MIKROBIOLOŠKI ASPEKT KONTROLE KVALITETA IZVORIŠTA NA TERITORIJI OPŠTINE SREBRENICA

Mitrović Predrag, Irena Zarić
Institut za vode d.o.o. Miloša Obilića 51, 76 300 Bijeljina, Republika Srpska,BiH
mitrovic@institutzavode.com; zaric@institutzavode.com;

Rezime

Stvaranje naučnih osnova za racionalnu upotrebu vodenih resursa nemoguće je bez izučavanja životne aktivnosti mikroorganizama, njihovog uticaja na formiranje hemijskih osobina prirodnih voda i objašnjenje zakonitosti biohemijskih procesa transformacije elemenata u vodenoj sredini. Istraživanjem je obuhvaćen kako ekološki, tako i sanitarni aspekt kvaliteta vode. Mikrobiološka kontrola kvaliteta izvoriša na teritoriji Opštine Srebrenica spovedena u ukupno 19 mjesnih zajednica, odnosno 120 lokaliteta. Istraživanja su izvršena u jun 2010.

KLJUČNE REČI: Kontrola kvaliteta, mikrobiologija, izvorišta.

Absratkt

Creation of scientific basis for rational use of water resources is impossible without studying viability of the microorganisms, their influence on the formation of chemical properties of natural waters and an explanation of the principles of biochemical processes such as transformation of elements in the aquatic environment The research covered both ecological, and sanitary aspects of water quality. Microbiological quality control of springs in the territory of Srebrenica spovedena in a total of 19 local communities, and 120 sites. This study was performed in June 2010.

KEY WORDS: Quality control, microbiology, springs.

1. UVOD

Prema definiciji Pravilnika o higijenskoj ispravnosti vode za piće, Sl.glasnika br.40/03, u prirodne vode zatvorenih izvorišta spadaju: higijenski kaptirana prirodna vrela i izvori (česme), podzemne vode higijenski kaptirane za vodovodne sisteme, podzemne vode koje na površinu izbijaju po pritiskom (arteški bunari) ili se mehanički iznose pomoću zatvorenih higijenskih sistema.

U prirodne vode otvorenih izvorišta spadaju nekaptirana vrela, izvori, vodotoci I i II klase, jezera, akumulacije, ukoliko se koriste za sbnabdijevanje vodom za piće, kopnani bunari i cisterne [14].

2. MATERIJAL I METODE RADA

Uzorkovanje za potrebe mikrobiološke analize kvaliteta vode urađeno prema zahtjevima BAS ISO 19 458:2006, [1,2,3] istovremeno sa uzorkovanjem za potrebe fizičko-hemijskih istraživanja. Uzorci su transportovani u portabl frižiderima do laboratorije i do analize čuvani na temperaturi do $+4^0$C, prema zahtjevima standarda i metoda analiza. [4,5,6,7,8,10] Uzorkovanje i analiza urađeni za ukupno 120 lokaliteta 19 mjesnih zajednica Opštine Srebrenica.Od mikrobiolških (bakterioloških) parametara određivani su:

- ukupan broj aerobnih organotrofa cfu/ml, inkubacija na temperaturi od (22±2)^{o}C u toku (68±4)h,SPA, Merck , Biomerieux,
- ukupan broj aerobnih mezofila, inkubacija na temperaturi (36±2)^{o}C u toku (44±4)h, na standardnoj podlozi prema zahtevima metode, cfu/ml SPA, Merck, Biomerieux,
- ukupan broj koliformnih bakterija određen kao MPN/100 ml na 37^{0}C/48h, Biomerieux,
- ukupan broj termotolerantnih bakterija određen kao MPN/100ml, 44^{0}C/24h, Biomerieux,
- ukupan broj koliformnih bakterija fekalnog porijekla određen kao MPN/100ml, Biomerieux,
- određivanje prisustva i brojnosti fekalnih streptokoka, MF, cfu/100ml, Fluka, Biomerieux, Sartorius ,
- određivanje prisustva i brojnosti *Pseudomonas aeruginosa* vrste, metoda membran filtracije, cfu/100ml, Fluka, Biomerieux, Sartorius,
- Određivanje prisustva i brojnosti sulfitoredukujućih klostridija, metoda membran filtracije, cfu/100ml, Fluka, Biomerieux,
- Prisustvo/odsustvo *Proteus* vrsta, iz kolimetrije, Biomerieux,
- Prisustvo *Salmonella vrsta,*
- Prisustvo *Shigella vrste,*
- Prisustvo *Vibrio cholerae,*

Analitička kontrola kvaliteta rezultata ispitvanja sprovedena kroz sistem interne i eksterne kontrole prema zahtjevima ISO 17 025. Interna kontrola uključuje dnevne, nedeljne i mjesečne provere kvaliteta podloga, reagenasa, uslova u kojima se obavljaju analize i proveru rada analitičara (blank, dupli-ponovljeni uzorak i kontaminirani uzorak (upotreba ATCC sojeva[41]). Eksterna kontrola sprovedena prema PT šemi LGC Aquacheck, QWAS, United Kingdom.
Analize prisustva Salmonella, Shigella vrsta i Vibrio cholerae obavio Institut za javno zdravlje Srbije, „Dr Milan Jovanović Batut“, Beograd u svojstvu podugovarača.. Tumačenje rezultata prema pravilniku. (Pravilnik o higijenskoj ispravnosti vode za piće, Službeni glasnik Republike Srpske br. 40/03, lista I) [12].

