

BAKTERIOLOŠKA ANALIZA VODE I SEDIMENTA RIJEKE KRAPINE

Blanka Dadić, mag. educ. biol. et chem

Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek, Horvátovac 102a,
Zagreb, Hrvatska
blanka.dadic@biol.pmf.hr

prof. dr. sc. Jasna Hrenović

Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek, Horvátovac 102a,
Zagreb, Hrvatska

izv. prof. dr. sc. Tomislav Ivanković

Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek, Horvátovac 102a,
Zagreb, Hrvatska

Rijeka Krapina, smještena u Hrvatskom zagorju, podložna je antropogenom onečišćenju zbog ispuštanja nepročišćenih komunalnih i bolničkih otpadnih voda. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi bakteriološku kvalitetu vode i površinskih sedimenata analizom prisutnosti indikatora fekalnog onečišćenja. Uzorkovanje je provedeno od izvora rijeke i izvora dvaju pritoka te nizvodno nakon ulijevanja rijeke Krapinice. Crijevni enterokoki i fekalni koliformi zabilježeni su već na izvorima rijeke i pritoka, a njihova koncentracija značajno se povećavala nizvodno radi ulijevanja komunalnih i bolničkih otpadnih voda. U sedimentu su koncentracije indikatorskih bakterija bile više nego u pripadajućoj slobodnoj vodi. Na osnovu koncentracije bakterija indikatora fekalnog onečišćenja rijeka Krapina ne zadovoljava kriterije za kupanje i rekreaciju. Pročišćavanje otpadnih voda prije njihovog izlivanja u rijeku ključno je za smanjenje antropogenog utjecaja na ekosustav, a sustavno praćenje kvalitete vode i sedimenta može doprinijeti donošenju učinkovitih mjera zaštite rijeke.

Ključne riječi: crijevni enterokoki, fekalni koliformi, kakvoća vode, otpadne vode, rijeka

1. UVOD

Rijeka Krapina nalazi se u Hrvatskom zagorju i izvire u naselju Podrute na jugoistočnoj strani Ivanšćice, a ulijeva se u rijeku Savu kod Zaprešića (Munjko, 1975.). Karakteristike rijeke Krapine jesu nedostatak kontinuiranog vodonosnog horizonta, a izvori njenog porječja su malog kapaciteta i razbijenog tipa jer se procjeđuje voda iz površinskog pokrivača (Miletić i dr., 1973.). Rijeka Krapina prima niz rijeke i potoka, a jedan od njih je prtok Topličica u naselju Gotalovec i rijeka Krapinica kod naselja Zabok. Topličica je rijeka koja izvire na južnoj strani Ivanšćice, a specifična je jer sadrži tri termalna izvora.

Hrvatsko zagorje obilježeno je malim naseljima i selima pri čemu ne postoji pročišćavanje otpadnih voda iz raspršenih izvora onečišćenja. Antropogeni utjecaj poput izlivanja nepročišćenih komunalnih ili bolničkih otpadnih voda u vodna tijela česti je uzrok smanjenja higijenske kakvoće vode (Hrenović i dr., 2019.), čime se povećava rizik unosa potencijalno patogenih bakterija u okoliš. Patogene bakterije u okolišu predstavljaju javnozdravstveni rizik za ljude i životinje koje borave u ekosustavu rijeke. Zbog navedenog potrebno je

sustavno praćenje bakteriološke kvalitete vode i pripadajućeg sedimenta, iako rijeka nije korištena za kupanje, rekreaciju ili navodnjavanje. Unatoč tome, na rijeci Krapini do sada je proveden mali broj bakterioloških istraživanja. Fekalno onečišćenje rijeke Krapine potvrđeno je istraživanjima provedenim 2017. i 2018. godine, kojima je utvrđena prisutnost crijevnih enterokoka u vodi i sedimentu nizvodno od ispuštanja bolničke otpadne vode iz Opće bolnice Zabok (Hrenović i dr., 2019.; Jelić i dr., 2019.).

Crijevni enterokoki i koliformne bakterije čine fiziološku floru donjeg intestinalnog trakta u čovjeka i toplokrvnih životinja i indikatori su fekalnog onečišćenja u okolišu (Aram i dr., 2021.; Boehm i Sassoubre, 2014.; Fiello i dr., 2014.). Crijevni enterokoki pokazuju higijensku kvalitetu vode, a skupinu čine vrste iz roda *Enterococcus*. Najvažnije vrste s higijenskog stajališta su *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *E. durans* i *E. hirae* koje se izlučuju fekalijama ljudi i toplokrvnih životinja (Iweriebor i dr., 2015.). Crijevni enterokoki su pouzdan pokazatelj za ispitivanje higijenske kakvoće vode zbog njihovog duljeg preživljavanja u okolišu, veće otpornosti na različite stresne uvjete i činjenice da se ne umnažaju u

