (9).

1.2.5 Značajnost u bazenskoj vodi

Obzirom da bazeni i njihova okruženja pružaju idealne uvjete za rast i razvoj pseudomonasa, to su prostori u kojima dolazi do visoke pojavnosti ovog mikroorganizma. Posebno se to odnosi na bazene punjene vrućom, termalnom vodom koji se koriste u rekreativne ili zdravstvene svrhe. U ovim slučajevima *P. aeruginosa* služi kao pokazatelj

neadekvatnog ili lošeg održavanja sustava upravljanja bazenima i okolnim prostorima, ili nepoštivanja pravila ponašanja od strane korisnika bazena (10).

Toplo i vlažno okruženje prisutno na bazenima, idealno je za rast pseudomonasa zbog njegove sposobnosti opstanka pri visokim koncentracijama dezinficijensa, visokim temperaturama (preživljava i do 42° C) te stalnoj opskrbi vode hranjivim tvarima od strane korisnika bazena. Naime, poznato je da visoke temperature vode i turbulencija u hidromasažnim kadama potiču znojenje i deskvamaciju, tj. uklanjanje stanica kože. Ti materijali također djeluju kao izvor hranjivih sastojaka za rast *P. aeruginosa*, štite ga od izloženosti dezinficijensima te doprinose ukupnom organskom opterećenju vode, što za posljedicu ima smanjenje rezidualne koncentracije dezinficijensa (11).

Primarni zdravstveni učinak povezan s prisutnošću *P. aeruginosa* u bazenskim okruženjima je folikulitis (8), koji rezultira pustularnim osipom, kao i otitis externa (upala vanjskog uha ili „plivačko uho“).

P. aeruginosa ima sklonost nakupljanja u biofilmovima u filtrima koji se slabo održavaju te na mjestima gdje je hidraulika bazena loša, primjerice podovi, stepenice, rubovi bazena, umivaonici, tuševi, nogoperi, sanitarni odvodi i sl. Temeljito i rutinsko čišćenje okolnih površina pomoći će u smanjenju infekcija s *P. aeruginosa*. Sami korisnici bazenskih kupališta s kontaminiranih površina mogu prenijeti ovu bakteriju u vodu, stoga je od iznimne važnosti primjenjivati preventivne mjere kojima se sprječava i suzbija širenje rezistentnih sojeva ove bakterije, sprječava pojava biofilma te osigurava zdravlje korisnika (10). Učinkovita preventivna mjera je poticanje korisnika na tuširanje prije ulaska u vodu kao i kontroliranje broja kupaca i vrijeme izloženosti u bazenu (12). Također se preporučuju detaljna čišćenja prostora oko i unutar bazena, čišćenje instalacija (najmanje jedanput tjedno) te ispiranje filtera. Cijeli protočni sustav bazenskog kupališta (koji radi cijelu godinu), uključujući i bazene, potrebno je jednom godišnje potpuno isprazniti, isprati, očistiti i napuniti (13).

Kontrola *P. aeruginosa* u bazenskom se okruženju postiže održavanjem adekvatne koncentracije dezinficijensa kao i rutinskim te temeljitim čišćenjem bazena. Prilikom provođenja postupka dezinfekcije i korekcije pH vrijednosti, dodana sredstva za dezinfekciju moraju se ravnomjerno raspodijeliti po cijelom bazenu, tako da voda zadovoljava propisane zdravstvene kriterije. U usporedbi sa standardnim bazenima, u spa bazenima je, zbog

specifičnih osobina i dizajna, teže suzbijati pojavu pseudomonasa. Iz tog je razloga u spa bazenima potrebno učestalije mjerenje i podešavanje pH vrijednosti te koncentracije rezidualnog klora kao i definiranje razdoblja oporavka potrebnog za ponovno postizanje dovoljne koncentracije klora. Također je potrebno ograničiti broj korisnika kao i dužinu njihova boravka u bazenu (14). Na bazenskim kupalištima obavezan je odgovarajući plan čišćenja koji mora sadržavati podatke: što, kako, čime, kada i tko čisti. Čišćenje je potrebno obaviti jedanput dnevno i to se obavlja na kraju rada bazena, a po potrebi i za vrijeme rada (13).

1.3 Zakonska legislativa

1.3.1 Voda za piće

1.3.1.1 Republika Hrvatska

Temeljni zakon koji se odnosi na ispravnost vode za piće u Republici Hrvatskoj je Zakon o vodi za ljudsku potrošnju (NN 56/2013, 64/2015, 104/2017, 115/2018, 16/2020) (15). Ovim Zakonom uređuje se zdravstvena ispravnost vode za ljudsku potrošnju, propisuju se nadležna tijela zadužena za provedbu ovoga Zakona, definira se način izvještavanja Europske komisije o rezultatima ispitivanja, zatim obveze pravnih osoba koje provode opskrbu vodom za ljudsku potrošnju (komunalnih društava). Također, Zakon određuje načine postupanja i izvješćivanja u slučaju odstupanja praćenih pokazatelja od propisanih standarda zdravstvene ispravnosti vode za ljudsku potrošnju kao i način financiranja programa ispitivanja. Cilj provedbe ovog zakona je zaštita ljudskog zdravlja od nepovoljnih utjecaja bilo kojeg onečišćenja vode za ljudsku potrošnju i osiguravanja zdravstvene ispravnosti vode za ljudsku potrošnju na području Republike Hrvatske. Ovaj Zakon usklađen je s Direktivom Vijeća 1998/83/EZ od 3. studenoga 1998. o kvaliteti vode namijenjene za ljudsku potrošnju (SL L 330, 05. 12. 1998.) (Direktiva Vijeća 1998/83/EZ.). Navedena Direktiva zamijenjena je novom Direktivom – Direktiva (EU) 2020/2184 Europskog parlamenta i Vijeća od 16. prosinca 2020. o kvaliteti vode namijenjene za ljudsku potrošnju (preinaka). Rok za prenošenje odredbi nove Direktive u hrvatsko zakonodavstvo je 12. siječnja 2023.

Temeljem Zakona o vodi za ljudsku potrošnju (NN 56/13, 64/15 i 104/17; čl. 10. st. 1. podst. 1. i st. 3.), ministar zdravstva uz suglasnost ministra graditeljstva i prostornoga uređenja, donosi Pravilnik o parametrima sukladnosti, metodama analize, monitoringu i planovima sigurnosti vode za ljudsku potrošnju te načinu vođenja registra pravnih osoba koje obavljaju djelatnost javne vodoopskrbe (NN 125/2017). U navedenom Pravilniku propisuju se parametri za provjeru sukladnosti, vrste i opseg analiza uzoraka u svrhu ispitivanja

parametara za provjeru sukladnosti, učestalost uzimanja uzoraka vode za ljudsku potrošnju u sklopu redovitog i revizijskog monitoringa, kao i metode laboratorijskog ispitivanja zdravstvene ispravnosti vode za ljudsku potrošnju. Pravilnikom se određuju sanitarno-tehničke, higijenski te drugi uvjeti koje moraju ispunjavati vodoopskrbni objekti. Također, definira se vrsta i opseg analiza te broj potrebnih uzoraka vode u svrhu ispitivanja zdravstvene ispravnosti vode za ljudsku potrošnju u građevinama prije izdavanja uporabne dozvole. Pravilnikom se definiraju parametri zdravstvene ispravnosti vode za ljudsku potrošnju (mikrobiološki i kemijski), indikatorski parametri (mikrobiološki i kemijski) i parametri radioaktivnih tvari. Mikrobiološki parametri zdravstvene ispravnosti vode za ljudsku potrošnju su *Escherichia coli* (u 100 mL), enterokoki (u 100 mL), *Clostridium perfringens* (u 100 mL) i enterovirusi (u 5000 mL). Navedeni parametri zdravstvene ispravnosti vode za ljudsku potrošnju ne smiju se dokazati u ispitanom uzorku, u suprotnom je uzorak nesukladan (16).

Što se tiče indikatorskih parametara vode za ljudsku potrošnju, u slučaju njihova odstupanja od propisanih MDK vrijednosti, procjenu utjecaja na ljudsko zdravlje provodi nadležni Zavoda za javno zdravstvo izvršava uz poduzimanje svih potrebnih mjere kako bi se parametar uskladio s propisanom vrijednosti. Pri tome nadležni Zavod za javno zdravstvo surađuje sa Stručnim povjerenstvom za vodu namijenjenu ljudskoj potrošnji. Indikatorski parametri vode za ljudsku potrošnju su: broj kolonija na 37 °C i 22 °C (MDK=100 cfu/mL), ukupni koliformi (MDK = 0 CFU/100 mL) te *P. aeruginosa* (MDK = 0 CFU/100 mL). U navedenom Pravilniku (NN 125/2017) kao uzorci u kojima se pokazatelj *P. aeruginosa* ispituje definiraju se uzorci vode uzeti na mjestu potrošnje u objektima od javnozdravstvenog interesa (bolnice i druge zdravstvene ustanove, vrtići, starački domovi i druge javne ustanove u kojima su na smještaju starije osobe) te za potrebe tehničkih pregleda. Dana 1. travnja 2020. objavljena je izmjena navedenog Pravilnika – Pravilnik o izmjenama i dopunama Pravilnika o parametrima sukladnosti, metodama analize, monitoringu i planovima sigurnosti vode za ljudsku potrošnju te načinu vođenja registra pravnih osoba koje obavljaju djelatnost javne vodoopskrbe (NN 39/2020) u kojoj se ova napomena mijenja u smislu smanjenog broja vrste objekata u kojima se ispituje pokazatelj *P. aeruginosa*. U tom se Pravilniku navodi da se ovaj parametar određuje se u uzorcima vode uzetim na mjestu potrošnje u objektima od javnozdravstvenog interesa (bolnice i druge zdravstvene ustanove, starački domovi i druge javne ustanove u kojima se smještaju starije osobe) te za potrebe tehničkih pregleda (17).

Tablica 1. Mikrobiološki indikatorski parametri

Pokazatelj	Mjerna jedinica	MDK
Broj kolonija 22 °C	CFU/mL	100
Broj kolonija 36 °C	CFU/mL	100
Ukupni koliformi*	CFU/100 mL	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> **	CFU/100 mL	0

*ne određuje se u vodama u boci ili drugoj ambalaži

**određuje se u uzorcima vode uzetim na mjestu potrošnje u objektima od javnozdravstvenog interesa (bolnice i druge zdravstvene ustanove, starački domovi i druge javne ustanove u kojima se smještaju starije osobe) i za potrebe tehničkih pregleda

Dok Pravilnik (NN 125/2017) parametar *P. aeruginosa* za vodu za ljudsku potrošnju definira kao indikatorski parametar, u vodama za ljudsku potrošnju u trenutku punjenja u boce ili drugu ambalažu koja se stavlja na tržište u bocama ili drugoj ambalaži predstavlja parametar zdravstvene ispravnosti, koji se određuje se u uzorku od 250 mL (Tablica 2.).

Tablica 2. Mikrobiološki parametri zdravstvene ispravnosti vode za ljudsku potrošnju u trenutku punjenja u boce ili drugu ambalažu koja se stavlja na tržište u bocama ili drugoj ambalaži

Pokazatelj	Mjerna jedinica	MDK
<i>Escherichia coli</i> *	CFU/250 mL	0
Enterokoki*	CFU/250 mL	0
Broj kolonija 22 °C	CFU/mL	100
Broj kolonija 36 °C	CFU/mL	20
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> *	CFU/250 mL	0

*određuje se i u vodi u bocama koja je stavljena na tržište

1.3.1.2 Republika Srbija

Pravilnikom o higijenskoj ispravnosti vode za piće ("Sl. list SRJ", br. 42/98 i 44/99 i Sl. glasnik RS br. 28/2019) u Republici Srbiji propisuje se zdravstvena ispravnost vode za piće koja služi za javnu vodoopskrbu stanovništva ili za proizvodnju namirnica namijenjenih prodaji. Zdravstvena ispravnost vode utvrđuje se: 1) osnovnim i 2) periodičnim pregledom, 3)

pregledom vode iz novih zahvata i 4) pregledom na osnovu higijensko-epidemioloških indikacija. Pokazatelj *P. aeruginosa* sastavni je dio svih navedenih vrsta laboratorijske analize. Pravilnik propisuje da bakterija *P. aeruginosa* ne smije biti prisutna u pročišćenoj i dezinficiranoj vodi, u ambalažiranoj vodi na izvoru te u prirodnoj vodi zatvorenih i otvorenih izvorišta (13).

1.3.1.3 Republika Crna Gora

Pravilnik o bližim zahtjevima koje u pogledu bezbjednosti treba da ispunjava voda za piće (Sl. list Crne Gore, br. 24/2012 od 4. maja 2012) je Pravilnik kojim se u Republici Crnoj Gori detaljnije propisani zahtjevi koje u pogledu sigurnosti koje treba ispunjavati voda za piće. U Prilogu I. – Parametri ispravnosti vode za piće, prikazana je Tablica 3. – Mikrobiološki kriteriji za vodu za piće u kojoj je između ostali pokazatelja naveden i *P. aeruginosa*, čija se prisustvo ne smije dokazati u 100 mL vode za piće i u 250 mL vode u ambalaži (18).

Tablica 3. Mikrobiološki kriteriji za vodu za piće

PARAMETAR	Jedinica vode za piće	Jedinica vode u ambalaži	MDK
<i>Esherichia coli</i>	CFU/100 mL	CFU/250 mL	0
Enterokoki	CFU/100 mL	CFU/250 mL	0
Ukupni koliformi	CFU/100 mL	CFU/250 mL	0
<i>Clostridijum perfringens</i> (uključujući spore) ¹	CFU/100 mL	CFU/100 mL	0
Broj kolonija 22°C	CFU/mL	CFU/mL	100
Broj kolonija 37°C	CFU/mL	CFU/mL	20
<i>Salmonella</i> spp.	CFU/100 mL	CFU/1000 mL	0
<i>Shigella</i> spp.	CFU/100 mL	CFU/1000 mL	0
<i>Vibrio cholerae</i>	CFU/100 mL	CFU/1000 mL	0
Paraziti	CFU/100 mL	CFU/1000 mL	0
Enterovirusi	CFU/5000 mL	CFU/5000 mL	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CFU/100 mL	CFU/250 mL	0

¹*Clostridium perfringens* se određuje samo za površinske vode za piće

1.3.1.4 Republika Bosna i Hercegovina

Pravilnik o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće dio prvi – opće odredbe (Sl. list BIH, br 40/2010) je Pravilnik kojim se u Republici Bosni i Hercegovini propisuju zahtjevi i standardi koje mora ispunjavati voda za piće, najveće dopuštene vrijednosti parametara zdravstvene ispravnosti, metode laboratorijskih ispitivanja, te mjere za praćenje zdravstvene ispravnosti vode za piće. U vodi za piće mikrobiološki pokazatelj *P. aeruginosa* se ne ispituje, dok je u ambalažiranim vodama obavezan. U Aneksu I. Pravilnika – Parametri i vrijednosti parametara, Dio A, navedeni su mikrobiološki parametri koji se ispituju u vodi koja se prodaje u bocama ili spremnicima (Tablica 4.), pri čemu se *P. aeruginosa* ne smije se dokazati u volumenu od 250 mL uzorka (19).

Tablica 4. Mikrobiološki kriteriji za vodu koja se prodaju u bocama ili spremnicima

Parametar	Vrijednost parametra
<i>Escherichia coli</i>	0/250 mL
Enterokoki	0/250 mL
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0/250 mL
Broj kolonija na 22°C	100/mL
Broj kolonija na 37°C	20/mL

1.3.1.5 Republika Slovenija

U Republici Sloveniji u cilju kontrole kakvoće vode za piće u primjeni je Pravilnik o pitni vodi (RS 19/04, 35/04, 26/06, 92/06, 25/09, 74/15, 51/17) koji propisuje ispitivanje *P. aeruginosa* samo u ambalažiranoj vodi (Tablica 5.), pri čemu bakterija u 250 mL vode ne smije biti dokazana (20).

Tablica 5. Mikrobiološki kriteriji za ambalažiranu vodu

Parametar	Mjerna jedinica
<i>Escherichia coli</i>	0/250 mL
Enterokoki	0/250 mL
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0/250 mL
Ukupni broj kolonija 22 °C	100/mL
Ukupni broj kolonija 37 °C	20/mL

1.3.1.6 Svjetska zdravstvena organizacija

Svjetska zdravstvena organizacija (engl. World Health Organization – WHO) je 2017. godine izdala 4. izdanje „Smjernica za kvalitetu vode za piće s uključenim prvim dijelom" u kojima je preporučila upotrebu planova sigurnosti vode da bi se osiguravala zdravstvena ispravnost vode za piće te smanjili utjecaji na zdravlje tijekom onečišćenja vode. WHO smjernice nisu obvezatne, ali predstavljaju zbirku znanja koja zemljama diljem svijeta služi kao podloga pri definiranju nacionalnih kriterija. U poglavlju s mikrobiološkim pokazateljima opisane bakterije, virusi, protozoe i helminti koji uzrokuju bolest putem vode, kao i indikatorski organizmi. Opisane su njihove karakteristike, utjecaj na zdravlje čovjeka, izvori onečišćenja, načini širenja bolesti, kao i značaj koji određeni patogen ili indikator ima s aspekta sigurnosti vode za piće. Kvantitativni mikrobiološki kriteriji za ocjenu zdravstvene ispravnosti vode za piće u ovom vodiču nisu iskazani (8).

1.3.1.7 Američka Agencija za zaštitu okoliša

U.S. EPA (engl. U.S. Environmental Protection Agency, hrv. Američka Agencija za zaštitu okoliša) u Nacionalnim smjernicama za vodu (engl. NPDWRs, National Primary Water Regulations) objavila je popis mikrobioloških pokazatelja koje je u vodi obavezno ispitivati: *Cryptosporidium*, *Giardia lamblia*, broj kolonija, *Legionella*, ukupni koliformi (uključujući fekalne koliforme i *E. coli*) i enterični virusi. Navedeni mikrobiološki pokazatelji ne smiju biti dokazani u vodi, pri čemu se pokazatelj *P. aeruginosa* ne nalazi na listi obaveznih pokazatelja.

Smjernice definiraju dvije vrste graničnih vrijednosti: 1) MCLG (engl. Maximum Contaminant Level Goal) – ciljana maksimalna razina onečišćenja i 2) MCL (Maximum Contaminant Level) – maksimalna razina onečišćenja. Ispod MCLG vrijednosti pojava rizika za zdravlje nije poznata ili se rizik ne očekuje, tom granicom omogućena je margina sigurnosti, a zadovoljenje ove vrijednosti nije obavezujuće, nego je na razini preporuke. Maksimalna razina onečišćenja (MCL) je najviša razina određenog onečišćivača koja je dopuštena u vodi za piće. MCL granice postavljene su što je moguće bliže MCLG granicama, primjenom najbolje dostupne tehnologije obrade vode, a uvažavajući ekonomske faktore. MCL vrijednosti su obavezujuće, one odgovaraju MDK vrijednostima iz našeg Pravilnika (21).

