

# UTJECAJ TVRDOĆE VODE I IZVEDBE SUSTAVA GRIJANJA NA KOLONIZACIJU SUSTAVA TOPLE VODE BAKTERIJAMA RODA *LEGIONELLA*

**doc. dr. sc. Anita Rakić, dipl. ing. kem.**

Nastavni zavod za javno zdravstvo  
Splitsko-dalmatinske županije,  
Vukovarska 46, Split, Hrvatska  
anita.rakic@nzjz-split.hr

**prof. dr. sc. Nives Štambuk-Giljanović,  
dipl. ing. kem.**

Nastavni zavod za javno zdravstvo  
Splitsko-dalmatinske županije,  
Vukovarska 46, Split, Hrvatska

**izv. prof. dr. sc. Davor Ljubas,  
dipl. ing. stroj.**

Sveučilište u Zagrebu Fakultet strojarstva i  
brodogradnje,  
Ivana Lučića 5, Zagreb, Hrvatska

**Dragica Kelam Perić, dr. med.**

Dom zdravlja Zagreb zapad,  
Matije Gupca 2, Zagreb, Hrvatska

U ovom radu praćene su koncentracije kalcija i magnezija, kao i prisutnost *Legionella* spp. u 121 uzorku tople vode, koji su uzorkovani u šest objekata (četiri hotela i dva doma za starije i nemoćne osobe) na području Splitsko-dalmatinske županije. U sklopu istraživanja provedena je Anketa o tehničko-tehnološkim karakteristikama objekata te su pritom prikupljeni podatci koji su važni za kvalitetu tople vode. U radu su se koristile osnovne statističke metode kao i neparametrijski test za određivanje povezanosti između kemijskih pokazatelja i prisutnosti *Legionella* spp. Utvrđena je statistički značajna pozitivna korelacija većih koncentracija iona Ca i Mg otopljenih u vodi s prisutnošću *Legionella* spp. Provedenim istraživanjem utvrđen je veći broj uzoraka koji su bili pozitivni na *Legionella* spp., a koji su uzorkovani iz toplovodnih sustava s centralnim zagrijavanjem vode (17 %), u odnosu na pozitivne uzorke na *Legionella* spp., a koji su uzorkovani iz decentralnih sustava zagrijavanja vode (9 %). Stoga je opravdano pretpostaviti da na prisutnost *Legionella* spp. utječe, osim sastava vode, i tehničko-tehnološka izvedba sustava za pripremu potrošne tople vode.

**Ključne riječi:** vodoopskrbni sustav, aerosol, biofilm, *Legionella* spp., tvrdoća vode

## 1. UVOD

Nadzor nad kakvoćom vode za ljudsku potrošnju (kvalitetom pitke vode) i identificiranje mogućih čimbenika koji mogu biti uzroci njezina zagađenja od izuzetne su važnosti za zdravlje ljudi. Do pogoršanja kvalitete pitke vode dolazi zbog povećanja koncentracije različitih organskih, anorganskih ili organometalnih spojeva te zagađenja različitim mikroorganizmima. Najčešći uzroci zagađenja pitke vode u vodoopskrbnom sustavu su korozija metalnih cjevovoda i armatura, taloženje kamenca te stvaranje biofilмова na unutrašnjim stjenkama vodovodnih instalacija.

Promjene kvalitete pitke vode mogu biti većeg ili manjeg opsega, što u nepovoljnim slučajevima može

dovesti do neželjenih pojava – od npr. lošeg mirisa i okusa vode do upitne zdravstvene ispravnosti vode (Bitton, 2014.). Navedene pojave ovise o različitim čimbenicima: kemijskom sastavu vode, protoku vode, duljini boravka vode u vodoopskrbnom sustavu, dinamici korištenja vode, temperaturi vode, pH vrijednosti, tvrdoći vode, vrsti i dozi primijenjenog sredstva za dezinfekciju i dr. (Farhat i sur., 2011.; Ulleryd i sur., 2012.). Tijekom korištenja pitke vode, hladne ili tople, u slučajevima kao što su tuširanje, kupanje u bazenima i kadama u kojima se voda pjenu, korištenje tehničke vode za pranje i polijevanje uz raspršenje (polijevanje vrta, pranje auta, gašenje vatre i sl.), kao i rad s komprimiranim zrakom u

kojemu ima raspršene zagađene vode, moguće je da se voda raspršuje u sitne kapljice i stvara aerosol – tj. dolazi do stvaranja sitnijih ili krupnijih mikrokapljica ili čestica koje mogu nositi u sebi određenu mikrobnu populaciju (Pavić i sur., 2001.). Ljudi mogu udisati takav aerosol, a ako se u njemu nalaze patogeni mikroorganizmi onda se mogu i zaraziti.