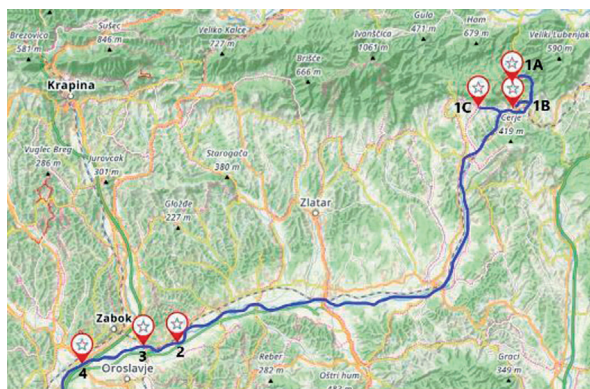
okolišu, za razliku od koliformnih bakterija (Jin i dr., 2004.; Tamai i Suzuki, 2023.).

Skupina koliformnih bakterija uključuje vrstu *Escherichia coli* i druge vrste iz rodova *Klebsiella*, *Citrobacter* i *Enterobacter* (Patel i dr., 2014.). Među koliformnim bakterijama razlikuju se skupine ukupnih i fekalnih koliforma. Ukupne koliformne bakterije uzgajaju se pri 35 °C/48 h, a fekalne koliformne bakterije pri 44.5 °C/24 h (Feng i dr., 2020.). Nakon određenog vremena provedenog u okolišu, ukupne koliformne bakterije izgube sposobnost termotolerancije, tj. nemaju sposobnost rasta na 44.5 °C što upućuje na starije fekalno onečišćenje. Fekalni koliformi imaju sposobnost termotolerancije i indikatori su recentnog fekalnog onečišćenja (Stilinović i Hrenović, 2009.).

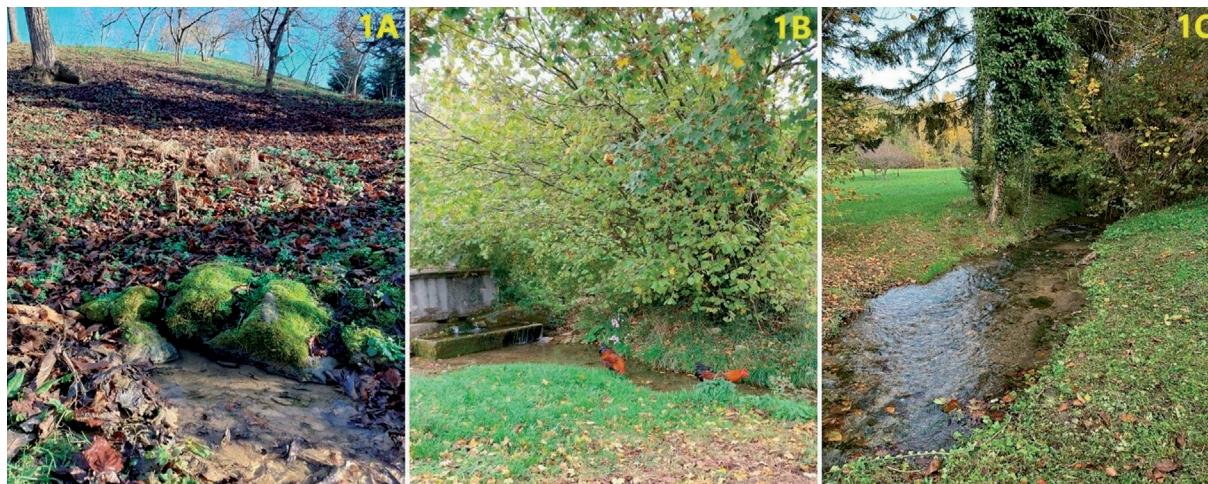
U svrhu istraživanja intenziteta antropogenog onečišćenja ekosustava, u siječnju 2025. godine provedena je kvantifikacija crijevnih enterokoka i populacije fekalnih koliforma u vodi i površinskom sedimentu rijeke Krapine. Istraživanje je obuhvatilo područje od izvora rijeke, uključujući izvore dvaju odabranih pritoka te nizvodno nakon ulijevanja rijeke Krapinice.

2. MATERIJALI I METODE

2.1. Područje uzorkovanja



Slika 1: Tok rijeke Krapine s označenim lokacijama uzorkovanja.



Slika 2: Područje uzorkovanja vode i sedimenta iz izvora rijeke Krapine (1A), izvora pritoka u naselju Babići (1B) i nizvodno od izvora pritoka Topličica (1C).