Tablica 6. Mikrobiološki kriteriji za vodu za piće

Onečišćivač	MCLG (mg/L)	MCL ili TT ¹ (mg/L)
<i>Cryptosporidium</i>	0	TT ²
<i>Giardia lamblia</i>	0	TT ²
Broj kolonija	n/a ¹	TT ²
<i>Legionella</i>	0	TT ²
Ukupni koliformi (uključujući fekalne koliforme i <i>E. coli</i>)	0	5.0% ³
Virusi (enterični)	0	TT ²

¹“not applicable“ – hrv. „nije primjenjivo“

²TT (engl. Treatment Technique, hrv. vrsta tretmana) –postupak koji je obavezno provesti u cilju smanjenja razine onečišćivača u vodi za piće

³ne smije više od 5% uzoraka mjesečno biti pozitivno na ukupne koliforme. Za sustave kod kojih se mjesečno uzme manje od 40 uzoraka, ne smije više od jednog uzorka biti pozitivno na ukupne koliforme. Svaki uzorak pozitivan na ukupne koliforme mora se ispitati na fekalne koliforme ili *E. coli*. Ako su dva uzastopna uzorka pozitivna na ukupne koliforme, a jedan ujedno i na fekalne koliforme ili *E. coli*, smatra se da je u sustavu prisutno akutno MCL odstupanje

1.3.2 Bazenske vode

1.3.2.1 Republika Hrvatska

U Republici Hrvatskoj je 2012. godine na snagu stupio prvi Pravilnik o bazenskim vodama – Pravilnik o sanitarno-tehničkim i higijenskim uvjetima bazenskih kupališta te o zdravstvenoj ispravnosti bazenskih voda (NN 107/2012, 88/2014) što je nedvojbeno utjecalo na poboljšanje kvalitete bazenske vode i uvjeta na bazenskim kupališta. Ovim Pravilnikom propisani su sanitarno-tehnički uvjeti koje moraju ispunjavati bazenska kupališta, zdravstvena ispravnost bazenske vode, vrsta i obim analiza uzoraka bazenske vode te analitičke metode i vođenje evidencije rada bazenskog kupališta. U Pravilniku je definirano da je bakterija *P. aeruginosa* obavezan pokazatelj zdravstvene ispravnosti bazenske vode s MDK = <1 CFU/100 mL (13). U svibnju 2020. izlazi nova verzija Pravilnika – Pravilnik o sanitarno-tehničkim i higijenskim uvjetima bazenskih kupališta te o zdravstvenoj ispravnosti bazenskih voda (NN 59/2020), koja uvodi dvije kategorije bazena: konvencionalne (to su standardni bazeni u kojima se priprema bazenske vode provodi dezinfekcijom s rezidualnim učinkom) i biološke bazene (bazeni na otvorenom u kojem se priprema bazenske vode provodi prirodnim biološkim procesima u ekosustavu mikroorganizama, raslinja i autohtonih malih životinja, koji mogu biti potpomognuti tehničkim sustavima; sastoje se od dijela za kupanje i dijela za biološko tretiranje vode, a površina vode između njih mora biti neprekinuta). Dok u konvencionalnim bazenima MDK za *P. aeruginosa* iznosi 0 CFU/100 mL, za biološke

bazene je 10 CFU/100 mL, a ispitivanje se provodi kada voda iz bazena prolazi kroz filter (Tablica 7.) (22).

Tablica 7. Kriteriji za mikrobiološke pokazatelje za bazensku vodu u konvencionalnim i biološkim bazenima

POKAZATELJ	MJERNA JEDINICA	MDK
Konvencionalni bazeni		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CFU/100 mL	0
<i>Escherichia coli</i>	CFU/100 mL	0
<i>Legionella</i> spp ¹	CFU/100 mL	0
<i>Staphylococcus aureus</i> ²	CFU/100 mL	100
Broj kolonija pri (36±2)°C/(44±4) h	CFU/mL	200
Biološki bazeni		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ³	CFU/100 mL	10
<i>Escherichia coli</i>	CFU/100 mL	100
<i>Legionella</i> spp. ⁴	CFU/100 mL	10
<i>Staphylococcus aureus</i> ⁵	CFU/100 mL	100
Broj kolonija pri (36±2)°C/(44±4) h	CFU/mL	500
Enterokoki	CFU/100 mL	50

¹Pokazatelj se provjerava jednom godišnje u bazenima s miješanjem vode i/ili u bazenima kod kojih se može stvarati aerosol, ako je temperatura vode u bazenu ≥ 23 °C. Kod bazena koji rade sezonski pokazatelj se provjerava na početku sezone kupanja

²Dva puta godišnje, u bazenima s morskom vodom

³Ispitivanje se provodi kada voda iz bazena prolazi kroz filter

⁴Prije početka rada bazena

⁵Određuje se jednom mjesečno

1.3.2.2 Republika Srbija

U Republici Srbiji je na snazi "Pravilnik o zdravstvenoj ispravnosti bazenskih voda" ("Sl. glasnik RS", br. 30/2017 i 97/2017). Ovim se pravilnikom propisuju uvjeti o zdravstvenoj ispravnosti bazenskih voda. (čl.1.). U prilogu I. – Parametri zdravstvene ispravnosti bazenske vode, *Pseudomonas aeruginosa* je obavezan parametar ispitivanja

zdravstvene bazenskih voda s MDK <1 CFU/100 mL iznosi (23). Vrijednosti iz Pravilnika prikazane su u Tablici 8.

Tablica 8. Mikrobiološki kriteriji zdravstvene ispravnosti bazenske vode

Ukupne koliformne bakterije	CFU/100 mL	≤ 10
<i>Escherichia coli</i>	CFU/100 mL	< 1
<i>Legionella pneumophila</i> ¹	CFU/100 mL	< 1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CFU/100 mL	< 1
<i>Staphylococcus aureus</i>	CFU/100 mL	≤ 100

¹Ispituje se u bazenima u kojima raspršivač vode može stvoriti aerosol, ako je temperatura vode u bazenu ≥ 30 °C, najmanje dva puta godišnje za zatvorene bazene ili prije početka sezone za otvorene bazene

1.3.2.3 Republika Crna Gora

U Republici Crnoj Gori kakvoća bazenske vode regulirana je Pravilnikom o sanitarno-tehničkim i higijenskim uslovima, kao i uslovima za zdravstvenu ispravnost vode za rekreativne potrebe i druge vode od javnozdravstvenog interesa ("Službeni list CG", broj 12/18). Ovim pravilnikom propisuju se sanitarno-tehnički i higijenski uvjeti koje moraju ispunjavati sportska i rekreativna bazenska kupališta kao i bazenska kupališta od javnozdravstvenog interesa, radi zaštite zdravlja stanovništva i sprječavanja pojave zaraznih bolesti. Prema kriteriju navedenom u Prilogu 2 navedenog Pravilnika, *P. aeruginosa* ne smije biti prisutna u 100 mL analizirane bazenske vode. U Tablici 9. navedeni su mikrobiološki kriteriji za ocjenu zdravstvene ispravnosti bazenske vode (24).

Tablica 9. Mikrobiološki kriteriji zdravstvene ispravnosti bazenske vode

Pokazatelj	Jedinica	Vrijednost	
		Min.	Max.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CFU/100 mL	-	< 1
Ukupne koliformne bakterije	CFU/100 mL	-	≤ 10
<i>Escherichia coli</i>	CFU/100 mL	-	< 1
<i>Legionella pneumophila</i> ¹	CFU/100 mL	-	< 1
<i>Staphylococcus aureus</i>	CFU/100 mL	-	100
Ukupan br. aer. bakterija pri 37°C/48 h	CFU/mL	-	200

¹U bazenima s vrtloženjem vode i/ili u bazenima kod kojih se može stvarati aerosol, ako je temperatura vode u bazenu ≥ 25 °C

1.3.2.4 Republika Bosna i Hercegovina

U Republici Bosni i Hercegovini je od 2018. godine na snazi "Pravilnik o sanitarno-tehničkim i higijenskim uslovima bazenskih kupališta i zdravstvenoj ispravnosti bazenskih voda". U Prilogu I., članka 33., prikazana je tablica - "Uslovi za bazensku vodu" gdje je *P. aeruginosa* obavezan parametar ispitivanja čija MDK iznosi <1 CFU/100 mL (25).

Tablica 10. Mikrobiološki kriteriji zdravstvene ispravnosti bazenske vode

Pokazatelj	Jedinica	Vrijednost	
		Min.	Max.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CFU/100 mL	-	< 1
<i>Escherichia coli</i>	CFU/100 mL	-	< 1
<i>Legionella pneumophila</i> ¹	CFU/100 mL	-	< 1
<i>Staphylococcus aureus</i> ²	CFU/100 mL	-	100
Ukupne koliformne bakterije	CFU/100 mL	-	< 10
Ukupan br. aer. bakterija pri 37°C/48 h	CFU/mL	-	< 200 ³

¹U bazenima sa miješanjem vode i/ili u bazenima kod kojih se može stvarati aerosol, ako je temperatura vode u bazenu ≥ 23 °C.

²U bazenima sa morskom vodom.

³U slučaju prekoračenja vrijednosti, bazenska voda se može ocijeniti zdravstveno ispravnom, uzimajući u obzir prekoračenje vrijednosti analiziranog parametra i rizik po zdravlje korisnika

1.3.2.5 Republika Slovenija

U Republici Sloveniji kvaliteta bazenske vode regulirana je Pravilnikom o minimalnih higijenskih zahtevah, ki jih morajo izpolnjevati kopališča in kopalna voda v bazenih (Uradni list RS, št. 59/15, 86/15 – popr. in 52/18). Za konvencionalne bazene MDK = 0 CFU/100 mL, a za biološke bazene iznosi 10 CFU/100 mL (26).

Tablica 11. Kriteriji za mikrobiološke pokazatelje za bazensku vodu u konvencionalnim i biološkim bazenima

Pokazatelj	Mjerna jedinica	MDK
Konvencionalni bazeni		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CFU/100 mL	0
<i>Escherichia coli</i>	CFU/100 mL	0
<i>Legionella</i> spp ¹	CFU/100 mL	0
<i>Staphylococcus aureus</i> ²	CFU/1 mL	0
Broj kolonija pri (36±2)°C/(44±4) h	CFU/mL	100
Biološki bazeni		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ³	CFU/100 mL	10
<i>Escherichia coli</i>	CFU/100 mL	100
<i>Legionella</i> spp. ⁴	CFU/100 mL	10
<i>Staphylococcus aureus</i> ⁵	CFU/1 mL	10
Enterokoki	CFU/100 mL	50
<i>Salmonella</i> ⁶	CFU/1000 mL	0
Broj kolonija pri (36±2)°C/(44±4) h	CFU/mL	500

¹Pokazatelj se provjerava dva puta godišnje u bazenima kod je temperatura vode ≥ 23 °C i u kojima se može stvarati aerosol

²Dva puta godišnje, u bazenima s morskom vodom

³Ispitivanje se provodi kada voda iz bazena prolazi kroz filter

⁴Prije početka rada bazena

⁵Određuje se jednom mjesečno

⁶Kada su prisutne vodene ptice

1.3.2.6 Svjetska zdravstvena organizacija

Smjernice o zdravstveno ispravnoj bazenskoj vodi i sigurnom bazenskom okoliša od strane (WHO, 2006.) pružaju pregled i procjenu zdravstvenih rizika povezanih s ovim tipom rekreacijskih voda. Dan je opis monitoringa kao i aktivnosti koje utječu na rezultate, poput edukacije korisnika, pravilnog dizajna i izvedbe bazena, adekvatnih postupaka i uspješnog upravljanja bazenima. U Smjernicama su navedene specifične preporučene vrijednosti te su

opisani primjeri dobre prakse. Također, opisane su različite vrste rizika, od utapanja i ozljeda, kakvoće vode do onečišćenja bazenskog prostora i zraka (12).

Tablica 12. Preporučena rutinska frekvencija uzorkovanja i preporuke za rutinsko uzorkovanje tijekom uobičajenog rada

Tip bazena	Ukupni broj kolonija	Termotolerantni koliformi / <i>E. coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Legionella spp.</i>
Dezinficirani bazeni, javni, intenzivno korišteni	Tjedno (<200/mL)	Tjedno (<1/100 mL)	Po potrebi ³ (<1/100 mL)	Kvartalno (<1/100 mL)
Dezinficirani bazeni, polu-javni	Mjesečno (<200/mL)	Mjesečno (<1/100 mL)	Po potrebi (<1/100 mL)	Kvartalno (<1/100 mL)
Prirodni spa	-	Tjedno (<1/100 mL)	Tjedno (<10/100 mL)	Mjesečno (<1/100 mL)
Hidromasažne kade	-	Tjedno (<1/100 mL)	Tjedno (<1/100 mL)	Mjesečno (<1/100 mL)

¹Uzorci se uzimaju za vrijeme najvećeg opterećenja

Frekvencija uzorkovanja povećava se ukoliko promatrani pokazatelji (npr. mutnoća, pH, koncentracija rezidualnog klora) nisu u ciljanom rasponu

Broj uzoraka određuje se temeljem veličine i kompleksnosti bazena, točke uzorkovanja trebaju biti reprezentativne za ukupnu kakvoću vode kao i za problematične dijelove

²Operativne preporuke prikazane su u zagradi

³ npr. kod pojave zdravstvenih smetnji povezanih s bazenom

1.3.2.7 Američki nacionalni zavod za standardizaciju

ANSI/APSP-11 2019 – Američki nacionalni standard kvalitete bazenske i spa vode proizašao je zbog općenitog nedostatka čistoće u javnim bazenima u desetljećima koji su prethodili prvoj verziji standarda iz 2009. godine. Cilj ovog standarda bio je preporučiti minimalne smjernice za pojedine pokazatelje kvalitete vode. Bio je to prvi nacionalni standard primarno fokusiran na kvalitetu vode bazena i spa, a koji se temeljio na podacima o kvaliteti. Izdan je od strane ANSI – Američkog nacionalnog zavoda za standardizaciju (engl. American National Standards Institute) u suradnji s APSP – Asocijacija bazena i spa profesionalaca (engl. Association of Pool and Spa Professionals). Postavljene su preporučene količine za dva glavna dezinficijensa bazenske vode: klora (2-4 ppm za javne bazene i 2-5 ppm za spa) i broma (3-4 ppm za javne bazene i 4-6 ppm za spa), te optimalna pH vrijednost vode (7,2 – 7,8). Smatra se da će održavanje navedenih preporučenih uvjeta u bazenskoj vodi osigurati mikrobiološku ispravnost vode, dok se rutinsko ispitivanje mikrobioloških pokazatelja u vodi ne zahtjeva, štoviše smatra ga suvišnim. S javno-zdravstvenog aspekta smatra se da je učestalo mjerenje koncentracije dezinfekcijskog sredstva i pH vrijednosti

puno efikasni način kontrole kvalitete vode. Za rutinsko ispitivanje mikrobioloških pokazatelja navodi se više nedostataka: najčešće traje oko 48 h, te se dobivena informacija odnosi na razdoblje koje je već prošlo i često više nije aktualna; također, pojedinačni rezultat, ako uzorak nije ispravno uzet ili ispitan, može dati pogrešnu sliku stanja (lažno pozitivni ili lažno negativno rezultat); čak i u slučaju ispravno uzetog i analiziranog uzorka, rezultat može biti zbunjujući. Dakle, za ispravnu procjenu kvalitete bazenske vode potrebno je uzeti veliki broj uzoraka tijekom dužeg vremenskog razdoblja, a pojedinačni rezultat može dovesti u zabludu (27).

2 CILJ RADA

Cilj navedenog rada bio je ispitati prisutstvo i broj mikrobiološkog pokazatelja *P. aeruginosa* u vodi za piće i bazenskoj vodi u Primorsko-goranskoj županiji tijekom petogodišnjeg razdoblja (2016.-2020.). Također, dodatni cilj bio je prikaz i usporedba nacionalnih zakonskih propisa sa susjednim zemljama i šire, vezano za primjenu *P. aeruginosa* kao obaveznog rutinskog pokazatelja kakvoće vode za piće i bazenskih voda.

3 MATERIJALI I METODE

3.1 Područje i razdoblje ispitivanja

Istraživanjem je obuhvaćeno i analizirano sveukupno 9230 uzoraka. Ispitano je 4171 uzoraka vode za piće te 5059 bazenske vode iz 260 bazena, na području Primorsko-goranske županije. Svi uzorci su sakupljeni i obrađeni u razdoblju od 2016. do 2020. godine. Uzorkovanje su proveli djelatnici Nastavnog zavoda za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije. Uzorci su ispitani na Zdravstveno-ekološkom odjelu Nastavnog zavoda za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije (Odsjek za kontrolu voda, voda u prirodi, otpadnih voda, otpada, ekotoksikologiju i mikrobiologiju).

Izuzev mikrobiološkog pokazatelja *P. aeruginosa*, u uzorcima vode za piće i bazenskim uzorcima ispitivali su se i drugi mikrobiološki parametri kao što su *E. coli*, *S. aureus*, *L. pneumophila*, koliformne bakterije, UBB/37°C i UBB/22°C (ukupni broj kolonija na temperaturi inkubacije 22 °C i 37 °C).

Uz mikrobiološke, ispitivali su se i fizikalno-kemijski pokazatelji vode: temperatura vode, mutnoća, boja, elektrovodljivost, koncentracija rezidualnog klora, pH, utrošak kalijevog permanganata (KMnO₄), trihalometani, amonijak, kloridi i nitrati.

3.2 Prikupljanje i analiza uzoraka

Uzorke vode koje smo uzimali za fizikalno-kemijsku analizu punili smo u kemijski čiste, staklene ili plastične boce, a za mikrobiološku analizu u kemijski čiste i sterilne staklene boce. Ambalažu namijenjenu za fizikalno-kemijsku analizu punimo do vrha, kako bi spriječili zadržavanja zraka. Time je ograničeno miješanje uzorka s plinovitom fazom i miješanje prilikom transporta. Prikupljeni uzorci prevozili su se do laboratorija županijskog zavoda za javno zdravstvo u kojem se provodila detaljna analiza uzetih uzoraka i ocjenila zdravstvena ispravnost ispitanih uzoraka vode (28). Ukoliko nije moguće odmah provesti analizu, uzorak vode se pohranjuje na +4°C, a analizu je najčešće potrebno provesti u roku od 12-24 h (29).

Prilikom uzorkovanja vode iz slavine, potrebno je ukloniti rešetku sa slavine te pustiti vodu da teče određeno vrijeme prije uzorkovanja. Kako bi spriječili kontaminaciju uzorka, potrebno je svaku bocu ili ambalažu isprati tri puta s vodom, tj. uzorkom. Zatim uzorke

označimo te zabilježimo podatke o uvjetima, mjestu i vremenu uzimanja uzoraka, datum, volumen, te imena djelatnika koji su proveli uzorkovanje.

