



ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

**«ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΕΜΦΙΑΛΩΜΕΝΩΝ
ΝΕΡΩΝ ΣΤΗΝ ΚΡΗΤΗ ΚΑΙ ΕΛΕΓΧΟΣ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ
ΓΙΑ ΤΟΝ ΚΑΤΑΝΑΛΩΤΗ»**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
ΔΡΟΥΛΙΣΚΟΥ ΕΛΕΥΘΕΡΙΑ
Α.Μ. 2008050030



ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:
ΒΕΝΙΕΡΗ ΔΑΝΑΗ (ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ)
ΔΙΑΜΑΝΤΟΠΟΥΛΟΣ ΕΥΑΓΓΕΛΟΣ
ΞΕΚΟΥΚΟΥΛΩΤΑΚΗΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ

ΧΑΝΙΑ
ΦΕΒΡΟΥΑΡΙΟΣ 2014

**ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

**«ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΕΜΦΙΑΛΩΜΕΝΩΝ
ΝΕΡΩΝ ΣΤΗΝ ΚΡΗΤΗ ΚΑΙ ΕΛΕΓΧΟΣ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ
ΓΙΑ ΤΟΝ ΚΑΤΑΝΑΛΩΤΗ»**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
ΔΡΟΥΛΙΣΚΟΥ ΕΛΕΥΘΕΡΙΑ
Α.Μ. 2008050030**

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:
**ΒΕΝΙΕΡΗ ΔΑΝΑΗ (ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ)
ΔΙΑΜΑΝΤΟΠΟΥΛΟΣ ΕΥΑΓΓΕΛΟΣ
ΞΕΚΟΥΚΟΥΛΩΤΑΚΗΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ**

**ΧΑΝΙΑ
ΦΕΒΡΟΥΑΡΙΟΣ 2014**

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Σε αυτό το σημείο θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαιτέρως την επιβλέπουσα καθηγήτρια κυρία Βενιέρη Δανάη, για την ανάθεση του θέματος αλλά και για την εξαίρετη συνεργασία καθώς και για τις χρήσιμες γνώσεις που μου προσέφερε μέσω της διεξαγωγής της παρούσας προπτυχιακής εργασίας.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω πολύ την εργαστηριακή βοηθό κυρία Γουνάκη Ιωσηφίνα για την πολύτιμη βοήθειά της και την καθοδήγηση της στα πλαίσια της διεξαγωγής των πειραμάτων καθώς και για τις συμβουλές για σωστή διαχείριση του εργαστηριακού εξοπλισμού και την ορθή χρήση των εργαστηριακών υλικών.

Ευχαριστώ τους καθηγητές της επιτροπής κύριο Ξεκουκουλωτάκη Νικόλαο και κύριο Διαμαντόπουλο Ευάγγελο για την παρουσία τους και την αξιολόγηση της παρούσας διπλωματικής εργασίας.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω τους διδακτορικούς, μεταπτυχιακούς και προπτυχιακούς φοιτητές του εργαστηρίου Περιβαλλοντικής Μικροβιολογίας για την άριστη συνεργασία καθώς και το ευχάριστο κλίμα που υπήρξε κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της παρούσας διπλωματικής.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια του προπτυχιακού προγράμματος σπουδών του Τμήματος Μηχανικών Περιβάλλοντος, του Πολυτεχνείου Κρήτης και υλοποιήθηκε στο Εργαστήριο Περιβαλλοντικής Μικροβιολογίας του τομέα Περιβαλλοντικής Διαχείρισης.

Η μικροβιολογική ποιότητα των εμφιαλωμένων νερών είναι υψηλής σημασίας για τη δημόσια υγεία καθότι το νερό είναι το κυριότερο καταναλώσιμο αγαθό από τον άνθρωπο. Για την ασφαλή κατανάλωση των εμφιαλωμένων νερών υφίσταται σχετική νομοθεσία που αφορά τη μικροβιολογική ποιότητά τους τόσο σε εθνικό όσο και σε διεθνές επίπεδο βάσει ορίων συγκεκριμένων μικροβιακών δεικτών.

Σε αυτή την εργασία έγινε μικροβιολογική ανάλυση σε δείγματα 12 εταιριών εμφιαλωμένων νερών που απαντώνται στην Κρήτη, ιδιαίτερα στο νομό Χανίων, κατά την περίοδο Μάρτιος 2013-Ιούνιος 2013 καθώς και έλεγχος επικινδυνότητάς τους για τον καταναλωτή. Συγκεκριμένα έγινε καταμέτρηση των τιμών σε 4 μικροβιακούς δείκτες: τα ολικά κολοβακτηριοειδή, τους εντερόκοκκους, το *Escherichia coli* και την *Pseudomonas aeruginosa* καθώς και της ολικής μικροβιακής χλωρίδας. Η ανάλυση διεξήχθη με τη μέθοδο διήθησης υπό κενό με τη χρήση μεμβρανών και κατόπιν καλλιέργεια των μικροοργανισμών σε κατάλληλο θρεπτικό υλικό- υπόστρωμα στην ανάλογη θερμοκρασία επώασης. Εν συνεχείᾳ έγινε βιοχημική ταυτοποίηση των ανιχνευμένων βακτηρίων των δειγμάτων ώστε να υπάρχει μία ολοκληρωμένη εικόνα για τη μικροβιολογική ποιότητα των δειγμάτων. Επίσης ελέγχθηκε η μικροβιολογική ποιότητα των δειγμάτων κατόπιν συντήρησής τους σε μη ενδεδειγμένες συνθήκες (έκθεση σε ηλιακή ακτινοβολία). Μετά το πέρας των πειραμάτων της διπλωματικής εργασίας, διαπιστώθηκε ότι σε αρκετά από τα δείγματα των εταιριών δεν τηρούνται τα όρια της νομοθεσίας. Παρόλα αυτά τα περισσότερα δείγματα βρέθηκαν να είναι σύμφωνα με τη νομοθεσία όσον αφορά στους μικροβιακούς δείκτες. Όσο όμως αφορά στην ολική μικροβιακή χλωρίδα τα περισσότερα δείγματα ξεπερνούσαν τα όρια της νομοθεσίας.

Κατόπιν, για τον έλεγχο της ασφάλειας της κατανάλωσης των εμφιαλωμένων νερών, έγινε δοκιμή σε ανθεκτικότητα των βακτηρίων που βρέθηκαν, σε 3 διαφορετικά αντιβιοτικά (αμοξυκιλίνη, στρεπτομυκίνη και τετρακυκλίνη) με τη μέθοδο ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (Minimum Inhibitory Concentration - MIC). Συμπερασματικά, τα στελέχη που απομονώθηκαν από τα δείγματα ως επί το πλείστον υπήρξαν ευαίσθητα στα αντιβιοτικά τα οποία δοκιμάστηκαν, συνεπώς "ακίνδυνα" όσον αφορά στη θεραπεία των λοιμώξεων που ενδεχομένως προκαλέσουν.

Περιεχόμενα

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	3
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	5
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	13
1.1. Νερό	13
1.1.1. Εμφιαλωμένα νερά.....	14
1.1.2. Κατανάλωση εμφιαλωμένου νερού	15
1.1.3. Μόλυνση εμφιαλωμένων νερών.....	17
1.1.4. Βακτήρια	17
1.1.5. Μικροβιολογική ποιότητα νερού	18
1.1.6. Νομοθετικά όρια εμφιαλωμένων νερών	21
1.2. Αντιβιοτικά και ανθεκτικότητα βακτηρίων.....	22
1.2.1. Αντιβιοτικά.....	22
1.2.2. Ανθεκτικότητα βακτηρίων στα αντιβιοτικά	23
1.2.3. Κατηγορίες αντιβιοτικών	23
1.2.4. β-λακταμικά αντιβιοτικά	23
1.2.5. Αμοξυκιλίνη	24
1.2.6. Στρεπτομυκίνη	24
1.2.7. Τετρακυκλίνη.....	25
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΣΚΟΠΟΣ	27
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	29
3.1. Υλικά.....	29
3.2. Δειγματοληψίες.....	31
3.3. Μέθοδοι	31
3.3.1. Μεθοδολογία μικροβιολογικού ελέγχου.....	31
3.3.2. Μεθοδολογία βιοχημικής ταυτοποίησης	36
3.3.3. Διερεύνηση επιβίωσης βακτηρίων	37
3.3.4. Έλεγχος ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά - Μεθοδολογία υπολογισμού ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης	38
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	41
4.1. Αποτελέσματα μικροβιολογικών αναλύσεων δειγμάτων νερού	41
4.1.1. Μικροβιακοί δείκτες.....	41
4.1.2. Ολική μικροβιακή χλωρίδα	43
4.2. Αποτελέσματα βιοχημικής ταυτοποίησης των βακτηρίων με το σύστημα API ..	55

4.2.1.	Βασικές πληροφορίες για τους ανιχνευμένους μικροοργανισμούς	57
4.2.2.	Ανιχνευμένες ψευδομονάδες – είδη	58
4.3.	Αποτελέσματα μικροβιολογικής ποιότητας των εμφιαλωμένων νερών σε κακές συνθήκες συντήρησης	62
4.4.	Αποτελέσματα διερεύνησης επιβίωσης βακτηρίων στα δείγματα	69
4.5.	Δοκιμή ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά στα απομονωμένα βακτηριακά στελέχη	71
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΠΕΡΑΣΜΑΤΑ		75
5.1.	Μικροβιολογική ποιότητα των δειγμάτων	75
5.2.	Ταυτοποίηση των απομονωμένων βακτηρίων με το σύστημα API.....	81
5.3.	Μικροβιολογική ποιότητα των εμφιαλωμένων νερών σε κακές συνθήκες συντήρησης	81
5.4.	Διερεύνηση επιβίωσης των βακτηρίων στο εμφιαλωμένο νερό	82
5.5.	Δοκιμή ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά των απομονωμένων βακτηριακών στελεχών	82
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....		85
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ - ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ		89

Περιεχόμενα εικόνων

Εικόνα 1.....	13
Εικόνα 3 – <i>Escherichia coli</i>	20
Εικόνα 4 – <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21
Εικόνα 5 - Αμοξυκιλίνη.....	24
Εικόνα 6 - Στρεπτομυκίνη	25
Εικόνα 7 - Τετρακυκλίνη	25
Εικόνα 8 – Τρυβλία Πέτρι	29
Εικόνα 12 – Διήθηση με χρήση μεμβρανών	32
Εικόνα 13 - Μέθοδος ενσωάτωσης σε άγαρ	33
Εικόνα 14 – Αποικίες Total coliforms σε θρεπτικό υλικό M-Endo Agar Les	33
Εικόνα 15 – Αποικίες <i>Escherichia coli</i> σε θρεπτικό υλικό HiCrome <i>E. coli</i> Agar	34
Εικόνα 16 – Αποικίες Κοπρανωδών στρεπτόκοκκων σε θρεπτικό υλικό Slanetz & Bartley Medium.....	34
Εικόνα 17 – Καλλιέργεια <i>Pseudomonas aeruginosa</i> σε θρεπτικό υλικό Pseudomonas agar base με συμπλήρωμα Centrix	35
Εικόνα 18- Ολική μικροβιακή χλωρίδα.....	36
Εικόνα 19 – API 20E.....	37
Εικόνα 20 – API 20NE	37
Εικόνα 21 – API 20STREP	37
Εικόνα 22 – Πλάκα μικροτιτλοποίησης	39
Εικόνα 23.....	62
Εικόνα 24 - Εμφιάλωση νερού.....	76
Εικόνα 25 - Αντιβιοτικά	83

Περιεχόμενα γραφημάτων

Γράφημα 1- Μέση ετήσια κατανάλωση εμφιαλωμένου νερού παγκοσμίως [http://news.pathfinder.gr/health/features/894437.html].....	16
Γράφημα 2– Ποσοστό κατανάλωσης εμφιαλωμένων νερών ανά είδος [http://news.pathfinder.gr/health/features/894437.html].....	16
Γράφημα 3– Ποσοστό μικροβιακών δεικτών που ανιχνεύθηκε ανά εταιρία	43
Γράφημα 4– Αριθμός αποικιών ολικής μικροβιακής χλωρίδας της πρώτης δειγματοληψίας	46
Γράφημα 5 -Αριθμός αποικιών ολικής μικροβιακής χλωρίδας της δεύτερης δειγματοληψίας	46
Γράφημα 6 - Αριθμός αποικιών ολικής μικροβιακής χλωρίδας της τρίτης δειγματοληψίας	47
Γράφημα 7 - Αριθμός αποικιών ολικής μικροβιακής χλωρίδας της τέταρτης δειγματοληψίας	47
Γράφημα 8 – Ποσοστό αποικιών ολικής μικροβιακής χλωρίδας στους 37°C της πρώτης δειγματοληψίας	48

Γράφημα 9 - Ποσοστό αποικιών ολικής μικροβιακής χλωρίδας στους 22°C της πρώτης δειγματοληψίας	49
Γράφημα 10 - Ποσοστό αποικιών ολικής μικροβιακής χλωρίδας στους 37°C της δεύτερης δειγματοληψίας.....	49
Γράφημα 11 - Ποσοστό αποικιών ολικής μικροβιακής χλωρίδας στους 22° της δεύτερης δειγματοληψίας.....	50
Γράφημα 12 - Ποσοστό αποικιών ολικής μικροβιακής χλωρίδας στους 37°C της τρίτης δειγματοληψίας	50
Γράφημα 13 -Ποσοστό αποικιών ολικής μικροβιακής χλωρίδας στους 22°C της τρίτης δειγματοληψίας	51
Γράφημα 14 - Ποσοστό αποικιών ολικής μικροβιακής χλωρίδας στους 37°C της τέταρτης δειγματοληψίας	51
Γράφημα 15 - Ποσοστό αποικιών ολικής μικροβιακής χλωρίδας στους 22°C της τέταρτης δειγματοληψίας	52
Γράφημα 16 – Ολική μικροβιακή χλωρίδα στους 37°C που μετρήθηκε στις τέσσερις δειγματοληψίες	52
Γράφημα 17 - Ολική μικροβιακή χλωρίδα στους 37°C που μετρήθηκε στις τέσσερις δειγματοληψίες	53
Γράφημα 18 - Ολική μικροβιακή χλωρίδα στους 22°C που μετρήθηκε στις τέσσερις δειγματοληψίες	53
Γράφημα 19 - Ολική μικροβιακή χλωρίδα στους 37°C που μετρήθηκε στις τέσσερις δειγματοληψίες	54
Γράφημα 20 - Συχνότητας εμφάνισης των ταυτοποιημένων βακτηρίων	57
Γράφημα 21 – Είδη ψευδομονάδας και συχνότητα εμφάνισης στα δείγματα	59
Γράφημα 22 - Είδη ψευδομονάδας και συχνότητα εμφάνισής τους στα δείγματα.....	60
Γράφημα 23 – Συχνότητα εμφάνισης <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	60
Γράφημα 24 - Συχνότητα εμφάνισης <i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	61
Γράφημα 25 - Συχνότητα εμφάνισης <i>Pseudomonas fluorescens</i>	61
Γράφημα 26 - Ολική μικροβιακή χλωρίδα στους 22°C της τρίτης δειγματοληψίας....	66
Γράφημα 27 - Ολική μικροβιακή χλωρίδα στους 37 °C της τρίτης δειγματοληψίας....	66
Γράφημα 28 - Ολική μικροβιακή χλωρίδα στους 22 °C της τέταρτης δειγματοληψίας	67
Γράφημα 29 - Ολική μικροβιακή χλωρίδα στους 37 °C της τέταρτης δειγματοληψίας	67
Γράφημα 30 - Διερεύνηση επιβίωσης του <i>Escherichia coli</i> στα δείγματα.....	70
Γράφημα 31 - Διερεύνηση επιβίωσης του <i>Escherichia coli</i> στα δείγματα.....	70
Γράφημα 32 - Διερεύνηση επιβίωσης του <i>Escherichia coli</i> στα δείγματα.....	71
Γράφημα 33 - Ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση	72

Περιεχόμενα πινάκων

Πίνακας 1 - ΟΡΙΑ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ.....	22
Πίνακας 2 – ΕΙΔΟΣ ΕΜΦΙΑΛΩΜΕΝΟΥ ΝΕΡΟΥ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ	31
Πίνακας 3 – ΠΡΩΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ, ΜΑΡΤΙΟΣ	41
Πίνακας 4 – ΔΕΥΤΕΡΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ, ΑΠΡΙΛΙΟΣ	41
Πίνακας 5 – ΤΡΙΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ, ΜΑΪΟΣ.....	42
Πίνακας 6 – ΤΕΤΑΡΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ, ΙΟΥΝΙΟΣ	42
Πίνακας 7 – ΠΡΩΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ, ΜΑΡΤΙΟΣ	44
Πίνακας 8 – ΔΕΥΤΕΡΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ, ΑΠΡΙΛΙΟΣ	44
Πίνακας 9 – ΤΡΙΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ, ΜΑΪΟΣ.....	45
Πίνακας 10 – ΤΕΤΑΡΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ, ΙΟΥΝΙΟΣ	45
Πίνακας 13 – ΒΙΟΧΗΜΙΚΗ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΜΕ ΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ API.....	56
Πίνακας 14 - ΕΙΔΗ ΨΕΥΔΟΜΟΝΑΔΑΣ ΣΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ	59
Πίνακας 15 – ΤΡΙΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ	63
Πίνακας 16 – ΤΕΤΑΡΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ	63
Πίνακας 17 - ΤΡΙΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ ΟΛΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ 22 °C	64
Πίνακας 18 – ΤΡΙΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ ΟΛΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ 37 °C.....	64
Πίνακας 19 – ΤΕΤΑΡΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ ΟΛΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ 22 °C.65	65
Πίνακας 20 – ΤΕΤΑΡΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ ΟΛΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ 37 °C 65	65
Πίνακας 21 - ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ ESCHERICHIA COLI ΣΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ.....	69
Πίνακας 22 - ΕΛΑΧΙΣΤΗ ΑΝΑΣΤΑΛΤΙΚΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ (MIC).....	72
Πίνακας 23 -ΑΡΙΘΜΟΣ ΘΕΤΙΚΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΑΝΑ ΕΤΑΙΡΙΑ	77
Πίνακας 24 - ΑΡΙΘΜΟΣ ΘΕΤΙΚΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΣΥΝΟΛΙΚΑ	77
Πίνακας 25 - ΟΛΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ ΚΑΙ ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΠΟΙΚΙΩΝ	79

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Νερό

Το νερό αποτελεί το 70% του ανθρώπινου σώματος και είναι απαραίτητο συστατικό για τη λειτουργία των κυττάρων, συμμετέχοντας σε όλες τις βιοχημικές διεργασίες. Το νερό είναι απαραίτητο για τη ζωή των ανθρώπων διότι αποτελεί το βασικότερο είδος διατροφής. Το μεγαλύτερο τμήμα της επιφάνειας της γης καλύπτεται από νερό, το οποίο όμως στο μεγαλύτερο ποσοστό του είναι πλούσιο σε διαλυμένα άλατα, με αποτέλεσμα να μην είναι κατάλληλο για την κάλυψη των ανθρώπινων αναγκών. Μόνο ένα πολύ μικρό ποσοστό του επιφανειακού και του υπόγειου νερού είναι κατάλληλο για την κατανάλωσή του από τον άνθρωπο.



Εικόνα 1

Η ανανέωση του νερού, το οποίο είναι κατάλληλο για χρήση, στα πλαίσια μιας τοπικής κοινωνίας ή σε μία συγκεκριμένη περιοχή, εξαρτάται από τις κλιματολογικές συνθήκες που επικρατούν κατά τη διάρκεια του χρόνου, από τη φυσική προσφορά και ζήτησή του από τους καταναλωτές καθώς επίσης και από τις παρεμβάσεις του ανθρώπου ιδιαίτερα στα ποιοτικά χαρακτηριστικά. Οι επιβλαβείς αλλοιώσεις στην ποιότητα του νερού έχουν ως συνέπεια συχνά την απαγόρευση της χρήσης του ή τουλάχιστον τον περιορισμό των δυνατοτήτων χρησιμοποίησής του.

Ο ποιοτικός έλεγχος του νερού και η επιλογή της μεθόδου επεξεργασίας για τη χρήση του νερού ως πόσιμο ή για την επίτευξη των ποιοτικών απαιτήσεων για συγκεκριμένες βιομηχανικές εφαρμογές, αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για την ασφαλή κατανάλωσή του από τον άνθρωπο [Μήτρακας,2001].

1.1.1. Εμφιαλωμένα νερά

Υπάρχουν τρεις κατηγορίες εμφιαλωμένου νερού, αναγνωρισμένες από την Ευρωπαϊκή Ένωση: το φυσικό μεταλλικό νερό, το επιτραπέζιο και το νερό πηγής. Κάθε εμφιαλωμένο νερό υποχρεούται να φέρει, στη συσκευασία του, ένδειξη της κατηγορίας στην οποία ανήκει. Για να αντιληφθούμε καλύτερα τη διάκριση ανάμεσα στις τρεις κατηγορίες, πρέπει πρώτα να δούμε πιο νερό χαρακτηρίζεται ως πόσιμο. Με βάση τις διάφορες κοινοτικές οδηγίες για το νερό, πόσιμο είναι εκείνο που προορίζεται για κατανάλωση από τον άνθρωπο, είναι άχρωμο, άοσμο, αβλαβές, με ευχάριστη γεύση και τα ποιοτικά του χαρακτηριστικά κυμαίνονται στα διεθνώς ορισμένα αποδεκτά όρια.



Εικόνα 2- Εμφιαλωμένα νερά

Το φυσικό μεταλλικό νερό είναι αποκλειστικά υπόγειας προέλευσης και εμφιαλώνεται επί τόπου στην πηγή του, η οποία πρέπει να είναι αναγνωρισμένη και προστατευόμενη. Απαγορεύεται, βάσει νομοθεσίας, οποιαδήποτε διαδικασία απολύμανσης ή χημικής κατεργασίας του - πέρα από την επεξεργασία για τον διαχωρισμό των ασταθών στοιχείων και κάποιων ιχνοστοιχείων του. Είναι νομική υποχρέωση να έχει σταθερή σύσταση, η οποία μπορεί να διαφέρει από αυτή του γενικά πόσιμου νερού καθώς για κάποιες παραμέτρους δεν ορίζονται ανώτατα επιτρεπόμενα όρια ή ορίζονται διαφορετικά. Είναι, συνήθως, πιο πλούσιο σε μέταλλα. Είναι προστατευμένο από κάθε κίνδυνο μικροβιολογικής μόλυνσης λόγω της υπόγειας προέλευσής του και της απαγόρευσης ρυπογόνων δραστηριοτήτων στην περιοχή της πηγής. Εκτός του ότι αποτελεί μέσο ενυδάτωσης, μπορεί να

δηλώνει και άλλα οφέλη για την υγεία βασισμένα σε επιστημονικές μελέτες, όπως μαγνησιούχο, ασβεστούχο, κατάλληλο για δίαιτα χαμηλή σε νάτριο κλπ.

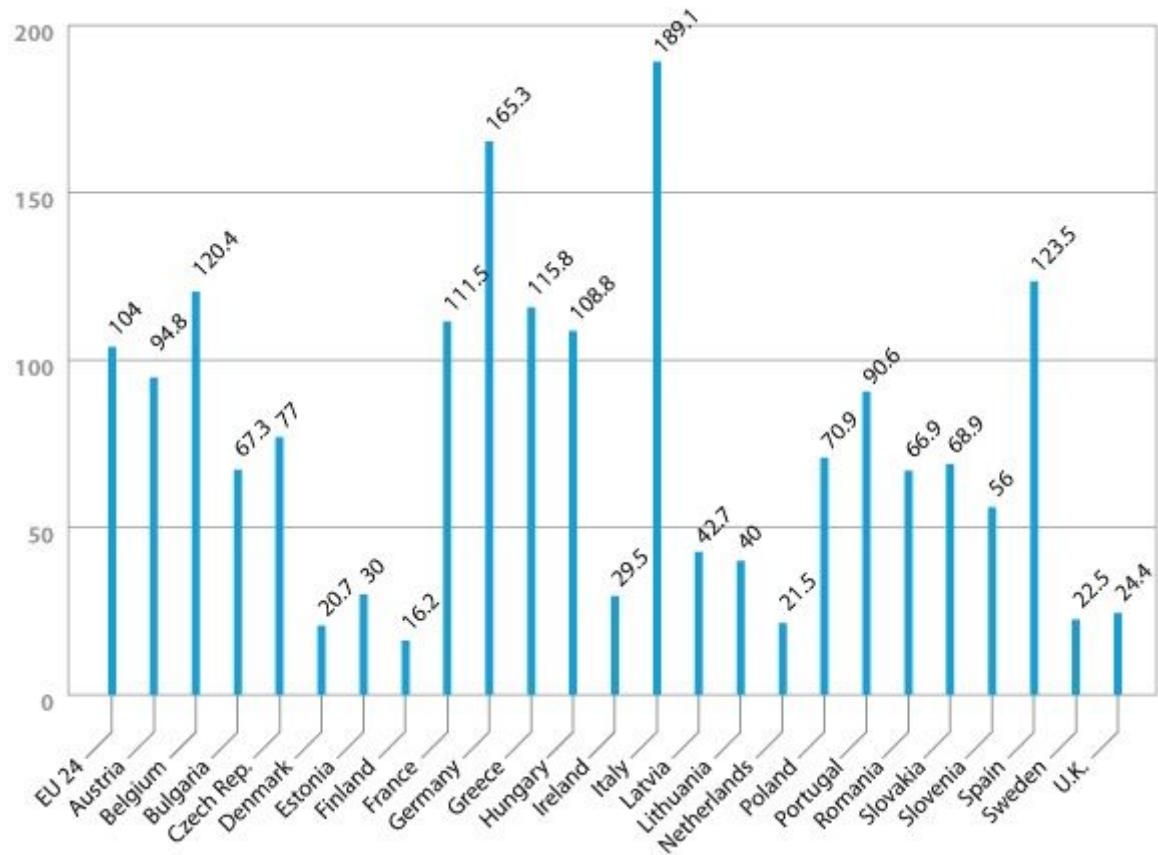
Το επιτραπέζιο νερό επιτρέπεται, σύμφωνα με το νόμο, να είναι οποιασδήποτε προέλευσης (π.χ. από λίμνη, από γεώτρηση ή και αφαλατωμένο νερό θάλασσας) και να περάσει από οποιαδήποτε διαδικασία απολύμανσης ή κατεργασίας κριθεί απαραίτητη για την ασφάλεια του καταναλωτή. Οι φυσικοχημικές του παράμετροι είναι σύμφωνες με εκείνες του κοινού πόσιμου νερού και πρέπει να κυμαίνονται μεταξύ ορισμένων αποδεκτών ορίων. Ουσιαστικά, έχει τα ίδια ποιοτικά χαρακτηριστικά με το τρεχούμενο πόσιμο νερό της βρύσης με τη διαφορά ότι είναι εμφιαλωμένο.

Το νερό πηγής έχει απαραίτητα υπόγεια προέλευση, εμφιαλώνεται στην πηγή του και δεν υπόκειται σε καμία διαδικασία απολύμανσης, όπως και το φυσικό μεταλλικό νερό. Η σύσταση του, όμως, είναι σύμφωνη με την ισχύουσα νομοθεσία για το νερό ανθρώπινης κατανάλωσης και δεν ακολουθεί αυτή του φυσικού μεταλλικού νερού, καθώς δεν είναι πλούσιο σε κάποιο μεταλλικό στοιχείο.

Στο εμπόριο, συναντάμε και εμφιαλωμένα ανθρακούχα νερά. Αυτά, δεν αποτελούν ξεχωριστή κατηγορία αλλά κατατάσσονται σε μία από τις τρεις αναγνωρισμένες [<http://news.pathfinder.gr/health/features/894437.html>].

1.1.2. Κατανάλωση εμφιαλωμένου νερού

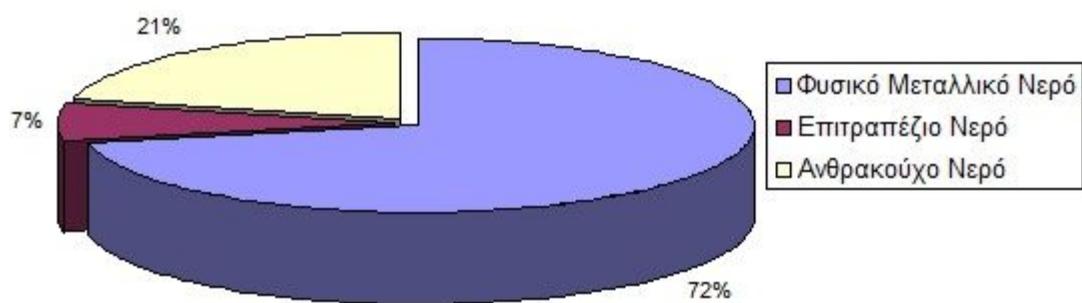
Εκτιμάται ότι περίπου πέντε με έξι χιλιάδες εταιρείες εμφιάλωσης δραστηριοποιούνται σε όλες τις ηπείρους. Η μέση ετήσια παγκόσμια κατανάλωση εμφιαλωμένου νερού είναι περίπου 29 λίτρα ανά κάτοικο, ενώ η μέση κατανάλωση των κατοίκων της Ευρωπαϊκής Ένωσης εκτιμάται στα 104,2 λίτρα, ενώ των Ηνωμένων Πολιτειών Αμερικής σε 110,9 λίτρα ανά κάτοικο.



Γράφημα 1- Μέση ετήσια κατανάλωση εμφιαλωμένου νερού παγκοσμίως
[<http://news.pathfinder.gr/health/features/894437.html>]

Στην Ελλάδα ο ρυθμός της ετήσιας αύξησης ξεπερνά το 12%, ενώ η σύγκριση με τη μέση ετήσια κατανάλωση στις υπόλοιπες χώρες της Ε.Ε. δείχνει ότι υπάρχουν περιθώρια περαιτέρω ανάπτυξης.

Στα εμφιαλωμένα νερά, κυρίαρχη θέση έχουν τα φυσικά μεταλλικά νερά σύμφωνα με τα στοιχεία της Εθνικής Στατιστικής Υπηρεσίας της Ελλάδος για το 2010 [<http://news.pathfinder.gr/health/features/894437.html>].



Γράφημα 2- Ποσοστό κατανάλωσης εμφιαλωμένων νερών ανά είδος
[<http://news.pathfinder.gr/health/features/894437.html>]

1.1.3. Μόλυνση εμφιαλωμένων νερών

Ένα μεγάλο μέρος των ασθενειών μεταδίδονται με μόλυνση του νερού και των τροφίμων. Η εντερική κοιλότητα είναι ο φυσικός βιότοπος πολλών ειδών βακτηρίων. Τα περισσότερα βακτήρια δεν προκαλούν καμία ασθένεια, όμως ορισμένα είναι σοβαρά παθογόνα του ανθρώπου. Οι μολυσματικές εντερικές ασθένειες προκαλούνται από την κατανάλωση τροφίμων που μολύνθηκαν με τα απορρίμματα μολυσμένων ανθρώπων. Πριν εφαρμοστούν σύγχρονες μέθοδοι υγιεινής, η μόλυνση των υδάτων από δίκτυα αποχέτευσης ήταν η πιο συχνή αιτία λοιμώξεων [Σ. Κολιάης, 1992]. Το εμφιαλωμένο νερό είναι δυνατόν να μολύνθει με παθογόνους μικροοργανισμούς. Η παρουσία παθογόνων μικροοργανισμών κυρίως οφείλεται στα υλικά συσκευασίας (ελλιπής πλύση γυάλινων φιαλών), στον εξοπλισμό (μη υγιεινού τύπου σχεδιασμός, με πολλά νεκρά σημεία και δυσκολία στον καθαρισμό και την απολύμανση), στο προσωπικό (ελλιπής εκπαίδευση και ενημέρωση σε θέματα υγιεινής και ασφάλειας των τροφίμων) και στον περιβάλλοντα χώρο. Η παρουσία παθογόνων μικροοργανισμών είναι δυνατόν να οφείλεται επίσης σε μολυσμένη πηγή υδροληψίας ή σε μολυσμένο υδροφόρο ορίζοντα. Η παρουσία ξένων σωμάτων όπως θραύσματα γυαλιού, πλαστικών, μετάλλων, σκόνης και ακαθαρσιών είναι δυνατή και θα πρέπει να αποφεύγεται με την αυστηρή εφαρμογή κανόνων υγιεινής [www.energywater.gr].

1.1.4. Βακτήρια

Είναι μικροί και απλοί μονοκύτταροι οργανισμοί (δεν έχουν πυρήνα ούτε άλλα οργανίδια πλην ριβοσωμάτων). Το μέγεθος των βακτηρίων είθισται να είναι διαμέτρου από 0,5 – 5 μμ, αλλά υπάρχουν και βακτήρια εκτός αυτού του ορίου. Το κύτταρο περιβάλλεται από κυτταρικό τοίχωμα, στο οποίο υπάρχουν συχνά όργανα προσκόλλησης, τα ινίδια και όργανα κίνησης, τα μαστίγια. Η αναπαραγωγή τους γίνεται με διχοτόμηση και υπό ευνοϊκές συνθήκες διαβίωσης μπορεί να γίνεται κάθε είκοσι λεπτά [Βενιέρη, 2009]. Τα περισσότερα βακτήρια είναι ευαίσθητα σε αλλαγές του pH και προτιμούν λίγο ή πολύ ουδέτερες συνθήκες, αν και ορισμένα είδη μπορούν να υπάρξουν και σε εξαιρετικά όξινο περιβάλλον. Είναι ακόμα αρκετά ευαίσθητα στις μορφές του χλωρίου. Επίσης είναι αρκετά ευαίσθητα στη θερμοκρασία και έχουν μία βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης. Τα βακτήρια είναι υπεύθυνα για τις ασθένειες που μεταδίδονται με το νερό. [Μήτρακας, 2001]. Ασθένειες που μεταδίδονται από το νερό σχετίζονται με τα παθογόνα βακτήρια: *Vibrio cholerae*, *Salmonella spp.*, *Salmonella typhi*, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157:H7, *Helicobacter pylori*, *Legionella pneumophila*, *Shigella spp.*, *Leptospira spp* [Mara et al.2003].

1.1.5. Μικροβιολογική ποιότητα νερού

Η διατήρηση της μικροβιολογικής ποιότητας του νερού είναι μείζονος σημασίας γνωρίζοντας τους κινδύνους που εγκυμονεί η μόλυνσή τους. Για τη διασφάλιση της ανθρώπινης υγείας, τα νερά πρέπει να πληροί ορισμένες προδιαγραφές σχετικά με την μικροβιολογική ποιότητά τους, η οποία αξιολογείται βάσει της ύπαρξης κοπρανώδους μόλυνσης. Η κοπρανώδης μόλυνση διαπιστώνεται με τον έλεγχο παρουσίας συγκεκριμένων μικροοργανισμών. Η παρουσία τους μαρτυρά την ύπαρξη κοπρανώδους υλικού ποικίλης προέλευσης, το οποίο μπορεί να περιέχει παθογόνους μικροοργανισμούς και κατ' επέκταση αποτελέσει κίνδυνο για τη δημόσια υγεία. [Βενιέρη, 2009] Η απομόνωση και ο προσδιορισμός των παθογόνων μικροοργανισμών που βρίσκονται στο νερό αποτελούν τον κύριο σκοπό των διαφόρων μικροβιολογικών αναλύσεων. Επειδή όμως η αναγνώριση του κάθε μικροοργανισμού παρουσιάζει τεχνικές δυσκολίες και επειδή ο αριθμός των παθογόνων οργανισμών είναι σε σχέση με άλλους μικροοργανισμούς πολύ μικρός, για τον προσδιορισμό της πιθανότητας που έχει το νερό να μεταδώσει ασθένειες χρησιμοποιούνται οργανισμοί που ονομάζονται δείκτες. Οι δείκτες οργανισμοί είναι μικροοργανισμοί, η ύπαρξη των οποίων στο νερό επιβεβαιώνει τη μόλυνση του νερού [Μήτρακας, 2001].

Για τον έλεγχο της μικροβιολογικής ποιότητας των νερών χρησιμοποιούνται οι παρακάτω βακτηριακοί δείκτες:

1. Ολικά κολοβακτηριοειδή
2. Κοπρανώδη κολοβακτηριοειδή
3. Κοπρανώδεις στρεπτόκοκκοι - εντερόκοκκοι

Ολικά κολοβακτηριοειδή –Total coliforms

Τα ολικά κολοβακτηριοειδή περιλαμβάνουν όλα τα αερόβια και προαιρετικώς αναερόβια gram αρνητικά μη σπορογόνα βακτηρίδια τα οποία ζυμώνουν τη λακτόζη και παράγουν αέριο όταν επωασθούν στους 37 ° C για 48 ώρες. Ανήκουν στην οικογένεια των εντεροβακτηρίων που περιλαμβάνει τα είδη *Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Klebsiella* και *Enterobacter*. Ο όρος ολικά κολοβακτηριοειδή δεν συναντάται στην ιατρική μικροβιολογία αλλά είναι όρος της μικροβιολογίας περιβάλλοντος και καθιερώθηκε εξαιτίας των κοινών χαρακτηριστικών τους. Επειδή μερικά στελέχη της ομάδας αυτής δεν βρίσκονται μόνο στην εντερική χλωρίδα, αλλά μπορούν να βρεθούν και στο περιβάλλον (έδαφος κλπ.) η παρουσία τους δε σημαίνει αποκλειστικά την κοπρανώδη προέλευση, αλλά δείχνει ύπαρξη βακτηρίων που δεν ανήκουν στη φυσική χλωρίδα του νερού, δηλαδή τα βακτήρια αυτά έχουν εξωγενή προέλευση.

Τα ολικά κολοβακτηριοειδή απομονώνονται εύκολα και εξαιτίας του μεγαλύτερου χρόνου επιβίωσής τους από τους οργανισμούς που είναι υπεύθυνοι για τη μετάδοση διάφορων ασθενειών, αποτελούν έναν πολύ χρήσιμο δείκτη για την πιθανή παρουσία εντερικών παθογόνων βακτηρίων και ίών στο νερό.

