

# Prisutnost *P. aeruginosa* u distribucijskim sustavima vode za piće u Primorsko-goranskoj županiji

Darija Vukić Lušić<sup>1,2,3</sup>, Zvezdana Herceg<sup>1</sup>, Arijana Cenov<sup>2,3</sup>, Marin Glad<sup>2,3</sup>, Dražen Lušić<sup>1,2</sup>,

<sup>1</sup>Medicinski fakultet Sveučilište u Rijeci

<sup>2</sup>Hrvatska udruga za sanitarno inženjerstvo – Komora sanitarnih inženjera i tehničara, Rijeka

<sup>3</sup>Nastavni zavod za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije, Rijeka

## SAŽETAK

Kontrola zdravstvene ispravnosti vode za ljudsku potrošnju definirana je Zakonom o vodi za ljudsku potrošnju (NN 56/2013, 64/2015) te Pravilnikom o parametrima sukladnosti i metodama analize vode za ljudsku potrošnju (NN 125/2013, 141/2013, 128/2015). Primjena ovog Pravilnika započela je 2014. g., a između ostalih promjena u odnosu na prethodni Pravilnik o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće (NN 47/2008), novi Pravilnik definira da zdravstveno ispravna voda za ljudsku potrošnju ne smije sadržavati bakteriju vrste *P. aeruginosa*, slobodno živući, oportunistički patogen. Obzirom da iz razdoblja prije primjene aktualnog Pravilnika ne raspolažemo podacima o prisustvu *P. aeruginosa* u vodi 9 vodoopskrbnih sustava Primorsko-goranske županije (PGŽ), cilj ovog istraživanja bila je analiza i interpretacija rezultata županijskog monitoringa kakvoće vode za piće. Također, aktualni hrvatski propisi koji reguliraju ovo područje uspoređeni su s legislativom drugih zemalja i nacionalnih zdravstvenih organizacija, u regiji i svijetu.

U razdoblju od 2014. do 2016. g. ukupno je na ovaj pokazatelj ispitano 2 753 uzorka vode. Prisustvo *P. aeruginosa* dokazano je u 8 uzoraka (0,3 %), u rasponu od 1 – 2 000 cfu/100 ml. Pozitivni uzorci bili su nejednoliko distribuirani po vodovodima (3 pozitivna uzorka na području Delnica i 3 na području Čabra). Korelacijska analiza pokazala je značajnu pozitivnu povezanost *P. aeruginosa* sa svim ostalim mikrobiološkim pokazateljima (UBB/37, UBB/22, koliformnim bakterijama, *E. coli*, enterokokima te sa mutnoćom, provodljivosti i organskim opterećenjem izraženim kao KMnO<sub>4</sub>). Zemlje u regiji (izuzev Srbije), zatim EPA (eng. U.S. Environmental Protection Agency, američka Agencija za zaštitu okoliša) i WHO (eng. World Health Organisation, Svjetska zdravstvena organizacija) kroz svoje zakonodavstvo ili preporuke ne propisuju ispitivanje *P. aeruginosa* u vodi za ljudsku potrošnju iz vodoopskrbnog sustava. Unatoč širokoj rasprostranjenosti *P. aeruginosa* u mokrim i vlažnim okolišima, udio pozitivnih uzoraka vode vodoopskrbnih sustava u PGŽ je nizak, što je u skladu s podacima iz literature. Prisutnost ove vrste u vodi za piće vjerojatno je u većoj mjeri povezana s sposobnošću kolonizacije biofilma u vodovodnim instalacijama i uređajima, nego s prisutnošću ove bakterije u tretiranoj vodi za piće. Hrvatska je jedna od rijetkih zemalja koja je ovaj parametar uključila u rutinsku analizu ispravnosti vode za ljudsku potrošnju. Generalno se smatra da *P. aeruginosa* za opću populaciju ne predstavlja zdravstveni rizik, već da je rizik prisutan za imunokompromitirane osobe (u bolnicama, jedinicama intenzivne njege).

*Ključne riječi:* *Pseudomonas aeruginosa*, zdravstvena ispravnost vode, vodoopskrbna mreža, mikrobiološki pokazatelji, biofilm, imunokompromitirani bolesnici

## 1. Uvod

*Pseudomonas aeruginosa* je mikroorganizam široko rasprostranjen u okolišu. Prirodno je prisutan u vodenoj sredini (slatkoj i morskoj vodi), tlu, biljkama i životinjama. U visokim koncentracijama javlja se u otpadnim te posljedično u površinskim vodama, koje su recipijenti otpadnih voda.

*P. aeruginosa* je Gram-negativan, ne-fermentativan, aeroban, ravan štapić s jednom polarnom flagelom (WHO, 2011). Veličine je 2-4  $\mu\text{m}$  x 0,5-1  $\mu\text{m}$ . Fimbrije su važan element ove bakterije, kao i mukozni omotač, koji može obaviti jednu ili više bakterijskih stanica. Sposoban je umjesto kisika kao krajnjeg elektron akceptora koristiti nitrata, što mu u određenim uvjetima omogućava rast u anaerobnim i mikroaerofilnim uvjetima. Većina vrsta roda *Pseudomonas* neće rasti pri pH vrijednosti ispod 4,5 (Mena i Gerba, 2009). Zbog minimalističkih nutritivnih zahtjeva *P. aeruginosa* raste na velikom broju hranjivih podloga, a porast je zabilježen i u destiliranoj vodi. Optimalna temperatura za rast i razvoj je 37 °C, a raste u rasponu od 10 do 42 °C. *P. aeruginosa* producira nekoliko pigmenata, koji djeluju kompetitivno prema drugim bakterijama i gljivicama u njegovom okolišu. Često se u identifikaciji *P. aeruginosa* koristi njegovo svojstvo stvaranja plavo-zelenog ne-flourescentnog pigmenta piocijanina (kojeg u rodu *Pseudomonas* stvara samo vrsta *P. aeruginosa*), zeleno-žutog flourescentnog pigmenta pioverdina, a također i crvenog pigmenta piorubina i tamnosmeđeg piomelanina (Bédard *i dr.*, 2016).

