

Kakvoća vode na brodovima

Javornik, Ema

Master's thesis / Diplomski rad

2017

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:194452>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-19**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ SANITARNOG INŽENJERSTVA

Ema Javornik

KAKVOĆA VODE NA BRODOVIMA

Diplomski rad

Rijeka, 2017.

SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ SANITARNOG INŽENJERSTVA

Ema Javornik

KAKVOĆA VODE NA BRODOVIMA

Diplomski rad

Rijeka, 2017.

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

Diplomski rad obranjen je dana _____ u/na _____

_____, pred povjerenstvom u sastavu:

1. _____

2. _____

3. _____

Rad ima _____ stranica, _____ slika, _____ tablica, _____ literaturnih navoda.

SAŽETAK

Zbog sve većeg razvoja nautičkog turizma, kakvoća voda za piće na brodovima ima sve veću ulogu. Cilj ovog rada bio je analizirati rezultate kakvoće vode na različitim vrstama brodova u Primorsko-goranskoj županiji, u petnaestogodišnjem razdoblju od 2002. do 2016. godine. Kakvoća vode ispitana je u laboratorijima Zdravstveno-ekološkog odjela, Nastavnog zavoda za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije. Ukupno je analizirano 478 uzoraka, na osnovne mikrobiološke i fizikalno-kemijske pokazatelje, pri čemu su korištene standardne ISO metode. Rezultati ispitivanja kakvoće vode pokazali su da postoji statistički značajna razlika po godinama, mjesecima, sezonama kao vrsti subjekta koji dostavlja vodu na analizu. Svi mikrobiološki pokazatelji, izuzev ukupnih koliformnih bakterija, imaju silazan trend. Broj izraslih kolonija (UBB) i *P. aeruginosa* imaju najveći porast u listopadu, kao i indikatori fekalnog onečišćenja, koji se u povišenim koncentracijama pojavljuju i tijekom ljeta. Uzorci dostavljeni od strane brodogradilišta bolje su kakvoće od onih dostavljenih od strane brodarskih agencija. Mjerenje koncentracije rezidualnog klora, te ispitivanje pokazatelja *Legionella* potrebno je rutinski ispitivati.

Ključne riječi: kakvoća vode, brodovi, mikrobiološko onečišćenje, plan sigurnosti vode, dezinfekcija

SUMMARY

Due to the increasing development of nautical tourism, the quality of drinking water on boats has an increasing role. The aim of this paper was to analyze the water quality results on different types of vessels in the Primorje-Gorski Kotar County, in the fifteen-year period from 2002. to 2016. The quality of water was tested in the laboratories of the Health-Ecological Department of the Primary-Gorski Kotar County Public Health Institute. A total of 478 samples were analyzed on basic microbiological and physico-chemical indicators, using standard ISO methods. The results of water quality testing showed that there was a statistically significant difference between years, months, seasons as the type of subject that supplies the water to the analysis. All microbiological indicators, with the exception of total coliform bacteria, have a downward trend. The number of colonies (UBB) and *P. aeruginosa* has the highest increase in October, as well as indicators of fecal contamination, which appear in elevated concentrations during the summer. Samples delivered by shipyards are better quality than those delivered by shipping agencies. Measurement of the residual chlorine concentration and *Legionella* test should be routinely investigated.

Key words: water quality, ships, microbiological contamination, water safety plan, disinfection

SADRŽAJ

1.	UVOD.....	1
1.1	Sigurnost vode na brodovima	1
1.1.1	Plan sigurnosti vode (Water Safety Plan)	1
1.1.2	Oprema za utovar vode	3
1.1.3	Operativni monitoring	4
1.2	Načini onečišćenja vode na brodovima	5
1.2.1	Koliformne bakterije & <i>E. coli</i>	7
1.2.2	<i>Legionella</i>	8
1.2.2.1	Legionarska bolest.....	9
1.2.2.2	Pontiacova groznica.....	9
1.2.3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9
1.3	Kontrola i prevencija nastanka bolesti na putničkim brodovima	10
2.	CILJ ISTRAŽIVANJA.....	12
3.	MATERIJALI I METODE.....	13
3.1	Uzorkovanje vode.....	13
3.2	Mikrobiološki pokazatelji.....	13
3.2.1	Ukupni broj bakterija (UBB)	14
3.2.2	Koliformne bakterije i <i>E. coli</i>	17
3.2.3	Enterokoki	22
3.2.4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	24
3.3	Fizikalno kemijski parametri	27
3.3.1	Boja	27
3.3.2	Mutnoća.....	27
3.3.3	pH vrijednost	27
3.3.4	Elektrovodljivost	28
3.3.5	Permanganatni indeks (KMnO_4).....	28
3.4	Statistička obrada	29
3.4.1	Korelacijska analiza.....	29
3.4.2	T-test.....	29
3.4.3	Analiza varijance (ANOVA)	29
3.4.4	<i>Post hoc</i> testovi.....	30
4.	REZULTATI.....	31
4.1	Kakvoća vode – po godinama.....	31
4.1.1	Mikrobiološki pokazatelji.....	31

4.1.2	Fizikalni-kemijski pokazatelji.....	35
4.2	Kakvoća vode – po mjesecima	36
4.2.1	Mikrobiološki pokazatelji.....	36
4.2.2	Fizikalno-kemijski pokazatelji.....	39
4.3	Kakvoća vode – po sezonama.....	42
4.3.1	Mikrobiološki pokazatelji.....	42
4.3.2	Fizikalni-kemijski pokazatelji.....	47
4.4	Udio zdravstveno neispravnih uzoraka	47
4.5	Kakvoća vode– agencije vs brodogradilišta.....	47
4.6	Korelacijska analiza.....	52
5.	RASPRAVA	53
6.	ZAKLJUČCI.....	58
7.	LITERATURA.....	59
	ŽIVOTOPIS	

1. UVOD

1.1 Sigurnost vode na brodovima

Nacionalne zdravstvene organizacije putem zakona, pravilnika, preporuka i smjernica reguliraju kakvoću vode koja se koristi za vodoopskrbu. Kakvoća vode za piće u Hrvatskoj definirana je Zakonom o vodi za ljudsku potrošnju (NN 56/2013 i 64/2015) (1) i Pravilnikom o parametrima sukladnosti i metodama analize vode za ljudsku potrošnju (NN 125/2013, 141/2013 i 128/2015) (2).

Pravilnik o parametrima sukladnosti i metodama analize vode za ljudsku potrošnju donesen je od strane Ministarstva zdravlja. Njime se propisuje učestalost uzimanja uzoraka vode kod subjekta u poslovanju s hranom, učestalost uzimanja uzoraka kod subjekta u poslovanju s hranom koji vodu puni u boce ili drugu ambalažu te ju plasira na tržište, učestalost uzimanja uzoraka vode za revizijsko i redovito praćenje, parametri zdravstvene ispravnosti i indikatorski parametri vode namijenjene za ljudsku potrošnju, opseg i vrste analize uzoraka, opseg, vrste analiza i broj potrebnih uzoraka vode u svrhu ispitivanja zdravstvene ispravnosti vode za ljudsku potrošnju te metode laboratorijskog ispitivanja.

Pokazatelji kojima se ispituje zdravstvena ispravnost vode za ljudsku potrošnju mogu biti: mikrobiološki, kemijski i radioaktivni(2).

1.1.1 Plan sigurnosti vode (Water Safety Plan)

Svaki brod mora osiguravati odgovarajuću opskrbu sigurne vode za ljudsku potrošnju, što uključuje vodu za piće, pranje, pripremu hrane, opskrbu vodenih rekreativnih sadržaja, kontrolu vatre, proizvodnju pare, perilice posuđa, praonicu rublja, klimatizaciju, kotlove, WC, hlađenje. Voda za ljudsku potrošnju mora biti dostupna u dovoljnoj količini i odgovarajuće kvalitete kako ne bi izazvala štetne posljedice za ljudsko zdravlje. Voda mora biti slobodna od svih parazita, mikroorganizama, kemikalija ili drugih tvari koje, prisutne u vodi u određenim koncentracijama predstavljaju rizik za zdravlje ljudi. Važno je osiguranje sigurnog utovara vode kako bi se

smanjio potencijalan rizik za ljudsko zdravlje. Za mikrobiološku i kemijsku kvalitetu vode koja je isporučena iz pouzdanog vodoopskrbnog sustava odgovorno je komunalno društvo. Brodovi moraju osigurati da je dopremljena voda potrebne kvalitete te da je proces dopremanja, distribucije i skladištenja vode siguran te sprječava mikrobiološku i kemijsku kontaminaciju.

U skladu sa smjernicama Svjetske zdravstvene organizacije (SZO, eng. World Health Organisation, WHO) i Internacionalne udruge voda (eng. International Water Association, IWA), sustavi kontrole vode na brodovima trebaju biti uključeni u Plan sigurnosti voda. U uvodu u Planu sigurnosti voda jasno je definirano upravljanje pitkom vodom od samog projektiranja, izgradnje, puštanja u pogon te nadgledanja i održavanja, kako bi se osigurale higijenske mjere za cijeli proces vodoopskrbe broda. Stoga je Svjetska zdravstvena organizacija (WHO) razvila HACCP sustav za pitku vodu pod imenom Plan sigurnosti vode (eng. Water Safety Plan, WSP) i SHIPSAN čime je usvojen pristup za upravljanje kvalitetom pitke vode na brodovima.

Plan sigurnosti vode (WSP) trebaju primjenjivati svi operatori putničkih brodova. Operatori trebaju primijeniti načela analize opasnosti te implementirati WSP kako bi osigurali sigurnost i kvalitetu pitke vode svojim potrošačima. WSP koraci uključuju procjenu sustava, operativno praćenje i plan upravljanja. Prilikom osnivanja WSP tima treba odrediti voditelja tima i posade ili drugog obučenog osoblja odgovornog za provedbu WSP-a, kao što su menadžeri, inženjeri, kontrolori kvalitete vode, medicinsko osoblje, voditelji objekata i tehnička posada.

Posadu ili ostalo osoblje odgovorno za primjenu WSP-a potrebno je obučiti da posjeduje odgovarajuće znanje o upravljanju sustavima pitke vode, postupcima nadzora, kontrolnim mjerama i korektivnim radnjama.

Potrebno je redovito procjenjivanje sustava vodoopskrbe, od zahvata vode do potrošača, uključujući izvor vode, utovar, obradu, skladištenje i distribuciju vode. Tijekom postupka procjene sustava utvrđuju se i moguće opasnosti.

Moguće opasnosti uključuju mikrobiološko onečišćenje kao što su fekalni mikroorganizmi (*E. coli*, enterokoki, *Cryptosporidium spp.*), *Mycobacterium spp.* te *Legionella spp.* Može biti prisutna kontaminacija kemijskim spojevima kao posljedica izlaganja teškim metalima, ostacima dezinfekcijskog sredstva, nusproduktima dezinfekcije, pesticidima, hlapivim organskim spojevima (eng. Volatile Organic Compound's, VOC). Također, uzroci onečišćenja vode mogu biti i fizikalna sredstva, primjerice sedimenti i čestice, spojevi otpušteni iz materijala cijevi i spremnika, željezni i manganski filmovi ili biofilmovi (3).

Odgovornost za upravljanje rizicima snosi menadžer koji je odgovoran za izgradnju sustava distribucije i dopremanje pitke vode. Da bi se osigurala uspješna implementacija WSP-a potrebno je da vlasnik ili upravitelj definira odgovornost članova posade. Dokumentacija WSP-a treba biti potpuna i aktualna (4).

1.1.2 Oprema za utovar vode

Brodovi su opremljeni cijevima koje se koriste isključivo za utovar pitke vode. Prije upotrebe crijeva je potrebno ispirati mlazom pitke vode minimalno tri minute. Nakon korištenja, crijeva za utovar vode treba isprati te poklopiti kapicama na oba kraja crijeva, zbog sprječavanja daljnjeg zagađenja. Prilikom rukovanja crijevima potreban je oprez kako bi se izbjegla kontaminacija iz zemlje, luke, mola ili palube. Evidencija o redovitom provođenju higijenskih postupaka održavanja mora biti dostupna na uvid prilikom inspekcije.

Spremnici pitke vode moraju biti označeni riječima „pitka voda“, slovima visine najmanje 1,3 cm. Između spremnika pitke vode i vode koja ne služi za piće ne smije postojati križna veza. Cijevi moraju biti prugaste sa svijetlo plavim trakama u intervalima od 5 mm ili obojene u plavo

u skladu sa ISO 14726 standardom. Smjer toka vode potrebno je prikazati strelicom, a unutar sustava treba prevenirati pojavu povratnog toka vode. Nakon instalacije preventivnih sklopova koji služe za nepovratno strujanje vode potrebno je izvršiti testiranje istih. Testiranje se provodi prema uputama proizvođača svakih 12 mjeseci. Sredstva koja se koriste za premazivanje cijevi ne smiju biti izvor toksičnih tvari koje migriraju u pitku vodu.

U cilju kontrole *Legionella* prilikom distribucije hladne vode temperatura ne smije prelaziti 25°C, međutim to je teško ostvarivo u vrućim klimatskim uvjetima. Također, iz istog razloga, pri distribuciji tople vode temperatura ne smije biti ispod 49°C. Sve cijevi i spremnici moraju biti izolirani kako bi se izbjegao raspon temperature od 25 do 50°C, koji je posebno pogodan za razvoj *Legionella*(3).

1.1.3 Operativni monitoring

Kontrolne mjere provode se s ciljem uočavanja odstupanja od operativnih mjera. Kontrolne mjere uključuju mjerenja pojedinih pokazatelja vode. One također uključuju postupke, građevinsku inspekciju te inspekciju opreme. Kontrolne mjere obuhvaćaju ispitivanje osnovnih pokazatelja kakvoće vode, kao što su pH i rezidualni klor. Osnovni elementi praćenja operativnog plana su definiranje točaka i učestalosti uzorkovanja, postavljanje standarda praćenja ispravnosti opreme (kalibriranje, certificiranje), revidiranje popisa opreme za praćenje, definiranje kritičnih lokacija koje treba pratiti, učestalost inspekcijskih nadzora, definiranje potrebne kvalifikacije posade koja obavlja nadzor, osiguranje usklađenosti primjene tih metoda sa standardnim metodama ispitivanja vode.

Mjerenje rezidualnog klora provodi se kontinuirano upotrebom analizatora ili elektronskog zapisivača podataka. Raspon kretanja koncentracije rezidualnog klora u vodi kreće se od 0,2 do 5,0 mg/L.

Praćenje koncentracije rezidualnog klora tijekom skladištenja provodi se bilježenjem podataka svakih sat vremena pomoću kit testova, ručnim spektrofotometrom ili pomoću automatskih sondi.

Zamućenost vode i pH vrijednost mjere se prije skladištenja vode. Zamućenje se mjeri turbidimetrom te mora iznositi manje od 1 NTU, dok se pH vrijednost treba kretati u rasponu od 7,0 do 7,8. Vrijednosti pH u distribucijskoj mreži prate se kako bi se procijenila učinkovitost postupka kloriranja.

Uzorak vode za ispitivanje prisutnosti i brojnosti *E. coli* uzima se s mjesta utovara vode na brod. Analitičko izvješće o mikrobiološkoj kakvoći vode potrebno je sačuvati na brodu narednih 12 mjeseci. Prije početka upotrebe vode za piće, rezultat analitičkog izvješća treba biti negativan na *E. coli*.

Mjerenje temperature vode može se provoditi u bilo kojem trenutku, a temperatura vode treba biti manja od 25°C ili veća od 49°C (3).

1.2 Načini onečišćenja vode na brodovima

Voda se na brodovima može onečistiti na više načina. Potencijalno opasni događaji ili situacije trebaju biti prepoznate, a za svaki takav događaj izrađuje se dijagram toka. Voda može biti onečišćena zbog kontaminiranog izvora vode za ljudsku potrošnju, tijekom utovara, tijekom skladištenja ili unutar distribucijskog sustava.

Kontaminiran izvor vode može biti morska voda koja se na brodu koristi za proizvodnju pitke vode ili voda može potjecati iz luke u kojoj se brod opskrbljuje pitkom vodom.

Kontaminacija tijekom utovara nastaje kada se voda zagadi tijekom punjenja pomoću crijeva za punjenje, linije za punjenje ili sporednih bočnih priključaka.

Kontaminacija pitke vode tijekom skladištenja može biti uzrokovana ulaskom stranih materijala ili drugih tvari uzrokovanih nepravilnim projektiranjem i konstruiranjem spremnika vode, neadekvatnim čišćenjem spremnika, prisutnosti sedimenta u spremnicima, formiranjem biofilma (doprinosu razmnožavanju posebice *Legionella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium*spp., ameba) oštećenim i neispravnim spremnicima, ulaskom stranih materijala ili drugih tvari tijekom održavanja ili popravka spremnika, pojavom povratnog toka, neadekvatnim praćenjem temperature čije povišenje za posljedicu ima rast bakterija, neadekvatnom dezinfekcijom ili križnom vezom s tehničkim, crnim ili sivim sustavima vode (5).

Crna voda je voda kontaminirana fecesom i urinom. Takva voda sadrži bakterije koje mogu biti štetne za ljudsko zdravlje, stoga se čuva u posebnim odvojenim spremnicima. Siva voda nastaje kao produkt kupanja, pranja rublja, pranja posuđa i sl. Smatra se da ne sadrži bakterije koje su štetne za ljudsko zdravlje (6).

Do kontaminacije distribucijskog sustava pitke vode onečišćenom vodom ili naknadnog porasta mikroorganizama u distribucijskom sustavu dolazi u slučajevima pojave povratnog toka, loše konstrukcije cjevovoda i njegovih sastavnih dijelova, kod kvarova unutar distribucijskog sustava, onečišćenja cijevi, kemijskih oštećenja koja mogu nastati uporabom pogrešnih građevinskih materijala, rasta biofilma u cijevima i priboru koji doprinose kontaminiranju vrstama *Legionella*, *P. aeruginosa*, *Mycobacterium*spp. ili amebama, kontaminacije sustava zbog prisutnosti ustajale vode na rijetko korištenim izlazima ili drugim dijelovima vodoopskrbnog sustava gdje voda stagnira više od 7 dana.

Voda u brodskim spremnicima treba potjecati iz sigurnog izvora vode koji zadovoljava standarde za pitku vodu definirane od strane Svjetske zdravstvene organizacije. Brod mora posjedovati analitičko izvješće o zdravstvenoj ispravnosti vode za ljudsku potrošnju iz luke u

kojoj se izvršilo uzorkovanje. Analitičko izvješće mora biti u skladu sa standardima Svjetske zdravstvene organizacije. Analitičko izvješće mora uključivati rezultate mikrobiološke analize pokazatelja *E. coli*. Potrebno je da su metode korištene za ispitivanje pitke i otpadne vode prihvaćene kao standardne metode. Kitove za analize, inkubatore i ostalu opremu potrebno je koristiti u skladu sa specifikacijama proizvođača. Ako se pitka voda utovaruje iz iste luke više puta mjesečno dovoljno je samo jedno ispitivanje. Evidencija mora biti dostupna na uvid inspeksijskoj kontroli slijedećih 12 mjeseci (5).