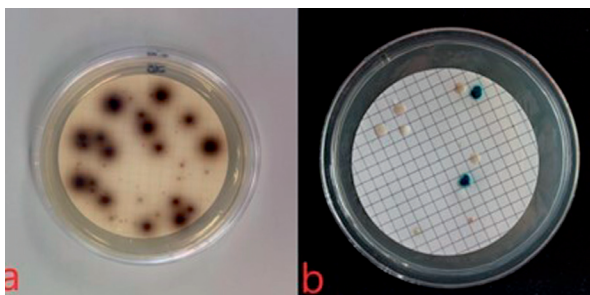
Broj lokacije	Lokacija	Koordinate
1A	Izvor	46°10'14.2"N 16°14'44.4"E
1B	Pritok u naselju Babići	46°09'21.6"N 16°14'49.0"E
1C	Pritok Topličica	46°09'24.3"N 16°13'02.3"E
2	Uzvodno Opće bolnice Zabok	46°01'11.3"N 15°57'29.1"E
3	Nizvodno Opće bolnice Zabok	46°01'06.2"N 15°55'45.3"E
4	Nizvodno ulijevanja rijeke Krapinice	46°00'29.8"N 15°52'35.4"E

Tablica 1: Opis i koordinate lokacija uzorkovanja na rijeci Krapini.

Uzorci riječne vode i sedimenta sakupljeni su 29. siječnja 2025. iz rijeke Krapine i dvaju izvora pripadajućih pritoka (slika 1). Lokacije 1A-1C predstavljaju izvor i dva izvora odabranih pritoka rijeke Krapine (slika 2), dok su lokacije 2, 3 i 4 izabrane kako bi se ispitao utjecaj izlivanja bolničkih i komunalnih otpadnih voda (tablica 1). Voda je uzorkovana na dubini od 20-30 cm ispod površine i uzvodno od uzorkivača koristeći rukavice i sterilne boce od 200 mL. Površinski sloj sedimenta (do 2 cm) uzorkovan je u sterilnu epruvetu od 50 mL pričvršćenu na štap. Svi uzorci su odmah po uzorkovanju pohranjeni u prijenosnom hladnjaku (4 ± 2 °C), zaštićeni od svjetlosti i transportirani u laboratorij, gdje su analizirani unutar 24 sata. Temperatura i pH vrijednost vode izmjereni su koristeći pH metar (inoLab® pH 7110) prilikom uzorkovanja. Podaci o vodostaju za lokacije 2, 3 i 4 preuzeti su od Hrvatskih voda (<https://vodostaji.voda.hr/>) kako bi se povezao utjecaj razine vodostaja na koncentraciju ispitanih bakterioloških pokazatelja.

2.2. Analiza bakterioloških pokazatelja vode i sedimenta

Metodom membranske filtracije uzorci vode (1 mL



Slika 3: Primjeri pozitivnih rezultata bakterioloških parametara vode i sedimenta: crno-smeđe obojenje kolonija kao potvrda porasta crijevnih enterokoka na Bile esculin azide agaru (a), plavo obojene kolonije *E. coli* i žute kolonije ostalih fekalnih koliforma na EC X-GLUC agaru (b).

i 10 mL) profiltrirani su kroz sterilne membranske filtre promjera pora 0.45 µm i stavljeni na komercijalne selektivne te diferencijalne hranjive bakteriološke podloge (slika 3). Za uzgoj crijevnih enterokoka korištena je visoko selektivna kromogena podloga Slanetz-Bartley agar (37 °C/72 h) (Biolife). Crijevni enterokoki porastu kao crvene kolonije zbog razgradnje 2,3,5-trifeniltetrazolium klorida, a potvrda skupine dokazana je upotrebom selektivno-diferencijalne podloge Bile esculin azide agar (44 °C/4 h) (Biolife). Crijevni enterokoki razgrađuju eskulin do eskuletina koji reagira sa željezovim solima što je vidljivo kao pojava crno-smeđeg obojenja oko kolonija. EC X-GLUC agar je selektivno-diferencijalna kromogena podloga za uzgoj fekalnih koliforma (44.5 °C/24 h) (Biolife). Kolonije bakterije *E. coli* porastu kao plave zbog razgradnje X-GLUC komponente s pomoću enzima β-glukuronidaze, dok ostale koliformne bakterije zbog nedostatka enzima porastu kao žute kolonije. Uzorci sedimenta analizirani su nakon suspenzije 1 mL sedimenta u 9 mL sterilne peptonske vode (5 g bakteriološkog peptona na 1 L deionizirane vode). Za uzgoj crijevnih enterokoka suspenzija je razrijeđena u peptonskoj vodi (10⁻²) i filtrirana, a zatim inkubirana na podlozi Slanetz-Bartley (37 °C/72 h). Porasli crijevni enterokoki potvrđeni su inkubacijom na Bile esculin azide agaru (44 °C/4 h). Za fekalne koliforme suspenzija je nakon serijskog razrjeđenja u peptonskoj vodi (10⁻², 10⁻³ i 10⁻⁴) direktno inokulirana na EC X-GLUC podloge metodom širenja razmaza po podlozi.