*P. aeruginosa* je oportunistički patogen. Može uzrokovati niz infekcija, ali rijetko kod zdrave osobe bez predisponirajućih čimbenika uzrokuje ozbiljnu bolest. Čišćenje kontaktnih leća s kontaminiranom vodom može dovesti do upale rožnice oka – keratitisa (WHO, 2011). Generalno, nema dokaza da konzumacija vode za piće predstavlja izvor infekcije za opću populaciju. Međutim, *P. aeruginosa* je prepoznat kao uzročnik intrahospitalnih infekcija, s potencijalno ozbiljnim komplikacijama. Mnogi sojevi rezistentni su na širok spektar antibiotika, što čini terapiju bolesnika još kompleksnijom. Uglavnom kolonizira oštećena mjesta na koži, kao što su opekline i kirurške rane, te dišni sustav osoba s nekim temeljnim bolestima. Imunokompromitirane osobe (posebice one smještene na JIL-u – jedinici intenzivnog liječenja) posebno su sklone kolonizaciji *P. aeruginosa*, što može dovesti do ozbiljnih progresivnih plućnih infekcija (WHO, 2011), a kod nekih se osoba kolonizira i gastrointestinalni trakt. Zauzima vodeće mjesto kao uzročnik kroničnih infekcija pluća i dišnih puteva kod osoba koje boluju od cistične fibroze, upale pluća povezane s mehaničkom ventilacijom (engl. Ventilator associated pneumonia, VAP) i pneumonije povezane s medicinskom njegom (engl. Healthcare-associated pneumonia, HCAP) (Gužvinec *i dr.*, 2012).

Glavni put izloženosti *P. aeruginosa* su kolonizirane slavine, sudoperi, kade, tuševi, aparati za vodu, aparati za led, spa bazeni i sustavi tople vode (WHO, 2011). Dakle, u pitanju su mjesta na kojima je prisutna stalna vlaga, a često i dovoljno visoka temperatura koja pogoduje rastu i razvoju ove

bakterije. Rast bakterije nije direktno vezan za prisustvo organske tvari u vodi, te je moguć njen porast u velikom broju i u vodi koja nije opterećena organskom tvari (Leclerc *i dr.*, 2002). Kod ambalažirane vode pogoršanje mirisa, okusa i pojava zamućenja može biti povezana s povećanim brojem *P. aeruginosa*.

Obzirom na visoku infektivnu dozu ove bakteriju ( $10^8$  do  $10^9$  cfu), uvjet prijenosa zaraze putem vode je vrlo visoka koncentracija *P. aeruginosa*, što oboljenja zdravih osoba čini iznimno rijetkim (WHO, 2011). Međutim infektivna doza je smanjena u slučajevima osoba s oslabljenim imunološkim sustavom i pacijenata koji uzimaju antibiotsku terapiju (Rusin *i dr.*, 1997).

Postupkom dezinfekcije koja se provodi u adekvatnim uvjetima broj *P. aeruginosa* moguće je smanjiti (WHO, 2011). Njegova rezistentnost prema djelovanju klora ocjenjena je kao „srednja“, a u vodoopskrbnom sustavu pokazuje sposobnost umnažanja (WHO, 2011). Međutim, problem smanjenog učinka dezinficijensa javlja se zbog izraženog afiniteta *P. aeruginosa* prema stvaranju biofilma. Biofilm je tanki sloj koji nastaje na površinama koje su u stalnom dodiru s vodom, odnosno međusobno slijepljena nakupina stanica koju su stvorili mikroorganizmi. Mikroorganizmi, hranjive tvari, i površina u konstantnom kontaktu s vodom osnovni su čimbenici nastanka biofilma (Colvin *i dr.*, 2012). Za biofilm se veže većina bakterija, ali u slučaju kada voda stagnira duže vrijeme neke bakterije postanu slobodno plutajuće (planktonske). Iako standardno tretiranje vode uklanja najveći broj mikroorganizama, u velikim vodovodnim sustavima, zbog njihove kompleksnosti, postoje brojna područja gdje može doći do formiranja biofilma. Neredovito korišteni priključci, nemetalni materijali za izradu cijevi, slijepi završeci i krajnji završeci su mjesta gdje voda često stoji ili su mjesta nakupljanja organskog materijala, što ih čini pogodnima za razvoj biofilma. *P. aeruginosa* je bakterija koja ima oksidacijski metabolizam ugljikohidrata pa stoga najviše uspijeva na krajnjim dijelovima vodovodnih sustava, gdje je i najveća količina kisika. Tako se *P. aeruginosa* u povoljnim uvjetima brzo razmnožava i formira biofilm, a za površinu materijala razvodne mreže veže se ekstracelularnom polimernom supstancom (EPS) (Xue *i dr.*, 2013). Jednom kada se biofilm u vodoopskrbnoj mreži formirao, njegovo uklanjanje predstavlja veliki izazov. Prije postupka dezinfekcije biofilm je potrebno fizički ukloniti i/ili primijeniti biodisperzante (kemijska sredstva za rastvaranje).