3. REZULTATI RADA

Ukupan broj aerobnih heterotrofa (H), saprofita - predstavlja mikrobiološki (bakteriološki) indikator stanja i kvaliteta voda koji se primjenjuje sa šireg ekološkog aspekta, a na osnovu kojeg se vrši klasifikacija voda. Predstavljaju najrašireniju grupu bakterija prema tipu metabolizma u prirodi, tzv.hemoorganotrofa (ili samo organotrofi). Za ove bakterije organska materija je izvor ugljenika, izvor E (energije) i donor elektrona. Heterotrofi metaboliziraju organsku materiju u aerobnim i u anaerobnim uslovima. Koriste živu (paraziti) ili neživu (saprofiti) organsku materiju. Visoka brojnost aerobnih heterotrofa ukazuje na vodu bogatu organskim materijama koje su podložne bakterijskoj razgradnji. Što se tiče parametara koji ukazuju na kvalitet vode sa sanitarnog aspekta, vrlo je korisno raspolagati ovim podacima jer nam oni ukazuju da li je podzemno vodno tijelo u kontaktu sa fekalnim materijama i u kojoj mjeri, kao i da li se radi o prolaznom ili permanentnom izvoru zagađenja [13].

3.1. Osobine porodice *Enterobacteriaceae* [9]

U ovoj porodici nalaze se Gram negativni fakultativno anaerobni štapići. Veličine su od 0,3 do 1µm. Pokretni su sa peritrihalnim flagelama ili nepokretni. Ne stvaraju spore. Pripadnici ove porodice klasifikovani su u 14 rodova: *Echerichia, Shigella, Salmonella, Citrobacter, Klebsiella,*

[41] *American Type Culture Collection (ATCC-LGC Standards Partnership) http://www.lgcstandards-atcc.org*

Enterobacter, Erwinia, Serratia, Hafnia, Edwardsiella, Proteus, Providencia, Morganella i Yersinia.
Koliformi čine deo normalne crevne flore ljudi i životinja, tako da imaju značajnu ulogu u sanitarnoj mikrobiologiji, kao indikator fekalne kontaminacije.
Enterobacteriaceae izazivaju različita oboljenja kod ljudi: od veoma teških karantinskih bolesti (kuga) do oportunističkih infekcija. Izazivaju pretežno crevne infekcije, ali mogu da izazovu infekcije svih organa i tkiva.

3.2. Osobine fekalnih streptokoka [9]

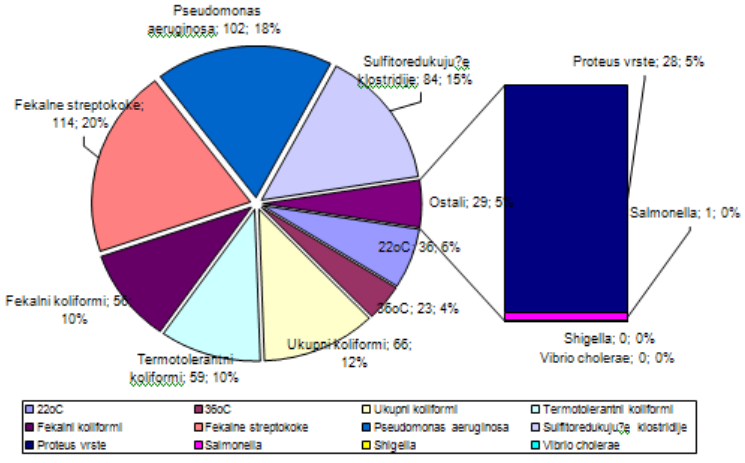
Streptococcus predstavlja složen bakterijski rod u kome su zastupljene mnoge vrste sa različitim biološkim karakterisitkama. Najbrojnije su saprofitske i uslovno patogene vrste (oportunisti). Predstavljaju deo mikroflore čoveka.
Najšeće je u upotrebi klasifikacija prema Lancefieldo-ovoj, prema antigenim svojstvima. Grupa D je izrazito otporna na fizičke i hemijske agense, najrasprostranjenija je u prirodi. Nalazi se u vodi, vazduhu, prašini, namirnicama, deo su normalne mikroflore čoveka i životinja. Ovde spada genus *Enterococcus* sa karakterisitčnim predstavnicima *E.faecalis i E.faecium.*

