

58. srečanje mladih raziskovalcev Slovenije

Ta voda je najboljša voda

Raziskovalno področje: Zdravstvo

Raziskovalna naloga



Avtorici: Neli Gošnjak, Ana Čelan

Mentorica: Katja Holnthaner Zorec, prof.

Somentorica: asist. dr. Valerija Tkalec

Maribor, april 2024

KAZALO VSEBINE

POVZETEK	IV
ZAHVALA.....	V
1 UVOD	1
1.1 Raziskovalna vprašanja	2
1.2 Hipoteze.....	2
2 TEORETIČNO OZADJE	3
2.1 Pravilnik o pitni vodi	3
2.2 Oskrba s pitno vodo.....	3
2.3 Mikrobiološki parametri pitne vode	4
2.3.1 Analitični postopki določanja mikrobioloških parametrov	6
2.4 Sistem za identifikacijo bakterij: MALDI-TOF	7
2.5 Pojavnost in pomen koliformnih bakterij ter bakterij fekalnega izvora v pitni vodi	8
2.5.1 Bakterije vrste <i>Escherichia coli</i>	8
2.5.2 Bakterije rodu <i>Citrobacter</i>	9
2.5.3 Bakterije rodu <i>Enterobacter</i>	9
2.5.4 Bakterije rodu <i>Serratia</i>	9
2.5.5 <i>Yersinia</i>	10
2.6 Pomen površinskih sladkih voda na pojavnost in razvoj večkratno odpornih bakterij	10
2.6.1 Večkratno odporne bakterije, ki proizvajajo betalaktamaze (ESBL) in karbapenemaze (CP)	11
2.6.1.1 Bakterije, ki proizvajajo betalaktamaze.....	11
2.6.1.2 Testiranje odpornosti proti antibiotikom in določanje prisotnosti betalaktamaz pri enterobakterijah.....	12
2.6.1.3 Fenotipski testi za ugotavljanje ESBL.....	13
2.6.1.4 Odpornost proti karbapenemom in karbapenemaze pri enterobakterijah.....	14
3. MATERIALI IN METODE DELA	15
3.1 Materiali	15
3.2 Metode.....	17
3.2.1 Vzorčenje vode	18
3.2.2 Potek analize vode.....	19
3.2.2.1 Filtracija vzorcev	20
3.2.2.2 Določanje klic	20
3.2.3 Analiza poraslih bakterij na filtrih.....	21
3.2.4 Identifikacija izolatov.....	21

3.2.5 Določanje betalaktamaz in odpornosti proti karbapenemom	21
4 REZULTATI.....	22
4.1. Mikrobiološki parametri testiranih studenčnih in izvirskih vod	22
4.2 Identifikacija bakterijskih kultur	25
4.3 Rezultati testiranja betalaktamaz in odpornosti proti karbapenemom.....	27
5 RAZPRAVA.....	29
6 DRUŽBENA ODGOVORNOST.....	32
7 ZAKLJUČEK	33
8 VIRI.....	34

KAZALO SLIK

Slika 1: Shematski prikaz korakov poteka analize vode	17
Slika 2: Zemljevid s prikazanimi kraji vzorčenja.....	18
Slika 3: Izvir vode v Slovenski Bistrici.....	19
Slika 4: Filtrirni sistem.....	20

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Diski za potrditev sevov ESBL (Liofilchem, Italija)	13
Preglednica 2: Laboratorijska oprema.....	15
Preglednica 3: Uporabljene kemikalije	16
Preglednica 4: Pregled mikrobioloških parametrov analiziranih voda.	23
Preglednica 5: Deset najpogosteje določenih rodov bakterij iz vzorcev izvirskih in studenčnih vod razporejeni glede na gojišče na katerem so porasli. Predstavniki iz družine enterobakterij so označeni s krepko pisavo.	26
Preglednica 6: Prikaz najpogostejših rodov bakterij glede na lokacijo vzorčenja. K navedenim rodovom smo pripisali število osamljenih in identificiranih bakterij. Ob imenu vzorčnega mesta je navedeno število vseh določenih rodov iz posameznega vzorca.	27
Preglednica 7: Pregled testiranih bakterij na betalaktamaze in odpornost proti karbapenemom	28

KAZALO GRAFOV

Graf 1: število CFU posameznih rodov bakterij določenih glede na kraj odvzema vzorca.....	24
Graf 2: Delež vseh osamljenih in identificiranih bakterij v vzorcih vode.....	25

POVZETEK

Cilj raziskovalne naloge je bil analizirati mikrobiološke parametre studenčnih ($n=2$) in izvirskih vod ($n=4$), ki jih ljudje uporablajo za pitje. V vzorcih smo preverjali prisotnost bakterij, ki jih uporabljamo kot kriterije za mikrobiološko kvaliteto vode: *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens* in enterokokov (indikatorski mikroorganizmi) ter koliformne bakterije. Rezultate smo primerjali z mikrobiološkimi parametri, določenimi s Pravilnikom o pitni vodi. Izbrane po Gramu negativne bakterije smo testirali tudi na večkratno odpornost proti antibiotikom. Osredotočili smo se na določanje betalaktamaz širokega spektra (ESBL) in odpornost proti karbapenemom. Ugotovili smo, da nobeden izmed vzorcev ni ustrezal predpisanim mikrobiološkim parametrom. Čeprav smo predvidevali, da v vzorcih ne bo večkratno odpornih bakterij, smo v eni od izvirskih vod določili večkratno odporno enterobakterijo *Serratia fonticola* ESBL. Pri testiranih studenčnih in izvirskih vodah, ki jih ljudje vsakodnevno uporablajo, kot pitno vodo nismo določili le neskladja mikrobioloških parametrov s parametri, določenimi v Pravilniku o pitni vodi, ampak smo določili tudi večkratno odporno bakterijo, kar nakazuje na fekalno kontaminacijo tovrstnih vod. Naši rezultati podajajo resen pomislek o uporabi vod, ki niso vključene v redne državne monitoringe kot pitne vode.

Ključne besede: izvirske vode, studenčne vode, zdravje, indikatorski mikroorganizmi, monitoring, ESBL, antibiotiki.

ZAHVALA

Radi bi se zahvalili Nacionalnemu laboratoriju za javno zdravje (NLZOH), ki nama je omogočil raziskovanje v laboratorijih, še posebej pa najini mentorici, ki naju je usmerjala skozi celotno raziskovanje in nama pomagala priti do rezultatov.

Radi bi se zahvalili tudi najini šolski mentorici, ki naju je pri raziskovanju usmerjala in podpirala.

1 UVOD

Slovenija je ena najbolj vodnatih evropskih držav s številnimi vodnimi viri. Večina prebivalcev Slovenije za gospodinjstva koristi vodo iz javnega vodovoda. Vendar, kar nekaj prebivalcev Slovenije ni priključeno na sisteme javnega vodovoda in so vezani na lastno oskrbo s pitno vodo. Vse to so tako imenovani vodni viri brez upravljalca, v Sloveniji jih je čez 20.000. Ti nimajo stalnega ustreznega nadzora kvalitete (monitoringa) in predelave (npr. filtracija, kloriranje), tako kot je to zagotovljeno za vodo iz sistemov za oskrbo pitne vode z ustreznim nadzorom (npr. javni vodovod).

Namen naloge je bil raziskati mikrobiološke parametre različnih izvirskih ($n=4$) in studenčnih vod ($n=2$) v Štajerski regiji, ki jih ljudje redno uporabljajo za lastne potrebe v gospodinjstvu. V nalogi smo želeli ugotoviti, ali so ti vodni viri v skladu s predpisanimi mikrobiološkimi parametri za pitno vodo, ki jih določa država v Pravilniku o pitni vodi (Uradni list RS, št. 19/04, 35/054, 26/06, 92/07, 25/09 in 74/15). Izbrane bakterije, ki so porasle na s pravilnikom predpisanih gojiščih smo identificirali do nivoja rodu in/ali vrste. Ker porast odpornosti proti antibiotikom pri bakterijah predstavlja resen javnozdravstven problem 21. stoletja, smo pri predstavnikih identificiranih enterobakterij testirali še večkratno odpornost proti antibiotikom. Osredotočili smo se na določanje betalaktamaz širokega spektra (ESBL) in odpornost proti karbapenemom. Okužbe z bakterijami, ki izločajo encime betalaktamaze in/ali so odporne proti karbapenemom pri bolnikih povečajo težavnost zdravljenja, povzročajo zaplete pri zdravljenju, podaljšujejo bolnišnično oskrbo in celo vplivajo na smrtnost bolnikov. Zaenkrat je podatkov o večkratno odpornih enterobakterijah v izvirskih in studenčnih vodah relativno malo, za Slovenijo pa jih nismo zasledili.

1.1 Raziskovalna vprašanja

1. Ali so vodni viri brez upravljalca v skladu z mikrobiološkimi parametri, predpisanimi s Pravilnikom o pitni vodi?
2. Ali se v vzorčenih vodah nahajajo enterobakterije, v kolikšnem številu in kateri predstavniki?
3. Ali lahko, glede na pregledano literaturo, v nalogi določene enterobakterije vplivajo na zdravje človeka ob pitju takšne vode?
4. Ali bodo predstavniki osamljenih enterobakterij večkratno odporni proti antibiotikom?

1.2 Hipoteze

1. Pričakujemo, da bodo studenčne vode, ki se uporabljajo za pitno vodo v gospodinjstvih na splošno v skladu z mikrobiološkimi parametri, določenimi v Pravilniku o pitnih vodah.
2. Breme bakterij se bo v izvirskih vodah in studenčnih vodah razlikovalo glede na nahajališče in tip vode.
3. V izvirskih in studenčnih vodah pričakujemo nizko število koliformnih bakterij in bakterij vrste *Escherichia coli*.
4. V izvirskih in studenčnih vodah ne bo prisotnih večkratno odpornih enterobakterij.

2 TEORETIČNO OZADJE

2.1 Pravilnik o pitni vodi

Pitna voda je v Pravilniku o pitni vodi označena kot:

1. voda v njenem prvotnem stanju ali po pripravi, namenjena pitju, kuhanju, pripravi hrane ali za druge gospodinjske namene, ne glede na njeno poreklo in ne glede na to, ali se dobavlja iz vodovodnega omrežja sistema za oskrbo s pitno vodo, cistern ali kot predpakirana voda;
2. vsa voda, ki se uporablja za proizvodnjo in promet živil (PIS, 2019).

V pravilniku je prav tako zapisano, da pitna voda ne sme vsebovati mikroorganizmov, parazitov ali njihovih drugih razvojnih oblik v številu, ki je nevarno za zdravje. To velja tudi za kemijske snovi v koncentracijah ki bi predstavljale nevarnost za človekovo zdravje. Ustrezati mora mejnim vrednostim parametrov.

Pravilnik prav tako obravnava postopek določanja lastnika vodnega vira in njegove naloge za vzdrževanje, skrb ter redni nadzor vodnega vira. Obstajajo pa izjeme glede rednega nadzora vodnih virov za pitne vode, in sicer za vodne vire, ki zagotavljajo manj kot 10 m^3 vode na dan oziroma oskrbujejo manj kot 50 oseb (PIS, 2017).

Pravilnik o pitni vodi ne zahteva rutinskega spremljanja virusov v pitni vodi, prav tako se rutinsko ne določajo fekalni virusi. Pitna voda je zanje testirana v primeru suma pri hidrinih izbruhih, zaradi vdorov površinskih vod ali fekalij v vodovodno omrežje ali za raziskovalne namene (NIJZ, 2023).

2.2 Oskrba s pitno vodo

V Sloveniji velja, da kjer občina zagotavlja oskrbo s pitno vodo v okviru storitve javne službe, se je lastnik objekta, ki potrebuje oskrbo s pitno vodo, dolžan priključiti na javno vodovodno omrežje. V primeru, da se objekt, ki bo oskrbovan s pitno vodo, nahaja na območju, kjer to ni mogoče, pa prebivalci skrbijo za lastno oskrbo s pitno vodo, za kar je treba pridobiti vodno pravico. Za namen lastne oskrbe s pitno vodo (v nadaljevanju LOPV) je bilo v Republiki Sloveniji do danes izdanih čez 20. 000 vodnih dovoljenj. Lastna oskrba s pitno vodo je kot že

zgoraj omenjeno možna, kadar se iz posameznega zasebnega vodovoda oskrbuje manj kot 50 prebivalcev s stalnim prebivališčem in kadar je letna povprečna zmogljivost posameznega zasebnega vodovoda manjša kot 10 m^3 pitne vode na dan (Miljavac idr., 2019).

Poznamo več tipov virov lastne oskrbe s pitno vodo: vrtina/vodnjak, vodotok/površinski vir in padavinska voda/kapnica. Pri LOPV je potrebno paziti, da je vodni vir zaščiten in ima tako zmanjšano tveganje, da je voda kontaminirana s fekalijami. To dosežemo z rednim vzdrževanjem studenčnih vrtin, da vrtine pokrivamo, da preprečimo vdor greznic v vrtine, da se v bližini površinskih virov ne nahajajo kmetijske obdelovalne površine idr. (Miljavac idr., 2019).

Pri javnih vodovodnih omrežjih se redno izvaja monitoring kemijskega in mikrobiološkega stanja vode iz zajetja za pitno vodo. Takšen monitoring pitne vode je predpisani s Pravilnikom o pitni vodi, ki ga najdemo v Uradnem listu RS. Izvajalec monitoringa je Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano (NLZOH). Ob odkritju fekalnih bakterij v pitni vodi morajo biti ljudje o tem obveščeni in dobiti napotke o nadaljnji uporabi vode (NIJZ, 2023).

Medtem je nadzor LOPV odvisen od uporabnikov. Slednje pomeni, da se v veliko primerih mikrobiološka in kemijska kakovost vode ne preverjata.

2.3 Mikrobiološki parametri pitne vode

Obvladovanje mikroorganizmov v pitni vodi je bistvenega pomena za zdravje, zato se njihova prisotnost redno preverja. V vodi določamo fekalne bakterije in indikatorske bakterije, ki kažejo mikrobiološko kvaliteto vode od katere je odvisno naše zdravje.

Za preverjanje ustreznosti pitne vode se uporablajo tudi različni kemijski in fizikalni parametri, na katere se v nalogi nismo osredotočili.

Z mikrobiološki parametri torej določamo obremenjenost pitne vode z bakterijami. Dva od teh parametrov določata celokupno število poraslih kolonij pri inkubaciji obogatenih bakterioloških gojišč z vzorcem na 22°C in 37°C . Bakterije, ki nam porastejo pri 22°C veljajo za bakterije nefekalnega izvora, medtem ko pri 37°C pričakujemo porast bakterij fekalnega izvora. Prav tako se glede na temperaturo razlikuje tudi čas inkubacije gojišča, ta je pri 22°C 72 ur, pri 37°C pa 24 ur (NIJZ, 2024). Bakterije fekalnega izvora so tiste, ki izvirajo iz živalskih in človeških

iztrebkov, lahko so škodljive za človeka, saj povzročajo različne okužbe. Med te sodijo koliformne bakterije, *Escherichia coli* (v nadaljevanju *E. coli*), enterokoki in *Clostridium perfringens* (NIJZ, 2024). Koliformne bakterije in *E. coli* so indikator nedavnega fekalnega onesnaženja pitne vode. Podrobneje so opisane v poglavju 2.5. Mejna vrednost *E. coli* v pitni vodi je 0/100 mL (NIJZ, 2023). Njeno prisotnost določamo s štetjem primerno obarvanih kolonij, ki porastejo po 22-24 urah inkubacije vzorca na selektivno- diferencialnem gojišču pri temperaturi 37.0 °C - v našem primeru gojitve na gojišču CCA so bile to modre kolonije (USGS, 2018).