Jedna od bolesti koja se prenosi isključivo udisanjem infektivnog aerosola je legionarska bolest. Ona se manifestira upalom pluća, a uzrokovana je bakterijom *Legionella* spp., najčešće *Legionella pneumophila* seroskupine 01 (Phin i sur., 2014.). Mikroorganizmi u instalacijama koje se koriste za distribuciju pitke vode, pa tako i *Legionella* spp., prijanjaju na površine/stijenke sustava u vodenom okolišu formirajući biofilme (Flemming, 2011.). Neki čimbenici pogoduju bržoj kolonizaciji *Legionella* spp., npr. prisutnost vodnog kamenca, tip grijača, udaljenost i kapacitet spremnika, starost vodovodnih sustava, međudodnosi mikroflora i sedimenta, hidrodinamički uvjeti koji vladaju u sustavu kao i temperatura unutar sustava (Speight, 2008.; Li i sur., 2010.; Zaitseva i sur. 2014.; Rakić i sur. 2016.). Stvaranje biofilma na površinama vodovodnih cijevi za posljedicu ima brzu rekontaminaciju vode za piće nakon provedene dezinfekcije jer sloj biofilma služi kao kemijski i/ili toplinski zaklon bakterijama te dodatno može i izazivati mikrokoroziju metalnih cijevi ispod formiranog sloja (Farhat i sur., 2012.).

Posljedice kolonizacije biofilmom i nastanka vodnog kamenca unutar vodoopskrbnih sustava su pogoršanje kvalitete pitke vode, slabiji protok vode (van Heijnsbergen i sur., 2015.) te teži uvjeti održavanja parametara propisanih *Pravilnikom o parametrima sukladnosti, metodama analize, monitoringu i planovima sigurnosti vode za ljudsku potrošnju te načinu vođenja registra pravnih osoba koje obavljaju djelatnost javne vodoopskrbe* (Pravilnik), (N.N. br.125/2017., 039/2020).

Pojam tvrdoće vode podrazumijeva vodu koja sadrži veliki udio minerala koji se uglavnom sastoje od iona kalcija ( $\text{Ca}^{2+}$ ) i magnezija ( $\text{Mg}^{2+}$ ) i obično se označava kao ukupna tvrdoća vode te i od drugih otopljenih iona u manjoj mjeri (Wilhelm, 2008.). Prema navedenom Pravilniku, maksimalno dopuštena koncentracija kalcija i magnezija nije propisana već se za tumačenje dobivenih rezultata koriste preporuke WHO (World Health Organization) za pitku vodu (*Guidelines for drinking – water quality*, 2007.). Prema smjernicama WHO-a nema određene granice za tvrdoću vode vezane uz zdravlje ljudi, iako jako tvrda voda zbog okusa i taloženja kamenca u spremnicima i prilikom kuhanja može biti odbojna potrošačima.

Također, u vodoopskrbnim sustavima dolazi do taloženja kamenca, prvenstveno na površinama sustava za prijenos topline, a to je osobito izraženo kod vode povišene tvrdoće (Krolo, 2000.; Wilhelm, 2008). Zagrijavanjem vode dolazi do remećenja karbonatne ravnoteže vode, izdvajanja karbonatnog taloga najčešće vodnog kamenca, i oslobađanja  $\text{CO}_2$ , a korozivno

djelovanje vode se povećava, osobito iznad 60 °C. Sam proces taloženja kamenca nastaje složenim fizikalno-kemijskim procesom, kristalizacijom te sastav kamenca ovisi o kemijskom sastavu vode kao i o fizikalno-kemijskim procesima koji se odvijaju u vodi. Najvažnija mjera za zaštitu od ubrzanog stvaranja kamenca kao i korozivnog djelovanja vode, u sustavima opskrbe toplom vodom, je održavanje temperature tople vode što je moguće nižom. A to je pak u suprotnosti sa zahtjevom za sprječavanje rasta i razvoja *Legionella* spp. te se koristi proces recirkulacije i dogrijavanja tople vode kada god je to moguće (Smoljanić i Ljubas, 2013.).

S ciljem dobivanja rezultata koji će pokazati njihovu međusobnu korelaciju, praćeni su u razdoblju od dvije godine sljedeći parametri u uzorcima tople vode – koncentracije Ca, Mg te prisutnost *Legionella* spp. Osim toga ovim radom, pokušat će se dovesti u vezu i način zagrijavanja tople vode, u tehničko-tehnološkom smislu.

## 2. METODOLOGIJA

### 2.1. Uzorkovanje voda za analize

Uzorci vode za ljudsku potrošnju iz distribucijske mreže unutar objekata za kemijsku i mikrobiološku analizu uzeti su u sterilne boce s teflonskim čepom (volumena od 1000 mL) uz obavezno spaljivanje slavine plamenom. Uzorci su uzeti u boce s 0,1 mL 10 % otopine natrijevog tiosulfata ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ). Prilikom uzorkovanja vode iz slavine, voda je tekla jakim mlazom barem 3 minute te bi se nakon toga boca napunila i zatvorila čepom. Uzorci vode dostavljeni su u laboratorij na analizu u roku od šest sati, a prije dostave bili su skladišteni u ručnom hladnjaku na +4 °C.

### 2.2. Kemijska i mikrobiološka analiza

Prije kemijske analize (određivanja Ca i Mg) uzorci su se zakiselili s 65 %  $\text{HNO}_3$ . Masene koncentracije navedenih iona su određivane na atomskom apsorpcijskom spektrofotometru (AAS Z-2000, Hitachi, Japan).