Značajan utjecaj na mogućnost kolonizacije dijelova vodoopskrbnog sustava i stvaranje biofilma ima izvedba distribucijske mreže, odabir vodovodnog materijala, dizajn ventila i tip slavina. Plastični i elastomerni materijali (polipropilen, polietilen, PVC, silikon, lateks) podržavaju nastanak debljeg sloja biofilma u odnosu na staklo, bakar i nehrđajući čelik (Bédard *i dr.*, 2016). Vezano za izabrani tip slavine, brojne studije, provedene većinom u bolničkim sredinama, ukazale su da elektronske slavine (bezkontaktne, senzorske) predstavljaju važan izvor *P. aeruginosa*, te da je pojavnost u ovom tipu slavina značajno veća u odnosu na ručne slavine. U istraživanju provedenom u bolnici u Austriji

(Halabi *i dr.*, 2001) ispitano je 38 elektronskih (bezkontaktnih, senzorskih) slavina, od čega su 23 slavine bile su s toplom vodom, a 15 slavina s hladnom i vrućom vodom. 74 % slavina s toplom vodom te 7 % slavina s hladnom i vrućom vodom pokazalo je kontaminaciju *P. aeruginosa*. Pri tome je važno za napomenuti da niti jedan uzorak nije bio opterećen indikatorima fekalnog onečišćenja. Detaljnijom analizom ustanovljeno je da je izvor onečišćenja kontaminirani magnetski ventil i samo izljevno mjesto, dok u centralnom vodoopskrbnom sustavu *P. aeruginosa* nije dokazan. Zaključeno je da je kontaminacija elektronskih slavina bila posljedica slabog protoka vode kroz ovaj tip slavine, niskog pritiska, te zaostale vode u slavini s temperaturom oko 35 °C, što predstavlja gotovo idealne uvjete za rast *P. aeruginosa*. Dodatno, materijali poput gume, PVC-a i sl., korišteni za izradu ovih slavina povećavali su adheziju *P. aeruginosa* i formiranje biofilma. Uslijedila je zamjena elektronskih slavina ručnim, nakon čega su infekcije prestale.

Dakle, *P. aeruginosa* se od ostalih mikroorganizama koji obitavaju u vodi izdvaja dobrom prilagodbom uvjetima okoliša zbog mogućnosti preživljavanja u širem temperaturnom rasponu te minimalnih hranidbenih zahtjeva.

U smjernicama za kakvoću vode za piće Svjetske zdravstvene organizacije, WHO (eng. World Health Organization) nisu navedeni kriteriji za vodu za piće iz javnog vodoopskrbnog sustava, obzirom da nema dokaza da voda predstavlja izvor infekcije bakterijom *P. aeruginosa* za opću populaciju, dok je dokaz prisustva ove bakterije značajan za bolničke sredine (WHO, 2011).

Američka Agencija za zaštitu okoliša, EPA (engl. U.S. Environmental Protection Agency, U.S. EPA), u svojim Nacionalnim smjernicama za vodu (engl. National Primary Water Regulations, NPDWRs) definira popis pokazatelja koje je u vodi potrebno ispitivati. Od mikrobioloških, navedeni su sljedeći pokazatelji koji ne smiju biti prisutni u vodi za piće: *Cryptosporidium*, *Giardia lamblia*, *Legionella*, ukupni koliformi (uključujući fekalne koliforme i *E. coli*) i enterični virusi dok se ispitivanje *P. aeruginosa* ne navodi (U.S. EPA, 2017).

Podaci o prisustvu *P. aeruginosa* u vodi za ljudsku potrošnju u devet vodoopskrbnih sustava Primorsko-goranske županije (PGŽ) dostupni su od 2014. g., kada je započela primjena Pravilnika o parametrima sukladnosti i metodama analize vode za ljudsku potrošnju (NN 125/2013, 141/2013, 128/2015) temeljena na Zakonu o vodi za ljudsku potrošnju (NN 56/2013, 64/2015). Iz prijašnjeg razdoblja ne raspolažemo podacima o prisustvu bakterije *P. aeruginosa* u vodoopskrbnoj mreži Primorsko-goranske županije, obzirom da navedeni pokazatelj nije bio uključen u ispitivanje zdravstvene ispravnosti vode za piće u rutinskom monitoringu.

Cilj ovog istraživanja bio je analiza i interpretacija rezultata županijskog monitoringa kakvoće vode za ljudsku potrošnju s obzirom na pojavnost *P. aeruginosa* u razdoblju od 2014. – 2016. g. Osim

toga, aktualna legislativa u Hrvatskoj uspoređena je s propisima drugih zemalja i nacionalnih zdravstvenih organizacija, u regiji i svijetu. Uvidom u literaturu o predmetnoj problematici, preispitana je relevantnost pokazatelja *P. aeruginosa*, te su navedene mjere kontrole rasta ove bakterije.

## 2. Materijali i metode

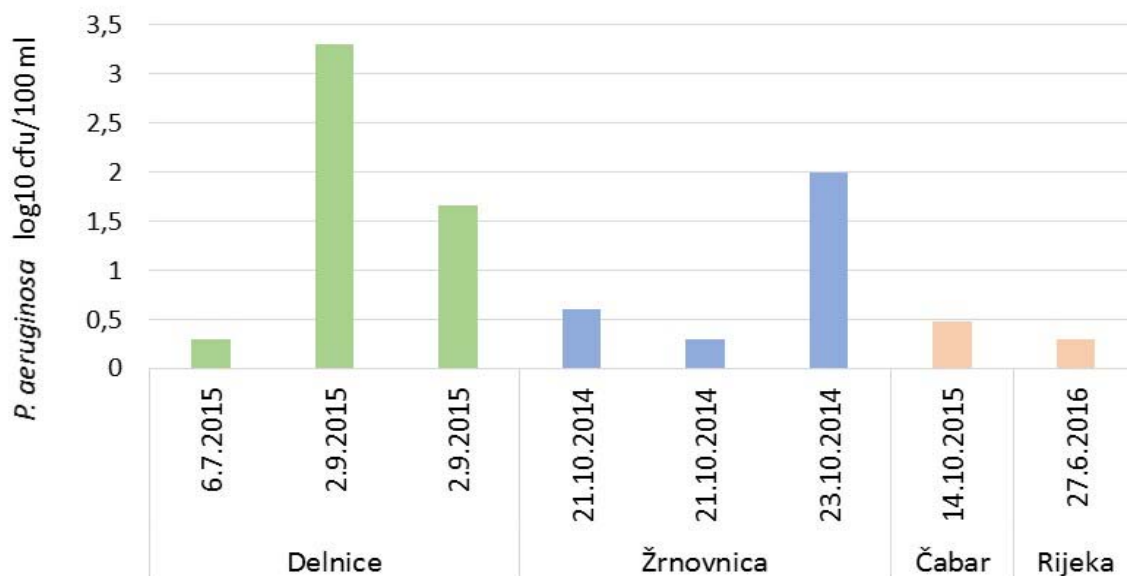
Ispitano je 2 753 uzoraka vode iz devet distribucijskih sustava na području Primorsko-goranske županije. Obuhvaćeno je trogodišnje razdoblje od 2014. do 2016. g., u kojem je uzorkovanje provedeno prema županijskom programu. Uzorci su ispitani u laboratorijima Zdravstveno ekološkog odjela Nastavnog zavoda za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije. Transport uzoraka vršio se u hladnom lancu na 4 +/- 2°C do provedbe analize.