Enterokoki so rod bakterij, ki ga lahko najdemo v različnih okoljih. Prisotne so tudi v črevesju ljudi in živali. So po Gramu pozitivne bakterije, ki optimalno rastejo pri 35 °C. Lahko so patogene, njihova odpornost proti antibiotikom pa se je v zadnjih letih zelo povečala (Microbiology Spectrum, 2017). V vodi se lahko ohranijo dlje časa kot *E. coli*, zato ob njihovi prisotnosti (če drugih bakterij v vzorcu ni prisotnih) lahko govorimo o starejšem fekalnem onesnaženju. Ob prisotnosti intestinalnih enterokokov v vodi, lahko sicer govorimo tudi o prisotnosti drugih morebitnih mikroorganizmih, kot so virusi. Mejna vrednost za intestinalne enterokoke v pitni vodi je 0/100ml (NIJZ, 2023).

Še ena od indikatorskih bakterij fekalnega onesnaženja je bakterija *Clostridium perfringens*. To je po Gramu pozitivna paličasta anaerobna sporogena bakterija, ki jo gojimo na gojišču TSC. Je del normalne črevesne mikrobiote ljudi in živali. Spore, ki jih tvori ji omogočajo preživetje v neugodnih okoljskih pogojih, kot so povišane temperature, pomanjkanje vlage in neustrezna atmosfera. Bakterija v vodah po fekalnem onesnaženju ostane dlje in v večjih količinah kot druge fekalne bakterije in kaže tudi na zgodovino onesnaženja pitnih vod. Prisotnost bakterije *Clostridium perfringens* v vodi ne predstavlja samo možnosti fekalne onesnaženosti, temveč tudi veliko verjetnost prisotnosti enteričnih virusov in drugih patogenih bakterij. Bakterija *C. perfringens* se lahko nahaja v vodi in v hrani in v primeru tvorbe toksinov, povzroča razne bolezni, kot so zastrupitev z hrano in okužbe prebavil (Stelma, 2018) (Yao in Annamaraju, 2023).

2.3.1 Analitični postopki določanja mikrobioloških parametrov

Za določanje bakterij, ki jih uporabljamo kot mikrobiološke parametre za oceno kvalitete vode, uporabljamo več različnih gojišč. Večino so to selektivno- diferencialna gojišča. To so gojišča, ki spodbujajo rast bakterij, ki nas zanimajo in zavirajo rast bakterij iz vzorca, ki trenutno niso v našem interesu. Prav tako nam to gojišče omogoča razlikovanje iskanih bakterij od tistih, ki jih ne določamo, če so kljub selektivnosti gojišča porasle. Razlikovanje bakterij na takih gojiščih je v večini osnovano na različnih biokemijskih lastnostih bakterij, kaže pa se v različnih obarvanjih bakterijskih kolonij. V nadaljevanju bomo na kratko opisali trdna agarska gojišča, ki jih uporabljamo za določanje prej omenjenih bakterij: CCA, TSC, MEA (selektivno-diferencialna gojišča). To so gojišča, s katerimi določamo indikatorske in koliformne bakterije. To naredimo tako, da s pravilnikom določeni volumen vode filtriramo in nato na določena gojišča položimo filtre. Poleg tega v pitnih vodah določamo tudi celokupno število bakterij pri dveh različnih temperaturah ($22\text{ }^{\circ}\text{C}$ in $37\text{ }^{\circ}\text{C}$), za kar uporabljamo gojišče PCA (angl. Plate Count Agar). To je splošno obogateno gojišče, na/v katerem na poraste širok spekter bakterijskih vrst. V tem primeru vode ne filtriramo, ampak določeni volumen vode prelijemo s toplim, še nestrjenim gojiščem PCA, premešamo in pustimo, da se gojišče z vzorcem strdi. Ko je strjeno, ga inkubiramo na primerni temperaturi. Po inkubaciji štejemo tako imenovane klice (glej poglavje Material in metode).

Agar CCA uporabljamo za določanje *E. coli* in ostalih koliformnih bakterij v pitni vodi. Gojišče CCA agar predstavlja enostaven način razlikovanja med koliformnimi bakterijami in *E. coli*, saj jih lahko razlikujemo po barvi kolonij, kjer se *E. coli* pojavi v temno modri in temno vijolični barvi, koliformne bakterije pa v odtenkih od rdeče, roza in svetlo vijolične (CHROMagarTM, b.d.).

Agar TSC agar (angl. Tryptose Sulfite Cycloserine agar) se uporablja za določanje spor in vegetativnih celic bakterije *Clostridium perfringens*. Končni pH pripravljenega agarja bi naj bil 7.6. Na gojišču TSC *C. perfringens* poraste v obliki črnih kolonij.

Gojišče MEA je namenjeno določanju enterokokov. Na gojišču porastejo kot okrogle kolonije rdeče barve.

Kot že povedano, je agar PCA je splošno obogateno neselektivno gojišče, na katerem poraste širok spekter bakterijskih vrst.

2.4 Sistem za identifikacijo bakterij: MALDI-TOF

Za namen identifikacije bakterij z metodo MALDI-TOF MS (angl. matrix-assisted laser desorption/ionization) moramo pridobimo čiste kulture, to pomeni, da nam na gojiščih porastejo bakterije, ki izvirajo skupnega prednika. Na trdnem gojišču se kaže kot skupek kolonij iste morfologije. Ime bakterij in gliv lahko s pomočjo metode MALDI-TOF MS (angl. matrix-assisted laser desorption/ionization) enostavno in zanesljivo določimo do nivoja vrste. Princip metode temelji na določanju velikosti in količine beljakovin bakterijskih (ali glivnih) celic, iz česar pridobimo proteinske profile. Na osnovi pridobljenih proteinskih profilov nato določimo vrsto bakterij/gliv tako, da jih z uporabo primerne programske opreme primerjamo z že znanimi proteinskimi profili, iz tako imenovanih knjižnic MALDI-TOS MS sistema. Prednost te metode je visoka natančnost rezultatov in hitrost. Postopek uporabe je dokaj preprost: na ploščice nanesemo čisto bakterijsko kulturo ter dodamo 70 % mravljično kislino in matrix (raztopina pripravljena iz strani proizvajalca). Počakamo, da se ploščica posuši, nato pa jo vstavimo v masni spektrofotometer. Testiramo lahko več vzorcev hkrati, rezultate pa dobimo v nekaj minutah.

Rezultati so prikazani kot ime vrste na osnovi proteinskega profila, ki se z zanim profilom najbolje ujema in njegovo drugo najboljše ujemanje. Prikazana je tudi kvaliteta rezultata: če je rezultat večji od vrednosti 2.0 govorimo o zanesljivi identifikaciji do nivoja vrste, rezultat med 2.0 in 1.7 nam poda identifikacijo zanesljivo do nivoja rodu, pri vrednostih pod 1.7 pa organizma ni možno identificirati. V tem primeru smo dobili rezultat NOIP (angl. No organism identification possible). Razlogi za takšen rezultat so lahko mešana kultura, nepoznan (nov) proteinski profil, ki ga ni v knjižnici MALDI-TOF MS. Knjižnica MALDI-TOF MS, ki smo jo uporabljali vsebuje predvsem proteinske profile klinično pomembnih izolatov. Zato je v našem primeru, kjer smo določali okoljske izolate, nepoznani proteinski profil pri rezultatu NOIP bil zelo verjeten. V primeru da naprava ni zaznala kulture, ker smo jo na ploščico nepravilno nanesli smo dobili rezultat NPF (angl. no peaks found).

2.5 Pojavnost in pomen koliformnih bakterij ter bakterij fekalnega izvora v pitni vodi

Voda zaradi kontaminacij postaja vse bolj omejena dobrina. Na to vplivajo predvsem večanje števila prebivalstva, kmetijske dejavnosti, industrijske dejavnosti in podnebne spremembe (Rashid idr., 2018) Okužena pitna voda lahko povzroča številne bolezni, od driske do kolere, tifusa in kroničnih bolezni, predvsem v razvijajočih se državah. Po nekaterih poročilih je okužena pitna voda vzrok za več kot 50 % vseh bolezni (Haseena idr., 2017).

Ena redkih predhodnih raziskav, ki obravnava slovenske izvirne vode, poroča o neskladju mikrobioloških parametrov glede na Pravilnik o pitni vodi v kar dveh od treh testiranih naravnih izvirih, ki ju lokalni prebivalci redno uporabljajo za pitje (Sovič idr., 2019).

V nadaljevanju se bomo od pogostih vodnih kontaminant osredotočili predvsem na pomen koliformnih bakterij na človekovo zdravje. Analiza teh v slovenskih izvirskih in studenčnih vodah je bila namreč glavni namen naše naloge.

Koliformne bakterije so po Gramu negativne bakterije paličaste oblike, ki ne tvorijo spor in spadajo v družino Enterobacteriaceae. Ob inkubaciji pri 35-37 °C lahko fermentirajo laktozo s proizvodnjo plina in kisline. Nahajajo se v vodi, prsti, rastlinah, in v črevesju ljudi in živali ter jih uporabljamo kot indikator za sanitarno kakovost hrane in vode (Li in Liu, 2019).

Med koliformne bakterije uvrščamo več rodov bakterij: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Serratia* in *Yersinia*. (Curutiu idr., 2019). Od teh je za človekovo zdravje v pitni vodi še posebej pomembna *E. coli*.

2.5.1 Bakterije vrste *Escherichia coli*

Escherichia coli so paličaste, po Gramu negativne bakterije, ki jih v obliki komenzalnih bakterij lahko najdemo v črevesju sesalcev. Sodijo v družino *Enterobacteriaceae*. Poznamo nepatogene in patogene seve *E. coli*. V primeru patogenosti v stiku s kontaminirano vodo najpogosteje povzročijo drisko (CDC, 2014). Patogeni sevi lahko povzročijo tudi okužbe sečil, septikemije ali zastrupitev krvi, meningitis, osteomielitis ali okužbe kosti, pljučnice in mehkega tkiva ali ran. Redno zdravljenje z antibiotiki pri boleznih, kot so okužbe sečil z *E. coli*, povečuje pojav odpornosti proti antibiotikov te bakterije (Palandačić, 2007).

2.5.2 Bakterije rodu *Citrobacter*

Citrobacter zajema 11 vrst: *C. amalonaticus*, *C. farmeri*, *C. braakii*, *C. freundii*, *C. gillenii*, *C. murliniae*, *C. sedlakii*, *C. werkmanii*, *C. youngae*, *C. koseri*, in *C. rodentium*. V vodah običajno ne povzroča resnih obolenj. Pri ljudeh z določenimi predispozicijami so te bakterije lahko povzročitelj septikemije, najdene so bile kot povzročitelj meningitisa in pljučnih okužb pri novorojenčkih in mlajših otrocih (Rogers in Fanning, 2016). Meningitis pri novorojenčkih se v 80 % primerov pojavi zaradi *C. koseri*, pri katerih pogosto povzroči možganski absces, ki lahko vodi v smrt. V manj primerih so bakterije vrste *Citrobacter* odgovorne za okužbe sečil, infekcije kosti in mehkega tkiva oz. ran (Randall in Fisher, 2009).

2.5.3 Bakterije rodu *Enterobacter*

Poznamo več vrst enterobaktrov, vendar vsi ne vplivajo na zdravje ljudi. Rod je povezan predvsem z več vrstami bolnišničnih okužb, kot so okužbe sečil, dihal, mehkega tkiva, osteomielitis in endokarditis ter bakteriemija (Ramirez in Giron, 2023). Bakteriemija, ki jo povzročajo bakterije rodu *Enterobacter*, je okužba, ki se pojavi s simptomi vročine, sistemskim vnetnim odzivom in hipotenzijo, prepoznana je po krvni sliki. Pljučnica, ki se pojavi zaradi te bakterije, je lahko posledica že določenih predispozicij posameznika, občasno privede do velikih zdravstvenih zapletov. Ljudje, ki so s to bakterijo okuženi, imajo kljub zdravljenju visoko umrljivost, saj so te bakterije postale odporne proti prej učinkovitim antibiotikom, kar povzroča velike probleme v zdravstvu. Okužbe pa lahko potekajo preko fekalno-oralne poti (Ramirez in Giron, 2023).

2.5.4 Bakterije rodu *Serratia*

Bakterije rodu *Serratia* imajo površinsko aktivne ciklodepsipeptide, na podlagi katerih so razdeljene v več sevov. Deljene so na pigmentirane in nepigmentirane. Pigmentirane so rdeče barve, za nepigmentirane seve je značilna večja odpornost proti antibiotikom zaradi plazmidov, ki odpornost nosijo. V raziskavah ugotavljajo, da pigmentirane pogosteje najdemo v izvirih in vodnjakih, nepigmentirane pa v rekah. V prsti imajo te bakterije vlogo mineralizacije in so odporne proti mrazu. Najdene so bile tudi v insektih, *Serratia marcescens*, *S. proteamaculans* in *S. liquefaciens* so lahko zanje patogene. Prav tako so nekateri sevi patogeni za vretenčarje in ljudi. Običajno niso nevarne za zdrave ljudi, pogosteje se pojavljajo pri ljudeh v bolnišnicah.

Bolezni ki jih povzročajo se veliko ne razlikujejo od ostalih oportunističnih patogenov. Pogosto so povezane s septikemijo, osteomielitisom, očesnimi in kožnimi infekcijami. Med manj pogoste bolezni sodijo meningitis, intraabdominalne okužbe in možganski abcesi.. *Serratia marcescens* eden izmed vrst, ki ima sposobnost preživeti ekstremne razmere, med drugim v antiseptičnih raztopinah in antiseptičnih milih. Znane so tudi po večkratni odpornosti proti antibiotikom, vključno s penicilinom, aminoglikozidi in polimiksini. Zaradi tega je zdravljenje okužb s temi bakterijami lahko zelo zapleteno (Chakraborty in Das, 2014; Cooney idr., 2014; Grimont in Grimont, 2006).

2.5.5 *Yersinia*

Rod Yersinia se pojavlja v 11 vrstah, od teh je znano, da imajo 3 vpliv na človekovo zdravje: *Yersinia pestis*, *Yersinia enterocolitica* in *Yersinia pseudotuberculosis*. Okužbe s to bakterijo so redke, najpogosteje pri mlajših otrocih, vendar se lahko pojavljajo tudi pri starejših otrocih in odraslih. Običajno okužb ni potrebno zdraviti in simptomi izginejo po okoli treh tednih. Pri mlajših otrocih so simptomi okužbe driska, v kateri se lahko pojavi kri, vročina in bolečine v trebuhi, medtem ko se pri starejših otrocih in odraslih izrazi s simptomi, ki so značilni za vnetje slepiča. Najpogosteji razlogi za vzrok okužbe je surova oz. premalo kuhan slanina, do okužbe lahko pride tudi s pitjem okužene vode, preko okuženih živali ter stika z njihovimi iztrebki. Okužba sicer običajno ne pušča dolgotrajnih posledic. Patogeni sevi jersinij v telesu lahko prodrejo v sluznico, kjer povzročijo kolonizacijo limfoidnega tkiva, kar jim omogoči da se okužba razširi po telesu. Lahko se pojavijo izpuščaji na koži in bolečine v sklepih, ki navadno izginejo par mesecev po okužbi (Aziz in Yelamanchili, 2023; CDC, 2019).

Za zdravljenje uporabljamo različna zdravila, z antibiotiki se navadno zdravi samo starejše, imunsko oslabljene ljudi in ljudi s sladkorno boleznijo (Aziz, Yelamanchili, 2023; CDC, 2019).