1.2.1 Koliformne bakterije i *E. coli*

Koliformne bakterije su primarno nepatogene i normalno obitavaju u donjem intestinalnom traktu (debelom crijevu) čovjeka i toplokrvnih životinja, gdje su odgovorne za pravilnu probavu hrane. Koliformne bakterije se izlučuju fekalijama, te dospijevaju u otpadne vode, a preko njih u prirodne vode. Ukoliko su u fekalijama prisutne i patogene bakterije, one će također zajedno s koliformnim bakterijama dospjeti u okoliš. Dakle, ukoliko su prirodne vode (potoci, rijeke, jezera) opterećene fekalijama, u njima mogu biti prisutne i patogene bakterije, virusi i paraziti, predstavljajući opasnost za zdravlje ljudi koji dolaze u kontakt s vodom. Od patogenih bakterija mogu biti prisutni uzročnici kolere (*Vibrio cholerae*), tifusa (*Salmonella typhi*), salmoneloze (*Salmonella*), dizenterije (*Shigella*), gastroenteritisa (*Campylobacter jejuni*). Patogene bakterije su u okolišu prisutne u niskim koncentracijama, što otežava njihovu detekciju. Stoga se prilikom mikrobiološke analize vode koriste tzv. indikatorske bakterije za detekciju vjerojatne prisutnosti patogenih bakterija. Indikatorske bakterije su primarno nepatogene i prirodno se izlučuju u velikom broju iz ljudskog i životinjskog intestinalnog trakta, što olakšava njihovo određivanje. Koliformne bakterije i fekalni streptokoki ili enterokoki su najpodobnija grupa indikatorskih bakterija za vrednovanje higijenske kvalitete vode.

Koliformne bakterije su primarno nepatogene i uglavnom su uvjetni (oportunistički) patogeni, što znači da će se infekcija pojaviti u slučaju oslabljenog imuniteta zbog prisutnosti neke druge bolesti ili predispozicije za oboljenje (7).

Escherichia coli normalno se nalazi u probavnom traktu životinja i čovjeka. Većina vrsta *E. coli* ne uzrokuje bolest, no neke mogu izazvati proljev. Posebni sojevi bakterija mogu uzrokovati zatajenje bubrega ili anemiju koji u krajnjem slučaju dovode to smrti. Do izlaganja *E. coli* dolazi prilikom kontakta osobe sa stolicom životinja ili ljudi. Kontaminirana može biti voda ili hrana koja je prethodno onečišćena izmetom.

Izvor zaraze mogu biti jezera, bazeni i voda onečišćena ljudskim ili životinjskim fecesom. U vodoopskrbnoj mreži *E. coli* se javlja prilikom neadekvatne dezinfekcije. Također, *E. coli* se u organizam može unijeti i tijekom kupanja i plivanja u prirodnim vodama ili bazenima uslijed akcidentalnog gutanja vode, čemu su najviše izložena djeca. Bakterija se može prenositi s osobe na osobu, ukoliko se ne provodi pravilna higijena ruku. Simptomi infekcije *E. coli* najčešće su mučnina, povraćanje, želučani grčevi te krvavi proljevi. Najčešće obolijevaju djeca a simptomi se razvijaju 3-4 dana nakon kontakta s *E.coli*. Ponekad *E.coli* uzrokuje probleme s bubrezima ili promjenu krvne slike uz simptome koji uključuju opću slabost, blijedost kože i vrućicu (8).

1.2.2 *Legionella*

Legionarska bolest pojavila se u Philadelphiji 1976. godine te je nakon masovnog izbijanja upale pluća priznata kao bolest. Uzročnik je identificiran kao gram-negativan bacil i nazvan *Legionella pneumophila*. Nakon toga identificirano je još nekoliko vrsta *Legionella*, no najčešći uzročnik ljudske legioneloze je upravo *L.pneumophila*. Legioneloze su podijeljene na dva različita klinička sindroma a to su Legionarska bolest i Pontiacova groznica (9).

1.2.2.1 Legionarska bolest

Legionarska bolest slična je tipu upale pluća. Bolest započinje simptomima koji uključuju bolove u mišićima, groznicu, glavobolje, kašalj te pomanjkanje daha. Također se mogu pojaviti mučnina, zbunjenost i proljev. Nakon izloženosti bakterijama simptomi počinju nakon 2 do 10 dana. Simptomi mogu potrajati i duže pa je preporučljivo njihovo praćenje kroz 2 tjedna nakon izlaganja.

1.2.2.2 Pontiacova groznica

Simptomi Pontiacove groznice započinju bolovima u mišićima i groznicom. Pontiacova groznica uzrokuje blažu infekciju nego legionarska bolest. Nakon izloženosti bakteriji simptomi počinju u roku od nekoliko sati do tri dana, a traju manje od tjedan dana. Razlika između Pontiacove groznice i Legionarske bolesti je u tome što oboljeli od Pontiacove groznice nemaju upalu pluća (10).

Diljem svijeta legionarska bolest u 2-15% slučajeva zahtijeva hospitalizaciju. Stopa smrtnosti od ove bolesti iznosi 5-80%, a ovisna je o samim čimbenicima rizika. Na stopu smrtnosti utječu slijedeći čimbenici: dob osobe (naročito osobe mlađe od godine dana i starije osobe), spol (muškarci imaju dvostruko veću vjerojatnost razvitka legionarske bolesti), prisutnost nekih drugih bolesti (npr. kronična bolest pluća, endoskopska bolest bubrega, malignost, dijabetes melitus), odgođeno iniciranje specifične antimikrobne terapije te pneumonija (9).

1.2.3 **Pseudomonas aeruginosa**

Pseudomonas aeruginosa pripada skupini gram-negativnih štapića. Bakteriju karakterizira velika nutritivna svestranost. Štapić je veličine 1-5 μm i širine 0,5-1,0 μm . *P. aeruginosa* za razvoj koristi aerobno disanje ali može anaerobno disati uz pomoć nitrata i drugih alternativnih akceptora elektrona.

P. aeruginosa je široko rasprostranjen u okolišu, a najčešće ga nalazimo u sredinama kao što su voda, tlo, životinje, ljudi i biljke.

Smatra se oportunističkim patogenom zbog toga što rijetko zarazi pojedince koji su zdravi. Češće obolijevaju imunokompromitirane osobe poput pacijenata s cističnom fibrozom, AIDS-om ili rakom. Kod gotovo dvije trećine osoba s oslabljenim imunitetom izazvat će bolest (11).

Dijagnoza infekcije ovisi o laboratorijskoj identifikaciji i izolaciji bakterije. *P.aeruginosa* raste na većini hranjivih podloga osobito na eozin-metiltioninskom plavom agaru i krvnom agaru. Identificira se na temelju sposobnosti rasta na 42°C, morfologije po Gramu i voćnog mirisa, pozitivne oksidacijske reakcije te nemogućnosti fermentacije laktoze. Ranoj identifikaciji pomaže sposobnost fluorescencije pri ultraljubičastom svjetlu (12).

1.3 Kontrola i prevencija nastanka bolesti na putničkim brodovima

Kontrola i prevencija nastanka bolesti provodi se nizom kontrolnih postupka i preventivnih radnji kako bi se rizik od obolijevanja putnika i posade sveo na minimum. Kontroliraju se različiti procesi, kao što su postupci rukovanja opremom prilikom utovara vode te stanje spremnika koji služe za pohranu vode. Ukoliko se pokaže da postojeće mjere nadzora nisu učinkovite provode se korektivne mjere.

Kontrola postupaka i opreme koja služi za utovar vode provodi se jednom mjesečno kako bi se osiguralo zadovoljenje standarda. Prilikom postupka utovara vode moraju se poštovati ograničenja rada te provoditi odgovarajući postupci punjenja crijeva, prikladno skladištenje crijeva te nepostojanje križnih veza.

Kako bi uočili potencijalne nedostatke spremnika pitke vode odnosno njihovo neadekvatno funkcioniranje, postupak kontrole provodi se najmanje jednom u 24 mjeseca. Treba voditi računa da se u spremnike ne uvodi mutna voda te da se na stjenkama spremnika nema pukotina i drugih oštećenja. Spremnici se kontroliraju za vrijeme i nakon provođenja popravka te za

vrijeme održavanja. Ispitivanje uspora nakon ugradnje svake nove instalacije provodi se najmanje svakih 12 mjeseci ili u skladu s uputama proizvođača.

Mikrobiološku kakvoću vode potrebno je redovito provjeravati. Mjesečno se voda za ljudsku potrošnju ispituje na *E. coli* uzimanjem četiri slučajna uzorka vode. Provjera pokazatelja *Legionella* preporuča se svakih 6 mjeseci.

Inspekcija cjevovoda provodi se rutinskim vizualnim pregledima svakih 12 mjeseci, a kontrola tankova najmanje jednom u dvije godine nakon ugradnje.

Korektivne mjere poduzimaju se ako se ukaže da postojeće mjere ne djeluju učinkovito. U tom se slučaju korektivne mjere poduzimaju u najkraćem mogućem roku (3).

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj ovog diplomskog rada bio je analizirati zdravstvenu ispravnost uzoraka vode uzetih na analizu s različitih vrsta brodova u razdoblju od 2002. do 2016. godine na području Primorsko-goranske županije. Ukupno je ispitano 478 uzoraka. Praćena je vremenska distribucija pokazatelja kakvoće vode: po godinama, mjesecima odnosno sezonama ispitivanja.

Provedeno je ispitivanje povezanosti fizikalno-kemijskih i mikrobioloških pokazatelja, koji se ispituju u rutinskoj analizi vode za piće. Također, analizirano je da li postoji razlika u kakvoći vode za piće, ovisno o vrsti subjekta koji dostavlja vodu na analizu.

3. MATERIJALI I METODE

3.1 Uzorkovanje vode

Prilikom uzorkovanja zabilježena je temperatura, vrijeme uzorkovanja, vrsta uzorka te vrsta i količina dezinficijensa. Količina vode koje se uzrokuje iznosi 1L. Provedena je inaktivacija klora u uzorku dodatkom kalij tiosulfata ili natrij tiosulfata u spremnik s uzorkom. Uzorci su dostavljeni u laboratorij u najkraćem mogućem roku. Uzorke je potrebno na analizu dostaviti u roku od 1 dana, a najviše u roku 2 dana nakon uzorkovanja (28).

Prilikom transporta uzoraka osigurano je da temperatura u hladnjaku ne prelazi 4°C (13).

Ukoliko je uzorkovana topla voda, potrebno ju je nakon provedenog uzorkovanja ohladiti (28).

3.2 Mikrobiološki pokazatelji

Od mikrobioloških pokazatelja u uzorcima se ispitivao broj aerobnih mezofilnih kolonija na temperaturi inkubacije 22°C i 37°C (UBB/22 i UBB/37) u razdoblju od 2002. do 2016. Od fekalnih indikatora u razdoblju od 2006. do 2016. ispitivane su ukupne koliformne bakterije (UK), *Escherichiacoli* (EC) i crijevni enterokoki (ENT). Prisutnost *Pseudomonas aeruginosa* (PA) određivala se u razdoblju od 2014. do 2016.

Ukupni broj kolonija (UBB) određivan je tehnikom ulijevanja ili „pour plate“ tehnikom, a UK, EC, ENT i PA tehnikom membranske filtracije.

Tehnika ulijevanja

Tehnika ulijevanja provodi se na način da se 1 ml uzorka (ili njegovog razrjeđenja) prenese u Petrijevu zdjelicu, prelije sa 15 – 20 ml otopljenog i na 45°C temperiranog kvašćevog agara, nakon čega se Petrijeva zdjelica pažljivo homogenizira kružnim pokretima. Podloga na koju je odložena Petrijeva zdjelica mora biti čvrsta i ravna. Vrijeme koje protekne između prijenosa

uzorka u Petrijevu zdjelicu i ulijevanja kvašćevog agara ne bi smjelo biti dulje od 15 minuta. Nakon skrućivanja agara, Petrijeva zdjelica se preokrene i inkubira na 22°C/72 sata i 37°C/48 sati.

Tehnika membranske filtracije

Tehnika membranske filtracije u mikrobiologiji voda koristi se zbog jednostavnosti izvođenja, praktičnosti te ekonomičnosti. Karakteristika ponovljivosti omogućava kvantitativnu detekciju mikroorganizama. Metoda se bazira na filtriranju uzorka vode preko membranskog filtera, pri čemu se mikroorganizmi iz uzorka koncentriraju na površini membranskog filtera. Bakterije se zadržavaju na površini filtera ovisno o veličini pora. Nakon toga slijedi naciepljivanje na hranjivu podlogu prenošenjem filtera s držača na krutu hranjivu podlogu. Nakon filtracije potrebnog volumena vode (za većinu parametara to je 100 ml ili potrebno razrjeđenje, dok je za ispitivanje *Legionella* potreban volumen od 1000 ml) slijedi inkubacija, na temperaturi definiranoj metodom. Kolonije koje su porasle tijekom inkubacije broje se i preračunavaju s obzirom na volumen uzorka. Prednosti metode su što se broj kolonija može direktno preračunati na volumen ispitanog uzorka te što se ispitivanje može provesti na velikom broju uzoraka. Također, membranski filter može se sačuvati kao trajni dokaz porasta nakon završenog ispitivanja (13).

3.2.1 Ukupni broj bakterija (UBB)

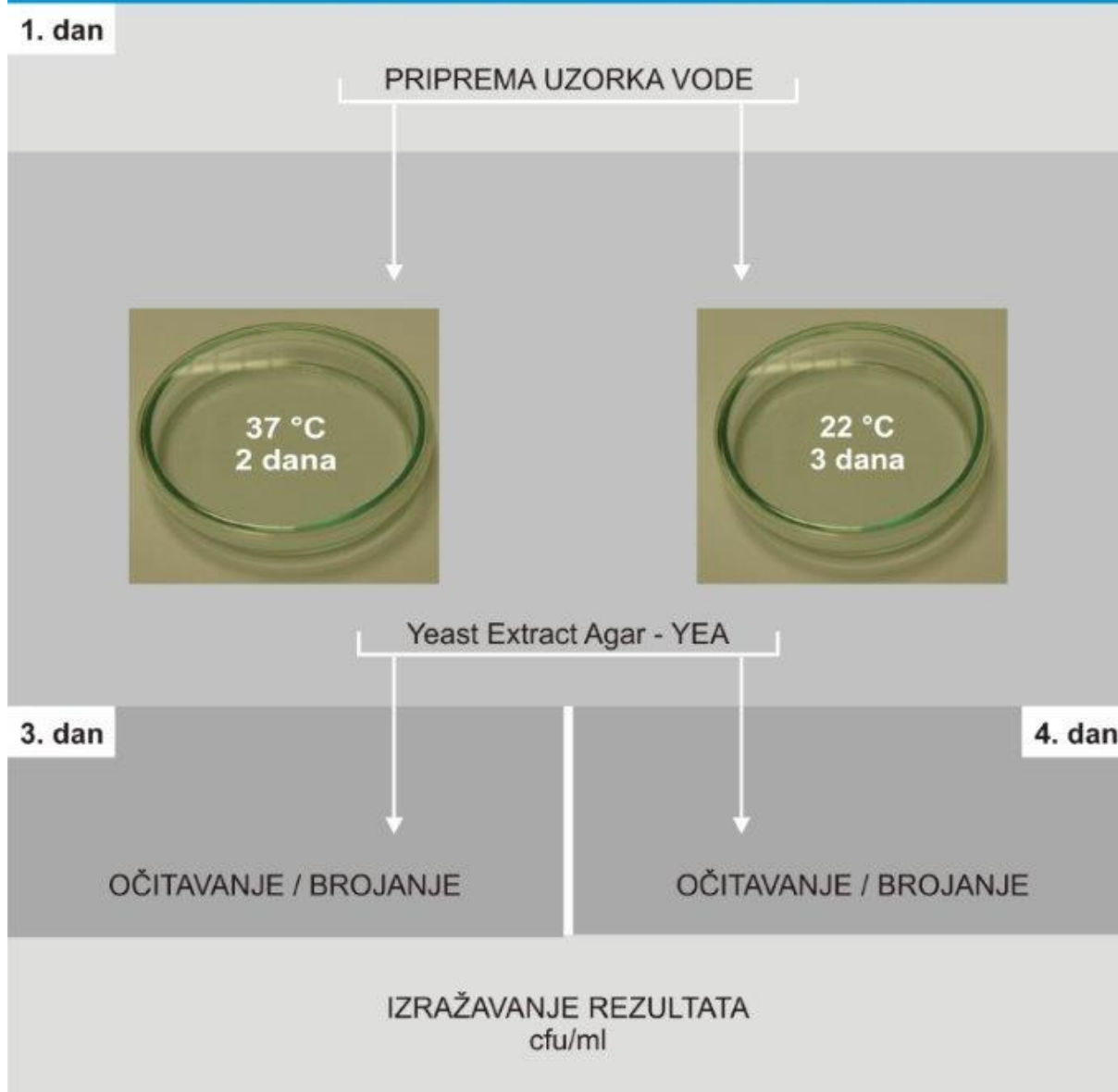
Metoda se zasniva na detekciji i brojanju aerobnih heterotrofnih bakterija na temperaturi od 22°C i 37°C a provodi se prema normi HRN EN ISO 6222:2000.

Uzorak se homogenizira te se spali grlo boce. Nakon toga odredi se razrjeđenje uzorka tako da se broj poraslih kolonija kreće između 30 i 300. Zatim se uzorak ili razrjeđenje naciepi na medij. Vrijeme koje protekne između dodavanja uzorka i otopljenog temperiranog agara ne smije biti više od 15 minuta. Slijedi naciepljivanje na najmanje jednu ploču za inkubaciju pri

svakoj od navedenih temperatura. Ploču je potrebno preokrenuti i inkubirati 22°C kroz 68±4 sata odnosno na 37°C kroz 44±4. Nakon vađenja iz inkubatora ploču je potrebno što prije ispitati.

Nakon inkubacije kolonije se broje te se procijeni broj cfu (eng. colonyformingunit, hrv. broj izraslih kolonija) po mililitru uzorka. Rezultat se izražava kao cfu/ml uzorka za svaku temperaturu inkubacije. Ako na ploči koja je nacijepljena nerazrijeđenim uzorkom nema poraslih kolonija rezultat se izražava kao „nije detektirano u jednom mililitru“. Ako je > 300 kolonija u pločama inkubiranim s najvećim korištenim razrjeđenjem, rezultat se izražava kao > 300 ili samo kao približna vrijednost (14).

BROJENJE UZGOJENIH MIKROORGANIZAMA - BROJ KOLONIJA NACJEPLJIVANJEM NA HRANJIVI AGAR (HRN EN ISO 6222:2000)



Slika 1. Shema brojenja uzgojenih mikroorganizama tehnikom nacjepljivanja na hranjivi agar (HRN EN ISO 6222:2000)

3.2.2 Koliformne bakterije i *E. coli*

Ispitivanje uzoraka provodilo se u razdoblju od 2002. do 2016. godine.

Za detekciju i brojenje koliformnih bakterija i *E. coli* u vodi od 2002. do 2014. godine primijenjena je metoda membranske filtracije prema normi EN ISO 9308-1:2000. Korišten je Standardni dio testa ove metode.