3.3. Osobine roda *Pseudomonas (Pseudomonas aeruginosa)* [9]

Rod *Pseudomonas* čine otporni, aerobni Gram negativni, nefermentativni bacili koji ne pripadaju tzv. crijevnim bakterijama. Najčešće su prisutni slobodni u prirodi, a od oko 10% ljudi se mogu naći u sastavu fiziološke mikroflore. Nemaju kapsulu i ne stvaraju sporu. Pokretljivi su. Za medicinu je najznačajniji *Pseudomonas aeruginosa*, uzročnik raznovrsnih infekcija. Vrlo je otporna bakterija, uzorčnik infekcija (pneumonija (cistična fibroza), urinarnih infekcija, sepse), obično kod osoba sa sniženim imunitetom. Živi u prirodi, najčešće i zemlji i površinskim vodama. Karakterišu ga dva egzopimenta: piocijanin (plavozelene boje) i fluorescina (zeleno-žute boje), što je karakterisitka florescentne grupe kojoj pripada.

3.4. Osobine roda *Clostridium* [9]

Rod *Clostridium* čine brojne vrste anaerobnih, Gram pozitivnih bacila koje u nepovoljnim uslovima formiraju endospor veću od promera bacila. Klostridije izazivaju teška obljenja: botulizam, tetanus, infekcije mekih tkiva.



Grafik 1 Ukupan broj lokaliteta koji odstupaju od MDK vrednosti za ispitivane parametre (Pravilnik o higijenskoj ispravnosti vode za piće, SL. Glasnik RS, br 40/03,lista I)

Spore klostridija su široko rasprostranjene i u slobodnoj prirodi, a nalaze se i u debelom crijevu životinja i čovjeka. Spore dospevaju u ljudski organizam pasivno, kada se stvore povoljni uslovi, prelaze u vegetativan oblik i razvija se lokalna infekcija. Oboljenja izazvana klostridijama su posledica dejstva moćnih egzotoksina i enzima koje ove bakterije luče.

Istraživanjem je obuhvaćeno 120 lokaliteta u okviru 19 mjesnih zajednica na teritoriji Opštine Srebrenica i to [12]:
Brežani (10), Crvica (7), Gostilj (3), Kostolomci (5), Krnjići (11), Luka (5), Orahovica (8), Osatica (13), Podravanje (3), Potočari (9), Radoševići (10), Radoševci (1), Ratkovići (1), Sase (1), Skelani (8), Skenderovići (5), Srebrenica (2), Sućeska (12), Toplica (3) i Vijgor (2).

Analiza dobijenih rezultata ukazuje na sledeće:

- ukupan broj aerobnih hetrotrofa, 22^{o}C, cfu/ml – od ukupno 120 mjerenja, 36 ili 30%, lokaliteta ne ispunjava Pravilnikom propisane MDK vrijednosti,
- ukupan broj aerobnih hetrotrofa, 36^{o}C, cfu/ml – od ukupno 120 mjerenja, 23 ili 19.2%, lokaliteta ne ispunjava Pravilnikom propisane MDK vrijednosti,
- ukupan broj koliformnih bakterija, MPN/100ml – od 120 mjerenja, 66 okaliteta ili 55% ne ispunjava Pravilnikom propisane MDK vrijednosti,
- ukupan broj termotolerantnih bakterija, MPN/100ml – od 120 mjerenja , 59 okaliteta ili 49.2% ne ispunjava Pravilnikom propisane MDK vrijednosti,
- ukupan broj koliformnih bakterija fekalnog porijekla, MPN/100ml – od 120 mjerenja, 56 lokaliteta ili 46.5% ne ispunjava Pravilnikom propisane MDK vrijednosti,
- određivanje prisustva i brojnosti fekalnih streptokoka (crevnih enterokoka), od 120 mjerenja, 114 lokaliteta ili 95% ne ispunjava Pravilnikom propisane MDK vrijednosti,
- određivanje prisustva i brojnosti *Pseudomonas aeruginosa* vrste, od 120 mjerenja, 102 lokaliteta ili 85% ne ispunjava Pravilnikom propisane MDK vrijednosti,
- određivanje prisustva i brojnosti sulfitoredukujućih klostridija, od 120 mjerenja, 84 lokaliteta ili 70% ne ispunjava Pravilnikom propisane MDK vrijednosti,
- određivanje prisustva i brojnosti *Proteus* vrsta, od 120 mjerenja, 28 lokaliteta ili 23.3% ne ispunjava Pravilnikom propisane MDK vrijednosti,
- *Salmonella* vrste, konstatovane samo na jednom lokalitetu (Izvor-Radatovac – Gruičići – Osatica),
- *Shigella i Vibrio cholerae* – njihovo prisustvo nije utvrđeno ni na jednom lokalitetu.