2.6 Pomen površinskih sladkih voda na pojavnost in razvoj večkratno odpornih bakterij

Proti antibiotikom odporne bakterije predstavljajo pomemben javnozdravstveni problem. Površinske vode pa pri tem predstavljajo posebno skrb zaradi njihove potencialne vloge pri razširjanju odpornosti na človeške in tudi živalske patogene.

O proti antibiotikom odpornih bakterijah so raziskovalci poročali že v več vrstah površinskih vod. Pri tem imajo poseben pomen odpadne vode in vode v čistilnih napravah (Turrola idr.,

2018), naravne površinske vode (Liu idr., 2018; Mahaney in Franklin, 2022) in podzemne vode v bližini smetišč (Chen idr., 2019). Nekatera poročila pa navajajo tudi proti antibiotikom odporne bakterije v pitni vodi (Sanganyado in Gwenzi, 2019) in naravnih izvirih na odročnih področjih kot je Himalaja (Singh in sod., 2020) iz katerih se napaja večina lokalnega prebivalstva (Singh idr., 2020).

Ker je odpornost bakterij proti antibiotikom postal tako velik problem je slovenska vlada leta 2019 sprejela akcijski načrt za njihovo obvladovanje, imenovan Eno zdravje. Glavno sporočilo projekta je, da je za zdravega človeka pomembno tudi okolje v katerem živi in druge živalske vrste. Zdravje je torej pojem, ki ne zajema samo posameznika, temveč tudi naravo. V to bi naj čim manj posegali in jo varovali. Namen načrta je, da bi z medsektorskim in medsebojnim sodelovanjem znižali pojav bakterij odpornih proti antibiotikom na področju zdravstva, veterine in okolja ter s tem prispevali na njihovo zmanjšanje na globalni ravni. Raziskave kažejo, da če se strmo naraščajoča krivulja večkratne odpornosti ne zaustavi, bi ta v naslednjih letih lahko predstavljal najpomembnejši vzrok za smrtnost prebivalstva. Glavni cilji so preudarnejša uporaba antibiotikov, zmanjšamo poraba antibiotikov ter ozaveščanje o problematiki (Ministrstvo za zdravje, 2019).

Pri večkratno odpornih bakterijah imajo še posebno vlogo bakterije, ki proizvajajo betalaktamaze razširjenega spektra (ESBL) in karbapenemaze (CP oziroma CPE).

2.6.1 Večkratno odporne bakterije, ki proizvajajo betalaktamaze (ESBL) in karbapenemaze (CP)

2.6.1.1 Bakterije, ki proizvajajo betalaktamaze

Betalaktami sodijo med najpogosteje uporabljene antibiotike. Njihova uporaba je zelo široka in posledično tudi prekomerna, kar vodi do pojavljanja odpornosti proti tej skupini antibiotikov. Bakterije najpogosteje postanejo odporne proti betalaktamskim antibiotikom s pridobitvijo genov z zapisom za proizvajanje betalaktamaze pri horizontalnemu prenosu. Najpogostejši mehanizem odpornosti proti betalaktamom predstavljajo betalaktamaze (Bush in Bradford, 2020). To so encimi, prisotni v bakterijah, njihov mehanizem delovanja je hidrolizacija betalaktamskega obroča (Ambler, 1980). Bakterijski patogeni, ki proizvajajo encime betalaktamaze, so vse bolj razširjeni. Na razširjenost vplivajo gostota poselitve na določenem območju, geografska lega, higiena in odnos do uporabe antibiotikov.

Pridobljeno odpornost največkrat posredujejo betalaktamaze razširjenega spektra (ESBL). Omogočajo odpornost bakterij proti penicilinom, cefalosporinom in aztronamu, vendar ne proti cefamicinu in karbapenemu (Balasko, 2011). Betalaktamaze ESBL najpogosteje zasledimo pri sevih *E. coli*, vendar so jih potrdili tudi pri drugih rodovih enterobakterij. Betalaktamaze ESBL tako uvrščamo med najpomembnejše mehanizme odpornosti pri enterobakterijah (Bush in Bradford, 2019).

Karbapenemi so betalaktamski antibiotiki, ki imajo širok spekter delovanja. Uporabljamo ga v primeru, ko noben drug antibiotik ne učinkuje, in so zadna možnost zdravljenja bakterijskih okužb. Nevarnost razširjanja odpornosti proti njim je velika, saj ta narašča po vsem svetu.

Glavni mehanizmi pridobljene odpornosti so: tvorba karbapenemaz, zmanjšana prepustnost zunanje membrane (težji dostop do tarčnega mesta) in povečano izločanje antibiotikov iz bakterije (pomoč aktivnih črpalk).

Okužbe, ki jih povzročajo enterobakterije, odporne proti karbapenemom, so lahko smrtno nevarne, povezane pa so tudi z visokimi stroški zdravljenja. Ker so te bakterije odporne skoraj proti vsem razpoložljivim antibiotikom je zdravljenje zelo zahtevno. Če potrdimo, da je izolat iz skupine enterobakterij odporen proti karbapenemom in proizvaja karbapenemazo, ga označimo kot CRE-CPE. Tvorba karbapenemaz je pomembna tudi pri rodovih *Pseudomonas* in *Acinetobacter* (Čampa, 2017).

2.6.1.2 Testiranje odpornosti proti antibiotikom in določanje prisotnosti betalaktamaz pri enterobakterijah

Za testiranje antibiotikov naprej potrebujemo čisto bakterijsko kulturo. Bakterije nato v skladu s smernicami za testiranje odpornosti proti antibiotikom testiramo z metodo, ki jo imenujemo antibiogram. V Evropi v glavnem uporabljamo smernice EUCAST (EUCAST, b.d.). Najpogostejša vrsta antibiograma je disk-difuzijska metoda, ki jo izvedemo tako, da na obogateno gojišče MHA (Mueller Hinton agar) enakomerno nanesemo umerjeno koncentracijo bakterij (0,5 McFarlanda za enterobakterije) in nato na gojišče položimo izbrane antibiotične diske ter po preko nočni inkubaciji (16-18 ur) na 35 °C, aerobno preverimo obseg rasti ob nanešenih diskih. Če antibiotiki na bakterijo učinkovito delujejo okrog njih nastane kolobar brez rasti bakterij. Premer kolobarja izmerimo in dolžino interpretiramo na osnovi smernic (Mikuš, 2018).

Pri interpretaciji rezultatov v Sloveniji sledimo v glavnem evropskim smernicam EUCAST. Na osnovi rasti ob antibiotičnem disku, bakterije uvrstimo v eno izmed treh kategorij (EUCAST, 2020):

- S – Občutljiv: mikroorganizem je kategoriziran kot občutljiv, ko obstaja velika verjetnost terapevtskega uspeha z uporabo standardnega režima odmerjanja zdravila.
- I – Občutljiv, povečana izpostavljenost: mikroorganizem je kategoriziran kot občutljiv, povečana izpostavljenost, ko obstaja velika verjetnost terapevtskega uspeha, ko je izpostavljenost mikroorganizem učinkovini na mestu okužbe povečana zaradi prilagojenega režima odmerjanja ali koncentracije na mestu okužbe.
- R – Odporen: mikroorganizem kategoriziran kot odporen, ko obstaja velika verjetnost terapevtskega neuspeha, tudi ob povečanem odmerku zdravila.

2.6.1.3 Fenotipski testi za ugotavljanje ESBL

Za fenotipsko določanje encimov ESBL sledimo smernicam EUCAST. Uporabimo podoben postopek kot je opisan v predhodnem odstavku, disk difuzijsko metodo.

Preglednica 1: Diski za potrditev sevov ESBL (Liofilchem, Italija)

Kombinacija diskov	Oznaka diskov
cefotaksim + kloksacilin	CTC
cefotaksim + klavulanska kislina + kloksacilin	CTLC
ceftazidim + kloksacilin	CAC
ceftazidim + klavulanska kislina + kloksacilin	CALC

Test je osnovan na način, da hkrati testiramo po dva para diskov (CTC in CTLC ter CAC in CALC). Eden od diskov v paru vsebuje cefalosporin tretje generacije (primer CTC ali CAC) brez inhibitorja betalaktamaz, drugi vsebuje cefalosporin tretje generacije in inhibitor betalaktamaze (primer CTLC ali CALC). Kadar je odpornost posredovana z izločanjem ESBL, pričakujemo pri disku z cefalosporinom tretje generacije (CTC ali CAC) manjšo cono inhibicije, kot pri disku z cefalosporinom tretje generacije in inhibitorjem betalaktamaze (CTLC ali CALC), ker se pri kombinaciji zaradi zaviralcev betalaktamaz delovanje antibiotika izboljša. V primeru CTC in CTLC ali CAC in CALC mora ta razlika v inhibicijskih conah biti vsaj 5 mm, da izolat definiramo kot izolat, ki tvori ESBL (Štrumbelj in Pirš, 2013).

2.6.1.4 Odpornost proti karbapenemom in karbapenemaze pri enterobakterijah

Po smernicah je proti karbapenom odporna enterobakterija tista, pri kateri je izolat odporen proti vsaj enemu karbapenemu (imipenemu ali meropenemu). Takrat dobi oznako CRE.

V primeru CRE izolat testiramo še na prisotnost karbapenemaz. To naredimo tudi v primeru, ko je premer cone okrog diska meropenem med 25 in 27 mm in je izolat hkrati odporen proti piperacilin/tazobaktamu in/ali temocilinu.

Karbapenemaze lahko potrdimo z različnimi fenotipskimi testi, ki zaznavajo prisotnost encima, kot so CIM test, biokemični Blue Carba test ali na tržišču dostopen test Carba5 NG test (NG Biotech). Za potrditev karbapenemaze morata biti pozitivna vsaj dva od navedenih fenotipskih testov (Štrumbelj in Pirš, 2022).

Test CIM (angl. Carbapenemase Inactivation Method) je test, ki ga uporabljam za potrditev *in vitro* tvorbe karbapenemaz pri po Gramu negativnih bakterijah. Prednost testa je, da zaznava vse tipe karbapenemaz, slabost metode pa je, da je zamudna. Pri testu izbrani bakterijski izolat gojimo v neselektivnem bujonu skupaj z diskom, na katerem je antibiotik meropenem (disk z 10 µg meropenema (MEM-10)). Če bakterijski izolat med inkubacijo tvori karbapenemazo, ta inaktivira delovanje meropenema na disku. Disk po inkubaciji položimo na gojišče, na katerega smo pred tem enakomerno nanesli kontrolni sev (bakterija z *E. coli* ATCC 25922). V primeru, da je naš izolat izločal karbapenemazo, disk z meropenemom več ne deluje na kontrolni sev *E. coli*. To vidimo tako, da je inhibicijska cona okrog diska zmanjšana ali pa je ni in kontrolni sev poraste vse do diska (EUCAST, 2017).

Test Blue Carba temelji na biokemični reakciji. Za testiranje pripravimo reakcijsko mešanico z meropenemom in indikatorjem. Če v mešanico dodamo bakterijo, ki tvori karbapenemaze se kemična oblika meropenema spremeni. To spremembo vidimo s prostim očesom kot spremembo barve reakcijske mešanice iz modre v rumeno (Pires idr., 2013).

Test Carba5 NG deluje na osnovi antigenskega testa, kjer se določene karbapenemaze vežejo na protitelesa v testu. Ob prisotnosti karbapenemaz se v testnem polju testa pojaviobarvana črtica. Ker je vezava antigen-protitelo specifična, s tem testom določimo prisotnost in tip karbapenemaze hkrati (NG BIOTECH, b.d.).

3. MATERIALI IN METODE DELA

3.1 Materiali

Preglednica 2: Laboratorijska oprema

Laboratorijska oprema	Proizvajalec
Avtomatske pipete	Eppendorf, Nemčija
Avtomatski polagalec diskov	Becton Dickinson, ZDA
Centrifuga	Mini spin plus, Eppendorf
Centrifugirke	Sarstedt, Nemčija
Cepilne zanke	Golias, Slovenija
Denzimeter	BioMerieux, Francija
Digestorij	Iskra, Slovenija
Digitalno kljunasto merilo	Ni podatka
Elektroforezna banjica	Analytic Jena, Nemčija
Epruvete	Ni podatka
Erlenmajerice	Ni podatka
Filter 0,45 µm	Whatman, Nemčija
Hladilnik (4°C)	Različni proizvajalci
Inkubator (35°C)	Binder, Nemčija
Inkubator (37°C)	Binder, Nemčija
Inokulacijska rotacijska plošča	Ni podatka
Kovinske pincete	Ni podatka
Laboratorijsko mešalo	Vibromix 10, Tehnica
Mikrobiološka varnostna komora	Iskra, Slovenija
Aparat MALDI TOF	Brucker Daltonics, Nemčija
Merilni valj	Ni podatka
Mikrocentrifugirke	Eppendorf, Nemčija
Nastavki za pipete	Starlab, Švica

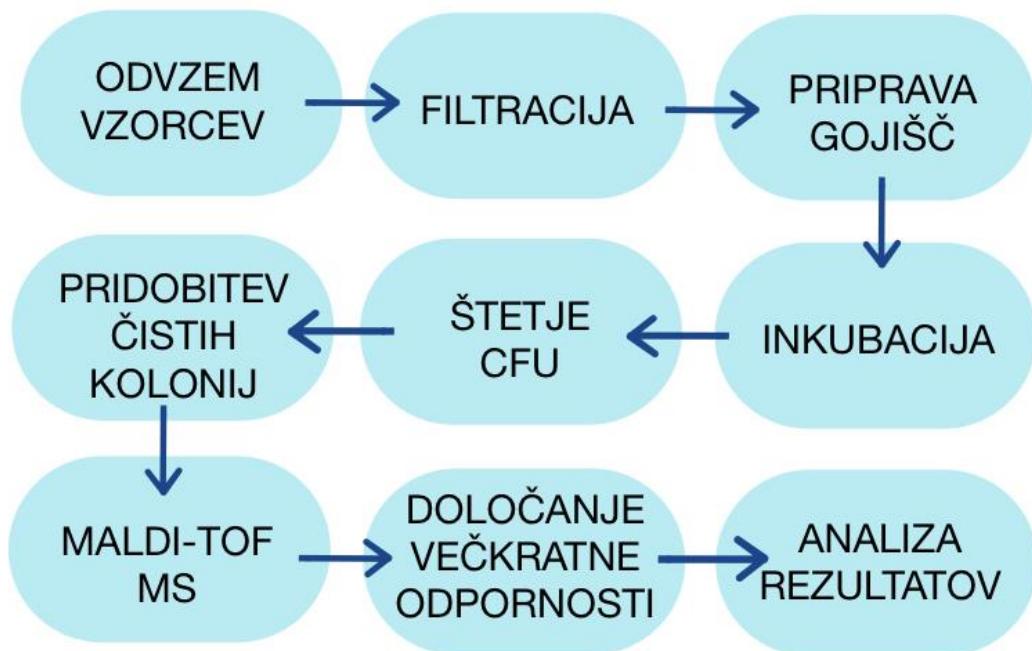
Plinski gorilnik	Ni podatka
Računalnik	HP, ZDA
Sterilne rokavice	Kimtech
Sterilni bombažni brisi	Golias, Slovenija
Filtrirni sistem	Milipore, Nemčija
0,45 µm filtri	Whatman, Velika Britanija

Preglednica 3: Uporabljene kemikalije

Kemikalije	Proizvajalec
Antibiotični diskri	Becton Dickinson, ZDA
Antibiotični diskri ESBL	Liofilchem, Italija
HCCA matriks za MALDI-TOF	Bruker, ZDA
Metanojska kislina	Merck, Nemčija