Uzorkovanje bazenske vode provodi se jednom mjesečno u unutrašnjim bazenima, a dva puta mjesečno u vanjskim bazenima. Uzorke treba uzeti kada je bazen jako napunjen vodom. Ovisno o veličini bazena, preporuča se uzimati uzorke na različitim mjestima kako bi uzorak bio reprezentativan. Točka uzorkovanja treba biti udaljena najmanje 30 cm od ruba bazena te oko 30 cm ispod površine vode. Za vrijeme uzorkovanja, ambalažu treba držati jednom rukom i drugom otvarati čep, pri čemu ga je poželjno držati u drugoj ruci, okrenutog prema dolje, kako bi izbjegli neželjenu kontaminaciju uzorka. Ambalažu punimo 2 cm ispod vrha kako bi se uzorak prije ispitivanja mogao homogenizirati (14).

3.3 Metode

3.3.1 Mikrobiološki pokazatelji

3.3.1.1 Metoda membranske filtracije za utvrđivanje *Pseudomonas aeruginosa*

U svrhu dokazivanja i određivanja broja bakterije *P. aeruginosa*, u uzorcima bazenske vode i vode za piće, korištena je metoda membranske filtracije u skladu sa normom HRN EN ISO 16266:2008. Ova se norma primjenjuje u uzorcima ambalažirane vode (250 mL) tehnikom membranske filtracije ali je također primjenjiva i za ostale tipove voda kao što su bazenske (100 mL) ili vode za ljudsku potrošnju (100 mL) (30).

Tehnika membranske filtracije praktična je metoda za mikrobiološku analizu vode zbog jednostavnosti, ponovljivosti i ekonomičnosti te nam kao takva omogućuje kvantitativno određivanje mikroorganizama. Nedostatak metode je začepljenje filtarskih pora pri ispitivanju uzoraka povišene mutnoće (31).

Prije samog početka membranske filtracije, svu potrebnu aparaturu potrebno je dezinficirati (Slika 1.). Na taj način provodimo sterilizaciju opreme kojom se potpuno uništavaju ili odstranjuju svi mikroorganizmi kao i njihove spore s materijala, predmeta i instrumenata te ih nije moguće dokazati na standardnim medijima za kultiviranje (31).



Slika 1. Postupak provođenja sterilizacije aparature pomoću plamena

U sljedećem koraku potrebno je profiltrirati 100 mL uzorka preko sterilnog filtra s promjerom pora od $0,45\ \mu\text{m}$, koji zadržava bakterije na površini te im onemogućava prolazak obzirom da su filterske pore manjeg promjera od promjera bakterijske stanice (Slike 2.-4.).



Slika 2. Prikaz sterilnog filtra



Slika 3. Postavljanje sterilnog filtra na aparaturu



Slika 4. Filtriranje 100 mL uzorka preko sterilnog filtra

Nakon filtracije, slijedi kultivacija na CN-agar i zatim inkubacija na $(36\pm 2)^{\circ}\text{C}$ kroz $(44\pm 4)\text{h}$ nakon koje se broje kolonije koje proizvode plavozeleni pigment-piocijanin, koji služi kao karakterističan dokaz za *P. aeruginosa*. Zbog mogućnosti prerasta bakterija, potrebno je provesti očitavanje podloge nakon $(22\pm 2)\text{h}$. (Slika 5.)



Slika 5. Kultivacija na CN agaru

Potom slijedi ispitivanje filtra pod UV svijetlom (360 ± 20 nm). To je potrebno učiniti u što kraćem roku jer UV svijetlo može imati štetno djelovati na bakterije te im onemogućiti daljnji porast na potvrdnim testovima. Sve kolonije koje fluoresciraju a ne produciraju piocijanin (plavo-zeleni pigment), kao i crvenkasto-smeđe kolonije, treba s CN-agara presaditi na Nutrient agar i provesti inkubaciju na $(36\pm 2)^\circ\text{C}$ u vremenskom periodu od (22 ± 2) h.

Crvenkasto-smeđe kolonije koje ne fluoresciraju, također treba brojati kao sumnjive na *Pseudomonas aeruginosa* te je potrebno potvrditi njihov identitet pomoću:

1. oksidaza testa
2. produkcije amonijaka upotrebom acetamide brotha
3. pojave fluorescencije na King's B mediju

Za oksidaza test potrebno je pripremiti oksidaza papirić, navlažiti ga sterilnom destiliranom vodom i razmazati sumnjivu koloniju s Nutrient agara na površinu papirića pomoću sterilne eze. Ukoliko je oksidaza test pozitivan, dolazi do pojave tamnoplave do ljubičaste boje unutar 10 sekundi.

Kolonije koje fluoresciraju, a ne produciraju piocijanin, treba brojati kao sumnjive na *P. aeruginosa* te napraviti test produkcije amonijaka upotrebom acetamide brotha. U tom ćemo slučaju porasle kolonije s Nutrient agara presaditi u epruvete sa prethodno dodanim

acetamide brothom te ih inkubirati na $(36\pm 2)^{\circ}\text{C}$ kroz $(22\pm 2)\text{h}$. Nakon inkubacije dodajemo 1-2 kapi Nesslerovog reagensa, pri čemu dolazi do pojave amonijaka u epruvetama te žutog do ciglasto-crvenog obojenja koje nam služi kao potvrdna reakcija za *P. aeruginosa*. (Slike 6. i 7.)



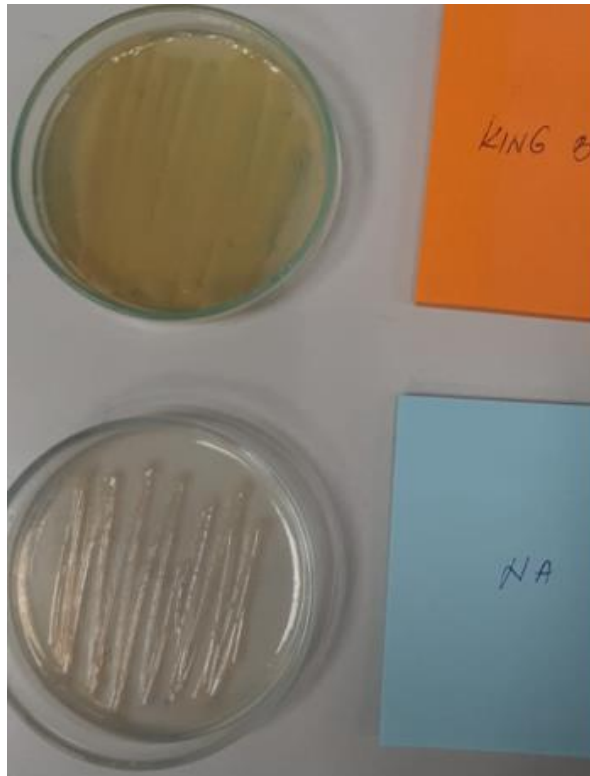
Slika 6. Acetamide broth u epruveti



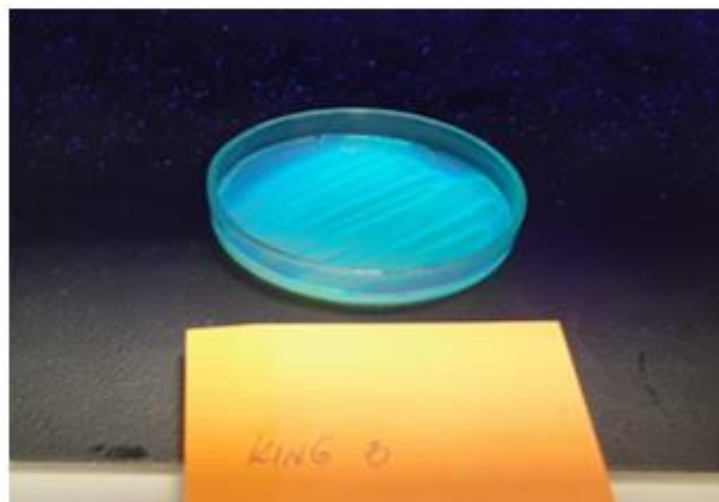
Slika 7. Produkcija amonijaka upotrebom acetamide brotha

Za potvrdni test fluorescencije na King's B mediju, potrebno je kultivirati oksidaza pozitivne crvenkasto-smeđe kolonije s Nutrient agara na King's B medij i provesti inkubaciju u roku od 5 dana (24 h su najčešće dovoljna) na $(36\pm 2)^{\circ}\text{C}$. King's B medij zatim stavljamo

pod UV svjetlo i pratimo hoće li doći do pojave fluorescencije. Ukoliko se pojavi unutar 5 dana, identitet *P. aeruginosa* je potvrđen (30). (Slike 8. i 9.)



Slika 8. King's B medij (gore) i oksidaza pozitivne crvenkasto-smeđe kolonije s Nutrient agara (dolje)



Slika 9. Pojava fluorescencije na King's B mediju pod UV svjetlom

3.3.1.2 Metode za ostale mikrobiološke pokazatelje

Detekcija i određivanje *E. coli* i ukupnih koliformnih bakterija provedena je u skladu sa normom HRN EN ISO 9308-1:2014. Detekcija *S. aureus* određena je prema Standard methods 23 st. Ed. 2017. 9213 B , dok je određivanje broja bakterija *L. pneumophila* provedeno u skladu s normom HRN EN ISO 11731:2017

Prilikom određivanja ukupnog broja kolonija na temperaturi inkubacije 22 i 37 °C (UBB/37°C i UBB/22°C), nacjepljivanjem na hranjivi agar, korištena je metoda HR EN ISO 6222:2000 (32).

3.3.2 Fizikalno-kemijski pokazatelji

Mjerenje i određivanje temperature provedeno je postupkom opisanim u metodi SM 23rd Ed. 2017., 2550 B. U skladu s normom HRN EN ISO 7027-1:2016 određivala se mutnoća u uzorcima vode, dok se boja vode određivala prema normi HRN EN ISO 7887:2012. HR EN ISO 27888:2008 norma korištena je za mjerenje elektrovodljivosti. Postupak rada s pH-metrom primjenjivan je u skladu s normom HRN ISO 10523:2012. Utrošak KMnO_4 određivan je u skladu s normom HRN EN ISO 8467:2001. Amonijak je određivan spektrometrijskom metodom prema normi HRN EN ISO 7150-1:1998, nitrati SM 22nd Ed. 2012:4500- NO_3 metodom, a kloridi potenciometrijski pomoću HRN ISO 9297:1998 norme. Prema normi HRN EN ISO 7393-2:2001 određivana je koncentracija rezidualnog klora dok je koncentracija trihalometana (THM) određivana pomoću HRN EN ISO 10301:2002 norme (33).

3.4 Statistička obrada podataka

U radu su prikazani i opisani petogodišnji rezultati ispitivanja prisutnosti i broja *P. aeruginosa* u vodi za piće i bazenskoj vodi. Rezultati su opisani deskriptivnom statistikom pomoću srednje vrijednosti i medijana, koje ubrajamo u mjere centralne tendencije, te grafički i tabelarno pomoć deskriptivne statistike (33).

Za određivanje korelacije među praćenim pokazateljima primjenjivan je Spearmanov koeficijent korelacije. Korelacijska analiza je definirana kao statistički postupak koji nam služi za izračunavanje stupnja povezanosti između dviju varijabli, odnosno ispitivanih pojava. Vrijednosti korelacije iskazujemo pomoću koeficijenta korelacije, čija uporaba ovisi o vrsti podataka, dok se značajnost koeficijenta iskazuje pomoću p vrijednosti. Najčešće korišteni su Pearsonov i Spearmanov koeficijent korelacije te nam kao takvi pokazuju u kojoj su mjeri promjene vrijednosti jedne varijable povezane sa promjenama vrijednosti druge varijable. Spearmanov koeficijent korelacije (r_s) ili korelaciju ranga koristimo kada jedna skupina podataka slijedi ordinalnu ljestvicu ili značajno odstupa od normalne raspodjele podataka, odnosno Gaussove krivulje. Također se može računati i pri manjem broju uzoraka ($N < 35$). Pozitivan i negativan korelacijski predznak ukazuje nam na smjer povezanosti između traženih varijabli. Korelacija je pozitivna kada vrijednost koeficijenta korelacije iznosi vrijednost od 0 do 1 i time označava sukladan rast između obje skupine varijabli. Negativna

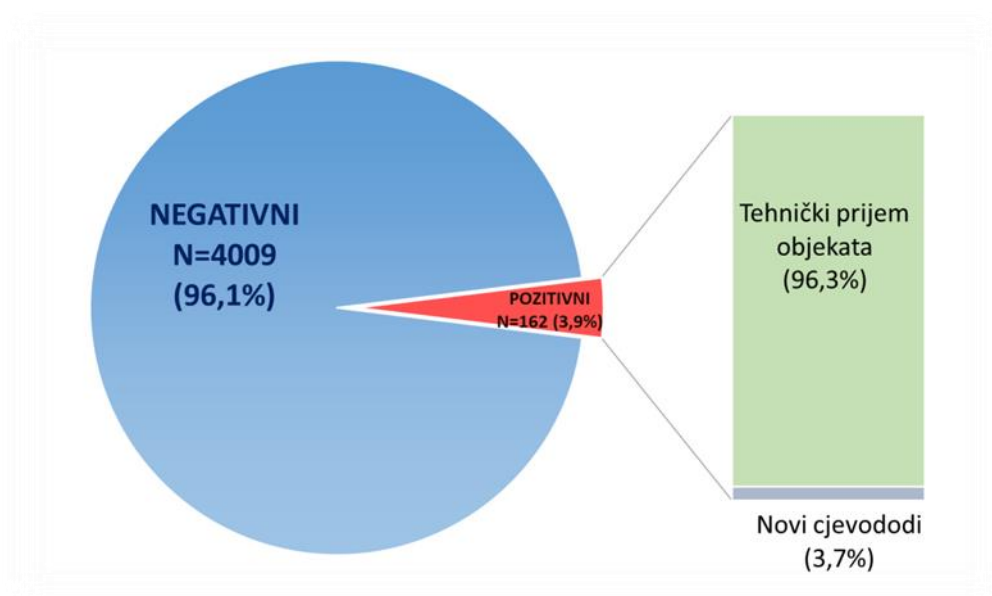
korelacija ima raspon vrijednosti od 0 do -1. To znači da porast vrijednosti jedne varijable prati pad vrijednosti druge varijable. Kada koeficijent korelacije iznosi 0, tada ne postoji linearna povezanost među varijablama, što ukazuje na to da poznavanjem vrijednosti jedne varijable ne možemo ništa saznati o vrijednostima druge varijable (33).

4 REZULTATI

4.1 Voda za ljudsku potrošnju

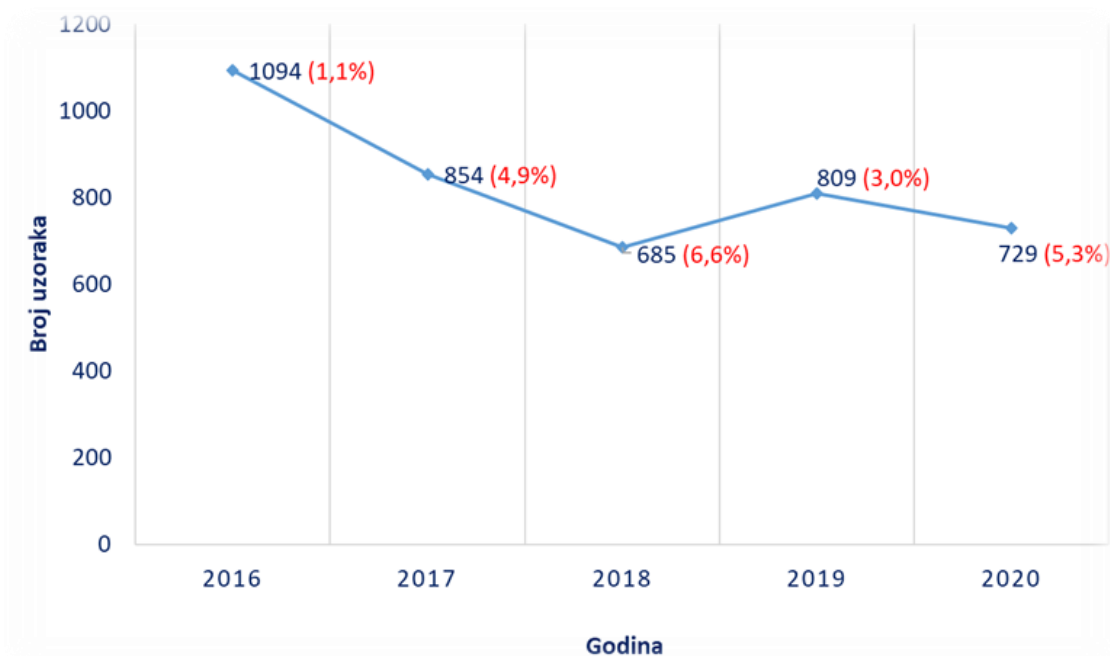
U petogodišnjem razdoblju (2016.-2020.), analiziran je 4171 uzorak vode za piće na području Primorsko-goranske županije.

Na Slici 10. prikazan je udio *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka u ukupnom broju ispitanih uzoraka vode za piće iz sustave javne vodoopskrbe te udio pozitivnih uzoraka prema vrsti mjesta uzorkovanja. Od ukupnog broja ispitanih uzoraka vode za piće, kod 162 uzorka (3,9%) utvrđeno je prisustvo *P. aeruginosa*, dok se kod preostalih 4009 uzoraka (96,1%) *P. aeruginosa* nije dokazao. Od ukupno 162 pozitivna uzorka, njih 156 (96,3%) zabilježeno je kod tehničkog prijema objekata a preostalih 6 (3,7%) kod ispitivanja vode pri izgradnji novih cjevovoda. Za potrebe tehničkog pregleda građevine, koji služi u svrhu izdavanja uporabne dozvole, provodi se mikrobiološka i fizikalno-kemijska analiza uzoraka vode za ljudsku potrošnju uzetih iz različitih objekata (34).