Koncentracija fekalnih koliforma i crijevnih enterokoka u vodi i sedimentu određena je kao broj jedinica koje

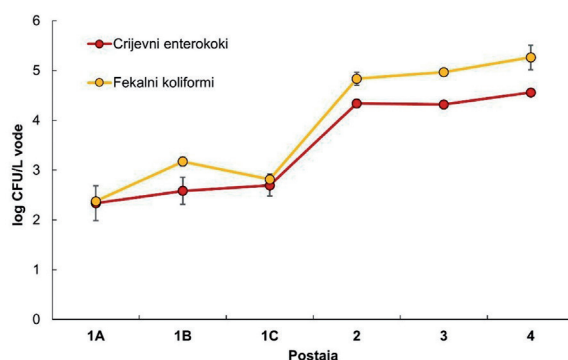
Broj lokacije	Temperatura vode (°C)	pH vode	Vodostaj (cm)
1A	9.0	7.99	-
1B	11.2	7.37	-
1C	19.3	8.20	-
2	9.9	8.18	70
3	10.2	8.17	40
4	10.4	8.10	83

Tablica 2. Temperatura i pH vrijednosti vode te razina vodostaja izmjereni na lokacijama uzorkovanja na rijeci Krapini.

stvaraju kolonije (engl. *Colony Forming Units*, CFU) po 1 L vode ili 1 mL mokrog sedimenta. Apsolutne vrijednosti su logaritmirane radi vjerodostojnijeg prikaza podataka. Statistička značajnost razlika u koncentracijama između lokacija određena je Studentovim t-testom ($p < 0.05$) (Microsoft Excel, Data analysis). Prevalencija (%) bakterija *E. coli* u populaciji fekalnih koliforma određena je kao omjer apsolutnih vrijednosti ($\text{CFU}_{E. coli} / \text{CFU}_{\text{fekalnih koliforma}} \times 100$).

3. REZULTATI I RASPRAVA

U tablici 2 prikazane su temperature i pH vrijednosti uzoraka vode i razina vodostaja na lokacijama. Na lokaciji 1B zabilježena je iznimno visoka temperatura vode za zimsko razdoblje zbog utjecaja termalnih izvora Topličice. Pritok Topličica ima tri termalna izvora, a temperatura glavnog termalnog izvora može doseći i 25.8 °C (Dedić i dr., 2014.). Temperature ostalih uzoraka su niže, što je očekivano jer se istraživanje provelo tijekom zimskog godišnjeg doba. Vrijednosti pH su neutralne što upućuje da neće negativno utjecati na koncentraciju crijevnih enterokoka i fekalnih koliforma u vodi. Visoki vodni val zabilježen je 24. siječnja 2025., ali



Slika 4: Koncentracija (log CFU/L vode) crijevnih enterokoka i fekalnih koliforma u vodi rijeke Krapine. Prikazane su srednje vrijednosti i standardna devijacija tehničkog triplikata.

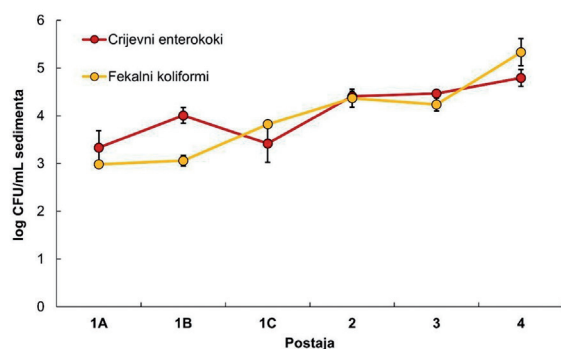
se do uzorkovanja (29. siječnja 2025.) razina vodostaja na lokacijama 2, 3 i 4 snizila za 77 do 104 cm.

U svim uzorcima vode detektirani su crijevni enterokoki i fekalni koliformi (slika 4). Najmanja koncentracija crijevnih enterokoka i fekalnih koliforma zabilježena je u vodi iz izvora rijeke Krapine (1A). Koncentracije indikatora fekalnog onečišćenja u vodi bile su niže na izvorima (1A, 1B i 1C) u usporedbi s nizvodnim lokacijama, no prisutnost fekalnih indikatora na izvorima upućuje na antropogeni utjecaj. Tri izvora smještene su u naseljima s manje od 300 stanovnika, gdje većina stanovnika uzgaja domaće životinje. Crijevni enterokoki i fekalni koliformi prirodno se nalaze u donjem intestinalnom traktu ljudi i domaćih životinja te putem fekalija mogu dospjeti u izvore rijeke i pritoka (Eden, 2014.).