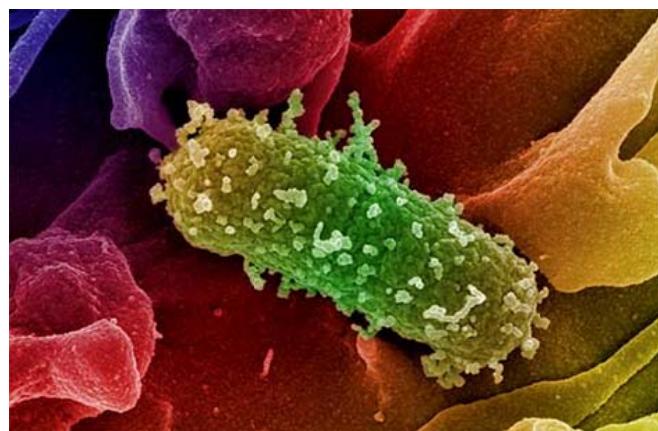
Συμπερασματικά ένα νερό που είναι απαλλαγμένο από ολικά κολοβακτηριοειδή είναι αυτόματα απαλλαγμένο από βακτήρια που μεταδίδουν επιδημίες όπως τυφώδης πυρετός, δυσεντερία και χολέρα [Μήτρακας, 2001].

Κοπρανώδη κολοβακτηριοειδή – Fecal coliforms

Τα κοπρανώδη κολοβακτηριοειδή ουσιαστικά αποτελούν υποομάδα των ολικών κολοβακτηριοειδών και βρίσκονται κυρίως στον γαστρεντερικό σωλήνα των θερμόαιμων ζώων. Η διαφορά τους από τα ολικά κολοβακτηριοειδή είναι ότι έχουν την ικανότητα να αναπτύσσονται σε υψηλές θερμοκρασίες. Το συχνότερο μέλος αυτής της ομάδας είναι το *Escherichia coli* [Βενιέρη, 2009].

Escherichia coli

Είναι gram αρνητικός μικροοργανισμός και αποτελεί μέλος της ομάδας των κολοβακτηριοειδών. Πρόκειται για το κυρίαρχο δυνητικά αναερόβιο βακτήριο της ανθρώπινης εντερικής χλωρίδας. Ο ανθρωπινός εντερικός σωλήνας αποτελεί το φυσικό περιβάλλον του μικροοργανισμού όπου αναπτύσσεται ήδη από την εμβρυική ηλικία του ατόμου, αναπτύσσοντας μια σχέση αμοιβαίας αλληλεξάρτησης. Η *Escherichia coli* διαβιώνοντας στις εντερικές λάχνες συνήθως δεν αποτελεί κίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία, με εξαίρεση περιπτώσεις όπως εξασθενισμένα άτομα ή πολύ μεγάλο πληθυσμό του βακτηρίου. Όμως τα παθογόνα στελέχη του βακτηρίου μπορούν να προκαλέσουν μεγάλη ποικιλία εντερικών και εξωεντερικών λοιμώξεων [Βενιέρη, 2009]. Το *Escherichia coli* O157:H7 είναι ένα εντεροπαθογόνο στέλεχος του *Escherichia coli*. Μία κοινή πολύ σοβαρή επιπλοκή από λοίμωξη του παθογόνου αυτού είναι το αιμολυτικό ουραιμικό σύνδρομο όπου υπάρχει απώλεια ερυθρών αιμοσφαιρίων και νεφρική ανεπάρκεια. Το *Escherichia coli* O157:H7 έχει δείξει να επιβιώνει παρόμοια με τα τυπικά στελέχη *Escherichia coli* σε συνήθεις συνθήκες πόσιμου νερού. Υπάρχουν πολυάριθμα καταγεγραμμένα κρούσματα από ασθένειες που μεταδίδονται μέσω του νερού που έχουν προκληθεί από το *Escherichia coli* O157:H7 [Mara et al. 2003]. Η *Escherichia coli* ανευρίσκεται στον εντερικό σωλήνα πολλών θερμόαιμων ζώων (βοοειδή, αιγοπρόβατα, χοίροι, σκύλοι κλπ.). Η παρουσία της στο νερό ή στα τρόφιμα δείχνει την άμεση ή έμμεση κοπρανώδη μόλυνση από λύματα και την πιθανή παρουσία άλλων παθογόνων [Βενιέρη, 2009].



Εικόνα 2 – *Escherichia coli*

Κοπρανώδεις στρεπτόκοκκοι- Εντερόκοκκοι

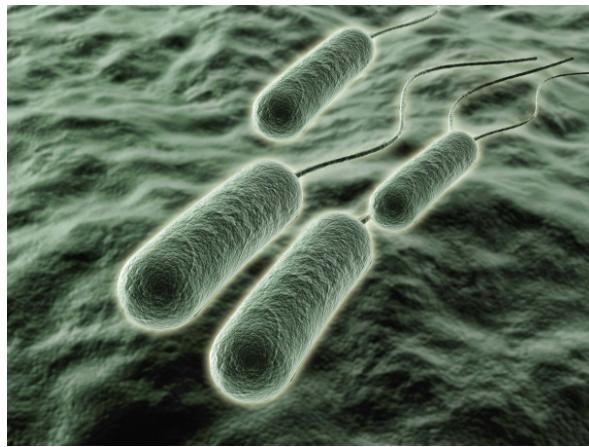
Οι εντερόκοκκοι αποτελούν σημαντικό βακτηριακό δείκτη για τον έλεγχο της κοπρανώδους μόλυνσης των επιφανειακών νερών. Η παρουσία των κοπρανωδών εντερόκοκκων στο νερό μαρτυρά τη ρύπανσή του από κόπρανα θερμόδαιμων ζώων. Ορισμένοι όμως, όπως ο *S. faecalis* και *S. faecium* προέρχονται κυρίως από τα ανθρώπινα κόπρανα ενώ ο *S. bovis*, ο *S. equinus* και *S. avium* συναντώνται σε μεγάλες ποσότητες στα κόπρανα των ζώων.

Ο λόγος της συγκέντρωσης των κοπρανωδών κολοβακτηριδίων (FC) ως προς τη συγκέντρωση των κοπρανωδών στρεπτόκοκκων (FS) φανερώνει την πιθανή πηγή μόλυνσης. Λόγος μεγαλύτερος της τιμής 4,1 φανερώνει μόλυνση που προέρχεται από αστικά λύματα, ενώ λόγος μικρότερος του 0,7 φανερώνει μόλυνση μη ανθρώπινης προέλευσης. [Μήτρακας, 2001]

Για τον πληρέστερο έλεγχο της ποιότητας του πόσιμου και του εμφιαλωμένου νερού χρησιμοποιείται επίσης το βακτήριο *Pseudomonas aeruginosa*.

Pseudomonas aeruginosa

Η *Pseudomonas aeruginosa* συναντάται στο έδαφος, στο νερό, στα απόβλητα, στα φυτά, στο έντερο των θηλαστικών. Προκαλεί δερματίτιδα, λοιμώξεις των αυτιών και των ματιών στα άτομα που κολυμπούν σε νερά που έχουν μολυνθεί. Επίσης, στα άτομα που βυθίζουν το κεφάλι τους στο νερό συναντάται συχνότερα η ωτίτιδα και η επιπεφυκίτιδα από *Pseudomonas aeruginosa*. Οι πιθανότητες μόλυνσης από *Pseudomonas aeruginosa* είναι μεγαλύτερες όταν έχουμε μεγάλο αριθμό κολυμβητών και υψηλή θερμοκρασία του νερού. [Βενιέρη, 2009]



Εικόνα 3 – *Pseudomonas aeruginosa*

Ολική μικροβιακή χλωρίδα

Ολική μικροβιακή χλωρίδα είναι τα ετερότροφα βακτήρια που βρίσκονται στο νερό. Ετερότροφοι, γενικά, είναι οι μικροοργανισμοί που απαιτούν οργανικό άνθρακα για την ανάπτυξή τους. Τα ετερότροφα βακτήρια που βρίσκονται στο νερό είναι μία μεγάλη ποικιλία από μεσόφιλα αερόβια και προαιρετικά αναερόβια βακτήρια. Αναπτύσσονται στους 37 °C και στους 22 °C (ανάλογα το είδος). Η μέτρηση στους 37 °C περιλαμβάνει βακτήρια του εδάφους, καθώς επίσης και βακτήρια λυμάτων. Η μέτρηση στους 22 °C περιλαμβάνει τα ίδια βακτήρια με τα παραπάνω, καθώς επίσης και εκείνα που δεν μπορούν να αναπτυχθούν σε υψηλότερη θερμοκρασία και επιπλέον πολυάριθμα σαπτροφυτικά (δηλαδή λαμβάνουν την τροφή τους από νεκρή οργανική ύλη) βακτήρια που απαντώνται στο νερό. Ο προσδιορισμός τους δεν είναι τόσο μεγάλης σημασίας, όπως είναι των άλλων μικροοργανισμών - δεικτών μόλυνσης του νερού. Είναι όμως απαραίτητος για την εκτίμηση της γενικής μικροβιολογικής ποιότητας του νερού. Περισσότερο σημαντική από άποψη δημόσιας υγείας είναι η μέτρηση στους 37 °C, καθώς η θερμοκρασία αυτή αντιπροσωπεύει τη μέση θερμοκρασία του ανθρώπινου οργανισμού [Μήτρακας, 2001]. Η ολική μικροβιακή χλωρίδα μπορεί να ποικίλει ανάμεσα σε τοποθεσίες, σε εποχές αλλά και σε δείγματα μίας συγκεκριμένης τοποθεσίας. Γενικά περιλαμβάνει μικροοργανισμούς που είναι μέρος της φυσικής μικροβιακής χλωρίδας του νερού, αλλά σε μερικές περιπτώσεις περιλαμβάνει μικροοργανισμούς που προέρχονται από ποικίλες πηγές ρύπων (Bartram et al. 2003).

1.1.6. Νομοθετικά όρια εμφιαλωμένων νερών

Για τη διασφάλιση της ποιότητας του εμφιαλωμένου νερού υφίσταται σχετική νομοθεσία. Τα όρια που θέτει η νομοθεσία αφορά παραμέτρους που σχετίζονται με τη ρύπανση και τη μόλυνσή του νερού όπως χημικές παραμέτρους, μικροβιολογικές παραμέτρους, ενδεικτικές παραμέτρους. Η νομοθεσία που αφορά την ποιότητα νερού ανθρώπινης κατανάλωσης παρατίθεται εκτενώς στο παράρτημα στο τέλος της παρούσας εργασίας (σελ.81). Σύμφωνα με την οδηγία 98/83/EK του Συμβουλίου της

Ευρωπαϊκής Ένωσης όσον αφορά τη μικροβιολογική ποιότητα του εμφιαλωμένου νερού τίθενται τα εξής όρια :

Πίνακας 1 - ΟΡΙΑ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΠΑΡΑΜΕΤΡΙΚΗ ΤΙΜΗ
<i>Escherichia coli</i>	0/250 mL
Εντερόκοκκοι	0/250 mL
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0/250 mL
Αριθμός αποικιών σε 22°C	100/mL
Αριθμός αποικιών σε 37 °C	20/mL

1.2. Αντιβιοτικά και ανθεκτικότητα βακτηρίων

Τα αντιβιοτικά, γνωστά και ως αντιμικροβιακά φάρμακα, είναι τα φάρμακα τα οποία καταπολεμούν λοιμώξεις που προκαλούνται από τα βακτήρια. Το πρώτο αντιβιοτικό, η πενικιλίνη, ανακαλύφθηκε από τον Alexander Fleming το 1927. Μετά την πρώτη χρήση των αντιβιοτικών τη δεκαετία του 1940, μειώθηκαν δραματικά οι ασθένειες και οι θάνατοι από λοιμώδους νόσους. Αν και τα αντιβιοτικά μπορεί να έχουν ωφέλιμα αποτελέσματα, η χρήση τους συνεισφέρει στο πρόβλημα της ανθεκτικότητας των βακτηρίων σ' αυτάν [http://www.hospkorinthos.gr/docs/Antibiotic.pdf].

1.2.1. Αντιβιοτικά

Ως αντιβιοτικά ορίζονται οι ουσίες που παράγονται από ζωντανούς οργανισμούς, οι οποίες σε χαμηλές συγκεντρώσεις είναι ικανές να αναστείλουν την ανάπτυξη άλλων οργανισμών. Με την πάροδο των χρόνων όλο και περισσότερα αντιβιοτικά που έχουν ανακαλυφθεί, εμπίπτουν στη γενική κατηγορία των δευτερογενών μεταβολιτών. Ο απλότερος τρόπος για την κατανόηση των ουσιών αυτών, είναι να παρατηρηθεί ο σχηματισμός τους. Ανάμεσα σε βακτήρια οι ουσίες αυτές παράγονται σε μεγάλο βαθμό από συγκεκριμένες ομάδες οι οποίες σχηματίζουν σπόρια (βάκιλοι και ακτινομύκητες). Από τη στιγμή που ένας πληθυσμός σταματήσει να αναπτύσσεται μπαίνει στη στατική φάση, την οποία ακολουθεί ο θάνατος ή εναλλακτικά ο σχηματισμός σπορίων. Συνήθως σε αυτό το στάδιο – μετά που τα κύτταρα έχουν σταματήσει να διαιρούνται- οι δευτερογενείς μεταβολίτες αρχίζουν να παράγονται. Οι δευτερογενείς μεταβόλιτες είναι μία ποικίλη ομάδα από ενώσεις σχετικά χαμηλού μοριακού βάρους. Οι ενώσεις αυτές μπορούν επίσης να παραχθούν με συνθετική τροποποίηση των φυσικών προϊόντων. Ο δευτερογενής μεταβολισμός εμφανίζεται επίσης σε βακτήρια, σε ανώτερα φυτά και σε κάποιο βαθμό σε ζώα [Zähner et al. 1972].

1.2.2. Ανθεκτικότητα βακτηρίων στα αντιβιοτικά

Όλα τα είδη βακτηρίων δεν είναι το ίδιο ευαίσθητα σε ένα δεδομένο αντιβιοτικό. Το εύρος των μικροοργανισμών που αναστέλλεται από ένα αντιβιοτικό λέγεται αντιβακτηριακό φάσμα του αντιβιοτικού αυτού. Μερικά αντιβιοτικά αναστέλλουν την ανάπτυξη μίας ευρείας ποικιλίας μικροοργανισμών, ενώ άλλα έχουν πιο περιορισμένο αντιβακτηριακό φάσμα. Σε ένα πληθυσμό ο οποίος είναι ευαίσθητος σε ένα δεδομένο αντιβιοτικό, οι ανθεκτικές μορφές μπορούν να προκύψουν μέσω γενετικής αλλαγής, ή από μετάλλαξη ή από μετάδοση γονιδίου από άλλα κύτταρα. Ανάμεσα σε είδη βακτηρίων ενδέχεται να υπάρχουν μερικά στελέχη τα οποία είναι ευαίσθητα και άλλα στελέχη τα οποία είναι ανθεκτικά. Έχει βρεθεί ότι με εκτενή κλινική χρήση ενός αντιβιοτικού, το ποσοστό των ανθεκτικών στατελεχών μέσα σε μία ομάδα βακτηρίων μπορεί να αυξηθεί ραγδαία. Για παράδειγμα, από όταν εισήχθη η πενικιλίνη, το ποσοστό των ανθεκτικών σταφυλόκοκκων αυξήθηκε σε μεγάλο βαθμό. Εικάζεται ότι η εμφάνιση των ανθεκτικών μορφών σε μεγάλα ποσοστά, μπορεί να επιφέρει κλινικές συνέπειες και ενδέχεται να περιορίσει τη χρησιμότητα των αντιβιοτικών [Zähner, 1972].

1.2.3. Κατηγορίες αντιβιοτικών

I) β-Λακταμικά αντιβιοτικά: Τα περιέχοντα στο μόριό τους τον β-Λακταμικό δακτύλιο:

1. Πενικιλίνες
2. Κεφαλοσπορίνες και κεφέμες
3. Καρβαπενέμες
4. Μονοβακτάμες

II) Τετρακυκλίνες

III) Αμινογλυκοσίδες

IV) Μακρολίδες

V) Λινκοσαμίδες

VI) Κινολόνες

[Watts, 1999]

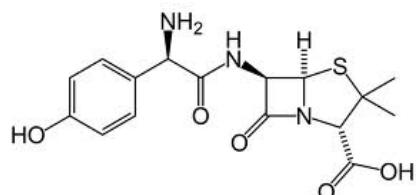
1.2.4. β-λακταμικά αντιβιοτικά

Ως β-λακταμικά χαρακτηρίζονται τα αντιμικροβιακά που διαθέτουν το δακτύλιο της β-λακτάμης. Θεωρούνται ως μία από τις παλαιότερες ομάδες και η πλέον ευρέως χρησιμοποιούμενη. Διαχωρίζονται σε πενικιλίνες, κεφαλοσπορίνες, καρβαπενέμες, μονομπακτάμες και συνδυασμούς β-λακταμικών με αναστολείς β-λακταμασών. Ο

μηχανισμός δράσης τους συνίσταται στην αναστολή της σύνθεσης του βακτηριακού τοιχώματος. Ο κυριότερος μηχανισμός αντοχής στα εντεροβακτηριακά είναι μέσω παραγωγής ενζύμων που υδρολύουν το αντιβιοτικό (β-λακταμάσες). Λιγότερο συχνός αλλά εξίσου σημαντικός μηχανισμός είναι αυτός που οφείλεται σε ελαπτωμένη κυτταρική διαπερατότητα. Οι β-λακταμάσες είναι ένζυμα που υδρολύουν τα β-λακταμικά αντιβιοτικά και τα γονίδια που κωδικοποιούν για την παραγωγή τους βρίσκονται στο χρωμόσωμα ή σε πλασμίδια. Τα ένζυμα αυτά αναπτύχθηκαν για να προστατεύσουν τα βακτήρια από τα φυσικά β-λακταμικά παράγωγα μυκήτων και άλλων βακτηρίων. Ο μηχανισμός δράσης των β-λακταμασών συνίσταται στην υδρόλυση του β-λακταμικού δακτυλίου, που επιτυγχάνεται με τη δράση εστέρα της σερίνης (ένζυμα ομάδας σερίνης) ή με τη δράση ιόντων ψευδαργύρου (ένζυμα ομάδας ψευδαργύρου). Το κάθε ένζυμο υδρολύει συνήθως μόνο ένα ή μία μικρή ομάδα αντιβιοτικών. [Βυρώνη, 2007]

1.2.5. Αμοξυκιλίνη

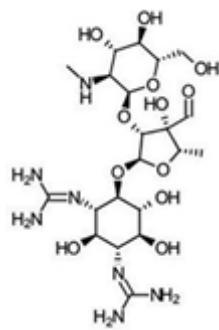
Η αμοξυκιλίνη ανήκει στην κατηγορία των πενικιλινών. Είναι ένα αντιβιοτικό το οποίο έχει ιδιαίτερη δραστικότητα εναντίον των κοινών αρνητικών κατά Gram βακτηρίων μεταξύ των οποίων: *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori* και ειδών *Salmonella*. Επειδή πολλά στελέχη έχουν γίνει ανθεκτικά λόγω της παραγωγής των β-λακταμασών, συχνά χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με καταστολείς των β-λακταμασών, όπως είναι το κλαβουλανικό οξύ [Clardy et al. 2009].



Εικόνα 4 - Αμοξυκιλίνη

1.2.6. Στρεπτομυκίνη

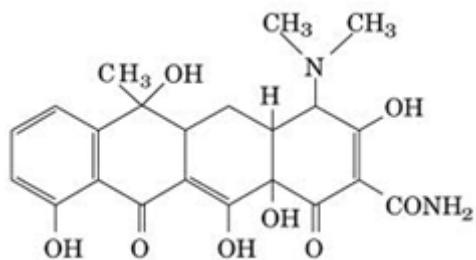
Η στρεπτομυκίνη ανήκει στην κατηγορία των αμινογλυκοσίδων. Είναι ένα αντιβιοτικό το οποίο αναστέλλει τη σύνθεση της πρωτεΐνης στα βακτήρια. Χρησιμοποιείται πρωτίστως για τη θεραπεία λοιμώξεων από αερόβια αρνητικά κατά Gram βακτήρια ή σε συνδυασμό με ενώσεις δραστικές κατά του κυτταρικού τοιχώματος, εναντίον μερικών ανθεκτικών θετικών κατά Gram βακτηρίων [Watts, 1999].



Εικόνα 5 - Στρεπτομυκίνη

1.2.7. Τετρακυκλίνη

Η τετρακυκλίνη ανήκει στην κατηγορία των τετρακυκλινών. Είναι ένα αντιβιοτικό το οποίο αναστέλλει τη σύνθεση της πρωτεΐνης. Το αντιμικροβιακό της φάσμα είναι ευρύ, συμπεριλαμβανομένων πολλών θετικών και αρνητικών κατά Gram βακτηρίων και αναερόβιων. Πολλά παθογόνα έχουν αναπτύξει ανθεκτικότητα στην τετρακυκλίνη [Clardy et al. 2009].



Εικόνα 6 - Τετρακυκλίνη

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΣΚΟΠΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία αφορά στη μικροβιολογική ανάλυση σε εμφιαλωμένα νερά καθώς και τον έλεγχο της επικινδυνότητας αυτών για τη δημόσια υγεία. Σκοπός της εργασίας αυτής είναι ο έλεγχος των εμφιαλωμένων νερών ως προς τη μικροβιακή τους σύσταση, η ανίχνευση τυχόν παθογόνων βακτηρίων, καθώς και η διερεύνηση της ασφαλούς κατανάλωσης αυτών από τον άνθρωπο. Συγκεκριμένα οι στόχοι της εργασίας είναι :

- Ο έλεγχος της μικροβιολογικής ποιότητας των εμφιαλωμένων νερών που προσφέρονται στην αγορά της Κρήτη.
- Η αξιολόγηση της ποιότητας των εμφιαλωμένων νερών σύμφωνα με την ελληνική και ευρωπαϊκή νομοθεσία.
- Η διεξαγωγή συμπερασμάτων ποιότητας των εμφιαλωμένων νερών όσον αφορά στις 12 υπό εξέταση εταιρίες.
- Η απομόνωση και ταυτοποίηση των ανιχνευμένων στα εμφιαλωμένα νερά βακτηρίων.
- Η εξέταση μεταβολής της μικροβιολογικής ποιότητας των εμφιαλωμένων νερών σε συνθήκες μη καλής συντήρησης (έκθεση στον ήλιο).
- Η διερέυνηση επιβίωσης των μικροβιακών δεικτών στα δείγματα
- Ο έλεγχος ανθεκτικότητας των ανιχνευμένων βακτηρίων σε αντιβιοτικά για την εκτίμηση της επικινδυνότητας για την ανθρώπινη υγεία.
- Η διεξαγωγή συμπερασμάτων για την ασφαλή κατανάλωση των εμφιαλωμένων νερών από τις συγκεκριμένες εταιρίες.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1. Υλικά

ΥΛΙΚΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ

- ❖ Φίλτρα μεμβράνης 0,45 μμ Whatman
- ❖ Φιάλες διήθησης Whatman
- ❖ Αποστειρωμένα τρυβλία Petri διαμέτρου 9 cm και 6 cm
- ❖ Multiple Well Plate 96-well Flat Bottom
- ❖ Βιοχημικό σύστημα ταυτοποίησης μικροοργανισμών API 20E & API 20NE Biomerieux
- ❖ Αιθανόλη 95%
- ❖ Χλωριούχο νάτριο Techno BioChem



Εικόνα 7 – Τρυβλία Πέτρι

ΘΡΕΠΤΙΚΑ ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΑ

- Plate Count Agar (Standard Methods Agar) HIMEDIA
- Nutrient Agar (ISO) LAB
- Slanetz and Bartley Medium HIMEDIA
- Pseudomonas Agar Base HIMEDIA
- Cetrinix Supplement FD029 HIMEDIA
- HiCrome E.coli Agar HIMEDIA
- Mueller Hinton Broth LAB
- M-Endo Agar LES HIMEDIA

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- API 20NE
- API 20STREP

ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΑ

- Αμοξικιλίνη Amoxicillin FLUKA BIOCHEMIKA
- Τετρακυκλίνη Tetracycline SIGMA
- Στρεπτομυκίνη Streptomycin Sulfate SIGMA

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΟΡΓΑΝΑ – ΣΥΣΚΕΥΕΣ

- Συσκευή διήθησης PALL Gelman Laboratory
- LT-4000 Microplate reader
- Θάλαμος επώασης Thermo Scientific Heraeus
- Κλίβανος υγρής αποστείρωσης TRADE Raypa
- Ζυγός Kern 440-21A
- Μετρητής αποικιών Stuart
- Φασματοφωτόμετρο SHIMADZU

3.2. Δειγματοληψίες

Για τη διεξαγωγή της μικροβιολογικής ανάλυσης των εμφιαλωμένων νερών στην Κρήτη πραγματοποιήθηκαν τέσσερις δειγματοληψίες κατά τους μήνες Μάρτιο, Απρίλιο, Μάιο και Ιούνιο του 2013 (μία δειγματοληψία κάθε μήνα). Τα δείγματα ελήφθησαν από την ευρύτερη περιοχή των Χανίων και κάθε δειγματοληψία περιελάμβανε συνολικά 12 εταιρίες εμφιαλωμένων νερών τα οποία προσφέρονται στην αγορά της Κρήτης και ιδιαίτερα των Χανίων. Στις δειγματοληψίες του Μαΐου και του Ιουνίου εξετάστηκαν 12 επιπλέον δείγματα σε κάθε δειγματοληψία, τα οποία τέθηκαν σε κακές συνθήκες συντήρησης, συγκεκριμένα σε σημείο όπου υπήρχε έντονη ακτινοβολία του ηλίου. Επομένως συνολικά εξετάστηκαν 72 δείγματα, δηλαδή 6 από κάθε εταιρία.

Τα δείγματα τα οποία εξετάστηκαν στην παρούσα διπλωματική εργασία, σύμφωνα με τις κατηγορίες που διακρίνεται το εμφιαλωμένο νερό ταξινομούνται ως εξής:

Πίνακας 2 – ΕΙΔΟΣ ΕΜΦΙΑΛΩΜΕΝΟΥ ΝΕΡΟΥ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

ΕΤΑΙΡΙΑ	ΕΙΔΟΣ ΕΜΦΙΑΛΩΜΕΝΟΥ ΝΕΡΟΥ
ΕΤΑΙΡΙΑ Α	Φυσικό μεταλλικό νερό
ΕΤΑΙΡΙΑ Β	Επιτραπέζιο νερό
ΕΤΑΙΡΙΑ Γ	Επιτραπέζιο νερό
ΕΤΑΙΡΙΑ Δ	Επιτραπέζιο νερό
ΕΤΑΙΡΙΑ Ε	Φυσικό μεταλλικό νερό
ΕΤΑΙΡΙΑ ΣΤ	Φυσικό μεταλλικό νερό
ΕΤΑΙΡΙΑ Ζ	Επιτραπέζιο νερό
ΕΤΑΙΡΙΑ Η	Επιτραπέζιο νερό
ΕΤΑΙΡΙΑ Θ	Φυσικό μεταλλικό νερό
ΕΤΑΙΡΙΑ Ι	Επιτραπέζιο νερό
ΕΤΑΙΡΙΑ Κ	Επιτραπέζιο νερό
ΕΤΑΙΡΙΑ Λ	Φυσικό μεταλλικό νερό

3.3. Μέθοδοι

3.3.1. Μεθοδολογία μικροβιολογικού ελέγχου

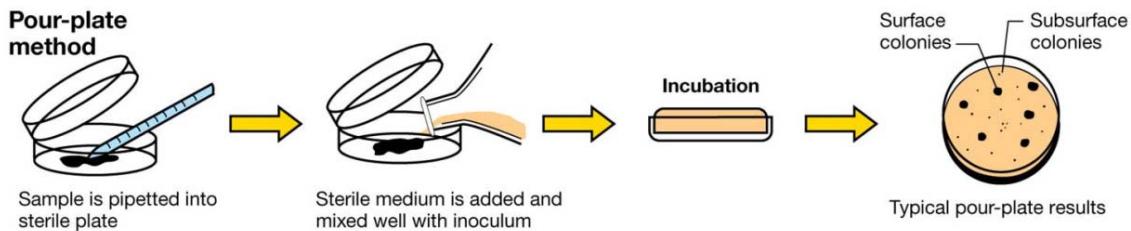
Για τη διεξαγωγή της μικροβιολογικής ανάλυσης της κάθε δειγματοληψίας έγινε συλλογή 1,5 L εμφιαλωμένου νερού από 12 διαφορετικές εταιρίες. Τα δείγματα αυτά ελήφθησαν από διαφορετικά σημεία πώλησης για την επίτευξη διεξαγωγής όσο δυνατόν ευρύτερης έρευνας και αντιπροσωπευτικών αποτελεσμάτων. Τα δείγματα μεταφέρονταν στο εργαστήριο σε συνθήκες συντήρησης και η διεξαγωγή της ανάλυσης γινόταν εντός 24 ωρών.

Όλα τα δείγματα ελέγχθηκαν για την παρουσία και απαρίθμηση των ολικών κολοβακτηριοειδών, *Escherichia coli*, εντερόκοκκων, *Pseudomonas aeruginosa* και της ολικής μικροβιακής χλωρίδας σύμφωνα με το Διεθνή Οργανισμό Τυποποίησης (International Standards Organization - ISO). Για την ανίχνευση των ολικών κολοβακτηριοειδών, του *Escherichia coli*, των εντερόκοκκων και της *Pseudomonas aeruginosa* τα εμφιαλωμένα νερά εξετάστηκαν με τη διήθηση μέσω μεμβρανών νιτροκυτταρίνης (μέγεθος πόρων 0,45 μμ, διάμετρος 47 mm) και ακολούθως τοποθέτηση στο επιλεκτικό θρεπτικό μέσο σε τρυβλίο Petri και επώαση στην κατάλληλη θερμοκρασία. 250 mL κάθε δείγματος διηθήθηκαν μέσω των μεμβρανών για τον προσδιορισμό και την απαρίθμηση των ολικών κολοβακτηριοειδών, του *Escherichia coli*, των εντερόκοκκων και της *Pseudomonas aeruginosa*.



Εικόνα 8 – Διήθηση με χρήση μεμβρανών

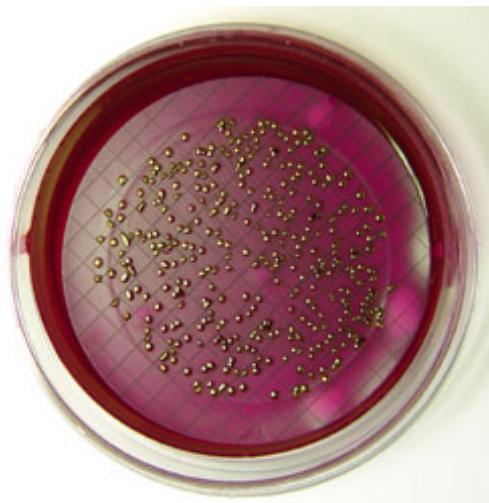
Για την απαρίθμηση της ολικής μικροβιακής χλωρίδας επιλέχθηκε η μέθοδος «ενσωμάτωσης σε άγαρ» (pour plate method) Στη μέθοδο αυτή συγκεκριμένος όγκος δείγματος (συνήθως 0,1-1mL) ισάγεται με πιπέτα σε αποστειρωμένο τρυβλίο Petri, κατόπιν προστίθεται τηγμένο άγαρ και αναμειγγύεται προσεκτικά με ήπιες κυκλικές κινήσεις [Madigan, 2001] Στην παρούσα διπλωματική εργασία χρησιμοποιήθηκε 1 mL δείγματος νερού και αναμίχθηκε με το θρεπτικό υλικό σε τρυβλίο Petri. Για κάθε δείγμα χρησιμοποιήθηκαν δύο τρυβλία, ένα για την επώαση στους 22 °C για 72 ώρες και ένα για την επώαση στους 37 °C για 48 ώρες.



Εικόνα 9 - Μέθοδος ενσωάτωσης σε άγαρ

Έτσι για κάθε δείκτη ξεχωριστά έλαβαν χώρα οι εξής σειρές διαδικασιών:

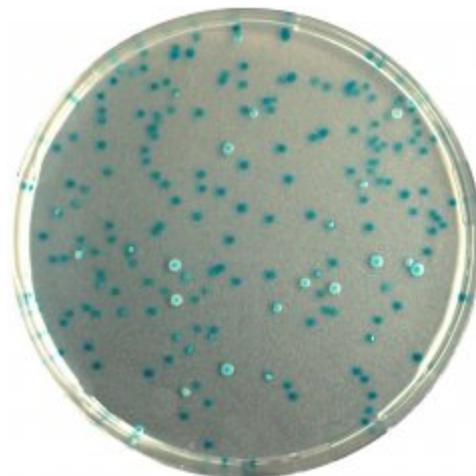
i. ΟΛΙΚΑ ΚΟΛΟΒΑΚΤΗΡΙΟΕΙΔΗ (Total Coliforms)



Εικόνα 10 – Αποικίες Total coliforms σε θρεπτικό υλικό M-Endo Agar Les

1. Διήθηση 250 mL δείγματος νερού υπό κενό από μεμβράνη με μέγεθος πόρων 0,45 μμ
2. Τοποθέτηση της μεμβράνης σε θρεπτικό υλικό M-Endo Agar Les με 95% αιθανόλη
3. Επώαση στους 37 °C για 24 ώρες
4. Καταμέτρηση των τυπικών αποικιών (αποικίες σκούρου κόκκινου χρώματος με χρυσο-πράσινη μεταλλική χροιά)

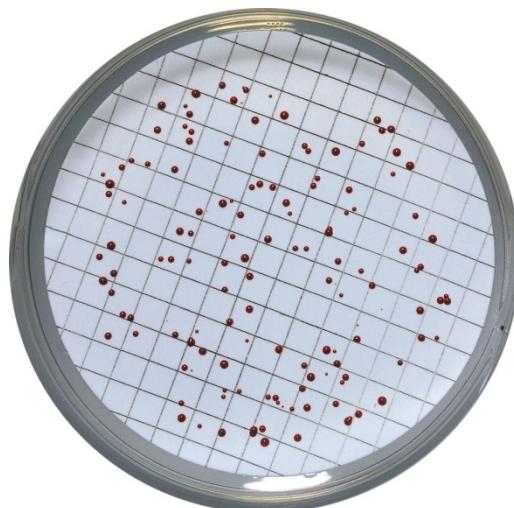
ii. *Escherichia coli*



Εικόνα 11 – Αποικίες *Escherichia coli* σε θρεπτικό υλικό HiCrome *E. coli* Agar

1. Διήθηση 250 mL δείγματος νερού υπό κενό από μεμβράνη με μέγεθος πόρων 0,45 μμ
2. Τοποθέτηση μεμβράνης σε χρωμογόνο θρεπτικό υλικό HiCrome *E. coli* Agar
3. Επώαση στους 37 °C για 24 ώρες
4. Καταμέτρηση των τυπικών αποικιών (αποικίες πράσινου – μπλε χρώματος)

iii. ΚΟΠΡΑΝΩΔΕΙΣ ΣΤΡΕΠΤΟΚΟΚΚΟΙ (Εντερόκοκκοι)



Εικόνα 12 – Αποικίες Κοπρανωδών στρεπτόκοκκων σε θρεπτικό υλικό Slanetz & Bartley Medium

1. Διήθηση 250 mL δείγματος νερού υπό κενό από μεμβράνη με μέγεθος πόρων 0,45 μμ
2. Τοποθέτηση της μεμβράνης σε θρεπτικό υλικό Slanetz & Bartley Medium
3. Επώαση στους 37 °C για 48 ώρες

4. Σε περίπτωση εμφάνισης αποικιών (αποικίες καφέ, κόκκινου ή ροζ χρώματος) μεταφορά της μεμβράνης διήθησης σε θρεπτικό υλικό Bile Aesculin το οποίο έχει προθερμανθεί στους 44 °C
5. Επώαση στους 44 °C για 2 ώρες
6. Καταμέτρηση των τυπικών αποικιών (αποικίες μαύρου διάχυτου χρώματος)

iv. *Pseudomonas aeruginosa*

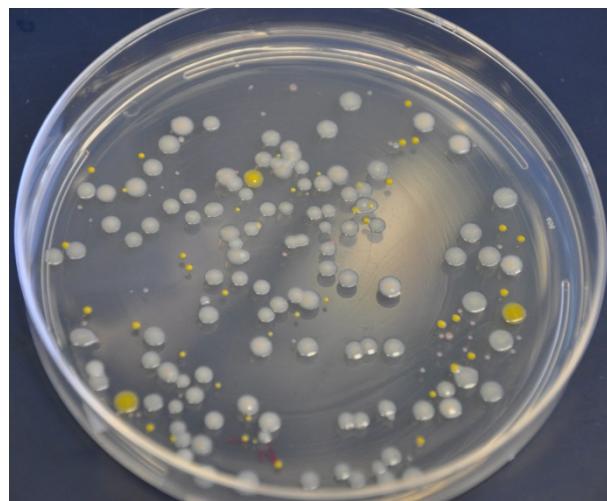


Εικόνα 13 – Καλλιέργεια *Pseudomonas aeruginosa* σε θρεπτικό υλικό Pseudomonas agar base με συμπλήρωμα Centrix

Διαδικασία καλλιέργειας:

1. Διήθηση 250 mL δείγματος νερού υπό κενό από μεμβράνη με μέγεθος πόρων 0,45 μm
2. Τοποθέτηση της μεμβράνης σε θρεπτικό υλικό Pseudomonas agar base με συμπλήρωμα Centrix Supplement
3. Επώαση στους 37 °C για 48 ώρες
4. Καταμέτρηση των τυπικών αποικιών (πράσινου – μπλε χρώματος)
5. Εξέταση φθορισμού τους κατόπιν έκθεσης σε υπεριώδες φως

v. ΟΛΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ ΣΤΟΥΣ 22°C ΚΑΙ ΣΤΟΥΣ 37°C

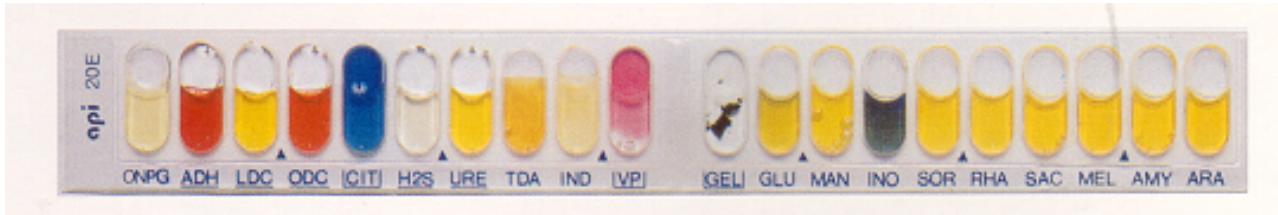


Εικόνα 14- Ολική μικροβιακή χλωρίδα

1. Προσθήκη δείγματος 1 mL σε τρυβλίοPetri
2. Προσθήκη διαλύματος θρεπτικού υλικού στο τρυβλίο
3. Ανάδευση για την καλύτερη ανάμειξη
4. Επώαση στους 22 °C για 72 ώρες για την ολική μικροβιακή χλωρίδα των 22 °C και επώαση στους 37 °C για 48 ώρες για την ολική μικροβιακή χλωρίδα των 37 °C
5. Καταμέτρηση όλων των αποικιών

3.3.2. Μεθοδολογία βιοχημικής ταυτοποίησης

Η ταυτοποίηση των βακτηρίων έχει σαν στόχο την κατάταξη ενός μικροοργανισμού σε συγκεκριμένο γένος και είδος. Η βιοχημική ταυτοποίηση βασίζεται στις μεταβολικές ιδιότητες των μικροοργανισμών όπως για παράδειγμα τη διάσπαση διάφορων υποστρωμάτων (θρεπτικές ουσίες) καθώς και την παραγωγή ενζύμων, τα οποία είναι απαραίτητα για τις μεταβολικές αντιδράσεις και τη λειτουργία της αναπνοής. Στην παρούσα διπλωματική εργασία έγινε βιοχημική ταυτοποίηση με τη χρήση του αντιδραστηρίου API (Analytical Profil Index) και συγκεκριμένα API 20E και API 20NE. Τα ανιχνευμένα βακτήρια τίθενται υπό τη δοκιμασία οξειδάσης. Η δοκιμασία αυτή ελέγχει αν το βακτήριο διαθέτει το ένζυμο cytochrome oxidase το οποίο είναι απαραίτητο στη μετατροπή του συνενζύμου NADH (Νικοτιναμίδο-αδενινοδινουκλεοτίδιο) σε NAD + H₂O. Εάν η δοκιμασία βγει αρνητική χρησιμοποιείται το σύστημα API 20E ενώ αν βγει θετική χρησιμοποιείται το σύστημα API 20NE. Σε περίπτωση που το ανιχνευμένο βακτήριο είναι κοπρανώδης εντερόκοκκος χρησιμοποιείται το σύστημα API 20STREP. Στην παρούσα εργασία έγινε ταυτοποίηση με API 20E και API 20STREP. Τα συστήματα δοκιμής αποθηκεύονται σε 20 μικρά σωληνάρια αντίδρασης, που περιλαμβάνουν τα υποστρώματα όπως φαίνεται στην εικόνα.