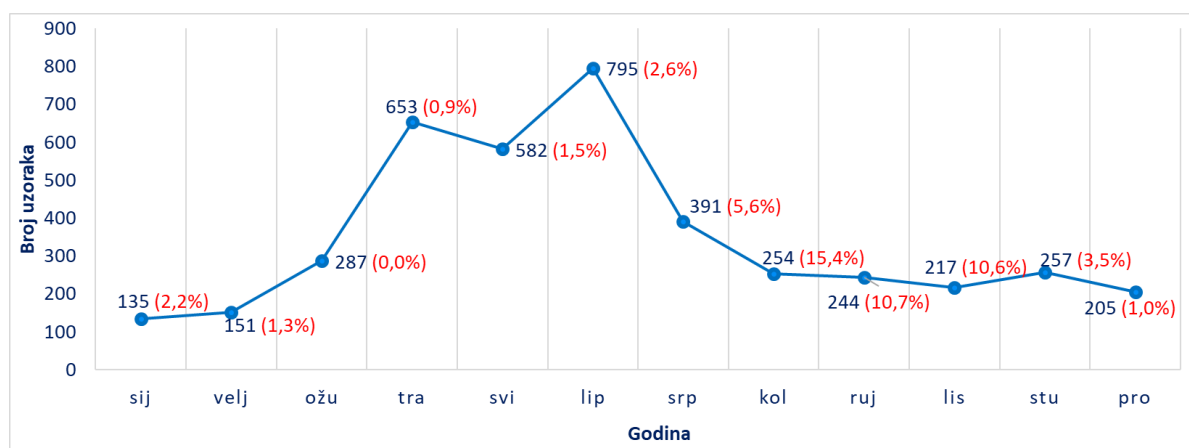
Slika 10. Udio *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka u ukupnom broju ispitanih uzoraka vode za ljudsku potrošnju iz sustave javne vodoopskrbe te razdioba broja pozitivnih uzoraka prema vrsti mjesta uzorkovanja

Slika 11. prikazuje godišnju distribuciju (2016.-2020.) ispitanih uzoraka vode za piće. Najveći broj uzoraka ispitan je na prisustvo *P. aeruginosa* u 2016. godini (1094) dok je kod uzoraka iz 2018. utvrđen najveći udio *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka (6,6%).



Slika 11. Ukupni broj ispitanih uzoraka vode za ljudsku potrošnju iz sustave javne vodoopskrbe po godini s crveno označenim udjelom *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka

Ukupan broj ispitanih uzoraka s udjelom *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka vode za ljudsku potrošnju iz sustave javne vodoopskrbe prikazan je po mjesecima (siječanj-prosinac). Na Slici 12. vidljivo da je najveći broj ispitanih uzoraka bio u travnju (653), svibnju (582) i lipnju (795), dok je najveći udio pozitivnih uzoraka zabilježen u kolovozu (15,4%), rujnu (10,7%) i listopadu (10,6%).

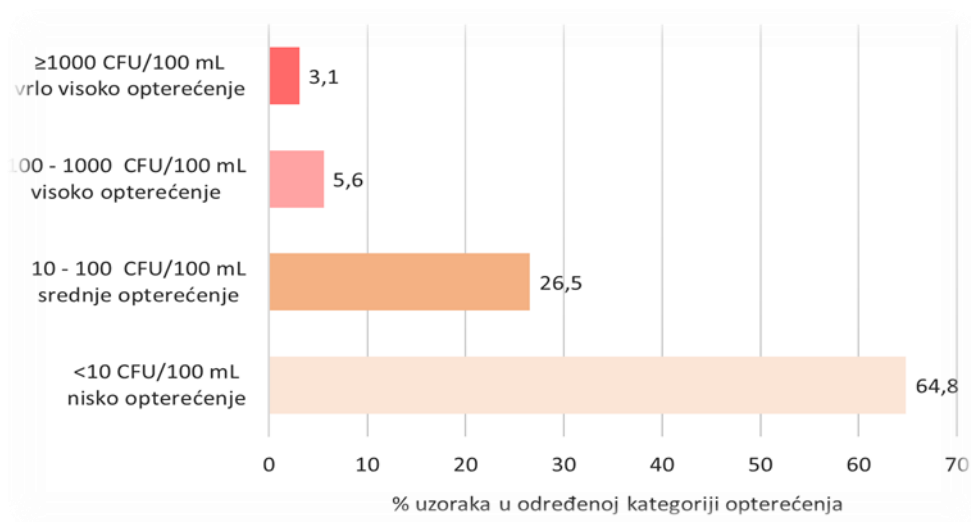


Slika 12. Ukupni broj ispitanih uzoraka vode za ljudsku potrošnju iz sustave javne vodoopskrbe po mjesecima s crveno označenim udjelom *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka

Opterećenje uzoraka *P. aeruginosa* može se podijeliti u 4 kategorije: nisko, srednje, visoko i vrlo visoko. U slučaju kada je koncentracija *P. aeruginosa* <10 CFU/100 mL, smatra se da su uzorci niskog opterećenja vode i u tim je situacijama potrebno napraviti procjenu

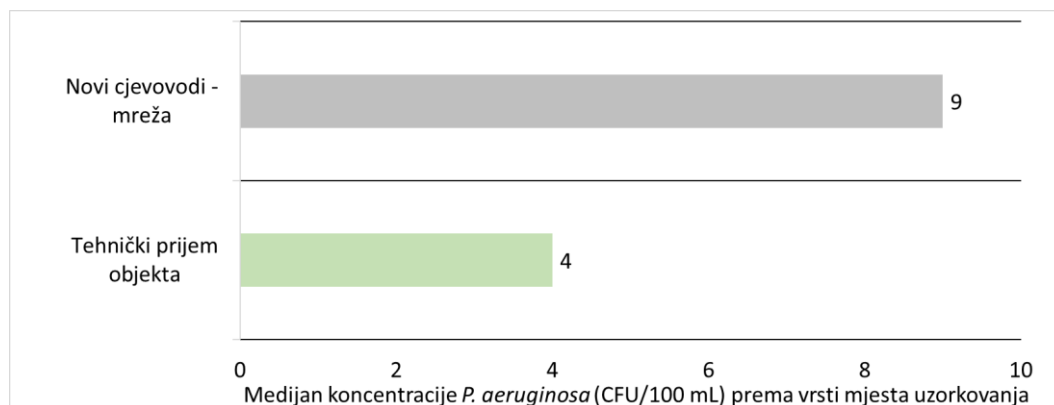
rizika prilikom upotrebe takve vode. Rezultati čije su vrijednosti >10 CFU/100 mL (srednje opterećenje), 100-1000 CFU/100 mL (visoko opterećenje) i ≥ 1000 CFU/100 mL (vrlo visoko opterećenje) nisu zadovoljavajući te je potrebno provesti daljnje uzorkovanje (36).

U uzorcima vode za piće ispitanim u razdoblju istraživanja, najmanji udio pozitivnih uzoraka pripadao je kategoriji vrlo visokog (3,1%) i visokog opterećenja (5,6%). Kategoriji srednjeg opterećenja pripadalo je 26,5%, dok je u kategoriji niskog opterećenja pripadao najveći udio pozitivnih uzoraka (64,8%). Na slici 13. prikazan je udio *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka u određenoj kategoriji opterećenja u uzorcima vode za ljudsku potrošnju.



Slika 13. Udio *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka u određenoj kategoriji opterećenja u uzorcima vode za ljudsku potrošnju

Na Slici 14. vidljivo je da je kod novih cjevovoda koncentracija *P. aeruginosa* bila veća (medijan 9 CFU/100 mL) u odnosu na uzorke uzete u objektima pri tehničkom pregledu (4 CFU/100 mL)



Slika 14. Medijan koncentracije *P. aeruginosa* prema vrsti mjesta za uzorkovanje

Od ukupnog broja *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka samo je kod 13,6% (22/162) utvrđeno prisustvo koliforma a kod 1,2% (2/162) prisustvo *E. coli*.

4.1.1 Korelacijska analiza

Tablicom 13. prikazan je Spearmanov korelacijski koeficijent između mikrobioloških i fizikalno-kemijskih pokazatelja vode za piće na području PGŽ u petogodišnjem razdoblju. Korelacijska analiza provedena je na 4171 uzorku. Ukoliko je p vrijednost <0.05 , smatra se da je korelacija značajna. Statistički značajna korelacija ($p < 0.05$) označena je podebljanim slovima. Na temelju tabličnih rezultata, vidljiva je dobra pozitivna korelacija između *P. aeruginosa* i svih mikrobioloških parametara dok kod fizikalno-kemijskih parametara nije došlo do značajne korelacije s mutnoćom ($p=0,568$) i amonijakom ($p=0,603$). Najjača pozitivna korelacija vidljiva je između *P. aeruginosa* i UBB/37°C ($r_s=0,21$), UBB/22°C ($r_s=0,20$), koliformnih bakterija ($r_s=0,16$) i temperature vode ($r_s=0,15$). Najjača negativna korelacija (vrlo slaba) dobivena je između *P. aeruginosa* i slobodnog rezidualnog klora ($r_s=0,07$) te nitrata ($r_s=0,06$).

Tablica 13. Spearmanov korelacijski koeficijent između ispitanih pokazatelja

	Broj uzoraka	Spearman R	p-vrijednost
PA (CFU/100 mL) & T _{vode} (°C)	4139	0,151923	0,000
PA (CFU/100 mL) & Mutnoća (NTU)	3795	0,008849	0,586
PA (CFU/100 mL) & pH	3793	0,045682	0,005
PA (CFU/100 mL) & EV (µS/cm/20 °C)	3793	0,038221	0,019
PA (CFU/100 mL) & KMnO ₄ (O ₂ mg/L)	3793	0,032991	0,042
PA (CFU/100 mL) & Kloridi (mg/L)	3793	0,041905	0,010
PA (CFU/100 mL) & Nitrati (mg/L)	3792	-0,061362	0,000
PA (CFU/100 mL) & Amonijak (mg/L)	1840	-0,012137	0,603
PA (CFU/100 mL) & SRK (mg/L)	4143	-0,067769	0,000
PA (CFU/100 mL) & UBB/37 (CFU/mL)	4171	0,208441	0,000
PA (CFU/100 mL) & UBB/22 (CFU/mL)	4171	0,202664	0,000
PA (CFU/100 mL) & KB (CFU/100 mL)	4171	0,159678	0,000
PA (CFU/100 mL) & EC (CFU/100 mL)	4171	0,043778	0,005
PA (CFU/100 mL) & ENT (CFU/100 mL)	4171	0,162998	0,000

PA – *P. aeruginosa*

T_{vode} – temperatura vode

EV – elektroprovodljivost

SRK – slobodni rezidualni klor

UBB/37 – ukupni broj bakterija pri 37 °C

UBB/22 – ukupni broj bakterija pri 22 °C

KB – koliformne bakterije

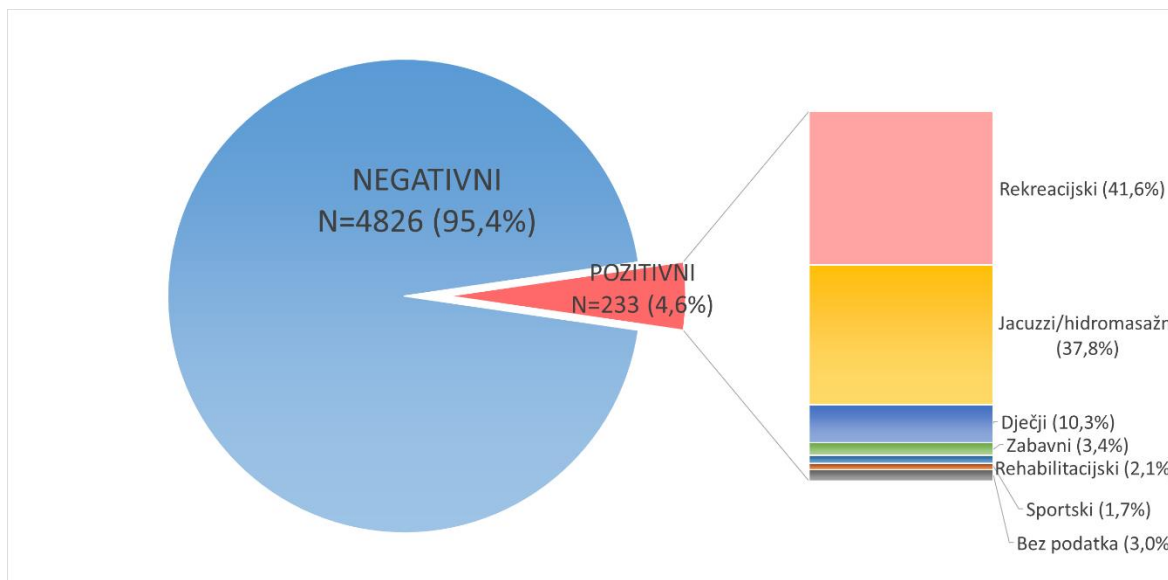
EC – *E. coli*

ENT – enterokoki

4.2 Bazenska voda

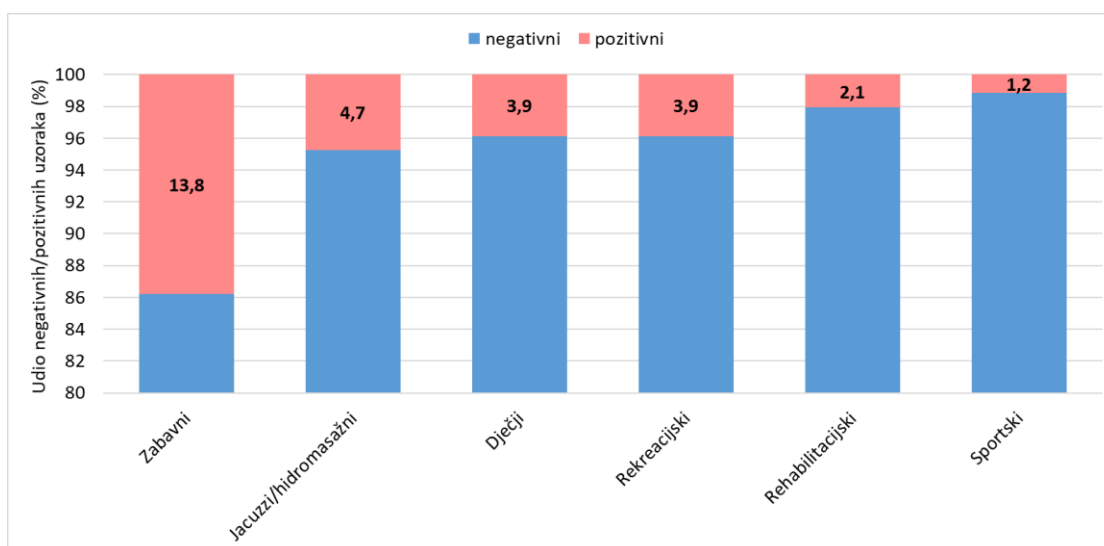
U petogodišnjem razdoblju (2016.-2020.) na pokazatelj *P. aeruginosa* analizirano je 5059 uzoraka bazenske vode na području Primorsko-goranske županije.

Slika 15. prikazuje udio *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka bazenske vode kao i razdiobu broja pozitivnih uzoraka prema namjeni bazena. Od ukupnog broja ispitanih uzoraka bazenske vode, 233 uzorka bila su *P. aeruginosa*-pozitivna (4,6%) dok u preostalim 4826 (95,4%) nije utvrđeno prisustvo *P. aeruginosa*. Od ukupnog broja pozitivnih uzoraka, 91 *P. aeruginosa*-pozitivni uzorak (41,6%) uzet je u rekreacijskim bazenima, zatim slijede jacuzzi/hidromasažni s 88 (37,8%), dječji s 24 (10,3%), rehabilitacijski s 5 (2,1%) te sportski s 4 (1,7%) uzoraka u kojima je utvrđeno prisustvo *P. aeruginosa*.



Slika 15. Udio *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka u ukupnom broju ispitanih uzoraka bazenske vode te razdioba broja pozitivnih uzoraka prema određenoj namjeni bazena

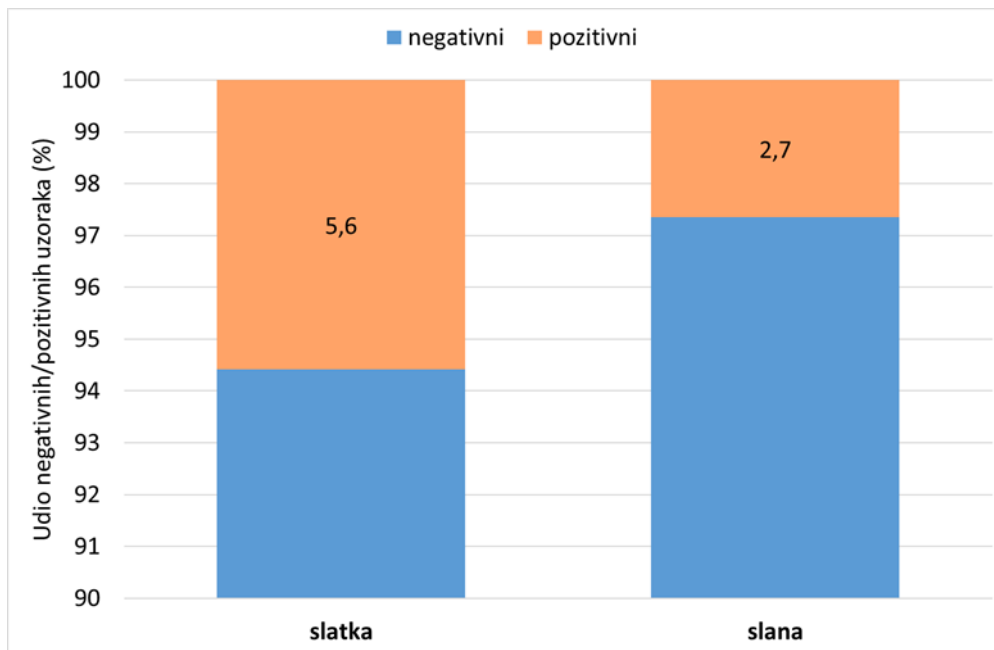
Na Slici 16. prikazan je udio *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka prema određenoj namjeni bazena. Najveći udio pozitivnih u odnosu na broj ispitanih uzoraka u pojedinoj vrsti bazena, zabilježen je u zabavnim bazenima (13,8%), zatim slijede jacuzzi/hidromasažni (4,7%), dječji i rekreacijski (3,9%), rehabilitacijski (2,1%) te na posljednjem mjestu sportski, s udjelom od 1,2%.



Slika 16. Udio *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka prema određenoj namjeni bazena

Na Slici 17. prikazan je udio *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka prema vrsti vode za punjenje. Vidljivo je da je veći udio pozitivnih uzoraka potvrđen kod slatkih (5,6%) u odnosu

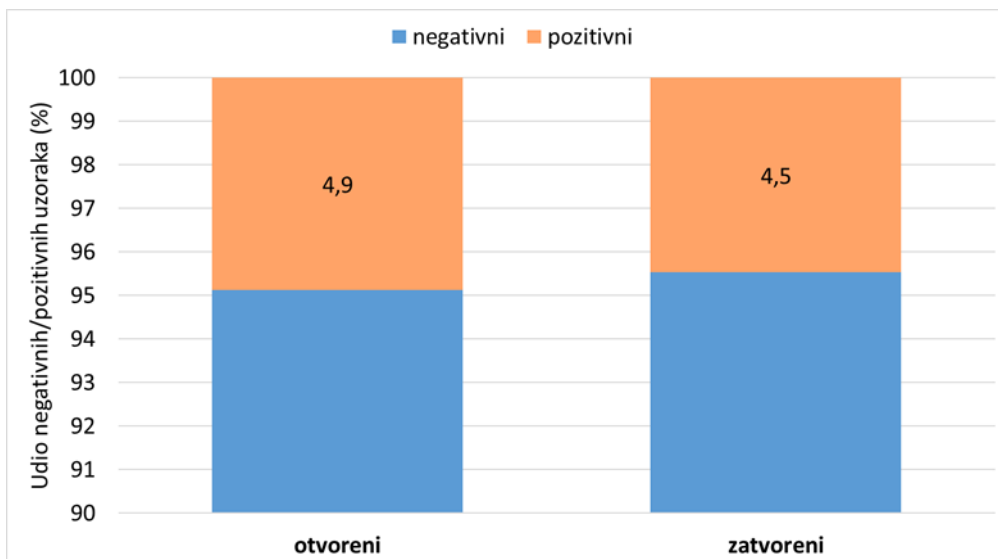
na slane bazene (2,7%). U slatkim bazenima koncentracija *P. aeruginosa* bila je veća (srednja vrijednost 276,7 CFU/100 mL; medijan 9 CFU/100 mL) u odnosu na bazene punjene morskom vodom (srednja vrijednost 18,1 CFU/100 mL; medijan 4 CFU/100 mL).