Izlijevanje nepročišćenih komunalnih i bolničkih otpadnih voda uzrokovalo je statističko značajno povećanje ($p < 0.05$) koncentracije fekalnih indikatora na lokacijama 2, 3 i 4 (4.56 ± 0.05 log CFU/L crijevnih

enterokoka; 5.26 ± 0.25 log CFU/L fekalnih koliforma) u usporedbi s izvorima (2.69 ± 0.21 log CFU/L crijevnih enterokoka; 3.17 ± 0.09 log CFU/L fekalnih koliforma). Prema dostupnim podacima iz Registra onečišćavanja okoliša za 2023. godinu (Registar onečišćavanja okoliša, 2024.) količina ispuštene komunalne otpadne vode (log m³/god) u području naselja iznosila je: 4.60 – Zlatar, 3.95 – Zlatar Bistrica, 4.72 – Bedekovčina i 5.25 – Zabok. Količina bolničke otpadne vode ispuštena iz Opće bolnice Zabok izračunata je prema formuli opisanoj u radu autora Verlicchi (2018.) i približno iznosi 4.80 log m³/god. Radi većeg volumena, mogući veći utjecaj imaju nepročišćene komunalne otpadne vode iz naselja Zlatar, Zlatar Bistrica, Zabok i Krapinskih Toplica nego nepročišćena bolnička otpadna voda. Nepročišćena komunalna otpadna voda sadrži višu koncentraciju crijevnih enterokoka (8 log CFU/L) u usporedbi s bolničkom otpadnom vodom (7 log CFU/L), pa komunalne otpadne vode imaju veći doprinos povećanoj koncentraciji fekalnih indikatora u vodi recipijentu (Blanch i dr., 2003.).

Na sva tri ispitana izvora u sedimentu detektirani su crijevni enterokoki i fekalni koliformi (slika 5).



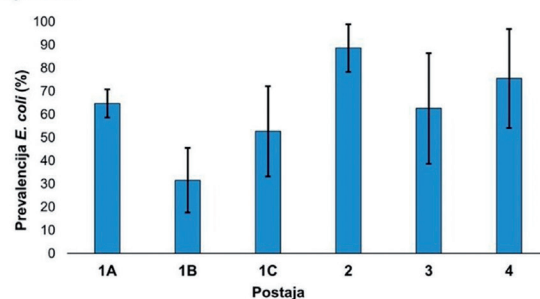
Slika 5: Koncentracija (log CFU/mL sedimenta) crijevnih enterokoka i fekalnih koliforma u sedimentima rijeke Krapine. Prikazane su srednje vrijednosti i standardna devijacija tehničkog tripplikata.

Koncentracije ispitanih bakterioloških pokazatelja u sedimentu bile su niže u izvorima (3.33 ± 0.35 log CFU/mL crijevnih enterokoka; 2.98 ± 0.07 log CFU/mL fekalnih koliforma) u usporedbi s nizvodnim lokacijama (4.79 ± 0.17 log CFU/mL crijevnih enterokoka; 5.33 ± 0.28 fekalnih koliforma) te je statističko značajno povećanje ($p < 0.05$) zabilježeno nakon izlivanja nepročišćenih komunalnih i bolničkih otpadnih voda. U istraživanju provedenom 2018. godine na rijeci Krapini (Hrenović i dr., 2019.) koncentracija crijevnih enterokoka nizvodno ispusta otpadnih voda Opće bolnice Zabok iznosila je 3.82 log CFU/L vode i 1.51 log CFU/g sedimenta. Koncentracija crijevnih enterokoka u vodi bila je približna vrijednosti 4.32 log CFU/L vode dobivenoj u ovom istraživanju. Ovaj nalaz, potvrđuje kontinuirani unos fekalnih indikatora u okoliš rijeke. Koncentracija indikatora fekalnog onečišćenja u rijeci Krapini je 100 do 1.000 puta veća u sedimentu nego u pripadajućoj slobodnoj vodi, što je u skladu s prijašnjim istraživanjima

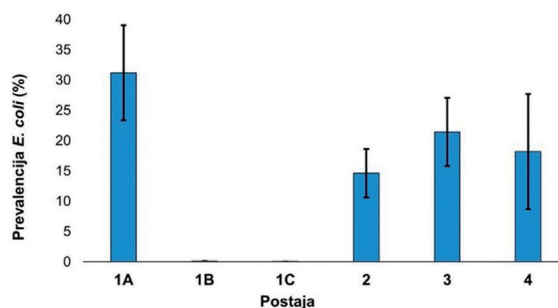
(Stocker i dr., 2019.). Kada bakterije uđu u okoliš, njihovo preživljavanje ovisi o različitim okolišnim uvjetima. U sedimentu bakterije preživljavaju duže i često formiraju biofilm koji ih štiti u promjenjivim uvjetima okoliša (Hassard i dr., 2016.). Viša koncentracija bakterija u sedimentu posljedica je adsorpcije bakterija za čestice sedimenta te njihovog taloženja, ali i veće koncentracije organske tvari u sedimentu u odnosu na vodu (Hassard i dr., 2016.; Stocker i dr., 2019.). Visoki vodni val zabilježen 24. siječnja 2025. uzrokovao je podizanje sedimenta u stupac vode, što je vjerojatno dovelo do povećanja koncentracije fekalnih indikatora u vodi. Budući da je od vodnog vala do uzorkovanja prošlo pet dana, većina podignutog sedimenta se istaložila i više nije utjecala na povećanje koncentracije fekalnih indikatora u vodi.