Volumen od 100 ml vode profiltrira se preko membranskog filtera. Nakon toga slijedi kultivacija na diferencijalnom selektivnom agaru (laktoza TTC agaru) te inkubacija na $(36\pm 2)^{\circ}\text{C}$ (21 ± 3) h. Slijedi brojenje karakterističnih kolonija žute boje na membrani te njihova interpretacija kao laktoza pozitivne bakterije bez obzira na njihovu veličinu. Za koliformne bakterije i *E. coli* slučajno odabrane karakteristične kulture se dodatno potvrđuju stvaranjem oksidaze i indola.

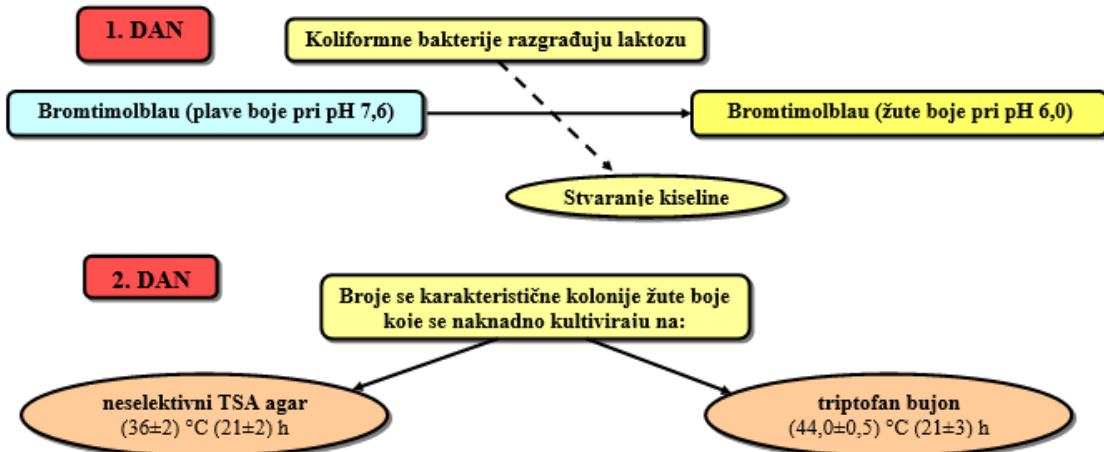
Najmanje deset kolonija prenese se na neselektivni TSA agar te slijedi inkubacija pri $36\pm 2^{\circ}\text{C}$ u trajanju od 21 ± 2 sata. Nakon toga izvodi se oksidaza test tako da se 2-3 kapi svježe pripremljenog oksidaza reagensa nanese na filter papir te se po njemu razmažu kolonije. Pojava tamno plave do purpurne boje unutar 30 sekundi smatra se oksidaza pozitivnom reakcijom.

Najmanje deset kolonija prenese se na triptofan bujon te slijedi inkubacija pri $(44,0\pm 0,5)^{\circ}\text{C}$ u trajanju od (21 ± 3) sata. Slijedi ispitivanje na produkciju indola dodatkom 0,2 do 0,3 ml Kovačevog reagensa. Ako se razvije višnja-crvena boja na površini bujona potvrđuje se stvaranje indola.

Ako je reakcija oksidaza negativna potvrđene su koliformne bakterije. Ako je reakcija oksidaza negativna, a indol pozitivna potvrđuje se prisutnost *E. coli*. Detekcija koliformnih bakterija i *E. coli* provodi se unutar 2 do 3 dana (15).

Detekcija i brojenje *Escherichia coli* i koliformnih bakterija - 1. dio: metoda membranske filtracije (ISO 9308-1:2000)

LAKTOZA TTC AGAR (36±2) °C (21±3) h
(selektivni¹ i diferencijalni² medij)



¹ Selektivnost: inhibicija rasta gram pozitivnih bakterija pomoću Tergitola-7 (natrijheptadecilsulfata) i TTC-a (trifeniltetrazoliumklorida)

² Diferencijacija: laktoza negativne bakterije reduciraju TTC – tamno crvene kolonije dok *E. coli* i koliformne bakterije slabo reduciraju TTC – žute narandaste kolonije

Slika 2. Shema metode brojenja koliformnih bakterija i *E. coli* membranskom filtracijom (ISO 9308-1:2000)

Od 2015. g. za određivanje i brojenje koliformnih bakterija i *E. coli* primjenjuje se novo izdanje norme HRN EN ISO 9308-1:2014. Metoda se bazira na kultivaciji kromogene CCA (Chromogenic Coliform Agar) hranjive podloge. Filtrira se 100 ml uzorka ili drugi odgovarajući volumen. Nakon filtracije membranski filter se sterilnom pincetom prenese na kromogenu CCA podlogu, koja se inkubira na (36±2)°C kroz (21±3) h.

Nakon inkubacije broje se kolonije rozo-crvene boje, bez obzira na veličinu. Obojenje kolonije u rozo-crvenu boju ukazuje da enzim β -D-galaktozidaza (β -gal) reagira s prisutnim kromogenim supstratom uz stvaranje ružičastog do crvenog precipitata. Opisane kolonije dodatno se potvrđuju testom stvaranja oksidaze. Najmanje 10 kolonija prenosi se na TSA (Tryptic Soy agar) hranjivu podlogu koja se inkubira na (36±2)°C kroz (21±3) h, nakon čega se provodi oksidaza test.



Slika 3. β -gal pozitivna reakcija na kromogenoj CCA podlozi (HRN EN ISO 9308-1:2014)

Kolonije tamno plave/ljubičaste boje ukazuju na aktivnost dva enzima, β -D-galaktozidaza (β -gal) i β -D-glukuronidaza (β -glu). Sve *E. coli* sadrže β -gal a njih 94-97% je i β -glu pozitivno, što se očituje stvaranjem plave boje. Istovremena reakcija oba enzima daje kolonijama *E. coli* ljubičastu boju.



Slika4. β -gal i β -glu pozitivna reakcija na kromogenoj CCA podlozi (HRN EN ISO 9308-1:2014)

Ukupne koliformne bakterije :

Σ svih oksidaza-negativnih kolonija

karakteristične roza/crvene + tamnoplave/ljubičaste kolonije

E. coli :

tamnoplave/ljubičaste kolonije

(ostale koliformne bakterije rastu kao roza/crvene kolonije)

Rezultat se izražava kao cfu/100 ml.

**Kvaliteta vode - Brojenje *Escherichia coli* i koliformnih bakterija - 1. dio:
Metoda membranske filtracije za vode s niskom pozadinom bakterijske flore
HRN EN ISO 9308-1:2014**

1. dan

Filtracija 100 ml vode

2. dan

CCA
Chromogenic Coliform Agar



37 °C
24 sata

Koliformi
roze/crvene kolonije
β-galaktozidasa +

E. coli
tamno plave/
ljubičaste kolonije
β-galaktozidasa +
β-glukoronidasa +

TSA
Tryptone Soy Agar
37 °C
24 sata

Oxidasa test
Koliformi: oxy -
Ne-koliformi: oxy +

UKUPNI KOLIFORMI =
oxy - roze/crvene kolonije +
sve tamno plave/ljubičaste kolonije

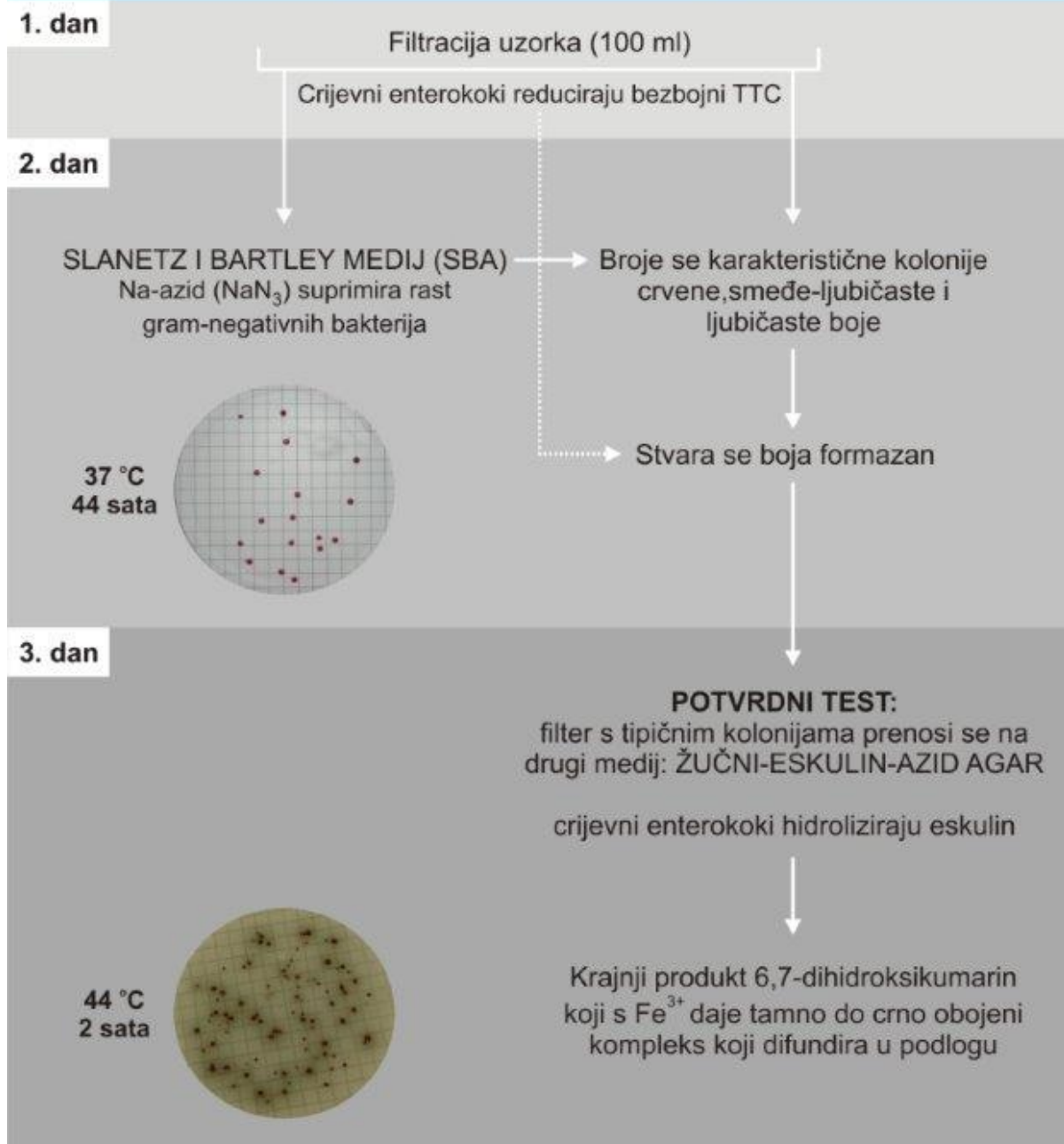
Slika 5. Shema metode brojenja koliformnih bakterija i *E. coli* membranskom filtracijom za vode s niskom pozadinom bakterijske flore (HRN EN ISO9308-1:2014.)

3.2.3 Enterokoki

Ispitivanje uzoraka provodilo se u razdoblju od 2002. do 2016. godine. Za dokazivanje i brojanje bakterija roda *Enterococcus* korištena je metoda membranske filtracije prema normi HRN EN ISO 7899-2:2000. Ovom metodom detektiraju se i broje se bakterije roda *Enterococcus*: *E. faecalis*, *E. faecium* (te dvije vrste enterokoka uzrokuju 95% infekcija kod čovjeka), *E. durans* *E. hirae*. Ostale *Enterococcus* vrste, te neke vrste roda *Streptococcus* (*S. bovis* i *S. equinus*) također se ponekad mogu detektirati; međutim, ove *Streptococcus* vrste ne preživljavaju dugo u vodi te se vjerojatno ne mogu kvantitativno dokazati.

Volumen od 100 ml vode profiltrira se preko membranskog filtera (0,45 µm). Nakon toga se vrši inkubacija na 36±2°C tijekom 44±4 sata. Tipične kolonije su uzdignute, crvene, kestenjaste ili ružičaste boje u centru kolonija ili oko njih. Dokazni test je neophodan ukoliko narastu tipične kolonije. Filter s kolonijama prenese se na žučni–eskulin–azid agar te se podloga inkubira 2 sata na 44°C. Pri pozitivnoj reakciji stvara se tamno do crno obojena tvar, koja difundira u medij (crni halo) (16).

Detekcija i brojenje fekalnih streptokoka - 2. dio: metoda membranske filtracije HRN EN ISO 7899-2:2000



Slika 6. Metoda membranske filtracije fekalnih streptokoka (HRN EN ISO 7899-2:2000)

3.2.4 *Pseudomonas aeruginosa*

Kroz pore sterilnog filtera od 0,45 µm profiltrira se 100 ml uzorka. Nakon toga slijedi kultivacija na CN- agaru te inkubacija na $(36\pm 2)^{\circ}\text{C}$ kroz $(44\pm 4)\text{h}$. Prvo očitavanje slijedi nakon $(22\pm 2)\text{h}$ zbog mogućnosti prerasta. Kao dokaz *Pseudomonas aeruginosa* broje se one kolonije koje produciraju piocijanin. Kolonije su specifične plavo/zelene boje. Slijedi ispiranje membranskog filtra pod UV lampom. Treba izbjegavati dulje izlaganje kolonija UV svjetlu jer može štetno djelovati na njih uzrokujući onemogućenje porasta na potvrdnim testovima. Kolonije koje ne produciraju piocijanin i crvenkasto-smeđe kolonije, a koje fluoresciraju podvrgavaju se potvrdnim testovima. Kolonije se presađuju na Nutrient agar te inkubiraju $(22\pm 2)\text{h}$ na $(36\pm 2)^{\circ}\text{C}$.

Potvrdni testovi

Kolonije koje fluoresciraju potvrđuju se testom produkcije amonijaka upotrebom acetamid bujona. Kolonije se presele u epruvete s acetamid bujonom te inkubiraju na $(36\pm 2)^{\circ}\text{C}$ kroz $(22\pm 2)\text{h}$ uz dodatak 1-2 kapi Nesslerovog reagensa. Stvaranjem žute do ciglasto-crvene boje potvrđuje se *Pseudomonas aeruginosa*.

Kod kolonija koje ne fluoresciraju a crvenkasto-smeđe su boje, postoji sumnja na *Pseudomonas aeruginosa*, što se provjerava dodatnim testovima:

Pojava fluorescencije na King's B mediju:

Kolonije crvenkasto-smeđe boje i koje su oksidaza pozitivne presađuju se s Nutrijent agara na King'B medij. Slijedi inkubacija na $(36\pm 2)^{\circ}\text{C}$. Prvi rezultati najčešće su vidljivi nakon 24h ali inkubacija može trajati i do 5 dana. Promatra se porast pod UV svjetlom te se dnevno bilježi pojava fluorescencije. Ako se nakon 5 dana ne pojavi fluorescencija nalaz se zaključuje kao negativan.

Produkcija amonijaka (acetamid bujon, eng. acetamid broth): porasle kolonije presađuju se s Nutrijent agara u epruvete s acetamid bujonom. Slijedi inkubacija na $(36\pm 2)^{\circ}\text{C}$ kroz $(22\pm 2)\text{h}$ uz dodatak 1-2 kapi Nesslerovog reagensa. Promjena boje u epruvetama između žute do ciglasto-crvene dokazuje pozitivnu reakciju produkcije amonijaka (17).

Oksidaza test se radi pomoću filter papira na koji se kapne jedna kap reagensa za oksidazu, te se pomoću jednokratne eze na filter papir nanese uzorak. Ako filter papir promijeni boju u ljubičasto rezultati su pozitivni, a ako filter papir promjeni boju u žuto ili ne dođe do promjene boje onda su rezultati negativni (18).

Rezultat

Kao potvrđene *Pseudomonas aeruginosa* računaju sve kolonije koje produciraju piocijanin (plavo/zeleni pigment) ili koje su oksidaza pozitivne, fluoresciraju pod UV svjetlom i koje stvaraju amonijak iz acetamida (17).

Pseudomonas aeruginosa
HRN EN ISO 16266:2008

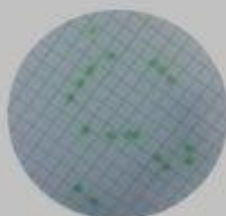
1. dan

Filtracija 100 ml uzorka
(250 ml za prirodne mineralne, izvorske i stolne vode)

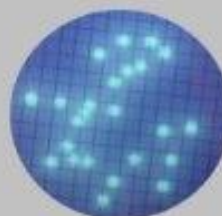
Filter

3. dan

CN agar
37 °C
48 sati



OČITAVANJE / BROJANJE
Kolonije koje stvaraju piocijanin
(plavo-zeleni nefluorescirajući pigment
kojeg u rodu *Pseudomonas* stvara
samo vrsta *P. aeruginosa*)



OČITAVANJE - UV LAMPA
Fluorescirajuće i
crveno-smeđe kolonije

4. dan

Nutrient agar

Florescirajuće
crveno-smeđe kolonije

Acetamide Broth

37 °C

24 sata

Nessler reagens

Očitavanje / brojanje kolonija
koje stvaraju amonijak

Crveno-smeđe kolonije
Oxidase test (+)

37 °C

do 5 dana

King's B

Očitavanje - UV lampa

5-9. dan

Brojanje fluorescentnih
kolonija

Slika 7. Shema metode za dokazivanje i brojenje *Pseudomonas aeruginosa* (HRN EN ISO 16266:2008)

3.3 Fizikalno kemijski parametri

Od fizikalno-kemijskih parametara određivala se boja, mutnoća, pH, elektrovodljivost te KMnO_4 .

3.3.1 Boja

Postupak određivanja boje primjenjuje se u vodama za piće, bazenskim vodama, vodama u prirodi te otpadnim vodama prema HRN EN ISO 7887:2012. Metoda se koristi za određivanje boje u uzorcima gdje obojenost ne prelazi vrijednost od 70 mg/l PtCo skale. Vizualnom metodom određuje se intenzitet žutosmeđe boje uzorka koji se uspoređuje sa serijom standardnih otopina. Nakon usporedbe intenzitet boje izrazi se u mg/l PtCo skale (19).

3.3.2 Mutnoća

Metoda se primjenjuje za sve uzorke vode za ljudsku potrošnju, površinsku, podzemnu vodu, stolnu, prirodnu izvorsku vodu, bazensku vodu i morsku vodu u području od 0,0-1000 NTU. Metoda se primjenjuje prema normi HRN EN ISO 7027-1:2016.

Prilikom određivanja mutnoće koristi se optički instrument turbidimetar. Ova metoda poznata je pod nazivom nefelometrijsko određivanje mutnoće te se izražava u NTU jedinicama (eng. NTU Nephelometric Turbidity Units). Vrijednosti za mutnoću najčešće se kreću između vrijednosti manjih 0,05 NTU i 400 NTU, no ovisno o tipu instrumenta moguće je mjerenje uzoraka veće mutnoće.

Metoda se temelji na usporedbi intenziteta svjetla raspršenog u uzorku pod definiranim uvjetima u odnosu na intenzitet raspršenog svjetla potvrđenog referentnog materijala pod istim uvjetima rada. Rezultat vrijednosti mutnoće očita se direktno s turbidimetra (20).