Slika 17. Udio *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka prema vrsti vode za punjenje

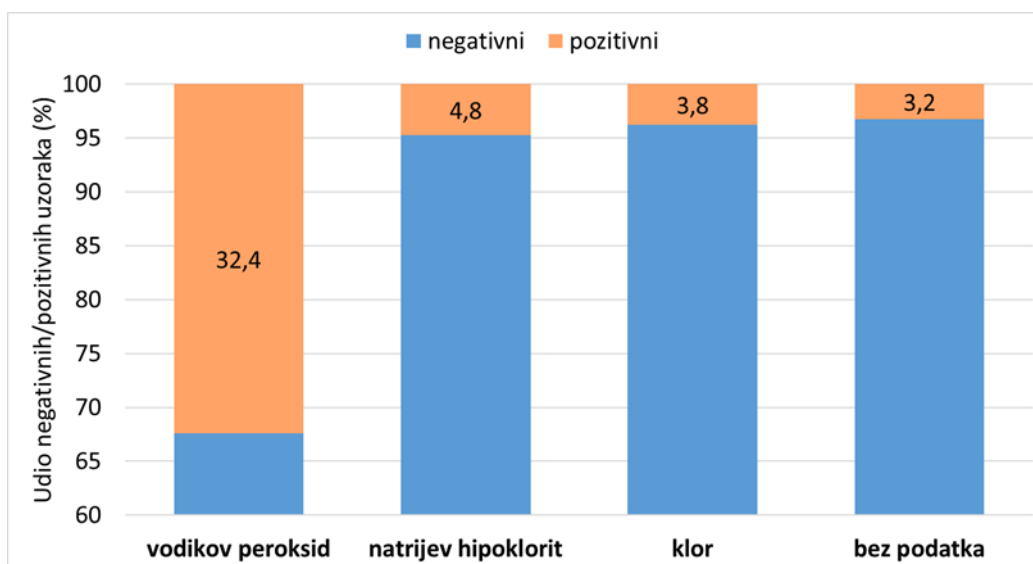
Slika 18. prikazuje udio *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka prema tipu bazena. Nešto veći udio pozitivnih uzoraka utvrđen je kod otvorenih (4,9%) u odnosu na zatvorene bazene (4,5%).

U zatvorenim bazenima koncentracija *P. aeruginosa* bila je veća (srednja vrijednost 269,6 CFU/100 mL; medijan 7 CFU/100 mL) u odnosu na otvorene bazene (srednja vrijednost 172,9 CFU/100 mL; medijan 6 CFU/100 mL).



Slika 18. Udio *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka prema tipu bazena

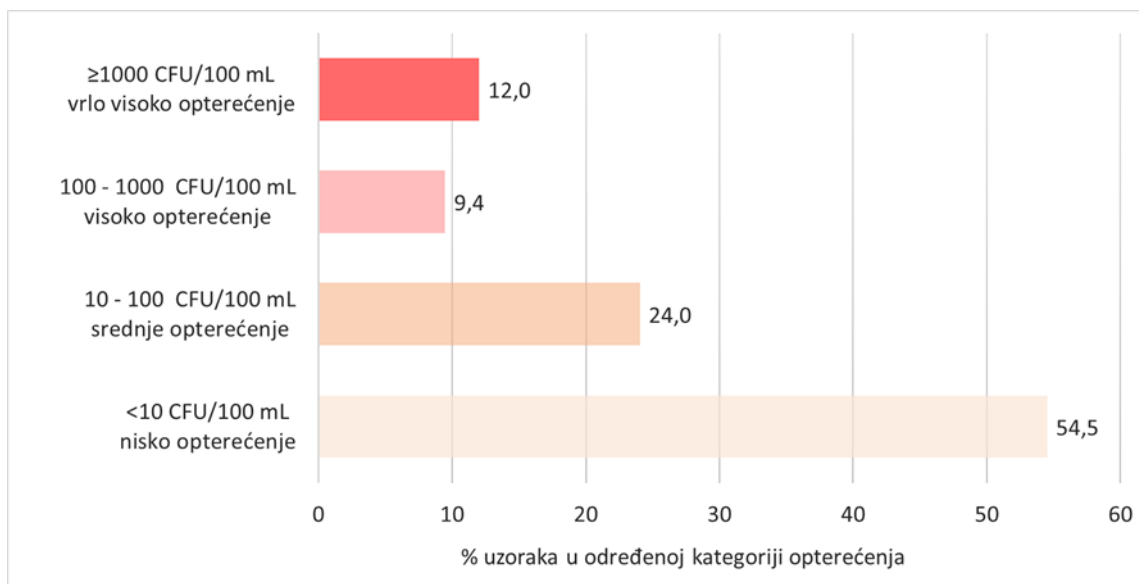
Udio *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka prema vrsti dezinfekcijskog sredstva prikazan je Slikom 19. najveći je udio pozitivnih uzoraka potvrđen kod primjene vodikovog peroksida kao dezinfekcijskog sredstva (32,4%), što je puno veći udio u odnosu uzorke iz bazena u kojima se kao dezinfekcijsko sredstvo primjenjivao natrijevog hipoklorita ili klor (3,8-4,8%).



Slika 19. Udio *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka prema vrsti dezinfekcijskog sredstva

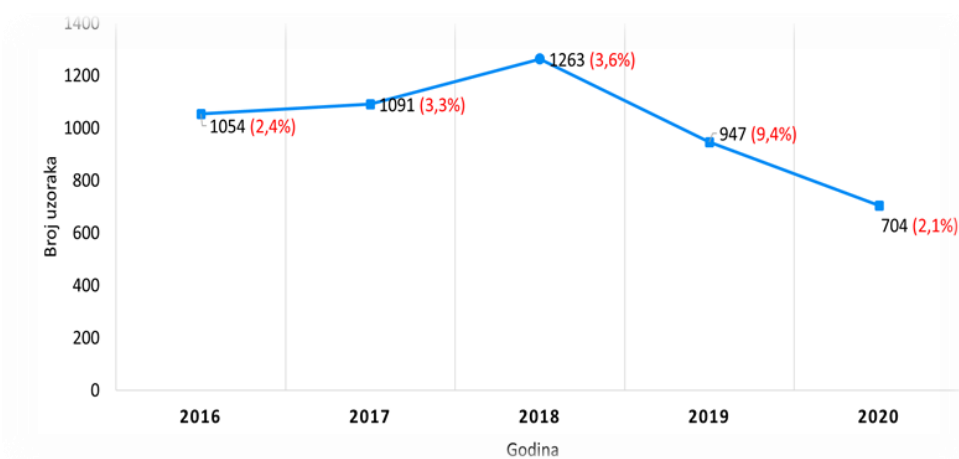
U prethodno navedenom poglavlju (4. REZULTATI 4.1. Voda za ljudsku potrošnju), opisana je podjela kategorija prema opterećenju vode bakterijom *P. aeruginosa*. Udio *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka u određenoj kategoriji opterećenja u uzorcima bazenske vode prikazan je na Slici 20. gdje

najmanji udio (9,4%) *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka pripada kategoriji visoko opterećenih uzoraka (100-1000 CFU/100 mL), nešto viši udio od 12,0% kategoriji vrlo visokog opterećenja (≥ 1000 CFU/100 mL), 24,0% srednjeg (10-100 CFU/100 mL) te najveći udio od 54,5% niskog (<10 CFU/100 mL) opterećenja.



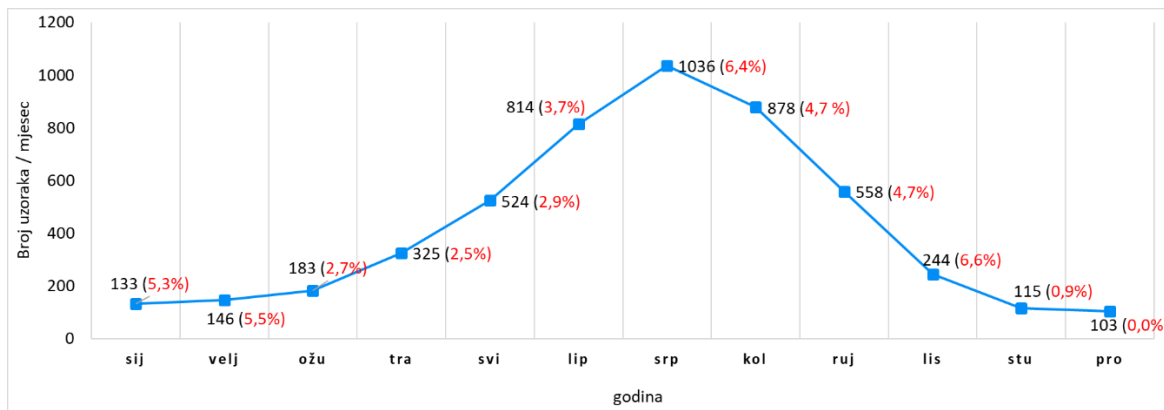
Slika 20. Udio *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka u određenoj kategoriji opterećenja u uzorcima bazenske vode

Promatrajući godišnju distribuciju broja ispitanih uzoraka bazenske vode na *P. aeruginosa* (Slika 21.), najveći broj ispitanih uzoraka zabilježen je u 2018. godini (1263), s najvećim udjelom *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka u 2019. godini (9,4%).



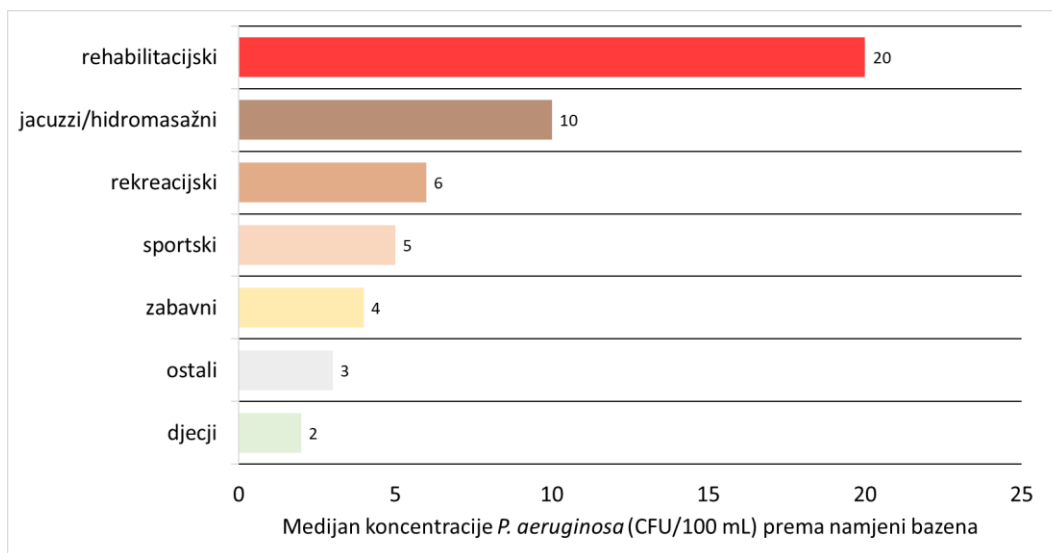
Slika 21. Ukupni broj ispitanih uzoraka bazenske vode po godini (2016.-2020.) s crveno označenim udjelima *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka

Slikom 22. prikazana je mjesečna distribucija uzoraka bazenske vode (siječanj-prosinac). Najveći broj ispitanih (1036) ispitan je u srpnju, a najveći udio *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka utvrđen je u listopadu (6,6%).



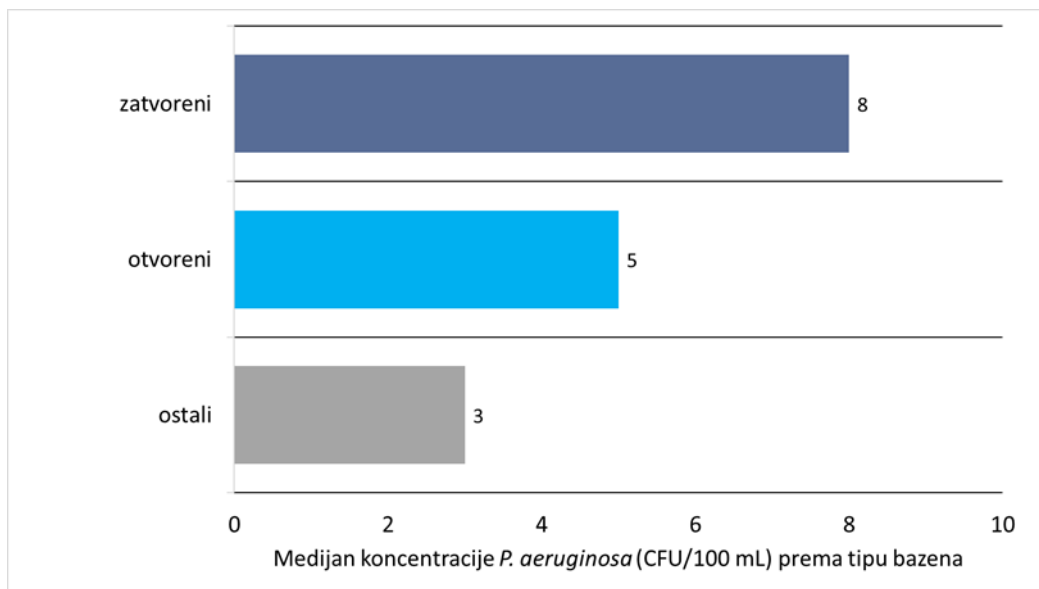
Slika 22. Ukupni broj ispitanih uzoraka bazenske vode po mjesecima s crveno označenim udjelima *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka

Najveće koncentracije *P. aeruginosa* određene su u rehabilitacijskim bazenima (medijan 20 CFU/100 mL), zatim slijede jacuzzi/hidromasažni (medijan 10 CFU/100 mL), rekreacijski (medijan 6 CFU/100 mL), sportski (medijan 5 CFU/100 mL) (Slika 23.).



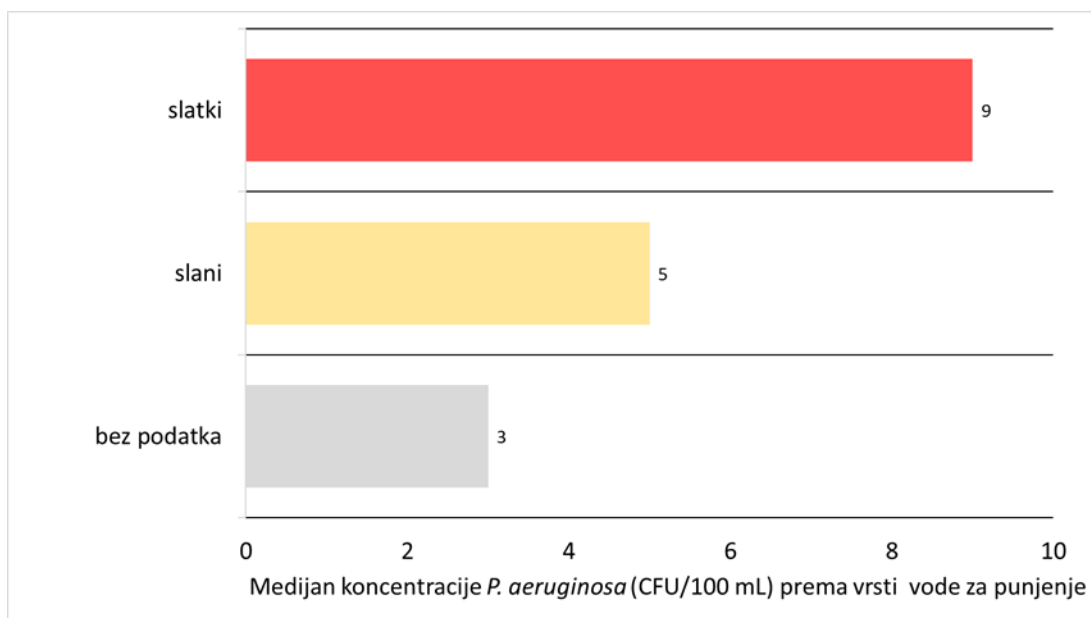
Slika 23. Medijan koncentracije *P. aeruginosa* prema određenoj namjeni bazena

Medijan koncentracije *P. aeruginosa* prema pojedinom tipu bazena prikazan je na Slici 24. Veća koncentracija *P. aeruginosa* zabilježena je kod zatvorenih bazena (8 CFU/100 mL) u odnosu na otvorene (5 CFU/100 mL).



Slika 24. Medijan koncentracije *P. aeruginosa* prema pojedinom tipu bazena

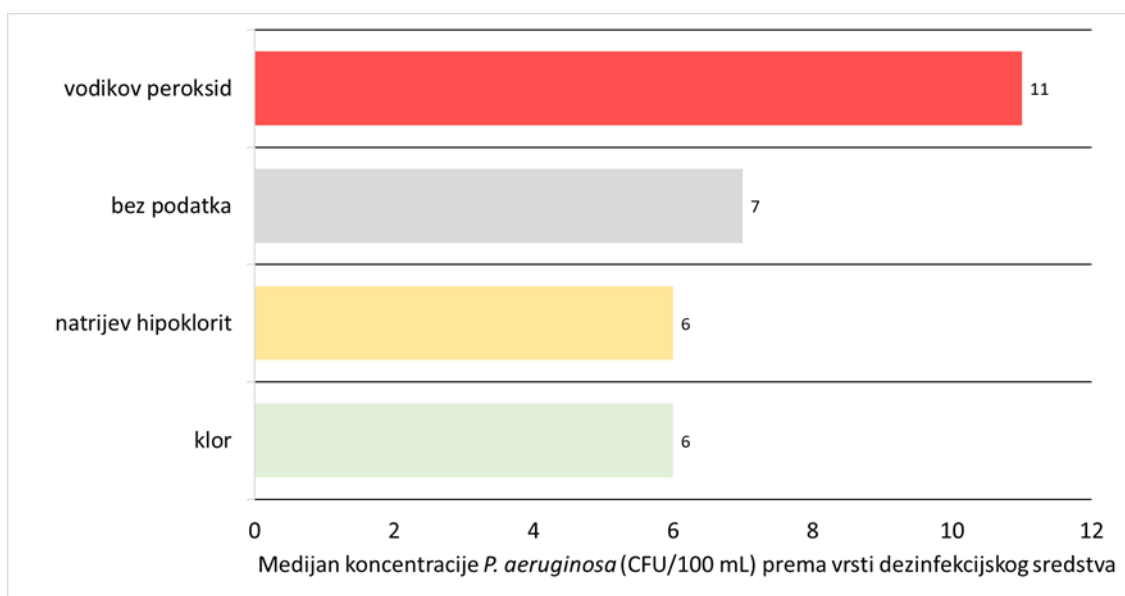
Medijan koncentracije *P. aeruginosa* prema vrsti vode za punjenje prikazan je na Slici 25. Viša koncentracija *P. aeruginosa* određena je u uzorcima slatkih bazena (9 CFU/100 mL), u odnosu na bazene punjene morskom vodom (5 CFU/100 mL).