Prevalencija *E. coli* unutar populacije fekalnih

a) voda



b) sediment



Slika 6: Prevalencija *E. coli* u populaciji fekalnih koliforma u vodi (a) i sedimentu (b). Prikazane su srednje vrijednosti i standardna devijacija tehničkog tripplikata.

koliforma u uzorcima vode značajno je veća nego u sedimentu (slika 6). U vodi rijeke Sene, Pariz, Francuska, udio *E. coli* u populaciji fekalnih koliforma prosječno je iznosio 77 % (Garcia-Armisen i dr., 2007.). Uzorci vode uzeti su s različitih lokacija koje su bile pod utjecajem fekalnih onečišćenja, iako nije naglašena vrsta fekalnog onečišćenja. Podaci su slični rezultatima dobivenim u ovom istraživanju, gdje je udio *E. coli* na lokaciji 4 iznosio 75 %, a na lokaciji 2 bio je 89 % (slika 6). Udio *E. coli* općenito je veći u populaciji fekalnih koliforma u odnosu na populaciju ukupnih koliforma radi bržeg ugibanja *E. coli* u okolišu u usporedbi s drugim vrstama koliformnih bakterija (Feng i dr., 2020.). U izvorima 1A i 1B nije pronađena *E. coli*, iako su prisutni ostali fekalni

koliformi i crijevni enterokoki. Broj crijevnih enterokoka u pravilu pozitivno korelira s brojem fekalnih koliforma, no ako koliformne bakterije nisu dokazane u uzorku, sam nalaz crijevnih enterokoka pouzdan je dokaz fekalnog onečišćenja (Dekić i Hrenović, 2017.; Stocker i dr., 2019.).

Metodama membranske filtracije, serijskog razrjeđenja i inokulacije uzoraka vode i sedimenta dokazuje se samo prisustvo vrste *E. coli*, no postoji niz sojeva *E. coli* koji mogu biti prisutni u vodi i uzrokovati različite bolesti ili pak biti bezopasni za ljude. Izlaganje kontaminiranoj vodi može imati različite posljedice jer je uočena korelacija između stope pojave bolesti i detektirane *E. coli* u površinskoj vodi korištenoj za rekreaciju (Hamilton i dr., 2005.). Prema faktorima virulencije, patogeni sojevi *E. coli* podijeljeni su na enteropatogene, enterohemoragične, enteroinvazivne i enterotoksične (Mare i dr., 2021.). Uz rutinske analize izolacije *E. coli*, potrebno je napraviti serotipizaciju izolata kako bi se utvrdilo prisustvo patogenih sojeva *E. coli*.

Prema Uredbi o kakvoći vode za kupanje (NN 51/2024), rijeka Krapina nizvodno od izvora ne zadovoljava kriterije za kupanje i rekreaciju, što upućuje na značajan antropogeni utjecaj na onečišćenje ekosustava rijeke. Važno je napomenuti da Uredba regulira samo kvalitetu vode, no nužno je analizirati i sediment kao dio riječnog ekosustava. Adekvatno pročišćavanje bolničkih i komunalnih otpadnih voda prije izlivanja u rijeku spriječilo bi ulazak i širenje potencijalno patogenih bakterija u okoliš. Sustavno praćenje kvalitete vode i sedimenta može doprinijeti donošenju učinkovitih mjera zaštite rijeke. ■

4. ZAKLJUČAK

Bakteriološka analiza uzoraka vode i sedimenta rijeke Krapine pokazala je prisutnost crijevnih enterokoka i fekalnih koliforma na izvoru rijeke i izvorima njenih pritoka. Koncentracija praćenih indikatora fekalnog onečišćenja nizvodno se povećala za oko 100 puta uslijed izlivanja nepročišćenih komunalnih i bolničkih otpadnih voda. U sedimentu su zabilježene 100 do 1.000 puta veće koncentracije bakterija u odnosu na pripadajuću slobodnu vodu.

S obzirom na izražen antropogeni utjecaj, rezultati istraživanja potvrđuju da rijeka Krapina nije pogodna za kupanje i rekreaciju.