Εικόνα 15 – API 20E



Εικόνα 16 – API 20NE



Εικόνα 17 – API 20STREP

3.3.3. Διερεύνηση επιβίωσης βακτηρίων

Για τη μελέτη της εξέλιξης των βακτηρίων σε εμφιαλωμένο νερό, έγινε εμβολιασμός των τριών μικροβιακών δεικτών *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* και κοπρανωδών στρεπτόκοκκων στα δείγματα των 12 υπό εξέταση εταιριών. Μετρήθηκαν οι αποικίες που σχηματίστηκαν 12, 24 και 48 ώρες μετά τον εμβολιασμό των δειγμάτων. Συγκεκριμένα, το πείραμα που έλαβε χώρα ήταν:

- 1) Αποστείρωση των δειγμάτων εμφιαλωμένου νερού
- 2) Εμβολιασμός των δειγμάτων με τους μικροβιακούς δείκτες: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* και *fecal streptococcus*
- 3) Παραμονή για 12 ώρες, για 24 ώρες και για 48 ώρες

4) Μικροβιολογική ανάλυση των δειγμάτων

3.3.4. Έλεγχος ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά - Μεθοδολογία υπολογισμού ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης

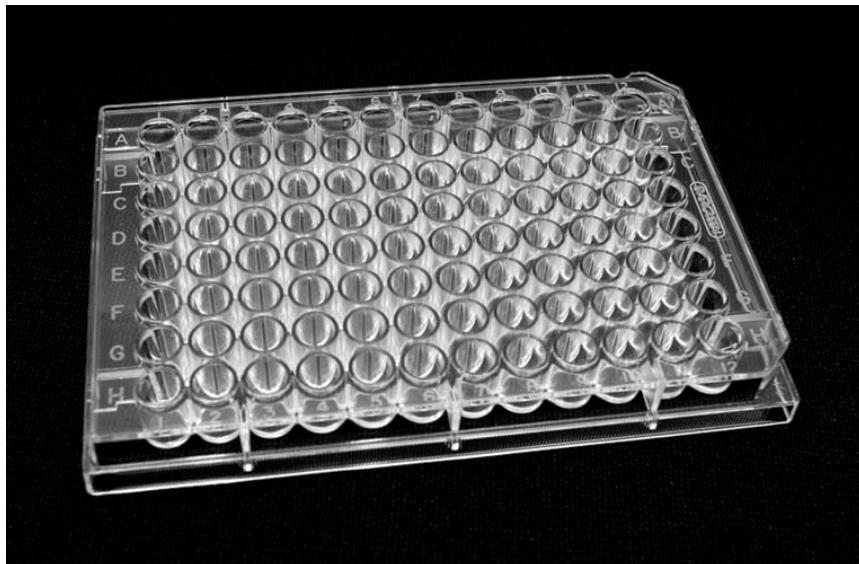
Οι μέθοδοι αραίωσης των αντιβιοτικών σε υγρά ή στερεά θρεπτικά υλικά χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο ανθεκτικότητας των αερόβιων και των δυνητικά αναερόβιων βακτηρίων στα αντιβιοτικά. Βασίζονται στην αρχή της έκθεσης συγκεκριμένου μικροβιακού εναιωρήματος σε διαφορετικές συγκεντρώσεις αντιβιοτικού. Η μικρότερη συγκέντρωση του αντιβιοτικού η οποία δεν επιτρέπει την ανάπτυξη του βακτηρίου ονομάζεται ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση (Minimum Inhibitory Concentration - MIC). Δεδομένου ότι η πραγματική ελάχιστη συγκέντρωση μπορεί να βρίσκεται μεταξύ της ελάχιστης συγκέντρωσης, που αναστέλλει τη μικροβιακή ανάπτυξη και της αμέσως προηγούμενης αραίωσης που επιτρέπει τη μικροβιακή ανάπτυξη, η MIC δεν αποτελεί απόλυτη τιμή. Ο πλήρης προσδιορισμός της MIC απαιτεί περίπου 5 – 8 διαδοχικές αραιώσεις κάθε αντιβιοτικού, αντιπροσωπευτικές των αντίστοιχων θεραπευτικών συγκεντρώσεων (π.χ. 1, 2, 4, 8, 16 µg/mL). Βάσει των ελάχιστων ανασταλτικών συγκεντρώσεων καθορίζονται τρεις κατηγορίες ευαισθησίας μικροοργανισμών οι οποίες ερμηνεύονται ως εξής:

- Ευαίσθητοι (susceptible, S): μικροοργανισμοί, οι οποίοι αναστέλλονται από πυκνότητες αντιβιοτικού, που επιτυγχάνονται στο αίμα κατά τη συνήθη θεραπευτική χορήγηση.
- Μέτρια ευαίσθητοι (intermediate, I): μικροοργανισμοί που αναστέλλονται όταν το φάρμακο χορηγείται στη μέγιστη ανεκτή δοσολογία.
- Ανθεκτικοί: μικροοργανισμοί, οι οποίοι δεν αναστέλλονται από πυκνότητες που επιτυγχάνονται συνήθως στο αίμα [Βυρώνη, 2007]

Για τον έλεγχο ευαισθησίας των βακτηρίων που εντοπίσαμε στα δείγματά μας, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος MIC (Ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση) και συγκεκριμένα η μέθοδος αραιώσεων των αντιβιοτικών σε ζωμό σε ειδικές πλάκες μικροτιτλοποίησης.

Οι πλάκες αυτές αποτελούνται από 8 γραμμές και 12 στήλες όπως μπορεί κανείς να διακρίνει στην παρακάτω εικόνα και αποτελείται από συνολικά 96 πηγαδάκια πολύ μικρού όγκου.

Ο έλεγχος ευαισθησίας έγινε για 11 από τα δείγματά μας στα οποία πρωτίστως είχε γίνει ταυτοποίηση με τη μέθοδο API ώστε να γνωρίζουμε ποιο βακτήριο αφορά για 3 διαφορετικά αντιβιοτικά: την αμοξικιλίνη, τη στρεπτομυκίνη και την τετρακυκλίνη. Επίσης για να έχουμε ακριβέστερα αποτελέσματα, ο έλεγχος ευαισθησίας κάθε βακτηρίου σε κάθε αντιβιοτικό διεξήχθη τρεις φορές.



Εικόνα 18 – Πλάκα μικροτιτλοποίησης

A. Προετοιμασία

- ✚ Ανακαλλιέργεια του βακτηρίου του υπό εξέταση δείγματος σε υγρό θρεπτικό υλικό Mueller Hinton Broth.
- ✚ Μέτρηση της απορρόφησης του εναιωρήματος με τη χρήση φασματοφωτόμετρου υπό ακτινοβολία κύματος 600 nm.
- ✚ Κατάλληλη αραίωση μέχρι η απορρόφηση να γίνει 0,1 (τότε έχουμε 10^8 CFU/mL).
- ✚ Διαδοχικές αραιώσεις ώστε να έχουμε συγκέντρωση 10^5 CFU/mL
- ✚ Παρασκευή διαλύματος αντιβιοτικών: αμοξυκιλίνη, στρεπτομυκίνη και τετρακυκλίνη συγκέντρωσης 100 µg/mL

B. Πειραματική διαδικασία

1. Διανομή 100 µL ου ζωμού Mueller Hinton Broth με τη χρήση πιπέτας στα πηγαδάκια της πλάκας μικροτιτλοποίησης εκτός της δέκατης στήλης.
2. Διανομή 100 µL του αντιβιοτικού στην πρώτη στήλη της πλάκας μικροτιτλοποίησης.
3. Λήψη 100 µL με τη χρήση πιπέτας από την πρώτη στήλη και διανομή αυτών στην δεύτερη στήλη.
4. Επανάληψη της διαδικασίας από τη δεύτερη στήλη στην τρίτη κοκ μέχρι να φτάσουμε στην ένατη στήλη.
5. Διανομή 5 µL του εναιωρήματος 10^5 CFU/mL στα πηγαδάκια της πρώτης μέχρι και της ένατης στήλης καθώς και της δωδέκατης στήλης.
6. Επώαση στους 37 °C για 24 ώρες.
7. Ανάγνωση αποτελεσμάτων με φωτομέτρηση σε microplate reader.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1. Αποτελέσματα μικροβιολογικών αναλύσεων δειγμάτων νερού

4.1.1. Μικροβιακοί δείκτες

Στους πίνακες που ακολουθούν καταγράφονται τα αποτελέσματα της μικροβιολογικής ανάλυσης των δειγμάτων εμφιαλωμένων νερών των διάφορων εταιριών που ελήφθησαν κατά τις δειγματοληψίες. Επίσης παρατίθεται γράφημα με το ποσοστό των μικροβιακών δεικτών ανά εταιρία.

Πίνακας 3 – ΠΡΩΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ, ΜΑΡΤΙΟΣ

ΕΤΑΙΡΙΑ	Ολικά κολοβακτηριοειδή (CFU/250 mL)	<i>Escherichia coli</i> (CFU/250 mL)	Εντερόκοκκοι (CFU/250 mL)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CFU/250 mL)
ΕΤΑΙΡΙΑ Α	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Β	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Γ	0	0	0	5
ΕΤΑΙΡΙΑ Δ	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Ε	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ ΣΤ	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Ζ	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Η	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Θ	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Ι	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Κ	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Λ	0	0	0	0

Πίνακας 4 – ΔΕΥΤΕΡΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ, ΑΠΡΙΛΙΟΣ

ΕΤΑΙΡΙΑ	Ολικά κολοβακτηριοειδή (CFU/250 mL)	<i>Escherichia coli</i> (CFU/250 mL)	Εντερόκοκκοι (CFU/250 mL)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CFU/250 mL)
ΕΤΑΙΡΙΑ Α	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Β	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Γ	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Δ	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Ε	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Ζ	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ ΣΤ	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Η	0	1	1	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Θ	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Ι	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Κ	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Λ	0	0	0	0

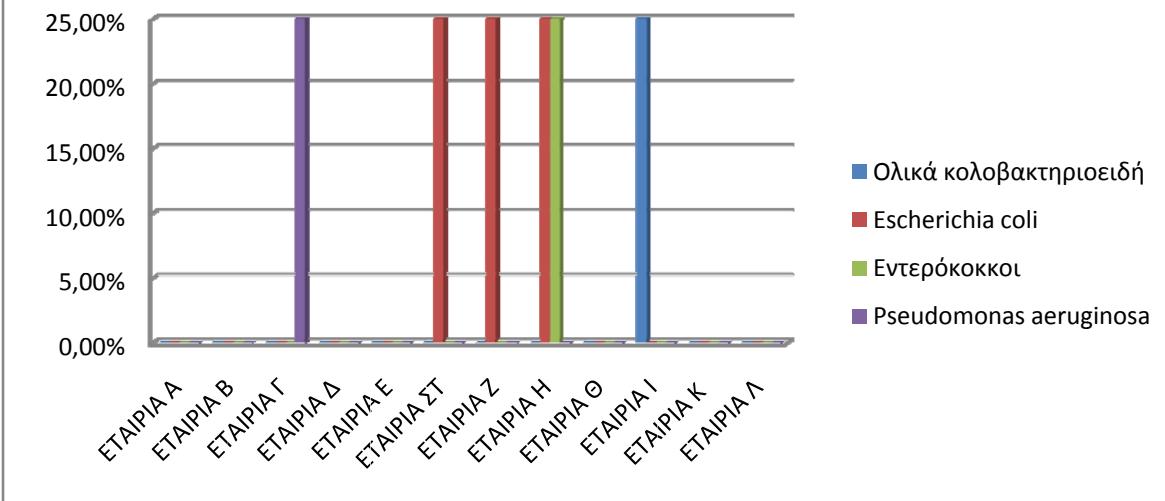
Πίνακας 5 – ΤΡΙΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ, ΜΑΪΟΣ

ΕΤΑΙΡΙΑ	Ολικά κολοβακτηριοειδή (CFU/250 mL)	<i>Escherichia coli</i> (CFU/250 mL)	Εντερόκοκκοι (CFU/250 mL)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CFU/250 mL)
ΕΤΑΙΡΙΑ Α	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Β	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Γ	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Δ	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Ε	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ ΣΤ	0	3	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Ζ	0	52	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Η	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Θ	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Ι	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Κ	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Λ	0	0	0	0

Πίνακας 6 – ΤΕΤΑΡΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ, ΙΟΥΝΙΟΣ

ΕΤΑΙΡΙΑ	Ολικά κολοβακτηριοειδή (CFU/250 mL)	<i>Escherichia coli</i> (CFU/250 mL)	Εντερόκοκκοι (CFU/250 mL)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CFU/250 mL)
ΕΤΑΙΡΙΑ Α	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Β	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Γ	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Δ	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Ε	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ ΣΤ	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Ζ	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Η	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Θ	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Ι	2	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Κ	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Λ	0	0	0	0

ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΑΝΑ ΕΤΑΙΡΙΑ



Γράφημα 3– Ποσοστό μικροβιακών δεικτών που ανιχνεύθηκε ανά εταιρία

Σύμφωνα με τους παραπάνω πίνακες διαπιστώνουμε ότι ορισμένα δείγματα υπερέβησαν τα όρια της νομοθεσίας καθότι θα έπρεπε να σημειώσουν 0 CFU/mL. Συγκεκριμένα στις εταιρίες Γ, Η, Ζ, ΣΤ και Ι βρέθηκαν ακατάλληλα δείγματα προς ανθρώπινη κατανάλωση εφόσον ανιχνεύθηκαν δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης. Αξιοσημείωτος είναι ο αριθμός των αποικιών *Escherichia coli* σε δείγμα της εταιρίας Ζ (52 CFU/mL), το οποίο υπερέβη κατά πολύ τα όρια της νομοθεσίας.

Από τη μικροβιολογική ανάλυση των δειγμάτων διαπιστώνεται ότι η πλειοψηφία αυτών ήταν κατάλληλα προς πόση. Η ποιότητα των δειγμάτων σε γενικές γραμμές ήταν καλή και σύμφωνη με τη νομοθεσία, εκτός μεμονομένων περιπτώσεων.

4.1.2. Ολική μικροβιακή χλωρίδα

Η ολική μικροβιακή χλωρίδα είναι τα ετερότροφα βακτήρια που βρίσκονται στο νερό. Αναπτύσσονται στους 37 °C και στους 22 °C. Ο προσδιορισμός τους δεν είναι τόσο μεγάλης σημασίας, όπως είναι των άλλων μικροοργανισμών - δεικτών μόλυνσης του νερού. Είναι όμως απαραίτητος για την εκτίμηση της γενικής μικροβιολογικής ποιότητας του νερού. Η μέτρηση στους 37°C είναι μεγαλύτερης σημασίας διότι αφορά βακτήρια που μπορούν να αποικίσουν στον ανθρώπινο οργανισμό, εφόσον αυτή είναι και η μέση θερμοκρασία του [Μήτρακας, 2001].

Στους παρακάτω πίνακες καταγράφονται οι μετρήσεις των αποικιών της ολικής μικροβιακής χλωρίδας (ΟΜΧ) των δειγμάτων στους 22 °C καθώς και στους 37 °C. Επίσης ακολουθούν σχετικά διαγράμματα που αφορούν στον αριθμό εμφάνισης των αποικιών καθώς και το ποσοστό που καταλαμβάνουν ανά δειγματοληψία.

Πίνακας 7 – ΠΡΩΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ, ΜΑΡΤΙΟΣ

ΕΤΑΙΡΙΑ	OMX 37 °C (CFU/mL)	OMX 22 °C (CFU/mL)
ΕΤΑΙΡΙΑ Α	0	16
ΕΤΑΙΡΙΑ Β	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Γ	0	TMTC
ΕΤΑΙΡΙΑ Δ	3	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Ε	24	TMTC
ΕΤΑΙΡΙΑ ΣΤ	0	2
ΕΤΑΙΡΙΑ Ζ	TMTC	TMTC
ΕΤΑΙΡΙΑ Η	1	15
ΕΤΑΙΡΙΑ Θ	4	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Ι	0	10
ΕΤΑΙΡΙΑ Κ	237	247
ΕΤΑΙΡΙΑ Λ	264	TMTC

TMTC: too much to count, CFU>1000/mL

Πίνακας 8 – ΔΕΥΤΕΡΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ, ΑΠΡΙΛΙΟΣ

ΕΤΑΙΡΙΑ	OMX 37 °C (CFU/mL)	OMX 22 °C (CFU/mL)
ΕΤΑΙΡΙΑ Α	0	TMTC
ΕΤΑΙΡΙΑ Β	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Γ	0	34
ΕΤΑΙΡΙΑ Δ	TMTC	TMTC
ΕΤΑΙΡΙΑ Ε	90	226
ΕΤΑΙΡΙΑ ΣΤ	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Ζ	48	TMTC
ΕΤΑΙΡΙΑ Η	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Θ	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Ι	1	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Κ	35	36
ΕΤΑΙΡΙΑ Λ	0	1

Πίνακας 9 – ΤΡΙΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ, ΜΑΪΟΣ

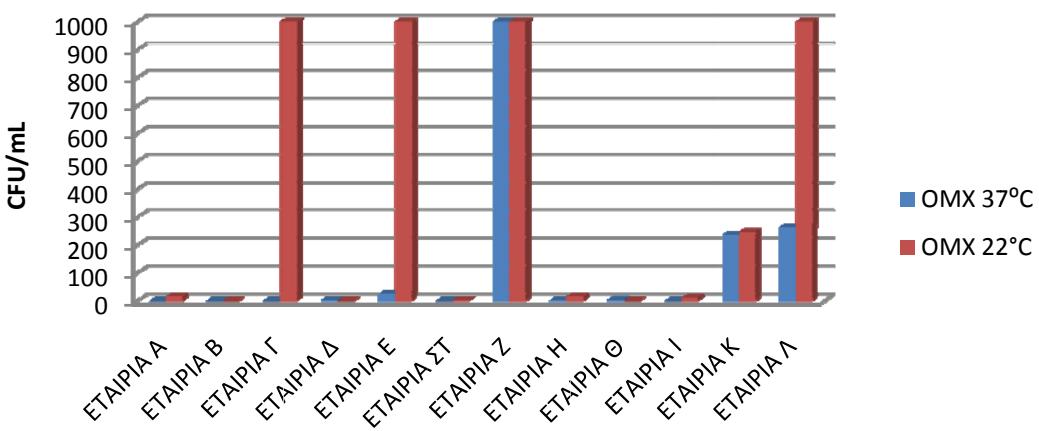
ΕΤΑΙΡΙΑ	OMX 37 °C (CFU/mL)	OMX 22 °C (CFU/mL)
ΕΤΑΙΡΙΑ Α	106	144
ΕΤΑΙΡΙΑ Β	68	268
ΕΤΑΙΡΙΑ Γ	TMTC	TMTC
ΕΤΑΙΡΙΑ Δ	140	415
ΕΤΑΙΡΙΑ Ε	176	TMTC
ΕΤΑΙΡΙΑ ΣΤ	516	9
ΕΤΑΙΡΙΑ Ζ	0	TMTC
ΕΤΑΙΡΙΑ Η	TMTC	TMTC
ΕΤΑΙΡΙΑ Θ	0	1
ΕΤΑΙΡΙΑ Ι	248	173
ΕΤΑΙΡΙΑ Κ	0	20
ΕΤΑΙΡΙΑ Λ	307	TMTC

Πίνακας 10 – ΤΕΤΑΡΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ, ΙΟΥΝΙΟΣ

ΕΤΑΙΡΙΑ	OMX 37 °C (CFU/mL)	OMX 22 °C (CFU/mL)
ΕΤΑΙΡΙΑ Α	248	173
ΕΤΑΙΡΙΑ Β	63	63
ΕΤΑΙΡΙΑ Γ	140	415
ΕΤΑΙΡΙΑ Δ	0	TMTC
ΕΤΑΙΡΙΑ Ε	767	TMTC
ΕΤΑΙΡΙΑ ΣΤ	22	136
ΕΤΑΙΡΙΑ Ζ	68	268
ΕΤΑΙΡΙΑ Η	474	TMTC
ΕΤΑΙΡΙΑ Θ	106	144
ΕΤΑΙΡΙΑ Ι	6	106
ΕΤΑΙΡΙΑ Κ	100	7
ΕΤΑΙΡΙΑ Λ	516	9

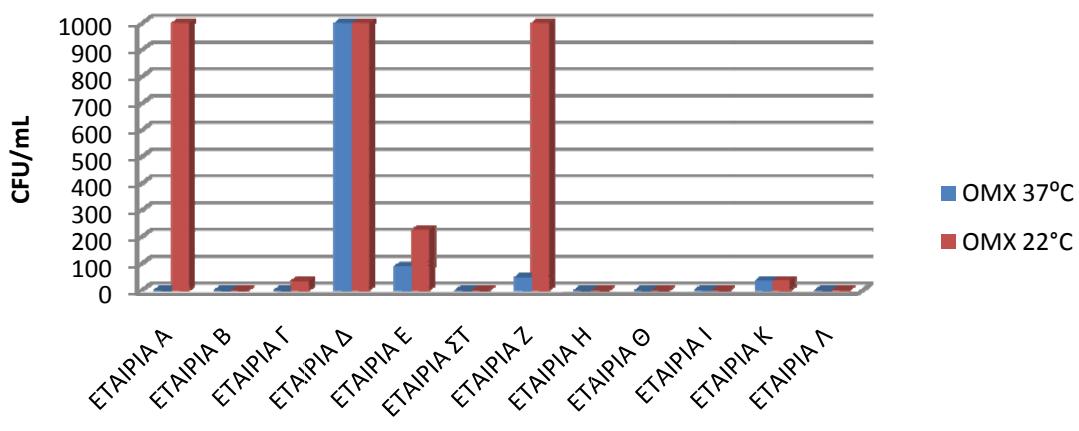
Στα διαγράμματα που θα ακολουθήσουν φαίνεται ο αριθμός των αποικιών της ολικής μικροβιακής χλωρίδας στους 37 °C καθώς και στους 22 °C που σχηματίστηκαν σε κάθε δειγματοληψία για την κάθε εταιρία:

ΟΛΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ ΠΡΩΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ



Γράφημα 4– Αριθμός αποικιών ολικής μικροβιακής χλωρίδας της πρώτης δειγματοληψίας

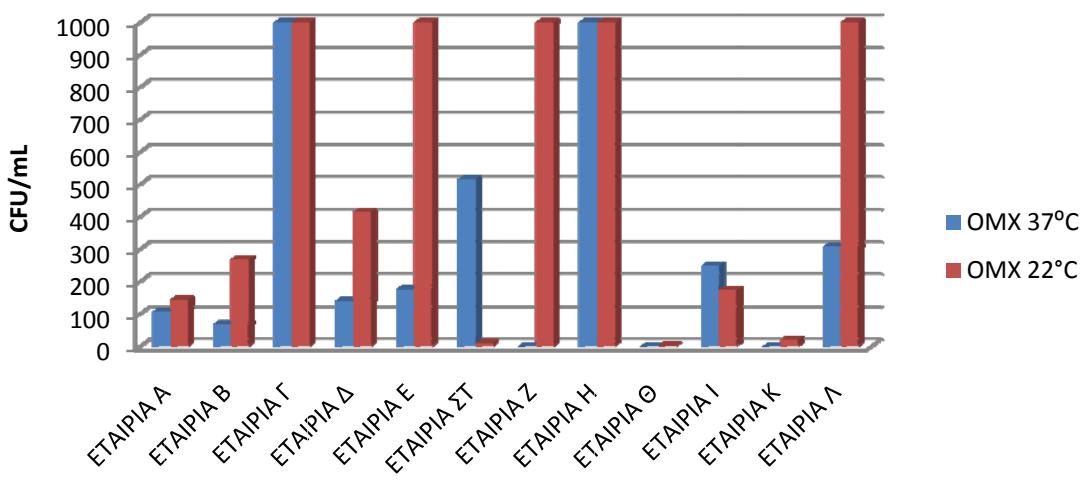
ΟΛΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ ΔΕΥΤΕΡΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ



Γράφημα 5 -Αριθμός αποικιών ολικής μικροβιακής χλωρίδας της δεύτερης δειγματοληψίας

ΟΛΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ

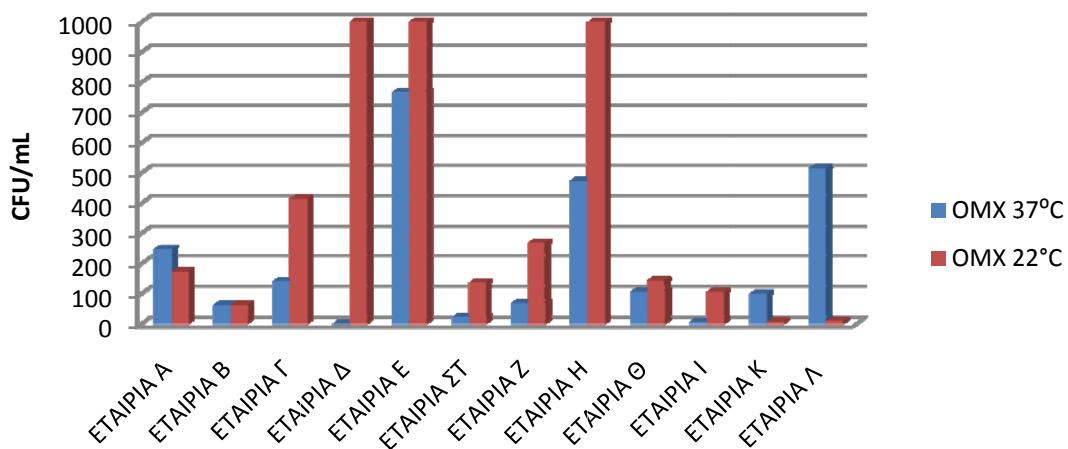
ΤΡΙΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ



Γράφημα 6 - Αριθμός αποικιών ολικής μικροβιακής χλωρίδας της τρίτης δειγματοληψίας

ΟΛΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ

ΤΕΤΑΡΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ



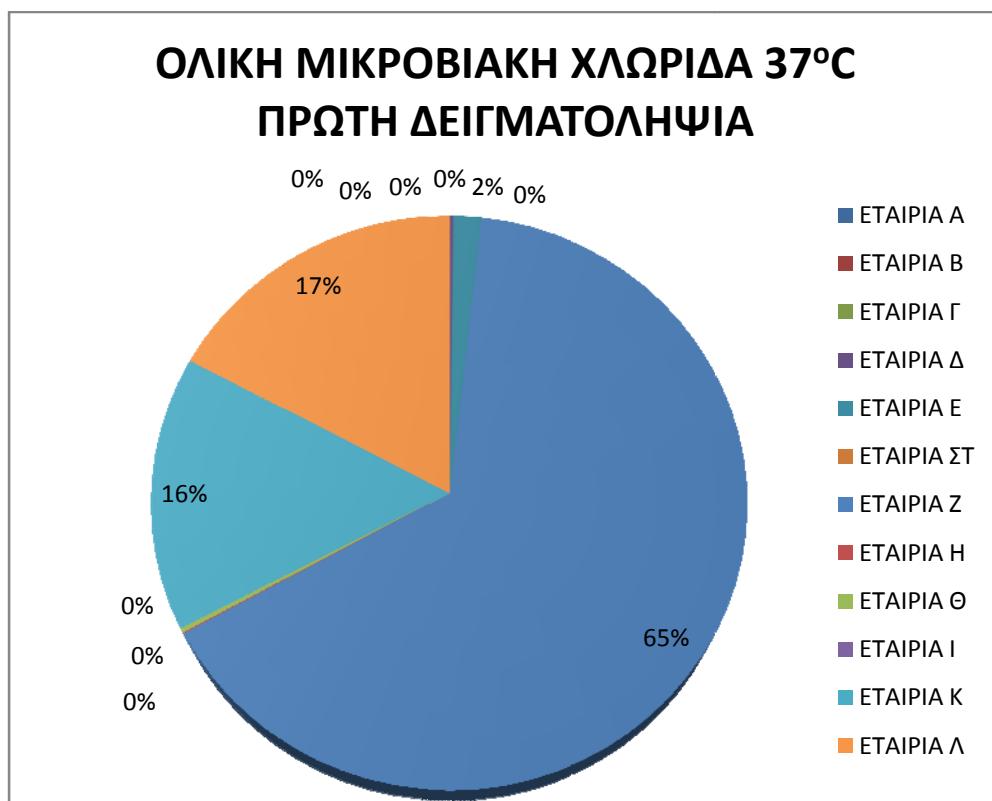
Γράφημα 7 - Αριθμός αποικιών ολικής μικροβιακής χλωρίδας της τέταρτης δειγματοληψίας

Από τα παραπάνω γραφήματα προκύπτει ότι οι περισσότερες αποικίες εμφανίζονται στην ολική μικροβιακή χλωρίδα στους 22 °C. Στην πρώτη δειγματοληψία διακρίνεται υψηλός αριθμός αποικιών στα δείγματα των εταιριών Γ, Ε, Ζ, Λ στους 22 °C ενώ στους 37 °C στο δείγμα της εταιρίας Ζ. Στη δεύτερη δειγματοληψία παρατηρείται υψηλός αριθμός αποικιών στα δείγματα των εταιριών Α, Δ, Ζ στους 22 °C ενώ της εταιρίας Δ στους 37 °C. Στην τρίτη δειγματοληψία φαίνεται μεγάλος ο αριθμός αποικιών ολικής μικροβιακής χλωρίδας στους 22 °C στα δείγματα των εταιριών Γ, Ε, Ζ, Η, Λ ενώ στους 37 °C στα δείγματα των εταιριών Γ και Η. Τέλος στην τέταρτη δειγματοληψία στην περίπτωση των 22 °C καταμετρήθηκαν πολλές αποικίες στα

δείγματα των εταιριών Δ, Ε, Η ενώ στην περίπτωση των 37 °C καταμετρήθηκαν πολλές αποικίες στο δείγμα της εταιρίας Ε.

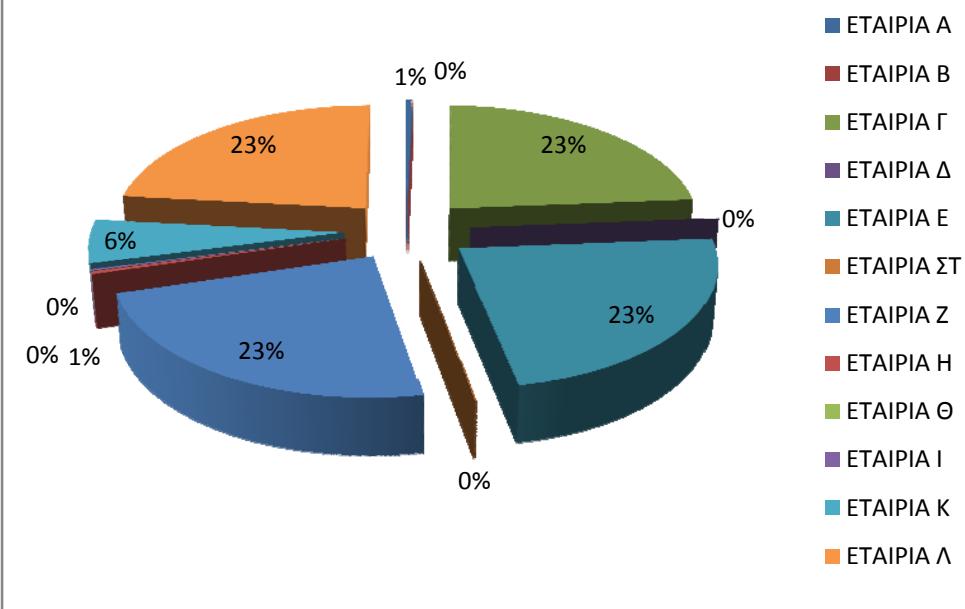
Συνοψίζοντας, τα δείγματα που επανειλημμένα σημείωσαν αρκετά μεγάλο αριθμό ολικής μικροβιακής χλωρίδας ανήκουν στις εταιρίες Γ, Ε ,Ζ. Όμως επειδή η ολική μικροβιακή χλωρίδα που μας ενδιαφέρει είναι αυτή που αναπτύσσεται στους 37 °C , διότι είναι και η θερμοκρασία του ανθρώπινου σώματος, οπότε οι συγκεκριμένοι μικροοργανισμοί κάλλιστα μπορούν να επιβιώσουν στο ανθρώπινο σώμα, αξίζει να σημειωθεί ότι τα δείγματα που εμφάνισαν μεγάλο αριθμό αποικιών στους 37 °C ανήκουν στις εταιρίες Γ, Δ, Ε, Ζ, Η. Άλλα αξίζει να παρατηρηθεί ότι τα δείγματα των εταιριών αυτών δεν σημείωναν επανειλημμένα υψηλές αποικίες, παρά μόνο μία φορά στο σύνολο των τεσσάρων αυτών δειγματοληψιών.

Στα παρακάτω διαγράμματα φαίνεται το ποσοστό αποικιών της ολικής μικροβιακής χλωρίδας της κάθε δειγματοληψίας με βάση την εταιρία των δειγμάτων, ξεχωριστά για την επώαση στους 22 °C και στους 37 °C.