Za potrebe mikorbioloških analiza urađeno 1440 mjernja za ukupno 12 parametara kvaliteta vode izvorišta. Od ovog broja, 569 mjerenja ili 39.5% nije odgovaralo propisanim MDK vrijednostima.
U granicama propisanih MDK vrijednosti prema Pravilniku nalazilo se ukupno 779 mjerenja ili 60.4%. Od ukupno 120 lokaliteta koja su bila obuhvaćena uzorkovanjem i analizama, samo 3 u potpunosti ispunjavaju propisane MDK vrijednosti i to:

- Izvor-Džamijska voda – Rešagići MZ. Skelani,
- Izvor-Zmajeva voda – Božići MZ. Kostolomci
- Izvor-GornjiStudenac-Tokoljak Krnjići

4. ZAKLJUČAK

Potražnja za čistom vodom stalno raste, uglavnom zbog rasta humane populacije na globalnom nivou. Nasuprot tome, vodni resursi se postepeno smanjuju uglavnom zbog rastućeg zagađenja i evidentnih klimatski promjena i opasnosti. To predstavlja novi pritisak na resurse podzemnih

voda koje su od vitalnog značaja za snabdijevanje vodom, posebno u semiaridnim i sušnim regionima.
Tokom poslednje decenije XX vijeka interesovanje za podzemne vode je značajno poraslo uglavnom zbog problema nestašice vode na lokalnom, regionalnom, čak i globalnom nivou. Podzemne vode se sve više koriste u navodnjavanju poljoprivrednih useva, pa je i s te strane pritsak i uticaj na njih sve veći.
Stoga je u cilju održivog razvoja, neophodno dobro poznavati lokacije rezervi podzemnih voda, mapirati ih, modelirati i kvantifikovati zapreminu ležišta vode, poznavati režim godišnjeg obnavljanje rezervi kao i fizičko-hemijske, mikrobiološke karakteristike. Kao prilog svim navedenim karakterima, preporučuje se i ispitivanje osetljivosti podzemnih voda na isušivanje, prekomernu eksploataciju i pogoršanje kvaliteta. Međutim, moraju se očuvati i zaštititi i prirodne funkcije podzemnih voda kao izvorišnih tačaka mnogih vodotoka i pripadajući ekosistemi u njima. [12]
Geološka slika ovog područja pokazuje da je vodonosni sloj vrlo blizu površini i stoga pod jakim antropogenim uticajem i da je uticaj ljudskih naselja i aktivnosti dominantan i glavni opterećujući faktor.
Republika Srpska, kao i Bosna i Hercegovina je područje velikog vodnog potencijala koji se treba istražiti i zaštiti. Činjenica da od ukupno 120 ispitivanih lokaliteta, samo 3 u potpunosti odgovaraju Pravilniku o higijenskoj ispravnosti vode za piće upravo govori u prilog tome.

LITRERATURA

[1.] BAS ISO 5667- 2:1991 Water quality-Sampling-Guidance on sampling techniques,
[2.] BAS ISO 5667-3:2003 Water quality-Sampling-Guidance on the preservation and handling of water samples,
[3.] BAS ISO 19 458:2006, Water quality – Sampling for microbiological analysis
[4.] BAS ISO 6222:1999, Water quality – Enumeration of culturable mico-organisms-Colony count by inoculation in a nutrient agar culture medium
[5.] BAS ISO 9308-2:1999, Water quality – Detection and enumeration of coliform organisms, thermotolerant coliform organisms and presumptive E.coli, part 2: MPN
[6.] BAS ISO 7899-2:2000, Water quality – Detection and enumeration of intestinal enterococci, part 2:MF
[7.] BAS ISO 16 266:2006, Water quality - Detection and enumeration of *Pseudomonas aeruginosa*, Method by membran filtration.
[8.] BAS EN 26461:1993 – Water quality – Detection and enumeration of the spores of sulphitoreducing anaerobes (clostridia) – Part 2.Method by membran filtration.
[9.] Berger,Jekić, O. i saradnici, *Specijalna bakteriologija*, Beograd.
[10.] Voda za piće, *Privredni pregled*, 1990.
[11.] Groundwater resources of the world, Special Edition for the *32nd International Geological Congress*, Florence / Italy, 20 - 28 August 2004
[12.] ”Ispitivanje stanja kvaliteta izvora (podzemnih voda) na teritoriji Opštine Srebrenica” 2010. *Izvještaj*, Opština Srebrenica.
[13.] Jemcev, V., Đukić, D. (2000) : *Mikrobiologija*, Vojno-izdavački zavod, Beograd.
[14.] „Pravilnik o higijenskoj ispravnosti vode za piće“, *Službeni glasnik Republike Srpske* br. 40/03