Metoda kultivacije i identifikacije *Legionella* spp. provodila se sukladno normi ISO 11731-2:2004 (International Organization for Standardization, 2004.).

U svrhu homogeniziranja sadržaja uzoraka, prije postupka membranske filtracije, boce s uzorcima bi se dobro protresle, a potom bi se uzorci filtrirali pomoću sustava za membransku filtraciju, pomoću membrane veličine pora od 0,20  $\mu\text{m}$  (celulozni filter, Millipore, Bedford, SAD). Poslije membranske filtracije sa sterilnom pincetom uzimao se filter s metalnog membranskog filtra te se celulozni filter tretirao kiselim puferom ( $30 \pm 5$  mL) tijekom 5 minuta, potom je ispiran s Page-ovom fiziološkom otopinom ( $20 \pm 5$  mL) i prebačen na selektivni medij, BCYE agar (Buffered Charcoal Yeast Extract s L-cysteinom, bioMérieux, Francuska). Nakon toga je slijedilo inkubiranje u trajanju od 7 dana pri  $36 \pm 1$  °C. Poslije inkubacije, morfološki karakteristične kolonije (mliječno bijele boje, luminescentne, okruglog oblika s neprekinutim rubovima) bi se subkultivirale na BCYE i

BCY (Buffered Charcoal Yeast Extract bez L-cysteina, bioMérieux, Francuska) agarima. Inkubacija se provodila najmanje 2 dana pri  $36 \pm 1$  °C. Poslije 2 dana provjeren je porast na BCYE i BCY agarima. Kolonije koje su se razvile samo na BCYE agaru, ali ne i na BCY agaru, su potvrda da se radi o prisutnosti *Legionella* spp. u ispitivanom uzorku. BCYE agar (pH =  $6,9 \pm 0,1$  pri 25 °C) je selektivna podloga koja omogućava rast gram negativnih bakterija roda *Legionella*.

Za potvrdni test identifikacije koristio se latex test aglutinacije (Slidex Legionella Test, bioMérieux, Francuska). Broj bakterija izražava se kao broj jedinica koje formiraju kolonije (engl. *Colony Forming Units* – CFU) u 1 L uzorka, a granica detekcije postupka bila je 25 CFU/L.

### 2.3. Utjecaj tehničko–tehnoloških čimbenika

U sklopu istraživanja provedena je Anкета o tehničko–tehnološkim karakteristikama objekata i prikupljene su informacije o tehničko–tehnološkim čimbenicima koji mogu utjecati na kvalitetu potrošne tople vode. Anketom su obuhvaćena četiri hotela i dva doma za starije i nemoćne osobe na području Splitsko–dalmatinske županije, a prikupljeni su podatci o sustavima za pripremu potrošne tople vode i to prema razvrstavanju preporučenom u (Labudović, 2012.): smještaj u odnosu na trošila (vrsta energenta) te načinu zagrijavanja.

### 2.4. Statistička analiza

Prije same provedbe statističke obrade rezultata provjerio se normalitet raspodjele kako bi se odabrao odgovarajući način prikaza rezultata i testova za usporedbe. S obzirom da raspodjela rezultata nije bila normalno raspodijeljena, koristili su se medijan i interkvartilni raspon za prikaz rezultata i neparametrijski test za usporedbe (Spearmanov koeficijent korelacije). Statistička obrada rezultata provedena je s ciljem određivanja povezanosti koncentracije iona Ca i Mg s prisutnošću bakterija *Legionella* spp. u uzorcima tople vode. Kao dio osnovne statističke analize rezultata izračunate su vrijednosti medijana te interkvartilni rasponi po pojedinim godinama istraživanja. U statističkoj obradi korišten je programski paket MedCalc 11.3.0.0; Windows 2000/XP/Vista/7 versions (Copyright 1993–2010, MedCalc Software byba). Statistički rezultati su interpretirani na razini značajnosti  $p < 0,05$ .

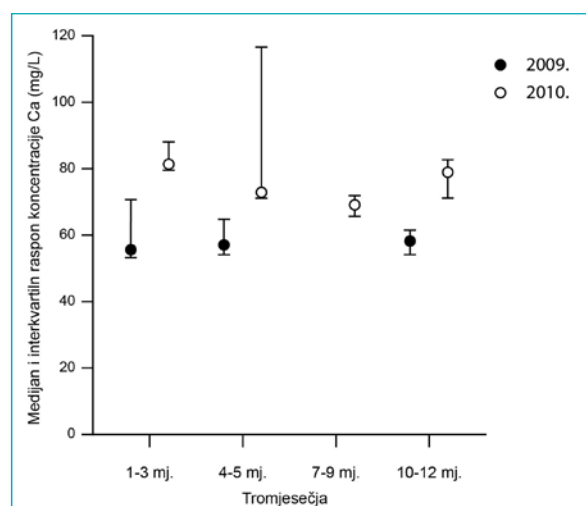
### 2.5. Lokacije i trajanje ispitivanja

U razdoblju od 2009. do 2010. godine analiziran je 121 uzorak tople vode i pritom su određeni kemijski (koncentracije iona Ca i Mg) i mikrobiološki (prisutnost *Legionella* spp.) pokazatelji kakvoće vode. Dobiveni rezultati ispitivanja uzoraka voda uzetih iz javnih objekata (četiri hotela te dva doma za starije i nemoćne osobe) na području Splitsko–dalmatinske županije statistički su obrađeni uz izračunate vrijednosti medijana te interkvartilnih raspona po pojedinim godinama istraživanja.