Osim pokazatelja *P. aeruginosa*, u uzorcima su ispitani i drugi mikrobiološki pokazatelji: koliformne bakterije, *E. coli*, enterokoki, broj aerobnih mezofilnih bakterije na temperaturi inkubacije od 37 °C i 22 °C (UBB/37°C i UBB/22°C). Od fizikalno-kemijskih pokazatelja ispitani su: tvrdoća vode, mutnoća, temperatura, elektroprovodljivost, pH, organsko opterećenje vode (utrošak KMnO<sub>4</sub>), rezidualni klor, amonij, nitrit i nitrat. Svi pokazatelji određivani su primjenom relevantnih normiranih ISO metoda.

Rezultati su opisani deskriptivnom statistikom: relativnim frekvencijama i rasponom podataka kao mjerama raspršenosti podataka, te grafički. U cilju normalizacije podaci su logaritamski transformirani (log<sub>10</sub> +1).

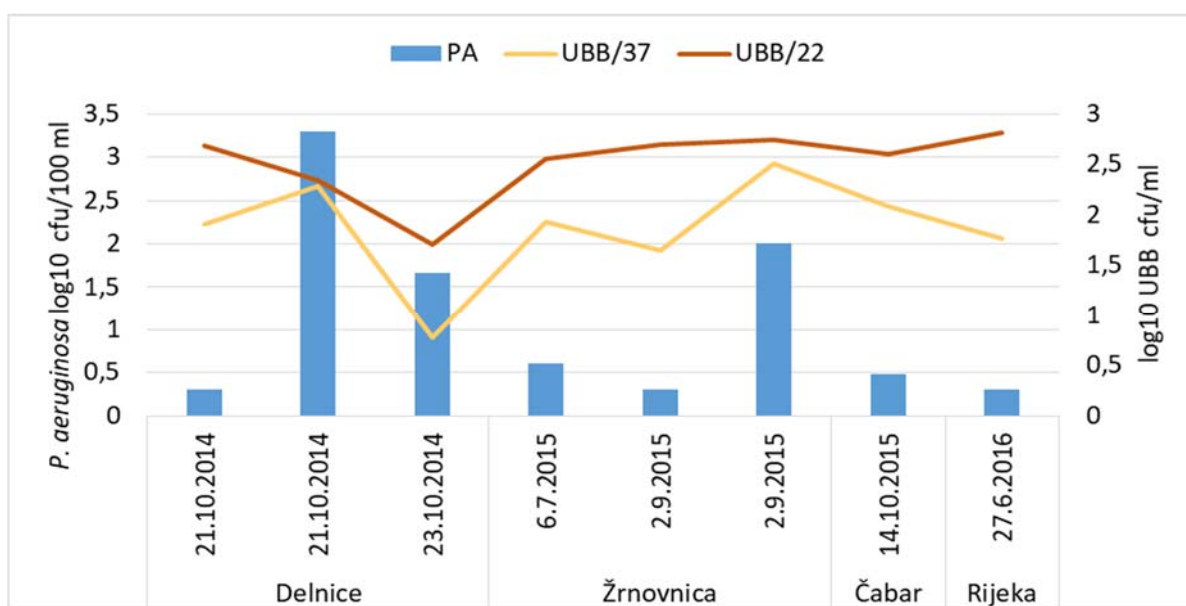
## 3. Rezultati i diskusija

Iako prirodno prisutan u mokrom okolišu, *P. aeruginosa* se detektira u malom broju uzoraka tretirane vode za piće iz javne vodoopskrbne mreže (Bédard *i dr.*, 2016). Od ukupno 2 753 analiziranih uzoraka vode na području PGŽ na prisutnost *P. aeruginosa*, 8 uzoraka je bilo pozitivno, što čini 0,3 % ispitanih uzoraka. Broj dokazanih *P. aeruginosa* kretao se u rasponu 1 – 2 000 cfu/100 ml, a od devet ispitanih vodovoda u najvećoj koncentraciji i broju uzoraka dokazan u delničkom vodovodu (Slika 1). Niska pojavnost *P. aeruginosa* u vodoopskrbnoj mreži u skladu je s podacima istraživanja Mena i Gerba (2009), u kojem se također navodi samo 2 % pozitivnih uzoraka, s koncentracijom bakterija najčešće u rasponu od 300-400 cfu/100 ml.