3.2 Metode

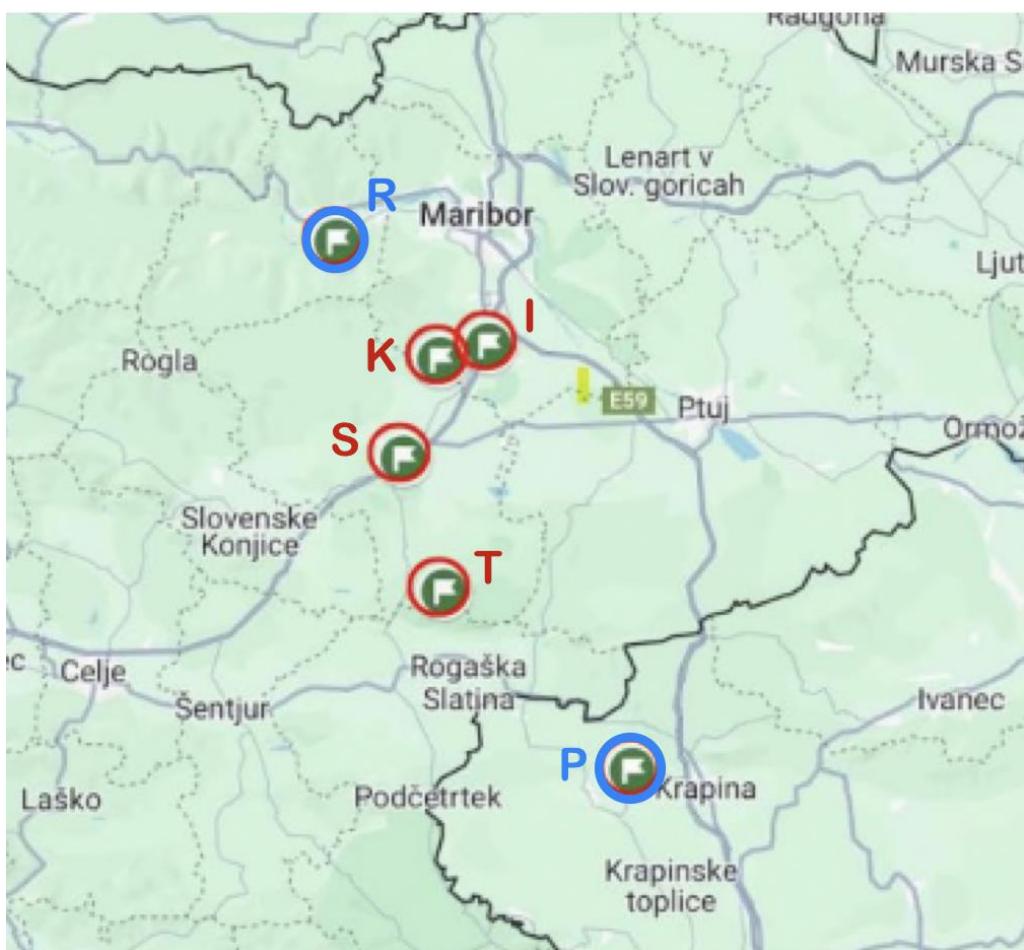
Delo v raziskovalni nalogi je v glavnem zajemalo vzorčenje, filtracijo vzorcev vode, gojenje filtrov in vode same na določenih gojiščih, štetje kolonij, osamitev in identifikacijo poraslih izolatov v čistih kulturah ter določanje večkratne odpornosti pri izbranih izolatih (Slika 1).



Slika 1: Shematski prikaz korakov poteka analize vode

3.2.1 Vzorčenje vode

Za raziskavo smo odvzeli skupno 5 vzorcev iz različnih lokacij v Štajerski regiji (Slika 2), eden je izviral iz Hrvaške, in sicer področja ob slovenski meji. Od tega ($n=6$) smo dva vzorca odvzeli iz studencev (na Sliki 2 označena z modro barvo) in štiri iz izvirov (na Sliki 2 označeni z rdečo barvo). Vzorčenje je zajemalo mesta Ruše (oznaka: R), Slovenska Bistrica (oznaka: S), Studenice (oznaka: T), Kopivnik (oznaka: K), Radizel (oznaka: I) in Prigorje (oznaka: P) (Slika 2). Vzorčenje je potekalo od novembra leta 2023 do januarja leta 2024.



Slika 2: Zemljevid s prikazanimi kraji vzorčenja



Slika 3: Izvir vode v Slovenski Bistrici

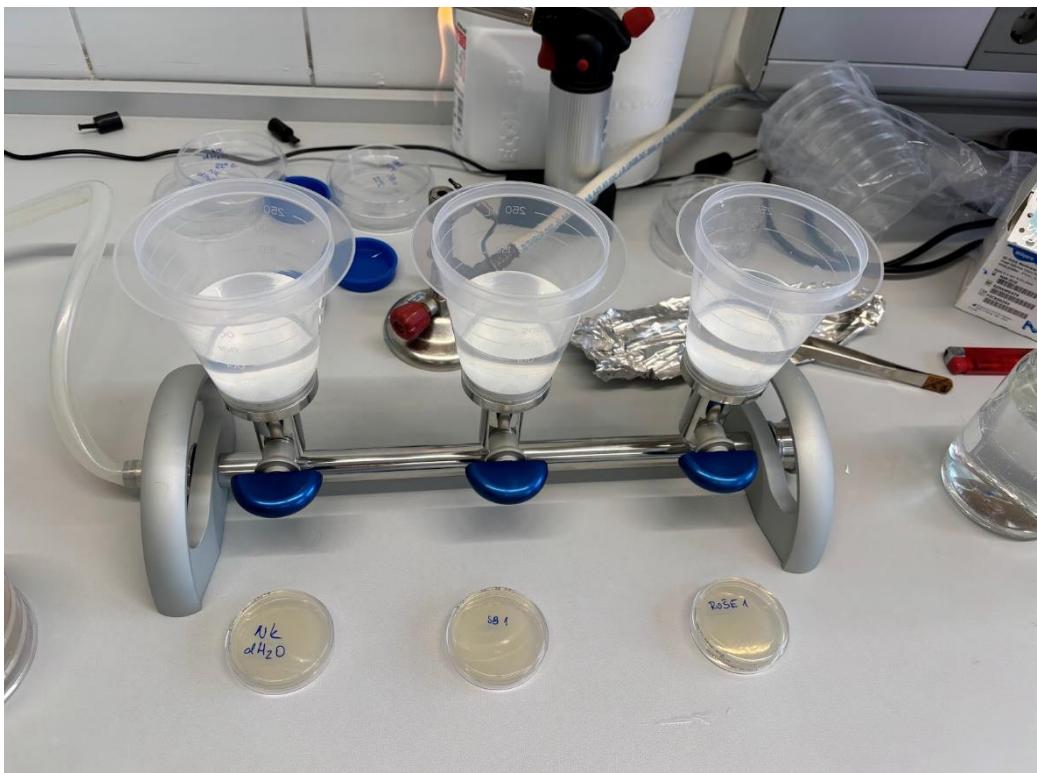
Na vsakem vzorčnem mestu smo v sterilne plastenke natočili 1 liter vode iz iztočne cevi oziroma pipe. Na izviroh, pri katerih voda nenehno teče, smo pričeli z vzorčenjem takoj ob prihodu, pri točenju iz pipe v gospodinjstvu (primer studenčnih vod) pa smo vodo najprej pustili teči eno minuto in šele nato odvzeli vzorce. Vse odvzete vzorce smo označili z datumom in mestom odvzema ter hranili v temi pri temperaturi 4 °C do največ 24 ur.

3.2.2 Potek analize vode

V prvem koraku analize smo pripravili različna gojišča tako, da smo jih segreli na sobno temperaturo, gojišče TSC (za določitev *C. perfringens*) smo poleg tega prereducirali čez noč v anaerobni atmosferi in jih ustrezno označili. Nato smo pripravili filtrirni sistem za filtracijo vzorcev. Najprej smo filtrirne glave sistema, na katere smo kasneje položili sterilne filtre, sterilizirali z ožiganjem z etanolom. Pri tem smo razkužili tudi pinceto, ki smo jo kasneje uporabljali. Sledila je filtracija vode, ki jo opisujemo v naslednjem poglavju.

3.2.2.1 Filtracija vzorcev

Po primerni pripravi filtrirnega sistema je sledila filtracija vzorcev vode (Slika 4), in sicer po 100 mL za posamezno gojišče. Pri filtraciji smo pripravili tudi negativno kontrolo, kjer smo namesto vzorcev filtrirali sterilno destilirano vodo. Z negativno kontrolo smo preverili sterilno izvedbo samega postopka. Filtre smo položili na različna gojišča: CCA, po dva PCA (za inkubacijo pri 22 °C in 37 °C), MEA in TSC. Vsa gojišča razen TSC smo inkubirali na 37 °C aerobno za 1 do 2 dni, gojišče TSC pa pri enaki temperaturi 2 dni, v anaerobnih pogojih.



Slika 4: Prikaz filtracije vode

3.2.2.2 Določanje klic

Za vsak vzorec vode smo izvedli tudi test za štetje klic z metodo vlite plošče. Pri tem smo v prazno sterilno petrijevko z avtomatsko pipeto prenesli po 1 mL vzorca vode in ga prelili s toplim (temperatura okrog 42 °C) PCA gojiščem. Za vsak vzorec smo pripravili duplikat. Mešanico smo dobro premešali ter pustili na sobni temperaturi, da se strdi. Ko se je gojišče strdilo smo enega od duplikatov inkubirali dva dni pri 22 °C, drugega pa pri 37 °C.

3.2.3 Analiza poraslih bakterij na filtrih

Po 24 in 48-urni inkubaciji smo na filtrih prešteli število poraslih kolonij. Iz posameznega filtra smo izbrali do 20 morfološko različnih kolonij in jih identificirali s sistemom MALDI-TOF MS. Sočasno smo izbrane kolonije prenesli na krvni agar in jih tako namnožili v čisti kulturi za nadaljnjo karakterizacijo.

3.2.4 Identifikacija izolatov

Kot omenjeno smo izbrane izolate identificirali s sistemom MALDI-TOF MS. To smo naredili tako, da smo v določeno polje na kovinski ploščici nanesli bakterije iz posamezne izbrane kolonije, dodali po 1 µL 70 % mravljične kisline, posušili nanesli še po po 1 µL matriksa in ponovno posušili. Ploščico smo položili v aparat in v pripadajočem programu zagnali analizo.

3.2.5 Določanje betalaktamaz in odpornosti proti karbapenemom

Testiranje in interpretacijo rezultatov pri določanju betalaktamaz ter odpornosti proti karbapenemom smo izvedli v skladu z evropskimi smernicami EUCAST (EUCAST, b.d.). Prav tako smo sledili protokolom, ki so opisani v poglavjih od 2.6.1.2 do 2.6.1.4. Če povzamemo, po identifikaciji osamljenih enterobakterij nas je zanimalo, če katera izmed njih tvori betalaktamaze in/ali so odporne proti karbapenemom ter tvorijo karbapenemaze. Testiranje je bilo osnovano na disk-difuzijski metodi. To smo izvedli tako, da smo čisto kulturo izbranega izolata pobrisali s sterilnim brisom in jo sprali v fiziološki raztopini (0.9 % NaCl) do gostote 0.5 McFarlanda. Nato smo suspenzijo s svežim sterilnim brisom enakomerno nanesli na plošče MHA s pomočjo rotatorja. Na koncu smo na plošče položili diske z antibiotiki, ki jih uporabljamo za določanje betalaktamaz ESBL (CTC, CTLC, CAC, CALC; glej poglavje 2.6.1.3) in presejalne diske za določanje odpornosti proti karbapenemom (IMP, MEM, ETP, TZP; glej poglavje 2.6.1.4). Plošče z diskami smo inkubirali 16 do 18 ur na 35 °C nato pa s kljunastim merilom izmerili premere con brez bakterijske rasti in ustrezno interpretirali rezultate (EUCAST, b.d.).

Ker nobeden od testiranih izolatov ni bil odporen proti karbapenemom niti rezultati presejalnega testiranja niso nakazovali na prisotnost karbapenemaz, fenotipskih testov za karbapenemaze nismo izvajali.

4 REZULTATI

V nadaljevanju bomo opisali 1. mikrobiološke parametre testiranih voda, 2. opisali bakterijsko breme in bakterijske predstavnike v testiranih vodah, ki smo jih pridobili na osnovi gojitvene metode ter 3. podali rezultate testiranj betalaktamaz in/ali zaznane odpornosti proti karbapenemom.

4.1 Mikrobiološki parametri testiranih studenčnih in izvirskih vod

Mikrobiološke parametre testiranih studenčnih in izvirskih vod prikazujemo v Preglednici 4 in Grafu 1.

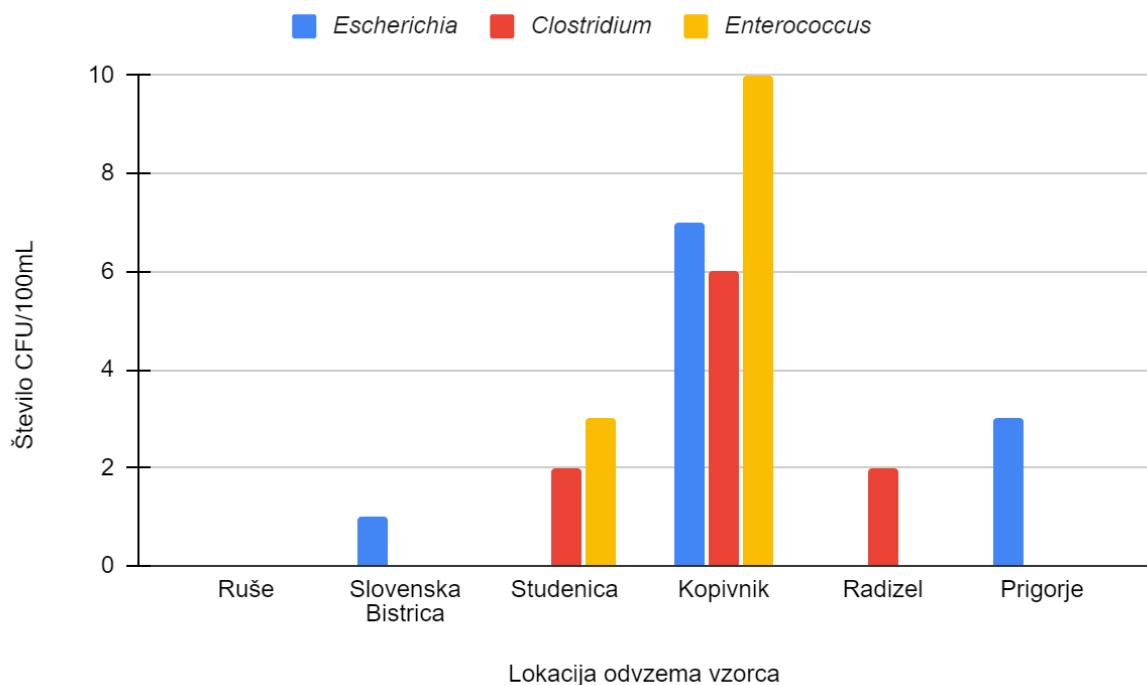
Največje število indikatorskih bakterij (*E.coli*, *Clostridium perfringens* in enterokoki) smo določili v vzorcu izvirske vode iz Kopivnika. Ta vzorec je tudi edini presegal predpisano mejno vrednost skupnega števila mikroorganizmov pri 37 °C (Preglednica 4). V nasprotju z izvirsko vodo iz Kopivnika v studenčni vodi, ki smo jo odvzeli v Rušah nismo določili nobene od indikatorskih bakterij. Bakterijo *E. coli* smo določili v eni od dveh studenčnih vod in v dveh od štirih izvirskih vodah. Enterokoke in *C. perfringens* smo določili le v izvirskih vodah. Koliformne bakterije so bile prisotne v vseh testiranih vzorcih vode, določene vrednosti niso presegale 15 CFU/100 mL. Ker smo vode vzorčili le enkrat, neobičajnih sprememb skupnega števila mikroorganizmov pri 22 °C nismo mogli opredeliti, imamo le enkratne vrednosti.