3.3.3 pH vrijednost

Metoda mjerenja pH vrijednosti provodi se u uzorcima vode za ljudsku potrošnju, podzemnoj, površinskoj vodi, prirodnoj izvorskoj, mineralnoj, bazenskoj vodi, stolnoj vodi i moru koji su kreću u području od pH 2 do pH 12 pri temperaturi od 0°C do 50°C. Metoda se provodi prema normiranoj metodi HRN EN ISO 10523:2012.

Princip mjerenja vrijednosti pH temelji se na potenciometrijskom mjerenju aktivnosti hidrogen iona pomoću kombinirane staklene elektrode (21).

3.3.4 Elektrovodljivost

Metoda se provodi prema normi HRN EN 27888:2008 u svim uzorcima vode za ljudsku potrošnju, prirodnim izvorskim i mineralnim vodama, podzemnim i površinskim vodama te bazenskim vodama.

Postupkom se mjeri električna vodljivost vode koja predstavlja brojčani izraz za svojstvo vodenih otopina da provode električnu struju. Ovo svojstvo ovisi o prisutnosti iona, njihovoj koncentraciji, mobilnosti, valenciji i temperaturi mjerenja (22).

3.3.5 Permanganatni indeks (KMnO_4)

Metodu se primjenjuje za određivanje permanganatnog indeksa vode odnosno parametra "oksidativnosti" u vodi. Metoda je primjenjiva za vode koje imaju koncentraciju klorida <300 mg/l. Uzorci kojima je permanganatni indeks > 10 mg/l moraju se prije analize razrijediti.

Uzorak se u vodenoj kupelji zagrijava na točki ključanja s poznatom količinom kalijeva permanganata uz dodatak sumporne kiseline kroz vremenski period od 10 minuta. Dolazi do redukcije dijela permanganata oksidirajućim materijalom u uzorku. Nakon toga slijedi određivanje utrošenog permanganata dodatkom otopine oksalata u suvišku te retitracija permanganatom. Metoda se temelji na normi EN ISO 8467:2001 (23).

3.4 Statistička obrada

3.4.1 Korelacijska analiza

Korelacijsku analizu primjenjujemo u postupcima utvrđivanja povezanosti dviju varijabli. Vrijednost korelacije izražava se ovisno o vrsti podataka Pearsonovim (brojčani podaci u linearnom odnosu) ili Spearmanovim koeficijentom korelacije (za podatke koji odstupaju od normalne raspodjele, ne prate linearnu povezanost i u slučaju malih skupina podataka). On nam govori koliko su snažno promjene jedne varijable povezane s promjenama druge varijable, pri čemu nam predznak (+ ili -) govori o smjeru povezanosti. Koeficijent korelacije može poprimiti pozitivne (od 0 do 1) i negativne (od 0 do -1) vrijednosti. Pozitivna vrijednost koeficijenta ukazuje na istovremeni porast vrijednosti za obje varijable, dok negativni koeficijent ukazuje na porast jedne, a pad vrijednosti druge varijable. Korelaciju između analiziranih parametara smatramo značajnom ako je $P < 0,05$ (24).

3.4.2 T-test

Za utvrđivanje statistički značajne razlike opterećenosti uzoraka vode koji su analizirani na zahtjev brodarskih agencija u odnosu na uzorke koje su dostavljeni od strane brodogradilišta, korišten je Studentov t-test za velike nezavisne uzorke na razini značajnosti od $P < 0,05$. Normalnost raspodjele podataka testirana je pomoću Kolmogorov-Smirinovljevog testa. Prije analize podataka t-testom vrijednosti su logaritamski transformirane kao $\log_{10}(n+1)$.

3.4.3 Analiza varijance (ANOVA)

Analize varijance (engl. Analysis of Variance, ANOVA) se statistički je postupak koji se koristi za utvrđivanje postoje li razlike između srednjih vrijednosti za tri ili više nezavisnih skupina podataka, te jesu li te razlike statistički značajne. Izračunava se F-vrijednost kojom se testira nulta hipoteza (nema statistički značajne razlike).

Postoji nekoliko vrsta ANOVA analiza:

- 1) Jednosmjerna analiza između skupina je najjednostavnija verzija ANOVA. Kod analize gleda se razlika između skupina. Postoji samo jedna varijabla koja se koristi za definiranje grupa. Ova vrsta može se koristiti i za usporedbu varijabli među različitim skupinama.
- 2) Jednosmjerna ponovljena mjera ANOVA koristi se kada se na određenoj skupini nešto više puta mjeri.
- 3) Dvosmjerna analiza između skupina koristi se kod razmatranja složenijih grupacija.
- 4) Dvosmjerna ponovljena mjera koristi strukturu ponovljenih mjera te uključuje učinak interakcije (25).

Međutim, ANOVA nam ne govori između kojih grupa postoji uočena razlika. U te svrhe koriste se post hoc testovi.

Log transformacija ($\log_{10}(n+1)$) podataka provedena je na vrijednostima mikrobioloških parametara zbog njihove velike varijacije.

3.4.4 *Post hoc* testovi

Post hoc testovi provode se kako bi utvrdilo koje se grupe uzoraka statistički značajno razlikuju. *Post hoc* testove nazivamo i posteriori testovima jer se izvode nakon dobivene statistički značajne razlike (26). Tukey's HSD test koji se često koristi kada se ANOVA-om utvrdi statistički značajna razlika između grupa. Izračunava se HSD vrijednost (eng. honestly significant difference) koja predstavlja minimalnu razliku između aritmetičkih sredina promatranih podataka koja se mora utvrditi da bi razlika bila statistički značajna (27).

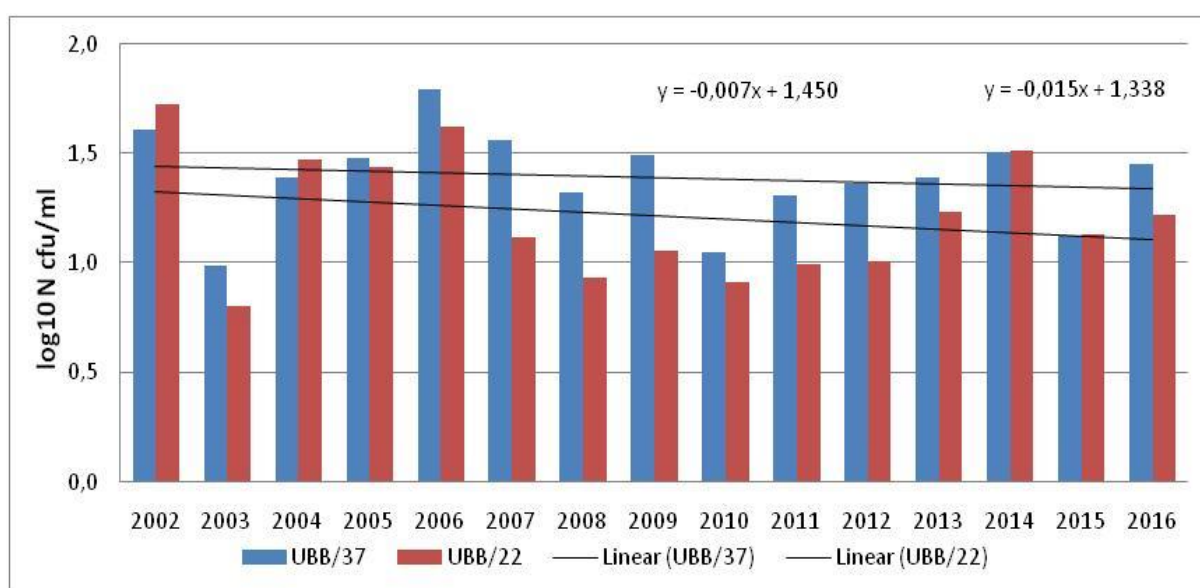
4. REZULTATI

Analizirani su rezultati ispitivanja kakvoće vode s brodova iz luka ili brodogradilišta na području Primorsko-goranske županije, u razdoblju od 2002. do 2016.godine. Ukupno je analizirano 478 uzoraka. Uzorci su uzeti s različitih tipova brodova. Analiza uzoraka provedena je u laboratorijima Zdravstveno-ekološkog odjela Nastavnog zavoda za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije.

4.1 Kakvoća vode – po godinama

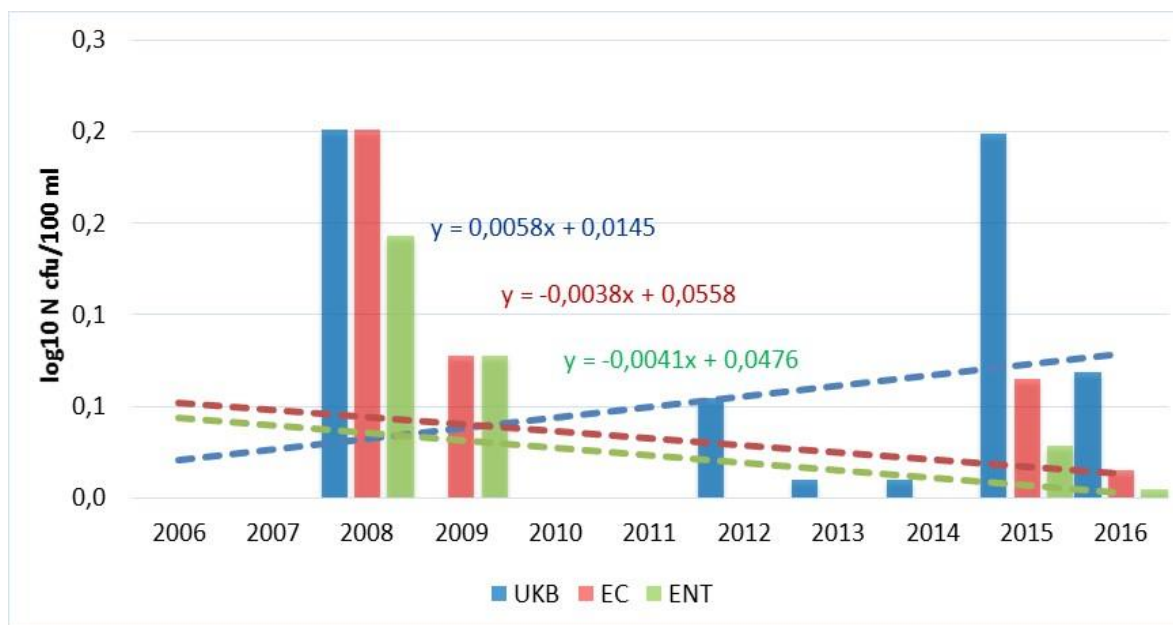
4.1.1 Mikrobiološki pokazatelji

Pokazatelji mikrobiološke kakvoće vode je broj izraslih kolonija na temperaturi inkubacije 22 °C i 37 °C, praćeni su u periodu 2002. do 2016. godine. Na Slici 8. vidljivo je da je trend kretanja za oba parametara negativan. Maksimalna srednja godišnja vrijednost za UBB/37 bila je 622,3 cfu/100 ml, a najmanja 123,8 cfu/100 ml. Za UBB/22 raspon kretanja srednjih godišnjih vrijednosti bio je 72,1-403,6 cfu/100 ml. Najveće vrijednosti broja kolonija na obje temperature zabilježene su 2002. i 2006. g., međutim jednosmjerna analiza varijance (eng. one-way ANOVA) je pokazala da razlika nije statistički značajna (Slika 8).



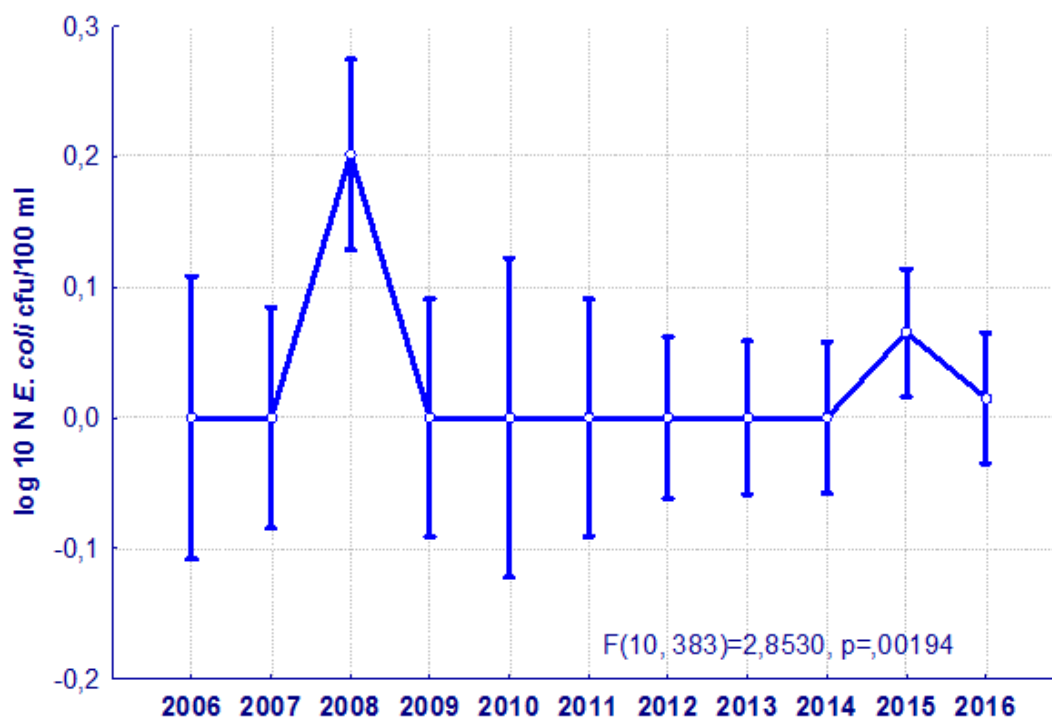
Slika 8. Trend kretanja broja kolonija pri temperaturama od 22°C i 37°C tijekom razdoblja 2002. – 2016.

Na Slici 9. prikazan je porast ukupnih koliformnih bakterija (UKB) za razdoblje od 2006. do 2016. godine. Statistička analiza podataka pokazala je da razlike u godinama nisu statistički značajne. Najveći broj ukupnih koliformnih bakterija (UKB) zabilježen je 2008. i 2015. godine. Raspon godišnjih srednjih vrijednosti kretao se je 0,0 – 40,7 cfu/100 ml.



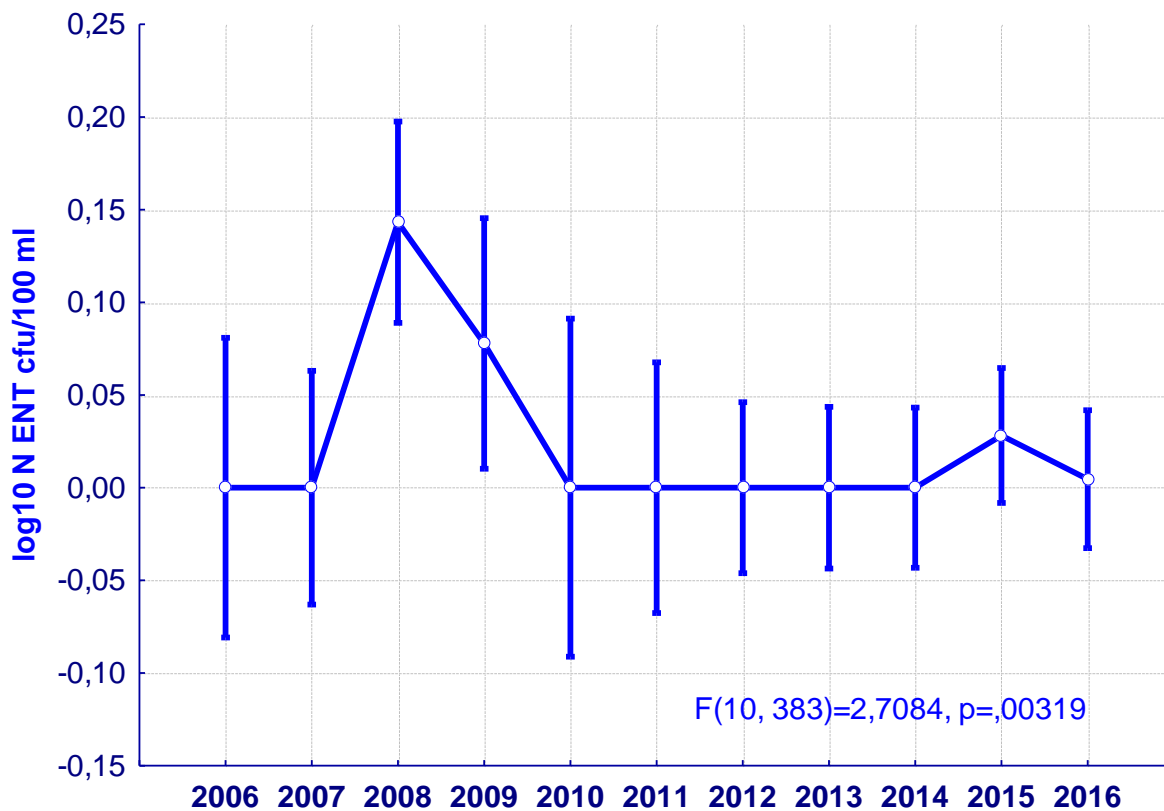
Slika 9. Trend kretanja broja fekalnih indikatora (UKB – ukupnih koliformnih bakterija; EC – *E. coli*; ENT – enterokoki) tijekom razdoblja 2006. – 2016.

Analiza varijance primijenjena na vrijednostima *E. coli* pokazala je statistički značajnu razliku u pojavnosti ove vrste između promatranih godina. Kao *post hoc* test za testiranje značajnosti razlike u broju *E. coli* korišten je Tukey HSD koji je pokazao da je u 2008. godine koncentracija *E. coli* bila statistički značajno veća u odnosu na ostale promatrane godine (Slika 10). Godišnje srednje vrijednosti kretale su se od 0,0 – 3,6 cfu/100 ml.



Slika 10. Godišnje srednje vrijednosti *E. coli* tijekom razdoblja 2006. – 2016.; stupci pogreške predstavljaju standardnu devijaciju podataka unutar pojedine godine

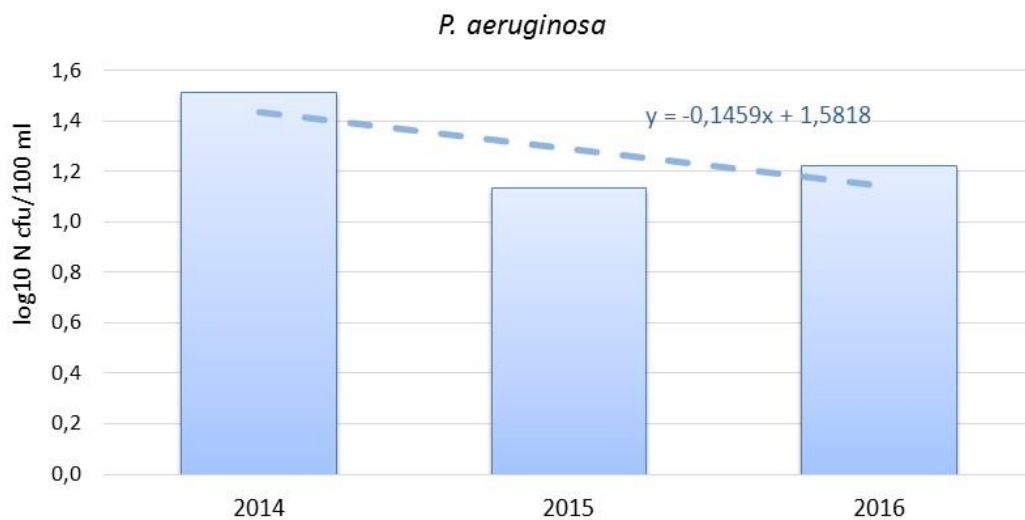
Enterokoki, kao dodatni parametar fekalnog onečišćenja također su se u broju statistički značajno razlikovali u 2008. godini u odnosu na ostale godine (Slika 11). Raspon godišnjih srednjih vrijednosti u promatranom razdoblju kretao se je od 0,0 do 4,6 cfu/100 ml.