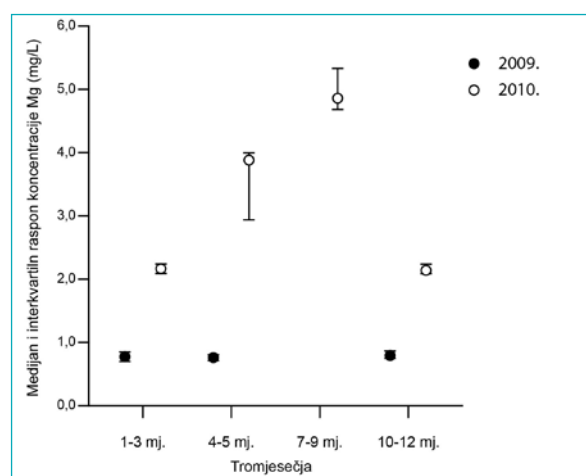
## 3. REZULTATI I RASPRAVA

Vrijednosti medijana te interkvartilni rasponi koncentracija iona Ca i Mg po pojedinim godinama istraživanja prikazani su na slikama 1 i 2. Na slici 1 vidi se razlika u interkvartilnom rasponu koncentracija iona Ca po godinama istraživanja te se zamjećuje trend porasta koncentracija kalcija u toploj vodovodnoj vodi u drugoj godini i to po svim tromjesečjima. Zapaža se i da je najveći interkvartilni raspon koncentracija kalcija određen u uzorcima koji su uzeti tijekom drugog tromjesečja (travanj – lipanj) i to za uzorke koji su uzeti tijekom druge godine ispitivanja.

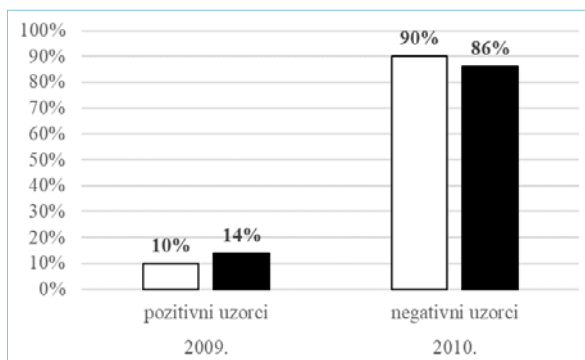
Praćenje promjena koncentracija iona Mg po tromjesečjima, u kojima su uzorkovani uzorci tople vode tijekom dvije godine, prikazano je na slici 2. Na njoj je vidljiv porast koncentracije iona Mg u drugoj godini ispitivanja i to po svim tromjesečjima. Pomoću interkvartilnog prikaza koncentracija iona Mg vidljiv je najveći interkvartilni raspon rezultata kod uzoraka koji su uzorkovani tijekom 2. i 3. tromjesečja (travanj – rujanj) u drugoj godini.



Slika 1: Medijan i interkvartilni prikaz koncentracija Ca (mg/L) po tromjesečjima za sve uzorke zajedno, posebno za prvu i drugu godinu istraživanja.



Slika 2: Medijan i interkvartilni prikaz koncentracija Mg (mg/L) po tromjesečjima za sve uzorke zajedno, posebno za prvu i drugu godinu istraživanja.



Slika 3: Prikaz pozitivnih i negativnih rezultata *Legionella* spp. u uzorcima tople vode uzorkovanih tijekom dvije godine ispitivanja.

Prema navedenom, praćenjem interkvartilnog prikaza koncentracija iona Ca i Mg tijekom dvije godine istraživanja, vidljiv je porast koncentracije navedenih metalnih iona tijekom ljetnih mjeseci.

Tijekom provedenog dvogodišnjeg istraživanja toplih voda uzetih iz javnih ustanova, *Legionella* spp. je izolirana u 16 od 121 (13,2 %) analizirana uzorka u rasponu broja kolonija od 50 cfu/L do 5000 cfu/L. Na slici 3 prikazani su rezultati *Legionella* spp. u uzorcima tople vode uzorkovani tijekom dvije godine ispitivanja, u cilju boljeg uvida u korelacije s koncentracijama iona Ca i Mg.

Ovo istraživanje pokazalo je da je tijekom prve godine istraživanja bilo 10 % pozitivnih uzoraka na *Legionella* spp. dok je u drugoj godini ta vrijednost iznosila 14 %. Dobiveni rezultati su ispod prosjeka rezultata dobivenih analizom toplih voda iz javnih ustanova u drugim zemljama. Tako je primjerice prema rezultatima istraživanja Leoni i sur. (2005.) provedenog u Italiji dokazana prisutnost *Legionella* spp. u 33,3 % uzorka tople vode, dok su u Japanu Edagawa i sur. (2008.) dokazali 20,0 % pozitivnih uzoraka na *Legionella* spp. u uzorcima koji su uzeti iz toplovodnih sustava javne vodoopskrbe.