Preglednica 4: Pregled mikrobioloških parametrov analiziranih voda.

Vrsta vode	Oznaka vzorca	Datum odvzema	Normativ <i>E. coli</i> CFU/100mL	Koliformne bakterije CFU/100mL	Enterokoki CFU/100mL	Skupno število mikroorganizmov pri 22 °C CFU/mL	Skupno število mikroorganizmov pri 37 °C CFU/mL
			0	0	0	Brez neobičajnih sprememb	<100
		25.11.2023	0	2	0		
studenčna	Ruše					7	1
		20.1.2024	3	10	0	69	72
	Prigorje						
	Slovenska Bistrica	25.11.2023	1	1	0	1	21
izvirská	Studenica	8.1.2024	0	7	3	63	22
		7.1.2024	7	12	10	40	Neštěvno (>100)
	Kopivnik ^{VOB}						
	Radizel	20.1.2024	0	4	0	neštěvno	17

*Parametri, ki odstopajo od normativov so označeni z rdečo barvo. Oznaka **VOB** ob oznaki vzorca pomeni, da smo v tem vzorcu določili tudi bakterijo z betalaktmazo in/ali bakterijo odporno proti karbapenemom.

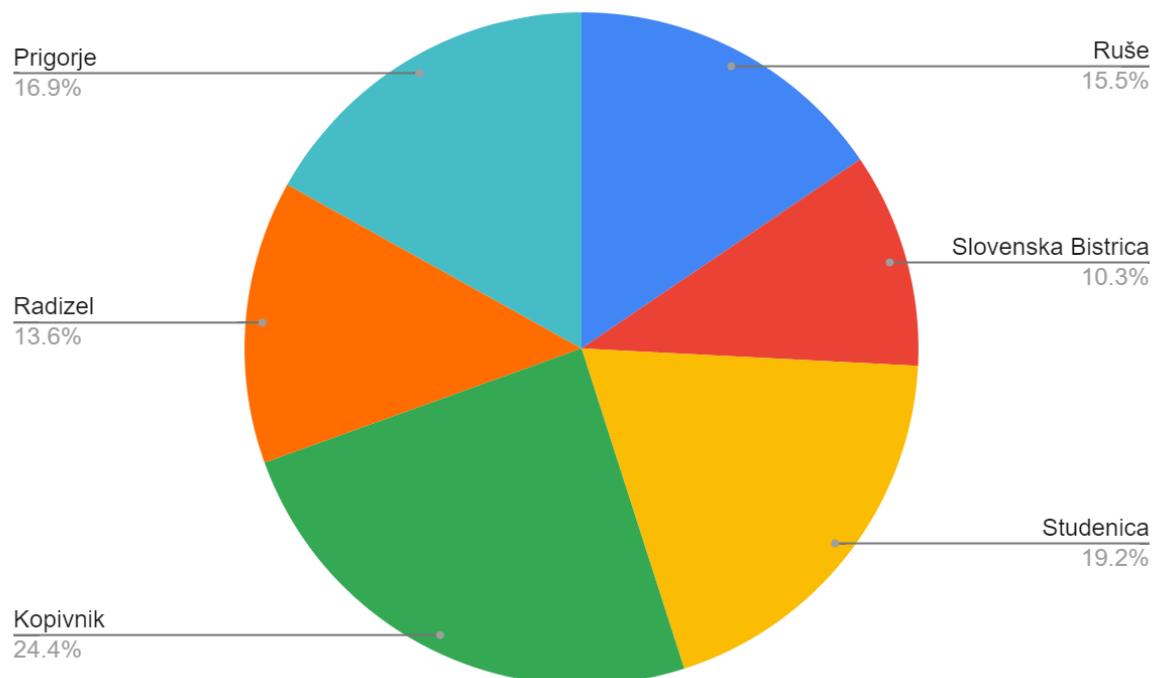
Graf 1: Število CFU posameznih rodov bakterij določenih glede na kraj odvzema vzorca



4.2 Identifikacija bakterijskih kultur

Graf 2 prikazuje število osamljenih in identificiranih bakterij (%) v posameznih vzorcih vode. Največ izolatov smo osamili in identificirali iz vzorca izvirske vode odvzete v Kopivniku (24,4 % vseh osamljenih in identificiranih izolatov), kjer smo, kot je razvidno iz Preglednice 4 poleg vzorca iz Prigorja določili največje bakterijsko breme (glej skupno število mikroorganizmov pri 22 in 37 °C). Najmanj izolatov smo pridobili in identificirali iz vzorca izvirske vode iz Slovenske Bistrike (10,3 % vseh osamljenih in identificiranih izolatov).

Graf 2: Delež osamljenih in identificiranih bakterij v posameznih vzorcih vode. Studenčni vodi: Prigorje in Ruše; izvirske vode: Radizel, Kopivnik, Slovenska Bistrica in Studenica.



Določili smo skupno 32 bakterijskih rodov in en rod kvasovk (gliv) (Priloga 1). Najpogosteje določeni rodovi so navedeni v Preglednici 5 in obsegajo po 8 do 34 bakterijskih predstavnikov. Od deset najpogosteje zastopanih rodov jih polovica pripada družini enterobakterij. Največ različnih rodov določili na gojišču CCA. Sledilo je gojišče PCA (Priloga 1). Na CCA so po izolatih prevladovale predvsem bakterije rodov *Aeromonas*, *Serratia* in *Pantoea*, na PCA *Buttiauxella* in *Bacillus*, na TSC pa *Clostridium*. Vsi podrobnejši podatki so zaradi obsežnosti prikazani v Prilogah 1 in 2.

Preglednica 5: Deset najpogosteje določenih rodov bakterij iz vzorcev izvirskih in studenčnih vod razporejeni glede na gojišče na katerem so porasli. Predstavniki iz družine enterobakterij so označeni s krepko pisavo.

Bakterijski rod	CFU/100mL na posameznih gojiščih				
	CCA	PCA	MEA	TSC	Skupno
<i>Aeromonas</i>	26	8	0	0	34
<i>Serratia</i>	18	1	0	5	24
<i>Buttiauxella</i>	10	12	0	0	22
<i>Pantoea</i>	17	0	0	0	17
<i>Enterococcus</i>	0	0	13	0	13
<i>Bacillus</i>	0	11	0	0	11
<i>Clostridium</i>	0	0	0	10	10
<i>Priestia</i>	0	10	0	0	10
<i>Escherichia</i>	9	0	0	0	9
<i>Citrobacter</i>	4	2	0	2	8
Skupno	48	24	13	17	124

Največjo raznolikost bakterijskih rodov smo določili v vzorcu izvirske vode iz Studenice, kjer smo določili kar 16 rodov (Preglednica 6). Najmanjšo raznolikost smo določili v studenčni vodi iz Ruš. V ostalih vzorcih smo določili nad deset različnih bakterijskih rodov (Preglednica 6). Določeni bakterijski rodovi, ko so *Aeromonas*, *Serratia*, *Buttiauxella* se uvrščajo med najpogosteje določene rodove pri večini vzorcev (Preglednica 6, Priloga 3).

Preglednica 6: Prikaz najpogostejših rodov bakterij glede na lokacijo vzorčenja. K navedenim rodovom smo pripisali število osamljenih in identificiranih bakterij. Ob imenu vzorčnega mesta je navedeno število vseh določenih rodov iz posameznega vzorca.

Vzorčno mesto											
Studenčna voda		Izvir									
		Slovenska									
Ruše (n=9)	Prigorje (n=15)	Bistrica (n=11)	Studenica (n=16)	Kopivnik (n=12)	Radizel (n=12)						
<i>Buttiauxella</i>	14	<i>Priestia</i>	6	<i>Aeromonas</i>	7	<i>Aeromonas</i>	7	<i>Enterococcus</i>	10	<i>Serratia</i>	4
<i>Aeromonas</i>	8	<i>Serratia</i>	4	<i>Buttiauxella</i>	6	<i>Bacillus</i>	7	<i>Serratia</i>	7	<i>Aeromonas</i>	4
<i>Serratia</i>	4	<i>Aeromonas</i>	4	<i>Serratia</i>	1	<i>Serratia</i>	3	<i>Escherichia</i>	7	<i>Paraclostirdium</i>	3
<i>Citrobacter</i>	2	<i>Enterobacter</i>	4	<i>Micrococcus</i>	1	<i>Acinetobacter</i>	3	<i>Pantoea</i>	6	<i>Bacillus</i>	3
<i>Micrococcus</i>	1	<i>Rahnella</i>	3	<i>Pseudomonas</i>	1	<i>Enterococcus</i>	3	<i>Clostridium</i>	6	<i>Priestia</i>	3

4.3 Rezultati testiranja betalaktamaz in odpornosti proti karbapenemom

V testiranje betalaktamaz in odpornosti proti karbapenemom smo vključili 30 izbranih izolatov enterobakterij iz rodov *Serratia*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Raoultella*, *Yersinia* in *Klebsiella*. Pri tem smo z izvedenimi fenotipskimi testi določili en izolat, ki je kazal fenotipske značilnosti ESBL, in sicer pri bakterijski vrsti *Serratia fonticola* in ga poimenovali *Serratia fonticola* ESBL (Preglednica 7). Nobeden od testiranih izolatov ni bil odporen proti karbapenemom, niti ni imel zmanjšanega premera cone ob meropenemu, ki bi nakazovala na prisotnost karbapenemaz. Določeni ESBL izolat je bil osamljen iz vzorca izvirske vode odvzete v Kopivniku.

Preglednica 7: Pregled testiranih bakterij na betalaktamaze in odpornost proti karbapenemom

Bakterija (rod)	Vzorec	Število testiranih izolatov	Število pozitivnih izolatov ESBL*	Število pozitivnih izolatov CR**
<i>Citrobacter</i>	Ruše	1	0	0
	Prigorje	1	0	0
<i>Enterobacter</i>	Prigorje	3	0	0
<i>Escherichia</i>	Slov. Bistrica	1	0	0
	Prigorje	5	0	0
	Kopivnik	8	0	0
<i>Klebsiella</i>	Prigorje	1	0	0
<i>Raoultella</i>	Studenice	1	0	0
	Ruše	1	0	0
	Slov. Bistrica	1	0	0
<i>Serratia</i>	Studenice	2	0	0
	Kopivnik	4	1	0
	Radizel	4	0	0
	Prigorje	3	0	0
<i>Yersinia</i>	Kopivnik	2	0	0

*z rdečo je označen vzorec, v katerem je bila določena bakterija ESBL

*- testiranje z diskami CAC, CALC, CTC in CTLC za določanje ESBL, **- testiranje s presejalnimi diskami IMP, MEM, ETP, TZP za določanje proti karbapenemom odpornih izolatov in prisotnost karbapenemaz.

5 RAZPRAVA

Glavni namen naše raziskave je bil analizirati mikrobiološke parametre različnih vzorcev vode, ki jih ljudje redno uporabljajo za lastne potrebe in ugotoviti, ali so v skladu s predpisanimi mikrobiološkimi parametri določenimi s strani države v Pravilniku o pitni vodi.

V več kot polovici zbranih vzorcih vode smo odkrili indikatorske organizme fekalnega onesnaženja (ali *E. coli* ali enterokoke), v vseh pa smo določili prisotnost koliformnih bakterij. Podobno, kot so na manjšem številu vzorcev ugotovili tudi Sovič in sodelavci (2019), tovrstne vode ne ustrezajo meritom Pravilnika o pitni vodi. Ker se te studenčne in izvirskie vode pogosto uporabljajo v gospodinjstvu kot pitne vode in niso vključene v redni državni nadzor lahko predstavljam grožnjo za javno zdravje. Uporabnike bi morali na odvzemnem mestu opozarjati, da je potrebno te vode ob uporabi za gospodinske namene prekuhavati. Prav tako bi mikrobiološke parametre takšnih vod bilo smiselno redno nadzorovati. Neredni nadzori (npr. nadzor enkrat letno) ne zagotavlja mikrobiološke kakovosti studenčnih in izvirskih vod, saj so v glavnem podvržene površinskim oziroma padavinskim vodam, kar lahko vodi v nepredvideni vdor fekalnih bakterij. Tak primer podaja raziskava iz Norveške, kjer so ugotovili večjo prisotnost indikatorskih bakterij v vodi po večji količini padavin (Skaland idr., 2022). V naši raziskavi sta bila dva vzorca vode odvzeta po deževju, kar bi glede na raziskave lahko imelo vpliv na število in vrsto bakterij, ki smo jih določili.

Slabost naše raziskave je, da v odvzetih vzorcih nismo analizirali kemijskih parametrov. Prav tako bi o stanju preučevanih vodnih virov dobili boljšo sliko, če bi opravili večje število vzorčenj v različnih letnih časih. Glede na to, da so takšne vode pogosto pod vplivom padavinskih voda, pričakujemo večje obremenjenost izvirskih in studenčnih voda v deževnem obdobju ne samo z bakterijami fekalnega izvora, ampak tudi s pesticidi in ostalimi kemikalijami. Prav tako moramo pri takšnih vodnih virih biti previdni, da se v bližini izvirov ne izvaja živinorejska dejavnost z neurejenim odlaganjem gnoja.

O podobnih rezultatih poročajo tudi iz tujine. V raziskavah v ZDA so prav tako določili onesnaženje studenčnih vod in ugotovili, da lahko studenčna voda pogosto vsebuje mikroorganizme, ki v vodo pridejo na različne načine, skozi zunanje onesnaženje ali zaradi pomanjkljivosti v zgradbi oz. vzdrževanju vodnjaka (Eberts, 2014). Podobno poročajo tudi raziskovalci iz Velike Britanije (Abebe idr., 2018).

Na osnovi povedanega lahko prvo hipotezo, ki smo jo v nalogi postavili: da bodo studenčne vode, ki se uporabljajo za pitno vodo v gospodinjstvih na splošno v skladu z mikrobiološkimi parametri določenimi v Pravilniku o pitnih vodah zavrhemo, saj nobeden od dveh vzorcev vode iz studenca ni ustrezal merilom Pravilnika o pitni vodi.

Iz določenih vrednosti CFU/mL, inkubiranih pri 22 °C in 37 °C vidimo, da je breme mikroorganizmov odvisno od vzorčnega mesta, ne toliko od tipa vode (izvirска ali studenčna). Pri vsakem tipu vode smo določili vrednosti, ki presegajo 50 CFU/mL.

Glede na te podatke lahko drugo hipotezo, da se bo breme mikroorganizmov razlikovalo glede na tip vode in vzorčno mesto delno potrdimo.