Slika 11. Godišnje srednje vrijednosti enterokoka (ENT) tijekom razdoblja 2006. – 2016.; stupci pogreške predstavljaju standardnu devijaciju podataka unutar pojedine godine

Parametar *P. aeruginosa* rutinski se prati u vodi za ljudsku potrošnju od 2014. godine.

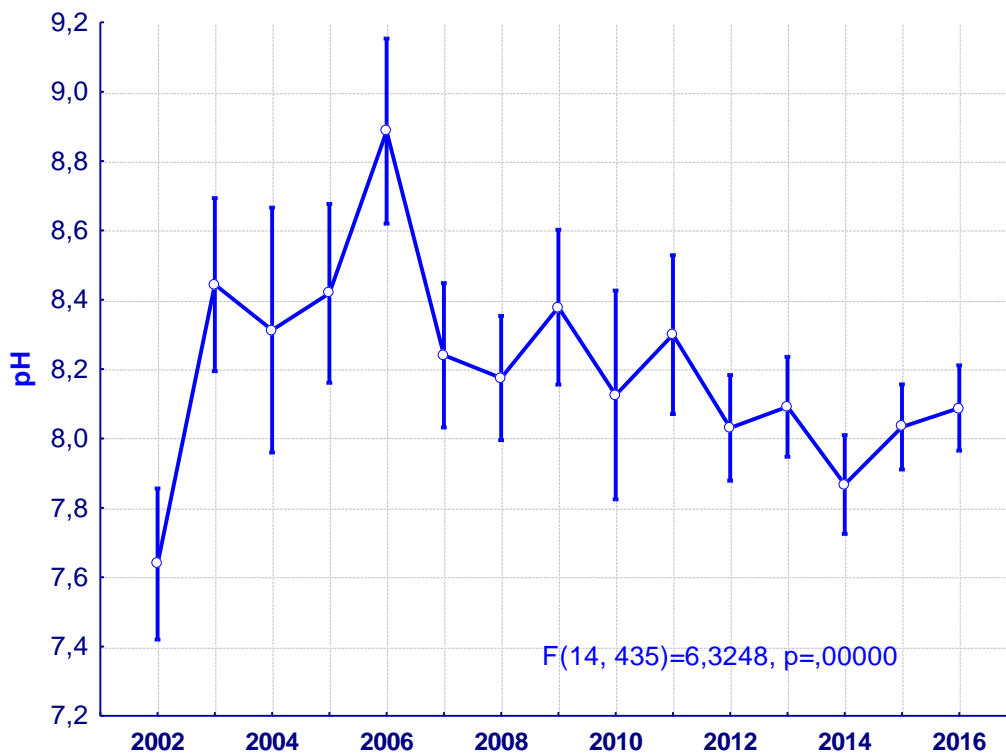
Slika 12. prikazuje negativan trend kretanja broja kolonija *P. aeruginosa* u periodu 2014. do 2016. godine. Najveći broj poraslih bakterija detektiran je 2014. godine. Statističkom analizom ANOVA nije zabilježena značajna razlika u koncentraciji *P. aeruginosa* u tri promatrane godine. Godišnje srednje vrijednosti varirale su od 0,2 do 137,0 cfu/100 ml.



Slika 12. Prikaz negativnog trenda kretanja broja kolonija *P. aeruginosa* u periodu 2014.– 2016.

4.1.2 Fizikalni-kemijski pokazatelji

Na Slici 13. prikazane su srednje vrijednosti pH u razdoblju od 2002. do 2016. godine. Analiza varijance (ANOVA) i Tukey test pokazali su da postoji statistički značajna razlika u aritmetičkim sredinama vrijednosti pH između godina. Najveća vrijednost pH zabilježena je 2006., a najmanja 2002. godine.

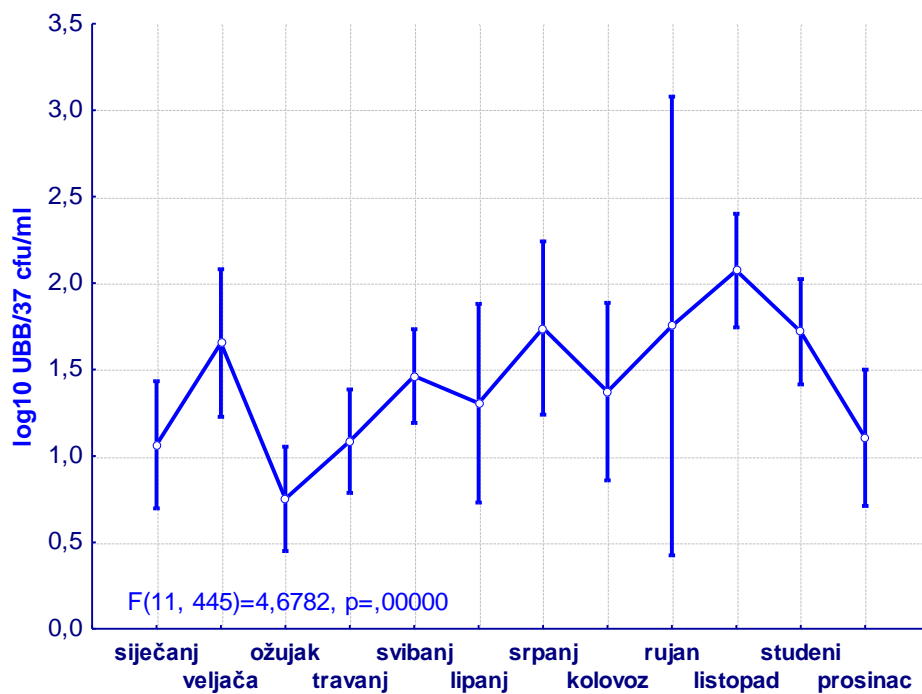


Slika 13. Godišnje srednje vrijednosti pH tijekom razdoblja 2002. – 2016.; stupci pogreške predstavljaju standardnu devijaciju podataka unutar pojedine godine

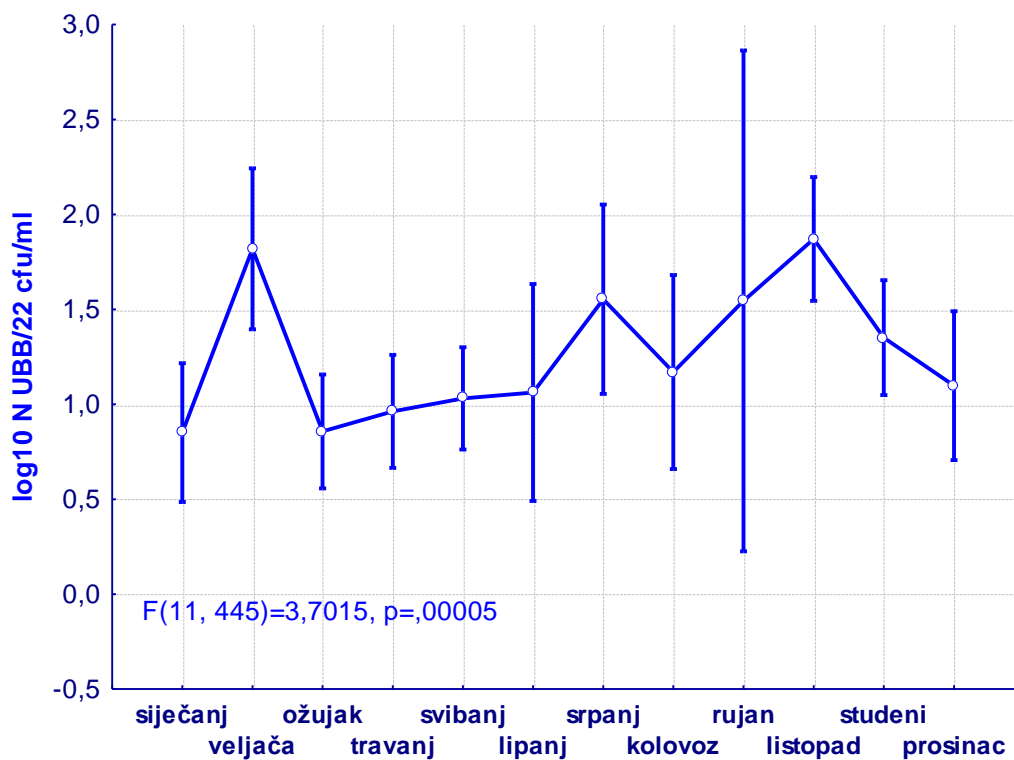
4.2 Kakvoća vode – po mjesecima

4.2.1 Mikrobiološki pokazatelji

ANOVA analiza izraslih broja kolonija pokazala je statistički značajnu razliku između godina. Tukey testom je uočeno da ja najveći porast UBB/37 i UBB/22 zabilježen je u listopadu, a najmanji u siječnju i ožujku (Slike 14, 15).

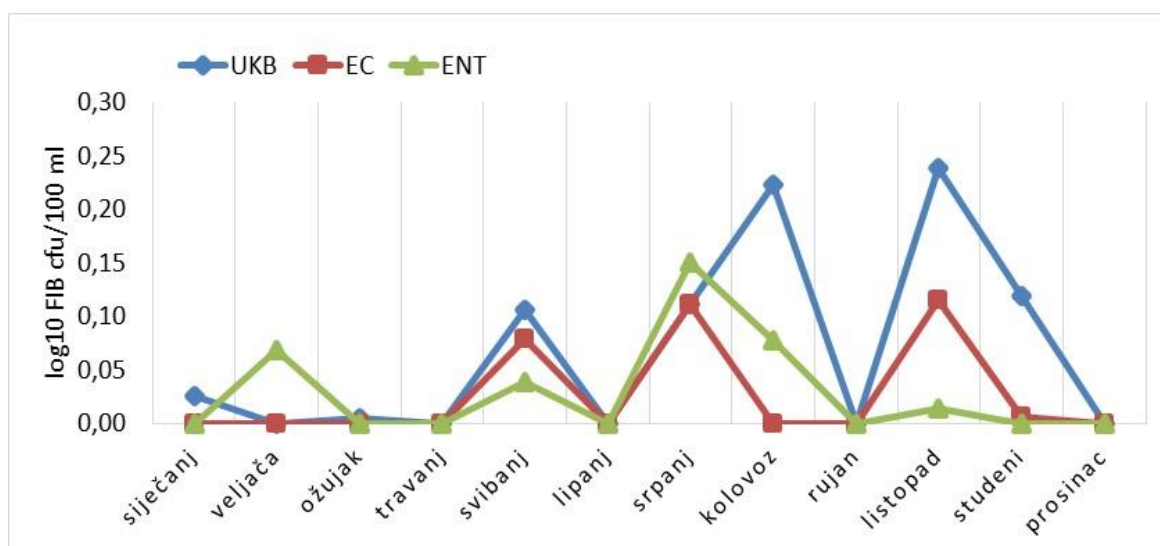


Slika 14. Srednje mjesečne vrijednosti UBB/37 tijekom razdoblja 2002. – 2016.; stupci pogreške predstavljaju standardnu devijaciju podataka unutar pojedine godine



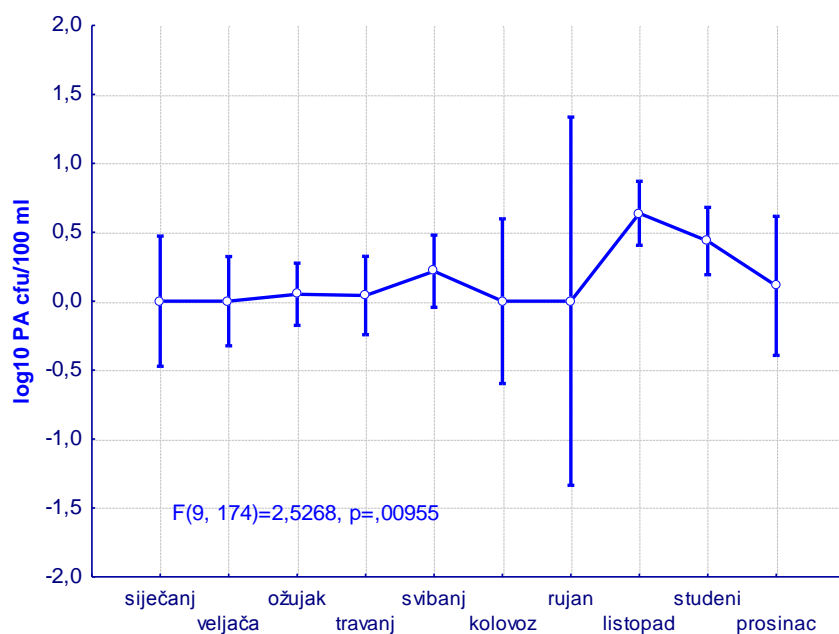
Slika 15. Srednje mjesečne vrijednosti UBB/22 tijekom razdoblja 2002. – 2016.; stupci pogreške predstavljaju standardnu devijaciju podataka unutar pojedine godine

Broj fekalnih koliformnih bakterija (FIB = UKB, EC, ENT) bio je najveći u srpnju i listopadu, a UKB su pokazale su pik i u kolovozu (Slika 16).



Slika 16. Srednje mjesečne vrijednosti FIB (FIB = fecal indicator bacteria = UK, EC, ENT) tijekom razdoblja 2006. – 2016.

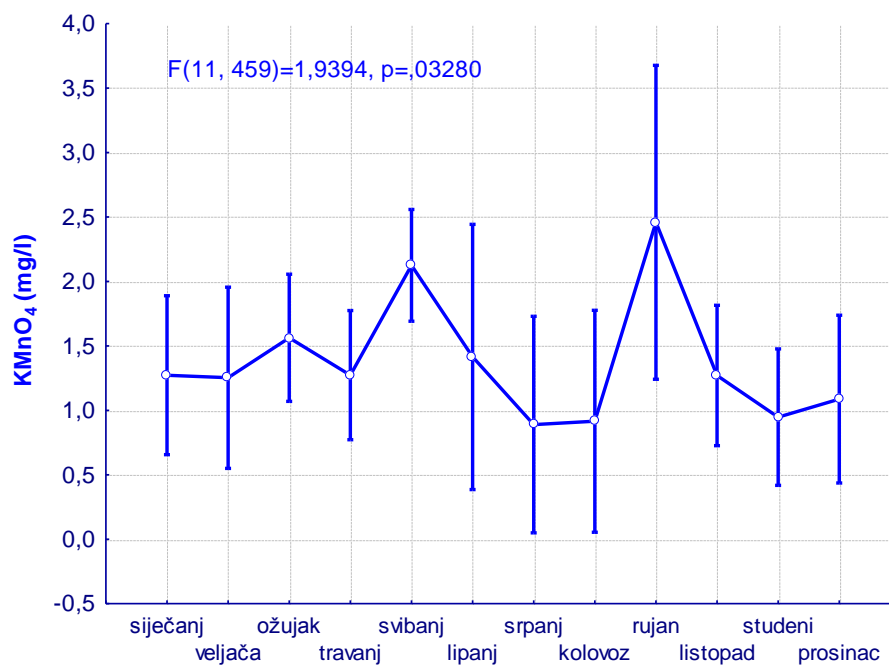
Maksimalni porast *P. aeruginosa* zabilježen je u listopadu (Slika 17).



Slika 17. Srednje mjesečne vrijednosti *Pseudomonas aeruginosa* (PA) tijekom razdoblja 2014. – 2016.; stupci pogreške predstavljaju standardnu devijaciju podataka unutar pojedine godine

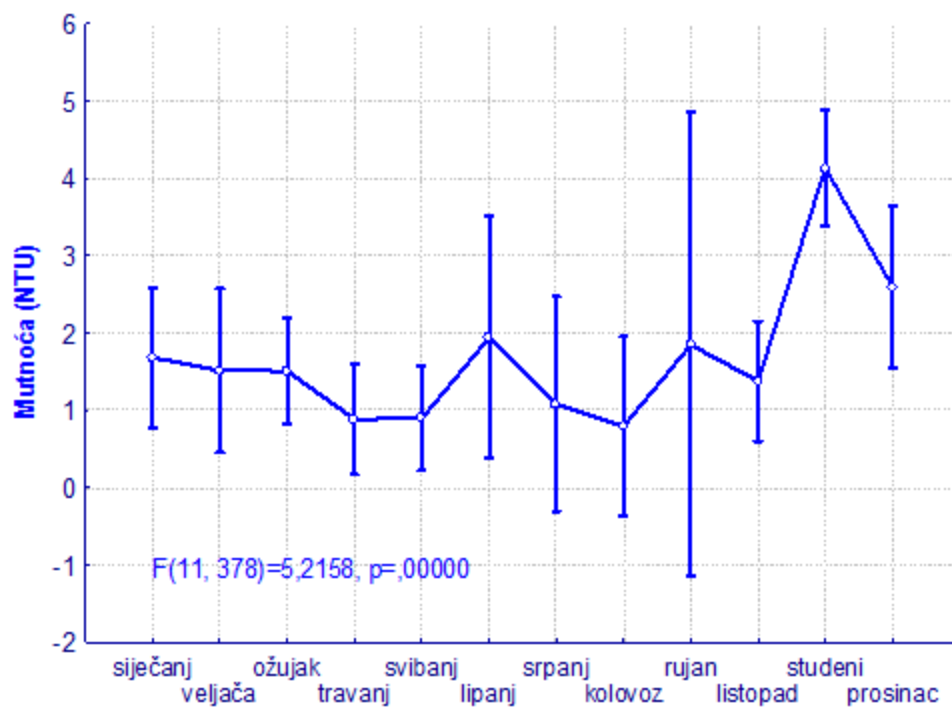
4.2.2 Fizikalno-kemijski pokazatelji

Najveća vrijednost utroška KMnO_4 izmjerena je u rujnu (2,46 mg/l O_2), a najniža u srpnju (0,89 mg/l O_2) (Slika 18).