Slika 25. Medijan koncentracije *P. aeruginosa* prema vrsti vode za punjenje

Slika 26. prikazuje medijan koncentracije *P. aeruginosa* prema vrsti dezinfekcijskog sredstva. Najveća je vrijednost izmjerena kod primjene vodikovog peroksida (11 CFU/100 mL), dok je kod primjene natrijevog hipoklorita i klora ta vrijednost iznosila 6 CFU/100 mL.

Najveći udio *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka uzet je u bazenima u kojim je kao dezinfekcijsko sredstvo primjenjen vodikov peroksid (32,4%). Također, isti uzorci bili su opterećeniji bakterijom *P. aeruginosa*, u odnosu na bazene u kojima je primjenjen natrijev-hipoklorit ili klor.



Slika 26. Medijan koncentracije *P. aeruginosa* prema vrsti dezinfekcijskog sredstva

4.2.1 Korelacijska analiza

Mjera povezanosti između *P. aeruginosa* i analiziranih mikrobioloških i fizikalno-kemijskih pokazatelja prikazana je pomoću Spearmanov-og korelacijskog koeficijenta u Tablici 13. Korelacijska analiza provedena je na 4171 uzorku bazenske vode u petogodišnjem razdoblju (2016.-2020.) na području PGŽ. Ukoliko je p vrijednost <0.05 , smatra se da je korelacija značajna. Statistički značajna korelacija ($p < 0.05$) označena je podebljanim slovima.

Temeljem rezultata, dobivena je značajna korelacija ($p < 0,05$) između *P. aeruginosa* i svih mikrobioloških (izuzev *L. pneumophilla*) i fizikalno-kemijskih. Najjača pozitivna korelacija uočena je između *P. aeruginosa* i *E. coli* ($r_s=0,38$), UBB/37°C ($r_s=0,29$) te *S. aureus* ($r_s=0,11$). Najjača negativna korelacija, također vrlo slaba, određena je između *P. aeruginosa* i slobodnog rezidualnog klora ($r_s=-0,16$)

Tablica 14. Spearmanov korelacijski koeficijent između ispitanih pokazatelja

	Broj uzoraka	Spearman R	p-vrijednost
PA (CFU/100 mL) & T _{vode} (°C)	5039	0,046	0,0012
PA (CFU/100 mL) & Boja (mg/L Pt/Co skale)	4950	0,062	0,0000
PA (CFU/100 mL) & Mutnoća (NTU)	4951	0,113	0,0000
PA (CFU/100 mL) & pH	4952	0,050	0,0005
PA (CFU/100 mL) & EV (μS/cm/20 °C)	4954	-0,058	0,0000
PA (CFU/100 mL) & KMnO ₄ (O ₂ mg/L)	4881	0,032	0,0259
PA (CFU/100 mL) & THM (μ/L)	3507	-0,092	0,0000
PA (CFU/100 mL) & SRK (mg/L)	4965	-0,155	0,0000
PA (CFU/100 mL) & UBB/37 (cfu/mL)	5058	0,294	0,0000
PA (CFU/100 mL) & EC (CFU/100 mL)	5059	0,382	0,0000
PA (CFU/100 mL) & SA (CFU/100 mL)	1805	0,112	0,0000
PA (CFU/100 mL) & <i>Legionella</i> (cfu/1000 mL)	701	-0,026	0,4940

T_{vode} – temperatura vode

PA – *P. aeruginosa* (CFU/100 mL)

EV – elektroprovodljivost

THM – trihalometani

SRK – slobodni rezidualni klor,

UBB/37 – ukupni broj bakterija pri 37°C,

EC – *E. coli*,

SA – *S. aureus*

4.3 Usporedba nacionalnih zakonskih propisa sa susjednim zemljama i šire

4.3.1 Voda za ljudsku potrošnju

U Republici Hrvatskoj, Pravilnikom o parametrima sukladnosti, metodama analize, monitoringu i planovima sigurnosti vode za ljudsku potrošnju te načinu vođenja registra pravnih osoba koje obavljaju djelatnost javne vodoopskrbe, određuju se mikrobiološki i kemijski parametri zdravstvene ispravnosti, indikatorski parametri (mikrobiološki i kemijski) među koje ubrajamo i *P. aeruginosa* te parametri radioaktivnih tvari. Izmjenom navedenog Pravilnika, 2020. godine, smanjuje se broj objekata u kojima se ispituje *P. aeruginosa*, pri čemu se isti određuje u uzorcima vode uzetim na mjestu potrošnje u objektima od javnozdravstvenog značaja te za potrebe tehničkih pregleda, gdje ne smije biti detektiran (MDK = 0 CFU/100 mL).

Dok se u vodi za ljudsku potrošnju *P. aeruginosa* definira kao indikatorski parametar, u trenutku punjenja u boce ili drugu ambalažu koja se stavlja na tržište, predstavlja parametar zdravstvene ispravnosti gdje također ne smije biti prisutan (MDK = 0 CFU/100 mL).

U Republici Srbiji, prisustvo *P. aeruginosa* ne smije biti dokazano u pročišćenju i dezinficiranoj vodi, ambalažiranoj te prirodnoj vodi otvorenih i zatvorenih izvora (MDK = 0

CFU/100 mL). Slična je situacija i u Crnoj Gori, gdje se *P. aeruginosa* ne smije dokazati u vodi za piće (MDK = 0 CFU/100 mL) i ambalažiranoj vodi (MDK = 0 CFU/250 mL).

Za razliku od prethodno navedenih zemalja, u Sloveniji se mikrobiološki pokazatelj *P. aeruginosa* u vodi za piće ne ispituje, dok je u ambalažiranoj vodi obavezan pokazatelj kakvoće (MDK = 0 CFU/250 mL).

Svjetska zdravstvena organizacija (WHO), kao ni U.S. EPA, u svojim smjernicama ne navode *P. aeruginosa* kao obavezan mikrobiološki pokazatelj prilikom određivanja zdravstvene ispravnosti vode.

4.3.2 Bazenska voda

Pravilnikom o sanitarno-tehničkim i higijenskim uvjetima bazenskih kupališta te o zdravstvenoj ispravnosti bazenskih voda, Republika Hrvatska definira *P. aeruginosa* kao obavezan parametar zdravstvene ispravnosti bazenske vode čija MDK iznosi <1 CFU/100 mL. Izmjenom i nadopunom Pravilnika, uvedene su dvije kategorije bazena (konvencionalni i biološki) te njihove maksimalno dozvoljene koncentracije (MDK). U konvencionalnim bazenima, MDK za *P. aeruginosa* iznosi 0 CFU/100 mL, dok u biološkim bazenima ta vrijednost iznosi 10 CFU/100 mL. Republika Slovenija je definirala uvjete za prisutnost *P. aeruginosa* u bazenskoj vodi na isti način kao i RH, dok Republika Srbija, Crna Gora te Bosna i Hercegovina, navode *P. aeruginosa* kao obavezan parametar ispitivanja zdravstvene ispravnosti bazenskih voda koji ne smije biti prisutan u 100 mL analizirane bazenske vode (MDK = <1 CFU/100 mL), pri čemu ne prave razliku između bioloških i konvencionalnih bazena. Za konvencionalne bazene MDK iznosi 0 CFU/100 mL, a za biološke bazene 10 CFU/100 mL.

5 RASPRAVA

Udio *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka iznosio je 3,9% (162/4171) za vodu za piće i 8,5% (233/5059) za bazensku vodu. Dvostruko veći udio pozitivnih uzoraka kod bazenske vode u odnosu na vodu za piće ukazuje na bolje okolišne uvjete za preživljavanje *P. aeruginosa* u bazenskom okolišu.

Generalno, rezultati prikazuju da je *P. aeruginosa* prisutan u malom broju uzoraka unatoč njegovoj sposobnost preživljavanja u vlažnoj sredini i opstanku u različitim okolišnim uvjetima (1).

5.1 Voda za piće

Uzorci vode za ljudsku potrošnju pozitivni na *P. aeruginosa* najvećim dijelom uzeti su prilikom tehničkog prijema objekata (96,3%), te manji dio (3,7%) pri provjeri kod izgradnje novih cjevovoda (mreža). Tijekom provedbe ostalih programa ispitivanja kakvoće vode za piće (županijskog programa ispitivanja zdravstvene ispravnosti vode za ljudsku potrošnju u vodoopskrbnim sustavima na području Primorsko-goranske županije, HACCP programima – eng. Hazard Analysis Critical Control Point) u ispitanim uzorcima nije utvrđeno prisustvo *P. aeruginosa*.

U posljednjih 20-ak godina, u Hrvatskoj su zabilježena tri veća slučaja prisustva *P. aeruginosa* u vodi za ljudsku potrošnju. Prvi slučaj bio je vezan uz caffè bar u Zadru gdje je na jednom izljevnom mjestu utvrđeno prisustvo *P. aeruginosa*. Drugi slučaj odnosio se na dječji vrtić u Puli u kojem je *P. aeruginosa* detektiran u vodi za piće. Treći slučaj zabilježen je u izbjegličkom kampu u Slavonskom Brodu tijekom migrantskog vala. Ovi nam primjeri ukazuju da je pojava *P. aeruginosa* moguća u različitim vodoopskrbnim sustavima.

Također su analizom iz 2016., koja je provedena u Istarskoj županiji, uočene dvije nesukladnosti vezane za dječje vrtiće. Razlog je u oba slučaja bila kućna instalacija. Provedene mjere nadležnog tijela uključivale su hiperkloriranje te ispiranje sustava do rezidualne koncentracije dezinficijensa ispod maksimalno dozvoljenih koncentracija (MDK) kao i hidrantske mreže. Zamijenjeni su i dijelovi kućnog sustava za koje se smatralo da zbog svoje dotrajalosti mogu biti potencijalni razlog rasta bakterija (36). Procjenjuje se da je više od 95% bakterija koje se nalaze u vodoopskrbnom sustavu vezano za stijenke cijevi, a da se manje od 5% nalazi u vodenoj fazi, koja se u monitoringu i ispituje (37).

Godišnja distribucija broja ispitanih uzoraka na pokazatelj *P. aeruginosa* pokazala je da se broj ispitanih uzoraka tijekom promatranog razdoblja smanjio (najveći broj zabilježen je 2016.). S druge strane, udio *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka je u porastu. Tako je maksimalan udio *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka zabilježen 2018. godine, kada je broj ispitanih uzoraka bio najniži, a najmanji udio pozitivnih uzoraka bio je 2016. godine, kada je na pokazatelj *P. aeruginosa* ispitan najveći broj uzoraka.

Mjesečna distribucija broja uzoraka pokazala je da je broj ispitanih uzoraka najveći u razdoblju od travnja do lipnja, te je najveći udio pozitivnih uzoraka zabilježen u razdoblju od kolovoza do listopada. Tu činjenicu možemo povezati s povišenom temperaturom okoliša u navedenom razdoblju godine, koja pogoduje razvoju bakterije *P. aeruginosa*, obzirom da ista podnosi temperaturne raspone i do 42°C (1).

Korelacijskom analizom utvrđena je pozitivna korelacija između *P. aeruginosa* i svih ispitanih mikrobioloških i fizikalno-kemijskih pokazatelja, osim mutnoće i amonijaka. Slična je situacija zabilježena u razdoblju od 2014.-2016. godine u distribucijskim sustavima vode za piće u Primorsko-goranskoj županiji. Ispitana su 2753 uzorka vode kod kojih je značajna korelacija utvrđena između *P. aeruginosa* i mutnoće ($r_s=0,13$, $p<0,05$). Oregon State University proveo je istraživanje (38) u kojem se ispitivao učinak zamućenosti na učinkovitost kloriranja i postojanost bakterija u pitkoj vodi. Odnos između zamućenosti i učinkovitosti dezinfekcije klorom utvrđen je mjerenjem smanjenja broja koliforma pri različitim vrijednostima mutnoće i različitim koncentracijama dodanog klora. Rezultati su pokazali da su koliformne bakterije u vodi povišene mutnoće (13 NTU) smanjene za samo 20% od početne vrijednosti, dok u vodi niske mutnoće (1,5 NTU) koliformi nisu dokazani. Zaključujemo da povećana mutnoća onemogućava efikasnu dezinfekciju te u konačnici dovodi do povećanja broja bakterija u vodi za piće.

Korelacija između *P. aeruginosa* i amonijaka nije utvrđena. *P. aeruginosa* smatra se bakterijom nefekalnog podrijetla dok je amonijak pokazatelj svježeg fekalnog onečišćenja.

Najjača pozitivna korelacija utvrđena je između *P. aeruginosa* i UBB/37°C ($r_s=0,21$), UBB/22°C ($r_s=0,20$). Što se tiče povezanosti između *Pseudomonasa* i UBB-a, slično je utvrđeno u prethodno navedenom istraživanju (39), gdje je u svim uzorcima pozitivnim na *P. aeruginosa* dokazan i broj kolonija UBB-a. Ukupan broj bakterija (UBB) služi kao opći pokazatelj mikrobiološke čistoće vode. Na hranjivu podlogu nasaduje uzorak vode te se

Petrijeva ploča inkubira na temperaturama od 22°C i 37°C. Temperatura od 22°C predstavlja okolišnu temperaturu pri kojoj rastu mikroorganizmi koji prirodno borave u okolišu (primjerice *P. aeruginosa*), dok pri temperaturi od 37°C, koja predstavlja prosječnu temperaturu čovjekovog tijela, rastu vrste bakterija koje mogu uzrokovati bolest kod ljudi (npr. *E. coli*) (40).

Najjača negativna korelacija, koja je prema vrijednosti koeficijenta korelacije vrlo slaba, dobivena je kod *P. aeruginosa* i slobodnog rezidualnog klora ($r_s=0,07$) te nitrata ($r_s=0,06$). *P. aeruginosa* je osjetljiv na djelovanje dezinfekcijskog sredstva međutim dezinfekciju otežava afinitet ove bakterije prema stvaranju biofilma. Tako je u istraživanju iz 2017., izmjerena najveća koncentracija rezidualnog klora u uzorku s najvećom koncentracijom *P. aeruginosa* (41). To ukazuje na sposobnost pseudomonasa prema stvaranju biofilma, zbog čega je ova vrsta otpornija na djelovanje dezinfekcijskog sredstva, a njeno uklanjanje iz distribucijskog sustava zahtjevnije.

Afinitet *P. aeruginosa* prema rastu u biofilmovima posljedica je i sposobnosti ove bakterije da diše u okruženjima s ograničenom koncentracijom kisika. Za anaerobno disanje važan je disimilacijski enzimski put koji katalizira redukciju nitrata (NO_3^-) u plin dušik (N_2). Redukcija nitrata ili nitrita daje energiju za rast *P. aeruginosa* u odsutnosti kisika, pri čemu redukcija nitrata u nitrit putem nitrat reduktaze daje značajno više energije, nego redukcija nitrita ili fermentacija arginina (42).

U SAD-u su infektolog Hardalo i mikrobiolog Edberg 1997. godine proveli istraživanje o riziku prisustva *P. aeruginosa* u vodi za piće. Cilj istraživanja bio je procijeniti opravdanost korištenja *P. aeruginosa*, kao jednog od pokazatelja zdravstvene ispravnosti vode za piće. Obzirom da je *P. aeruginosa* sveprisutna bakterija u okolišu, zaključuju da nije samo nepraktično nastojati ukloniti ovu bakteriju iz hrane i vode, već može biti i opasno za zdravlje. Upotreba većih koncentracija dezinfekcijskog sredstva dovesti će do nastajanja veće količine nusprodukata, čije djelovanje predstavlja veći rizik za zdravlje ljudi od potencijalnog rizika koji se javlja zbog pseudomonasa (43).

5.2 Bazenska voda

Bazeni su objekti napunjeni vodom koji se koriste u različite svrhe: rekreacija, hidromasaža, rasonoda, sportske aktivnosti i rehabilitacija. Mogu biti zatvoreni i otvoreni te punjeni slatkom ili morskom vodom.

Od ukupno ispitanih 5059 uzoraka bazenske vode na pokazatelj *P. aeruginosa*, prisustvo je dokazano u 233 uzoraka (4,6%). Najveći broj od ukupno pozitivnih uzoraka bili su uzorci rekreacijskih bazena (N=97) te uzorci iz jacuzzija/hidromasažnih bazena (N=88). Međutim, obzirom da su ta dva tipa bazena najčešće uzorkovana (74% svih uzoraka), promatran je broj pozitivnih uzoraka u odnosu na ukupan broj uzoraka koji je uzet kod pojedine vrste bazena obzirom na njihovu namjenu. Najveći udio *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka pri tome je zabilježen kod zabavnih (13,8%), nakon čega slijede jacuzzi/hidromasažni (4,7%) bazeni.

Rekreacija i rasonoda sve su važnije komponente životnog stila svakog pojedinca, stoga bazeni imaju sve veći broj korisnika. Međutim, veći broj korisnika dovodi i do određenih zdravstvenih rizika. Kupači u vodu unose različite organske tvari, poput znoja, urina te kozmetičkih preparata. Visoke temperature i aeracija u hidromasažnim kadama dovode do pojačanog znojenja i deskvamacije kože korisnika. Osim povišene temperature, obično iznad 32°C, karakterizira ih manji volumen vode po korisniku. Na taj način voda u hidromasažnim kadama postaje medij u kojem je bakterijama dostupna veća količina nutrijenata, što pogoduje rastu *P. aeruginosa* (14, 39).