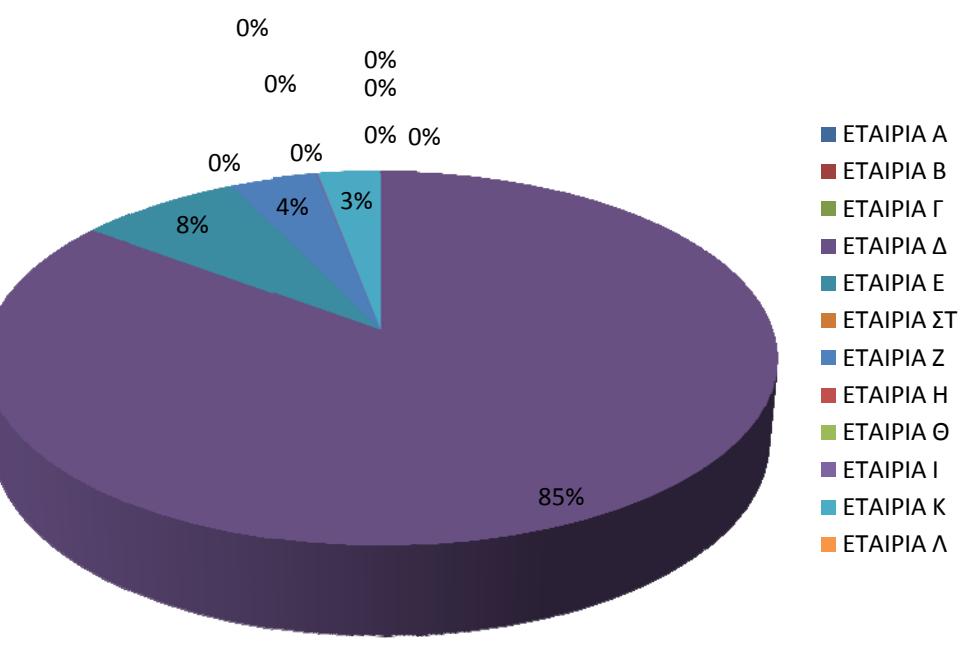
Γράφημα 8 – Ποσοστό αποικιών ολικής μικροβιακής χλωρίδας στους 37°C της πρώτης δειγματοληψίας

ΟΛΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ 22°C ΠΡΩΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ



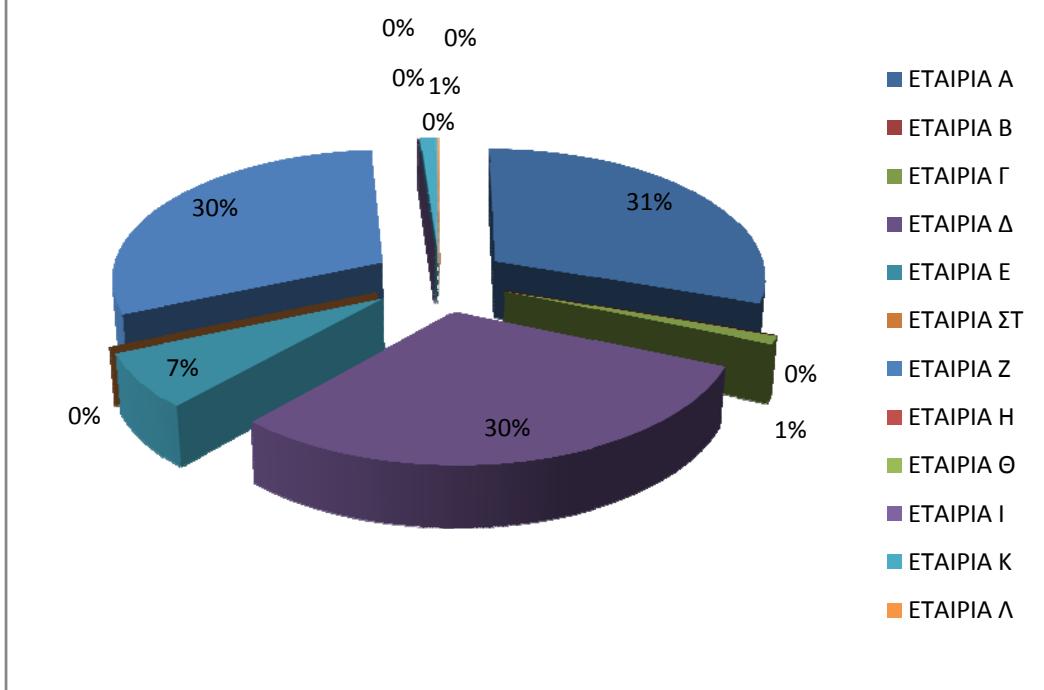
Γράφημα 9 - Ποσοστό αποικιών ολικής μικροβιακής χλωρίδας στους 22°C της πρώτης δειγματοληψίας

ΟΛΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ 37°C ΔΕΥΤΕΡΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ



Γράφημα 10 - Ποσοστό αποικιών ολικής μικροβιακής χλωρίδας στους 37°C της δεύτερης δειγματοληψίας

ΟΛΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ 22°C ΔΕΥΤΕΡΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ



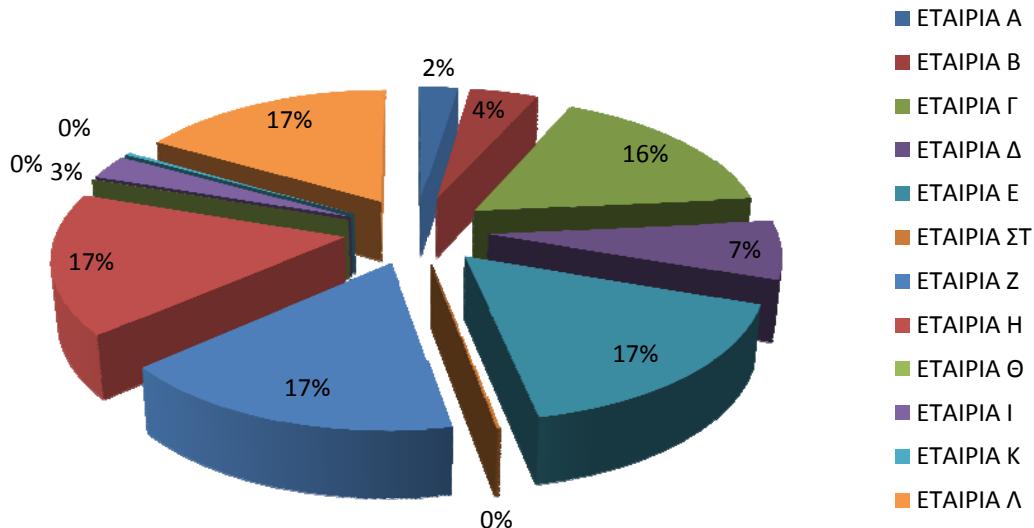
Γράφημα 11 - Ποσοστό αποικιών ολικής μικροβιακής χλωρίδας στους 22° της δεύτερης δειγματοληψίας

ΟΛΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ 37°C ΤΡΙΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ



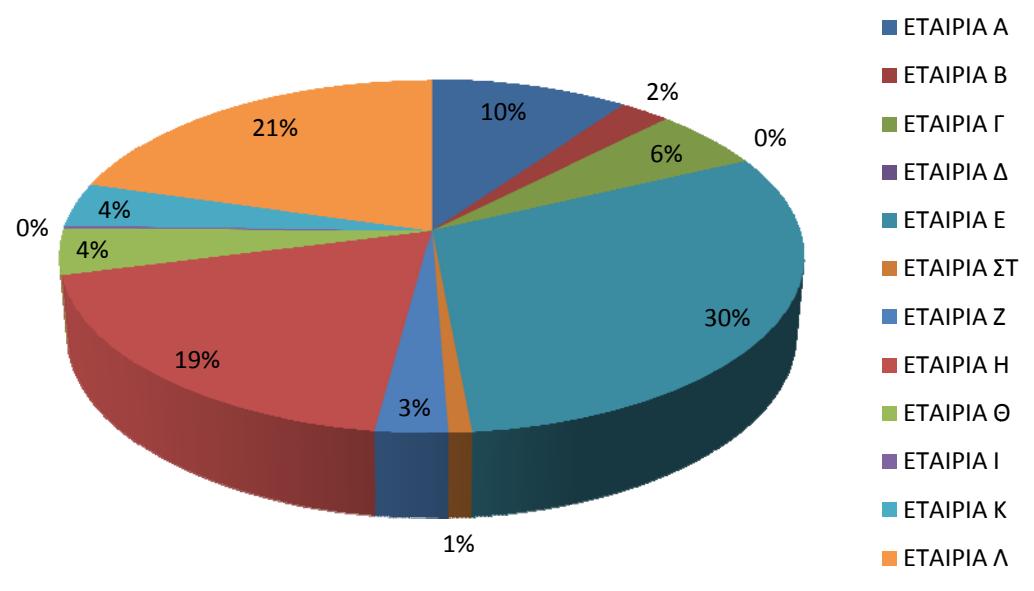
Γράφημα 12 - Ποσοστό αποικιών ολικής μικροβιακής χλωρίδας στους 37°C της τρίτης δειγματοληψίας

ΟΛΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ 22°C ΤΡΙΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ



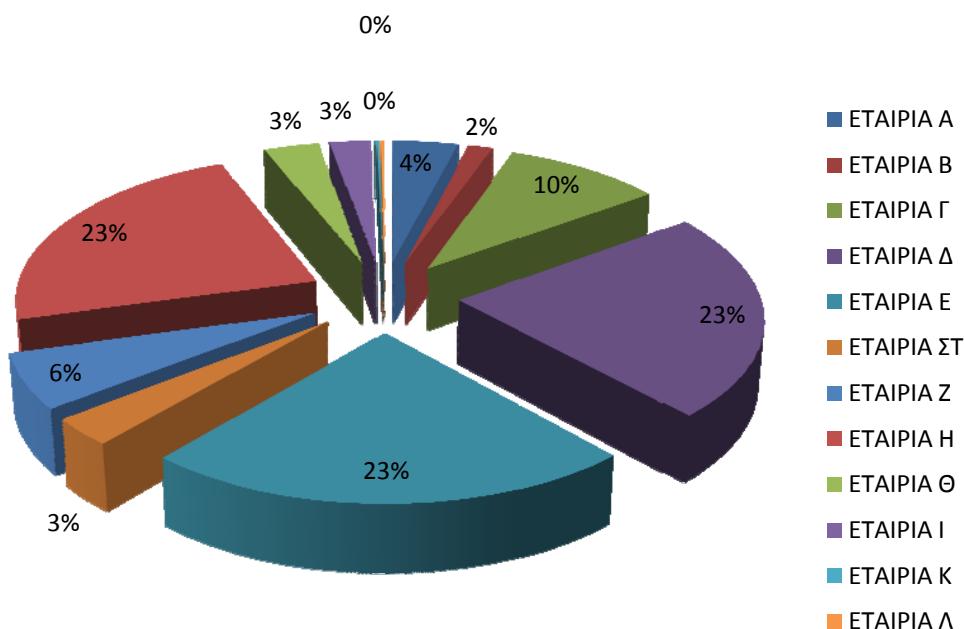
Γράφημα 13 -Ποσοστό αποικιών ολικής μικροβιακής χλωρίδας στους 22°C της τρίτης δειγματοληψίας

ΟΛΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ 37°C ΤΕΤΑΡΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ



Γράφημα 14 - Ποσοστό αποικιών ολικής μικροβιακής χλωρίδας στους 37°C της τέταρτης δειγματοληψίας

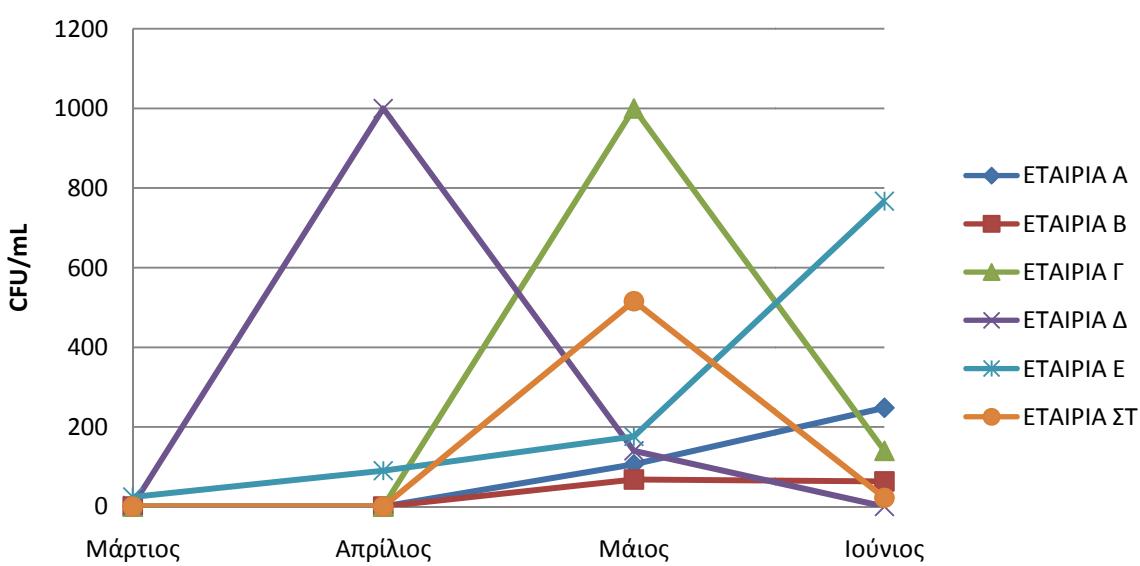
ΟΛΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ 22°C ΤΕΤΑΡΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ



Γράφημα 15 - Ποσοστό αποικιών ολικής μικροβιακής χλωρίδας στους 22°C της τέταρτης δειγματοληψίας

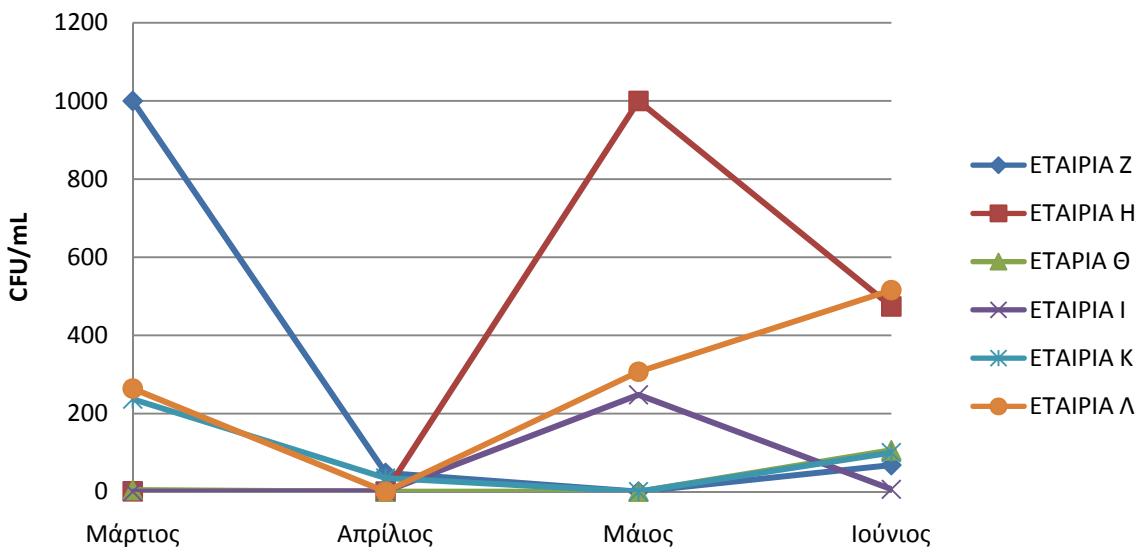
Στα παρακάτω διαγράμματα φαίνεται η διακύμανση της ολικής μικροβιακής χλωρίδας στους 22 °C και στους 37 °C που σημείωσαν τα δείγματα των υπό εξέταση εταιριών κατά τη διάρκεια των 4 δειγματοληψιών (4 μήνες).

ΟΛΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ 37°C



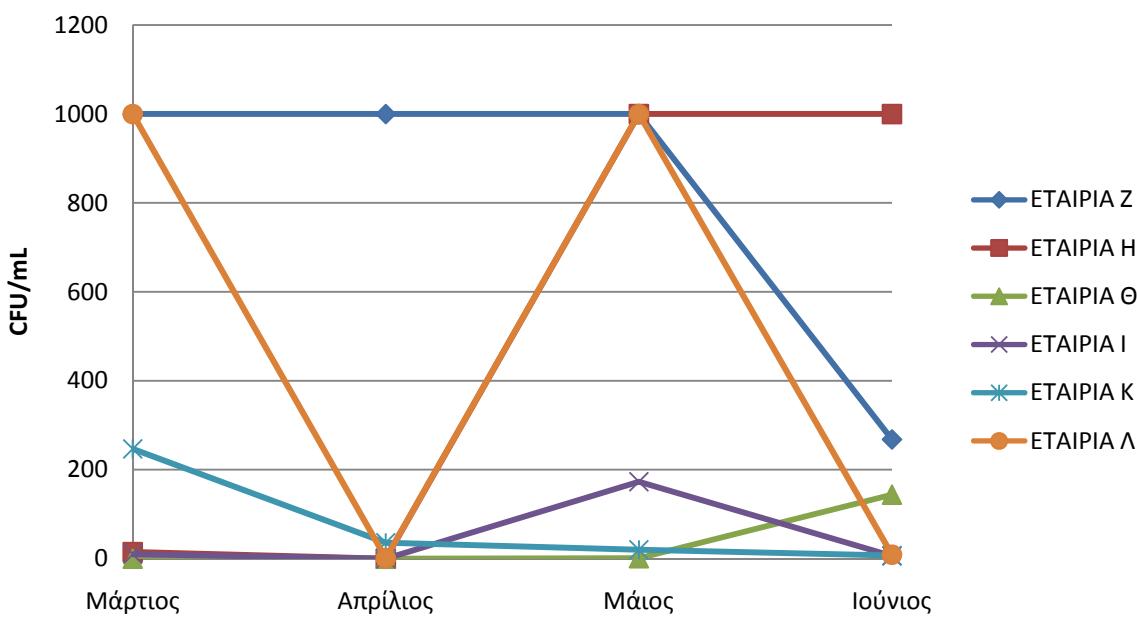
Γράφημα 16 – Ολική μικροβιακή χλωρίδα στους 37°C που μετρήθηκε στις τέσσερις δειγματοληψίες

ΟΛΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ 37°C



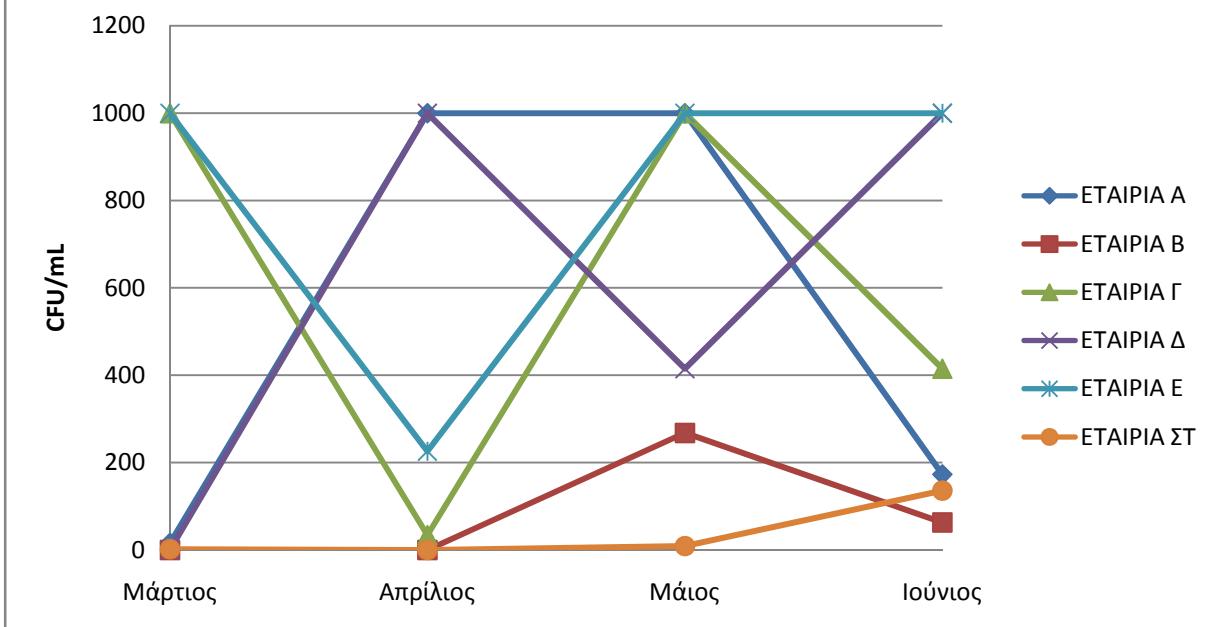
Γράφημα 17 - Ολική μικροβιακή χλωρίδα στους 37°C που μετρήθηκε στις τέσσερις δειγματοληψίες

ΟΛΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ 22°C



Γράφημα 18 - Ολική μικροβιακή χλωρίδα στους 22°C που μετρήθηκε στις τέσσερις δειγματοληψίες

ΟΛΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ 22°C



Γράφημα 19 - Ολική μικροβιακή χλωρίδα στους 37°C που μετρήθηκε στις τέσσερις δειγματοληψίες

Όπως φαίνεται στα παραπάνω γραφήματα, παρατηρούμε όσον αφορά στην ολική μικροβιακή χλωρίδα στους 37 °C, τα δείγματα που εμφάνισαν έντονες διακυμάνσεις στον αριθμό των αποικιών ήταν εκείνα των εταιριών Γ, Δ, Ε, Ζ, Η όπου σε μία δειγματοληψία μπορεί να μην εμφάνισαν αποικίες ενώ σε άλλη να είχαν πάνω από 1000 CFU/mL α δείγματα των υπόλοιπων εταιριών, παρουσίασαν πιο ήπιες διακυμάνσεις χωρίς να εμφανίσουν πολύ μεγάλο αριθμό αποικιών. Τα δείγματα των εταιριών Α, Β και Κ διαπιστώνεται ότι δεν ξεπέρασαν τις 200 CFU/mL κατά την πορεία των δειγματοληψιών, ούτε κατά τους θερμούς μήνες του θέρους.

Στην περίπτωση της ολικής μικροβιακής χλωρίδας των 22 °C παρατηρείται εντονότερη η ύπαρξη των αποικιών. Μεγάλες διακυμάνσεις αυτή τη φορά σημείωσαν περισσότερα δείγματα, όπως συγκεκριμένα τα δείγματα των εταιριών Α, Γ, Δ, Ε, Ζ, Η, Λ. Αντίθετα, τα δείγματα των εταιριών ΣΤ, Θ, Ι παρουσίασαν μικρές διακυμάνσεις χωρίς να ξεπέρασουν τις 200 CFU/mL κατά τη διεξαγωγή των πειραματικών μετρήσεων.

4.2. Αποτελέσματα βιοχημικής ταυτοποίησης των βακτηρίων με το σύστημα API

Για τον προσδιορισμό του γένους και του είδους των βακτηρίων που ανιχνεύθηκαν στα δείγματα των εμφιαλωμένων νερών πραγματοποιήθηκε βιοχημική ταυτοποίηση με το σύστημα API. Για την ταυτοποίηση αυτή απομονώθηκαν ορισμένα βακτήρια τα οποία είχαν καλλιεργηθεί στα θρεπτικά υλικά m-Endo, Slanetz & Bartley Medium, Pseudomonas agar, HiCrome καθώς και Plate Count.

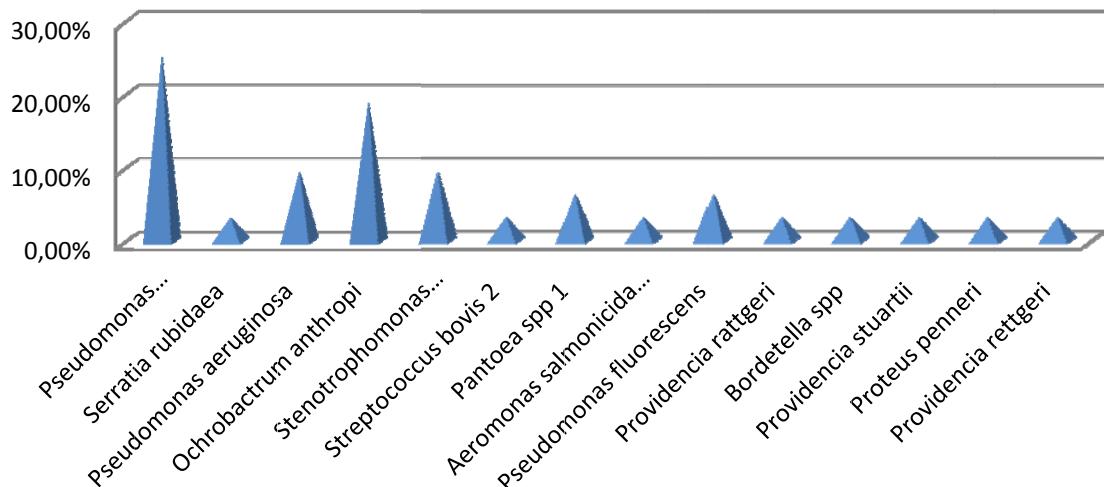
Στον παρακάτω πίνακα καταγράφονται τα αποτελέσματα της βιοχημικής ταυτοποίησης με το σύστημα API.

Πίνακας 11 – ΒΙΟΧΗΜΙΚΗ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΜΕ ΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ API

ΕΤΑΙΡΙΑ	ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ	ΥΛΙΚΟ	ΕΙΔΟΣ
ΕΤΑΙΡΙΑ Α	2/4/2013	Plate count 22 °C	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
	29/3/2013	Slanetz & Bartley Medium	<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>
ΕΤΑΙΡΙΑ Β	15/5/2013	Plate count 37 °C	<i>Providencia rattgeri</i>
	17/5/2013	Plate count 37 °C	<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>
	22/3/2013	HiCrome	<i>Pseudomonadas fluorescens</i>
ΕΤΑΙΡΙΑ Γ	2/4/2013	Plate count 22 °C	<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>
	2/4/2013	Pseudomonas agar	<i>Pseudomonasaeruginosa</i>
ΕΤΑΙΡΙΑ Δ	2/4/2013	Plate count 22 °C	<i>Ochrobactrum anthropi</i>
	2/4/2013	Plate count 22 °C	<i>Ochrobactrum anthropi</i>
	13/3/2013	Slanetz & Bartley Medium	<i>Proteus penneri</i>
ΕΤΑΙΡΙΑ Ε	2/4/2013	Plalte count 22 °C	<i>Ochrobactrum anthropi</i>
	2/4/2013	Plate count 37 °C	<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>
ΕΤΑΙΡΙΑ ΣΤ	22/3/2013	Slanetz & Bartley Medium	<i>Providencia rettgeri</i>
ΕΤΑΙΡΙΑ Ζ	15/5/2013	Pseudomonas agar	<i>Aeromonas salmonicida ssp salmonicida</i>
	17/5/2013	Plate count 22 °C	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
	2/4/2013	Plate count 22 °C	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
	2/4/2013	Plate count 22 °C	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	2/4/2013	Plate count 22 °C	<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>
	2/4/2013	Plate count 37 °C	<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>
ΕΤΑΙΡΙΑ Η	11/6/2013	Plate count 37 °C	<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>
	2/4/2013	Plate count 22 °C	<i>Ochrobactrum anthropi</i>
	2/4/2013	Plate count 37 °C	<i>Ochrobactrum anthropi</i>
	22/3/2013	Pseudomonas agar	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
	2/4/2013	Pseudomonas agar	<i>Ochrobactrum anthropi</i>
	29/3/2013	Slanetz & Bartley Medium	<i>Streptococcus bovis</i>
	2/4/2013	Slanetz & Bartley Medium	<i>Pantoea spp.</i>
ΕΤΑΙΡΙΑ Θ	6/6/2013	Pseudomonas agar	<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>
	6/6/2013	Plate count 37 °C	<i>Serratia rubidaea</i>
ΕΤΑΙΡΙΑ Ι	7/6/2013	HiCrome	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
ΕΤΑΙΡΙΑ Λ	10/6/2013	Plate count 37 °C	<i>Bordetella spp.</i>
	10/6/2013	Slanetz & Bartley Medium	<i>Pantoea spp.</i>
	2/4/2013	Plate count 37 °C	<i>Providencia stuartii</i>

Ακολουθεί γράφημα με τη συχνότητα εμφάνισης των βακτηρίων στα δείγματα.

ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΣΕ ΟΛΕΣ ΤΙΣ ΥΠΟ ΕΞΕΤΑΣΗ ΕΤΑΙΡΙΕΣ



Γράφημα 20 - Συχνότητας εμφάνισης των ταυτοποιημένων βακτηρίων

4.2.1. Βασικές πληροφορίες για τους ανιχνευμένους μικροοργανισμούς

Stenotrophomonas maltophilia: Είναι ένα αερόβιο βακτήριο, το οποίο προκαλεί ασθένειες όπως ουρολοίμωξη, πνευμονία και μόλυνση του αίματος.

Pseudomonas oryzihabitans: Είναι ένα ραβδόμορφο βακτήριο, το οποίο μπορεί να προκαλέσει σηψαμία, περιτονίτιδα και ενδοφθαλμίτιδα.

Pseudomonas fluorescens: Είναι ένα ραβδόμορφο βακτήριο, το οποίο μπορεί να υπάρξει ακίνδυνα στο ανθρώπινο σώμα, αν αυτό έχει υγειές ανοσοποιητικό σύστημα.

Serratia rubidaea: Είναι προαιρετικά αναερόβιο βακτήριο, το οποίο μπορεί να ευθύνεται για λοιμώξεις της κυκλοφορίας του αίματος, της κάτω αναπνευστικής οδού και του ουροποιητικού συστήματος.

Ochrobactrum anthropi: Είναι βακτήριο, το οποίο αποικίζει σε ένα ευρύ φάσμα οργανισμών, όμως οι περιπτώσεις που γίνεται παθογόνο είναι σπάνιες.

Pantoea spp: Είναι αερόβιο βακτήριο, το οποίο μπορεί να προκαλέσει λοίμωξη στο κυκλοφορικό καθώς και στο ουροποιητικό σύστημα.

Aeromonas salmonicida ssp *salmonicida*: Είναι αναερόβιο βακτήριο που συνδέεται συχνά με τη γαστρεντερίτιδα.

Providencia rettgeri: Είναι ένα βακτήριο, το οποίο συναντάται τόσο στο νερό όσο και στο έδαφος και προκαλεί λοιμώξεις στο ουροποιητικό σύστημα.

Providencia stuartii: Είναι ένα βακτήριο, το οποίο βρίσκεται συνήθως στο νερό, στο χώμα και στις αποχετεύσεις και το οποίο μπορεί να προσβάλλει το ουροποιητικό καθώς και το κυκλοφορικό σύστημα.

Proteus penneri: Είναι προαιρετικά αναερόβιο βακτήριο και σχετίζεται με λοιμώξεις του ουροποιητικού συστήματος.

Bordetella ssp: Είναι βακτήριο, το οποίο αποτελεί παθογόνο του αναπνευστικού συστήματος ιδιαίτερα στα θηλαστικά.

Όπως διαπιστώνεται οι ανιχνευμένοι μικροοργανισμοί ως επί το πλείστον δύνανται να προσβάλουν το ουροποιητικό, το αναπνευστικό, το κυκλοφορικό καθώς και το γαστρεντερικό σύστημα ενώ λίγοι είναι εκείνοι που καθίστανται αβλαβείς για την ανθρώπινη υγεία. Γι ‘αυτό χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή, παρότι δεν ανήκουν στους μικροβιακούς δείκτες που προτείνει η νομοθεσία.

4.2.2. Ανιχνευμένες ψευδομονάδες – είδη

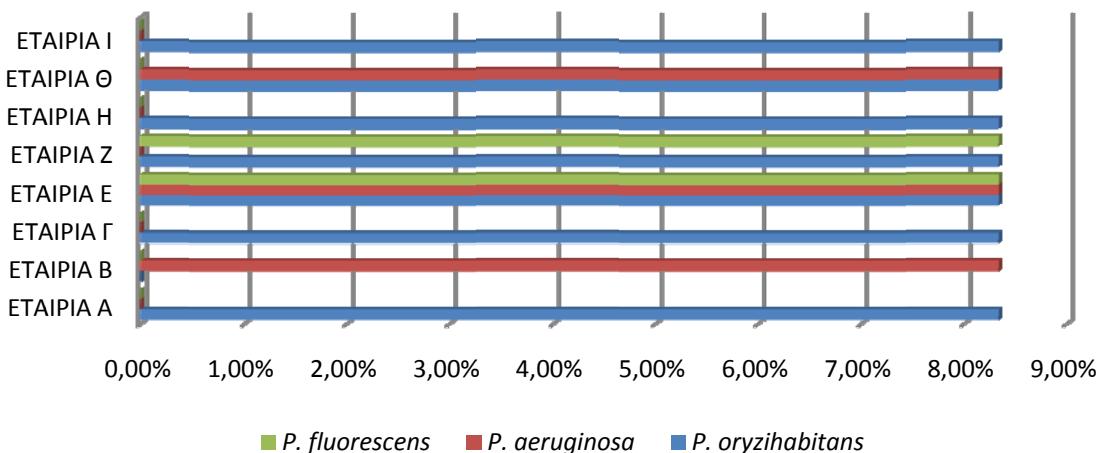
Το γένος *Pseudomonas* ανήκει στην οικογένεια των γ-πρωτεοβακτηρίων Pseudomonaceae και περιλαμβάνει περισσότερα από 191 είδη. Μέλη του γένους *Pseudomonas* εμφανίζουν αξιοσημείωτη μεταβολική και φυσιολογική ποικιλομορφία, γεγονός που τους επιτρέπει να αποικίζουν σε διάφορους χερσαίους και υδάτινους οικολογικούς θώκους. Μέλη τους έχουν μεγάλο ενδιαφέρον λόγω της σπουδαιότητάς τους σε ασθένειες των φυτών και των ανθρώπων [Άδαμοπούλου, 2012].

Στον παρακάτω πίνακα καθώς και στα διαγράμματα που ακολουθούν φαίνονται τα είδη ψευδομονάδας που ανιχνεύτηκαν στα δείγματα καθώς και η συχνότητα εμφάνισής τους.

Πίνακας 12 - ΕΙΔΗ ΨΕΥΔΟΜΟΝΑΔΑΣ ΣΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

ΕΤΑΙΡΙΑ	ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ	ΥΛΙΚΟ	ΕΙΔΟΣ <i>Pseudomonas</i>
ΕΤΑΙΡΙΑ Α	29/3/2013	Slanetz&Bartley medium	<i>P. oryzihabitans</i>
ΕΤΑΙΡΙΑ Β	17/5/2013	Plate count 37 °C	<i>P. oryzihabitans</i>
ΕΤΑΙΡΙΑ Β	22/3/2013	HiCrome	<i>P. fluorescens</i>
ΕΤΑΙΡΙΑ Γ	2/4/2013	Plate Count 22 °C	<i>P. oryzihabitans</i>
ΕΤΑΙΡΙΑ Γ	2/4/2013	<i>Pseudomonas agar base</i>	<i>P. aeruginosa</i>
ΕΤΑΙΡΙΑΕ	2/4/2013	Plate Count 37 °C	<i>P. oryzihabitans</i>
ΕΤΑΙΡΙΑΖ	2/4/2013	Plate Count 37 °C	<i>P. oryzihabitans</i>
ΕΤΑΙΡΙΑΖ	2/4/2013	Plate Count 22 °C	<i>P. aeruginosa</i>
ΕΤΑΙΡΙΑΖ	2/4/2013	Plate Count 22 °C	<i>P. fluorescens</i>
ΕΤΑΙΡΙΑΗ	11/6/2013	Plate Count 37 °C	<i>P. oryzihabitans</i>
ΕΤΑΙΡΙΑΘ	6/6/2013	<i>Pseudomonas agar base</i>	<i>P. oryzihabitans</i>
ΕΤΑΙΡΙΑΙ	7/6/2013	HiCrome	<i>P. aeruginosa</i>

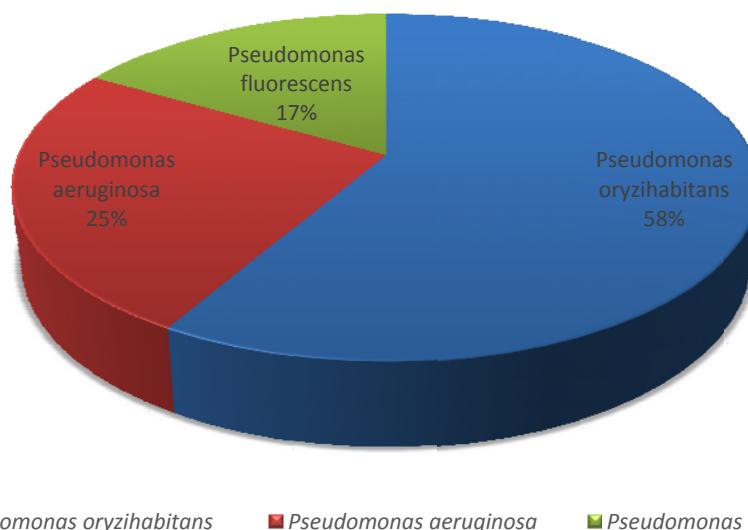
ΕΙΔΗ ΨΕΥΔΟΜΟΝΑΔΑΣ- ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ



Γράφημα 21 – Είδη ψευδομονάδας και συχνότητα εμφάνισης στα δείγματα

Από το παραπάνω γράφημα φαίνεται ότι τα δείγματα στα οποία ανιχνεύθηκαν ψευδομονάδες ανήκουν στις εταιρίες Α, Β, Γ, Ε, Ζ, Η, Θ, Ι. Η περισσότερο εμφανιζόμενη ψευδομονάδα είναι η *Pseudomonas oryzihabitans*, η οποία βρέθηκε στα δείγματα των εταιριών Α, Γ, Ε, Ζ, Η, Θ, Ι. Ενώ η *Pseudomonas aeruginosa*, η οποία είναι και πιο σημαντική διότι αποτελεί μικροβιακό δείκτη, φαίνεται να εμφανίζεται σε δείγματα των εταιριών Β, Ε και Θ. Τέλος λιγότερο συχνά, εμφανίστηκε η *Pseudomonas fluorescens* στα δείγματα των εταιριών Ε και Ζ. Για την πλήρη εικόνα της παρουσίας των διάφορων ειδών ψευδομονάδας στα υπό εξέταση δείγματα, ακολουθούν προσοτιαία γραφήματα για κάθε είδος.