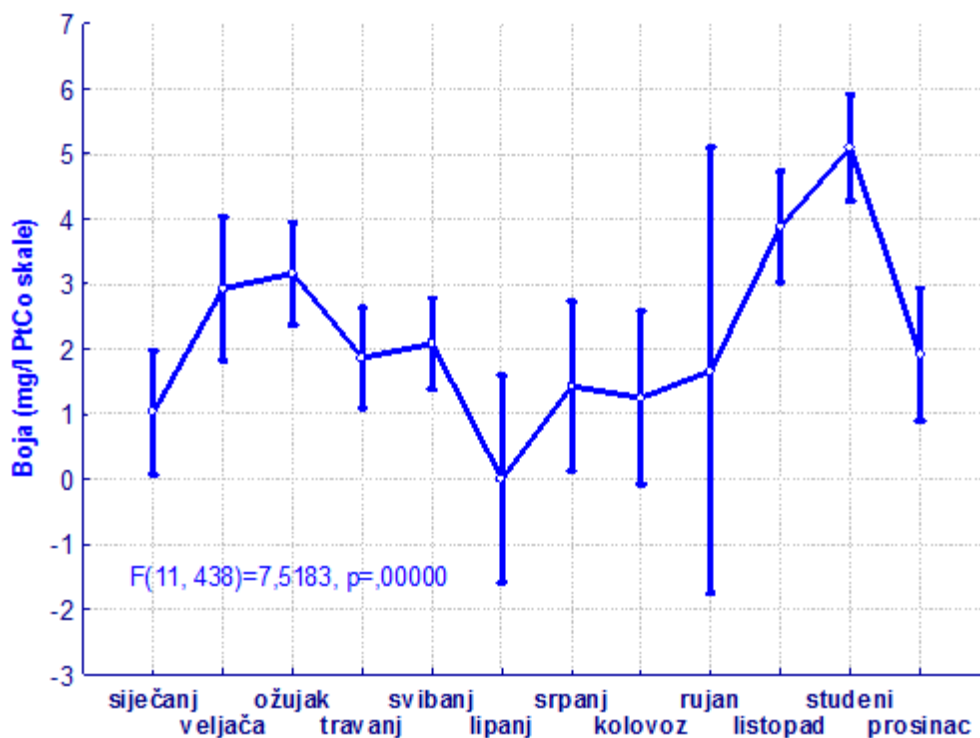
Slika 18. Srednje mjesečne vrijednosti KMnO_4 kao pokazatelja organskog opterećenja tijekom razdoblja 2002. – 2016.; stupci pogreške predstavljaju standardnu devijaciju podataka unutar pojedine godine

Zamućenje vode svoj maksimum dostiže u studenom (4,1 NTU) i prosincu (2,6 NTU) (Slika 19.).



Slika 19. Srednje mjesečne vrijednosti mutnoće vode tijekom razdoblja 2006. – 2016.; stupci pogreške predstavljaju standardnu devijaciju podataka unutar pojedine godine

Boja vode najintenzivnija je studenom (5,9 mg/l PtCo skale) dok je u lipnju intenzitet boje bio ispod granice detekcije.



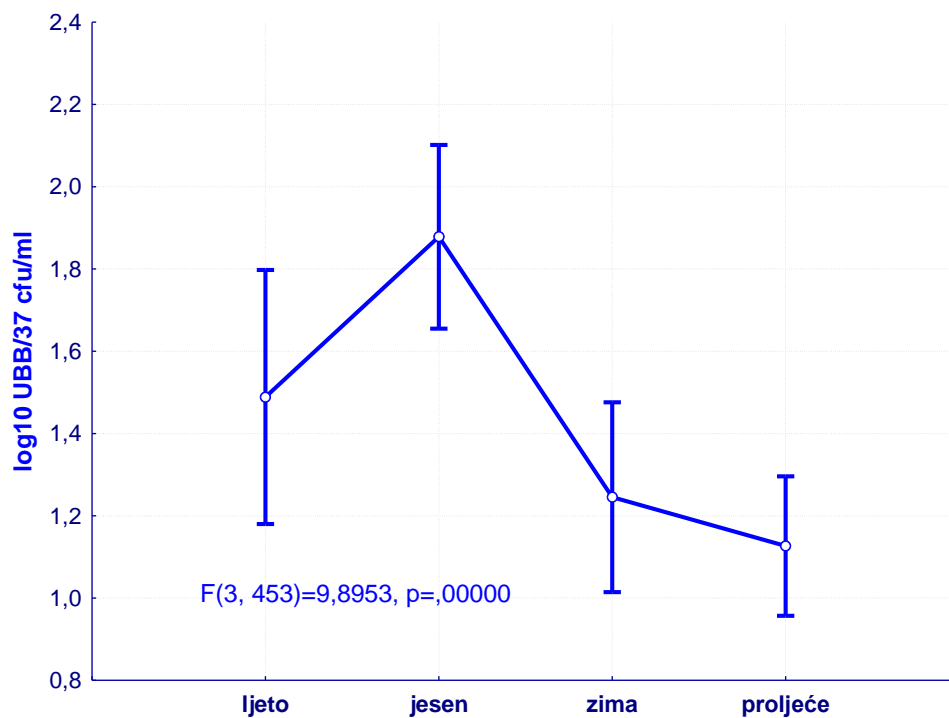
Slika 20. Srednje mjesečne vrijednosti boje vode tijekom razdoblja 2002. – 2016.; stupci pogreške predstavljaju standardnu devijaciju podataka unutar pojedine godine

4.3 Kakvoća vode – po sezonama

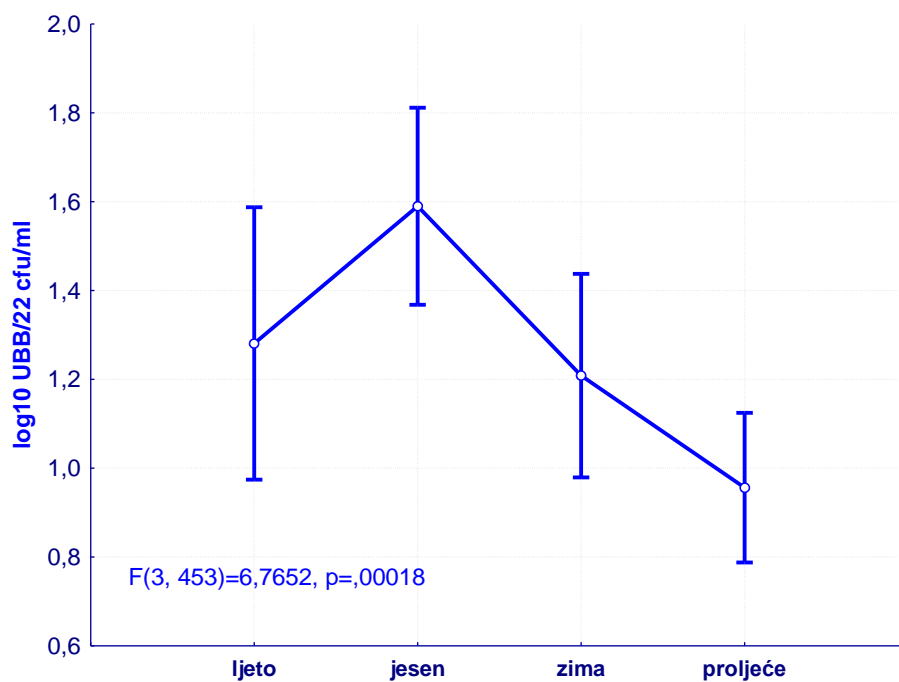
Obzirom da je temperatura okoliša jedan od ključnih faktora koji određuju rast i razvoj bakterija, dostupni podaci promatrani su i po sezonama: proljeće (od 3. do 5. mjeseca), ljeto (od 6. do 8. mjeseca), jesen (od 9. do 11. mjeseca) i zima (od 12. do 2. mjeseca).

4.3.1 Mikrobiološki pokazatelji

Slike 21. i 22. pokazuju da su parametri UBB/37 i UBB/22 statistički značajno povećani tijekom jeseni, a najmanji broj izraslih kolonija se javlja u proljeće (ANOVA, Tukey test).

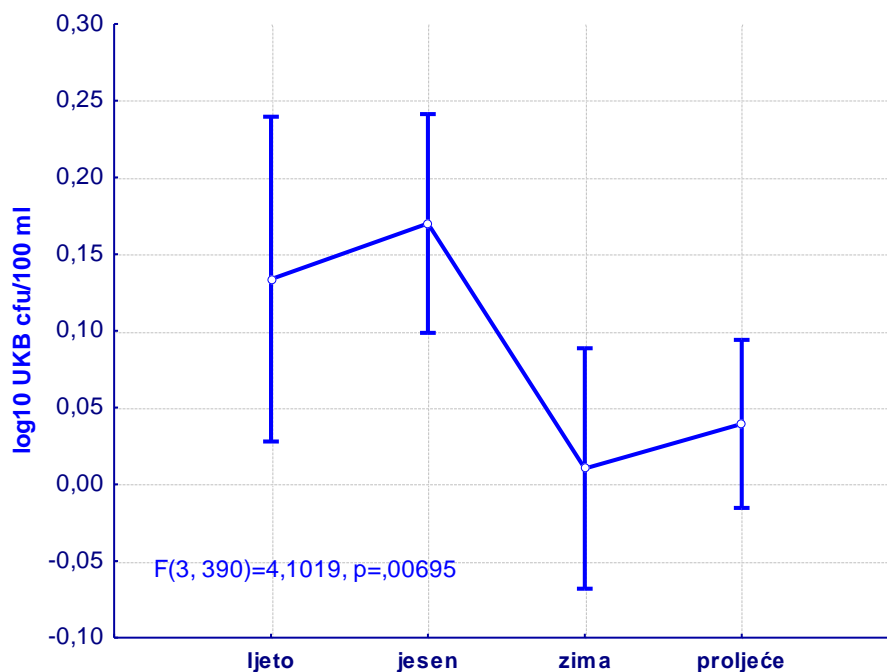


Slika 21. Srednje sezonske vrijednosti UBB/37 tijekom razdoblja 2002. – 2016.; stupci pogreške predstavljaju standardnu devijaciju podataka unutar pojedine godine



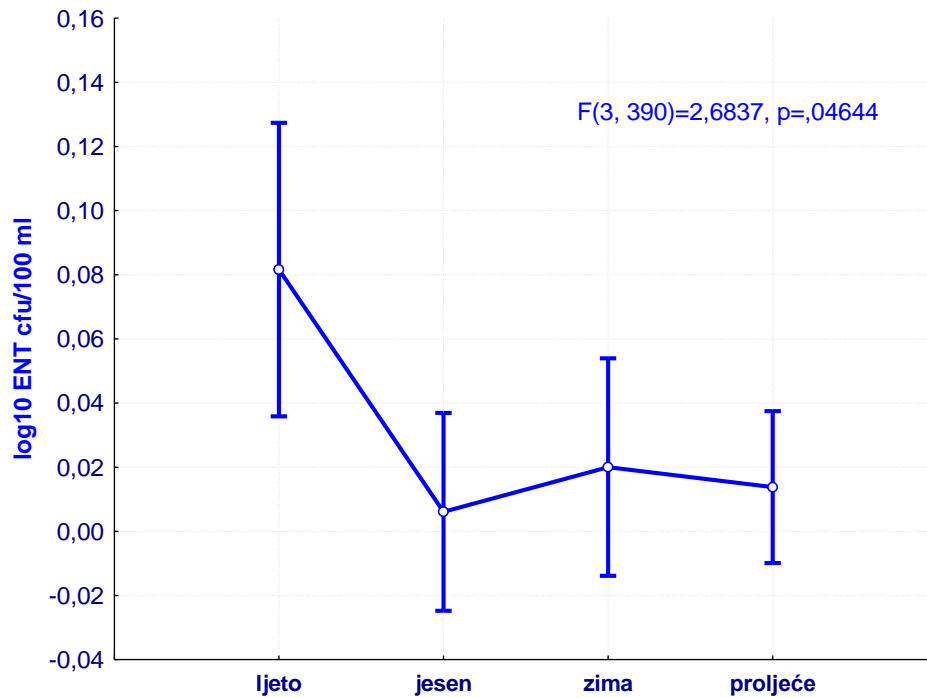
Slika 22. Srednje sezonske vrijednosti UBB/22 tijekom razdoblja 2002. – 2016.; stupci pogreške predstavljaju standardnu devijaciju podataka unutar pojedine godine

Na Slici 23. pokazano je da je broj UKB statistički značajno povećan tijekom jeseni, a najmanji tijekom zime (ANOVA, Tukey test).



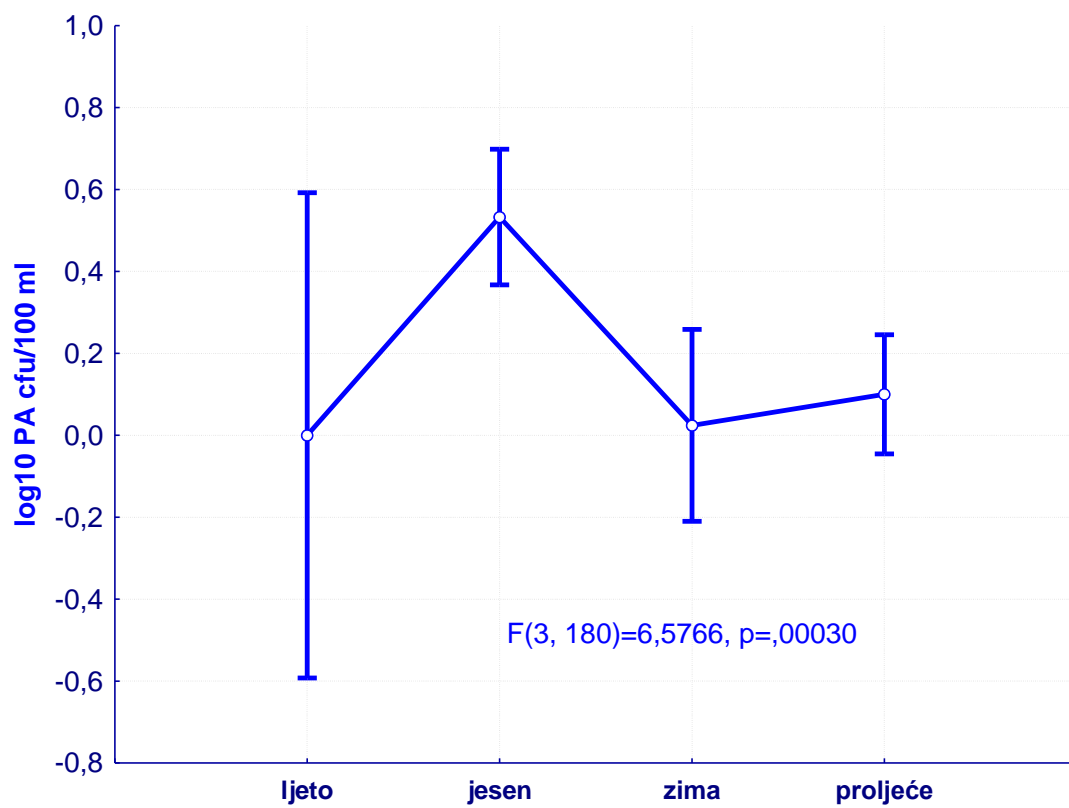
Slika 23. Srednje sezonske vrijednosti UKB tijekom razdoblja 2006. – 2016.; stupci pogreške predstavljaju standardnu devijaciju podataka unutar pojedine godine

Pokazatelj kakvoće vode ENT je kao i UKB statistički se značajno razlikovao između sezona, s najvećom brojnosti u ljeto, a najmanjom, poput UKB, u zimi (ANOVA, Tukey test) (Slika 24).



Slika 24. Srednje sezonske vrijednosti ENT tijekom razdoblja 2006. – 2016.; stupci pogreške predstavljaju standardnu devijaciju podataka unutar pojedine godine

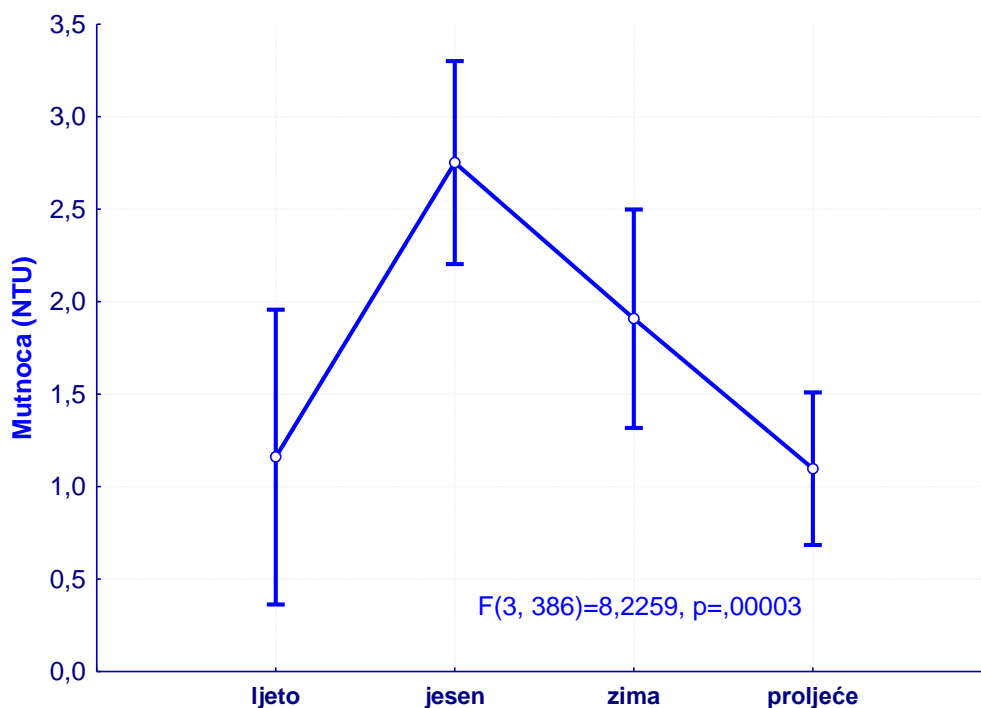
Slika 25. prikazuje da se *P. aeruginosa* se u najvećem broju pojavljuje u jesen, a u najmanjem ljeti (ANOVA, Tukey test).



Slika 25. Srednje sezonske vrijednosti *P. aeruginosa* tijekom razdoblja 2006. – 2016.; stupci pogreške predstavljaju standardnu devijaciju podataka unutar pojedine godine

4.3.2 Fizikalni-kemijski pokazatelji

Najviše vrijednosti mutnoće vode zabilježene su u jesen (sr. vr. 2,75 NTU), a najniže u proljeće (sr. vr. 1,08 NTU), ANOVA, Tukey test.