V vodnih vzorcih smo določali tudi število in vrste koliformnih bakterij. Koliformne bakterije *Yersinia*, *Serratia*, *Enterobacter* in *Citrobacter* so se redno pojavljale v vseh vzorcih vode. Najpogosteje smo zasledili rod bakterij *Serratia*, sledila sta *Citrobacter* in *Enterobacter*. Bakterije rodu *Yersinia* smo določili samo v enem vzorcu. Ker so bakterije iz tega rodu lahko pomemben črevesni patogen so na NLZOH na teh izvedli dodatne analize teh izolatov, ki so pokazali, da se osamljeni izolati ne uvrščajo med patogene. Število koliformnih bakterij v vzorcih je bilo nizko in ni presegalo 15 CFU/100 mL, prav tako število *E. coli*, kjer število CFU/100 mL ni presegalo sedem. Na podlagi teh podatkov lahko tretjo hipotezo, da v izvirskih in studenčnih vodah pričakujemo nizko število koliformnih bakterij in bakterij vrste *Escherichia coli* potrdimo. Kljub temu moramo opomniti, da vode ne ustrezajo merilom Pravilnika o pitni vodi in še vedno lahko predstavljajo javnozdravstveni problem.

V četrti in hkrati zadnji hipotezi smo predpostavili, da v odvetih vodnih vzorcih ne bomo določili večkratno odpornih bakterij. Hipotezo smo morali zavreči, saj smo v izvirski vodi iz Kopivnika določili bakterijo *Serratia fonticola* ESBL. Rezultate bi lahko nadgradili tako, da bi z molekularnimi metodami določili še gene ESBL. To bi lahko naredili s tarčnim pomnoževanjem genov z verižno reakcijo s polimerazo (PCR) ali z analizo genoma. Glede na to, da je v našem primeru šlo za gene ESBL, ki so med kliničnimi izolati manj pogosti, bi analiza genoma bila najbolj primerna metoda. Bakterija *S. fonticola* je v naravi prisotna pri pticah in široko razširjena v vodnih okoljih kot so odpadne vode, vodni zalogovniki in tudi v pitnih vodah. Najdemo jo tudi v prsti in v določenih živilih kot je piščanče meso (Chelaghma idr., 2021; Tanimoto idr., 2021). Pri ljudeh redko povzroča drisko, lahko povzroča tudi okužbe dihal,

sečil, mehkih tkiv in kože (Stock idr., 2003; Aljorayid idr., 2016). Mehanizem odpornosti proti bekatalktamom ji torej, kot rečeno lahko omogočajo encimi betalaktamaze ESBL, ki so zapisane na genih FONA. Do danes poznamo sedem različic: *blaFONA-1* do *blaFONA-7* (Fuentes-Castillo idr., 2021). Glede na izsledke raziskav se geni za betalaktamze FONA lahko prenesejo v druge predstavnike bolj klinično pomembnih enterobakterij. To pomeni, da *S. fonticola* ESBL lahko predstavlja vir odpornosti proti antibiotikom (Matsumoto idr., 1999).

O onesnaženju pitnih vod z večkratno odpornimi bakterijami poročajo tudi v drugih državah, vendar so objave redke. V Kanadi so ugotovili, da so večkratno odporne bakterije pogosteje prisotne v studencih, ki so bili na kmetijskih površinah. V navedeni raziskavi je bilo 10,5 % izmed testiranih izolatov odpornih na vsaj eden antibiotik (Coleman idr., 2013). Pogosteje o njih poročajo v odpadnih vodah, ena od takih raziskav je študija V. Diwan in sodelavcev iz leta 2010, kjer so pokazali, da je bakterija *E. coli* iz odpadne bolnišnične vode bila odporna proti določenim antibiotikom, ki jih redno uporabljajo v bolnišnici. Povečana raba antibiotikov tako v medicini kot v kmetijstvu vpliva na večanje večkratno odpornih bakterij, ki bi potem preko več poti lahko negativno vplivala tudi na kakovost vodnih virov.

Na rezultate, ki smo jih pridobili v raziskavi bi lahko vplivalo več različnih dejavnikov, med drugim tudi čas odvzema vzorcev vode. Količina koliformnih bakterij se namreč med letnimi časi lahko razlikuje. V raziskavi o koliformnih bakterijah v rezervoarjih s pitno vodo, ki je bila opravljena v letih 2018 in 2019 so znanstveniki ugotovili, da se koliformne bakterije pojavljajo v večjem številu predvsem poletnih mesecih. Prišli so do zaključka, da ima na porast teh bakterij velik vpliv temperatura vode, prisotnost kisika v vodi in prisotnost hranil ter kovin v vodi. Iz teh podatkov so sklepali, da se bo z globalnim segrevanjem prisotnost koliformnih bakterij v vodi v prihodnosti povečala (Reitter idr., 2021). Sklepamo, da bi se tudi naši rezultati lahko razlikovali glede na letni čas ter, da bi vzorci vode, ki so bili pridobljeni v zimskem času, poleti pokazali še večje odstopanje od predpisanih mikrobioloških parametrov za pitno vodo. Za bolj jasno sliko kakovosti vodnih virov brez upravljalca, bi morali preiskave opraviti v različnih letnih časih.

6 DRUŽBENA ODGOVORNOST

Izvedbe naloge smo se lotili družbeno odgovorno, saj se zavedamo pomembnosti vpliva bakterij prisotnih v vodi na okolje ter zdravje ljudi. Danes se veliko ljudi poslužuje vsakodnevni uporabi izvirskie in studenčne vode, zato smo preverili ali izbrani vzorci ustrezajo kriterijem določenim v Pravilniku za pitno vodo. Vse večji problem postajajo večkratno odporne bakterije, zato smo predstavnike osamljenih bakterij testirali na večkratno odpornost proti antibiotikom. Na tem področju je narejenih omejeno število raziskav, sami pa smo poleg tega za testiranje izbrali še neraziskana vzorčna mesta, ki jih domačini redno uporabljajo v gospodinjstvu.

7 ZAKLJUČEK

Cilj raziskovalne naloge je bil analizirati količino in vrsto bakterij v studenčnih in izvirskih vodah, ki jih ljudje vsakodnevno uporabljajo v gospodinjske namene.

Kljub našim pričakovanjem, da bodo vzorci vode v glavnem v skladu z merili Pravilnika o pitni vodi, in da v njih ne bomo določili indikatorskih mikroorganizmov ne koliformnih bakterij, smo predstavnike teh bakterij odkrili v vseh testiranih vzorcih. Naši vzorci vode so izvirali predvsem iz lokacij, kjer je tudi njihova uporaba med prebivalci zelo pogosta, zato so ti rezultati zaskrbljujoči. Vsi izviri in studenci, iz katerih smo vodo analizirali, so vodni viri brez upravljalca, kar pomeni, da zanje država ni odgovorna, voda ni pod nadzorom, ljudje pa so prepričani, da je ta voda najboljša voda, saj je "naravna".

Iz rezultatov vidimo, da so se v vodnih vzorcih bile številne bakterije iz skupine enterobakterij, ki so lahko škodljive za zdravje človeka (*Yersinia, Serratia, E. coli, Citrobacter,...*), predvsem za bolnike z oslabljenim imunskim sistemom ali drugimi pridruženimi boleznimi. Na predstavnikih osamljenih izolatov smo preverili, ali ti izolati tvorijo betalaktamaze ali so odporni proti karbapenemom, saj to postaja vedno večji problem v javnozdravstvenem sistemu. Večkratno odporno bakterijo *Serratia fonticola* ESBL smo potrdili v enem izmed šestih testiranih vzorcev, in sicer v vzorcu izvirski vode. To pomeni, da studenčne in/ali izvirski vode poleg tega, da lahko škodijo zdravju lahko predstavljajo tudi potencialen vir za širjenje odpornosti proti antibiotikom.

8 VIRI

1. Aljorayid A, Viau R, Castellino L et al. Serratia fonticola, pathogen or bystander? A case series and review of the literature. IDCases 2016;5:6-8.
2. Abebe I., Karon A. J., Koltun A. J., Cronk R. D., Bain R. E. S., Bartram J. (2018). Microbial contamination of non-household drinking water sources: a systematic review. Dostopno na:
https://www.google.com/url?q=https://iwaponline.com/washdev/article-abstract/8/3/374/39018/Microbial-contamination-of-non-household-drinking&sa=D&source=docs&ust=1707939249399709&usg=AOvVaw2mx0cfnwt6iiAh8x_sYhmZ (25.1.2024)
3. Balaskó, E. (2011). Ugotavljanje odpornosti na antibiotike pri okužbah z E.coli, ki izločajo betalaktamazo z razširjenim spektrom delovanja : diplomska naloga [Diplomsko delo, E. Balaskó]. Repozitorij Univerze v Ljubljani. Dostopno na: <https://repositorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?lang=slv&id=71216> (12.1.2024)
4. Bush K., Bradford P. A. (2019). Interplay between β-lactamases and new β-lactamase inhibitors. Nature Reviews Microbiology, 17, 5: 295-306
5. Bush K., Bradford P. A. (2020). Epidemiology of β-lactamase-producing pathogens. Clinical Microbiology Reviews, 33, 2: e00047-19, doi: 10.1128/CMR.00047-19: str. 37 (10.1.2024)
6. CARBAPENEMASE RESISTANCE DETECTION (b.d.). NG-Test® CARBA-5. Dostopno na: <https://www.ngbiotech.com/ng-test-carba-5/> (26.1.2024)
7. Centers for Disease Control and Prevention. (2014). E. coli (Escherichia coli). Dostopno na: <https://www.cdc.gov/ecoli/general/index.html> (15.12.2023)
8. Chakraborty J., Das S. (2014). Biosurfactant-Based Bioremediation of Toxic Metals. Dostopno na: <https://www.sciencedirect.com/topics/earth-and-planetary-sciences/serratia> (4.1.2024)
9. Chelaghma W, Loucif L, Bendahou M et al. Vegetables and Fruit as a Reservoir of β-Lactam and Colistin-Resistant Gram-Negative Bacteria: A Review. Microorganisms 2021;9(12):2534.
10. Coleman B. L., Louie M., Salvadori M. I. in sodelavci. (2013)Contamination of Canadian private drinking water sources with antimicrobial resistant Escherichia coli. Dostopno na: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S004313541300167X> (21.1.2024)
11. Čampa, A. (2017). Vloga medicinske sestre pri preprečevanju prenosa bakterij, ki izločajo karbapenemaze [Diplomsko delo]. Repozitorij Univerze v Ljubljani. Dostopno na: <https://repositorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?lang=slv&id=91092> (10.1.2024)
12. Diwan, V., Tamhankar, AJ, Khandal, RK et al. (2010). Antibiotiki in na antibiotike odporne bakterije v vodah, povezanih z bolnišnico v Ujjainu v Indiji. BMC Javno zdravje 10 , 414. (4.4.2024)
13. Dubin, K. in Pamer, E. (2017). Enterococci and Their Interactions with the Intestinal Microbiome, Microbiology Spectrum. Dostopno na:
https://journals.asm.org/doi/10.1128/microbiolspec.bad-0014-2016?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed (13.12.2023)
14. Encyclopædia Britannica. (b.d.). Pseudomonad. Dostopno na: <https://library-eb-co-uk.eviri.ook.sik.si/levels/adult/article/pseudomonad/61693> (11.12.2023)

15. Encyclopedia Britannica. (b.d.). Escherichia coli. Britannica Library. Dostopno na: <https://library-eb-co-uk.eviri.ook.sik.si/levels/student/article/Escherichia-coli/311176> (13.12.2023)
16. EUCAST. (b.d.). Dostopno na: <https://www.eucast.org/> (25.1.2024)
17. Fisher G. R. (2009). Citrobacter. Dostopno na: <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/citrobacter> (22.12.2023)
18. Fuentes-Castillo D, Power P, Cerdeira L et al. FONA-7, a Novel Extended-Spectrum β -Lactamase Variant of the FONA Family Identified in *Serratia fonticola*. *Microb Drug Resist* 2021;27(5):585-589.
19. Greaves J.(2022). How to prevent and control Pseudomonas in water systems. Dostopno na: <https://www.wcs-group.co.uk/wcs-blog/control-pseudomonas-in-water> (15.12.2023)
20. Grimont F., Grimont P. A. D. (2006) *The Genus Serratia*. Dostopno na: https://d1wqxts1xzle7.cloudfront.net/41403492/The_Genus_Serratia20160122-17374-ca0ohp-libre.pdf?1453456296=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DThe_Genus_Serratia.pdf&Expires=1707411152&Signature=Uc7yn-kRN0J2PKeOkX90nFRCbBpQNp9e2fEEaxBe~lqlndlVicbYRCxUtfZ0p-4iYJIAJ0bOwGUD6OKxrj9Kbb6-7w5u41x-Zf2jZPj2M0NtZCPcVosjnSRqcIlzukhCR-2kCrY~zcAq8issiOuKRTpdVT~HTShzAHMjzg3RPHH8A1unyccMA0y4hcWLGDy8Hi7bN-USiOeFOkuQwXNMC~l2eLBGbYxfZIdHwky73qG713v~8wM4VjaTjOJScKKbT1-wbsWM7d25CEtSiA6RXQ~WBPS~3jFxuLqQoY65gJKk0CrfrPwXIIiYkj6KSeF2cfNBQp1HBu2mQmLVZyZ~Q &Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA (15.1.2024)
21. Habulin, M., & Primožič, M. (2006). Biokemijska tehnika. Navodila za laboratorijske vaje, Maribor: Univerza v Mariboru, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo.
22. Haseena M., Malik M. F., Javed A., Arshad S., Asif N., SharonZulfiqar, et al. (2017). Water pollution and human health. *Environ. Risk Assess. Remed.* 1 16–19. Dostopno na: https://eastafricaschoolserver.org/content/_public/Environment/Teaching%20Resources/Environment%20and%20Sustainability/Water-pollution-and-human-health.pdf (24.1.2024)
23. M.H. Abd El-Salam. (2003). Cheeses | White Brined Varieties. Dostopno na: <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/coliform-bacteria> (4.1.2024)
24. Matsumoto Y, Inoue M. Characterization of SFO-1, a plasmid-mediated inducible class A beta-lactamase from *Enterobacter cloacae*. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:307.
25. Mena, K. D., in Gerba, C. P. (2009). Risk assessment of *Pseudomonas aeruginosa* in water. *Reviews of environmental contamination and toxicology*, 201, 71–115. Dostopno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19484589/> (15.12.2023)
26. Mikuš, S. (2018). Ekstrakcija medicinskega znanja iz tekstovnih opisov pri napovedovanju okužbe z rezistentno bakterijo [Magistrsko delo]. Repozitorij Univerze v Ljubljani. Dostopno na: <https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?lang=slv&id=100556> (4.1.2024)
27. Miljavac B, Perpar I.V., Gale I, Bregar R., Zelenik K. in Eržen I. (2019). Lastna oskrba s pitno vodo (LOPV). Dostopno na: <https://nijz.si/wp->