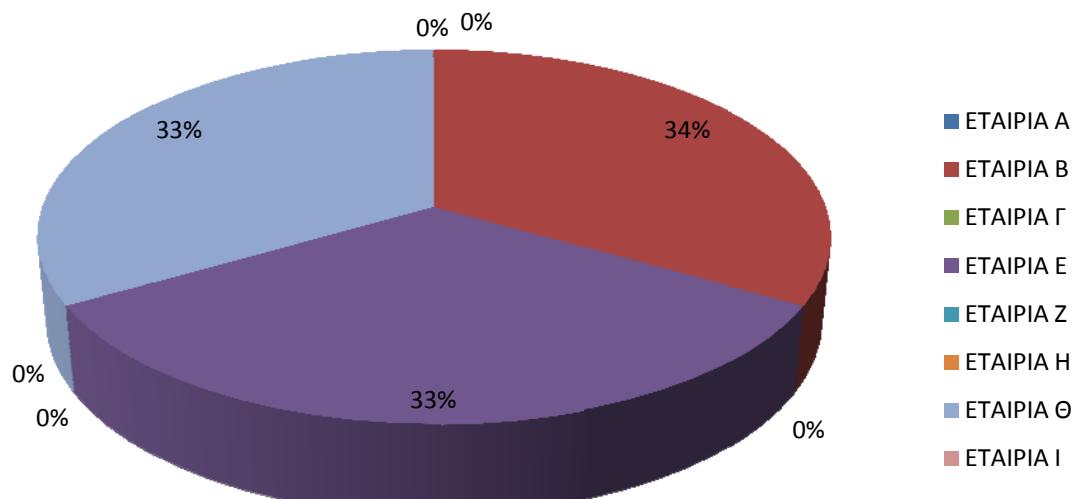
ΕΙΔΗ ΨΕΥΔΟΜΟΝΑΔΑΣ - ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ



Γράφημα 22 - Είδη ψευδομονάδας και συχνότητα εμφάνισής τους στα δείγματα

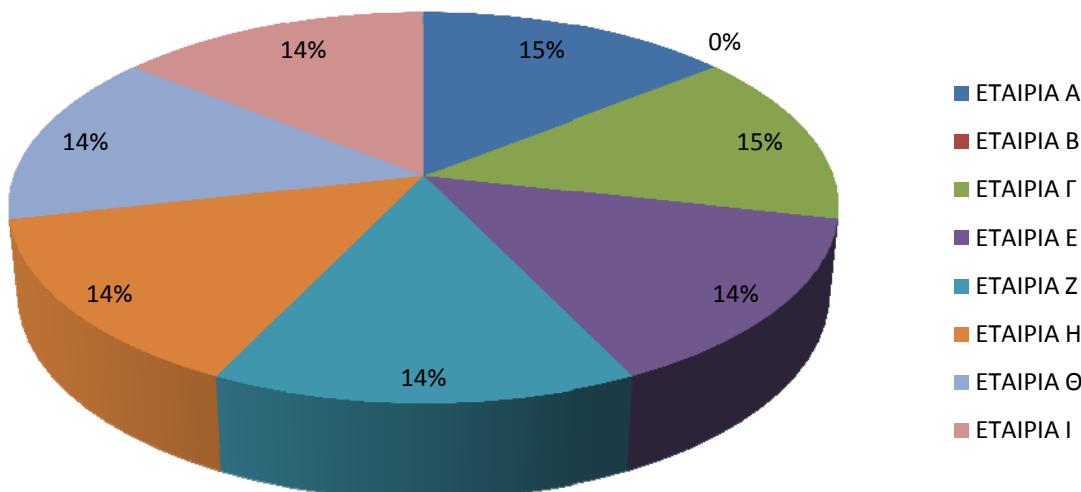
Από το παραπάνω γράφημα διαπιστώνεται ότι η πιο συχνοεμφανιζόμενη ψευδομονάδα ήταν η *Pseudomonas oryzihabitans*, έπειτα σε χαμηλότερο ποσοστό η *Pseudomonas aeruginosa* και σε πιο μικρό ποσοστό η *Pseudomonas fluorescens*.

Pseudomonas aeruginosa



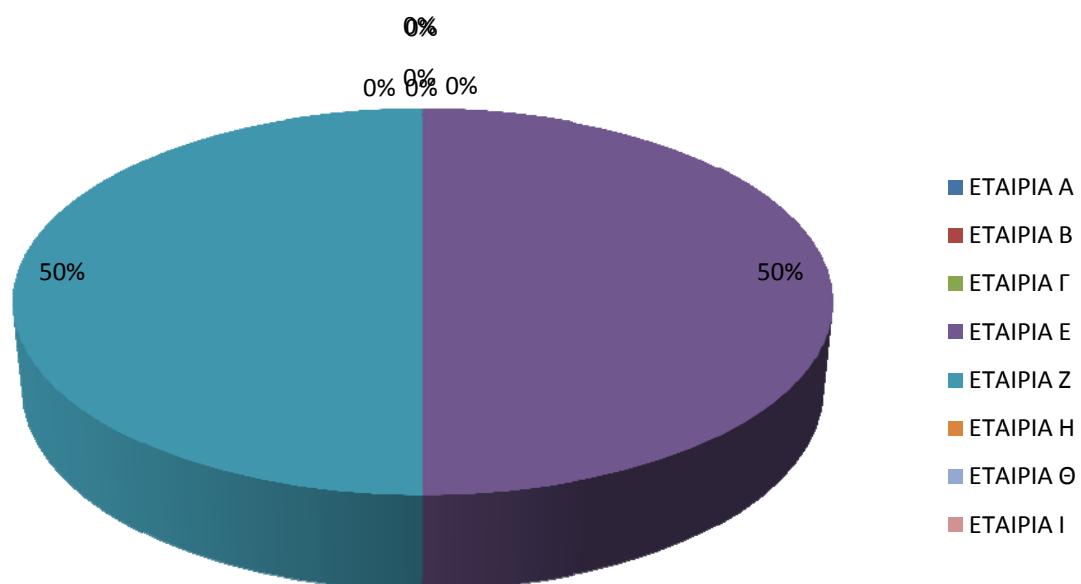
Γράφημα 23 – Συχνότητα εμφάνισης *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas oryzihabitans



Γράφημα 24 - Συχνότητα εμφάνισης *Pseudomonas oryzihabitans*

Pseudomonas fluorescens



Γράφημα 25 - Συχνότητα εμφάνισης *Pseudomonas fluorescens*

4.3. Αποτελέσματα μικροβιολογικής ποιότητας των εμφιαλωμένων νερών σε κακές συνθήκες συντήρησης



Εικόνα 19

Είναι γνωστόν ότι το εμφιαλωμένο νερό δεν πρέπει να βρίσκεται εκτεθειμένο στον ήλιο και σε υψηλές θερμοκρασίες γενικότερα διότι αυτές οι συνθήκες ευνοούν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών σε αυτό. Στην παρούσα διπλωματική εργασία έγινε μελέτη της μικροβιολογικής ποιότητας των εμφιαλωμένων νερών, όταν αυτά ήταν εκτεθειμένα σε χώρο όπου επιδρούσε η ακτινοβολία του ηλίου. Κατά την τρίτη και τέταρτη δειγματοληψία, οι οποίες διεξήχθησαν Μάιο και Ιούνιο, έγιναν δύο μικροβιολογικές αναλύσεις σε κάθε δειγματοληψία. Η μία όπως αναφέρεται προηγουμένως, η άλλη έγινε αφού τα δείγματα εκτέθηκαν σε ηλιακή ακτινοβολία και υψηλή θερμοκρασία. Στη δειγματοληψία του Μαΐου τα δείγματα εκτέθηκαν για 2 ημέρες, ενώ στη δειγματοληψία του Ιουνίου για 4 ημέρες και κατόπιν έγινε η μικροβιολογική ανάλυση. Για να γίνει πιο σαφής η σύγκριση των δειγματοληψιών υπό και χωρίς την επίδραση του ηλίου, στους παρακάτω πίνακες παρατίθενται τα αποτελέσματα που προέκυψαν κατά την τρίτη και τέταρτη δειγματοληψία σε κάθε περίπτωση.

Πίνακας 13 – ΤΡΙΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ

ΕΤΑΙΡΙΑ	Ολικά κολοβακτηριοειδή (CFU/250 mL)		<i>Escherichia coli</i> (CFU/250 mL)		Εντερόκοκκοι (CFU/250 mL)		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CFU/250 mL)	
	ΚΑΝΟΝΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ	ΣΤΟΝ ΗΛΙΟ	ΚΑΝΟΝΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ	ΣΤΟΝ ΗΛΙΟ	ΚΑΝΟΝΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ	ΣΤΟΝ ΗΛΙΟ	ΚΑΝΟΝΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ	ΣΤΟΝ ΗΛΙΟ
ΕΤΑΙΡΙΑ Α	0	0	0	0	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Β	0	0	0	0	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Γ	0	0	0	0	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Δ	0	0	0	0	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Ε	0	0	0	0	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ ΣΤ	0	0	3	0	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Ζ	0	0	52	0	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Η	0	0	0	0	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Θ	0	0	0	0	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Ι	0	0	0	0	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Κ	0	0	0	0	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Λ	0	0	0	0	0	0	0	0

Πίνακας 14 – ΤΕΤΑΡΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ

ΕΤΑΙΡΙΑ	Ολικά κολοβακτηριοειδή (CFU/250 mL)		<i>Escherichia coli</i> (CFU/250 mL)		Εντερόκοκκοι (CFU/250 mL)		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CFU/250 mL)	
	ΚΑΝΟΝΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ	ΣΤΟΝ ΗΛΙΟ	ΚΑΝΟΝΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ	ΣΤΟΝ ΗΛΙΟ	ΚΑΝΟΝΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ	ΣΤΟΝ ΗΛΙΟ	ΚΑΝΟΝΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ	ΣΤΟΝ ΗΛΙΟ
ΕΤΑΙΡΙΑ Α	0	0	0	0	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Β	0	0	0	0	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Γ	0	0	0	0	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Δ	0	0	0	0	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Ε	0	0	0	0	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ ΣΤ	0	0	0	0	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Ζ	0	0	0	0	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Η	0	0	0	0	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Θ	0	0	0	0	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Ι	0	0	0	0	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Κ	0	0	0	0	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Λ	0	0	0	0	0	0	0	0

Από τους παραπάνω πίνακες παρατηρείται ότι στην τρίτη δειγματοληψία ενώ στα δείγματα που διατηρήθηκαν σε κανονικές συνθήκες εμφανίστηκαν αποικίες *Escherichia coli*, στα δείγματα που βρίσκονταν υπό την επίδραση του ηλίου δε σημειώθηκε καμία αποικία. Το συμπέρασμα αυτό δεν ήταν αναμενόμενο, διότι όπως προαναφέρθηκε θεωρητικά θα έπρεπε να περιμέναμε τον ίδιο ή και μεγαλύτερο αριθμό αποικιών εφόσον οι ηλιοφάνεια και η θερμοκρασία αποτελούν ευνοϊκές συνθήκες για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Όμως ενδέχεται να ήταν

μολυσμένα μόνο τα συγκεκριμένα δείγματα, συνεπώς να μην φάνηκαν οι επιπτώσεις του ήλιου στα άλλα διότι ήταν καθαρά.

Πίνακας 15 - ΤΡΙΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ ΟΛΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ 22 °C

ΕΤΑΙΡΙΑ	ΚΑΝΟΝΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ (CFU/ mL)	ΣΤΟΝ ΗΛΙΟ (CFU/ mL)
ΕΤΑΙΡΙΑ Α	149	171
ΕΤΑΙΡΙΑ Β	166	299
ΕΤΑΙΡΙΑ Γ	TMTC	387
ΕΤΑΙΡΙΑ Δ	150	15
ΕΤΑΙΡΙΑ Ε	TMTC	84
ΕΤΑΙΡΙΑ ΣΤ	318	92
ΕΤΑΙΡΙΑ Ζ	4	9
ΕΤΑΙΡΙΑ Η	TMTC	886
ΕΤΑΙΡΙΑ Θ	4	TMTC
ΕΤΑΙΡΙΑ Ι	44	41
ΕΤΑΙΡΙΑ Κ	131	TMTC
ΕΤΑΙΡΙΑ Λ	TMTC	TMTC

TMTC: too much to count, CFU>1000/mL

Πίνακας 16 – ΤΡΙΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ ΟΛΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ 37 °C

ΕΤΑΙΡΙΑ	ΚΑΝΟΝΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ (CFU/ mL)	ΣΤΟΝ ΗΛΙΟ (CFU/ mL)
ΕΤΑΙΡΙΑ Α	106	171
ΕΤΑΙΡΙΑ Β	68	299
ΕΤΑΙΡΙΑ Γ	TMTC	387
ΕΤΑΙΡΙΑ Δ	140	15
ΕΤΑΙΡΙΑ Ε	176	84
ΕΤΑΙΡΙΑ ΣΤ	516	92
ΕΤΑΙΡΙΑ Ζ	0	9
ΕΤΑΙΡΙΑ Η	TMTC	886
ΕΤΑΙΡΙΑ Θ	0	TMTC
ΕΤΑΙΡΙΑ Ι	248	41
ΕΤΑΙΡΙΑ Κ	0	TMTC
ΕΤΑΙΡΙΑ Λ	307	TMTC

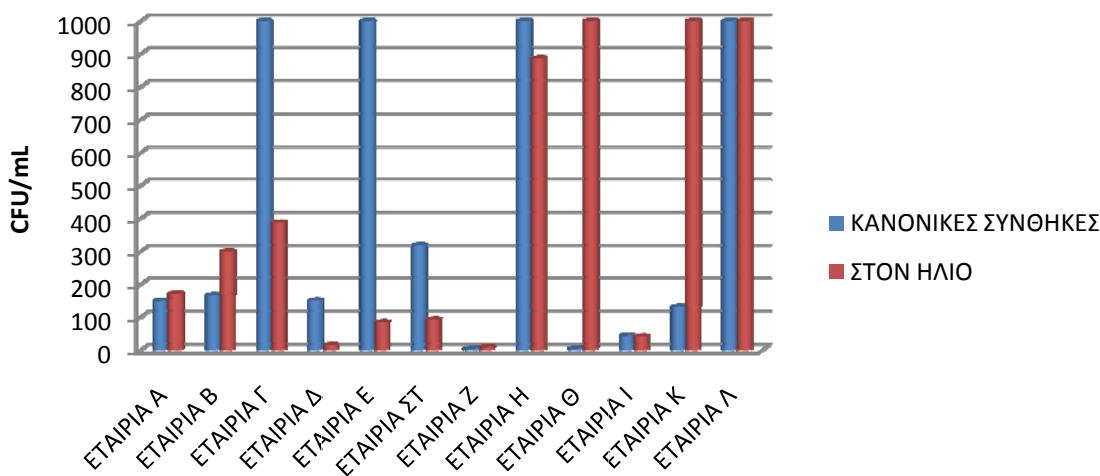
Πίνακας 17 – ΤΕΤΑΡΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ ΟΛΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ 22 °C

ΕΤΑΙΡΙΑ	ΚΑΝΟΝΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ (CFU/ mL)	ΣΤΟΝ ΗΛΙΟ (CFU/ mL)
ΕΤΑΙΡΙΑ Α	173	927
ΕΤΑΙΡΙΑ Β	63	3
ΕΤΑΙΡΙΑ Γ	415	TMTC
ΕΤΑΙΡΙΑ Δ	TMTC	389
ΕΤΑΙΡΙΑ Ε	TMTC	TMTC
ΕΤΑΙΡΙΑ ΣΤ	136	6
ΕΤΑΙΡΙΑ Ζ	268	TMTC
ΕΤΑΙΡΙΑ Η	TMTC	736
ΕΤΑΙΡΙΑ Θ	144	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Ι	106	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Κ	7	10
ΕΤΑΙΡΙΑ Λ	9	TMTC

Πίνακας 18 – ΤΕΤΑΡΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ ΟΛΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ 37 °C

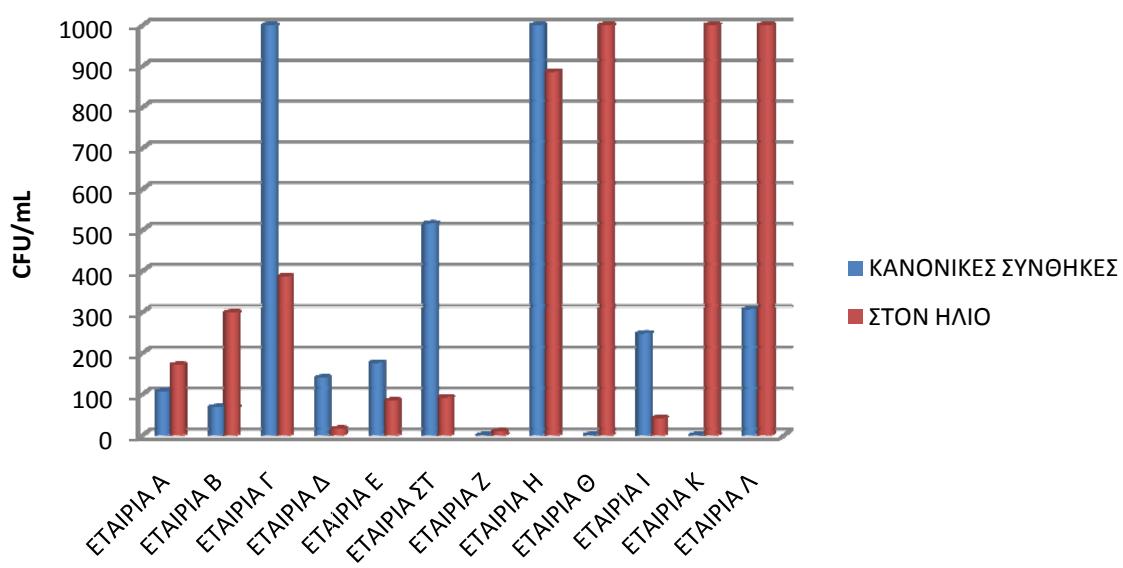
ΕΤΑΙΡΙΑ	ΚΑΝΟΝΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ (CFU/ mL)	ΣΤΟΝ ΗΛΙΟ (CFU/ mL)
ΕΤΑΙΡΙΑ Α	248	2
ΕΤΑΙΡΙΑ Β	63	3
ΕΤΑΙΡΙΑ Γ	140	TMTC
ΕΤΑΙΡΙΑ Δ	0	7
ΕΤΑΙΡΙΑ Ε	767	TMTC
ΕΤΑΙΡΙΑ ΣΤ	22	4
ΕΤΑΙΡΙΑ Ζ	68	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Η	474	121
ΕΤΑΙΡΙΑ Θ	106	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Ι	6	31
ΕΤΑΙΡΙΑ Κ	100	35
ΕΤΑΙΡΙΑ Λ	516	1

ΟΛΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ 22°C ΤΡΙΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ



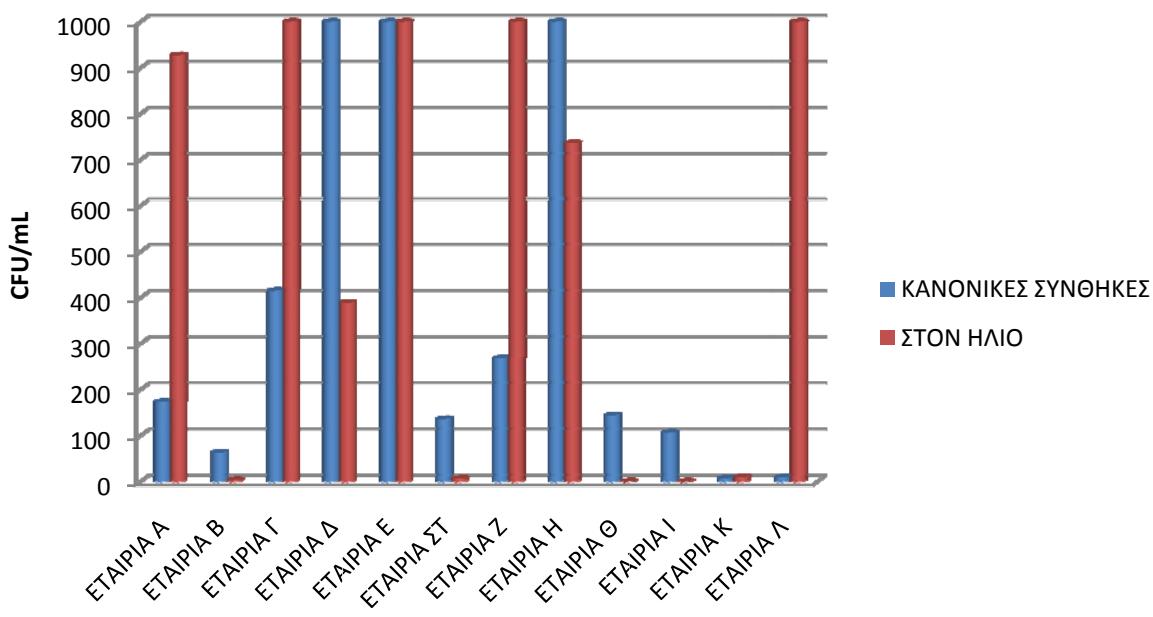
Γράφημα 26 - Ολική μικροβιακή χλωρίδα στους 22°C της τρίτης δειγματοληψίας

ΟΛΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ 37°C ΤΡΙΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ



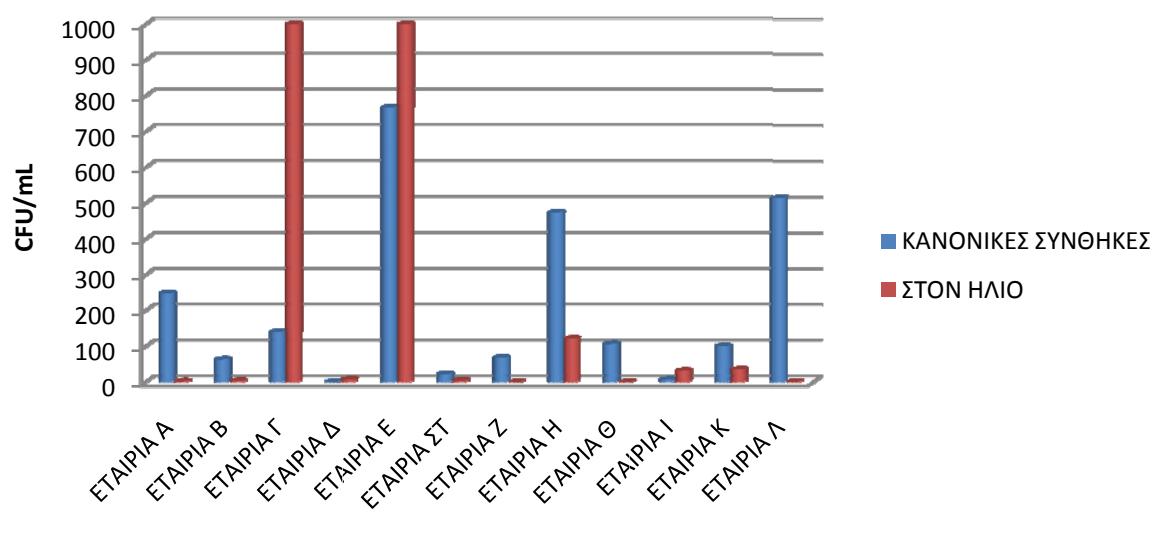
Γράφημα 27 - Ολική μικροβιακή χλωρίδα στους 37 °C της τρίτης δειγματοληψίας

ΟΛΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ 22°C ΤΕΤΑΡΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ



Γράφημα 28 - Ολική μικροβιακή χλωρίδα στους 22 °C της τέταρτης δειγματοληψίας

ΟΛΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ 37°C ΤΕΤΑΡΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ



Γράφημα 29 - Ολική μικροβιακή χλωρίδα στους 37 °C της τέταρτης δειγματοληψίας

Παρατηρώντας τους παραπάνω πίνακες αλλά ιδιαίτερα τα διαγράμματα, όπου γίνεται πιο εμφανές, συγκεκριμένα δείγματα σημείωσαν διαφορές ως προς τον αριθμό αποικιών όσον αφορά στην ολική μικροβιακή χλωρίδα ενώ τα περισσότερα κυμάνθηκαν περίπου στον ίδιο αριθμό αποικιών, σε καλές ή μη συνθήκες συντήρησης. Συγκεκριμένα όσον αφορά στο πρώτο γράφημα της παρούσας ενότητας, δηλαδή την ολική μικροβιακή χλωρίδα στους 22 °C της τρίτης δειγματοληψίας, παρατηρείται ότι τα δείγματα των εταιριών Θ, Κ που αφέθηκαν στον ήλιο εμφάνισαν περισσότερες αποικίες από αυτά που διατηρήθηκαν σε κανονικές συνθήκες αντιθέτως με τις εταιρίες Γ, Ε όπου τα δείγματα τα οποία βρίσκονταν σε κανονικές συνθήκες συντήρησης εμφάνισαν περισσότερες αποικίες από αυτά που βρίσκονταν υπό την έκθεση του ηλίου. Στο επόμενο γράφημα, όσον αφορά την ολική μικροβιακή χλωρίδα στους 37 °C της τρίτης επίσης δειγματοληψίας, βλέπουμε ομοίως τα δείγματα των εταιριών Κ, Θ αλλά και επιπλέον της εταιρίας Λ να έχουν δεχτεί την επίδραση των συνεπειών της έκθεσης τους στον ήλιο καθώς αυτά εμφανίζουν αρκετά μεγαλύτερο αριθμό σε σύγκριση με τα άλλα που βρίσκονταν σε κανονικές συνθήκες. Ενώ τα δείγματα των εταιριών Γ, ΣΤ φαίνεται να είχαν λιγότερες αποικίες όταν βρέθηκαν υπό την ακτινοβολία του ηλίου σε σύγκριση με τα υπό κανονικές συνθήκες εξεταζόμενα δείγματα. Εν συνεχείᾳ διακρίνεται στην τέταρτη δειγματοληψία όσον αφορά την ολική μικροβιακή χλωρίδα των °C ότι ένα μεγάλο μέρος των δειγμάτων, συγκεκριμένα των εταιριών Α, Γ, Ζ, Λ, εμφάνισαν αρκετά περισσότερες αποικίες όταν αυτά βρίσκονταν σε κακές συνθήκες συντήρησης ενώ μόνο το δείγμα της εταιρίας Δ εμφάνισε περισσότερες αποικίες σε κανονικές συνθήκες συντήρησης. Τέλος, στην τέταρτη δειγματοληψία, η ολική μικροβιακή χλωρίδα των °C σημείωσε διαφορές στις εταιρίες Γ, Ε όπου είχαμε μεγαλύτερο αριθμό αποικιών όταν τα δείγματά τους βρέθηκαν στον ήλιο και στις εταιρίες Α, Η, Λ που εμφάνισαν μικρότερο αριθμό αποικιών όταν τα δείγματά τους βρέθηκαν στον ήλιο.

4.4. Αποτελέσματα διερεύνησης επιβίωσης βακτηρίων στα δείγματα

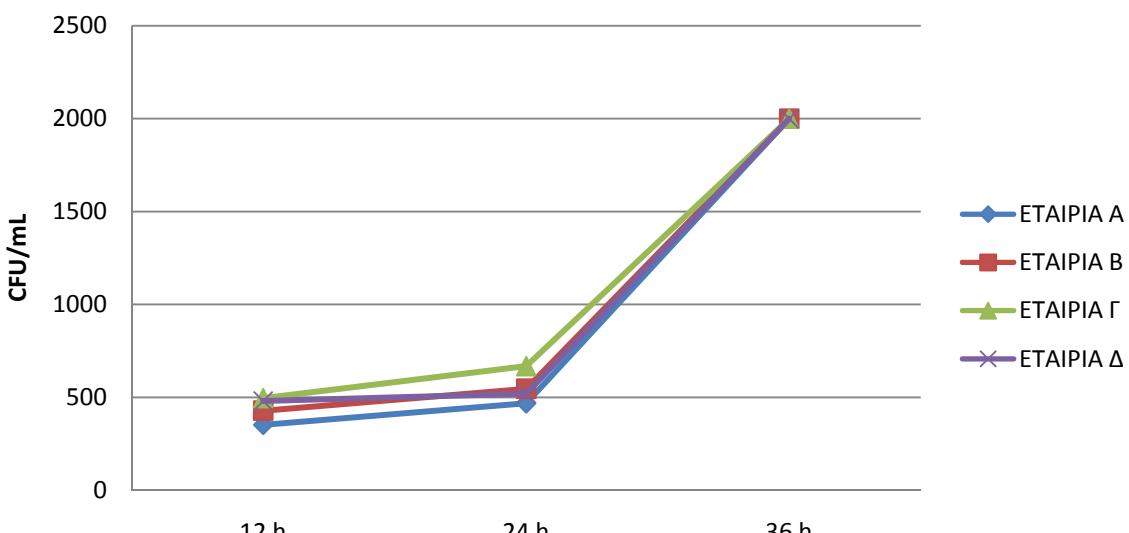
Για τη διερεύνηση επιβίωσης των βακτηρίων στα δείγματα, τα δείγματα αφού αποστειρώθηκαν, εμβολιάστηκαν με τους μικροβιακούς δείκτες: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* και κοπρανώδεις στρεπτόκοκκοι και κατόπιν έγινε μικροβιολογική ανάλυση σε αυτά μετά από 12, 24 καθώς και 48 ώρες. Σκοπός του πειράματος αυτού είναι να μελετηθεί η ανάπτυξη των βακτηρίων αυτών στο εμφιαλωμένο νερό, έτσι ώστε να διαμορφωθεί μία πληρέστερη εικόνα της επικινδυνότητας που ενέχει η εμφάνισή τους σε αυτό.

Κατά τη διεξαγωγή του πειράματος αυτού για την *Pseudomonas aeruginosa* καθώς και για τους κοπρανώδεις στρεπτόκοκκους οι αποικίες ήταν πάρα πολλές για να μετρηθούν από το πρώτο κιόλας δωδεκάρο. Όμως το βακτήριο *Escherichia coli* εμφάνισε μετρήσιμες αποικίες. Τα αποτελέσματα όσον αφορά την επιβίωση του *Escherichia coli* στα δείγματα των εταιριών φαίνονται στον παρακάτω πίνακα και στα γραφήματα που ακολουθούν.

Πίνακας 19 - ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ ESCHERICHIA COLI ΣΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

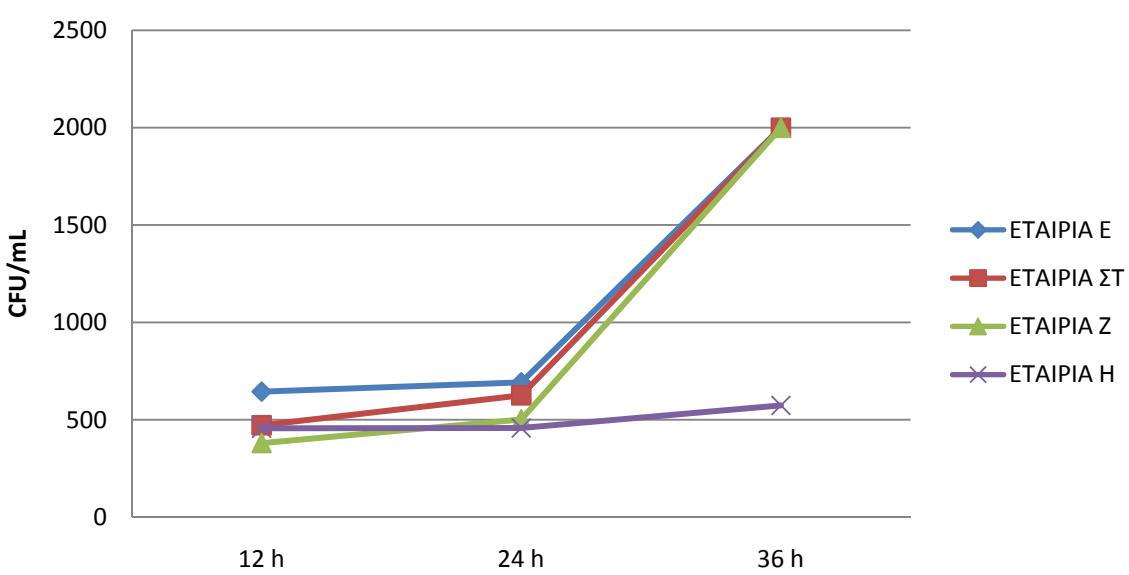
ΕΤΑΙΡΙΕΣ	12 h	24 h	48 h
ΕΤΑΙΡΙΑ Α	352	468	2000
ΕΤΑΙΡΙΑ Β	428	546	2000
ΕΤΑΙΡΙΑ Γ	496	668	2000
ΕΤΑΙΡΙΑ Δ	480	520	2000
ΕΤΑΙΡΙΑ Ε	644	692	2000
ΕΤΑΙΡΙΑ ΣΤ	472	626	2000
ΕΤΑΙΡΙΑ Ζ	380	502	2000
ΕΤΑΙΡΙΑ Η	456	458	574
ΕΤΑΙΡΙΑ Θ	504	542	2000
ΕΤΑΙΡΙΑ Ι	428	544	566
ΕΤΑΙΡΙΑ Κ	456	458	2000
ΕΤΑΙΡΙΑ Λ	580	2000	2000

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ *Escherichia coli*

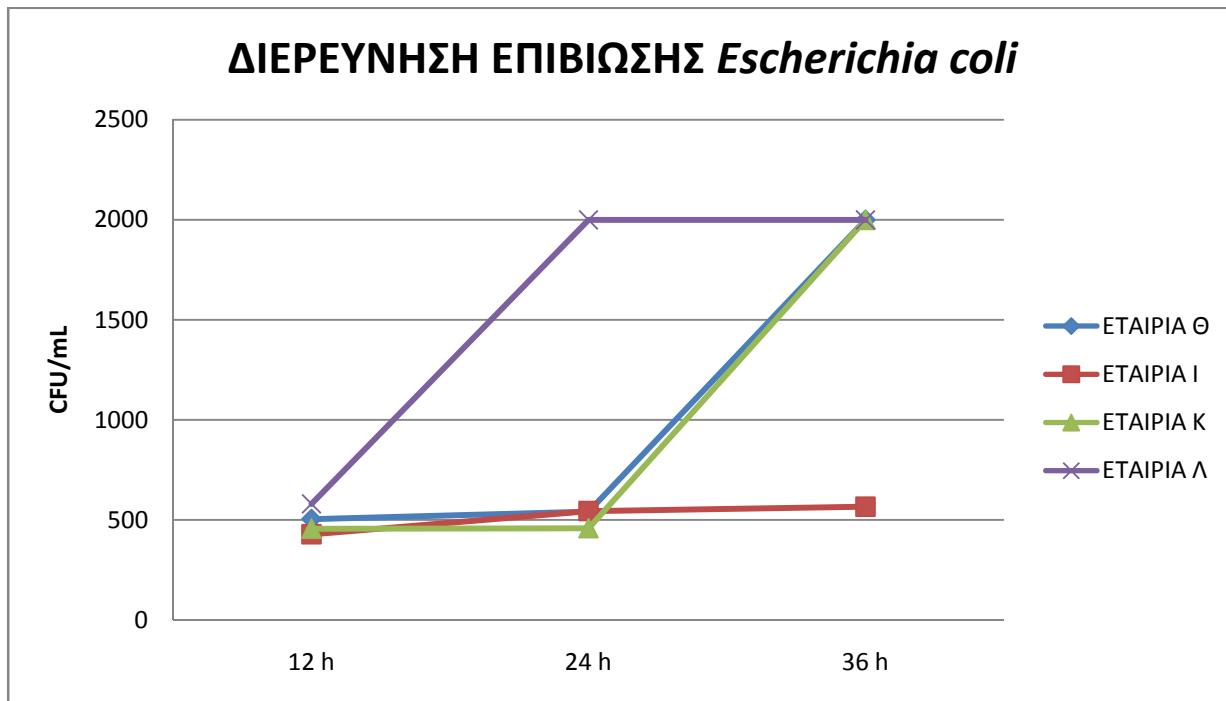


Γράφημα 30 - Διερεύνηση επιβίωσης του *Escherichia coli* στα δείγματα

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ *Escherichia coli*



Γράφημα 31 - Διερεύνηση επιβίωσης του *Escherichia coli* στα δείγματα



Γράφημα 32 - Διερεύνηση επιβίωσης του *Escherichia coli* στα δείγματα

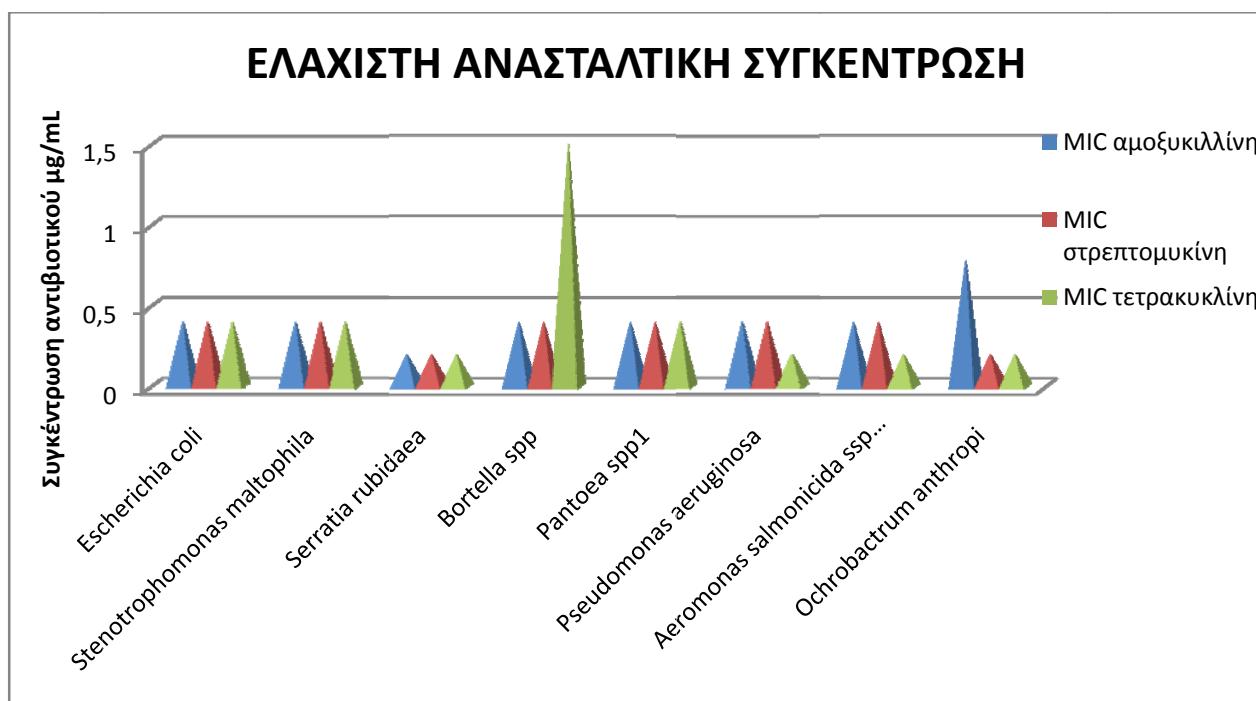
Όπως παρατηρείται από τα παραπάνω γραφήματα σε όλα τα δείγματα, με εξαίρεση αυτά των εταιριών Η, Ι, Λ το *Escherichia coli* έχει παρόμοιο ρυθμό ανάπτυξης. Δηλαδή μία μικρή αύξηση μέχρι τις 24 ώρες και αρκετά μεγάλη αύξηση μέχρι τις 36 ώρες. Στα δείγματα των εταιριών Λ και Η διατηρείται σχεδόν σταθερός ο ρυθμός ανάπτυξης καθώς μέχρι τις 24 ώρες και στη συνέχεια μέχρι τις 36 ώρες ο αριθμός των αποικιών δεν αυξάνεται πολύ. Στο δείγμα της εταιρίας Λ έχουμε μεγάλη αύξηση των αποικιών του *Escherichia coli* μέχρι τις 24 ώρες σε αντίθεση με όλα τα υπόλοιπα δείγματα.