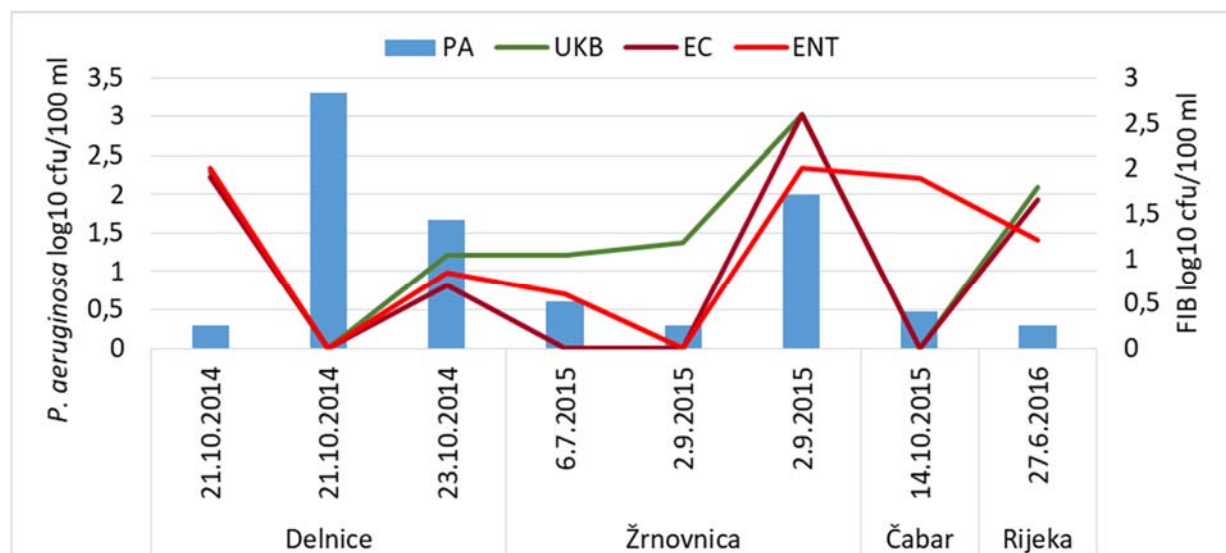
Slika 1. Uzorci vode za ljudsku potrošnju u kojima je dokazana prisutnost *P. aeruginosa* u vodoopskrbnoj mreži PGŽ u razdoblju 2014. – 2016. g.

Brojne studije u kojima je ispitivan profil UBB-a u vodi (heterotrofni bakterijski vrsta), pokazale su da je on kod različitih uzoraka vode vrlo sličan (Norton i LeChevallier, 2000; Mena i Gerba, 2009) a *P. aeruginosa* jedna od vrsta koja nerijetko raste na hranjivom agaru u uvjetima kultivacije definiranim za dokazivanje UBB-a. Na Slici 2 prikazana je pojavnost UBB-a u uzorcima u kojima je prisutan i *P. aeruginosa*. Može se uočiti da je u svim uzorcima pozitivnim na *P. aeruginosa* dokazan i broj kolonija UBB, za UBB/37 u rasponu 5 – 320 cfu/ml, a za UBB/22 u rasponu 50 – 652 cfu/ml.



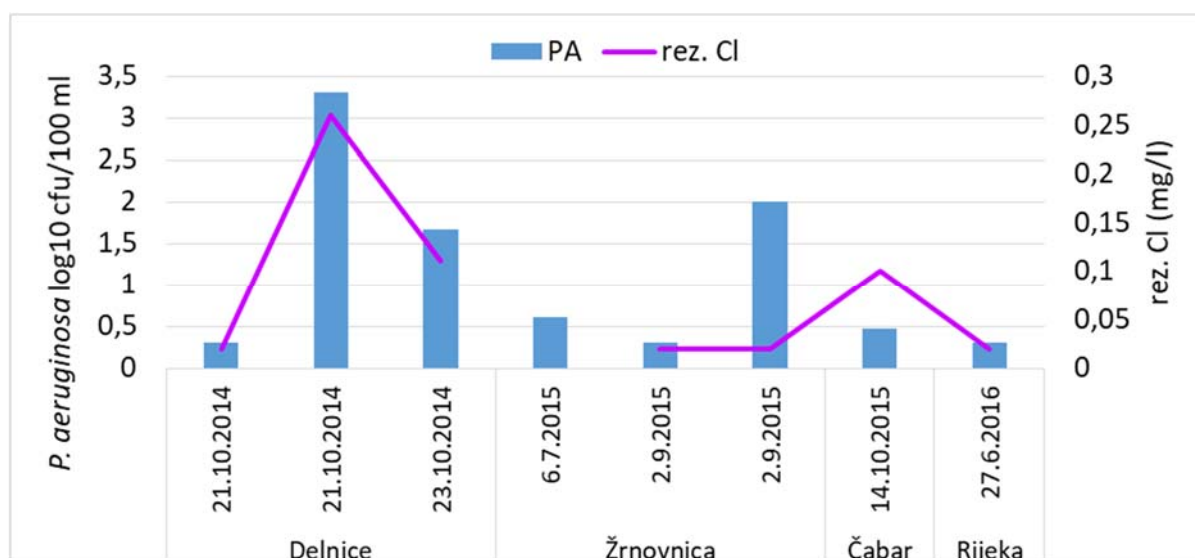
Slika 2. Odnos broja *P. aeruginosa* i UBB/37 i UBB/22 u uzorcima vode za ljudsku potrošnju vodoopskrbnoj mreži PGŽ u razdoblju 2014. – 2016. g.

Slika 3 prikazuje odnos indikatora fekalnog onečišćenja (FIB) i *P. aeruginosa*. Može se primijetiti da u uzorku s najvećom dokazanom koncentracijom *P. aeruginosa* (2 000 cfu/100 ml) fekalni indikatori (UKB = ukupne koliformne bakterije, EC = *Escherichia coli*, ENT = enterokoki) nisu pronađeni, što ukazuje na različito porijeklo promatranih vrsta bakterija.