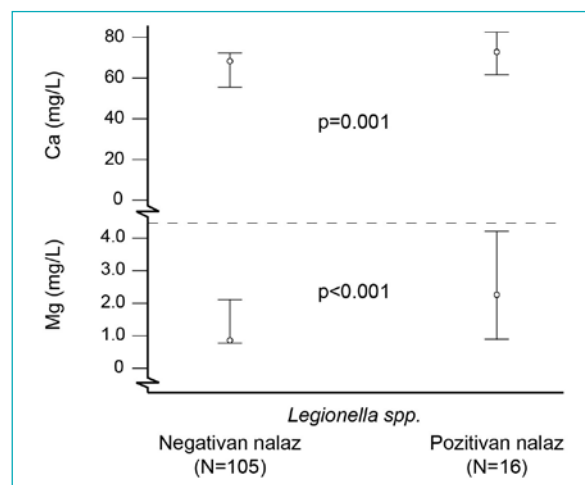
Prisutnost i utjecaj koncentracije različitih metalnih iona u vodi na kolonizaciju bakterija roda *Legionella* su istraživani u brojnim studijama, a rezultati ukazuju da pojedini ioni onemogućavaju rast i razvoj *Legionella* spp., dok drugi imaju biostimulirajući učinak na njihovu kolonizaciju (Leoni i sur., 2005.; Flemming, 2011.; Buse i sur., 2012.). U ovome radu u cilju određivanja povezanosti između koncentracija iona Ca i Mg te prisutnosti *Legionella* spp. u uzorcima tople vode izračunate su Spearmanove korelacije ( $\rho$ ) i pripadajuće im statističke značajnosti ( $p$ ).

Dokazana je pozitivna korelacija između prisutnosti *Legionella* spp. i koncentracija iona Ca ( $\rho = 0,266$  sa statističkom značajnošću od 0,001) i Mg ( $\rho = 0,432$  sa statističkom značajnošću manjom od 0,001).

Prema dosadašnjim istraživanjima, povezanost između prisutnosti *Legionella* spp. i koncentracija Ca i Mg nije lako objasniti, jer su objavljeni kontradiktorni izvještaji. Stout i sur. dokazali su povezanost povećane koncentracije Ca i Mg s prisutnošću *Legionella* spp. (Stout i sur., 1985.), a Leoni i sur. (Leoni i sur., 2005.) dokazali

su da veće koncentracije Ca i Mg u vodi imaju negativan utjecaj na prisutnost *Legionella* spp. Stoga, u cilju prikaza dobivenih rezultata povezanosti koncentracija Ca i Mg s prisutnošću *Legionella* spp., izrađen je graf (slika 4) koji prikazuje interkvartilni raspon rezultata u uzorcima u kojima je dokazana te u onima u kojima nije dokazana *Legionella* spp. Na slici se uočava veći interkvartilni raspon koncentracija kalcija i magnezija te veća vrijednost njihovih medijana u uzorcima pozitivnim na *Legionella* spp. Također je vidljivo da su vrijednosti medijana navedenih metalnih iona na sredini interkvartilnog raspona, tj. blago prema donjem kvartilu. Kod negativnih uzoraka vrijednost medijana za metalne ione kalcija je bliže gornjem kvartilu, a kod magnezijevih iona vrijednost medijana je jednaka vrijednosti donjeg kvartila.

Sustavi za opskrbu vodom karakterizirani hrapavijim površinama omogućuju lakše nastajanje i razvoj biofilмова na unutrašnjim stijenkama. Jedan od čimbenika povećanja hrapavosti unutarnjih površina vodnih sustava je i taloženje kamenca na stijenkama. U tom procesu dolazi do promjena u sastavu vode i to prvenstveno zbog narušavanja karbonatne ravnoteže (ravnoteže kalcijevog i magnezijevog bikarbonata i ugljične kiseline u vodi), što dovodi do taloženja karbonatnih soli (stvaranja vodnog kamenca) (Wilhelm, 2008.). Vjerojatnost nastanka kamenca veća je u uzorcima s višom ukupnom tvrdoćom, tj. koncentracijama iona Ca i Mg u vodi, a time posredno i brže stvaranje biofilмова, tj. olakšana mogućnost vezanja bakterija na mineralne čestice prisutne u kamencu. Rezultati ovoga istraživanja ukazuju da je s protekom vremena došlo do porasta broja pozitivnih uzoraka na *Legionella* spp. s 10 % tijekom prve godine istraživanja na 14 % dokazanih kroz drugu godinu istraživanja, a dokazane su i pozitivne korelacije između prisutnosti *Legionella* spp. i koncentracija Ca i Mg. Stoga, kako bi se smanjila mogućnost nastanka sloja kamenca i biofilмова, kao i porasta njihove debljine, preporuča se redovito periodičko čišćenje cijelog sustava, a posebno taloga iz bojlera te mrežica na slavinama i



Slika 4: Interkvartilni prikaz rezultata koncentracije metalnih iona za uzorke s negativnim i pozitivnim nalazom *Legionella* spp.

rozetama na tuševima od organskih i anorganskih naslaga. Također, preporučljivo je koristiti materijale za cijevi unutar vodovodne mreže koji imaju nisku hrapavost stjenka i spojeva, izraženu čvrstoću stijeni (otpornost na unutarnje i vanjske tlakove), postojanost na koroziju (i vanjsku i unutarnju), otpornost na lutajuće struje, vodonepropusnost prema unutra i van i dr., a u tehnološkom smislu preporučljivo je smanjiti sadržaj Ca i Mg iona prikladnim tehnološkim postupcima.