Rezultati istraživanja naglašavaju važnost kontinuiranog praćenja mikrobiološke kakvoće vode i sedimenta zbog očuvanja prirodnih vodenih ekosustava, koji su podložni dugoročnim promjenama uslijed kumulativnog onečišćenja. U narednom razdoblju nužno je unaprijediti sustav pročišćavanja bolničkih i komunalnih otpadnih voda te uspostaviti dugoročni program praćenja mikrobioloških pokazatelja kakvoće vode i sedimenta. Takav pristup omogućit će pravovremeno prepoznavanje funkcionalnosti prirodnog sustava, donošenje učinkovitih mjera upravljanja te očuvanje ekološkog statusa rijeke Krapine i njenih pritoka. ■

LITERATURA

Aram, S. A., Saalidong, B. M., Lartey, P. O., (2021.): Comparative assessment of the relationship between coliform bacteria and water geochemistry in surface and ground water systems. *PLoS One*, 16(9).

Blanch, A. R., Caplin, J. L., Iversen, A., Kühn, I., Manero, A., Taylor, H. D., Vilanova, X., (2003.): Comparison of enterococcal populations related to urban and hospital wastewater in various climatic and geographic European regions. *Journal of Applied Microbiology*, 94(6), 994-1002.

Boehm, A. B., Sassoubre, L. M., (2014.): Enterococci as indicators of environmental fecal contamination. *Enterococci: from commensals to leading causes of drug resistant infection*. Massachusetts Eye and Ear Infirmary, Boston, USA.

Dedić, Ž., Kruk, B., Kruk, L., Kovačević-Galović, E., Miko, S., Crnogaj, S., Peh, Z., Avanić, R., (2014.): Rudarsko-geološka studija Krapinsko-zagorske županije. Hrvatski geološki institut.

Dekić, S., Hrenović, J., (2017.): Bakteriološka analiza izvorske vode uz najpoznatija izletišta Parka prirode Medvednica. *Hrvatske vode*, 25(99), 13-16.

Eden, R., (2014.): Enterobacteriaceae, coliforms and *E. coli*: classical and modern methods for detection and enumeration. *Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition*. Elsevier, Amsterdam, Nizozemska.

Feng, P., Weagant, D. S., Grant, A. M., Burkhardt, W., (2020.): Enumeration of *Escherichia coli* and the coliform bacteria. *Bacteriological analytical manual*. Food and Drug Administration.

Fiello, M., Mikell, A. T., Moore, M. T., Cooper, C. M., (2014.): Variability in the characterization of total coliforms, fecal coliforms and *Escherichia coli* in recreational water supplies of North Mississippi, USA. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 93(2), 133-137.

Garcia-Armisen, T., Prats, J., Servais, P., (2007.): Comparison of culturable fecal coliforms and *Escherichia coli* enumeration in freshwaters. *Canadian journal of microbiology*, 53(6), 798-801.

Hamilton, W. P., Kim, M., Thackston, E. L., (2005.): Comparison of commercially available *Escherichia coli* enumeration tests: Implications for attaining water quality standards. *Water Research*, 40(3), 4869-4878.

Hassard, F., Gwyther, C. L., Farkas, K., Andrews, A., Jones, V., Cox, B., Brett, H., Jones, D. L., McDonald, J. E., Malham, S. K., (2016.): Abundance and distribution of enteric bacteria and viruses in coastal and estuarine sediments-a review. *Frontiers in microbiology*, 7:1692.

Hrenovic, J., Durn, G., Kazazic, S., Dekic, S., Music, M. S., (2019.): Untreated wastewater as a source of carbapenem-resistant bacteria to the riverine ecosystem. *Water SA*, 45(1), 55-62.

Iweriebor, B. C., Obi, L. C., Okoh, A. I., (2015.): Virulence and antimicrobial resistance factors of *Enterococcus* spp. isolated from fecal samples from piggery farms in Eastern Cape, South Africa. *BioMed Central microbiology*, 15:136.

Jelić, M., Hrenović, J., Dekić, S., Goić-Barišić, I., Tambić Andrašević, A., (2019.): First evidence of KPC-producing ST258 *Klebsiella pneumoniae* in river water. *Journal of Hospital Infection*, 103(2), 147-150.

Jin, G., Englande, A. J., Bradford, H., Jeng, H. W., (2004.): Comparison of *E. coli*, Enterococci, and fecal coliform as indicators for brackish water quality assessment. *Water Environment Research*, 77(5), 433.

Mare, A. D., Ciurea, C. N., Man, A., Tudor, B., Moldovan, V., Toma, F., (2021.): Enteropathogenic *Escherichia coli*-a summary of the literature. *Gastroenterology Insights*, 12(1), 28-40.