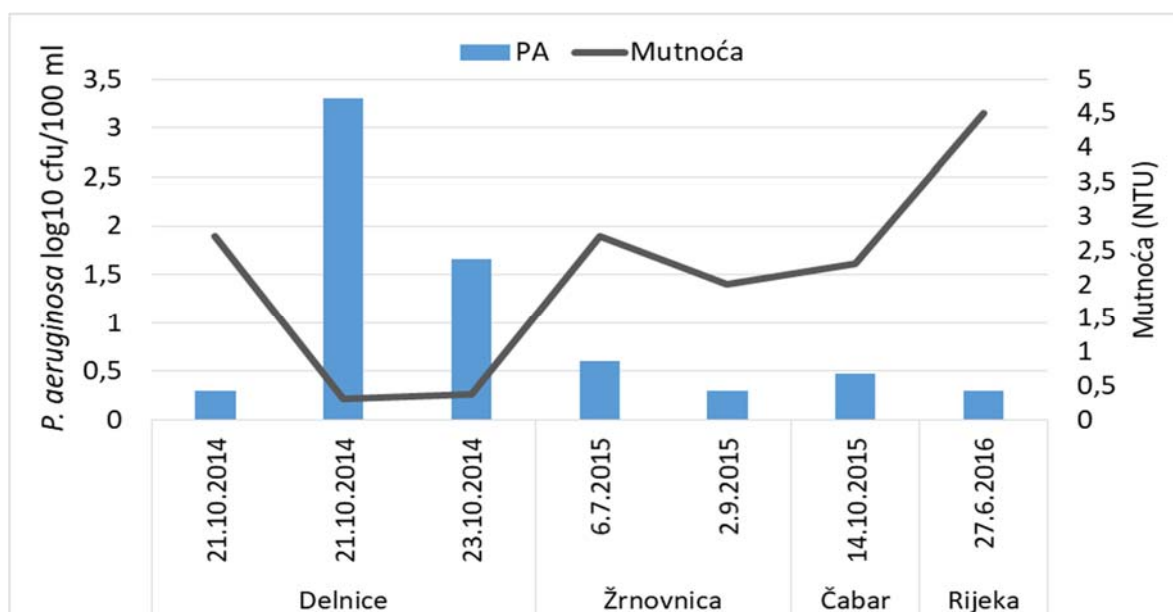
Slika 3. Odnos broja *P. aeruginosa* i FIB (Feecal Indicator Bacteria = UKB, EC, ENT; UKB = ukupne koliformne bakterije, EC = *Escherichia coli*, ENT = enterokoki) u uzorcima vode za ljudsku potrošnju vodoopskrbnoj mreži PGŽ u razdoblju 2014. – 2016. g.

Na Slici 4 prikazan je odnos broja *P. aeruginosa* i koncentracije rezidualnog klora. Vidljivo je da je najveća koncentracija rezidualnog klora (0,25 mg/l) izmjerena u uzorku s najvećim brojem *P. aeruginosa* (u Delnicama). U većini ostalih uzoraka pozitivnih na *P. aeruginosa* koncentracija rezidualnog klora bila je na granici detekcije metode (0,02 mg/l). *P. aeruginosa* je osjetljiv na djelovanje dezinfekcijskog sredstva, međutim problem se javlja zbog afiniteta ove bakterije prema stvaranju biofilma. U istraživanju provedenom u Brazilu (Vessoni *i dr.*, 2002) uzeti su uzorci vode izravno iz spremnika vode za javnu distribuciju u različitim fazama postupka dezinfekcije vode. Od 78 izoliranih kolonija, najveći broj potvrđen je kao *P. aeruginosa* (32,05 %). Zaključak istraživanja bio je da je prisustvo *P. aeruginosa* u najvećem broju uzoraka posljedica sposobnosti stvaranja biofilma, što ovu vrstu čini otpornom na dezinfekciju i druge postupke uklanjanja iz distribucijskog sustava.



Slika 4. Odnos broja *P. aeruginosa* i koncentracije rezidualnog klora (rez Cl, mg/l) u uzorcima vode za ljudsku potrošnju vodoopskrbnoj mreži PGŽ u razdoblju 2014. – 2016. g.

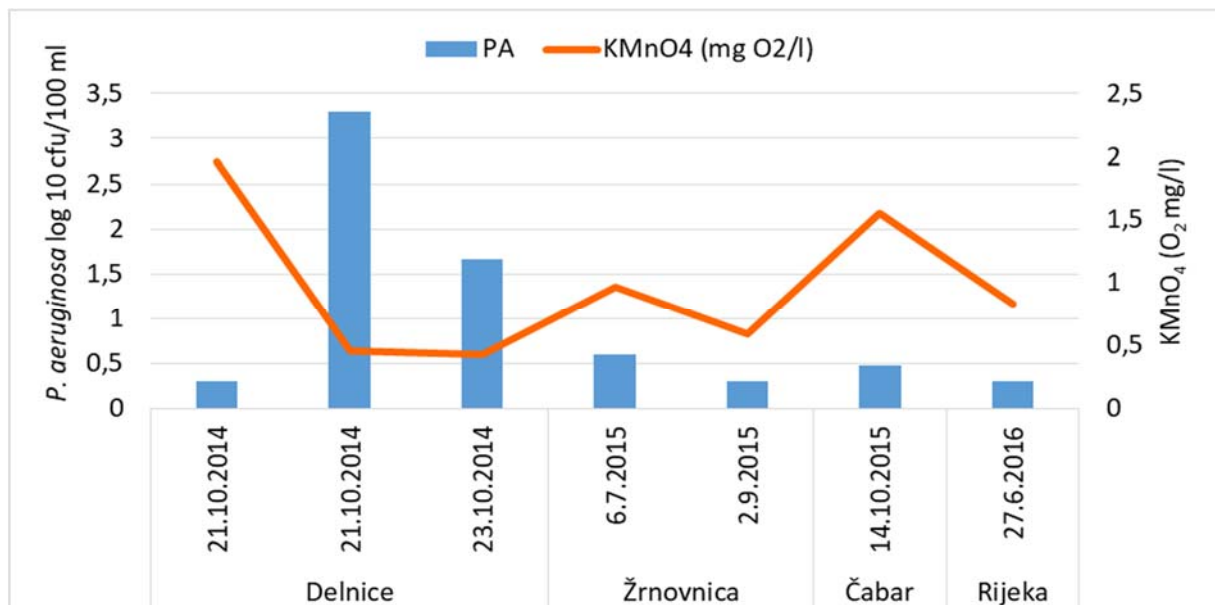
Slika 5 prikazuje mutnoću vode u uzorcima pozitivnim na *P. aeruginosa*. Vrijednosti su se kretale u rasponu 0,32 – 4,5 NTU, dakle u samo je jednom uzorku (vodovod Rijeka, 27/06/2016) došlo do prekoračenja Pravilnikom (NN 125/2013, 141/2013, 128/2015) dozvoljene MDK od 4 NTU. Mutnoća vode općenito se smatra korisnim pokazateljem potencijalnih problema vezanih za distribuciju zdravstveno ispravne vode. Komponente mutnoće (suspendirane tvari poput gline, mulja, organske i anorganske tvari, plankton i drugi mikroskopski organizmi) u stalnoj su interferenciji s efikasnosti dezinfekcijskog postupka, održavanjem reziduuma klora kao i mogućnošću mikrobiološke determinacije (LeChevallier *i dr.*, 1981).