Rezultati provedene Ankete o tehničko-tehnološkim karakteristikama istraživanih objekata u ovome istraživanju prikazani su u tablici 1. Prema podacima iz Ankete, svi promatrani objekti koriste prema načinu zagrijavanja spremnički ili akumulacijski sustav zagrijavanja vode. Samo dva hotela koriste decentralnu izvedbu zagrijavanja (uz grijanje električnom strujom), a ostali objekti koriste centralnu izvedbu zagrijavanja (uz grijanje tekućim gorivima).

Borella i sur. dokazali su 2004. godine da je prisutnost mikrobioloških vrsta i opasnost od zaraze s mikroorganizmima veća u objektima s centralnim sustavima za grijanje vode u usporedbi s objektima koji imaju nezavisan (decentralni) sustav grijanja vode (Borella i sur., 2004.). Ovo je istraživanje to potvrdilo, jer je dokazana prisutnost *Legionella* spp. u uzorcima tople vode (prema tablici 1):

- 17 % (10/58) s centralnim sustavom grijanja vode
- 9 % (6/63) s decentralnim sustavom grijanja vode.

Istraživanjem je dokazan veći postotak uzoraka koji su bili pozitivni na *Legionella* spp., a uzeti su iz toplovodnog sustava s centralnom pripremom vode. Dakle, može se pretpostaviti da postoji utjecaj tehnološke izvedbe pripreme potrošne tople vode na prisutnost *Legionella*

spp. Osim toga, u studiji Borella i sur. došlo se do spoznaje da je na višim katovima u zgradama s većim brojem stanova i sa starijim, centralnim sustavom za grijanje povećana opasnost od kontaminacije mikroorganizmima u usporedbi sa stanovima s decentralnim sustavima (bojleri) i kratkom udaljenosti do točaka za distribuciju tople vode. Sličnom problematikom su se bavili u svojem istraživanju i Kruse i sur. koji su istraživali, između ostalog, i povezanost udaljenosti ogrjevnih tijela s točkama za krajnje korištenje tople vode (Kruse i sur., 2016.), gdje su ustanovili znatno veću povezanost kolonizacije *Legionella* spp. (63,9 %) na udaljenim vodovima u odnosu na mjesta bliska glavnom zagrijavanju vode (36,1 %).

Na temelju svega navedenog, a u cilju smanjenja mikrobnih populacija i uklanjanja vodnog kamenca, preporuča se razvijanje programa vezanih za održavanje vodovodnih sustava: dobra praksa čišćenja (uključujući kemijski tretman te povremeni tretman dezinfekcijskim sredstvima, npr. klorovim dioksidom, koji pokazuje dobra svojstva i u razgradnji biofilmova sa stijeni vodovodnih cijevi) i povremena zamjena sastavnih dijelova vodovodnog sustava, održavanje prikladnih hidrauličkih uvjeta (Manuel i sur., 2007.), uporaba na prikladnim pozicijama decentralnih oblika grijanja vode, redovita ispitivanja vode na prisutnost bakterija roda *Legionella*, procjene rizika kontaminacije sustava pitke vode u objektima, smanjivanje sadržaja organskih tvari u vodi prikladnim tretmanima i dr. (Camper i sur., 2003.; Rakić i sur, 2016.; Springston i sur, 2017.).

Tablica 1: Tehničko-tehnološke karakteristike objekata uz prisutnost *Legionella* spp. u uzorcima tople vode

| Tehničko-tehnološke karakteristike objekata              | Hoteli |    |    |    | Domovi za starije i nemoćne osobe |    |
|--|--------|----|----|----|-----------------------------------|----|
|  | H1     | H2 | H3 | H4 | D1                                | D2 |
| <b>Sustav za pripremu potrošne tople vode</b>            |        |    |    |    |                                   |    |
| • prema smještaju u odnosu na trošila (vrsta energenta): |        |    |    |    |                                   |    |
| - centralni (tekuća goriva)                              | Da     | Da | x  | x  | Da                                | Da |
| -decentralni (električni)                                | x      | x  | Da | Da | x                                 | x  |
| • prema načinu zagrijavanja:                             |        |    |    |    |                                   |    |
| - protočni   | x      | x  | x  | x  | x                                 | x  |
| - spremnički (akumulacijski)                             | Da     | Da | Da | Da | Da                                | Da |
| Broj ispitivanih uzoraka (N)                             | 14     | 9  | 28 | 35 | 20                                | 15 |
| Broj pozitivnih uzoraka na <i>Legionella</i> spp.        | 1      | 3  | 1  | 5  | 4                                 | 2  |

#### 4. ZAKLJUČAK

U istraživanju je dokazana pozitivna korelacija metalnih iona kalcija i magnezija s prisutnošću bakterija *Legionella* spp. Koncentracije otopljenih Ca i Mg iona čine tvrdoću vode i što su njihove vrijednosti više, veća je vjerojatnost taloženja vodnog kamenca na unutrašnjim stijenkama, koji pak pogoduje stvaranju biofilma, odnosno razvoju i prisutnosti *Legionella* spp. Primijećen je veći broj uzoraka pozitivnih na *Legionella* spp., koji su

uzorkovani iz toplovodnog sustava s centralnim grijanjem vode od sustava s decentralnim zagrijavanjem vode.