Slika 26. Srednje sezonske vrijednosti mutnoće vode tijekom razdoblja 2006. – 2016.; stupci pogreške predstavljaju standardnu devijaciju podataka unutar pojedine godine

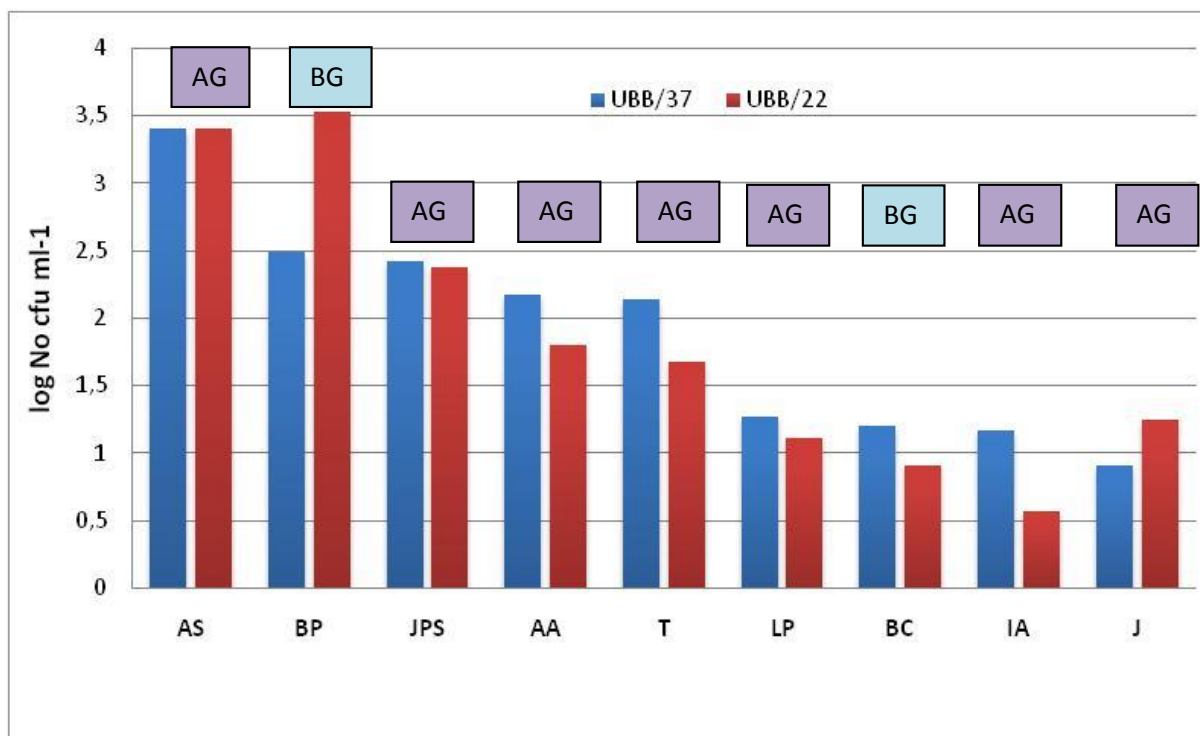
4.4 Udio zdravstveno neispravnih uzoraka

Od ukupno analiziranih 478 uzoraka, 394 uzorka (82,4%) bila su zdravstveno neispravna. Što se u najvećoj mjeri odnosilo na nesukladnost mikrobioloških pokazatelja s propisanim kriterijima (389 mikrobiološki neispravnih uzoraka, odnosno 81,4%)

4.5 Kakvoća vode– agencije vs brodogradilišta

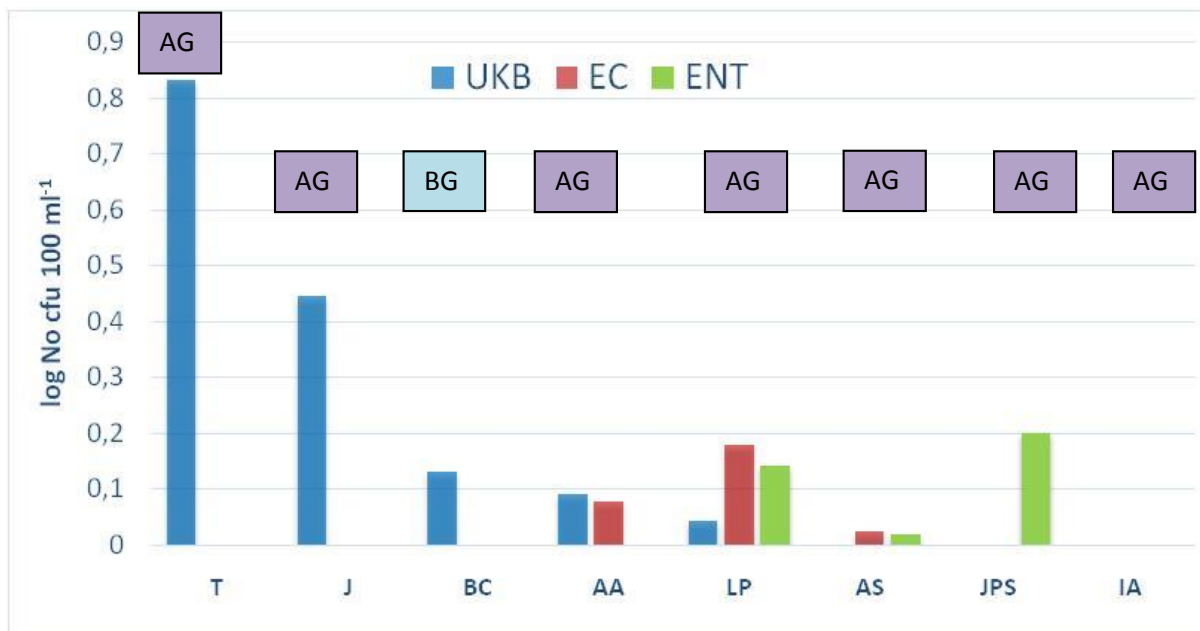
Analizirani su rezultati kakvoće vode između sedam agencija (AS, JPS, AA, T, LP, IA i J) i dva brodogradilišta (BP, BC) u razdoblju od 2002. do 2016. godine.

Porast UBB/37 najveći je kod agencije AS a najmanji kod agencije J. UBB/22 pokazuje najveći porast kod brodogradilišta BP, a najmanji kod agencije IA (Slika 27).



Slika 27. Prikaz porasta UBB-a pri temperaturama od 22°C i 37°C u razdoblju od 2002. do 2016. g. (AG– AS, JPS, AA, T, LP, IA i J agencija, BG– BP i BC brodogradilište)

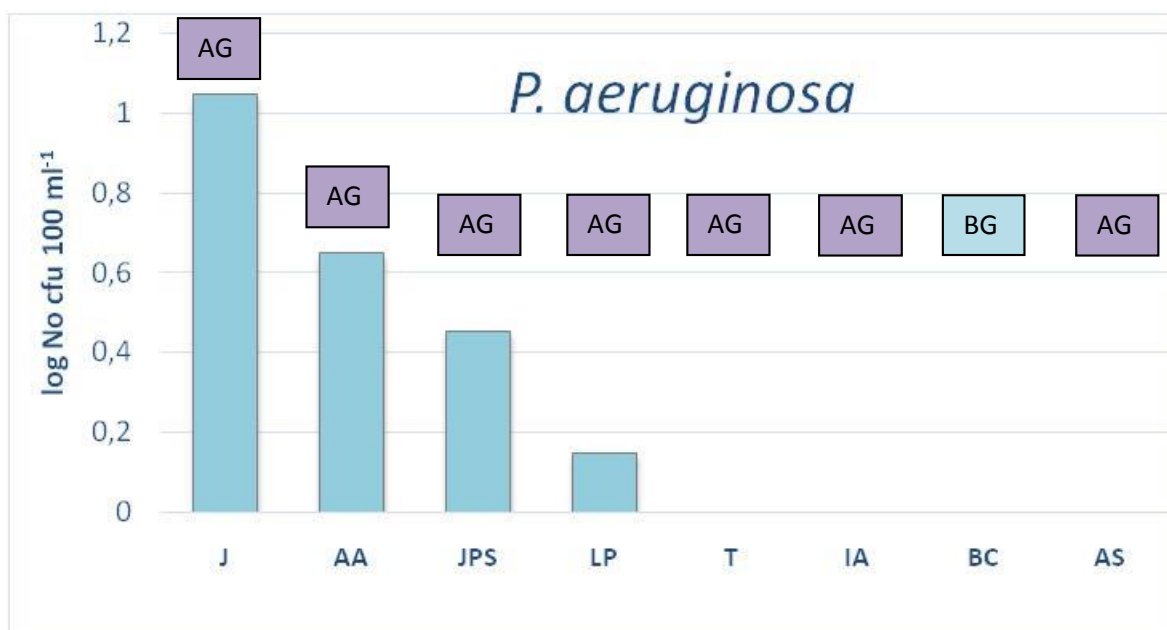
Što se indikatora fekalnog onečišćenja tiče, na slici 28 vidljivo je da je najveći porast ukupnih koliformnih bakterija zabilježen kod agencije T, a najmanji kod agencije LP. Prisutnost ukupnih koliformnih bakterija nije zabilježena kod agencija AS, JPS te IA. Najveći porast *E.coli* zabilježen je kod agencije LP dok se najmanji porast bilježi agencije AS. Porast *E.coli* nije zabilježen kod brodogradilišta BC te agencija T, J, JPS i IA. Najveći porast enterokoka zabilježen je kod agencije JPS dok je najmanji zabilježen kod AS agencije. Porast enterokoka nije zabilježen kod brodogradilišta BC te agencija T, J, AA i IA.



Slika 28. Prikaz porasta indikatora fekalnog onečišćenja (FIB – feecal indicator bacteria = ukupnih koliformnih bakterija – UKB; *E.coli*– EC, i enterokoka – ENT u razdoblju od 2002. do 2016. g. (AG – T, J, AA, LP, AS, JPS i IA agencija, BG – BC brodogradilište)

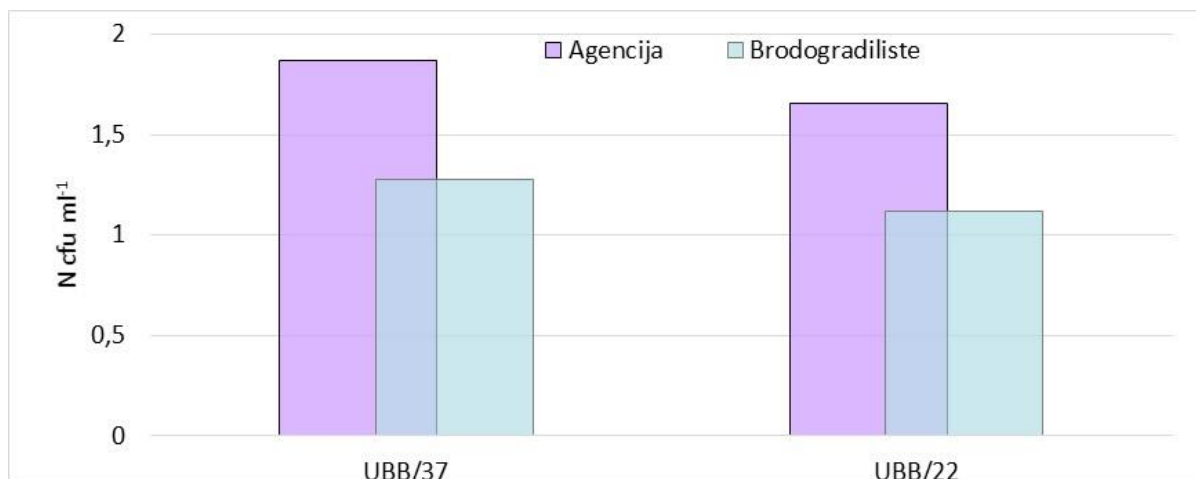
Najveći porast *P.aeruginosa* zabilježen je kod agencije J a najmanji kod agencije LP.

Prisutnost *P.aeruginosa* nije zabilježena kod brodogradilišta BC te agencija T, IA i AS.

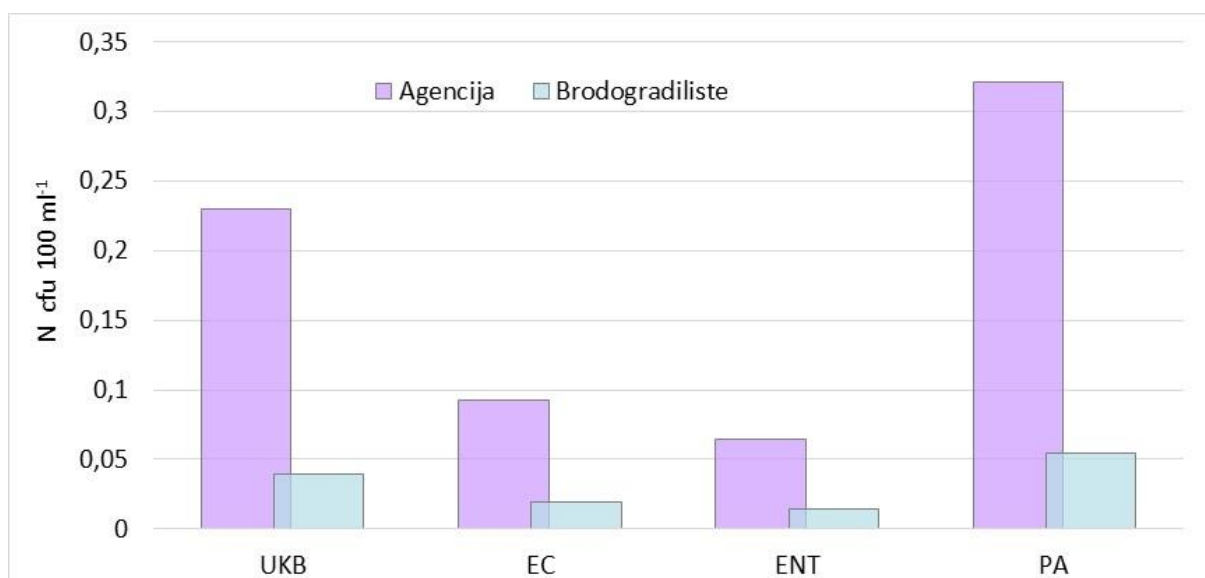


Slika 29. Prikaz porasta *Pseudomonas aeruginosa* u razdoblju od 2002. do 2016. g. (AG – J, AA, JPS, LP, T, IA i AS agencija, BG – BC brodogradilište)

Na slikama 30. i 31. prikazane su srednje vrijednosti rezultata mikrobioloških pokazatelja u uzorcima vode s brodova koji su na analizu u laboratorij doneseni na zahtjev agencije ili brodogradilišta.



Slika 30. Broj UBB/22 i UBB/37 u uzorcima vode dospjelih na analizu putem agencije vs brodogradilište, u razdoblju od 2002. do 2016. g. u



Slika 31. Broj FIB & PA (FIB – fecal indicator bacteria = ukupne koliformne bakterije – UKB; *E. coli* – EC, enterokoki – ENT & PA – *P. aeruginosa*) u uzorcima vode dospjelih na analizu putem agencije vs brodogradilište, u razdoblju od 2002. do 2016. g. u

T-test je pokazao statistički značajno veće vrijednosti svih ispitanih mikrobioloških pokazatelja (UBB/37, UBB/22, UKB, EC, ENT, PA) u uzorcima vode koji su doneseni od strane brodarskih agencija u odnosu na uzorke koji su analizirani na zahtjev brodogradilišta. Za pokazatelj UBB/37 u agencijskim uzorcima ($AS \pm SD = 1,87 \pm 1,21$ cfu/100 ml; N=110) u odnosu na ($AS \pm SD = 1,28 \pm 1,23$ cfu/100 ml; N=355); $t(465) = 4,39$, $P < 0,001$). Za pokazatelj UBB/22 u agencijskim uzorcima ($AS \pm SD = 1,65 \pm 1,27$ cfu/100 ml; N=110) u odnosu na brodogradilišta ($AS \pm SD = 1,12 \pm 1,20$ cfu/100 ml; N=355); $t(465) = 4,06$, $P < 0,001$). Za pokazatelj UKB u agencijskim uzorcima ($AS \pm SD = 0,23 \pm 0,67$ cfu/100 ml; N=110) u odnosu na brodogradilišta ($AS \pm SD = 0,04 \pm 0,24$ cfu/100 ml; N=355); $t(465) = 4,5$, $P < 0,001$). Za pokazatelj EC u agencijskim uzorcima ($AS \pm SD = 0,09 \pm 0,41$ cfu/100 ml; N=110) u odnosu na brodogradilišta ($AS \pm SD = 0,02 \pm 0,16$ cfu/100 ml; N=355); $t(465) = 2,8$, $P = 0,005$). Za pokazatelj ENT u agencijskim uzorcima ($AS \pm SD = 0,06 \pm 0,33$ cfu/100 ml; N=110) u odnosu na brodogradilišta ($AS \pm SD = 0,01 \pm 0,11$ cfu/100 ml; N=355); $t(465) = 2,5$, $P = 0,01$). Za pokazatelj PA u agencijskim uzorcima ($AS \pm SD = 0,32 \pm 0,83$ cfu/100 ml; N=110) u odnosu na brodogradilišta ($AS \pm SD = 0,05 \pm 0,37$ cfu/100 ml; N=355); $t(465) = 4,7$, $P < 0,001$). T-testom nije utvrđena statistički značajna razlika u ove dvije kategorije uzoraka između niti jednog fizikalno-kemijskog parametra.

4.6 Korelacijska analiza

Korelacijska analiza (N = 390) ukazala je na uglavnom dobru korelaciju mikrobioloških parametara s nešto slabijom korelacijom s fizikalno-kemijskim parametrima (Tablica 1). Naj snažnija korelacija utvrđena između UBB/37 & UBB/22 ($r=0,83$, $p<0,05$), te UKB sa EC ($r=0,70$, $p<0,05$) i ENT ($r=0,42$, $p<0,05$). Osim s ukupnim koliformima, EC pokazuje pozitivnu statistički značajnu korelaciju s ENT, UBB/22 i UBB/37 ($0,13<r<0,45$, $p=0,05$). UBB/37 & UBB/22 su statistički značajno pozitivno povezani i s UKB ($0,14<r<0,17$, $p=0,05$) mutnoćom ($0,13<r<0,19$, $p<0,05$), eV ($r=0,10$, $p<0,05$). UBB/22 statistički je značajno pozitivno povezan i s ENT ($r=0,11$, $p<0,05$).

Vrijednosti pH su u negativnoj značajnoj korelaciji s svim mikrobiološkim pokazateljima, izuzev ENT ($-0,11<r<-0,15$, $p<0,05$). $KMnO_4$ je u pozitivnoj statistički značajnoj korelaciji s EC & ENT ($0,13<r<0,14$, $p<0,05$)

Tablica 1. Matrica linearne korelacije između fizikalno-kemijskih i mikrobioloških parametara

	M	pH	eV	$KMnO_4$	UKB	EC	ENT	UBB/3 7	UBB/2 2
M	1,00								
pH	0,11	1,00							
eV	0,06	0,12	1,00						
$KMnO_4$	0,04	0,05	0,01	1,00					
UKB	0,01	-0,13	0,06	0,08	1,00				
EC	0,01	-0,11	0,06	0,14	0,70	1,00			
ENT	0,03	0,02	0,05	0,13	0,42	0,45	1,00		
UBB/37	0,19	-0,14	0,10	-0,05	0,14	0,13	0,09	1,00	
UBB/22	0,13	-0,15	0,10	0,05	0,17	0,16	0,11	0,83	1,00

M – mutnoća (NTU); eV – elektrovodljivost ($\mu S/cm$); $KMnO_4$ –pergamanatni indeks (O_2 mg/l); UKB – ukupne koliformne bakterije (cfu/100 ml); EC –*E. coli* (cfu/100 ml); ENT – enterokoki (cfu/100 ml); UBB/37 i UBB/22 – ukupni broj bakterija na temperaturi inkubacije 37 odn. 22 °C (cfu/ml); cfu – colony forming unit – broj izraslih kolonija

5. RASPRAVA

Temeljem analize i prikaza rezultata ispitivanja kakvoće vode s brodova iz luka ili brodogradilišta utvrđeno je da postoji razlika po godinama, mjesecima, sezonama i vrsti subjekta koji dostavlja vodu na analizu. Ukupno je analizirano 478 uzoraka vode s različitih tipova brodova.