Slika 5. Odnos broja *P. aeruginosa* i mutnoće u uzorcima vode za ljudsku potrošnju vodoopskrbnoj mreži PGŽ u razdoblju 2014. – 2016. g.



Zbog već spomenutih minimalnih nutritivnih zahtjeva, *P. aeruginosa* može rasti u nutritivno siromašnim i oligotrofnim sredinama, kao i u sredinama bogatim hranjivim tvarima. Tako se na Slici 6 može uočiti da je kod nižeg organskog opterećenja zabilježen veći broj kolonija *P. aeruginosa*. Prilagodba ove bakterije uvjetima s malo dostupnih nutrijenata čini njenu mogućnost rasta direktno nevezanu za određene razine organske tvari u vodi (Leclerc *i dr.*, 2002).



Slika 6. Odnos broja *P. aeruginosa* i organskog opterećenja (KMnO<sub>4</sub>) u uzorcima vode za ljudsku potrošnju vodoopskrbnoj mreži PGŽ u razdoblju 2014. – 2016. g.

Međutim, obzirom na opisani afinitet *P. aeruginosa* prema stvaranju biofilma, mjere kontrole prisutnosti ove bakterije u vodoopskrbnoj mreži usmjerene su prema suzbijanju uvjeta povoljnih za stvaranje biofilma kao i smanjenju koncentracije organskog ugljika. Mjere suzbijanja stvaranja biofilma su: minimalizirati "slijepa završetke" u kojima se voda zadržava, održavati dezinfekcijski reziduum, fizički ukloniti nastali biofilm, smanjiti koncentraciju organskog ugljika. U slučajevima kada je biofilm formiran, biocidima se efikasnost smanjuje, što je pogotovo izraženo u slijepim završecima (WHO, 2011). Pri ponavljanoj detekciji *P. aeruginosa* u mreži kao korektivne mjere moguće je primijeniti slijedeće: povećati koncentraciju dezinficijensa, povećati temperaturu vode (iznad 60 °C), zamijeniti slavine, zamijeniti ostale vodovodne dijelove i uređaje, filtere, pa čak i vodovodne instalacije u cijelosti.

Korelacijska analiza (N=276) mikrobioloških i fizikalno-kemijskih parametara vode ukazuje na dobru korelaciju između *P. aeruginosa* i ostalih mikrobioloških pokazatelja te nešto slabiju s fizikalno-kemijskim pokazateljima. Najjače korelacije mikrobioloških pokazatelja utvrđene su između *P. aeruginosa* i enterokoka ( $r=0,59$ ,  $p<0,05$ ) i ukupnih koliformnih bakterija ( $r=0,54$ ,  $p<0,05$ ), zatim UBB/37 i UBB/22 ( $0,34<r<0,38$ ,  $p<0,05$ ) i *E. coli* ( $r=0,33$ ,  $p<0,05$ ), a kod fizikalno-kemijskih

pokazatelja, najjača korelacija utvrđena je između *P. aeruginosa* i nitrita i nitrata ( $r=0,25$  odnosno  $r=0,24$ ,  $p<0,05$ ), a značajne korelacije dobivene su još i između *P. aeruginosa* i mutnoće ( $r=0,13$ ,  $p<0,05$ ) i  $KMnO_4$  ( $r=0,12$ ,  $p<0,05$ ).

### Usporedba legislativa različitih zemalja i organizacija

WHO i EPA u svojim smjernicama/propisima ne navode potrebu za ispitivanjem *P. aeruginosa* u vodi za piće iz vodoopskrbne mreže (WHO, 2011; EPA, 2017). Hrvatska (NN 125/2013, 141/2013, 128/2015) jedna je od rijetkih zemalja u regiji i šire koja je ovaj pokazatelj uključila u rutinski monitoring zdravstvene ispravnosti vode za piće na mjestima potrošnje. Slučaj je to primjerice i sa susjednim zemljama, Srbijom ("Sl. list SRJ", br. 42/98 i 44/99) i Crnom Gorom ("Službenom listu CG", br. 24/2012), a zahtijevani kriterij je 0 cfu/100 ml. Bosna i Hercegovina (Službeni glasnik BiH, 40/2010, 43/2010, 30/2012) i Slovenija (RS 19/04, 35/04, 26/06, 92/06, 25/09, 74/15) ograničile su zahtjev za ispitivanjem *P. aeruginosa* na vodu u bocama ili spremnicima odnosno ambalažiranu vodu (0 cfu/250 ml), što je u skladu sa zahtjevom iz EU Direktive o kvaliteti vode namijenjene za ljudsku potrošnju (98/83/EZ) (Tablica 1). Francuska i Velika Britanija su propisale ispitivanje navedenog pokazatelja u bolničkim sredinama i ustanovama za pružanje medicinske njege (s kriterijem  $< 1$  CFU/100 ml), dok se u redovnom monitoringu ovaj pokazatelj ne ispituje (Bédard *i dr.*, 2016).