Prisutnost *Legionella* spp. nije moguće u potpunosti eliminirati iz vodovodnih sustava zgrada niti iz izvora pitke vode jer su sveprisutne u prirodi. Za sprječavanje razvoja *Legionella* spp. važna je odgovarajuća izvedba cjevovoda (s primjerenim materijalima i hidrauličkim uvjetima) uz fizikalno-kemijske pokazatelje same vode te pravilno postupanje u nadzoru i održavanju vodoopskrbnog sustava. ■

#### LITERATURA

- Bitton G. (2014.): *Microbiology of drinking water production and distribution*. Wiley Blackwell, New Jersey.
- Borella P., Montagna M. T., Romano-Spica V., Slike S., Strancanelli G., Triassi M. (2004.): *Legionella* infection risk from domestic hot water, *Emerg. Infect. Dis.*, 10(3), 457–464.
- Buse H.Y., Schoen M.E., Ashbolt N.J. (2012.): *Legionellae* in engineered systems and use of quantitative microbial risk assessment to predict exposure, *Water Res.*, 46, 921–933.
- Camper A.K., Brastrup K., Sandvig A., Clement J., Spencer C., Capuzzi A.J. (2003.): The effects of distribution system materials on bacterial regrowth, *AWWA*, 95(7), 107–121.
- Edagawa A., Kimura A., Doi H., Tanaka H., Tomioka K., Sakabe K., Nakajima C., Suzuki Y. (2008.): Detection of colourable and nonculturable *Legionella* species from hot water systems of public buildings in Japan, *JAM*, 105, 2104–2114.
- Farhat M., Trouilhé M.-C., Forêt C., Hater W., Moletta-Denat M., Robine E. i dr. (2011.): Chemical disinfection of *Legionella* in hot water systems biofilm: a pilot-scale 1 study, *Water Sci Technol.*, 64, 708–714.
- Farhat M., Moletta-Denat M., Frere J., Onillon S., Trouilhé M.-C., Robine E. (2012.): Effects of disinfection on *Legionella* spp., *Appl Environ Microbiol.*, 78, 6850–6858.
- Flemming, H.C. (2011.): *Biofilm Highlights*. Springer Verlag, Berlin, Germany.
- International Organization for Standardization (ISO) (2004.): ISO 11731-2:2004 *Water quality - Detection and enumeration of Legionella - Part 2: Direct membrane filtration method for waters with low bacterial counts*, ISO, Geneva, Switzerland.
- Krolo P. (2000.): *Vježbe iz tehnoloških procesa anorganske industrije*. Sveučilište u Splitu, Split,
- Kruse E.B., Wehner A., Wisplinghoff H. (2016.): Prevalence and distribution of *Legionella* spp. in potable water systems in Germany, risk factors associated with contamination, and effectiveness of thermal disinfection. *American Journal of Infection Control.*, 44(4), 470–474.
- Labudović B. (2012): *Osnove tehnike instalacija vode i plina*, Energetika marketing, Zagreb
- Leoni E., De Luca G., Legnani P.P., Sacchetti R., Stampi S., Zanetti F. (2005.): *Legionella* waterline colonization: detection of *Legionella* species in domestic, hotel and hospital hot water systems, *JAM*, 98, 373–379.
- Li D., Li Z., Yu J., Cao N., Liu R., Yang M. (2010.): Characterization of bacterial community structure in a drinking water distribution system during an occurrence of red water. *Appl Environ Microbiol.*, 76, 7171–7180.
- Manuel C.M., Nunes O.C., Melo L.F. (2007.): Dynamics of drinking water biofilm in flow/non-flow conditions, *Water Res.*, 41, 551–562.
- Pavić S., Smoljanović M., Mijaković I., Ćurin K., Prodan-Bedalov M. (2001.): Načela utvrđivanja mikrobiološke kakvoće zraka. *Arh. Hig. Rada. Toksikol.*, 52, 355–365.
- Phin N., Parry-Ford T., Harrison T., Stagg H.R., Zhang N., Kumar K. (2014.): Epidemiology and clinical management of Legionnaires' disease. *Lancet Infect Dis.*, 14, 1011–1021.
- Pravilnik o parametrima sukladnosti, metodama analize, monitoringu i planovima sigurnosti vode za ljudsku potrošnju te načinu vođenja registra pravnih osoba koje obavljaju djelatnost javne vodoopskrbe. *Narodne novine* br. 125/2017, 039/2020..
- Rakić, A., Ljoljo, D., Ljubas, D. (2016): Tehničke mjere za sprječavanje razmnožavanja bakterija *Legionella* spp. u sustavima za opskrbu toplom vodom. *Hrvatske vode: časopis za vodno gospodarstvo*, 24(96), 109–118.
- Smoljančić G., Ljubas D. (2013.): *Dinamika stvaranja i taloženja kamenca u toplovodnom sustavu pri 55, 65 i 75 °C*, Interklima 2013- 22. Međunarodni simpozij o grijanju, hlađenju i klimatizaciji i 11. Konferencija o termografiji, Zagreb, Sveučilište u Zagrebu-Fakultet strojarstva i brodogradnje.
- Speight V. (2008.): *Water-Distribution Systems: The Next Frontier*, The Bridge, 38(3), 31–37.
- Springston J.P., Yocavitch L. (2017.): Existence and control of *Legionella* bacteria in building water systems: a review. *J Occup Environ Hyg*, 14, 124–134.