- content/uploads/2022/12/lastna_oskrba_s_pitno_vodo_spletni_prirocnik_15.7.2019.pdf (22.1.2024)
28. NIJZ. (2023). Enterični virusi v pitnih vodah. Dostopno na: <https://nijz.si/moje-okolje/pitna-voda/entericni-virusi-v-pitnih-vodah/> (15.12.2023)
29. NIJZ. (b.d.) Opisi mikrobioloških parametrov, ki jih določamo v pitni vodi. Dostopno na: <https://nijz.si/moje-okolje/pitna-voda/opisi-mikrobioloskih-parametov-ki-jih-dolocamo-v-pitni-vodi/> (13.12.2023)
30. NIJZ. (2024). Opisi mikrobioloških parametrov, ki jih določamo v pitni vodi. Dostopno na: <https://nijz.si/moje-okolje/pitna-voda/opisi-mikrobioloskih-parametov-ki-jih-dolocamo-v-pitni-vodi/> (21.1.2024)
31. Novak, M. (2023). Pojavnost proti antibiotikom odpornih sevov bakterije Escherichia coli v površinskih vodah : magistrsko delo [Magistrsko delo, M. Novak]. Repozitorij Univerze v Ljubljani. <https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?lang=slv&id=148738> (22.12.2023)
32. Palandačić A. (2007). Virulentni dejavniki uropatogenih sevov bakterije Escherichia coli, zbranih v enotah zdravstvenega doma Ljubljana : diplomsko delo [Diplomsko delo, A. Palandačić]. Repozitorij Univerze v Ljubljani. http://www.digitalna-knjiznica.bf.uni-lj.si/biologija/dn_palandacic_anja.pdf (22.12.2023)
33. Pires J., Novais A. in Peixe L. (2013). Blue-carba, an easy biochemical test for detection of diverse carbapenemase producers directly from bacterial cultures. Dostopno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3838089/> (21.1.2024)
34. Pravno-informacijski sistem. (2017). Pravilnik o pitni vodi. Dostopno na: <http://www.pisrs.si/Pis.web/pregledPredpisa?id=PRAV3713> (25.1.2024)
35. Ramirez D, Giron M. (2023). Enterobacter Infections. Dostopno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559296/> (4.1.2024)
36. Rashid M. A. U. H., Manzoor M. M., Mukhtar S. (2018). Urbanization and its effects on water resources: An exploratory analysis. Asian J. Water Environ. Pollut. Dostopno na: <https://content.iospress.com/articles/asian-journal-of-water-environment-and-pollution/ajw180007> (22.1.2024)
37. Singh A. K., Das S., Kumar S., Gajamer V. R., Najar I. N., Lepcha Y. D., Tiwari H. K. in Singh S. (2020). Distribution of Antibiotic-Resistant Enterobacteriaceae Pathogens in Potable Spring Water of Eastern Indian Himalayas: Emphasis on Virulence Gene and Antibiotic Resistance Genes in Escherichia coli. Dostopno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7674312/> (18.1.2024)
38. Sovič N., Baskar M, Repnik D. (2019). Ocena kakovosti naravnih izvirov v mestni občini Maribor in občini Ruše. Dostopno na: https://okolje.maribor.si/data/user_upload/okolje/Vode/Pr18_Naravni_izviri_v_MOM_in_Rusah.pdf (25.1.2024)
39. Stelma G. N., Jr. (2018). Use of bacterial spores in monitoring water quality and treatment. Dostopno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6088809/> (15.12.2023)
40. Stock I, Burak S, Sherwood KJ *et al.* Natural antimicrobial susceptibilities of strains of “unusual” *Serratia* species: *S. ficaria*, *S. fonti-cola*, *S. odorifera*, *S. plymuthica* and *S. rubidaea*. *J Antimicrob Chemother* 2003;51:865–85.
41. Štrumbelj I., Pirš M. (2022). Smernice za mikrobiologe - ugotavljanje odpornosti proti karbapenemom in ugotavljanje karbapenemaz - enterobakterije, *Acinetobacter baumannii* in *Pseudomonas aeruginosa* - 3. izdaja, april 2022. Dostopno na: <https://imi.si/wp-content/uploads/2022/04/Smernice-za-karbapenemaze-in-CR-za-mikrobiologe-3.-izdaja-april-2022.pdf> (25.1.2024)

42. Tanimoto K, Nomura T, Hashimoto Y *et al.* Isolation of *Serratia fonticola* Producing FONA, a Minor Extended-Spectrum β -Lactamase (ESBL), from Imported Chicken Meat in Japan. *J Infect Dis* 2021;74(1):79-81.
43. The Chromogenic Media Pioneer. (b.d.). CHROMagarTM CCA. Dostopno na: <https://www.chromagar.com/en/product/chromagar-cca/> (22.12.2023)
44. Water science school.(2018). Bacteria and E. coli in water. Dostopno na: <https://www.usgs.gov/special-topics/water-science-school/science/bacteria-and-e-coli-water#:~:text=coli%20is%20a%20type%20fecal,types%20of%20disease%20causing%20organisms>. (15.12.2023)
45. Yao P.Y., Annamaraju P.(2023). Clostridium perfringens Infection. Dostopno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559049/> (15.12.2023)

Priloga 1:

Bakterijski rod	CFU/100mL na posameznih gojiščih			
	CCA	PCA	MEA	TSC
<i>Acinetobacter</i>	0	6	0	0
<i>Aerococcus</i>	0	0	2	0
<i>Aeromonas</i>	26	8	0	0
<i>Aureimonas</i>	1	0	0	0
<i>Bacillus</i>	0	11	0	0
<i>Buttiauxella</i>	10	12	0	0
<i>Candida</i>	1	0	0	0
<i>Citrobacter</i>	4	2	0	2
<i>Clostridium</i>	0	0	0	10
<i>Enterobacter</i>	4	1	0	1
<i>Enterococcus</i>	0	0	13	0
<i>Escherichia</i>	9	0	0	0
<i>Klebsiella</i>	0	0	0	1
<i>Lelliottia</i>	7	0	0	0
<i>Lysinibacillus</i>	0	2	0	0
<i>Micrococcus</i>	0	1	0	0
<i>Paeniclostridium</i>	0	0	0	1
<i>Pantoea</i>	17	0	0	0
<i>Paraclostidium</i>	0	0	0	5
<i>Peribacillus</i>	0	2	0	0
<i>Priestia</i>	0	10	0	0
<i>Pseudomonas</i>	2	0	0	0
<i>Rahnella</i>	4	0	0	0
<i>Raoultella</i>	1	0	0	3
<i>Robinsoniella</i>	0	0	0	1
<i>Rossellomorea</i>	0	1	0	0

<i>Rothia</i>	0	2	0	0
<i>Saccharomyces</i>	1	0	0	0
<i>Scandinavium</i>	1	0	0	0
<i>Serratia</i>	18	1	0	5
<i>Staphylococcus</i>	0	3	0	0
<i>Stenotrophomonas</i>	1	0	0	0
<i>Yersinia</i>	4	0	0	0

Priloga 2:

Oznaka vzorca	Kraj odvzema	Datum odvzema	Vrsta vode	Oznaka izolata	Gojišče	Volumen vode (mL)	Filter	T inkubacij (°C)	Identifikacija (MALDI-TOFF)	Score	Izbrani za nadaljnjo analizo
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RC1	CCA	100	da	37	<i>Buttiauxella gaviniae</i>	2.02	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RC2	CCA	100	da	37	<i>Buttiauxella agrestis</i>	1.71	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RC3	CCA	100	da	37	<i>Serratia liquefaciens</i>	1.91	da
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RC4	CCA	100	da	37	<i>Stenotrophomonas sp</i>	2.13	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RC5	CCA	100	da	37	<i>Aeromonas bestiarum</i>	1.98	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RC6	CCA	100	da	37	<i>Aeromonas eucrenophila</i>	2.12	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RC7	CCA	100	da	37	<i>Aeromonas eucrenophila</i>	2.12	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RC8	CCA	100	da	37	NOIP	1.4	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RC9	CCA	100	da	37	NOIP	1.39	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RC10	CCA	100	da	37	<i>Buttiauxella agrestis</i>	1.7	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RC11	CCA	100	da	37	NOIP	1.53	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RC12	CCA	100	da	37	<i>Pseudomonas fragi</i>	1.74	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RC13	CCA	100	da	37	<i>Buttiauxella agrestis</i>	1.94	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RC14	CCA	100	da	37	<i>Buttiauxella izardii</i>	1.94	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RC15	CCA	100	da	37	<i>Buttiauxella gaviniae</i>	1.95	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RC16	CCA	100	da	37	<i>Serratia quinivorans</i>	2.01	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RC17	CCA	100	da	37	NOIP	1.67	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RC18	CCA	100	da	37	<i>Aeromonas eucrenophila</i>	2.03	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RC19	CCA	100	da	37	<i>Aeromonas eucrenophila</i>	2.12	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RC20	CCA	100	da	37	NOIP	1.4	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RT1	TSC	100	da	37	NOIP	1.64	/

R	Ruše	25.11.2023	studenec	RT2	TSC	100	da	37	Serratia liquefaciens	1.89	da
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RT3	TSC	100	da	37	Serratia fonticola	2.15	da
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RP1	PCA	100	da	37	Micrococcus luteus	1.87	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RP2	PCA	100	da	37	Rothia kristinae	2.12	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RP3	PCA	100	da	37	NOIP	1.58	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RP4	PCA	100	da	37	Buttiauxella gaviniae	2.27	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RP5	PCA	100	da	37	Staphylococcus hominis	2.06	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RP6	PCA	100	da	37	Aeromonas eucrenophila	2.12	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RP7	PCA	100	da	37	Aeromonas encheleia	2	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RP8	PCA	100	da	37	Aeromonas eucrenophila	1.94	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RP9	PCA	100	da	37	NOIP	1.47	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RP10	PCA	100	da	37	NOIP	1.45	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RP11	PCA	100	da	37	NOIP	1.49	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RP12	PCA	100	da	37	Buttiauxella vagrestis	1.76	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RP13	PCA	100	da	37	Buttiauxella ferragutiae	1.87	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RP14	PCA	100	da	37	Buttiauxella ferragutiae	1.8	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RP15	PCA	100	da	37	Buttiauxella ferragutiae	1.84	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RP16	PCA	100	da	37	Citrobacter gillenii	2.37	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RP17	PCA	100	da	37	Buttiauxella agrestis	2.05	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RP18	PCA	100	da	37	Buttiauxella ferragutiae	2.17	/
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RP19	PCA	100	da	37	Citrobacter gillenii	2.39	da
R	Ruše	25.11.2023	studenec	RP20	PCA	100	da	37	Buttiauxella agrestis	1.81	/
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SC1	CCA	100	da	37	NOIP	1.56	/
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SC2	CCA	100	da	37	NOIP	1.28	/
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SC3	CCA	100	da	37	NOIP	1.32	/
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SC4	CCA	100	da	37	NOIP	1.29	/
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SC5	CCA	100	da	37	NOIP	1.56	/

S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SC6	CCA	100	da	37	Candida dubliniensis	1.72	/
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SC7	CCA	100	da	37	NOIP	1.36	/
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SC8	CCA	100	da	37	NOIP	1.33	/
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SC9	CCA	100	da	37	NOIP	1.43	/
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SC10	CCA	100	da	37	NOIP	1.39	/
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SC11	CCA	100	da	37	Saccharomyces cerevisiae	1.76	/
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SC12	CCA	100	da	37	NPF	0	/
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SC13	CCA	100	da	37	NPF	0	/
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SC14	CCA	100	da	37	NPF	0	/
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SC15	CCA	100	da	37	Buttiauxella gaviniae	1.9	/
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SC16	CCA	100	da	37	Buttiauxella agrestis	1.95	/
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SC17	CCA	100	da	37	NPF	0	/
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SC18	CCA	100	da	37	Stenotrophomonas sp	2.12	/
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SC19	CCA	100	da	37	Aeromonas eucrenophila	1.92	/
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SC20	CCA	100	da	37	Aeromonas eucrenophila	2.06	/
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	ST1	TSC	100	da	37	NOIP	1.41	/
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	ST2	TSC	100	da	37	NOIP	1.51	/

S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	ST3	TSC	100	da	37	NOIP	1.31 /
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SP1	PCA	100	da	37	NOIP	1.64 /
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SP2	PCA	100	da	37	<i>Buttiauxella agrestis</i>	1.84 /
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SP3	PCA	100	da	37	<i>Buttiauxella izardii</i>	1.97 /
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SP4	PCA	100	da	37	<i>Buttiauxella izardii</i>	1.89 /
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SP5	PCA	100	da	37	<i>Serratia proteamaculans</i>	1.98 da
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SP6	PCA	100	da	37	NPF	0 /
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SP7	PCA	100	da	37	<i>Aeromonas eucrenophila</i>	2.04 /
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SP8	PCA	100	da	37	<i>Aeromonas eucrenophila</i>	2.07 /
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SP9	PCA	100	da	37	NOIP	1.45 /
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SP10	PCA	100	da	37	NPF	0 /
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SP11	PCA	100	da	37	NOIP	1.25 /
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SP12	PCA	100	da	37	NOIP	1.35 /
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SP13	PCA	100	da	37	<i>Micrococcus luteus</i>	1.91 /
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SP14	PCA	100	da	37	<i>Rothia kristinae</i>	2.05 /
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SP15	PCA	100	da	37	NPF	0 /
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SP16	PCA	100	da	37	<i>Buttiauxella gaviniae</i>	2.21 /

S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SP17	PCA	100	da	37	Staphylococcus hominis	2.1 /
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SP18	PCA	100	da	37	Aeromonas eucrenophila	2.14 /
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SP19	PCA	100	da	37	Aeromonas eucrenophila	1.97 /
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	SP20	PCA	100	da	37	Aeromonas eucrenophila	2.01 /
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	ST1	CCA	100	da	37	Escherichia coli	2.25 /
S	Slovenska Bistrica	25.11.2023	izvir	ST2	CCA	100	da	37	Pseudomonas protegens	2.26 /
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TC1	CCA	100	da	37	Citrobacter gillenii	2.4 /
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TC2	CCA	100	da	37	Aeromonas bestinarum	2.16 /
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TC3	CCA	100	da	37	Raoultella planticola	2.44 da
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TC4	CCA	100	da	37	Rahnella aquatillis	2.35 /
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TC5	CCA	100	da	37	Rahnella aquatillis	2.36 /
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TC6	CCA	100	da	37	Serratia plymuthica	2.02 da
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TC7	CCA	100	da	37	Serratia plymuthica	2.26 /
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TC8	CCA	100	da	37	Aeromonas encheleia	1.89 /
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TC9	CCA	100	da	37	Aeromonas encheleia	2.19 /
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TC10	CCA	100	da	37	Aeromonas eucrenophila	2.15 /
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TC11	CCA	100	da	37	Enterobacter ludwigii	2.44 da
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TC12	CCA	100	da	37	Pantoea agglomerans	2.31 /
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TC13	CCA	100	da	37	Serratia liquefaciens	2.43 da
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TC14	CCA	100	da	37	Pantoea agglomerans	2.18 /
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TC15	CCA	100	da	37	Pantoea agglomerans	2.19 /
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TC16	CCA	100	da	37	Aeromonas bestinarum	2.15 /

T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TC17	CCA	100	da	37	Aeromonas bestinarum	2.22	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TC18	CCA	100	da	37	Aeromonas encheleia	2.04	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TC19	CCA	100	da	37	Citrobacter amalonaticus	2.4	da
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TC20	CCA	100	da	37	Lelliottia amnigena	2.47	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TT1	TSC	100	da	37	Clostridium perfringens	2.23	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TT2	TSC	100	da	37	Clostridium perfringens	2.01	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TT3	TSC	100	da	37	NOIP	1.42	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TT4	TSC	100	da	37	NPF	0	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TT5	TSC	100	da	37	NPF	0	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TT6	TSC	100	da	37	NPF	0	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TT7	TSC	100	da	37	NPF	0	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TT8	TSC	100	da	37	NPF	0	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TT9	TSC	100	da	37	NPF	0	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TT10	TSC	100	da	37	NPF	0	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TT11	TSC	100	da	37	NPF	0	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TP1	PCA	100	da	37	Bacillus pumilus	1.74	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TP2	PCA	100	da	37	Staphylococcus xylosus	2.07	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TP3	PCA	100	da	37	Bacillus pumilus	2.1	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TP4	PCA	100	da	37	Peribacillus muralis	1.8	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TP5	PCA	100	da	37	Acinetobacter pseudolowoffi	1.85	da
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TP6	PCA	100	da	37	NOIP	1.52	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TP7	PCA	100	da	37	Bacillus pumilus	2.13	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TP8	PCA	100	da	37	Bacillus thuringiensis	1.95	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TP9	PCA	100	da	37	Priestia megaterium	1.9	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TP10	PCA	100	da	37	Bacillus cereus	2.08	/