Miletić, P., Borčić, D., Turić, G., (1973.): Regionalne hidrogeološke značajke porječja Krapine. *Geološki vjesnik*, 25, 257-265.

Munjko, I., (1977.): Ispitivanje površinskih voda sliva rijeke Krapine s posebnim osvrtom na prisutnost ulja i fenola u vodi. *Croatian Journal of Fisheries*, 32(2), 25-30.

Patel, A. K., Singhanian, R. R., Pandey, A., Joshi, V. K., Nigam, P. S., Soccol, C. R., (2014.): Enterobacteriaceae, coliforms and *E. coli*: Introduction. *Encyclopedia of Food*

Microbiology: Second Edition. Elsevier, Amsterdam, Nizozemska.

Registar onečišćavanja okoliša. (2024.): Izvješće o podacima iz Registra onečišćavanja okoliša za 2023. godinu, Ministarstvo zaštite okoliša i zelene tranzicije.

Stilinović, B., Hrenović, J., (2009.): *Praktikum iz bakteriologije*. Kugler, Zagreb, Hrvatska.

Stocker, M. D., Smith, J. E., Hernandez, C., Macarisin, D., Pachepsky, Y., (2019.): Seasonality of *E. coli* and Enterococci concentrations in creek water, sediment, and periphyton. *Water, Air and Soil Pollution*, 230, 223.

Tamai, S., Suzuki, Y., (2023.): Diversity of fecal indicator enterococci among different hosts: importance to water contamination source tracking. *Microorganisms*, 11(12), 2981.

Uredba o kakvoći vode za kupanje (NN 51/2024).

Verlicchi, P., (2018.): *Hospital Wastewaters: Characteristics, Management, Treatment and Environmental Risks*. Springer International Publishing, Cham, Switzerland.

Vodostaji Hrvatske. Hrvatske vode. Dostupno na: <https://vodostaji.voda.hr/>. Pristupljeno: 29. 1. 2025.

BACTERIOLOGICAL ANALYSIS OF WATER AND SEDIMENT IN THE KRAPINA RIVER

Abstract: The Krapina River, located in the Hrvatsko Zagorje region, is exposed to anthropogenic pollution due to discharges of untreated urban and hospital wastewater. The aim of this research was to determine the bacteriological quality of water and surface sediments by analysing the presence of indicators of faecal pollution. Sampling was carried out from the river source and the sources of two tributaries, as well as downstream after the confluence of the Krapinica River. Intestinal enterococci and faecal coliforms were already recorded at the sources of the river and its tributaries, with their concentrations significantly increasing downstream due to the inflows of urban and hospital wastewater. The concentrations of indicator bacteria in the sediment were higher than in the corresponding free water. Based on the concentration of bacteria indicating faecal pollution, the Krapina River does not meet the criteria for bathing and recreation. Wastewater treatment prior to its discharges into the river is crucial for reducing anthropogenic impact on the ecosystem, while systematic water and sediment quality monitoring can contribute to the adoption of effective river protection measures.

Key words: intestinal enterococci, faecal coliforms, water quality, wastewater, river.

BAKTERIOLOGISCHE ANALYSE VON WASSER UND SEDIMENT DES FLUSSES KRAPINA

Zusammenfassung: Der Fluss Krapina in der Region Hrvatsko zagorje ist durch die Einleitung unbehandelter kommunaler und Krankenhausabwässer anthropogener Verschmutzung ausgesetzt. Das Ziel dieser Studie war es, die bakteriologische Qualität von Wasser und Oberflächensedimenten durch die Analyse des Vorhandenseins von Indikatoren für fäkale Verschmutzung zu bestimmen. Die Probenahme erfolgte an der Quelle des Flusses und den Quellen zweier Nebenflüsse sowie flussabwärts nach der Einmündung des Flusses Krapinica. An den Quellen und Nebenflüssen wurden bereits intestinale Enterokokken und fäkale Kolibakterien nachgewiesen, deren Konzentration flussabwärts durch den Zufluss von kommunalen und Krankenhausabwässern deutlich anstieg. Im Sediment waren die Konzentrationen der Indikatorbakterien höher als im zugehörigen freien Wasser. Aufgrund der Konzentration von Bakterien, die als Indikator für fäkale Verschmutzungen gelten, erfüllt der Fluss Krapina nicht die Kriterien für Schwimmen und andere Wasseraktivitäten. Die Behandlung von Abwasser vor der Einleitung in den Fluss ist für die Verringerung der anthropogenen Auswirkungen auf das Ökosystem von entscheidender Bedeutung. Eine systematische Überwachung der Wasser- und Sedimentqualität kann zur Einführung wirksamer Maßnahmen zum Flussschutz beitragen.

Schlüsselwörter: Enterokokken im Darm, fäkale Kolibakterien, Wasserqualität, Abwasser, Fluss