Najveći broj ispitanih uzoraka zabilježen je u 2018. godini (N=1263). Udio uzoraka u kojim je dokazan *P. aeruginosa* u promatranom razdoblju kretao se je od 2,1% (2020. godine) do 9,4% (2019. godine). Razlika u udjelima *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka može se povezati s varijacijama u broju turista koji su u pojedinoj sezoni posjetili našu zemlju. Naime, prema Državnom Zavodu za statistiku Republike Hrvatske maksimalan broj dolazaka turista u komercijalnim smještajima u Primorsko-goranskoj županiji u promatranom zabilježen je u sezoni 2019. (2.966.489) dok je u sezoni 2020. bio najmanji (1.323.560), za 55% manji u odnosu na rekordnu 2019. godinu. Razlog za veliko smanjenje broja turista u sezoni 2020. svakako su bile okolnosti Covid-19 pandemije (44).

Najveći broj ispitanih uzoraka bilježi se u srpnju (N=1036). Obzirom da je korištenje bazena dio ljetne turističke ponude, najveći broj ispitivanja provodi se u razdoblju od svibnja

do rujna. Udio *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka kretao se je od 0,0% (prosinac) do 6,6% (listopad). Udio pozitivnih uzoraka veći od 6% zabilježen je još i u srpnju. Veći udio *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka potvrđen je kod otvorenih (4,9%) u odnosu na zatvorene (4,5%) bazene, kao i kod slatkih (5,6%) u odnosu na morske bazene (2,7%).

U istraživanju provedenom 2017. godine ispitivala se zdravstvena ispravnost bazenske vode u Republici Hrvatskoj od strane Hrvatskog Zavoda za javno Zdravstvo. Od ukupno 1.397 neispravnih uzoraka, njih 59,8% se odnosilo na otvorene, 39,5% na zatvorene, a 0,7% na otvoreno-zatvorene bazene, što je u skladu s rezultatima našeg istraživanja (45). Obzirom na činjenicu da je voda u otvorenim bazenima pod utjecajem brojnih okolišnih čimbenika poput trave, insektata, oborina, čestica nošenih vjetrom i sl., veći unos organske tvari dovodi do stvaranja veće koncentracije nusprodukata dezinfekcije (45).

Također, HZZJZ je usporedio rezultate ispitivanja mikrobioloških i fizikalno-kemijskih pokazatelja bazena punjenih morskom i slatkom vodom. U ukupnom broju uzoraka bazenskih voda ispitanih 2017. godine (N=7743) prevladavali su slatkovodni uzorci (83,4%), dok je preostalih 16,6% uzoraka prikupljeno u bazenima punjenim morskom vodom. Od ukupnog broja neispravnih uzoraka, 73,7% se odnosilo na bazene sa slatkom vodom a preostalih 26,3% na bazene punjene morskom vodom. Međutim, kada se razmatra udio zdravstveno neispravnih uzoraka u broju uzoraka uzetih u bazenima punjenim morskom i slatkom vodom, onda je postotak neispravnih uzoraka veći u bazenima punjenima morskom vodom (28,6%) u odnosu na bazene punjene slatkom vodom (15,7%). Pri tome je važno za istaknuti da je najčešći uzrok neispravnosti bazena bila je povišena koncentracija trihalometana (9,9%) te prisutnost bakterije *P. aeruginosa* (4,6% neispravnih uzoraka) (45).

Udio *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka u bazenima u Hrvatskoj bio je veći u slatkovodnim u odnosu na bazene punjene morskom vodom (4,7% vs 4,3%), što je u skladu s rezultatima dobivenim ispitivanjem bazena u Primorsko-goranskoj županiji u razdoblju 2016. – 2020., kod kojih je razlika u udjelu pozitivnih uzoraka između slatkih i morskih bazena bila još izraženija. Ispitivanje kojim se pratilo opterećenje bazena Primorsko-goranske županije bakterijom *P. aeruginosa* u šestogodišnjem razdoblju (2009.-2014.), također je ukazalo na veći udio pozitivnih uzoraka kod slatkovodnih (4,3%) u odnosu na bazene punjene morskom vodom (3,6%) (39).

Morska je voda u usporedbi sa slatkom, nepovoljniji medij za preživljavanje za većinu bakterija te se smatra mikrobiološki sigurnijom s aspekta zdravlja kupaca (14). Obzirom da je zabilježena mala razlika u udjelu pozitivnih uzoraka između slatkih i morskih bazena (0,4%), može se zaključiti da su obje vrste vodenog medija povoljne za preživljavanje pseudomonasa. Stoga se *P. aeruginosa* prema Pravilniku (NN 59/20) ispituje u slatkoj i morskoj bazenskoj vodi, za razliku od *S. aureus* koji se traži samo u morskoj vodi (39).

U odnosu na primjenjeno dezinfekcijsko sredstvo, veći udio *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka utvrđen je kod primjene vodikovog peroksida, u usporedbi s primjenom natrijevog hipoklorita i klora. *P. aeruginosa* posjeduje veliku aktivnost katalaze koja razgrađuje vodikov peroksid na kisik i vodu, čime se povećava otpornost *P. aeruginosa* na niže koncentracije vodikovog peroksida (46). Stoga se smatra da vodikov peroksid nije izbor dezinfekcijskog sredstava bazenskih voda, u slučaju kada se koristi kao jedino dezinfekcijsko sredstvo (47). Značajna korelacija utvrđena je između *P. aeruginosa* i svih ispitanih fizikalno-kemijskih i mikrobioloških pokazatelja, izuzev s *Legionella pneumophila*. Najjača pozitivna korelacija uočena je sa *P. aeruginosa* i *E. coli* ($r_s=0,38$), UBB/37°C ($r_s=0,29$) te *S. aureus* ($r_s=0,11$).

Opći pokazatelji kvalitete, odnosno mikrobiološkog opterećenja vode, su ukupni broj bakterija na 37 °C i 22 °C te ukupni koliformi koji služe kao indikator fekalnog onečišćenja vode (među koje ubrajamo i *E. coli*). Pozitivna korelacija između broja *P. aeruginosa* i *E. coli*, ukazuje na činjenicu da su u bazenima prisutni izvor onečišćenja fekalnog i ne-fekalnog podrijetla obzirom da se *E. coli* smatra najpouzdanijim indikatorom fekalne kontaminacije bazenske vode (48).

Analizom rezultata ispitivanja zdravstvene ispravnosti bazenske vode u Republici Hrvatskoj u 2017. godini koje je proveo HZZJZ, utvrđeno je da je prisustvo *E. coli* razlog neispravnosti u 1,6% uzoraka bazenske vode (bez obzira na vrstu bazena), što ukazuje na nisku razinu fekalnog onečišćenja. Ovaj udio je niži od udjela utvrđenog u bazenskoj vodi različitih država, što ukazuje na nedovoljno učinkovitu provedbu mjera dezinfekcije i neadekvatno održavanje bazenske vode i bazenskih prostora (45). S druge strane, u studiji provedenoj u Italiji, utvrđeno je da od ukupno analiziranih 645 uzoraka u niti jednom nije dokazano prisustvo *E. coli* (49), što generalno ukazuje na uspješno upravljanje bazenima.

Najjača korelacija uočena je između broja *P. aeruginosa* i broja fekalnih koliforma, što također ukazuje na prisutnost više različitih izvora kontaminacije bazenske vode, obzirom da bakterija *P. aeruginosa* ne potječe od fekalnog izvora (39).

S. aureus je vrsta koja se u skladu s Pravilnikom (NN 59/2020) ispituje samo u bazenima punjenim morskom vodom obzirom na duže preživljavanje stafilokoka u mediju s povišenom koncentracijom soli. To potvrđuje i istraživanje koje je provedeno u petogodišnjem razdoblju od 2013.-2017. godine na području PGŽ, gdje je udio uzoraka pozitivnih na *S. aureus* u bazenima s morskom vodom iznosio 1,7%, dok u bazenima punjenim slatkom vodom, od 94 ispitana uzorka, niti jedan nije bio pozitivan (14).

Najjača negativna korelacija utvrđena je kod *P. aeruginosa* i slobodnog rezidualnog klora ($r_s = -0,16$). Isti rezultati potvrđeni su u prethodno provedenom istraživanju gdje je također utvrđena negativna korelacija između *P. aeruginosa* i SRK (rezidualni klor, $r_s = 0,07$). (14). Kako je u bazenima dotok organske tvari od kupaća kontinuiran i povećan, potrebne su više doze klora za dezinfekciju, nego li je to slučaj u dezinfekciji vode za ljudsku potrošnju. Tijekom povećane dezinfekcije bazena, dolazi do smanjenja onečišćenja bazenske vode s *P. aeruginosa* i obratno. Rezidualni klor smanjuje koncentraciju *P. aeruginosa*, te je stoga bitno održavati dezinfekcijski reziduum.

5.3 Zakonska regulativa

U cilju zaštite ljudskog zdravlja te kontrole zdravstvene ispravnosti vode, provode se ispitivanja voda na mikrobiološke parametre propisane važećim Pravilnikom koji regulira zdravstvenu ispravnost vode za ljudsku potrošnju (NN 125/2017). Hrvatsko vodno zakonodavstvo usklađeno je sa EU zakonodavstvom i ISO normama u kojima su propisani i opisani postupci analize prilikom ispitivanja mikrobioloških parametara. Usporedbom nacionalnih zakonskih propisa sa susjednim zemljama i šire, vidimo kako je Republika Hrvatska, uz Republiku Srbiju te Crnu Goru, u svoju legislativu uključila ispitivanje *P. aeruginosa*, kao obaveznog parametra u vodi za ljudsku potrošnju te ambalažiranoj vodi. Za razliku od prethodno navedenih zemalja, u Sloveniji se prisustvo *P. aeruginosa* ne ispituje u vodi za ljudsku potrošnju, dok je u ambalažiranoj obavezan. Isto vrijedi i kod susjedne BiH. Istraživanjem provedenim od strane Hardalo-a i Edberg-a, reguliranje *P. aeruginosa* u ambalažiranoj vodi navodi se kao obavezno u Europi, ali ne i u vodi iz slavine ili u ambalažiranoj vodi u SAD-u (43). Temeljem smjernica danih od strane Svjetske zdravstvene

organizacije (WHO) i U.S. EPA-e, *P. aeruginosa* se ne ubraja u obavezne mikrobiološke kriterije prilikom ispitivanja zdravstvene ispravnosti vode za piće. Kao razlog tome navodi se da nema dovoljno dokaza da pojavnost *P. aeruginosa* može predstavljati izvor infekcije u općoj populaciji. Međutim, na mjestima od javnozdravstvenog značaja na kojima je rizik za zdravlje ljudi povećan (bolnice, domovi za starije i nemoćne) potrebno je posebnim nacionalnim propisima definirati smjernice i kriterije ocjenjivanja (35).

Kod bazenske vode se, za razliku od one namijenjene ljudskoj potrošnji, ispitivanje pokazatelja *P. aeruginosa* provodi u svim zemljama obuhvaćenim istraživanjem, kao obavezan parametar zdravstvene ispravnosti bazenskih voda, u kojima ne smije biti prisutan.

6 ZAKLJUČCI

- Ukupno je ispitano 4171 uzoraka vode za piće, a udio *P. aeruginosa*-pozitivnih iznosio je 3,9%. Pozitivni uzorci dominantno su prikupljeni tijekom tehničkih pregleda objekata, a u manjem broju nakon izgradnje novih cjevovoda, u kojima je međutim utvrđeno veće opterećenje *P. aeruginosa*.
- Najveći broj uzoraka ispitan je na prisustvo *P. aeruginosa* u 2016. godini, dok u godini s najmanjim brojem ispitanih uzoraka (2018.) bilježimo najveći udio uzoraka u kojima je dokazan *P. aeruginosa*, s naglaskom na toplije razdoblje od srpnja do listopada.
- Najveći broj uzoraka pripada kategoriji niskog opterećenja (<10 CFU/100 mL).
- Korelacijskom analizom utvrđena je značajna pozitivna korelacija između *P. aeruginosa* i svih mikrobioloških pokazatelja kao i fizikalno-kemijskih pokazatelja, izuzev mutnoće i amonijaka.
- Najjača pozitivna korelacija dobivena je između *P. aeruginosa* i UBB/37°C, UBB/22°C, koliformnih bakterija, enterokoka i temperature vode.
- Slaba, ali statistički značajna negativna korelacija dobivena između *P. aeruginosa* i slobodnog rezidualnog klora i nitrata.
- Bazenskih uzoraka ukupno je ispitano 5059 uzoraka, od kojih je 4,6% bilo *P. aeruginosa*-pozitivno. Najveći udio pozitivnih uzoraka utvrđen je kod zabavnih (13,8%) i jacuzzi/hidromasažnih bazena (4,7%).
- Veći udio *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka potvrđen je kod otvorenih (4,9%) u odnosu na zatvorene (4,5%) bazene te kod slatkih (5,6%) u odnosu na bazene punjene morskom vodom (2,7%). Uzorci opterećeniji bakterijom *P. aeruginosa* prikupljeni su iz zatvorenih, u odnosu na otvorene bazene te iz slatkih, u odnosu na slane bazene. Najveći broj ispitanih uzoraka bazena na *P. aeruginosa* bio je 2018. godine.
- Udio *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka bio je najveći u sezoni 2019., kada je i broj turista u Hrvatskoj bio najveći u promatranom razdoblju. U sezoni 2020., za vrijeme Covid-19 pandemije broj pozitivnih uzoraka bio je najmanji. Prema mjesečnoj razdiobi, srpanj je mjesec s najvećim udjelom pozitivnih uzoraka. Prema namjeni bazena, najviše koncentracije ovog mikrobiološkog pokazatelja zabilježene su u rehabilitacijskim bazenima.
- Kao i kod uzoraka vode za piće, u bazenskim vodama, najveći broj uzoraka pripada kategoriji niskog opterećenja (<10 CFU/100 mL).

- Statistički značajna korelacija dobivena je između *P. aeruginosa* i svih ispitanih mikrobioloških i fizikalno-kemijskih pokazatelja, izuzev *L. pneumophila*.
- Najjača pozitivna korelacija utvrđena je između *P. aeruginosa* i *E. coli*, UBB/37°C te *S. aureus*, a najjača negativna korelacija sa SRK (sulfit reducirajuće klostridije).
- Najveći udio *P. aeruginosa*-pozitivnih uzoraka uzet je u bazenima u kojima se kao dezinfekcijsko sredstvo primjenjivao vodikov peroksid (32,4%) te je u istim uzorcima izmjerena najveća koncentracija *P. aeruginosa*, u odnosu na bazene u kojima je korišten natrijev-hipoklorit ili klor.
- Republika Hrvatska je uz Srbiju i Crnu Goru, u svoje nacionalno zakonodavstvo uključila ispitivanje *P. aeruginosa*, kao obaveznog mikrobiološkog pokazatelja kod ispitivanja zdravstvene ispravnosti vode za ljudsku potrošnju kao i ambalažirane vode. S tim da je stav stručnjaka u našoj zemlji da je prisustvo *P. aeruginosa* potrebno ispitivati samo na mjestima od javnozdravstvenog značaja (bolnice, domovi za starije i nemoćne) i kod tehničkih pregleda objekata. Slovenija i BiH ne ispituju prisustvo *P. aeruginosa* u vodi za ljudsku potrošnju, dok je u ambalažiranoj obavezan.
- Za razliku od vode namijenjene ljudskoj potrošnji, ispitivanje *P. aeruginosa* provodi se u svim zemljama obuhvaćenim ovim istraživanjem i to kao obavezan parametar ispitivanja zdravstvene ispravnosti bazenskih voda.

7 LITERATURA

1. Kučišec-Tepeš, N. *Specijalna bakteriologija i odabrana poglavlja iz opće i specijalne mikologije*. Zagreb: Školska knjiga; 1994.
2. Berry, D., Xi, C., i Raskin, L. Microbial ecology of drinking water distribution systems. *Current Opinion in Biotechnology*. 2006; 17(3): 297-302.
3. Žilić, I., Šušnjara, V., i Krpan, Lj. Biofilmovi u vodoopskrbnoj mreži. U: Ujević-Bošnjak, M., ur. *XXI. ZNANSTVENO - STRUČNI SKUP VODA I JAVNA VODOOPSKRBA* . 3.-6. listopada 2017; Otok Korčula, Hotel „Port 9” Resort, Hrvatska. Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo; 2017. str. 161-167.
4. Sanly, L., i dr. Understanding, Monitoring, and Controlling Biofilm Growth in Drinking Water Distribution Systems. *Environmental Science & Technology*. 2016; 6;50(17): 8954-76.
5. Bédard, E., Prévost, M., i Déziel, E. *Pseudomonas aeruginosa* in premise plumbing of large buildings. *Microbiology Open*. 2016; 5(6); 937-956.
6. World Health Organization. Guidelines for drinking-water quality (Microbial fact sheets). 3rd ed. Geneva: 2004. str. 237, 238. [pristup: 07. travnja. 2021.] Dostupno na: https://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/GDWQ2004web.pdf
7. Lutz, Jonathan, K., i Jiyoun, L. Prevalence and Antimicrobial-Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* in Swimming Pools and Hot Tubs. *Environmental Research and Public Health*. 2011; 8(2); 554–564.
8. World Health Organization. Guidelines for Drinking-water Quality [Internet]. 4th ed. Geneva: 2017. str: 107, 249-250, 298. [pristup: 16. travnja. 2021.] Dostupno na: [who 2017..pdf](#)
9. World Health Organisation. Heterotrophic Plate Counts and Drinking-water Safety. The Significance of HPCs for Water Quality and Human Health. U: Bartram J., Cotruvo J., M., Exner, C., Fricker, A., Glasmacher. London: 2003. str. 1-12. [pristup: 12. travnja. 2021.] Dostupno na: [HPC Full Book FINAL.pdf \(who.int\)](#)
10. Bach, G., Prisutnost *Pseudomonas aeruginosa* u bazenskoj vodi bazena grada Zagreba u razdoblju od 2015. do 2017. godine. U: Ujević-Bošnjak M., ur. *XXII. ZNANSTVENO - STRUČNI SKUP VODA I JAVNA VODOOPSKRBA* . 2.-5. listopada 2018; Hotel Panonija, Sisak, Hrvatska. Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo: 2018. str.160-161.