4.5. Δοκιμή ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά στα απομονωμένα βακτηριακά στελέχη

Τα απομονωμένα βακτήρια εξετάστηκαν ως προς την ανθεκτικότητά τους σε ορισμένα αντιβιοτικά. Από τη διεξαγωγή των πειραμάτων για τον υπολογισμό της Ελάχιστης Ανασταλτικής Συγκέντρωσης προέκυψαν τα αποτελέσματα που παρατίθενται στον επόμενο πίνακα. Τα αποτελέσματα αφορούν βακτήρια τα οποία απομονώθηκαν από τα δείγματα των υπό εξέταση εταιριών. Συγκεκριμένα, στον πίνακα αναγράφεται η εταιρία του δείγματος, η ημερομηνία της δειγματοληψίας, ο μικροοργανισμός που ανιχνεύθηκε και η ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση των αντιβιοτικών: αμοξικιλίνη, στρεπτομυκίνη και τετρακυκλίνη.

Πίνακας 20 - ΕΛΑΧΙΣΤΗ ΑΝΑΣΤΑΛΤΙΚΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ (MIC)

ΕΤΑΙΡΙΑ	ΔΕΙΓΜΑ	ΒΑΚΤΗΡΙΟ	MIC αμοξικυλίνη	MIC στρεπτομυκίνη	MIC τετρακυκλίνη
ΕΤΑΙΡΙΑ Δ	8/10/2013	<i>Escherichia coli</i>	0,4 µg/mL	0,4 µg/mL	0,4 µg/mL
ΕΤΑΙΡΙΑ Α	2/4/2013	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0,4 µg/mL	0,4 µg/mL	0,4 µg/mL
ΕΤΑΙΡΙΑ Θ	6/6/2013	<i>Serratia rubidaea</i>	0,2 µg/mL	0,2 µg/mL	0,2 µg/mL
ΕΤΑΙΡΙΑ Λ	10/6/2013	<i>Bordetella spp</i>	0,4 µg/mL	0,4 µg/mL	1,5 µg/mL
ΕΤΑΙΡΙΑ Λ	10/6/2013	<i>Pantoea spp</i>	0,4 µg/mL	0,4 µg/mL	0,4 µg/mL
ΕΤΑΙΡΙΑ Ι	7/6/2013	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,4 µg/mL	0,4 µg/mL	0,2 µg/mL
ΕΤΑΙΡΙΑ Ζ	15/5/2013	<i>Aeromonas salmonicida ssp salmonicida</i>	0,4 µg/mL	0,4 µg/mL	0,2 µg/mL
ΕΤΑΙΡΙΑ Η	2/4/2013	<i>Ochrobactrum anthropi</i>	0,78 µg/mL	0,2 µg/mL	0,2 µg/mL



Γράφημα 33 - Ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση

Σύμφωνα με τον παραπάνω πίνακα και το παραπάνω γράφημα συμπεραίνουμε ότι η μικρότερη συγκέντρωση αντιβιοτικού που απαιτήθηκε για να εμποδίσει την ανάπτυξη των ανιχνευμένων βακτηρίων κυμάνθηκε από 0,2 μg/mL μέχρι 1,5 μg/mL με συνηθέστερες τις τιμές 0,2 μg/mL και 0,4 μg/mL. Εξαιρετικές ήταν οι περιπτώσεις όπου απαιτήθηκε συγκέντρωση μεγαλύτερη συγκέντρωση, όπως 0,78 μg/mL αμοξυκιλίνης για το βακτήριο *Ochrobactrum anthropi* και 1,5 μg/mL τετρακυκλίνης για το βακτήριο *Bordetella* spp.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

5.1. Μικροβιολογική ποιότητα των δειγμάτων

Η κατανάλωση εμφιαλωμένου νερού αυξάνεται με την πάροδο των χρόνων παγκοσμίως, διότι υπάρχει η πεποίθηση ότι είναι ασφαλές και απαλλαγμένο από ακαθαρσίες που ενδεχομένως να υπάρχουν στο πόσιμο νερό της βρύσης. Όμως όπως διαπιστώνεται από την παρούσα διπλωματική εργασία, αυτή η άποψη δεν είναι απαραίτητα και απόλυτα σωστή. Επίσης από παρόμοιες μελέτες που έχουν γίνει για τα εμφιαλωμένα νερά επαληθεύεται ότι ορισμένα δείγματα είναι ακατάλληλα για πόση, καθώς έχουν ανιχνευτεί σε αυτά *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas spp*, *Enterococcus spp* καθώς και ολικά κολοβακτηριοειδή (total coliforms).

Όσον αφορά στους μικροβιακούς δείκτες στο σύνολο των δειγμάτων (48) καθίστανται ακατάλληλα για πόση τα 5 από αυτά. Δηλαδή το 10,4 % περίπου. Παρότι διεξήχθησαν λίγες επαναλήψεις του μικροβιολογικού ελέγχου και πιθανώς να μην είναι αντιπροσωπευτικό το ποσοστό αυτό, είναι αξιοσημείωτο το ότι πέντε εκ των δώδεκα ελεγχθέντων εταιριών εμφάνισαν 25% ακατάλληλα δείγματα. Το 25% των δειγμάτων των εταιριών Γ, ΣΤ, Ζ, Η, Ι βρέθηκαν ακατάλληλα καθώς ανιχνεύθηκαν δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης και *Pseudomonas aeruginosa*. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της εργασίας ανιχνεύθηκαν *Escherichia coli*, εντερόκοκκοι και *Pseudomonas aeruginosa*. Ένα μέρος των εταιριών των οποίων τα δείγματα ελεγχθήκαν μικροβιολογικά (πέντε στις δώδεκα) εμφιαλώνουν φυσικό μεταλλικό νερό, το οποίο δεν πρέπει να υφίσταται κανένα είδος απολύμανσης. Συνεπώς θα πρέπει να προέρχεται από μία ανόθευτη, προστατευόμενη πηγή και να τηρεί ποιοτικώς τους κανονισμούς της νομοθεσίας (Venieri et al. 2006). Το εμφιαλωμένο νερό από άλλες πηγές μπορεί να περιέχει παθογόνα βακτήρια όπως *Pseudomonas spp*, *Escherichia coli*, *Campylobacter* ή ακόμα και *Mycobacterium*. Είναι επίσης μέσο μετάδοσης μικροοργανισμών που προκαλούν ασθένειες όπως *Vibrio cholerae*, *Aeromonas hydrophila* και *Staphylococcus aureus* (Herath et al. 2012). Όσον αφορά τα ακατάλληλα δείγματα οι τέσσερεις από τις πέντε εταιρίες εμφιαλώνουν επιτραπέζιο νερό και η μία εμφιαλώνει φυσικό μεταλλικό νερό. Συγκεκριμένα οι Γ, Ζ, Η, Ε εταιρίες εμφιαλώνουν επιτραπέζιο νερό ενώ η ΣΤ εταιρία εμφιαλώνει φυσικό μεταλλικό νερό.

Η παρουσία ολικών κολοβακτηριοειδών, *Escherichia coli* και εντερόκοκκου υποδεικνύουν την επίπτωση της μόλυνσης και πιθανής παρουσίας παθογόνων μικροοργανισμών. Τα ολικά κολοβακτηριοειδή δεν σχετίζονται πάντα με κοπρανώδη μόλυνση καθώς περιλαμβάνουν εξαιρετικά μεγάλη ποικιλία γενών και ειδών, τα οποία συγκαταλέγονται σε κοπρανώδη και περιβαλλοντικά είδη. Αποτελούν περισσότερο δείκτη για την παρακολούθηση της ποιότητας του νερού παρά δείκτη κοπρανώδων παθογόνων. Από την άλλη μεριά, η *Escherichia coli* και οι κοπρανώδεις στρεπτόκοκκοι (εντερόκοκκοι) αποδεικνύουν την κοπρανώδη μόλυνση από ανθρώπινη ή από ζωική προέλευση (Vantarakis et al. 2013). Η *Pseudomonas*

aeruginosa θεωρείται μη αποδεκτό κριτήριο σε εμφιαλωμένο νερό και χρησιμοποιείται κυρίως ως δείκτης της διαχείρισης της διεργασίας στην παραγωγή. Η παρουσία της σημαίνει μόλυνση κατά τη διάρκεια της διεργασίας της εμφιάλωσης ή ότι η πηγή έχει ρυπανθεί από οργανικό υλικό (Venieri et al. 2006). Όσον αφορά την παρουσία της σε εμφιαλωμένο νερό, ο κίνδυνος μόλυνσης για τον πληθυσμό είναι ελάχιστος. Συγκεκριμένα χρειάζεται μία ποσότητα της τάξης των 5000 CFU/mL σε 2 L της ημερήσιας πρόσληψης για να υπάρξει μόλις 0,01% πιθανότητα αποικισμού στο έντερο (Varga, 2011).

Η ποικιλία των θετικών δειγμάτων όσον αφορά τους μικροβιακούς δείκτες, ανάμεσα στις υπό εξέταση εταιρίες σημαίνει δυσλειτουργία των εργοστασίων εμφιάλωσης ή προσωρινή μόλυνση από εγχώριους ή εξωτερικούς παράγοντες (Venieri et al. 2006).



Εικόνα 20 - Εμφιάλωση νερού

Στον παρακάτω πίνακα φαίνεται πόσα δείγματα ήταν ακατάλληλα και σε ποια εταιρία ανήκουν:

Πίνακας 21 -ΑΡΙΘΜΟΣ ΘΕΤΙΚΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΑΝΑ ΕΤΑΙΡΙΑ

ΕΤΑΙΡΙΑ	Αριθμός θετικών δειγμάτων (%)			
	Total coliforms	Escherichia coli	Enterococci	Pseudomonas aeruginosa
ΕΤΑΙΡΙΑ Α	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Β	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Γ	0	0	0	1 (25)
ΕΤΑΙΡΙΑ Δ	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Ε	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ ΣΤ	0	1 (25)	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Ζ	0	1 (25)	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Η	0	1 (25)	1 (25)	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Θ	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Ι	1 (25)	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Κ	0	0	0	0
ΕΤΑΙΡΙΑ Λ	0	0	0	0

Στον παρακάτω πίνακα φαίνεται πόσα δείγματα συνολικά ήταν ακατάλληλα όσον αφορά την παρουσία δεικτών:

Πίνακας 22 - ΑΡΙΘΜΟΣ ΘΕΤΙΚΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΣΥΝΟΛΙΚΑ

Αριθμός δειγμάτων	Αριθμός θετικών δειγμάτων (%)			
	Total coliforms	Escherichia coli	Enterococci	Pseudomonas aeruginosa
48	1 (2,1)	3 (6,3)	1 (2,1)	1 (2,1)

Όπως διαπιστώνεται σε 5 εταιρίες ορισμένα δείγματα δεν συμμορφώνονται με τη νομοθεσία. Όμως για τη διεξαγωγή συμπερασμάτων θα ήταν καλό να υπάρχει σύγκριση με παρόμοιες μελέτες που αφορούν τη μικροβιολογική ποιότητα εμφιαλωμένου νερού. Σε παρόμοια μελέτη που έχει γίνει στο παρελθόν στην Ελλάδα σε 10 εταιρίες με σύνολο 1527 δείγματα με τη μέθοδο της διήθησης μέσω μεμβρανών πόρων διαμέτρου 0,45 μμ, μόνο οι δύο εταιρίες σημείωσαν καθαρά δείγματα από την αρχή μέχρι το τέλος των δειγματοληψιών όσον αφορά τους μικροβιακούς δείκτες. Επίσης τα δείγματα που περιείχαν: ολικά κολοβακτηριοειδή αποτελούσαν το 11% των συνολικών δειγμάτων, *Escherichia coli* 1 %, εντερόκοκκους 1,2 % και *Pseudomonas aeruginosa* 5,9 % (Venieri et al. 2006). Άλλη μία μελέτη για τη μικροβιολογική ποιότητα των νερών έχει γίνει στην Ουγγαρία, με τη διαφορά ότι η διήθηση έγινε με μεμβράνες πόρων διαμέτρου 0,22 μμ, συνεπώς οι μεμβράνες

μπορύσαν να κατακρατήσουν περισσότερα βακτήρια. Σε αυτή τη μελέτη εξετάστηκαν σύνολο 246 δείγματα μη ανθρακούχου νερού εκ των οποίων στο 9,3 % ανιχνεύθηκαν κοπρανώδη κολοβακτηριοειδή, στο 2,8 % ανιχνεύθηκαν *Escherichia coli*, στο 0,8 % εντερόκοκκοι και στο 2,4% *Pseudomonas aeruginosa* (Varga, 2011). Επίσης έχει πραγματοποιηθεί κι άλλη παρόμοια μελέτη στην Ελλάδα όπου έγινε μικροβιολογική ανάλυση σε 1860 δείγματα 29 εταιριών εκ των οποίων το 13% υπήρξαν ακατάλληλα. Συγκεκριμένα σημειώθηκαν ακατάλληλα δείγματα που αποτελούσαν 0% δείγματα με *Escherichia coli*, 9,1 % δείγματα με ολικά κολοβακτηριοειδή, 1% δείγματα με εντερόκοκκους και 6,1 % δείγματα με *Pseudomonas aeruginosa* (Vantarakis et al. 2013). Σε μία επιπλέον μελέτη που διεξήχθη στο Μπαγκλαντές εμφανίστηκαν πολύ μεγάλα ποσοστά των δειγμάτων με μικροβιακούς δείκτες. Συγκεκριμένα 86% δείγματα με ολικά κολοβακτηριοειδή, 63% δείγματα με *Escherichia coli*, 44% δείγματα με εντερόκοκκους και 50% δείγματα με *Pseudomonas aeruginosa*, που είναι ιδιαίτερα ανησυχητικά για τον κίνδυνο που μπορούν να προκαλέσουν (Ahmed et al. 2013). Η μελέτη αυτή στο Μπαγκλαντές διαφέρει πάρα πολύ από την παρούσα μελέτη και από τις προηγούμενες που αναφέρθηκαν οι οποίες έγιναν στην Ελλάδα και στην Ουγγαρία όπου η ποιότητα του νερού είναι πολύ καλύτερη. Συγκριτικά με τις μελέτες που αναφέρθηκαν προηγουμένως, στην παρούσα μελέτη παρατηρήθηκε πολύ μικρότερο ποσοστό δειγμάτων με ολικά κολοβακτηριοειδή αφού σημειώθηκε ποσοστό αυτών μόλις 2,1 %, ενώ στις άλλες μελέτες κυμάνθηκε από 9,1 έως 11%. Από την άλλη το *Escherichia coli* ανιχνεύθηκε σε περισσότερα δείγματα στην παρούσα εργασία σε σύγκριση με τις άλλες μελέτες αφού τα δείγματα που το περιείχαν ανέρχονται στα 6,3% των συνολικών δειγμάτων σε αντίθεση με τις μελέτες όπου το ποσοστό κυμάνθηκε από 0 έως 2,8%. Οι εντερόκοκκοι εμφανίστηκαν σε ποσοστό δειγμάτων 2,1 % κάτι ενδιάμεσο δηλαδή σε σύγκριση πάντα με τις παρόμοιες μελέτες, εφόσον σε αυτές κυμάνθηκε από 0,8 έως 6,1%. Τέλος η *Pseudomonas aeruginosa* στην παρούσα εργασία παρατηρήθηκε σε ποσοστό δειγμάτων 2,1% επί του συνολικού χαμηλότερο από ότι στα δείγματα των άλλων μελετών που κυμάνθηκε από 2,4 έως 6,1%.

Συμπερασματικά τα ποσοστά ακατάλληλων δειγμάτων που προέκυψαν παρατηρείται ότι δεν ξεπερνούν ιδιαίτερα αυτά των συναφών μελετών, δεν πταύουν όμως να υπερβαίνουν τα όρια της νομοθεσίας και να αποτελούν κίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία. Επίσης διαψεύδεται η πεποίθηση ότι τα εμφιαλωμένα νερά είναι απαραίτητα ασφαλή για τον καταναλωτή και τη δημόσια υγεία και επιβεβαιώνεται ότι ενδεχομένως πολλές εταιρίες δε συμμορφώνονται με τη νομοθεσία και δεν πληρούν τους κανόνες υγιεινής.

Η ολική μικροβιακή χλωρίδα σύμφωνα με την ελληνική νομοθεσία δεν πρέπει να ξεπερνάει τις 20 cfu/mL στους 37°C και τις 100 cfu/mL στους 22°C 12 ώρες μετά την εμφιάλωση. Σε αυτό το σημείο αξίζει να σημειωθεί ότι πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι τα δείγματα αγοράστηκαν από καταστήματα, στα οποία μπορεί να βρίσκονταν μέρες ή και μήνες μετά την εμφιάλωσή τους. Συνεπώς παρά το γεγονός ότι ορισμένα από τα δείγματα δε συμμορφώνονται με τον κανονισμό, δεν μπορούν να θεωρηθούν ως ακατάλληλα για κατανάλωση. Η αρχική ποσότητα των αυτόχθονων βακτηρίων των δειγμάτων μπορεί να πολλαπλασιαστεί μετά από μερικές μέρες (Vantarakis et al. 2013). Το εμφιαλωμένο νερό αποτελεί ολιγοτροφικό περιβάλλον με ανεπαρκή

θρεπτικά ώστε να επιτευχθεί η ανάπτυξη των αυτόχθονων βακτηρίων. Η ανάπτυξη των βακτηρίων σε αποθηκευμένα εμφιαλωμένα νερά έχει αναφερθεί ως αποτέλεσμα ειδικών υλικών της εμφιάλωσης που κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης ελευθερώνουν οργανικό υλικό και παρέχουν επιπλέον υπόστρωμα για τη μικροβιακή ανάπτυξη. Από την άλλη μεριά μελέτες έχουν δείξει ότι εμφιαλωμένο νερό με χαμηλό αριθμό ολικής μικροβιακής χλωρίδας αρχικά, μεταβάλλεται πολύ λίγο μετά από 7 μήνες αποθήκευσης (Kokkinakis et al. 2008).

Υψηλός αριθμός αποικιών ολικής μικροβιακής χλωρίδας δεν αποτελεί κίνδυνο για την υγεία, αλλά μπορεί να χειροτερεύσει ιδιότητες του νερού, όπως τη γεύση, την οσμή και τη θολότητά του (σε αυτή την περίπτωση δεν είναι κατάλληλο για κατανάλωση). Ωστόσο, σε μερικές περιπτώσεις, έχει παρατηρηθεί παρουσία μολυσματικών μικροοργανισμών με ή χωρίς ανθεκτικότητα στα φάρμακα. Αυτή η παρουσία πιθανόν μπορεί να προκαλέσει κίνδυνο για την υγεία κυρίως ευπαθών ομάδων ατόμων, όπως σε γηραιά άτομα, εγκύους και ιδιαίτερα σε ανασοκατεσταλμένους ασθενείς (Vantarakis et al. 2013).

Τα αποτελέσματα της ολικής μικροβιακής χλωρίδας σύμφωνα με τον αριθμό των αποικιών που σημειώθηκαν φαίνονται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 23 - ΟΛΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ ΚΑΙ ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΠΟΙΚΙΩΝ

HPC (CFU/mL)	Αριθμός δειγμάτων (%)	
	22°C	37°C
HPC≤20	19 (39,5)	22 (45,8)
20<HPC≤100	2 (4,1)	6(12,5)
100<HPC≤1000	10(21)	16(33,3)
HPC>1000	17(35,4)	4(8,3)

Όσον αφορά την ολική μικροβιακή χλωρίδα στους 22°C παρατηρείται ότι στο μεγαλύτερο ποσοστό των δειγμάτων σημειώθηκαν λιγότερο από 20 cfu/mL ενώ στο αμέσως επόμενο μεγάλο ποσοστό σημειώθηκαν πάνω από χίλιες αποικίες. Ένα σημαντικό ποσοστό επίσης σημείωσε από 100 μέχρι 1000 CFU/mL και ένα μικρότερο μεταξύ 100 και 1000 CFU/mL. Στην ολική μικροβιακή χλωρίδα των 37°C παρατηρείται ότι στο μεγαλύτερο ποσοστό των δειγμάτων σημειώθηκαν επίσης λιγότερο από 20 cfu/mL ενώ ακολουθεί με μικρή διαφορά το ποσοστό των δειγμάτων που σημείωσαν από 100 μέχρι 1000 CFU/mL. Αρκετά λιγότερα δείγματα σημείωσαν αποικίες μεταξύ 20 και 100 CFU/mL και ακόμα λιγότερα ήταν τα δείγματα που είχαν πάνω από 1000 CFU/mL. Παρατηρείται ότι αρκετά ήταν τα δείγματα που ξεπέρασαν τα όρια της νομοθεσίας. Συγκεκριμένα όσον αφορά την ολική μικροβιακή χλωρίδα των 22°C ένα ποσοστό 56,4% υπερέβη τα όρια ενώ όσον αφορά την ολική μικροβιακή χλωρίδα των 37°C υπήρξε αντίθετο με τη νομοθεσία ένα ποσοστό 54,1%. Όπως φαίνεται δηλαδή πάνω από τα μισά δείγματα βρέθηκαν ακατάλληλα όσον αφορά πάντα την ολική μικροβιακή χλωρίδα, η οποία όπως αναφέρεται δεν είναι μείζονος σημασίας όσο οι μικροβιακοί δείκτες και δεν πρέπει να παραβλεφθεί το γεγονός ότι οι μετρήσεις αυτές δεν ελήφθησαν 12 ώρες μετά την εμφιάλωση. Όμως, παρόλα αυτά αξίζει να σημειωθεί ότι είναι σημαντικά τα ποσοστά που είχαν πολλές

αποικίες και ότι ενδέχεται οι μικροοργανισμοί αυτοί να προκαλέσουν διάφορων ειδών λοιμώξεις και να θέσουν σε κίνδυνο τον καταναλωτή.

Για την πληρέστερη κατανόηση της σημασίας των αποτελεσμάτων και τη σαφέστερη εικόνα αυτών μπορεί να γίνει σύγκριση με παρεμφερείς μελέτες που έχουν διεξαχθεί στο παρελθόν. Σε παρόμοια μελέτη που αναφέρθηκε προηγουμένως η οποία πραγματοποιήθηκε στην Ελλάδα, το ποσοστό των δειγμάτων που εμφάνισαν αποικίες μικρότερες ή ίσες με 20 CFU/mL ήταν 81,7% και 85,6% στους 22°C και στους 37°C βαθμούς αντίστοιχα. Ενώ αυτά που εμφάνισαν αποικίες περισσότερες από 20 CFU/mL ήταν πολύ λιγότερα. Παραδείγματος χάριν τα δείγματα με πάνω από 1000 CFU/mL ήταν μόλις 1,9% και 1,2% στους 22°C και στους 37°C βαθμούς αντίστοιχα (Venieri et al. 2006). Στην παρούσα εργασία λοιπόν, τα δείγματα με πολλές αποικίες ήταν πολύ περισσότερα και κατά συνέπεια πολύ περισσότερα ήταν και τα δείγματα που δε συμμορφώνονται με τη νομοθεσία. Επίσης στην άλλη μελέτη που διεξήχθη στην Ελλάδα μεγάλα ποσοστά των δειγμάτων με αποικίες κάτω από 20 CFU/mL, συγκεκριμένα 79,4% στην περίπτωση της ολικής μικροβιακής χλωρίδας των 22°C και 84% στην περίπτωση της ολικής μικροβιακής χλωρίδας των 37°C ενώ τα δείγματα με παραπάνω από 20 CFU/mL εμφάνισαν μικρότερα ποσοστά. Συνεπώς και σε αυτή την περίπτωση τα δείγματα της παρούσας διπλωματικής ήταν πιο “ακατάλληλα” όσον αφορά την ολική μικροβιακή χλωρίδα (Vantarakis et al. 2013). Στη μελέτη που διεξήχθη στην Ουγγαρία τα ποσοστά των δειγμάτων μέχρι 20 CFU/mL ήταν 72,3% και 78,4% όσον αφορά τους 22°C και 37°C αντίστοιχα. Αξιοσημείωτο επίσης ήταν το ποσοστό των δειγμάτων με πάνω από 100 CFU/mL όπου ήταν 24% και 20% στους 22°C και 37°C αντίστοιχα. Συγκριτικά δηλαδή το ποσοστό των δειγμάτων με πάνω από 100 CFU/mL της παρούσας εργασίας ήταν παρόμοιο με αυτό της μελέτης αυτής που έγινε στην Ουγγαρία.

Ιδιαίτερα όσον αφορά την ολική μικροβιακή χλωρίδα των 37°C πρέπει να δίνεται προσοχή διότι αφορά βακτήρια που μπορούν ενδεχομένως να αποικίσουν στον ανθρώπινο οργανισμό καθώς αυτή είναι και η μέση θερμοκρασία του.

5.2. Ταυτοποίηση των απομονωμένων βακτηρίων με το σύστημα API

Τα συμπεράσματα που προκύπτουν από τη βιοχημική ταυτοποίηση με το σύστημα API είναι τα εξής:

- ❖ Ορισμένοι απομονωμένοι μικροοργανισμοί δεν ήταν δυνατό να ταυτοποιηθούν με το σύστημα API λόγω του περιορισμού της βάσης δεδομένων του συστήματος αυτού.
- ❖ Τα βακτήρια που εμφανίστηκαν πιο συχνά στα δείγματα ήταν το *Ochrobactrum anthropi* και η *Pseudomonas oryzihabitans*.
- ❖ Στα δείγματα ανιχνεύθηκαν πολλών ειδών και σε μεγάλη συχνότητα ψευδομονάδες.
- ❖ Οι μικροοργανισμοί που ταυτοποιήθηκαν δύνανται να προκαλέσουν λοιμώξεις στο ουροποιητικό, στο αναπνευστικό στο γαστρεντερικό αλλά και στο κυκλοφορικό σύστημα.
- ❖ Παρόλο που το σύστημα API χρησιμοποιείται για την ταυτοποίηση βακτηρίων κλινικής προέλευσης, είναι συχνά μη ικανοποιητικό για περιβαλλοντικά στελέχη (Armas et al. 1999).

5.3. Μικροβιολογική ποιότητα των εμφιαλωμένων νερών σε κακές συνθήκες συντήρησης

Γενικά επικρατεί η αντίληψη ότι τα εμφιαλωμένα νερά δεν πρέπει να εκτίθενται στον ήλιο διότι υπάρχει κίνδυνος όσον αφορά τη μικροβιολογική ποιότητά τους. Στην παρούσα διπλωματική, όπου ελέγχθηκε η επίδραση του ήλιου στα δείγματα, καθώς δημιουργεί υψηλές και κατ' επέκταση ευνοϊκές θερμοκρασίες για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών, προέκυψαν διφορούμενα αποτελέσματα ως προς την άποψη αυτή. Δηλαδή ορισμένα δείγματα σημείωσαν περισσότερες αποικίες όταν αυτά αποθηκεύτηκαν σε χώρο όπου υπήρχε ήλιος ενώ άλλα δείγματα είχαν λιγότερες αποικίες. Υπήρχαν σαφώς και δείγματα που σημείωσαν πολύ μικρές διαφορές όσον αφορά την ολική μικροβιακή χλωρίδα όταν αυτά βρέθηκαν στον ήλιο. Βέβαια πρέπει να σημειωθεί ότι τα δείγματα διατηρήθηκαν πρώτα για δύο και ύστερα για τέσσερις μέρες στον ήλιο, συνεπώς ενδεχομένως να ήταν μικρό το διάστημα ώστε να προκύψουν σημαντικές διαφορές.

5.4. Διερεύνηση επιβίωσης των βακτηρίων στο εμφιαλωμένο νερό

Από τη διερεύνηση επιβίωσης των βακτηρίων στα δείγματα φαίνεται ότι όλοι οι μικροβιακοί δείκτες πολλαπλασιάστηκαν σε μεγάλο βαθμό. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα που προέκυψαν στις 12, 24 και 46 ώρες επώασης τα βακτήρια διήλθαν από τις τυπικές φάσεις ανάπτυξής τους. Συγκεκριμένα αρχικά στη λανθάνουσα φάση ο πληθυσμός των μικροοργανισμών παραμένει σταθερός. Αυτό οφείλεται στο ότι οι μικροοργανισμοί χρειάζονται κάποιο χρονικό διάστημα προκειμένου να προσαρμοστούν στις νέες συνθήκες και να αρχίσουν να αναπτύσσονται. Στη συνέχεια στην εκθετική φάση όπου οι μικροοργανισμοί διαιρούνται με ταχύ ρυθμό, διότι η ανάπτυξη πραγματοποιείται κάτω από ευνοϊκές συνθήκες pH, θερμοκρασίας και διαθεσιμότητας θρεπτικών συστατικών (Αλεπόρου, 2006).

5.5. Δοκιμή ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά των απομονωμένων βακτηριακών στελεχών

Η μέθοδος αραιώσεων αντιβιοτικών σε ζωμό σε πλάκες μικροτιτλοποίησης υπερτερεί έναντι άλλων μεθόδων διότι έχει την ικανότητα να διακρίνει τη διαφορά ανάμεσα στα αποτελέσματα της βακτηριοκτόνου και τη βακτηριοστατικής συγκέντρωσης και προσδιορίζει ποσοτικά την ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση του υπό μελέτη αντιβιοτικού (Richard D.Langfield et al. 2004).

Οι επικρατέστερες ελάχιστες ανασταλτικές συγκεντρώσεις που σημειώθηκαν ήταν 0,2 μg/mL και 0,4 μg/mL. Εξαίρεση αποτέλεσαν οι τιμές 0,78 μg/mL και 1,5 μg/mL όπου σημειώθηκαν για την αμοξικιλίνη και το βακτήριο *Ochrobactrum anthropi* και την τετρακυκλίνη και το βακτήριο *Bordetella spp.*, αντίστοιχα. Όσον αφορά τα αντιβιοτικά που χρησιμοποιήθηκαν, δηλαδή αμοξικιλίνη, στρεπτομυκίνη και τετρακυκλίνη, οι ελάχιστες ανασταλτικές συγκεντρώσεις σύμφωνα με την εταιρία SIGMA είθισται να είναι μεγαλύτερες από 0,5 μg/mL, 1 μg/mL και 0,4 μg/mL για κάθε αντιβιοτικό αντίστοιχα. Οι ελάχιστες ανασταλτικές συγκεντρώσεις που προέκυψαν στα αποτελέσματα της παρούσας διπλωματικής ήταν ως επί το πλείστον μικρότερες από τις προτεινόμενες. Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω μόνο σε δύο περιπτώσεις υπήρξαν συγκεντρώσεις λίγο μεγαλύτερες από το ελάχιστο προτεινόμενο όριο. Συνεπώς αυτό που διαπιστώνεται είναι ότι όλα τα βακτήρια που απομονώθηκαν από τα δείγματά μας ήταν ευαίσθητα στα αντιβιοτικά, εφόσον ανεστάλη η ανάπτυξή τους σε πολύ μικρότερη από τη μέγιστη δοσολογία και η ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση κυμάνθηκε σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις οι οποίες ήταν στο εύρος των συνήθων MIC.



Εικόνα 21 - Αντιβιοτικά

Συμπερασματικά οι απομονωμένοι μικροοργανισμοί από τα εμφιαλωμένα νερά δεν αποτελούν κίνδυνο για την υγεία του καταναλωτή, σύμφωνα με την ευαισθησία που έδειξαν στα τρία αυτά αντιβιοτικά. Δηλαδή στην ενδεχόμενη περίπτωση λοίμωξης ενός ατόμου από τα συγκεκριμένα βακτήρια που δύνανται να βρεθούν σε εμφιαλωμένο νερό, καθίσταται δυνατή η θεραπεία του με τα κοινά αντιβιοτικά.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ελληνική βιβλιογραφία

- Βενιέρη Δ., Σημειώσεις Περιβαλλοντικής Μικροβιολογίας, 2009
- Μήτρακας Μ., Ποιοτικά Χαρακτηριστικά και Επεξεργασία Νερού, Εκδόσεις Τζιόλα 2001
- Κολιάης Σ., Μικροβιολογία, Εκδόσεις University Studio Press, 1992
- Αδαμοπούλου Μ., Φυλογενετική μελέτη στελεχών ψευδομονάδων με βάση γονίδιο του εκκριτικού συστήματος τύπου III, Μεταπτυχιακή Διατριβή, 2012
- Βυρώνη Γ., Εφαρμοσμένη Κλινική Μικροβιολογία και Εργαστηριακή Διαγνωστική, Περίοδος Β', Τόμος 11, Τεύχος 2, 2007
- Αλεπόρου- Μαρίνου Β., Αργυροκαστρίτη Α., Κομητοπούλου Α., Πιαλόγλου Π., Σγουρίτσα Β., Βιολογία της Γ' τάξης του Ενιαίου Λυκείου Θετικής Κατεύθυνσης, Οργανισμός Εκδόσεων Διδακτικών Βιβλίων, 2006
- Οδηγία 98/83/EK ΤΟΥ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟΥ της 3ης Νοεμβρίου 1998 σχετικά με την ποιότητα του νερού ανθρώπινης κατανάλωσης

Ξένη βιβλιογραφία

- D. Venieri, A. Vantarakis, G. Komninou, M. Papapetropoulou, 2006. Microbiological evaluation of bottled non- carbonated ("stil") water from domestic brands in Greece, International Journal Food Microbiology 107, 68-72.
- Laszlo Varga, 2011. Bacteriological quality of bottled natural mineral waters commercialized in Hungary, Food Control 22, 591-595.
- Emmanuel N. Kokkinakis, Georgios A. Fragkiadakis, Aikaterini N. Kokkinaki, 2008. Monitoring microbiological quality of bottled water as suggested by HACCP methodology, Food Control 19, 957-961.
- A.Benito Armas, J.P. Sutherland, 1999. A survey of the microbiological quality of bottled water sold in the UK and changes occurring during storage, International Journal of Food Microbiology 48, 59-65.

- A.T. Herath, C.L. Abayasekara, Rohana Chandrajith, and N.K.B. Adikaram, 2012. Temporal Variation of Microbiological and Chemical Quality of Non-carbonated Bottled Drinking Water Sold in Sri Lanka, Journal of Food Science 77, 160- 164.
- W. Ahmed, R. Yusuf, I. Hasan, W. Ashraf, A. Goonetilleke, S. Toze, T. Gardner, 2013. Fecal indicators and bacterial pathogens in bottled water from Dhaka, Bangladesh, Brazilian Journal of Microbiology 44, 97-103.
- A. Vantarakis, M. Smaili, I. Detorakis, G. Vantarakis, M. Papapetropoulou, 2013. Diachronic long-term surveillance of bacteriological quality of bottled water in Greece (1995-2010), Food Control 33, 63-67.
- Richard D. Langfield, Frank J. Scarano, Mary E. Heitzman, Mitwako Kondo, Gerald B. Hammond, Catherine C. Neto, 2004. Use of a modified microplate bioassay method to investigate antibacterial activity in the Peruvian medicinal plant *Peperomia galoides*, Journal of Ethnopharmacology 94, 279-281.
- Younghee Jung, Kyoung-Ho Song, Jeong eun Cho, Hyung-sook Kim, Nak-Hyun Kim, Taek Soo Kim, Pyoeng Gyun Choe, Jae-Yong Chung, Wan Beom Park, Ji Hwan Bang, Eu Suk Kim, Kyoung Un Park, Sang-Won Park, Hong Bin Kim, Nam Joomg Kim, Myoung-don Oh, 2013. Area under the concentration-time curve to minimum inhibitory concentration ratio as a predictor of vancomycin treatment outcome in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia, International Journal of Antimicrobial Agents 42, 390-394.
- Michael T. Madigan, John M. Martinko, Jack Parker, Brock Biology of Microorganisms, 2001
- Duncan Mara and Nigel Horan, Handbook of Water and Wastewater Microbiology, 2003
- Jeffrey L. Watts, Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; Approved Standard, 1999
- Hans Zähner, Werner K. Maas, Biology of Antibiotics, Springer-Velag, 1972
- Jon Clardy, Michael Fischbach, Cameron Curvie, 2009. The Natural History of Antibiotics, Current Biology 19, 437-441.
- J. Bartram, J. Cotruvo, M. Exner, C. Fricker, A. Glasmacher, Heterotrophic Plate Counts and Drinking-water Safety, World Health Organization, 2003

Διαδίκτυο

- <http://news.pathfinder.gr/health/features/894437.html>
- www.energywater.gr
- <http://www.hospkorinthos.gr/docs/Antibiotic.pdf>

ΟΔΗΓΙΑ 98/83/ΕΚ ΤΟΥ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟΥ

της 3ης Νοεμβρίου 1998

σχετικά με την ποιότητα του νερού ανθρώπινης κατανάλωσης

ΤΟ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟ ΤΗΣ ΕΥΡΩΠΑΪΚΗΣ ΕΝΟΣΗΣ,

θερία να προσθετούν και άλλες παραφέτρους, όπου χρειάζεται

Έχοντας υπόψη:

τη συνθήκη για την ίδρυση της Ευρωπαϊκής Κοινότητας, και ιδίως το άρθρο 130 Σ παράγραφος 1,

(3) ότι, σύμφωνα με την αρχή της επικουριότητας, η δράση της Κοινότητας πρέπει να υποστηρίζεται και να συμπληρώνεται τη δράση που αναλαμβάνουν οι αρμόδιες αρχές στα κράτη μέλη

την πρόταση της Επιτροπής⁽¹⁾,

(4) ότι, σύμφωνα με την αρχή της επικουριότητας, οι φυσικές και κοινωνικοοικονομικές διαφορές μεταξύ των διαφόρων περιοχών της Ένωσης επιβάλλουν τη λήψη των περισσότερων αποφάσεων σχετικά με ελέγχους, χαλάνσεις και μέτρα χνηματώσιμης των προβλημάτων, τηρησης των προνυματικών, τε ταπικώ, περιφερειακή εθνικό επίπεδο, στο βαθμό κατά τους οποίου οι διαφορές αυτές δεν αφαιρούν την αλλαγής εργαλείδωσης των πλαισίου τον ημερησίου ημιοθετικών, κανονιστικών και διακετητικών διατάξεων που θεσπίζεται στην παρούσα δημογές

τη γράμμη της Οικονομικής και Κοινωνικής Επιτροπής⁽²⁾,

(5) ότι, σπάζονται η θέσπιση κοινωνικών προδιαγραφών για βασικές και προληπτικές ποιοτικές παραμέτρους σε θέματα υγείας, για το νερό που προορίζεται για ανθρώπινη κατανάλωση, προκειμένου να κλεψηθείν οι προς απόποιξη ελέγχοι ποιοτικού περιβαλλοντικού στόχου, σε συνδυασμό και με άλλα κοινωνικά μέτρα, ώστε να διατηρείται και να προωθείται η αειφόρος χρήση του νερού που προορίζεται για ανθρώπινη κατανάλωση

τη γράμμη της Επιτροπής των Περιφερειών⁽³⁾.