- Stout J.E., Yu V.L., Best M.G. (1985.): Ecology of *Legionella pneumophila* within water distribution systems. *AEM*, 49(1), 221–228.
- Ulleryd P., Hugosson A., Allestam G., Bernander S., Claesson B.E.B., Eliertz I. i dr. (2012.): Legionnaires' disease from a cooling tower in a community outbreak in Lidköping, *BMC Infect Dis.*, 12, 313–322.
- van Heijnsbergen, E., Schalk, J.A.C., Euser, S.M., Brandsema, den Boer, J.W., de Roda Husman, A.M. (2015.): Confirmed and potential sources of *Legionella* reviewed, *Environ. Sci. Technol.*, 49(8), 4797–4815.
- WHO (2007): *Guidelines for drinking - water quality, 2<sup>nd</sup> edition, Addendum: Microbiological agents in drinking water*. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- Wilhelm S. (2008.): *Wasseraufbereitung*. Springer Verlag, Berlin, Germany.
- Zaitseva S.V., Abidueva E.Y., Namsaraev B.B., Wang L., Wu L. (2014.): Microbial community of the bottom sediments of the brackish Lake Beloe (Transbaikal region), *Mikrobiologiya*, 83, 722–729.

### IMPACT OF WATER HARDNESS AND HEATING SYSTEM EXECUTION ON THE COLONISATION OF WARM WATER SYSTEMS BY LEGIONELLA SPP.

**Abstract.** The paper presents the monitoring of calcium and magnesium concentrations, as well as the presence of *Legionella* spp. in 121 warm water samples collected from six facilities (4 hotels and 2 nursing homes) in the Split-Dalmatia County. The research included a survey on technical and technological characteristics of the facilities, providing data important for the quality of warm water. The research included standard statistical methods and a nonparametric test for determining the connection between the chemical indicators and the presence of *Legionella* spp. A statistically significant positive correlation of higher concentrations of Ca and Mg ions dissolved in water with the presence of *Legionella* spp. was determined. It was further determined that a larger number of samples collected from warm water systems with central water heating (17%) were positive for *Legionella* spp. in comparison to samples collected from decentralised water heating systems (9%). For this reason, it is justified to assume that, in addition to water composition, the technical and technological execution of preparation systems for consumable warm water affects the presence of *Legionella* spp. as well.

**Key words:** water supply system, biofilm, *Legionella* spp., water hardness

### AUSWIRKUNG DER WASSERHÄRTE UND DES HEIZSYSTEMS AUF DIE BESIEDLUNG EINES WARMWASSERSYSTEMS DURCH BAKTERIEN LEGIONELLA

**Zusammenfassung.** In diesem Beitrag wurden die Calcium- und Magnesiumkonzentrationen sowie die Anwesenheit von Bakterien *Legionella* spp. in 121 Warmwasserproben beobachtet, die in sechs Einrichtungen (vier Hotels und zwei Altersheimen) auf dem Gebiet der Gespanschaft Split-Dalmatien entnommen wurden. Im Rahmen der Untersuchung wurde auch eine Umfrage über technisch-technologische Eigenschaften der Einrichtungen einschließlich der für die Warmwasserqualität wichtigen Angaben durchgeführt. Im Beitrag wurden die grundlegenden statistischen Methoden sowie der nichtparametrische Test zur Bestimmung des Verhältnisses zwischen chemischen Parametern und der Anwesenheit von *Legionella* spp. verwendet. Es konnte statistisch signifikante Korrelation zwischen höheren Konzentrationen von im Wasser gelösten Calcium- und Magnesiumionen und der Anwesenheit von *Legionella* spp. bestimmt werden. In der durchgeführten Untersuchung wurde eine größere Zahl von Proben bestimmt, die positiv auf *Legionella* spp. waren und welche aus Warmwassersystemen mit zentraler Warmwasserbereitung (17%) entnommen wurden, im Vergleich zu den positiven Proben, die aus dezentralen Warmwasserbereitungssystemen (9%) entnommen wurden. Folglich kann man annehmen, dass auf die Anwesenheit von *Legionella* spp. außer Wasserzusammensetzung auch die technisch-technologische Leistungsfähigkeit eines Warmwasserbereitungssystems Einfluss hat.

**Schlüsselwörter:** Wasserversorgungssystem, Aerosol, Biofilm, *Legionella* spp., Wasserhärte