11. World Health Organisation. Guidelines for safe recreational water environments. *Microbial hazards*. 1st ed. Geneva; 2003. str. 120. [pristup: 02. travnja. 2021.] Dostupno na: [9241545801.pdf](#)
12. World Health Organisation. Swimming pools and similar environments. *Guidelines for safe recreational water environments*. 2nd ed. Geneva: 2006. str. 41-45. [pristup: 08. travnja. 2021.] Dostupno na: [srwe2full.pdf](#)
13. Pravilnik o sanitarno-tehničkim i higijenskim uvjetima bazenskih kupališta te o zdravstvenoj ispravnosti bazenskih voda. (NN 107/2012). [pristup: 10. travnja. 2021.] Dostupno na: : https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2012_09_107_2359.html
14. Vukić-Lušić, D., Cenov, A., Piškur, V., Živković, S., Usporedba pokazatelja kvalitete bazenskih voda standardnih i spa bazena. U: Ujević-Bošnjak, M., ur. *XXII. ZNANSTVENO - STRUČNI SKUP VODA I JAVNA VODOOPSKRBA*. 2.-5. listopada 2018. Sisak, Hotel Panonija, Hrvatska. Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo: 2018. str. 51-59.
15. Zakon o vodi za ljudsku potrošnju (NN 56/13, 64/15, 104/17, 115/18, 16/20). [pristup: 21. travnja. 2021.] Dostupno na: <https://www.zakon.hr/z/584/Zakon-o-vodi-za-ljudsku-potro%C5%A1nju>
16. Pravilnik o parametrima sukladnosti, metodama analize, monitoringu i planovima sigurnosti vode za ljudsku potrošnju te načinu vođenja registra pravnih osoba koje obavljaju djelatnost javne vodoopskrbe (NN 125/2017). [pristup: 21. travnja. 2021.] Dostupno na: https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2017_12_125_2848.html
17. Pravilnik o parametrima sukladnosti, metodama analize, monitoringu i planovima sigurnosti vode za ljudsku potrošnju te načinu vođenja registra pravnih osoba koje obavljaju djelatnost javne vodoopskrbe. [pristup: 22. travnja. 2021.] Dostupno na: https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2020_04_39_832.html
18. Pravilnik o bližim zahtjevima koje u pogledu bezbjednosti treba da ispunjava prirodna mineralna, stona i izvorska voda za piće (32/15). 2015. [pristup: 25. travnja. 2021.] Dostupno na: <https://wapi.gov.me/download-preview/dfd9398c-eb75-49e5-8d03-0b06570000ec?version=1.0>
19. Pravilnik o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće ("*Službeni glasnik BiH*", broj: 40/10, 43/10, 30/12). [pristup: 25. travnja. 2021.] Dostupno na: <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/bih148927.pdf>

20. Pravilnik o pitkoj vodi (Narodne novine Republike Slovenije, br. 19/04 , 35/04 , 26/06 , 92/06 , 25/09 , 74/15 i 51/17). *Propisi o pitkoj vodi*. 2004. [pristup: 25. travnja. 2021.]. Dostupno na: <https://www.uradni-list.si/glasilo-uradni-list-rs/vsebina/2004-01-0865?sop=2004-01-0865>
21. US EPA, U.S. Environmental Protection Agency. National Primary Drinking Water Regulations. Microorganisms. 2017. [pristup: 26. travnja. 2021.] Dostupno na: <https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/national-primary-drinking-water-regulations#Microorganisms>
22. Pravilnik o sanitarno-tehničkim i higijenskim uvjetima bazenskih kupališta te o zdravstvenoj ispravnosti bazenskih voda (NN 59/2020). [pristup: 26. travnja. 2021.] Dostupno na: https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2020_05_59_1186.html
23. Pravilnik o higijenskoj ispravnosti vode za piće. "*Sl. list SRJ*", br. 42/98 i 44/99 i "*Sl. glasnik RS*", br. 28/2019. [pristup: 26. travnja. 2021.] Dostupno na: <https://www.paragraf.rs/propisi/pravilnik-higijenskoj-ispravnosti-vode-pice.html>
24. Pravilnik o sanitarno-tehničkim i higijenskim uslovima, kao i uslovima za zdravstvenu ispravnost vode za rekreativne potrebe i druge vode od javnozdravstvenog interesa. [pristup: 26. travnja. 2021.] Dostupno na: <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/mne200244.pdf>
25. "Pravilnik o sanitarno-tehničkim i higijenskim uslovima bazenskih kupališta i zdravstvenoj ispravnosti bazenskih voda". [pristup: 27. travnja. 2021.] Dostupno na: <https://sanitarac.pro/wp-content/uploads/2019/02/Pravilnik-MZKS-uvjeti-bazenskih-kupali%C5%A1ta-S-N-KS-50-18.pdf>
26. Pravilnik o minimalnih higijenskih zahtevah, ki jih morajo izpolnjevati kopališča in kopalna voda v bazenih. [pristup: 27. travnja 2021.] Dostupno na: <http://www.pisrs.si/Pis.web/pregledPredpisa?id=PRAV12491>
27. Institute, American National Standards. ?
28. Bošnir J., Krulec A., Lasić D., Nikić J., Vukić- Lušić D. U: Frece, J., i Markov, K. (ur.), *Uvod u mikrobiologiju i fizikalno-kemijsku analizu voda*. Ljubljana: 2015; Intitut za sanitarno inženirstvo = Institut for Food Safety and Environmental Health; 65-66. [pristup: 29. travnja. 2021.] Dostupno na: <file:///C:/Users/KATARINA%20SMOLCIC/Desktop/RIJEKA%20FAKS%204.godina/Downloads/Jadranka%20FRECE%20i%20Ksenija%20MARKOV%20UVOD%20U%20MIKROBI>

OLOGIJU%20I%20FIZIKALNO-

KEMIJSKU%20ANALIZU%20VODA.%20Voda%20je%20sve%20i%20u%20vodu%20se%20sve%20vra%C4%87a..pdf

29. Briški F., i Gračan, S. *Zaštita okoliša*. Zagreb : ELEMENT i Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije; 2016.
30. HRN EN ISO 16266:2008. Kakvoća vode - Detekcija i brojenje *Pseudomonas aeruginosa* - Metoda membranske filtracije.
31. Duraković, S. *Primjenjena mikrobiologija*. Zagreb, Durieux.;1996.
32. HAA. Prilog potvrdi o akreditaciji, br: 1127. [pristup: 02. svibnja 2021.] Dostupno na: <https://www.zzjzpgz.hr/certifikati/PRILOG%20POTVRDE%20O%20AKREDITACIJI.pdf>
33. Udovičić, M., Baždarić, K., Bilić-Zullel, L., Petrovečki, M. Što treba znati kada izračunavamo koeficijent korelacije? Odabrane teme iz biostatistike. [pristup: 04. svibnja 2021.] Dostupno na: [file:///C:/Users/KATARINA%20SMOLCIC/Desktop/RIJEKA%20FAKS%204.godina/Downloads/02_Udovicic_Vol17_1_2007%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/KATARINA%20SMOLCIC/Desktop/RIJEKA%20FAKS%204.godina/Downloads/02_Udovicic_Vol17_1_2007%20(2).pdf)
34. Pravilnik o parametrima sukladnosti, metodama analize, monitoringu i planovima sigurnosti vode za ljudsku potrošnju te načinu vođenja registra pravnih osoba koje obavljaju djelatnost javne vodoopskrbe (NN 125/2017). [pristup: 04. svibnja 2021.] Dostupno na: https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2017_12_125_2848.html
35. HZJZ. PROCJENA RIZIKA ZA PSEUDOMONAS AERUGINOSA U VODI ZA LJUDSKU POTROŠNJU. 2020.
36. Diković, S., Valić, J., i Skopljak, V. *Pseudomonas aeruginosa* na mjestima potrošnje vode U: Ujević-Bošnjak, M., *ur. XXI. ZNANSTVENO - STRUČNI SKUP VODA I JAVNA VODOOPSKRBA*. 3.-6. listopada 2017. Otok Korčula Hotel „Port 9” Resort, Hrvatska. Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo; 2017. str. 78-81.
37. Flemming, H., Percival, S., i Walker, J. “Contamination potential of biofilms in water distribution systems.” *Water supply* 2 (2002): 271-280.
38. LeChevallier, M W., Evans, T M., i Seidler, R J. Effect of Turbidity on Chlorination Efficiency and Bacterial Persistence in Drinking Water). *Appl Environ Microbiol.* 1981 Jul;

42(1): 159–167. [pristup: 16. svibnja 2021.] Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25861554/>

39. Vukić-Lušić, D., Turkovic, B., Piškur, V., Cenov, A., Glad, M. Prisutnost *Pseudomonas aeruginosa* u bazenskoj vodi Primorsko-goranske županije. XIX. ZNANSTVENO - STRUČNI SKUP VODA I JAVNA VODOOPSKRBA. 29. rujna - 2. listopada 2015. Hotel Trakošćan, Trakošćan, Hrvatska. Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo:2015. str. 133-144.

40. Gensberger Theres, E., Göss, E. M., Antonielli, L., Sessitsch, A., Kostić, T. Effect of different heterotrophic plate count methods on the estimation of the composition of the culturable microbial community. *Peer J.* 2015 Mar 31;3:e862. doi: 10.7717/peerj.862. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25861554/>

41. Erceg, Z. PRISUSTVO *Pseudomonas aeruginosa* U DISTRIBUCIJSKOM SUSTAVU VODE ZA PIĆE U PRIMORSKO-GORANSKOJ ŽUPANIJI. Diplomski rad. Rijeka: 2017; Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

42. Berks, B.C., Ferguson, S.J., Moir, J.W., Richardson, D.J. Enzymes and associated electron transport systems that catalyse the respiratory reduction of nitrogen oxides and oxyanions. *Biochim Biophys Acta.* 1995; 1232:97–173.

43. Hardalo C., Edberg S.C., *Pseudomonas aeruginosa*: assessment of risk from drinking water, *Critical Review Microbiology* 1997;23(1):47-75.

44. Državni zavod za statistiku. [pristup: 16. svibnja 2021.] Dostupno na: <https://www.dzs.hr>

45. Ujević Bošnjak, M. , Gajšak, F., Antičević, M., Štiglić, J. Zdravstvena ispravnost bazenskih voda u Republici Hrvatskoj u 2017. godini. U: Ujević-Bošnjak, M. (ur). XXII. ZNANSTVENO-STRUČNI SKUP VODA I JAVNA VODOOPSKRBA. 2.-5. listopada 2018; Hotel Panonija, Sisak, Hrvatska. Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo: 2018.Zagreb: 2018. str. 24-32.

46. Kouchesfahani, M., Alimohammadi, M., Nodehi R. N., Aslani, H., Rezaie, H., Asadian, S. Bactericidal Efficacy of Hydrogen Peroxide-Based Disinfectans Against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria on Stanless Steel Surfaces. *J Food Sci.* 2017 Oct; 44(11):1514-9. doi: 10.1111/1750-3841.13790. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28833105/>

47. Borgmann-Strahsen, R. Comparative assessment of different biocides in swimming pool water. *International Biodeterioration & Biodegradation* 2003, 51, 291-297, doi: [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(03\)00040-4](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(03)00040-4)

48. World Health Organisation. *World report on disability*. Geneva: 2001. str.
49. Dallolio, L., Belletti, M., Agostini, A, Teggi, M., Bertelli, M., Bergamini, C., Chetti, ,Leoni, E. Hygienic surveillance in swimming pools: Assessment of the water quality in Bologna facilities in the period 2010–2012. *Microchem. Jour.* 110 (2013). str. 624–628.

TABLICA 1. MIKROBIOLOŠKI INDIKATORSKI PARAMETRI	10
TABLICA 2. MIKROBIOLOŠKI PARAMETRI ZDRAVSTVENE ISPRAVNOSTI VODE ZA LJUDSKU POTROŠNJU U TRENUTKU PUNJENJA U BOCE ILI DRUGU AMBALAŽU KOJA SE STAVLJA NA TRŽIŠTE U BOCAMA ILI DRUGOJ AMBALAŽI.....	10
TABLICA 3. MIKROBIOLOŠKI KRITERIJI ZA VODU ZA PIĆE.....	11
TABLICA 4. MIKROBIOLOŠKI KRITERIJI ZA VODU KOJA SE PRODAJU U BOCAMA ILI SPREMNICIMA.....	12
TABLICA 5. MIKROBIOLOŠKI KRITERIJI ZA AMBALAŽIRANU VODU	12
TABLICA 6. MIKROBIOLOŠKI KRITERIJI ZA VODU ZA PIĆE.....	14
TABLICA 7. KRITERIJI ZA MIKROBIOLOŠKE POKAZATELJE ZA BAZENSKU VODU U KONVENCIONALNIM I BIOLOŠKIM BAZENIMA.....	15
TABLICA 8. MIKROBIOLOŠKI KRITERIJI ZDRAVSTVENE ISPRAVNOSTI BAZENSKE VODE	16
TABLICA 9. MIKROBIOLOŠKI KRITERIJI ZDRAVSTVENE ISPRAVNOSTI BAZENSKE VODE	16
TABLICA 10. MIKROBIOLOŠKI KRITERIJI ZDRAVSTVENE ISPRAVNOSTI BAZENSKE VODE	17
TABLICA 11. KRITERIJI ZA MIKROBIOLOŠKE POKAZATELJE ZA BAZENSKU VODU U KONVENCIONALNIM I BIOLOŠKIM BAZENIMA	18
TABLICA 12. PREPORUČENA RUTINSKA FREKVENCIJA UZORKOVANJA I PREPORUKE ZA RUTINSKO UZORKOVANJE TIJEKOM UOBIČAJENOG RADA	19
TABLICA 13. SPEARMANOV KORELACIJSKI KOEFICIJENT IZMEĐU ISPITANIH POKAZATELJA.....	35
TABLICA 14. SPEARMANOV KORELACIJSKI KOEFICIJENT IZMEĐU ISPITANIH POKAZATELJA.....	43

SLIKA 1. POSTUPAK PROVOĐENJA STERILIZACIJE APARATURE POMOĆU PLAMENA	24
SLIKA 2. PRIKAZ STERILNOG FILTERA.....	24
SLIKA 3. POSTAVLJANJE STERILNOG FILTRA NA APARATURU	25
SLIKA 4. FILTRIRANJE 100 mL UZORKA PREKO STERILNOG FILTERA	25
SLIKA 5. KULTIVACIJA NA CN AGARU.....	26
SLIKA 6. ACETAMIDE BROTH U EPRUVETI	27
SLIKA 7. PRODUKCIJA AMONIJAKA UPOTREBOM ACETAMIDE BROTHA	27
SLIKA 8. KING'S B MEDIJ (GORE) I OKSIDAZA POZITIVNE CRVENKASTO-SMEĐE KOLONIJE S NUTRIENT AGARA (DOLJE)	28
SLIKA 9. POJAVA FLUORESCENCIJE NA KING'S B MEDIJU POD UV SVIJETLOM	28
SLIKA 10. UDIO <i>P. AERUGINOSA</i> -POZITIVNIH UZORAKA U UKUPNOM BROJU ISPITANIH UZORAKA VODE ZA LJUDSKU POTROŠNJU IZ SUSTAVE JAVNE VODOOPSKRBE TE RAZDIOBA BROJA POZITIVNIH UZORAKA PREMA VRSTI MJESTA UZORKOVANJA	31
SLIKA 11. UKUPNI BROJ ISPITANIH UZORAKA VODE ZA LJUDSKU POTROŠNJU IZSUSTAVE JAVNE VODOOPSKRBE PO GODINI S CRVENO OZNAČENIM UDJELOM <i>P. AERUGINOSA</i> -POZITIVNIH UZORAKA	32
SLIKA 12. UKUPNI BROJ ISPITANIH UZORAKA VODE ZA LJUDSKU POTROŠNJU IZSUSTAVE JAVNE VODOOPSKRBE PO MJESECIMA S CRVENO OZNAČENIM UDJELOM <i>P. AERUGINOSA</i> -POZITIVNIH UZORAKA	32
SLIKA 13. UDIO <i>P. AERUGINOSA</i> -POZITIVNIH UZORAKA U ODREĐENOJ KATEGORIJI OPTEREĆENJA U UZORCIMA VODE ZA LJUDSKU POTROŠNJU.....	33
SLIKA 14. MEDIJAN KONCENTRACIJE <i>P. AERUGINOSA</i> PREMA VRSTI MJESTA ZA UZORKOVANJE	33
SLIKA 15. UDIO <i>P. AERUGINOSA</i> -POZITIVNIH UZORAKA U UKUPNOM BROJU ISPITANIH UZORAKA BAZENSKE VODE TE RAZDIOBA BROJA POZITIVNIH UZORAKA PREMA ODREĐENOJ NAMJENI BAZENA	36
SLIKA 16. UDIO <i>P. AERUGINOSA</i> -POZITIVNIH UZORAKA PREMA ODREĐENOJ NAMJENI BAZENA	36
SLIKA 17. UDIO <i>P. AERUGINOSA</i> -POZITIVNIH UZORAKA PREMA VRSTI VODE ZA PUNJENJE	37
SLIKA 18. UDIO <i>P. AERUGINOSA</i> -POZITIVNIH UZORAKA PREMA TIPU BAZENA	38
SLIKA 19. UDIO <i>P. AERUGINOSA</i> -POZITIVNIH UZORAKA PREMA VRSTI DEZINFEKCIJSKOG SREDSTVA	38
SLIKA 20. UDIO <i>P. AERUGINOSA</i> -POZITIVNIH UZORAKA U ODREĐENOJ KATEGORIJI OPTEREĆENJA U UZORCIMA BAZENSKE VODE	39
SLIKA 21. UKUPNI BROJ ISPITANIH UZORAKA BAZENSKE VODE PO GODINI (2016.-2020.) S CRVENO OZNAČENIM UDJELIMA <i>P.</i> <i>AERUGINOSA</i> -POZITIVNIH UZORAKA	39
SLIKA 22. UKUPNI BROJ ISPITANIH UZORAKA BAZENSKE VODE PO MJESECIMA S CRVENO OZNAČENIM UDJELIMA <i>P. AERUGINOSA</i> - POZITIVNIH UZORAKA	40

Slika 23. Medijan koncentracije P. aeruginosa prema određenoj namjeni bazena.....	40
Slika 24. Medijan koncentracije P. aeruginosa prema pojedinom tipu bazena.....	41
Slika 25. Medijan koncentracije P. aeruginosa prema vrsti vode za punjenje.....	41
Slika 26. Medijan koncentracije P. aeruginosa prema vrsti dezinfekcijskog sredstva.....	42

ŽIVOTOPIS

OSOBNJE INFORMACIJE

- Ime i prezime: Katarina Smolčić
- Spol : Ž
- Datum rođenja: 14.05.1996. (Zagreb)
- Adresa prebivališta: A. Mihanovića 1, Gospić
- Državljanstvo: Hrvatica

OBRAZOVANJE

- 2011. – 2015. – Srednja škola - Opća gimnazija Gospić
- 2015. - 2016. – Sveučilište u Zadru - Učiteljski fakultet u Gospiću
- 2016. - 2019. – Zdravstveno Veleučilište u Zagrebu – Preddiplomski stručni studij Sanitarno inženjerstvo
- 2019. – 2021. – Medicinski fakultet sveučilišta u Rijeci – Diplomski sveučilišni studij Sanitarno inženjerstvo

STUDENTSKE AKTIVNOSTI

- sudjelovanje na 2. međunarodnom kongresu o sigurnosti i kvaliteti hrane "*Životni ciklus hrane*" u Opatiji (13. - 16. studenoga 2018.)
- sudjelovanje na studentskom kongresu zaštite zdravlja "*Sanitas*" (aktivni član) u Rijeci (19. – 21.06. 2020.)
- volonterski rad u karanteni u Kostreni, za vrijeme Covid – 19 pandemije 2020. godine
- rad na epidemiološkom anketiranju na Zavodu za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije za vrijeme Covid – 19 pandemije (08.03.- 27.04.2021.)