Αποφασίζοντας σύμφωνα με τη διαδικασία που προβλέπεται στο άρθρο 189 Γ⁽⁴⁾,

Εκτιμώντας

(1) ότι επιβάλλεται η προσαρμογή στην επιστημονική και τεχνολογική πρόοδος της οδηγίας 80/778/EOK του Συμβουλίου, της 1ης Ιουλίου 1980, περί της ποιότητας των πόσιμων νερών⁽⁵⁾; ότι, με βάση την εμπειρία που αποκτήθηκε από την εφαρμογή της προαναγερόμενης οδηγίας, απαιτείται η εκπόνηση του ενδεδειμένου ελαστικού και διαφωνικού νομικού πλαισίου ώστε να μπορούν τα κράτη μέλη να ειλιγούν τα καθοριζόμενα υψηλής ποιότητας αφότου ότι, επιπλέον, η οδηγία αυτή θα πρέπει να επινοείται υπό το πρίσμα της συνθήκης για την Ευρωπαϊκή Ένωση, και ιδίως της αρχής της επικουριότητας

(2) ότι, παρέλληλα με τις διατάξεις του άρθρου 3 Β της συνθήκης που ορίζει ότι η δράση της Κοινότητας δεν υπερβαίνει να αναγραίνει όρια για την επίνευση των στόχων της συνθήκης, απαιτείται η αναθεώρηση της οδηγίας 80/778/EOK ώστε να καταστέλλει εφικτή η τήρηση των βασικών ποιοτικών και υγειονομικών παραμέτρων, παρέγοντας στα κράτη μέλη την ελευ-

(6) ότι, λόγω της σημασίας για την αιθρώτινη υγείας της ποιότητας του νερού που προορίζεται για ανθρώπινη κατανάλωση, επιβάλλεται να θεσπισθούν σε κοινωνικό επίπεδο οι βασικές ποιοτικές προδιαγραφές με τις οποίες πρέπει να συμμορφώνεται το νερό που προορίζεται για το σκοπό αυτό

(7) ότι, επιβάλλεται να συμπεριληφθεί και το νερό που χρησιμοποιείται στη βιομηχανία παραγωγής τροφίμων εκτός αν διατίθενται ότι, η χρησιμωτότητη τέτοιου νερού δεν επηρεάζει την υγεινότητα του τελικού προϊόντος⁽⁶⁾

(8) ότι για τηρούνται οι ποιοτικές προδιαγραφές για το πόσιμο νερό από τις επιχειρήσεις ύδρευσης, θα πρέπει να διασφαλίζεται με τα κατάλληλα μέτρα προστασίας η καθαρότητα των επιφανειακών και υπογείων υδάτων⁽⁷⁾ ότι ο σκοπός αυτός μπορεί επίσης να εξασφαλισθεί, με κατάλληλα μέτρα επεξεργασίας του νερού πριν από τη διάθεσή του

(1) ΕΕ C 131 της 30.5.1995, α. 5 και
ΕΕ C 213 της 15.7.1997, α. 8.

(2) ΕΕ C 82 της 19.3.1996, α. 64.

(3) ΕΕ C 100 της 24.1996, α. 134.

(4) Γνώμη του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου της 12ης Δεκεμβρίου 1996 (ΕΕ C 20 της 20.1.1997, α. 133), κοινή θέση των Συμβουλίου της 19ης Δεκεμβρίου 1998 (ΕΕ C 91 της 26.3.1998, α. 1) και απόφαση του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου της 23ης Μαΐου 1998 (ΕΕ C 167 της 1.6.1998, α. 92).

(5) ΕΕ L 229 της 30.6.1980, α. 11: οδηγία όπως τροποποιήθηκε τελευτικά από την πράξη προσδώρησης του 1994.

- (9) ότι η συνοχή της ευρωπαϊκής πολιτικής για τα ύδατα προϋποθέτει την έκδοση κατάλληλης οδηγίας πλαισίου για τα δάσα σε εύθετο χερόν.
- (10) ότι επιβάλλεται να αποκλεισθούν από το πεδίο εφαρμογής της παρούσας οδηγίας τα φυσικά μεταλλικά νερά και τα νερά φαρμακευτικών ιδιοτήτων αφού έχουν θεστισθεί ειδικοί κανόνες για αυτούς τους τύπους νερούν.
- (11) ότι χρειάζονται μέτρα για να μπορούν να επιτευχθούν όλες οι άμεσα σχετικές με την υγεία παραμέτροι και άλλες παραμέτροι, όπου διαπιστώνεται υποβάθμιση της ποιότητας: ότι επιπλέον τέτοια μέτρα θα πρέπει να συντονίζονται κατάλληλα με την εφαρμογή της οδηγίας 91/414/EOK του Συμβουλίου, της 1ης Ιουλίου 1991, σχετικά με τη διάθεση στην αγορά φυτοπροστατευτικών προϊόντων⁽¹⁾, και της οδηγίας 98/8/EK του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 18ης Φεβρουαρίου 1998 σχετικά με τη διάθεση στην αγορά βιοκτόνων προϊόντων⁽²⁾.
- (12) ότι επιβάλλεται να καθορισθούν ιδιαίτερες παραμετρικές τιμές για συσίστημα σήμαντακές στην Κοινότητα, σε αρχετέρη αυστηρότερη επίπεδα ώστε να εξασφαλίζεται η επίτευξη των στόχων της παρούσας οδηγίας.
- (13) ότι οι παραγμετρικές τιμές βασιζούνται στην επιστημονική εμπειρία καὶ ότι η αρχή της προληπτικής δράσης, ελήφθη επίσης υπόψη ότι οι τιμές αυτές επιλέχθησαν ώστε να εξασφαλίζεται η ασφαλής διά βίου κατανάλωση νερού που προορίζεται για ανθρώπινη κατανάλωση, επιτυγχάνοντας έτσι πρηλό επίπεδο προστασίας της υγείας.
- (14) ότι θα πρέπει να επιτευχθεί ισορροπία για την πρόληψη τόσο των μακροβιολογικών όσο και των χημικών κανδύνων⁽³⁾ ότι, προς τούτο, και με βάση μελλοντική επιστρέφοντας των παραγμετρικών τιμών, η κατάρρευση των παραγμετρικών τιμών που θα εφαρμόζονται στο νερό που προορίζεται για ανθρώπινη κατανάλωση θα πρέπει να βασίζεται σε κριτήρια δημόσιας υγείας και σε μέθοδο αξιολόγησης του κυνηγούντος.
- (15) ότι, προς το παρόν, δεν υπάρχουν επαρκείς αποδείξεις στις οποίες θα μπορούσαν να βασισθούν παραμετρικές τιμές για τις χημικές ουσίες που διαπαράσσονται τη λειτουργία των ενδοκρινών αδένων, εντείνονται όμως η ανησυχία για τις πιθανές επιπτώσεις βλαβερών για την υγεία ουσιών στα ανθρώπινα όγκα και στην άρρενα ζωή.
- (16) ότι ιδίως οι προδιαγραφές που παραχθήματος Ι βασίζονται γενικά στις κατευθυντήριες γενικές της Παραγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας για την ποιότητα του πόσιμου νερού, καθός και στη γνάμη της επιστημονικής συμβουλευτικής επιπροσής της Επιτροπής για την εξέταση της τοξικότητας και της οικοτοξικότητας των χημικών ουσιών.⁽⁴⁾
- (17) ότι επιβάλλεται τα κράτη μέλη να καθορίζουν τιμές όλων πρόσθετων παραμέτρων μη συμπεριλαμβανομένων στο παράρτημα I, όπου το κρίνονταν σκόπιμο για να προστατεύουν την ανθρώπινη υγεία στο έδαφός τους.
- (18) ότι τα κράτη μέλη προδούν για ορίσουν τιμές για όλων των υγειονομικών που δεν περιλαμβάνονται στο παράρτημα I, όταν αυτό κρίνεται απαραίτητο για λόγους που αφορούν την εξασφάλιση της ποιότητας της παραγωγής, διανομής και επιθέωρησης των νερού που προορίζεται για ανθρώπινη κατανάλωση.
- (19) ότι, όταν τα κράτη μέλη κρίνουν απαραίτητο να θεσπίσουν προδιαγραφές αυστηρότερες από εκείνες που ορίζονται στο παράρτημα I μέρη Α και Β, ή προδιαγραφές για πρόσθετες παραμέτρους που δεν περιλαμβάνονται στο παράρτημα I αλλά είναι απαραίτητες για την προστασία της ανθρώπινης υγείας, κοινοποιούνται σε επίπεδο εθνικής σημασίας στην Επιτροπή.
- (20) ότι τα κράτη μέλη είναι υποχρεωμένα, όταν θεσπίζονται προδιαγραφές αυστηρότερες από εκείνες που ορίζονται στο παράρτημα I μέρη Α και Β, να τηρούν τις αρχές και τους κανόνες της συνθήκης, όπως έχουν ερμηνευθεί από το Δικαστήριο.
- (21) ότι οι παραγμετρικές τιμές πρέπει να τηρούνται στο σημείο όπου το νερό που προορίζεται για ανθρώπινη κατανάλωση διατίθεται στον καταναλότο καταναλωσής.
- (22) ότι η πολιτηρία του νερού που προορίζεται για ανθρώπινη κατανάλωση μπορεί να επηρεάζεται από το σύστημα κατ' οίκον διανομής ότι, επιπλέον, αναγνωρίζεται ότι η ευημέρη για το σύστημα κατ' οίκον διανομής και τη συντήρησή του, δεν μπορεί να βαρύνει τα κράτη μέλη.
- (23) ότι θα πρέπει να θεσπισθούν προγράμματα ελέγχου από κάθε κράτος μέλος για το νερό που προορίζεται για ανθρώπινη κατανάλωση σχετικά με την πήρηση των απαιτήσεων της παρούσας οδηγίας όπως τέτοια προγράμματα ελέγχου θα πρέπει να είναι τα ενδεδειγμένα να τις τοπικές ανάγκες και να τηρούν τις ελάχιστες απαιτήσεις ελέγχου που θεσπίζονται στην παρούσα οδηγία.
- (24) ότι οι χημικοποιούμενες για την ποιότητα ανάλυση του νερού μέθοδοι όταν αυτό προορίζεται για ανθρώπινη κατανάλωση θα πρέπει να είναι τέτοιες ώστε να εξασφαλίζεται η αξιοπιστία και συγχριτιμότητα των λαρβανομέτρων αποτελεσμάτων.

(1) ΕΕ L 230 της 19.8.1991, άρθρο 1^o οδηγίας άποινας τροποποιήσεως τάξιδια πατρών από την οδηγία 96/68/ΕΚ της Επιτροπής (ΕΕ L 277 της 30.10.1996, άρθρο 2).

(2) ΕΕ L 123 της 24.4.1998, άρθρο 1.

- (25) ότι τα οικεία κράτη μέλη θα πρέπει, σε περίπτωση μη τήρησης των προδιαγραφών της παρούσας οδηγίας, να προβαίνουν στη διερεύνηση των αιτίων και να εξασφαλίζουν ότι αναλαμβάνεται η ενδεδειγμένη επανορθωτική δράση ώστε να αποκαθίσταται το ταχύτερο δυνατόν η ποιότητα του νερού
- (26) ότι σίναι βασικής σημασίας η πρόληψη ανδεχόμενων κινδύνων για τη δημόσια υγεία προερχόμενων από μολυσμένο νερό όπου θα πρέπει να διακόπτεται η παροχή ή να περιορίζεται η χρήση τετοιου νερού
- (27) ότι, σε περίπτωση μη τήρησης μιας παραμέτρου ενδεικτικής σημασίας, τα οικεία κράτη μέλη εξετάζουν αν η εν λόγω μη τήρηση δημιουργεί κίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία όπου θα πρέπει να αναλαμβάνουν επανορθωτική δράση προκεμένου να αποκαταστεθεί η ποιότητα του νερού όπου αυτό είναι απαραίτητο για την προστασία της ανθρώπινης υγείας
- (28) ότι όπου απαιτείται κάποια επανορθωτική δράση για την αποκατάσταση της ποιότητας του νερού ανθρώπινης κατανάλωσης, σύμφωνα με το άρθρο 130 Ρ παρέγγειρας 2 της συνθήκης, θα πρέπει να δίδεται προτεραιότητα σε δράσεις που χωρίζουν το πρόβλημα στην πηγή του
- (29) ότι, υπό ορισμένες συνθήκες, τα κράτη μέλη θα πρέπει να επιτρέπεται να χρηγούν παρεξαιλίσεις από την παρούσα οδηγία όπι, επιπλέον, απαιτείται η εκπόνηση του κατάλληλου πλαισίου για τις εν λόγω παρεκκλίσεις, με την επικύρωσή της σχετικής περιοχής όπου η παρέκκλιση δεν ενέχει ανδεχόμενους κινδύνους για την ανθρώπινη υγεία και ότι η υδροδότηση για την ανθρώπινη κατανάλωση της σχετικής περιοχής δεν είναι δυνατόν να διατηρηθεί με κανένα άλλο εύλογο τρόπο
- (30) ότι, επειδή κατά την παραπομή ή τη διανομή νερού που προορίζεται για ανθρώπινη κατανάλωση, μπορεί να χρησιμοποιούνται ορισμένες ουσίες ή ορισμένα υλικά, απαιτείται η θέσπιση κανόνων που θα διέπουν τη χρήση τους κατά τρόπο ώστε να αποφεύγονται ανδεχόμενες ανεπιθύμητες δράσεις για την ανθρώπινη υγεία
- (31) ότι η επισημονική και τεχνή πρόδοσης μπορεί να απαιτήσει τη γείγηση προσαρμογή των τεχνικών απαιτήσεων που προβλέπονται στα παραρτήματα II και III όπι, περαιτέρω, για να διευκολυνθεί η εφαρμογή των μέτρων που απαιτούνται για το σκοπό αυτό, θα πρέπει να προβλέφθει διαδικασία με βάση την οποία η Επιτροπή θα μπορεί να θεσπίσει προσαρμογές αυτής της φύσεως με την επικοινωνία μιας επιτροπής αποτελούμενης από εκπροσώπους των κρατών μελών
- (32) ότι θα πρέπει οι καταναλωτές να ενημερώνονται κατά τον κατάλληλο και ενδεδειγμένο τρόπο σχετικά με την ποιότητα των νερού που προορίζεται για ανθρώπινη κατανάλωση, για την πρόσθια ανθρώπινη κατανάλωση, για κάθε παρέκκλιση που υιοθετείται από τα κράτη μέλη, καθίσι και για κάθε επανορθωτική δράση που αναλαμβάνεται από τις αρμόδιες αρχές όπι, επιπλέον, θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη οι τεχνικές και στατιστικές ανάγκες της Επιτροπής και το δικαίωμα δόλων του πολιτών στην πλήρη ενημέρωση σχετικά με την ποιότητα του νερού ανθρώπινης κατανάλωσης
- (33) ότι, σε εξαιρετικές περιστάσεις και για καθορισμένες γεωγραφικές περιοχές, τα κράτη μέλη μπορεί να χρειασθούν μεγαλύτερο χρονικό διάστημα για να συμμορφωθούν με ορισμένες διατάξεις της παρούσας οδηγίας
- (34) ότι η παρούσα οδηγία δεν θα πρέπει να επηρεάζει τις υποχρεώσεις των κρατών μελών που αφορούν τις προθεσμίες μεταχρηστήσης στην εθνική νομοθεσία, ή τις προθεσμίες εφαρμογής που αναφέρονται στο παρόμερτημα Γ/

ΕΞΙΔΩΣΕ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΑ ΣΑΗΓΙΑ:

Άρθρο 1

Στόχος

- Η παρούσα οδηγία αφορά την ποιότητα του νερού ανθρώπινης κατανάλωσης.
- Στόχος της παρούσας οδηγίας είναι, η προστασία της ανθρώπινης υγείας από τις δυσμενείς επιπτώσεις που οφείλονται στη μόλυνση του νερού ανθρώπινης κατανάλωσης, μέσω της εξασφάλισης ότι είναι υγεινό και καθαρό.

Άρθρο 2

Οφισμοί

Για τους σκοπούς της παρούσας οδηγίας νοούνται ως:

- κανέρο ανθρώπινης κατανάλωσης;
- α) το νερό, είτε στη φυσική του κατάσταση είτε μετά από επεξεργασία, που προορίζεται για πόση, μαργί-ευνα, προσαρασκευή τροφής ή άλλες αικιακές χρήσεις, χωνεύοντας από την πρόβλεψη του και από το εάν παρέχεται από δίκτυο διανομής, από βυτίο, ή σε φιάλες ή δοχεία;
- β) το νερό που χρησιμοποιείται στις επιχειρήσεις παραγωγής τροφίμων για την παρασκευή, επεξεργασία, συντήρηση ή εμπορία προϊόντων ή ουσιών που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση, εκτός αν οι αρμόδιες αρχές κρίνουν ότι η

ποιότητα του νερού δεν μπορεί να επηρεάσει την υγεινή των τροφίμων στην τελική τους μορφή.

2. κοικιακά συστήματα διανομής: ο σωληνώσεις, τα εξαρτήματα και οι συσκευές που έχουν εγκατασταθεί μεταξύ των βρυσών που συνήθως χρησιμοποιούνται για ανθεύπαντη κατανάλωση και του δικτύου διανομής, αλλά μόνον εφόσον αυτά δεν υπάγονται στην ευθύνη του φορέα ίδρευσης, υπό την ιδιότητά του αυτή.

Αρθρο 3

Εξαιρέσεις

1. Η παρούσα οδηγία δεν εφαρμόζεται:

- a) στο φυσικό μεταλλικό νερό που αναγνωρίζεται ως τέτοιο από τις αρμόδιες εθνικές αρχές, σύμφωνα με την οδηγία 80/777/EOK του Συμβουλίου, της 15ης Ιουλίου 1980, περί προσεγγίσεως των νομοθεσιών των κρατών μελών σχετικά με την εκμετάλλευση και τη θέση στο εμπόριο των φυσικών μεταλλικών νερών (¹).
- b) στο νερό που θεωρείται φαρμακευτικό ιδιοσκεύασμα κατά την έννοια της οδηγίας 65/65/EOK του Συμβουλίου, της 26ης Ιανουαρίου 1965, περί της προσεγγίσεως των νομοθετικών, κανονιστικών και διοικητικών διατάξεων σχετικά με τα φάρμακα (²).

2. Τα κράτη μέλη μπορούν να εξαιρούν από τις διατάξεις της παρούσας οδηγίας:

- a) το νερό που προορίζεται αποκλειστικά για σκοπούς για τους οποίους οι αρμόδιες αρχές κρίνουν ότι η ποιότητά του νερού δεν επηρεάζει, άμεσα ή άμεσα, την υγεία των ενδιαφερόμενων καταναλωτών
- b) το νερό ανθεύπαντης κατανάλωσης που λαμβάνεται από συγκεκριμένη πηγή με παροχή κάτω των 10 m^3 ημερησίως κατά μέσο όρο ή που εξυπηρετεί κάτω από 50 άτομα, εκτός εάν το νερό διατίθεται στο πλαίσιο εμπορευτικής ή δημόσιας δραστηριότητας.

3. Τα κράτη μέλη που εφαρμόζουν τις εξαιρέσεις της παραγράφου 2 στοιχείο β) εξασφαλίζουν ότι, ο ενδιαφερόμενος πληθυνμός ενημερώνεται σχετικά καθώς και για κάθε ενέργεια που μπορεί να αναληφθεί για να προστατευθεί η ανθεύπαντη υγεία από τις δυσμενείς επιπτώσεις που

(¹) ΕΕ L 229 της 30.8.1980, α. 1^o οδηγία ίσως τραποποιήσης τελευταία από την οδηγία 96/70/EK (ΕΕ L 299 της 23.11.1996, α. 26).

(²) ΕΕ L 22 της 9.2.1965, α. 369^o οδηγία ίσως τραποποιήσης τελευταία από την οδηγία 93/39/EOK (ΕΕ L 214 της 24.8.1993, α. 22).

οφείλονται στη μόλυνση του νερού ανθεύπαντης κατανάλωσης. Επιπλέον, όταν ένας ενδεχόμενος κίνδυνος για την ανθεύπαντη υγεία λόγω της ποιότητας του νερού αυτού είναι προφανής, πρέπει να παρέχονται αμέσως οι κατάλληλες οδηγίες στον ενδιαφερόμενο πληθυνμό.

Αρθρο 4

Γενικές υποχρεώσεις

1. Με την επιφύλαξη των υποχρεώσεών τους δυνάμει αλλων κοινοτικών διατάξεων, τα κράτη μέλη λαμβάνουν τα αναγκαία μέτρα ώστε να εξασφαλιστεί ότι το νερό ανθεύπαντης κατανάλωσης είναι υγειονό και καθαρό. Για τους σκοπούς των ελαχίστων απαιτήσεων της παρούσας οδηγίας, το νερό ανθεύπαντης κατανάλωσης είναι υγειονό και καθαρό εφόσον:

- a) είναι απαλλαγμένο μαριούργανισμάν και παρασίτων, και οποιωνδήποτε ουσιών, σε αριθμούς και συγκεντρώσεις, που αποτελούν ενδεχόμενο κίνδυνο για την ανθεύπαντη υγεία και
- b) πληροί τις ελάχιστες απαιτήσεις του παραρτήματος I μέρη Α και Β,

και εφόσον, σύμφωνα με τις σχετικές διατάξεις των άρθρων 5 έως 8 και 10, τα κράτη μέλη λαμβάνουν, σύμφωνα με τη συνθήκη, όλα τα αναγκαία μέτρα προκειμένου να εξασφαλιστεί ότι το νέρο ανθεύπαντης κατανάλωσης συμμορφούται προς τις απαιτήσεις της παρούσας οδηγίας.

2. Τα κράτη μέλη εξασφαλίζουν ότι τα μέτρα που λαμβάνονται για την εφαρμογή των διατάξεων της παρούσας οδηγίας δεν οδηγούν, σε καμιά περίπτωση, σε άμεση ή έμμεση υποβάθμιση της σημερινής ποιότητας του νερού ανθεύπαντης κατανάλωσης στο μέτρο που αυτό αφορά πην προστασία της ανθεύπαντης υγείας, ούτε σε αινίξη της ρύπανσης του νερού που χρησιμοποιείται για την παραγωγή πόσιμου νερού.

Αρθρο 5

Ποιοτικές προδικιγραφές

1. Τα κράτη μέλη καθορίζουν τιμές για τις παραμέτρους του νερού ανθεύπαντης κατανάλωσης οι οποίες αναφέρονται στο παρόμιομα I.

2. Οι τιμές που καθορίζονται σύμφωνα με την παραγγελφο 1 δεν πρέπει να είναι λιγότερο αυστηρές από τις τιμές του παραρτήματος I. Όσον αφορά τις παραμέτρους του παραρτήματος I μέρος Γ, οι τιμές καθορίζονται μόνον για λόγους παρακολούθησης και για την τήρηση των υποχρέωσεων του άρθρου 8.

3. Τα κράτη μέλη καθορίζουν τιμές για πρόσθιτες παραμέτρους που δεν περιλαμβάνονται στο παρόμιομα I όταν

το επιβάλλει η προστασία της δημόσιας υγείας στο εθνικό τους έδαφος ή σε μέρος αυτού. Οι καθοριζόμενες τιμές θα πρέπει να πληρούν, τουλάχιστον, τις απαντήσεις του άρθρου 4 παράγραφος 1 στοιχείο α).

Άρθρο 6

Σημείο τήρησης

1. Οι παραμετρικές τιμές που καθορίζονται σύμφωνα με το άρθρο 5, πρέπει να τηρείνται

- α) για το νερό που παρέχεται από δίκτυο διανομής, στο σημείο, εντός του κτιρίου ή της κτιριακής εγκατάστασης, στο οποίο βγαίνει από τις βρύσες που χρησιμοποιούνται συνήθως για ανεράπτωτη κατανάλωση.
- β) για το νερό που παρέχεται από βυτίο, στο σημείο όπου το νερό βγαίνει από το βυτίο.
- γ) για νερό που τοποθετείται σε φιάλες ή δοχεία προς πάληση, στο σημείο στο οποίο το νερό τοποθετείται σε φιάλες ή δοχεία.
- δ) για το νερό που χρησιμοποιείται σε επιχείρηση παραγωγής προϊόντων, στο σημείο όπου το νερό χρησιμοποιείται στην επιχείρηση.

2. Στην περίπτωση του νερού της παραγράφου 1 στοιχείο α), τα κράτη μέλη τελείωσαν να πληρούν τις υποχρεώσεις του παρόντος άρθρου, του άρθρου 4 και του άρθρου 8 παράγραφος 2, εφόσον είναι δυνατόν να αποδειχθεί ότι η μη τήρηση των παραμετρικών τιμών που καθορίζονται σύμφωνα με το άρθρο 5, οφείλεται στο οικιακό σύστημα διανομής ή στη συντήρησή του, έως εξαιρουμένων των κτιρίων και κτιριακών εγκαταστάσεων όπου το νερό παρέχεται στο κοινό, όπως στα σχολεία, τα νοσοκομεία και τα εστιαρόση.

3. Σταν εφαρμόζονται η παραγράφος 2, και υπάρχει κίνδυνος ότι το νερό της παραγράφου 1 στοιχείο α), δεν ανταποκρίνεται στις παραμετρικές τιμές που καθορίζονται σύμφωνα με το άρθρο 5, τα κράτη μέλη εξασφαλίζουν παρόλα ταύτα όπως

- α) στα λαμβάνονται κατάλληλα μέτρα ώστε να μειωθεί η νερού παραμέτρων που καθορίζονται στην παραμετρική της παροχής οδηγώντας στους μειοκήσεις με κάθε ενδιεξόμενη επενδυτική ενέργεια που θα μπορούσε να κανείσει ηγετική.

λαμβάνονται άλλα μέτρα, όπως καταλληλες τεχνικές επεξεργασίας, προκειμένου να μεταβιβθεί η φύση ή οι ιδιότητες του νερού πριν από τη διάθεσή του ώστε να μειωθεί ή να εξαλειφθεί ο κίνδυνος όπι το νερό δεν ανταποκρίνεται στις παραμετρικές τιμές μετά τη διάθεσή της.

καταλληλες

- β) ο, ενδιαφερόμενοι καταναλωτές ενημερώνονται δεδηλώσης και λαμβάνουν οδηγίες για ενδεχόμενες πρόσθετες επενδυτικές ενέργειες που θα πρέπει να αναλάβουν.

Άρθρο 7

Παρακόλουθηση

1. Τα κράτη μέλη λαμβάνουν όλα τα αναγκαία μέτρα ώστε να εξασφαλιστούν ότι παρακολουθίσται τακτικά για ποιότητα του νερού ανθρώπινης κατανάλωσης προκειμένου να ελέγχεται αν το διατιθέμενο στους καταναλωτές νερό πληρούσι τις απαιτήσεις της παρούσας οδηγίας, καθώς τις παραμετρικές τιμές που καθορίζονται σύμφωνα με το άρθρο 5. Θα πρέπει να λαμβάνονται δειγματα τα οποία να είναι πενταποτικού ποιότητας του νερού που καταναλίσκεται καθόλη τη διαρκεία του έτους. Επιπλέον, τα κράτη μέλη λαμβάνουν όλα τα αναγκαία μέτρα ώστε να εξασφαλίζεται ο έλεγχος της αποτελεσματικής απολύμανσης του νερού ανθρώπινης κατανάλωσης, όταν αντη αποτελεί μέρος της διαδικασίας επεξεργασίας ή διανομής του νερού και ότι οι αισθητικές πεπαντρίσεις από υπαρκούντα απολύμανσης συγκρινούνται σε όσο το δυνατόν πιο χαμηλά όρια, χωρίς να διακυβεύεται η απολύμανση.

2. Για την τήρηση των υποχρεώσεων της παραγράφου 1, οι αρμόδιες ρευμένες και αναλληλίσυνες τηρούγεια σύμφωνα παρακολούθησης του νερού ανθρώπινης κατανάλωσης. Τα ει λόγω προγράμματα παρακολούθησης πρέπει να πληρούν τις ελάχιστες απαιτήσεις του παραρτήματος II.

3. Τα σημείο διεγηματοληψίας καθορίζονται από τις αρμόδιες αρχές και πρέπει να συμμορφωθούνται με τις σχετικές πεπιστήσεις του παραρτήματος II.

4. Για την παρακόλουθηση που αναφέρεται στο παρόν άρθρο, μπορούν να καθορίζονται καινοτοκίες κατευθυντήριες γενικές σύμφωνα με τη διαδικασία του άρθρου 12.

5. α) Τα κράτη μέλη πρέπει να τηρούν τις προδιαγραφές χαναλίσεως παραμέτρων που καθορίζονται στο παράρτημα III.

β) Αντι των μεθόδων που αναστέρνονται στο παράρτημα III μέρος 1, είναι δυνατόν να χρησιμοποιούνται επαλληλιστικές μέθοδοι ερόσον μπορεί να αποδειχθεί ότι τα λαμβανόμενα εποπτεύομάτα είναι τουλάχιστον εξίσου αξιόπιστα με εκείνα των μεθόδων που διχονον προσελκύονται. Τα κράτη μέλη που χρησιμοποιούνται επαλληλιστική μέθοδο διαβιβάζουν στην Επιτροπή όλα τα σχετικά στοιχεία που αφορούν τη μεθόδο αυτή και την ισοδυναμία της.

γ) Για τις παραμέτρους του παραρτήματος III μέρη 2 και 3, είναι δυνατόν να χρησιμοποιούνται οποιαδήποτε μέθοδος ανάλυσης ερόσον τηρούνται οι απαιτήσεις των μετάδοντων αντών.

6. Τα κράτη μέλη εξασφαλίζουν ότι διενεργείται συμπληρωματική κατά περίπτωση παρακολούθηση για τις υπολειτουργίες για τους αισθητικές δεδηλώσεις και λαμβάνουν λόγοι να πιστεύεται ότι οι αισθησές ή οι οργανισμοί,

αυτοί ενδέχεται να υπάρχουν σε ποσότητες ή αριθμούς που αποτελούν ενδεχόμενο κίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία.

Άρθρο 9

Παρεκκλίσεις

Άρθρο 8

Επινορθωτικές ενέργειες και περιορισμοί χοήσεως

- Τα κράτη μέλη μεριμνούν ώστε να διερευνάται αμέσως κάθε παράλληψη της τήρησης των παραμετρικών τιμών που καθορίζονται σύμφωνα με το άρθρο 5 παράγραφος 3, μέχεις ενός ανάτασου ορίου που καθορίζουν τα ίδια, εφόσον η παρέκκλιση δεν συνεπάγεται πιθανό κίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία και εφόσον η παροχή νερού ανθρώπινης κατανάλωσης στη συγκεκριμένη περιοχή δεν μπορεί να εξασφαλισθεί με άλλον εύλογο τρόπο. Οι παρεκκλίσεις πρέπει να είναι όσο το δυνατόν μικρότερες διάρκειας και δεν πρέπει να υπερβαίνουν την τριετία προς το τέλος της οποίας πρέπει να πραγματοποιείται επανεξέταση προκειμένου να καθοριστεί κατά πόσον έχει σημειωθεί ικανοποιητική πρόοδος. Όταν τα κράτη μέλη προτίθενται να παραχωρήσουν δεύτερη παρέκκλιση, γνωστοποιούν την επανεξέταση και τους λόγους για την απόφασή τους για παραχώρηση δεύτερης παρέκκλισης, στην Επιτροπή. Αυτή η δεύτερη παρέκκλιση δεν πρέπει επίσης να υπερβαίνει την τριετία.
- Εάν, παρά τα μέτρα που λαμβάνονται για να τηρηθούν οι υποχρεώσεις του άρθρου 4 παράγραφος 1, το νερό ανθρώπινης κατανάλωσης εξασφαλίζεται να μην τύλει τις παραμετρικές τιμές που καθορίζονται σύμφωνα με το άρθρο 5, και με την επιφύλεξη του άρθρου 6 παράγραφος 2, το ενδιαφέρομενα κράτη μέλη εξασφαλίζουν ότι αναλαμβάνονται, το ταχύτερο δυνατόν, οι απαιτούμενες επανορθωτικές ενέργειες για την αποκατάσταση της ποιότητάς τουν, και δίνουν προτεραιότητα την εφαρμογή τους, λαμβάνοντας μεταξύ άλλων υπόψη τον βαθμό υπέρβασης των σχετικών παραμετρικών τιμών και τον ενδεχόμενο κίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία.
- Ανεξαρτήτως τουν αν έχει σημειωθεί ή όχι η μη τήρηση των παραμετρικών τιμών, τα κράτη μέλη εξασφαλίζουν ότι απαγορεύεται η παροχή νερού ανθρώπινης κατανάλωσης το οποίο αποτελεί ενδεχόμενο κίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία ή ότι αναλαμβάνονται οι όποιες απαιτούμενες ενέργειες για να προστατευθεί η ανθρώπινη υγεία. Στις περιπτώσεις αυτές, οι καταναλωτές ενημερώνονται αμέσως σχετικά και τους παρέχονται οι αναγκαίες οδηγίες.
- Οι αρμόδιοι αρχές ή άλλοι αρμόδιοι φορείς αποφασίζουν ποιές ενέργειες δυνάμει της παραγράφου 3 θα πρέπει να αναληφθούν, λαμβάνοντας επίσης υπόψη τους κινδύνους για την ανθρώπινη υγεία οι οποίοι θα προέκυπταν από τυχόν διακοπή της παροχής ή περιορισμό της χοήσης νερού ανθρώπινης κατανάλωσης.
- Τα κράτη μέλη μπορούν να καθορίζουν κατευθύνσεις για να επικουρεύονται τις αρμόδιες αρχές κατά την εκπλήρωση των υποχρεώσεών τους δυνάμει της παραγράφου 4.
- Σε περίπτωση μη τήρησης των παραμετρικών τιμών ή των προδιαγραφών του παραρτήματος Ι μέρος Γ, τα κράτη μέλη εξετάζουν κατά πόσον αυτή η μη τήρηση δημιουργεί κίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία. Τα κράτη μέλη αναλαμβάνουν επανορθωτικές ενέργειες για την αποκατάσταση της ποιότητας του νερού εφόσον αυτό απαιτείται για την προστασία της ανθρώπινης υγείας.
- Τα κράτη μέλη εξασφαλίζουν ότι, όταν αναλαμβάνονται επανορθωτικές ενέργειες, οι καταναλωτές ενημερώνονται σχετικά εκτός από τις περιπτώσεις κατά τις οποίες οι αρμόδιες αρχές κρίνουν ότι η μη τήρηση των παραμετρικών τιμών είναι άνευ σημασίας.

- Τα κράτη μέλη μπορούν να προβλέπουν παρεκκλίσεις από τις παραμετρικές τιμές που καθορίζονται στο παράρτημα Ι μέρος Β ή που καθορίζονται σύμφωνα με το άρθρο 5 παράγραφος 3, μέχεις ενός ανάτασου ορίου που καθορίζουν τα ίδια, εφόσον η παρέκκλιση δεν συνεπάγεται πιθανό κίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία και εφόσον η παροχή νερού ανθρώπινης κατανάλωσης στη συγκεκριμένη περιοχή δεν μπορεί να εξασφαλισθεί με άλλον εύλογο τρόπο. Οι παρεκκλίσεις πρέπει να είναι όσο το δυνατόν μικρότερες διάρκειας και δεν πρέπει να υπερβαίνουν την τριετία προς το τέλος της οποίας πρέπει να πραγματοποιείται επανεξέταση προκειμένου να καθοριστεί κατά πόσον έχει σημειωθεί ικανοποιητική πρόοδος. Όταν τα κράτη μέλη προτίθενται να παραχωρήσουν δεύτερη παρέκκλιση, γνωστοποιούν την επανεξέταση και τους λόγους για την απόφασή τους για παραχώρηση δεύτερης παρέκκλισης, στην Επιτροπή. Αυτή η δεύτερη παρέκκλιση δεν πρέπει επίσης να υπερβαίνει την τριετία.
- Σε ξαρεπτικές περιπτώσεις, τα κράτη μέλη μπορούν να υποβάλλουν στην Επιτροπή αίτηση για τότε παρέκκλιση για περίοδο που δεν υπερβαίνει την τριετία. Η Επιτροπή αποφασίζει σχετικά με την αίτηση αυτή εντός τριών μηνών.
- Στις παρεκκλίσεις που παραχωρούνται σύμφωνα με την παράγραφο 1 ή 2, διευκρινίζονται τα ακόλουθα:
 - ο λόγος της παρέκκλισης;
 - η συγκεκριμένη παράμετρος, τα σχετικά αποτελέσματα της προηγούμενης παρακολούθησης, και η ανάπταση επιτρεπόμενη τιμή βάσει της παρέκκλισης;
 - η γεωγραφική περιοχή, η ημεροής παρεχόμενη ποσότητα νερού, ο θηρόμενος πληθυσμός, καθώς και κατά πόσον ή όχι θίγεται κάποια αφοράμενη επιχείρηση παραγωγής τροφίμων;
 - ένα κατάλληλο σύστημα παρακολούθησης, με αυξημένη συχνότητα παρακολούθησης, εφόσον απαιτείται;
 - η σύνοψη του προγράμματος των απαιτούμενων επανορθωτικών ενεργειών, στο οποίο συμπεριλαμβάνονται χρονοδιάγραμμα εργασιών, εκτίμηση κόστους και διάταξης για την επανεξέταση;
 - η αιτούμενη διάρκεια της παρέκκλισης.
- Εάν οι αρμόδιες αρχές κρίνουν ότι η μη τήρηση της παραμετρικής τιμής είναι άνευ σημασίας και εφόσον, με τις επανορθωτικές ενεργειές που αναλαμβάνονται σύμφωνα με το άρθρο 8 παράγραφος 2, είναι δυνατόν να αντιμετωπισθεί το πρόβλημα εντός 30 το πολύ ημερών, δεν απαιτείται η εφαρμογή των απαιτήσεων της παραγράφου 3.