Analiza rezultata po godinama prikazuje da je najveći porast ukupnog broja bakterija (UBB) pri temperaturama od 22°C i 37°C zabilježen 2002. i 2006. godine. Analizom rezultata po mjesecima dolazimo do zaključka da je najveći porast UBB/37 i UBB/22 zabilježen u listopadu dok je analiza rezultata prema sezonama prikazala statistički značajno povećanje UBB/37 i UBB/22 tijekom jeseni. Iz navedenog možemo zaključiti da porastu ukupnog broja bakterija (UBB) pogoduje jesenska temperatura vode koja je u to doba još uvijek relativno visoka. Brojna istraživanja pokazala su da promjene temperature vode mogu utjecati ne samo na inicijalno privlačenje bakterija na površinu vode, već i na učestalost formiranja biofilma (29). Međutim, učinak stvaranja biofilma jedinstven je za svaku vrstu bakterija. Formiranje biofilma pridonosi pojavi bakterije *P. aeruginosa*, prvenstveno pokazatelja neadekvatnog održavanja vodoopskrbnog sustava u objektima koji predstavljaju opasnost za zdravlje osjetljive populacije kao što su djeca, starije osobe, trudnice i oboljele osobe. Najveći broj poraslih bakterija *P. aeruginosa* u provedenom ispitivanju zabilježen je 2014. godine dok se prema analizi rezultata po sezonama *P. aeruginosa* u najvećem broju pojavljuje u jesen. Iz navedenih rezultata možemo zaključiti da porastu *P.aeruginosa* odgovara relativno visoka temperatura vode. Međutim, bitno je za naglasiti da je prisutnost *P.aeruginosa* praćena tek posljednje tri godine istraživanog razdoblja (2014. – 2016.).

Najveći broj ukupnih koliformnih bakterija (UKB) zabilježen je 2008. i 2015. godine. Tijekom 2008. godine koncentracija *E. coli* i enterokoka bila je statistički značajno veća u

odnosu na ostale promatrane godine. Prema tome se može zaključiti da je 2008. g. voda u brodskim spremnicima bila fekalno najopterećenija.

Istraživanje provedeno 2008. g. u slivu rijeke Hue City u Vijetnamu također prikazuje fekalno onečišćenje vode za piće o brodskim tankovima (30). Cilj spomenutog istraživanja bio je ispitati kvalitetu vode koja je pohranjena u spremnicima na brodovima. Voda je prikupljena iz ukupno 766 spremnika te je analizirana prisutnost *E.coli*, ukupnih koliformnih bakterija te enterobakterija metodom suhog filma. *E.coli*, ukupne koliformne bakterije (više od deset različitih sojeva) kao i enterobakterije dokazane su u 25,7%, 44,5% i 51,5% ispitanih uzoraka, u 1 ml vode za piće pohranjene u spremnicima na brodovima. Bakterijska kontaminacija bila je povezana s korištenjem riječne vode kao izvora pitke vode bez prethodnog pročišćavanja.

Usporedbom rezultata provedenih istraživanja može se zaključiti da je kakvoća vode na brodovima u Vijetnamu lošija od vode ispitane iz brodskih tankova Primorsko-goranske županije. Razlog tome je što je u Vijetnamu korištena riječna vode koja prethodno nije bila pročišćena, dok se u Primorsko-goranskoj županiji brodski tankovi pune s zdravstveno ispravnom vodom iz javnih vodoopskrbnih sustava, koja obavezno prolazi proces dezinfekcije vode. Prema tome uvođenjem sustava pročišćavanja vode, rezultati kakvoće vode na brodovima u Vijetnamu, nesumnjivo bi se poboljšali.

Analizom rezultata prema mjesecima i sezonama uočeno je da je porast pokazatelja UBB bio najveći u listopadu odnosno u jesen, a indikatora fekalnog onečišćenja (FIB = UKB, EC, ENT) u srpnju i listopadu (s pikom UKB i u kolovozu), a porast enterokoka u ljeto. Koliformne bakterije najpogodnija su grupa indikatorskih bakterija koje nam služe za vrednovanje higijenske kvalitete vode (31). Uobičajeno su prisutne u našem okruženju i uglavnom nisu štetne. Međutim, prisutnost ovih bakterija u vodi za piće može biti posljedica problema sa sustavima za pročišćavanje voda ili sa crijevima koja distribuiraju vodu do krajnjeg potrošača.

Iz navedenih rezultata može se zaključiti da porastu fekalnih indikatorskih bakterija (FIB-a) pogoduje viša temperatura vode. Za pokazatelj PA najveći porast zabilježen je u listopadu odnosno u jesen.

Najveća vrijednost organskog opterećenja vode (KMnO_4) izmjerena je u mjesecu rujnu. Najveće zamućenje vode zabilježeno je u studenom i prosincu, a najintenzivnija boja vode u studenom. Iz navedenog se može zaključiti da zamućenju i intenzivnijoj boji vode pogoduju zimski mjeseci, kada su oborine intenzivnije.

Prema subjektima koji dostavljaju vodu na analizu utvrđeno je da je kakvoća uzoraka vode koje dostavljaju brodogradilišta bolja u odnosu na vodu dostavljenu od strane agencija, što ukazuje na bolje funkcioniranje cijelog sustava i bolju educiranost osoblja unutar brodogradilišta.

Kako bi se pratila sigurnost vode na brodu potrebno je pojedine parametre pratiti na licu mjesta. Vrlo važan parametar je koncentracija klora, koji se zbog svoje jednostavnosti i rezidualnog dezinfekcijskog djelovanja danas najčešće koristi u svrhu dezinfekcije. Dezinfekcija klorom pokazala se kao izrazito učinkovita mjera u sprječavanju bolesti koje se prenose vodom (32). Slobodni i ukupni klor poželjno je mjeriti za vrijeme provedbe dezinfekcije, nakon dezinfekcije a po potrebi i češće. Postoje nacionalni standardi koji se razlikuju u razinama kloriranja vode. Tako je u Americi minimalna dopuštena razina slobodnog klora 0,2 mg/l, dok je u Europi maksimalna dopuštena koncentracija oko 0,6 mg/l (33).

Uzorci koji su dostavljeni u laboratorij uzorkovani su od strane osoba zaposlenih u agenciji ili brodogradilištu. Uzorkovanje nije izvršeno od strane ovlaštene osobe, te pri uzorkovanju nije provedeno mjerenje razine klora. Temeljem udjela zdravstveno neispravnih uzoraka (82,4% ukupno zdravstveno neispravnih, 81,4% mikrobiološki neispravnih) može se zaključiti da je razina klora kod većine uzoraka bila preniska. Potrebno je da uzorkovanje provode posebno

educirane i za taj posao ovlaštene osobe, koje prilikom uzorkovanja prikupe sve potrebne informacije i provedu sva potrebna mjerenja. Na taj se način stvara šira slika kakvoće uzorkovane vode.

Međutim, postoji i niz čimbenika koji mogu utjecati na učinkovitost dezinfekcije. Jedan od čimbenika je mutnoća čija je najveća vrijednost zabilježena u jesenskoj sezoni (sr. vr. 2,75 NTU). Dezinfekcija mutne vode nije efikasna, pri čemu također postoji mogućnost nastanka potencijalno toksičnih nusprodukata dezinfekcije, koji prethodno nisu bili prisutni u vodi (32). Zbog toga je zamućenu vodu potrebno prije postupka dezinfekcije nužno izbistriti.

Optimalni pH ovisi o vodi kao i materijalima koji se koriste u sustavu distribucije pitke vode. Najbolji učinak dezinfekcije dokazan je u vodama koje su bile slabo kisele do neutralne pH vrijednosti. Prije dezinfekcije moguće je korigirati pH vrijednost dodavanjem različitih kemikalija. Najveća pH vrijednost u ispitivanim uzorcima izmjerena je 2006. godine (8,9). Voda je bila slabo bazična, što smanjuje efikasnost dezinfekcije. Iste godine zabilježen je i najveći porast ukupnog broja bakterija (UBB) pri temperaturama od 22°C i 37°C, parametara koji su primarno pokazatelji učinka dezinfekcije. Stoga se može zaključiti da 2008. godine dezinfekcija vode nije adekvatno provedena.

Kao manjak u ispitivanju vode s brodova u Republici Hrvatskoj može se navesti nedostatak ispitivanja na pokazatelj *Legionella*. Kada se temperatura vode nalazi u kritičnom rasponu od 25-50°C potrebno je ispitati prisutnost *Legionella*, kako bi se mogao procijeniti zdravstveni rizik za potrošače. Uzorkovanje mora obaviti kvalificirano osoblje, na način da postupak uzorkovanja ne utječe na dobivene rezultate ispitivanja. Prilikom uzorkovanja potrebno je koristiti sterilne boce (najčešće od 1 L) i voditi se postupcima definiranim ISO 19458. Ispitivanje uzoraka provodi se u akreditiranim laboratorijima pomoću standardnih metoda.

Prilikom uzorkovanja potrebno je voditi računa o veličini uzoraka, što ovisi o količini vode u spremniku. Jedan uzorak uzima se direktno iz spremnika za pitku vodu, te predstavlja kvalitetu vode na početku broskog sustava pitke vode. Drugi uzorak uzima se sa slavine, te predstavlja kvalitetu vode za potrošača. Tijekom mikrobiološke analize poželjno je ispitati prisutnost *P.aeruginosa* te dodatno *Legionella*. U slučaju testiranja vode na *Legionella* vrste, potrebno je uzeti najmanje jedan uzorak tople i jedan uzorak hladne vode. U cilju dobivanja potpunije slike, uzorkovanje se može izvršiti na više točaka. Temeljem prethodno navedenog može se zaključiti da bi Pravilnik o parametrima sukladnosti i metodama analize vode za ljudsku potrošnju (NN 125/2013, 141/2013 i 128/2015) trebalo nadopuniti uključenjem pokazatelja *Legionella*, čime bi se smanjio zdravstveni rizik za potrošača vode.

6. ZAKLJUČCI

- Najveći porast UBB pri 22°C i 37°C zabilježen je 2002. i 2006. g., s padajućim trendom; EC & ENT 2008. g. s padajućim trendom, UKB 2008. i 2015. g. s rastućim trendom, PA 2014. godine s padajućim trendom. Od fizikalno-kemijskih pokazatelja najveća pH vrijednost zabilježena je 2006. g., što se podudara s najvišim vrijednostima UBB, a ukazuje na smanjenu efikasnost dezinfekcije
- Prema mjesecima najveći porast UBB/37 i UBB/22 zabilježen je u listopadu. Broj fekalnih indikatorskih bakterija bio je najveći u srpnju i listopadu (UKB i u kolovozu), PA u listopadu. Od fizikalno-kemijskih pokazatelja najveće organsko opterećenje vode (KMnO₄) izmjereno je u rujnu, mutnoća vode u studenom i prosincu, boja vode u studenom
- Prema sezonama najveći porast UBB pri 22°C i 37°C zabilježen je tijekom jeseni, enterokoka u ljeto, PA također tijekom jeseni. Od fizikalno-kemijskih pokazatelja najveća mutnoća vode zabilježena je jesen
- Korelacijska analiza rezultata pokazala je uglavnom dobru korelaciju različitih mikrobioloških parametara, te nešto slabiju korelaciju između fizikalno-kemijskim i mikrobioloških parametara
- Analiza rezultata kakvoće vode agencija u odnosu na brodogradilište pokazala je bolju kakvoću vode kod brodogradilišta
- U cilju efikasnije kontrole kakvoće vode i unaprjeđenja zaštite potrošača, potrebno je rutinski ispitivati koncentraciju rezidualnog klora i prisutnost *Legionella*

7. LITERATURA

1. Creative Commons . Kakvoća vode. Wikipedia. 2017; 1.

Dostupno na : https://hr.wikipedia.org/wiki/Kakvo%C4%87a_vode

Pristupljeno: 05.04.2017

2. Narodne novine.

Dostupno na : http://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2013_10_125_2694.html

Pristupljeno: 09.04.2017

3. European Commission Directorate General for Health and Consumers, European Manual for Hygiene Standards and Communicable Diseases Surveillance on Passenger Ships, Greece, 2011.:73-84

4. World Health Organization, *Legionella* and the prevention of legionellosis, Geneva, 2007.: 59

5. Centers for Disease Control and Prevention.

Dostupno na : <http://www.cdc.gov/nceh/vsp>

Pristupljeno: 12.04.2017.

6. Clarisse. Difference Between Blackwater and Greywater. Difference Between. 2011;1.

Dostupno na : <http://www.differencebetween.com/difference-between-blackwater-and-vs-greywater/>

Pristupljeno: 20.04.2017.

7. Hrenović J.. Koliformne bakterije. e-skola.

Dostupno na : <http://e-skola.biol.pmf.unizg.hr/odgovori/odgovor258.htm>

Pristupljeno: 29.04.2017.

8. WebMD.

Dostupno na : <http://www.webmd.com/a-to-z-guides/tc/e-coli-infection-topic-overview#2>

- Pristupljeno: 03.05.2017.
9. Rathore M.H. Legionella Infection. Medscape. 2016; 1.
Dostupno na : <http://emedicine.medscape.com/article/965492-overview>
Pristupljeno: 08.05.2017.
10. National Center for Immunization and Respiratory Diseases, Division of Bacterial Diseases. *Legionella* (Legionnaires' Disease and Pontiac Fever). Centers for Disease Control and Prevention. 2016; 1. Dostupno na :
<https://www.cdc.gov/legionella/about/signs-symptoms.html>, Pristupljeno: 10.05.2017.
11. Dao C. Pseudomonas aeruginosa. Microbe Wiki. 2016; 1.
Dostupno na : https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Pseudomonas_aeruginosa
Pristupljeno: 11.05.2017.
12. Todar K. *Pseudomonas*. Todar's online textbook of bacteriology. 2012; 2.
Dostupno na: http://textbookofbacteriology.net/pseudomonas_2.html
Pristupljeno: 15.05.2017.
13. Frece J., Markov K., Uvod u mikrobiologiju i fizikalno-kemijsku analizu, Celje, C.
VISTA 2015.: 32, 43
14. HRN EN ISO 6222:2000 Kakvoća vode - Brojenje uzgojenih mikroorganizama - Broj kolonija nacjepljivanjem na hranjivi agar (ISO 6222:1999; EN ISO 6222:1999)
15. EN ISO 9308-1:2000 Kvaliteta vode - Određivanje i brojenje *Escherichia coli* i koliformnih bakterija - Dio 1: Metoda membranske filtracije
16. HRN EN ISO 7899-2:2000 Kakvoća vode - Brojenje uzgojenih mikroorganizama - Broj kolonija nacjepljivanjem na hranjivi agar (ISO 6222:1999; EN ISO 6222:1999)
17. HRN EN ISO 16266:2008 Kvaliteta vode. Otkrivanje i brojenje *Pseudomonas aeruginosa*. Metoda membranske filtracije

18. Hrvatski Zavod za Javno Zdravstvo.
Dostupno na : <http://www.zzjzdnz.hr/> , Pristupljeno: 20.05.2017.
19. EN ISO 7887:2011 Kvaliteta vode - Ispitivanje i određivanje boje
20. HRN EN ISO 7027-1:2016 Kvaliteta vode - Određivanje zamućenosti - Dio 1:
Kvantitativne metode
21. HRN EN ISO 10523:2012 Kvaliteta vode - Određivanje pH vrijednosti (ISO
10523:2008; EN ISO 10523:2012)
22. HRN EN 27888:2008 Kvaliteta vode - Određivanje električne vodljivosti (ISO
7888:1985; EN 27888:1993)
23. EN ISO 8467:2001 Kakvoća vode - Određivanje permanganatnog indeksa (ISO
8467:1993; EN ISO 8467:1995)
24. Šošić I., Primijenjena statistika,2. izmijenjeno izdanje, Zagreb, Školska knjiga
2006.:41
25. Meths&Stats.
Dostupno na : <http://users.monash.edu/~smarkham/resources/anova.htm>
Pristupljeno: 03.06.2017.
26. Laerd statistics.
Dostupno na : <https://statistics.laerd.com/statistical-guides/one-way-anova-statistical-guide-4.php>
Pristupljeno: 04.06.2017.
27. Creative Commons Attribution-ShareAlike License. Tukey's range test. Wikipedia.
2017; 1.
Dostupno na : https://en.wikipedia.org/wiki/Tukey%27s_range_test
Pristupljeno: 04.06.2017.

28. HRN EN ISO 11731-2 Kakvoća vode-Detekcija i brojenje Legionella-2. dio: Izravna metoda membranske filtracije za vode s malim brojem bakterija (ISO 11731-2:2004; EN ISO 11731-2:2008)
29. Liu S, Gunawan C, Barraud N, Rice SA, Harry EJ, Amal R. Understanding, Monitoring, and Controlling Biofilm Growth in Drinking Water Distribution Systems. PubMed. 2016; 1.
Dostupno na : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27479445>
Pristupljeno: 06.06.2017.
30. Seino K, Takano T, Quang NK, Watanabe M, Inose T, Nakamura K. Bacterial quality of drinking water stored in containers by boat households in Hue City, Vietnam. PubMed.2008;1.
Dostupno na : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19568906>
Pristupljeno: 08.06.2017.
31. Hydrolux Project Team. Bakteriološka zagađenja vode-bakterije u vodi. The Power of Water HYDROLUX. 2015; 1.
Dostupno na : <http://www.hydrolux.info/english/06%20problemi/bakterije-u-vodi.html>
Pristupljeno: 19.06.2017.
32. Capak K., Dadić Ž.. Dezinfekcija vode. PLIVAsept. 2014; 1.
Dostupno na : <http://www.pliva-sept.hr/dezinfekcija-vode.html#17053>
Pristupljeno: 21.06.2017.
33. World Health Organization, Handbook for Inspection of Ships and Issuance of Ship Sanitation Certificates, Geneva, 2005.: 90

ŽIVOTOPIS

Ime i prezime: Ema Javornik

Ime oca i majke: Stjepan i Josipa

Datum rođenja: 07.04.1993.

Mjesto rođenja: Zabok, Hrvatska

Državljanstvo : Hrvatsko

Narodnost: Hrvatica

Bračno stanje: Neoženjena

Adresa i telefon: Vrhi Pregradski 51, Pregrada, 49218 Pregrada, 098/9948-443

Školovanje:

2000. - 2008. Osnovna škola Janka Leskovara, Pregrada

2008. - 2012. Srednja škola Pregrada, zubotehničar

2012. - 2015. Zdravstveno Veleučilište Zagreb, Preddiplomski sveučilišni studij sanitarnog inženjerstva

2015. - 2017. Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Diplomski sveučilišni studij sanitarnog inženjerstva