T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TP11	PCA	100	da	37	NOIP	1.66	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TP12	PCA	100	da	37	Bacillus cereus	1.95	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TP13	PCA	100	da	37	Bacillus cereus	2.12	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TP14	PCA	100	da	37	Acinetobacter lwoffii	1.82	da
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TP15	PCA	100	da	37	Actinobacter pseudolwoffii	2.28	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TP16	PCA	100	da	37	NOIP	1.42	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TP17	PCA	100	da	37	Actinobacter pseudolwoffii	1.93	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TP18	PCA	100	da	37	Enterobacter ludwigii	2.4	da
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TP19	PCA	100	da	37	Acinetobacter ludwigii	2.4	da
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TP20	PCA	100	da	37	NOIP	1.68	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TM1	MEA	100	da	37	Enterococcus hirae	2.2	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TM2	MEA	100	da	37	Enterococcus casseliflavus	1.99	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TM3	MEA	100	da	37	Enterococcus casseliflavus	1.9	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TM4	MEA	100	da	37	NOIP	1.37	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TM5	MEA	100	da	37	NPF	0	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TM6	MEA	100	da	37	NOIP	1.48	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TM7	MEA	100	da	37	Aerococcus viridans	1.89	/
T	Studeni ca	8.1.2024	izvir	TM8	MEA	100	da	37	Aerococcus viridans	2.2	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KC1	CCA	100	da	37	Pantoea ananatis	1.83	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KC2	CCA	100	da	37	Lelliottia amnigena	2.2	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KC3	CCA	100	da	37	Serratia fonticola	2.33	da
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KC4	CCA	100	da	37	Serratia fonticola	1.95	da
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KC5	CCA	100	da	37	Lelliottia nimipressuralis	2.15	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KC6	CCA	100	da	37	Citrobacter gillenii	2.26	da
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KC7	CCA	100	da	37	Aeromonas sp	2.02	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KC8	CCA	100	da	37	Aeromonas eucrenophila	2.01	/

K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KC9	CCA	100	da	37	Aeromonas bestiarum	2.12	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KC10	CCA	100	da	37	Aeromonas bestiarum	2.18	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KC11	CCA	100	da	37	Serratia proteamaculans	2.2	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KC12	CCA	100	da	37	Yersinia entereocolitica	2.36	da
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KC13	CCA	100	da	37	Yersinia entereocolitica	2.4	da
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KC14	CCA	100	da	37	Lelliottia amnigena	2.07	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KC15	CCA	100	da	37	Serratia fonticola	2.32	da
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KC16	CCA	100	da	37	Pantoea agglomerans	1.9	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KC17	CCA	100	da	37	Pantoea agglomerans	2.13	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KC18	CCA	100	da	37	Pantoea agglomerans	2.25	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KC19	CCA	100	da	37	Pantoea agglomerans	1.96	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KC20	CCA	100	da	37	Pantoea agglomerans	2.31	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KT1	TSC	100	da	37	Clostridium perfringens	2.22	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KT2	TSC	100	da	37	Clostridium perfringens	2.25	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KT3	TSC	100	da	37	Clostridium perfringens	2.1	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KT4	TSC	100	da	37	Clostridium perfringens	1.94	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KT5	TSC	100	da	37	Clostridium perfringens	2.41	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KT6	TSC	100	da	37	Clostridium perfringens	2.01	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KT7	TSC	100	da	37	Paraclostridium bifermentans	1.99	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KT8	TSC	100	da	37	Paraclostridium bifermentans	1.92	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KT9	TSC	100	da	37	Robinsoniella peoriensis	1.71	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KT10	TSC	100	da	37	Serratia liquefaciens	2.36	da
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KT11	TSC	100	da	37	Serratia liquefaciens	2.27	da
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KT12	TSC	100	da	37	Paeniclostridium sordellii	2.11	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KP1	PCA	100	da	37	ni podatka	/	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KP2	PCA	100	da	37	ni podatka	/	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KP3	PCA	100	da	37	ni podatka	/	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KP4	PCA	100	da	37	ni podatka	/	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KP5	PCA	100	da	37	ni podatka	/	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KP6	PCA	100	da	37	ni podatka	/	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KP7	PCA	100	da	37	ni podatka	/	/

K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KP8	PCA	100	da	37	ni podatka	/	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KP9	PCA	100	da	37	ni podatka	/	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KP10	PCA	100	da	37	ni podatka	/	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KP11	PCA	100	da	37	ni podatka	/	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KP12	PCA	100	da	37	ni podatka	/	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KP13	PCA	100	da	37	ni podatka	/	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KP14	PCA	100	da	37	ni podatka	/	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KP15	PCA	100	da	37	ni podatka	/	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KP16	PCA	100	da	37	ni podatka	/	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KP17	PCA	100	da	37	ni podatka	/	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KP18	PCA	100	da	37	ni podatka	/	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KP19	PCA	100	da	37	ni podatka	/	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KP20	PCA	100	da	37	ni podatka	/	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KM1	MEA	100	da	37	Enterococcus gallinarum	2.25	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KM2	MEA	100	da	37	Enterococcus casseliflavus	1.96	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KM3	MEA	100	da	37	Enterococcus hirae	1.9	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KM4	MEA	100	da	37	Enterococcus hirae	2.29	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KM5	MEA	100	da	37	Enterococcus hirae	2.32	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KM6	MEA	100	da	37	Enterococcus hirae	2.2	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KM7	MEA	100	da	37	Enterococcus hirae	2.34	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KM8	MEA	100	da	37	Enterococcus hirae	2.22	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KM9	MEA	100	da	37	Enterococcus hirae	2.25	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KM10	MEA	100	da	37	Enterococcus hirae	2.25	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KO1	CCA	100	da	37	Escherichia coli	2.21	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KO2	CCA	100	da	37	Escherichia coli	2.16	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KO3-1	CCA	100	da	37	Escherichia coli	2.42	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KO3-2	CCA	100	da	37	Serratia fonticola	2.42	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KO4	CCA	100	da	37	Escherichia coli	2.39	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KO5	CCA	100	da	37	Escherichia coli	2.3	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KO6	CCA	100	da	37	Escherichia coli	2.31	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KO7	CCA	100	da	37	Escherichia coli	2.24	/
K	Kopivnik	7.1.2024	izvir	KO8	CCA	100	da	37	Escherichia coli	2.42	/
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IC1	CCA	100	da	37	Aeromonas bestiarum	2.07	/
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IC2	CCA	100	da	37	Aeromonas bestiarum	1.92	/

I	Radizel	20.1.2024	izvir	IC3	CCA	100	da	37	Aeromonas bestiarum	2.14	/
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IC4	CCA	100	da	37	Aeromonas eucrenophila	2.02	/
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IC5	CCA	100	da	37	NOIP	1.4	/
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IC6	CCA	100	da	37	NOIP	1.44	/
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IC7	CCA	100	da	37	Serratia fonticola	2.51	da
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IC8	CCA	100	da	37	Serratia fonticola	2.53	da
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IC9	CCA	100	da	37	Scandinavium goeteborgense	2.1	/
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IC10	CCA	100	da	37	Rahnella aquatillis	2.07	/
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IC11	CCA	100	da	37	Buttiauxella izardii	2.14	/
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IC12	CCA	100	da	37	Rahnella aquatillis	2.46	/
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IC13	CCA	100	da	37	Serratia marcescens	2.3	da
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IC14	CCA	100	da	37	Pantoea agglomerans	2.1	/
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IC15	CCA	100	da	37	Pantoea vagans	2.03	/
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IC16	CCA	100	da	37	Buttiauxella ferragutiae	2.21	/
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IC17	CCA	100	da	37	NOIP	1.37	/
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IC18	CCA	100	da	37	NOIP	1.56	/
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IC19	CCA	100	da	37	NOIP	1.58	/
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IC20	CCA	100	da	37	Serratia fonticola	2.51	da
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IT1	TSC	100	da	37	Clostridium perfringens	2.23	/
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IT2	TSC	100	da	37	NOIP	1.53	/
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IT3	TSC	100	da	37	Paraclostridium bifermentans	2.09	/
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IT4	TSC	100	da	37	Paraclostridium bifermentans	2.23	/
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IT5	TSC	100	da	37	Paraclostridium bifermentans	2.01	/
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IT6	TSC	100	da	37	NOIP	1.36	/
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IT7	TSC	100	da	37	NOIP	1.38	/
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IT8	TSC	100	da	37	Clostridium hydrogeniformans	2.51	/
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IT9	TSC	100	da	37	NOIP	1.36	/
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IT10	TSC	100	da	37	NOIP	1.31	/
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IP1	PCA	100	da	37	NPF	0	/
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IP2	PCA	100	da	37	Pirestia megaterium	2.14	/
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IP3	PCA	100	da	37	Pirestia megaterium	2.19	/
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IP4	PCA	100	da	37	Pirestia megaterium	2.09	/

I	Radizel	20.1.2024	izvir	IP5	PCA	100	da	37	Bacillus subtilis	2.23	/
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IP6	PCA	100	da	37	Rosselloomorea marisflavi	2.25	/
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IP7	PCA	100	da	37	Lysinibacillus fusiformis	2.29	/
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IP8	PCA	100	da	37	Lysinibacillus fusiformis	1.92	/
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IP9	PCA	100	da	37	Bacillus thuringiensis	1.94	/
I	Radizel	20.1.2024	izvir	IP10	PCA	100	da	37	Bacillus thuringiensis	1.82	/
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PC1	CCA	20	da	37	NOIP	1.52	/
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PC2	CCA	20	da	37	NOIP	1.51	/
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PC3	CCA	20	da	37	NOIP	1.39	/
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PC4	CCA	20	da	37	Serratia plymuthica	2.2	da
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PC5	CCA	20	da	37	Serratia fonticola	2.43	da
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PC6	CCA	20	da	37	Enterobacter cloacae	1.71	da
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PC7	CCA	20	da	37	Enterobacter asburiae	1.92	da
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PC8	CCA	20	da	37	Aeromonas eucrenophila	2.1	/
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PC9	CCA	20	da	37	Aeromonas bestiarum	2.07	/
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PC10	CCA	20	da	37	Aeromonas bestiarum	2.1	/
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PC11	CCA	20	da	37	Aeromonas eucrenophila	2.09	/
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PC12	CCA	20	da	37	Auremonas bestiarum	2.15	/
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PC13	CCA	20	da	37	NOIP	1.56	/
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PC14	CCA	20	da	37	NOIP	1.37	/
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PC15	CCA	20	da	37	Pantoea agglomerans	1.73	/
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PC16	CCA	20	da	37	Buttiauxella agrestis	1.81	/
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PC17	CCA	20	da	37	Rahnella aquatillis	2.36	/
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PC18	CCA	20	da	37	Rahnella aquatillis	2.45	/
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PC19	CCA	20	da	37	Rahnella aquatillis	2.35	/
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PC20	CCA	20	da	37	Serratia liquefaciens	2.43	da
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PT1	TSC	20	da	37	Citrobacter gillenii	2.36	/
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PT2	TSC	20	da	37	Citrobacter gillenii	2.35	/
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PT3	TSC	20	da	37	NOIP	1.32	/
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PT4	TSC	20	da	37	NOIP	1.56	/
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PT5	TSC	20	da	37	Raoultella ornithinolytic a	2.07	/
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PT6	TSC	20	da	37	Enterobacter cloacae	1.75	da

P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PT7	TSC	20	da	37	Raoultella ornithinolytica	2.34 /
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PT8	TSC	20	da	37	Raoultella terrigena	2.47 /
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PT9	TSC	20	da	37	Serratia plymuthica	2.45 /
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PT10	TSC	20	da	37	Klebsiella oxytoca	2.33 da
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PP1	PCA	20	da	37	Bacillus mojavensis	1.98 /
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PP2	PCA	20	da	37	NOIP	1.69 /
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PP3	PCA	20	da	37	Peribacillus simplex	1.81 /
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PP4	PCA	20	da	37	Acinetobacter caloaceticus	2.25 da
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PA1	PCA	20	da	22	NOIP	1.31 /
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PA2	PCA	20	da	22	NOIP	1.51 /
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PA3	PCA	20	da	22	Priestia megaterium	2.12 /
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PA4	PCA	20	da	22	NOIP	1.6 /
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PA5	PCA	20	da	22	Priestia megaterium	2.34 /
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PA6	PCA	20	da	22	Priestia megaterium	2.25 /
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PA7	PCA	20	da	22	NPF	0 /
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PA8	PCA	20	da	22	Priestia megaterium	2.31 /
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PA9	PCA	20	da	22	Priestia megaterium	2.31 /
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	PA10	PCA	20	da	22	Priestia megaterium	2.31 /
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	P1	CCA	20	da	37	NPF	0 /
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	P2	CCA	20	da	37	Escherichia coli	2.14 /
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	P3	CCA	20	da	37	NPF	0 /
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	P4	CCA	20	da	37	Enterobacter bugandensis	1.89 /
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	P5	CCA	20	da	37	Escherichia coli	2.12 /
P	Prigorje	20.1.2024	studenec	P6	CCA	20	da	37	Escherichia marmotae	2.32 /

Priloga 3:

Bakterijski rod	Število izolatov glede na kraj vzorčenja					
	Ruše	Slovenska Bistrica	Studenica	Kopivnik	Radizel	Prigorje
Acinetobacter	0	0	3	0	0	1
Aerococcus	0	0	2	0	0	0
Aeromonas	8	7	7	4	4	4
Aureimonas	0	0	0	0	0	1
Bacillus	0	0	7	0	3	1
Butiauxella	14	6	0	0	2	1

<i>Candida</i>	0	1	0	0	0	0
<i>Citrobacter</i>	2	0	2	3	0	2
<i>Clostridium</i>	0	0	2	6	2	0
<i>Enterobacter</i>	0	0	2	0	0	4
<i>Enterococcus</i>	0	0	3	10	0	0
<i>Escherichia</i>	0	1	0	7	0	3
<i>Klebsiella</i>	0	0	0	0	0	1
<i>Lelliottia</i>	0	0	1	3	0	0
<i>Lysinibacillus</i>	0	0	0	0	2	0
<i>Micrococcus</i>	1	1	0	0	0	0
<i>Paeniclostridium</i>	0	0	0	1	0	0
<i>Pantoea</i>	0	0	3	6	2	1
<i>Paraclostirdium</i>	0	0	0	2	3	0
<i>Peribacillus</i>	0	0	1	0	0	1
<i>Priestia</i>	0	0	1	0	3	6
<i>Pseudomonas</i>	1	1	0	0	0	0
<i>Rahnella</i>	0	0	2	0	2	3
<i>Raoultella</i>	0	0	1	0	0	3
<i>Robinsoniella</i>	0	0	0	1	0	0
<i>Rossellomorea</i>	0	0	0	0	1	0
<i>Rothia</i>	1	1	0	0	0	0
<i>Saccharomyces</i>	0	1	0	0	0	0
<i>Scandinavium</i>	0	0	0	0	1	0
<i>Serratia</i>	4	1	3	7	4	4
<i>Staphylococcus</i>	1	1	1	0	0	0
<i>Stenotrophomonas</i>	1	1	0	0	0	0
<i>Yersinia</i>	0	0	0	2	0	0