Tablica 1. Rezultati usporedbe legislative u regiji i šire u odnosu na zahtjev za ispitivanjem pokazatelja *P. aeruginosa* u vodi za ljudsku potrošnju

Zemlja/ organizacija	<i>P. aeruginosa</i> / cfu 100 ml <sup>-1</sup>
<b>Hrvatska</b>	<b>0</b>
<b>Srbija</b>	<b>0</b>
<b>Crna Gora</b>	<b>0</b>
<b>BIH</b>	-
<b>Slovenija</b>	-
<b>Njemačka</b>	-
<b>Nizozemska</b>	-
<b>Francuska</b>	-
<b>Velika Britanija</b>	-
<b>WHO</b>	-
<b>EPA (SAD)</b>	-

Američka infektologinja Hardalo i mikrobiolog Edberg (1997) u SAD-u su proveli istraživanje s ciljem procjene opravdanosti ispitivanja pokazatelja *P. aeruginosa*, kao jednog od parametara zdravstvene ispravnosti vode za piće. Zaključuju da reguliranje prisutnosti *P. aeruginosa* u vodi za piće može biti ne samo nepraktično, nego i rizično po zdravlje korisnika zbog nastajanja povećanih koncentracija nusprodukata u procesu klorinacije. Zbog pojačane klorinacije zdravstveni rizik bi se

moguće povećao u većoj mjeri u odnosu na eventualnu korist dobivenu smanjenjem rizika od infekcije *P. aeruginosa* u općoj populaciji. Također, istaknuto je kako je u Europi ispitivanje vode za ljudsku potrošnju na *P. aeruginosa* uvedeno kao mjera kvalitete, a ne zdravstvene ispravnosti, i to prvenstveno za ambalažiranu vodu.

#### 4. Zaključak

- *P. aeruginosa* normalno obitava u uvjetima mokrog i vlažnog okoliša, ali je unatoč tome udio pozitivnih uzoraka vode za ljudsku potrošnju iz vodoopskrbnih sustava Primorsko-goranske županije nizak (0,3 %)
- Formiranje biofilma objašnjava prisutnost ove bakterije u vodoopskrbnoj mreži, obzirom da se na taj način smanjuje učinkovitost primijenjenog dezinfekcijskog sredstva
- Povećan broj *P. aeruginosa* ne mora nužno biti praćen s povećanim brojem indikatora fekalnog onečišćenja (FIB-a), što ukazuje na različit izvor onečišćenja
- Prisutnost *P. aeruginosa* u vodi za ljudsku potrošnju ne predstavlja opasnost za zdravlje opće populacije, međutim prepoznat je kao uzročnik intrahospitalnih infekcija, predstavljajući opasnost za osobe oslabljenog imunološkog sustava, u bolnicama i jedinicama intenzivnog liječenja
- Hrvatska je jedna od rijetkih zemalja koja rutinski provodi ispitivanje prisutnosti *P. aeruginosa* u vodi za piće iz vodoopskrbnog sustava
- Nastojanja da voda za piće bude slobodna od prisutnosti bakterije *P. aeruginosa* nisu samo nepraktična, obzirom da je riječ o ubikvitarnoj bakteriji, nego mogu povećati rizik za zdravlje potrošača uslijed nastanka viših koncentracije nusprodukata tijekom pojačane dezinfekcije

#### 5. Literatura

- Bédard E., Prévos M., Déziel E, **2016.** *Pseudomonas aeruginosa* in premise plumbing of large buildings. *MicrobiologyOpen*, 5: 937–956
- Colvin K.M., Irie Y., Tart C.S., Urbano R., Whitney J.C., Ryder C., Howell P.L., Wozniak D.J., Parsek M.R., **2012.** The Pel and Psl polysaccharides provide *Pseudomonas aeruginosa* structural redundancy within the biofilm matrix. *Environmental Microbiology*, 14(8):1913-28
- Gužvinec M., Butić I., Jelić M., Bukovski S., Lucić S., Tambić Andrašević A, **2012.** Rezistencija na antibiotike u bakterije *Pseudomonas aeruginosa*. *Infektološki glasnik*, 32:72
- Halabi M., Wiesholzer-Pittl M., Schöberl J., Mittermayer H., **2001.** Non-touch fittings in hospitals: a possible source of *Pseudomonas aeruginosa* and *Legionella* spp. *Journal of Hospital Infection*, 49(2):117-21

- Hardalo C., Edberg S.C., **1997**. *Pseudomonas aeruginosa*: assessment of risk from drinking water. *Critical Reviews in Microbiology*, 23(1):47-75
- LeChevallier M.W., Evans T.M., Seidler R.J., **1981**. Effect of turbidity on chlorination efficiency and bacterial persistence in drinking water. *Applied and Environmental Microbiology*, 42(1): 159–167.
- Leclerc H., Schwartzbrod L., Dei-Cas E, **2002**. Microbial Agents Associated with Waterborne Diseases. *Critical Reviews in Microbiology*, 28:4, 371-409
- Xue, Z., Hessler, C. M., Panmanee, W., Hasset, D. J., Seo, Y, **2013**. *Pseudomonas aeruginosa* inactivation mechanism is affected by capsular extracellular polymeric substances reactivity with chlorine and monochloramine. *FEMS Microbiology Ecology*, 83(1), 101–111
- Mena K.D., Gerba C.P., **2009**. Risk Assessment of *Pseudomonas aeruginosa* in Water. D.M. Whitacre (ed.). *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume*, 201:71-115
- Mlinarić Galinović G., Ramljak Šeso M. i sur, **2003**. Specijalna medicinska mikrobiologija i parazitologija, Zagreb, Merkur A.B.D., 67-70
- Norton, C.D., LeChevallier, M.W., **2000**. A pilot study of bacteriological population changes through potable water treatment and distribution. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(1), 268-76
- Rusin P.A., Rose J.B., Haas C.N., Gerba C.P, **1997**. Risk assessment of opportunistic bacterial pathogens in drinking water. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*;152:57-83.
- US EPA, U.S. Environmental Protection Agency, **2017**. National Primary Drinking Water Regulations. Microorganisms. Dostupno na: <https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/national-primary-drinking-water-regulations#Microorganisms>
- Vessoni T., Penna C., Alzira S., Martins M., Mazzola. P.G., **2002**. Identification of bacteria in drinking and purified water during the monitoring of a typical water purification system. *BMC public Health*, 2:13
- WHO, World Health Organization, **2011**. Guidelines for drinking-water quality (Microbial fact sheets), Geneva, 4th ed: 249-250