Στην περίπτωση αυτή, οι αρμόδιες αρχές ή άλλοι αρμόδιοι φορείς καθορίζουν μόνον την ανάπταση επιτρεπόμενη τιμή της συγκεκριμένης παραμέτρου ουσίας που καθίσταται τον επιτρεπόμενο χρόνο για την αντιμετώπιση του προβλήματος.

5. Η προσφυγή στην παράγραφο 4 δεν είναι πλέον δυνατή σε η μη τήρηση μιας παραμετρικής τιμής για συγκεκριμένη παροχή νερού περιουσιαστήρες για περισσότερες από 30 ημέρες συνοδικά κατά τη διάρκεια των δώδεκα προηγουμένων μηνών.

6. Τα κράτη μέλη που εφαρμόζουν τις παρεκκαλίσεις του παρόντος άρθρου εξασφαλίζουν ότι ο θιγόμενος από την παρεκκαλιστή αυτή πληθυνμός ενημερώνεται αμέσως και με τον κατάλληλο τρόπο για την παρεκκαλιστή και τους όρους της. Επιπλέον, τα κράτη μέλη εξασφαλίζουν ότι, εφόσον επιτείται, παρέχονται οδηγίες σε συγκεκριμένες πληθυνμιακές φάσεις για τις οποίες η παρεκκαλιστή ενδέχεται να δημιουργησεις ειδικούς κινδύνους.

Οι υποχρεώσεις συντέλει δεν ισχύουν στην περίπτωση που εναρμόζεται στην παράγραφο 4, εκτός αν οι αρμόδιες αρχές επιφανίσουν διασφορετικά.

7. Με την εξαίρεση των παρεκκαλίσεων που παρέχονται σύμφωνα με την παράγραφο 4, τα κράτη μέλη ενημερώνουν την Επιτροπή εντός δύο μηνών για τις παρεκκαλίσεις του αφορούν απομική παροχή άνω των $1,000 \text{ m}^3$ ημερησίως κατά μέσο όρο ή εξυπηρετούν άνω των 5.000 ατόμων, παρέχοντας και τα στοιχεία που αναφέρονται στην παράγραφο 3.

8. Το παρόν άρθρο δεν ισχύει για το νερό ανθρώπινης κατανάλωσης το οποίο διεπίθεται προς πώληση σε φιάλες ή δοχεία.

Άρθρο 10

Εξασφάλιση της ποιότητας επεξεργασίας εξαπλισμού και υλικών

Τα κράτη μέλη λαμβάνουν όλα τα αναρκαία μέτρα ώστε να εξασφαλίζεται ότι κάθε ουσία ή κάθε υλικό νέων εγκαταστάσεων που χρησιμοποιείται για την παρασκευή ή τη διενομή νερού ανθρώπινης κατανάλωσης και οι προσμετέξεις που προέρχονται από αυτές τις ουσίες ή υλικά νέων εγκαταστάσεων δεν παραμένουν στο νερό ανθρώπινης κατανάλωσης σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από εκείνες τους ακατοίνται για τους σκοπούς της χειρήσης τους και δεν υποβαθμίζονται, άμεσα ή έμμεσα, την προστασία της ανθρωπότητας υγείας δύο προβλέπεται στην παρούσα οδηγία τα εργητηριακά έγγραφα και οι τεχνικές προδιαγραφές, δυνάμει του άρθρου 3 και του άρθρου 4 παράγραφος 1 της οδηγίας 90/106/EOK του Συμβουλίου, της 21ης Δεκεμβρίου 1988, για την προσέγγιση των νομοθετικών, κανονιστικών και διοικητικών διατάξεων των κρατών μελών όσον αφορά τα προϊόντα του τομέα των δομικών κατασκευών⁽¹⁾, πρέπει να πηρούν τις απαιτήσεις της παρούσας οδηγίας.

(1) ΕΕ L 40 της 11.2.1989, σ. 12 οδηγία έπως τραποποιήθηκε τελευτεία από την οδηγία 93/68/EOK (ΕΕ L 220 της 30.8.1993, σ. 1).

Άρθρο 11

Αναθεώρηση των παραρτημάτων

1. Τουλάχιστον ανά πενταετία, η Επιτροπή αναθεωρεί το παράρτημα I, υπό τις πρόσημα της επιστημονικής και τεχνικής πρόοδου και υποβάλλει, εφόσον χρειάζεται, προτάσεις τροποποίησης σύμφωνα με τη διαδικασία που καθορίζεται στο άρθρο 189 Γ της συνθήκης.

2. Τουλάχιστον ανά πενταετία, η Επιτροπή προσαρμόζει τα παραρτήματα II και III στην επιστημονική και τεχνική πρόοδο. Ο απαιτούμενος τροποποιήσεις θεσπίζονται σύμφωνα με τη διαδικασία που καθορίζεται στο άρθρο 12.

Άρθρο 12

Διεδικασία επιτροπής

1. Η Επιτροπή επικουρείται από επιτροπή που απαιρίζεται από αντιπρόσωπους των κρατών μελών και της οποίας προδρομεί ο αντιπρόσωπος της Επιτροπής.

2. Ο αντιπρόσωπος της Επιτροπής υποβάλλει στην επιτροπή σχέδιο των ληπτών μέτρων. Η επιτροπή εκφέρει τη γνώμη της για το σχέδιο εντός προθεμάτων που μπορεί να καθορίζει ο πρόεδρος ανάλογα με τον επειγόντα χαρακτήρα του θέματος. Η γνώμη εκφέρεται με την πλειοψηφία που ορίζεται στο άρθρο 148 παράγραφος 2 της συνθήκης για αποφάσεις τις οποίες καλείται να λάβει το Συμβούλιο μετά από πρόταση της Επιτροπής. Στο πλαίσιο της επιτροπής, οι ψήφοι των αντιπροσώπων των κρατών μελών σταθμίζονται όπως προβλέπεται στο προσαφερόμενο άρθρο. Ο πρόεδρος δεν λαμβάνει μέρος στην ψηφοφορία.

3. Η Επιτροπή θεσπίζει μέτρα άμεσης εφαρμογής. Ωστόσο, όταν τα μέτρα αυτά δεν είναι σύμφωνα με τη γνώμη της επιτροπής, ανακοινώνονται αμέσως από την Επιτροπή στο Συμβούλιο. Στην περίπτωση αυτή:

- α) Η Επιτροπή μπορεί να αναστέλλει την εφαρμογή των θεσπισθέντων μέτρων για περίοδο τριών μηνών από την πρεδρονήσια της ανακοίνωσης αυτής;
- β) Το Συμβούλιο, αποφασίζοντας με αιδινή πλειοψηφία, μπορεί να λάβει διαφορετική απόφαση εντός της προθεμής που αναφέρεται στο στοιχείο α).

Άρθρο 13

Ενημέρωση και εκθέσεις

1. Τα κράτη μέλη λαμβάνουν τα αναρκαία μέτρα ώστε να εξασφαλίστε, ότι παρέχονται όστις κατανάλωσης κατάλλη-

λες και ενημερωμένες πληροφορίες σχετικά με την ποιότητα του νερού ανθρώπινης κατανάλωσης.

Άρθρο 15

Εξ αρετικές περιστάσεις

2. Με την επιφύλαξη της οδηγίας 90/313/EOK του Συμβουλίου, της 7ης Ιουνίου 1990, σχετικά με την ειεύθερη πληροφόρηση για θέματα περιβάλλοντος⁽¹⁾, κάθε κράτος μέλος δημοσιεύει ανά τριετία έκθεση για την ποιότητα του νερού ανθρώπινης κατανάλωσης με στόχο την ενημέρωση των καταναλωτών. Η πρώτη από τις έκθεσεις αυτές καλύπτει τα έτη 2002, 2003 και 2004. Κάθε έκθεση αφορά, τουλάχιστον, τις απομικές παροχές νερού που υπερβαίνουν τα 1 000 m³ ημερησίως κατά μέσον όρο, ή εξαπηρετούν άνω των 5 000 ατόμων, καλύπτει τρία ημερολογιακά έτη και δημοσιεύεται πριν από το τέλος του ημερολογιακού έτους που έπειται της περιόδου στην οποία αναφέρεται.

3. Τα κράτη μέλη διαβιβάζουν τις εκθέσεις τους στην Επιτροπή εντός δύο μηνών από τη δημοσίευσή τους.

4. Η μορφή και οι ελάχιστες απαιτούμενες πληροφορίες για τις εκθέσεις που αναφέρονται στην παράγραφο 2 καθορίζονται λαμβανομένων ιδιαιτέρως υπόψη των μέτρων που αναφέρονται στο άρθρο 3 παράγραφος 2, στο άρθρο 5 παράγραφοι 2 και 3, στο άρθρο 7 παράγραφος 2, στο άρθρο 8, στο άρθρο 9 παράγραφοι 6 και 7 και στο άρθρο 15 παράγραφος 1, και, εφόσον απαιτείται, τε παποτοιώνται με τη διαδικασία του άρθρου 12.

5. Η Επιτροπή εξετάζει τις εκθέσεις των κρατών μελών και, ανά τριετία, δημοσιεύει συγκεκρινωτική έκθεση για την ποιότητα του νερού ανθρώπινης κατανάλωσης στην Κοινότητα. Η έκθεση αυτή δημοσιεύεται εντός εννέα μηνών από την παραλαβή των εκθέσεων των κρατών μελών.

6. Μαζί με την πρώτη έκθεση για την παρούσα οδηγία, όπως αναφέρεται στην παράγραφο 2, τα περίπτερα μέλη συντάσσουν επίσης έκθεση η οποία υπβάλλεται στην Επιτροπή σχετικά με τα μέτρα που οποία θλαβαίνει σχεδιάζουν για λάθους για την εκπλήρωση των υποχρεώσεων τους δύναμει του άρθρου 6 παράγραφος 3 και του παραρτήματος I μέρος Β σημείοση 10. Η Επιτροπή θα υποβάλει, ανάλογα με την περίπτωση, πρόταση για τη διάρθρωση της έκθεσης αυτής σύμφωνα με τη διαδικασία η οποία ορίζεται στο άρθρο 12.

Άρθρο 14

Χρονοδιάγραμμα συμμόρφωσης

Τα κράτη μέλη λαμβάνουν τα αναγκαία μέτρα ώστε να εξασφαλιστεί ότι η ποιότητα του νερού ανθρώπινης κατανάλωσης ανταποκρίνεται προς την παρούσα οδηγία εντός πέντε ετών από την έναρξη ισχύος της, με την επιφύλαξη των σημειώσεων 2, 4 και 10 του παραρτήματος I μέρος Β.

⁽¹⁾ ΕΕ L 158 της 23.6.1990, σ. 56.

1. Σε εξ αρετικές περιστάσεις και για συγκειρυμένες γεωγραφικές περιοχές, τα κράτη μέλη μπορούν να υποβάλλουν ειδική αίτηση στην Επιτροπή για περίοδο μενταλύτερη από αυτήν που προβλέπεται στο άρθρο 14. Η πρόσθιτη περίοδος δεν πρέπει να υπερβαίνει την τριετία προς το τέλος της οποίας πρέπει να πραγματοπιείται επανεξέταση που διαβιβάζεται στην Επιτροπή η οποία μπορεί, βάσει της επανεξέτασης αυτής, να παραχωρήσει δεύτερη πρόσθιτη περίοδο τριών το πολύ ετών. Η διάταξη αυτή δεν εφαρμόζεται στο νερό ανθρώπινης κατανάλωσης που διατίθεται προς πώληση σε φιάλες ή δοχεία.

2. Στην προαναφερόμενη αίτηση, η οποία πρέπει να αντιληφθείται δεόντως, εκτίθενται οι δυσκολίες που συναντώνται και περιλαμβάνονται, τουλάχιστον, δύος οι πληροφορίες που αναφέρονται στο άρθρο 9 παράγραφος 3.

3. Η Επιτροπή εξετάζει την αίτηση αυτή σύμφωνα με τη διαδικασία που ορίζεται στο άρθρο 12.

4. Τα κράτη μέλη που εφαρμόζουν το παρόν άρθρο εξασφαλίζουν ότι ο πληθυσμός των οποίοι αφορά η αίτηση ενημερώνεται αμέσως και με κατάλληλο τρόπο για την έκβαση της αίτησης. Επιπλέον, τα κράτη μέλη εξασφαλίζουν ότι, εφόσον απαιτείται, παρέχονται οδηγίες σε συγκεκριμένες πληθυσμιακές ομάδες για τις οποίες η αίτηση ενδέχεται να δημιουργήσει ειδικούς κινδύνους.

Άρθρο 16

Κατάργηση

1. Η οδηγία 80/778/EOK καταργείται πέντε έτη μετά την έναρξη ισχύος της παρούσας οδηγίας. Με την επιφύλαξη της παραγράφου 2, η κατάργηση αυτή δεν θίγει τις υποχρεώσεις των κρατών μελών όσον αφορά τις προθεσμίες μεταγραφής της στην εθνική νομοθεσία και εφαρμογής της, όπως προβλέπεται στο παράρτημα IV.

Οι παραπομπές στην καταργούμενη οδηγία θεωρούνται ως παραπομπές στην παρούσα οδηγία σύμφωνα με τον πίνακα αντιστοιχίας του παραρτήματος V.

2. Αφ' της στιγμής ένα κράτος μέλος θέσε, σε ισχύ τις αναγκαίες νομοθετικές κανονιστικές και διοικητικές διατάξεις προκειμένου να συμμορφωθεί με την παρούσα οδηγία και λάβει τα μέτρα που προβλέπονται στο άρθρο 14, όσον αφορά την ποιότητα του νερού ανθρώπινης κατανάλωσης στο κράτος μέλος αυτό, εφαρμόζεται η παρούσα οδηγία και όχι η οδηγία 80/778/EOK.

Άρθρο 17**Μεταγραφή στο εθνικό δίκαιο**

1. Τα κράτη μέλη θέτουν σε μχέλη τις αναγκαίες νομοθετικές, κανονιστικές και διοικητικές διατάξεις προκειμένου να συμμορφωθούν με την παρόντα οδηγία εντός δύο ετών από την έναρξη ωχόυς της. Ενημερώνουν αμέσως την Επιτροπή σχετικά.

Οι διατάξεις αυτές, όταν θεσπίζονται από τα κράτη μέλη, αναφέρονται ως την παρόντα οδηγία ή υποδειγματικά από παρόμοια αναφορά κατά την επίσημη δημοσίευσή τους. Οι λεπτομερείς διατάξεις για την αναφορά αυτή καθορίζονται από τα κράτη μέλη.

2. Τα κράτη μέλη ανακοινώνουν στην Επιτροπή τα κείμενα των διατάξεων εθνικού δικαίου που θεσπίζονται στον τομέα που διέπεται από την παρόντα οδηγία.

Άρθρο 18**Έναρξη μερίδας**

Η παρούσα οδηγία αρχίζει να μερίζει την εικοστή ημέρα από τη δημοσίευσή της στην Επίσημη Εφημερίδα των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων.

Άρθρο 19**Αποδέκτες**

Η παρόντα οδηγία απευθύνεται στα κράτη μέλη.

Βρυξέλλες 3 Νοεμβρίου 1998.

Για το Συμβούλιο

Ο Πρόεδρος

B. PRAMMER

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ I**ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΚΑΙ ΠΑΡΑΜΕΤΡΙΚΕΣ ΤΙΜΕΣ****ΜΕΡΟΣ Α****Μικροβιολογικές παραμέτρους**

Παράμετρος	Παραμετρική τιμή (σε μήρα/100 ml)
Escherichia coli (E. coli)	0
Εντερόκοκκοι	0

Για το νερό που πωλείται σε φιάλες ή δοχεία, ισχύουν τα ακόλουθα:

Παράμετρος	Παραμετρική τιμή
Escherichia coli (E. coli)	0/250 ml
Εντερόκοκκοι	0/250 ml
Pseudomonas aeruginosa	0/250 ml
Αριθμός αποσπόν σε 22 °C	100/ml
Αριθμός αποσπόν 37 °C	20/ml

ΜΕΡΟΣ Β
Χημικές πορφύρες

Πιρόμετρος	Πιρομετρική τιμή	Μονάδα	Σημειώσεις
Ακρυλαμίδιο	0,10	µg/l	Σημείωση 1
Αντιφλόιο	5,0	µg/l	
Αρσενικό	10	µg/l	
Βενζόλιο	1,0	µg/l	
Βενζο-α-πυρένιο	0,010	µg/l	
Βόριο	1,0	mg/l	
Βραμικά άλατα	10	µg/l	Σημείωση 2
Κάδριο	5,0	µg/l	
Χρόμιο	50	µg/l	Σημείωση 3
Χαλκός	2,0	mg/l	Σημείωση 3
Κυανιστηχα άλατα	50	µg/l	
1,2-διγλωσσιαμένιο	3,0	µg/l	
Επικλωρυδρίνη	0,10	µg/l	Σημείωση 1
Φθοριούχα άλατα	1,5	mg/l	
Μόλυβδος	10	µg/l	Σημειώσεις 3 και 4
Υδράργυρος	1,0	µg/l	
Νικέλιο	20	µg/l	Σημείωση 3
Νιτρικά άλατα	50	mg/l	Σημείωση 5
Νιτριφδη άλατα	0,50	mg/l	Σημείωση 5
Παραοικοτάνα	0,10	µg/l	Σημειώσεις 6 και 7
Σύνολο παραοικοτάνων	0,50	µg/l	Σημειώσεις 6 και 8
Πολυκαρβονικοί αρωματικοί υδρογονινέθρακες	0,10	µg/l	Αθροισμα συγκεντρώσεων συγκεχριμένων ενόσεων σημείωση 9
Σελήνιο	10	µg/l	
Τετραγλωσσιαμένιο και Τριγλωσσιαμένιο	10	µg/l	Αθροισμα συγκεντρώσεων συγκεχριμένων παραμέτρων
Ολικά τριαλογονομεθάνια	100	µg/l	Αθροισμα συγκεντρώσεων συγκεχριμένων ενόσεων σημείωση 10
Βινυλοχλωρίδιο	0,50	µg/l	Σημείωση 1

- Σημείωση 1:** Η παραμετρική τιμή αναφέρεται στην συγκέντρωση καπαλούπων μονομερούς στο νερό όπως ιππολογίζεται σήμερα με τις προδιαγραφές περί μεγίστης μετανάστευσης εκ των αντιποτίχων πολυμερούς στουν βρισκεται σε επιφάνη με το νερό.
- Σημείωση 2:** Ει δινατόν, τα κράτη μέλη πρέπει να επιδιώκουν για μεγαλύτερη τιμή χωρίς να θίγεται η απολύτιμωση.
Για το νερό που αναφέρεται στο άρθρο 6 παράγραφος 1 στοιχεία α), β) και δ), η τιμή πρέπει να έχει επιτεγχθεί το αργότερο, δέκα τημερολογιακά έτη μετά την ημερομηνία έναρξης ισχύος της παρούσας οδηγίας.
Η παραμετρική τιμή για τα βραβικά άλατα πέντε έτη μετά την έναρξη ισχύος της παρούσας οδηγίας και μέχρι δέκα έτη μετά την έναρξη ισχύος της, είναι 25 μεγ.
- Σημείωση 3:** Η τιμή ισχύει για δείμα νερού ανθρώπινης κατανάλωσης που λαμβάνεται με κατάλληλη μέθοδο δειγματοληψίας (1) στη βρύση και κατά τρόπον ώστε να είναι αντιπροσωπευτικό των εβδομαδιαίων μέσων άρρων που πίνουν οι καταναλωτές. Εφόσον ενδεικνύεται οι μεθόδοι δειγματοληψίας και παρακαλείται θήρης αραγμάτων που κατά εναργονομένο τρόπο που καθορίζεται σήμερα με το άρθρο 7 παράγραφος 4. Τα κράτη μέλη λαμβάνουν την πιθανή τη περιστατική μεγίστων επιπέδων που ενδέχεται να έχουν διαμετωπίσει επιπτώσες στην ανθρώπινη υγεία.
- Σημείωση 4:** Για το νερό που αναφέρεται στο άρθρο 6 παράγραφος 1 στοιχεία α), β) και δ), η τιμή πρέπει να έχει επιτεγχθεί το αργότερο, 15 τημερολογιακά έτη μετά την ημερομηνία έναρξης ισχύος της παρούσας οδηγίας. Η παραμετρική τιμή για το μόλιςβο πέντε έτη μετά την έναρξη ισχύος της παρούσας οδηγίας και μέχρι 15 έτη μετά την έναρξη ισχύος της, είναι 25 μεγ.
- Τα κράτη μέλη μεριμνούν ώστε να λαμβάνουν δόση τα δεσμούν μέτρα για την όσο το δινατόν μεγαλύτερη μείζη της συγκέντρωσης των μολύβδων στο νερό ανθρώπινης κατανάλωσης κατά την περίοδο που απαιτείται για να επιτεγχθεί η τήρηση της παραμετρικής τιμής.
- Όποιαν εφαρμόζονται μέτρα για την επίτελη της τήρησης της τιμής ανησκες, τα κράτη μέλη δίνουν προσδετικά την προτεραιότητα δόσουν ιστεργούντων σε υψηλήτερες συγκεντρώσεις μολύβδου στο νερό ανθρώπινης κατανάλωσης.
- Σημείωση 5:** Τα κράτη μέλη εξασφαλίζουν ότι πρέπει ο όρος [νιτρικά άλατα]/50 + [νιτρώδη άλατα]/3 ≤ 1, οι αγκείες πιστοποίησης συγκέντρωσης σε μεγ/για τα νιτρικά άλατα (NO_3) και για τα νιτρώδη άλατα (NO_2), καθώς και ότι η τιμή 0,10 μεγ/για τα νιτρικά άλατα πρέπει για το νερό που προσδέχεται από εγκαταστάσεις επεξεργασίας.
- Σημείωση 6:** Ως παραδοσιακά πονοκέφαλοι νοσήσιμαι:
 — αργινινά επιφυλακτίνα,
 — αργινινά ζανιακόνα,
 — αργινινά μυκητοφυλακτίνα,
 — αργινινά νηματοθολοκτίνα,
 — αργινινά αναρισοκτίνα,
 — αργινινά φινοκατόνα,
 — αργινινά ηρακτοπυκνόνα,
 — αργινινά γιλικοκτίνα,
 — σιναφή προιόντα (μεταξιά άλατα, οι ενθυμιστές ανίχησης)
 και οι σχετικά μεταβολίτες αυτών, προϊόντα υποβάθμησης και αντιθρασμής.
- Ελέγχονται μόνιμα τα παρασιτονότα που οποίων πιθανούλογείται η παρούσια σε μία δεδομένη παρούση νερού.
- Σημείωση 7:** Η παραμετρική τιμή ισχύει κάθε επιμέρους παρασιτονότο. Για το αλντράν, το ντελντρόν, το επταγλύρω και το επεξιόν επταγλώ, η παραμετρική τιμή είναι 0,030 μεγ.
- Σημείωση 8:** Ως «στοιχικά παρασιτονότα» νοείται τα αδροίσμα άλατα που περιέχουν παρασιτοκρόνων που ανιχνεύονται και προσδιορίζονται πασσόπαλως κατά τη διαδικασία παρακαλούσιθρης.
- Σημείωση 9:** Οι συγχεκτικές ενώσεις είναι:
 — βενζο(β)φθοροανθένιο,
 — βενζο(λ)φθοροανθένιο,
 — βενζο(ηβή)φθοροανθένιο,
 — πεντο(1,2,3-γδ)παρένιο.
- Σημείωση 10:** Ει δινατόν, τα κράτη μέλη πρέπει να επιδιώκουν για μεγαλύτερη τιμή χωρίς να θίγεται η απολύτιμωση.
Οι συγχεκτικές ενώσεις είναι: γιλιαροφθορέμιο, βενφορφθορέμιο, διβρωμογκλωροφθορέμιο, βενωμοδιγλωροφθορέμιο.
- Για το νερό που αναφέρεται στο άρθρο 6 παράγραφος 1 στοιχεία α), β) και δ), η τιμή πρέπει να έχει επιτεγχθεί το αργότερο, δέκα τημερολογιακά έτη μετά την ημερομηνία έναρξης ισχύος της παρούσας οδηγίας.
Η παραμετρική τιμή για ολικά τριαλογρονομεθάνια πέντε έτη μετά την έναρξη ισχύος της παρούσας οδηγίας και μέχρι δέκα έτη μετά την έναρξη ισχύος της, είναι 150 μεγ.

(1) Θα προστεθεί ανάλογα με τα αποτελέσματα της προς το παρόν διεξαγόμενης μελέτης.

Τα χράτη μέλη μεριμνούν ώστε να λαμβάνονται όλα τα δευτικά μέτρα για την όσο το δυνατόν μεγαλύτερη μείωση της συγχέντρωσης των τριαλογονομεθανίων στο νερό ανθρώπινης κατανάλωσης κατά την περίοδο που απαιτείται για να επιτενύθει η σημητή της παραμετρικής τιμής.

Όταν εφαρμόζονται μέτρα για την επίτενέη της τιμής αντίτοιχα τα χράτη μέλη δύνονται προσθετικά στης περιοχές με τις υψηλότερες συγχέντρωσεις τριαλογονομεθανίων στο νερό ανθρώπινης κατανάλωσης.

ΜΕΡΟΣ Γ

Ειδεικαίες παρόμετρα

Παρόμετρος	Παραμετρική τιμή	Μονάδα	Σημειώσεις
Αργιλίο	200	μg/l	
Αρμάνιο	0,50	mg/l	
Χλωριστήχα άλατα	250	mg/l	Σημείωση 1
Clostridium perfringens (συμπεριλαμβανομένων των απορριμών)	0	αριθμός/100 ml	Σημείωση 2
Χρόμα	Αποδεκτό για τους καταναλωτές και άνευ αισινήθους μεταβολής		
Αγωγιμότητα	2.500	μS cm ⁻¹ στους 20 °C	Σημείωση 1
Συγχέντρωση ιόντων υδρογόνου	≥ 6,5 και ≤ 9,5	μονάδες pH	Σημειώσεις 1 και 3
Σίδηρος	200	μg/l	
Μαγγάνιο	50	μg/l	
Ορυχή	Αποδεκτή στους καταναλωτές και άνευ αισινήθους μεταβολής		
Οξειδωσιμότητα	5,0	mg/l O ₂	Σημείωση 4
Θεικά άλατα	250	mg/l	Σημείωση 1
Νέτριο	200	mg/l	
Γεύση	Αποδεκτή στους καταναλωτές και άνευ αισινήθους μεταβολής		
Αριθμός απορριμών σε 22°C	Άνευ αισινήθους μεταβολής		
Κολοβακτηριειδή	0	αριθμός/100 ml	Σημείωση 5
Ολικός οργανικός άνθρακας (TOC)	Άνευ αισινήθους μεταβολής		Σημείωση 6
Θαλάστητα	Αποδεκτή στους καταναλωτές και άνευ αισινήθους μεταβολής		Σημείωση 7

ΡΑΔΙΕΝΕΡΓΕΙΑ

Παράμετρος	Παραμετρική τιμή	Μονάδα	Σημειώσεις
Τρίτιο	100	bequerel	Σημειώσεις 8 και 10
Ολυμή ενδεικτική δύση	0,10	μBq/ltos	Σημειώσεις 9 και 10

Σημείωση 1: Το νερό δεν πρέπει να είναι διαβρωτικό

Σημείωση 2: Η παράμετρος αντή γρεινέται να μεράπια μόνον έταν το νερό προδρύεται ή επηρεάζεται από επικρατειακό νερό. Σε περίπτωση μη τήρησης της παραμετρικής αυτής τιμής, τα χρήτη μάλλη φετούν την παροχή τερην για να εξασφαλίσουν έτι δεν ωρίζεται ενδικτικός κίνδυνος για την ανθρώπινη υγεία λόγω της παρουσίας παθογόνων μικροοργανισμών, όπως τη γ. Cryptosporidium. Τα χρήτη μάλλη προστατεύεται τα αποτελέσματα των φρεατών αντών στην έκθεσή στον ιντοβάλλονταν σίμφωνα με το άρθρο 13 παράγραφος 2.

Σημείωση 3: Πα το σταύρωμα νερό που παροθετείται σε υψηλές ή δισείδιες, η καπνώστα τιμή μπορεί να μειώνεται σε 4,5 μονάδες εβΙ.

Πα το νερό που παροθετείται σε χαμηλές ή δισείδιες και ξερει φριστική παραγεντητρά σε ή είναι τεχνητά φυτόμαντα πεύκου με διαξέδιση των μέντημα, τη μάζα για την μάλλη παραγεντητρά και είναι καυταπληγή.

Σημείωση 4: Η παράμετρος αντή δεν γρεινέται, να μητρόποια αφόσιοι αναδίνεται η παράμετρος ολικού οργανικού άνθρακα.

Σημείωση 5: Πα νερό που παροθετείται σε ριάλες ή δισείδιες, η μονάδα είναι αριθμός 250 ml.

Σημείωση 6: Η παράμετρος αντή δεν γρεινέται να μετράται για παροχής κάτια πον 10 000 μετρητούς.

Σημείωση 7: Το παραποτητή πιεζορυθμής πικρανητικής γήρασης την 1,0 NTU (νεφρομετρική μονάδα θελότητας) στο νερό που προδρύεται από εναντοστάσεις επεξεργαστούς.

Σημείωση 8: Οι συγχρήτης θέλει να περιληφθούν οργάνωσα στο παράρτημα II.

Σημείωση 9: Εξαιρούμενον του τριτού, ταν καλίσι -40, ταν δαδούνισιν και ταν προστιθέντων διάστασής τουν δαδούνισιν. Οι συγχρήτης θέλει να περιληφθούν πικρανητικής γήρασης και οι πάτων καταλλήλες θέσεις για τα σήμεια παρακαλούνται.

Σημείωση 10:

- Οι ανεμιστήρες, αύρη τη υπερέματη δικυάνια, για την πιεζορυθμητική πλέγματα και τη υπερέματη 9 για τη συγχρήτης θέλει, της μεθόδους παρακαλούντησης και της πλέγματος καταλλήλες θέσεις για τα σήμεια παρακαλούντησης στο παράρτημα II εγκρίνονται σήμφωνα με τη διαδικασία που προβλέπεται στο άρθρο 12. Κατά την καράτετη των προτάσεων αυτών, η Επιχειρήθα λάβει υπόψη της μεταξύ άλλων, της σχετικής διατάξεις δινηάμει της νομοθεσίας ή τη κατάλληλη προηγόρυμα παρακαλούντησης, σηματεύσαντανομένων των αποτελεσμάτων παρακαλούντησης που προστίθεται από την Επιχειρήθα παραβιάζει της προτάσεων αυτές το αριθμότερο εντός διεκοπτών μητρώων που προβλέπεται στο άρθρο 18 της σύγχρονης.

2. Δεν απαιτείται από ένα τρόπο μάλλος να ελέγχει το πόσιμο θέριο για την ή δαδιενέργεια για τα καθοδίσει αισιή εινεκτική δόση, αρόδην, βάσα αύλης παρακαλούντησης, είναι κανονισμένο από το γενικός ότι τη επίνεια του τριτού ή η αισιή εινεκτική δόση στο νερό είναι αρκετά κάπως από την παραμετρική τιμή. Στην παραπάνω αυτή ανακοινώνεται λόγον της απόρροσής των στην Επιχειρήθα, σηματεύσαντανομένων των αποτελεσμάτων παρακαλούντησης που προστίθεται από την Επιχειρήθα παραβιάζει της προτάσεων αυτές το αριθμότερο εντός διεκοπτών μητρώων που προβλέπεται στο άρθρο 18 της σύγχρονης.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ II**ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ**

ΠΙΝΑΚΑΣ Α

Αναλυτικές παραμέτρου

1. Συγκαστική παρακολούθηση

Σκοπός της δοκιμαστικής παρακολούθησης είναι να παρέχονται, σε τακτική βάση, στοιχεία για την οργανικήτητα και μικροβιολογική ποιότητα του νερού που διατίθεται για ανθρωπινή κατανάλωση καθώς και πληροφορίες για την αποτελεσματικότητα της επεξεργασίας του ποσού πάνω από τον θερμότηταντος (ιδίως της απολύμανσης) εσόδου γινόταν, ώστε να διαπιστωθεί κατά πόδαν το νέρο ανθρώπινης κατανάλωσης τηρεί τις σχετικές παραμετρικές τιμές της παρασύνας οδηγίας.

Οι παραμέτροι παρατητούνται σε διακανονική περιγενετική θέση. Την χρήση μάλιστα μπορούν να προσθέτονται και άλλες παραμέτρους στην πίνακα αυτόν εάν το αρέσουν σχόλια.

Αργίλια (ομείωση 1)

Αρμάτιο

Χρώμα

Αγωγμάτων

Clostridium Perfringens (συμπεριλαμβανομένων των απορίων) (ομείωση 2)

Escherichia coli (E. coli)

Συγκεντρωση ιόντων σύρραγμα

Σίδηρος (ομείωση 1)

Νιτρώδης άλιτα (ομείωση 3)

Οօρη

Pseudomonas aeruginosa (ομείωση 4)

Τεσση

Αριθμός αποκαλύψιμης σε 22 °C και 37 °C (ομείωση 4)

Κολοβεκτηριοειδή

Θολότητα

Σημείωση 1: Αποτελείται μόνον όταν χρησιμοποιείται ως κροκιδωτακό (*).

Σημείωση 2: Αποτελείται μόνον το νερό προέρχεται ή επηρεάζεται από επιφανειακό νερό (*).

Σημείωση 3: Αποτελείται μόνον για την απολύμανση γινόταν γλυκομέτρηση (*).

Σημείωση 4: Αποτελείται μόνον για νερό που διαπίστεται προς πώληση σε φιάλες ή σε δοχεία.

(*) Σε όλες τις άλλες περιπτώσεις, οι παραμέτροι περιλαμβάνονται στην πίνακα γης ελεγκτικής παρακολούθησης.

2. Ελεγκτική παρακολούθηση

Σκοπός της ελεγκτικής παρακολούθησης είναι να παρέχονται τα στοιχεία που απαιτούνται για τη διαπιστώση κατά πόδαν προσήντων όλων των παραμετρικών τιμών της παρασύνας οδηγίας. Όλες οι παραμετροί που καθορίζονται σύμφωνα με το άρθρο 5 παράγγαροι 2 και 3, πρόκειται σε ελεγκτική παρακολούθηση, ενώς όχι οι αρμάδιες αρχές αποφασίσθηκαν, για χρόνιαν περίοδο που καθορίζουν οι ίδες, στη μία παραμετρούς δεν υπάρχει πιθανότης να εμφανισθεί σε μία δεδομένη παροχή νερού σε συγκεντρώσεις οι οποίες θα δημιουργούνται καθόντων παραβιάσης της αντίστοιχης παραμετρικής τιμής. Η παράγγραφος αυτή δει ισχεῖ ότι τις παραμετρικές σχετικές με τη ραδιενέργεια, οι οποίες, υπό τον ίδρυτο των ομείωσεων 8, 9 και 10 του παραρτήματος Ι μέρος Γ, παρακολουθούνται στην πίνακα με τις απαντήσεις παρακολούθησης που θεσπίζονται δυνάμει του άρθρου 12.

ΠΙΝΑΚΑΣ Β1

Ελάχιστη συγχύτηση δειγματοληψίας και αναλύσεων του νερού στιγμιαίης κατανάλωσης που παρέχεται από δίκτυο δικαιομέτρης ή από βιτό ή χρησιμοποιείται σε επιχείρηση παραγογής τροφίμων

Τα καράτη μέλη λαμβάνονται από τα ομιλία τηλεοπτικής που καθορίζονται στο άρθρο 6 παράγραφος 1 ώστε για εξασφαλίζουν ότι το νερό ανθρώπινης κατανάλωσης ανταποκρίνεται προς τις απαντήσεις της οδηγίας. Ωστόσο, σε περίπτωση διακοπής διανομής, τα κράτη μέλη μπορούν να λαμβάνουν διείκματα εντός της ίδιας παραχήτης ή στις εργαστατέλεις επεξεργασίας για συγκεκριμένες παραγμένους εφόδους είναι δυνατόν να αποδειχθεί ότι δεν θα υπήρχε δινομενής μεταβολή της μετρούμενης τιμής της συγκεκριμένης παραγμένου.

Όρος διανομέμενον ή παραγόμενον νερού ημερήσιως σε μέτρη παροχής (Σημείωσεις 1 και 2) m ³	Δοκιμαστική παρακολούθηση Αριθμός δειγμάτων επημίδιως (Σημείωσεις 3, 4 και 5)	Ελεγκτική παρακολούθηση Αριθμός δειγμάτων επημίδιως (Σημείωσεις 3 και 5)
≤ 100	(Σημείωση 6)	(Σημείωση 6)
> 100 ≤ 1 000	4	1
> 1 000 ≤ 10 000		1 + 1 ανά 3 300 m ³ και άνωτερης του συνολικού όγκου
> 10 000 ≤ 100 000	4 + 3 ανά 1 000 m ³ και άνωτερης του συνολικού όγκου	3 + 1 ανά 10 000 m ³ και άνωτερης του συνολικού όγκου
> 100 000		10 + 1 ανά 25 000 m ³ και άνωτερης του συνολικού όγκου

Σημείωση 1: Ως ζύμη παροχής γνένται μια γεωγραφικά καθορισμένη περιοχή εντός της οποίας το νερό ανθρώπινης κατανάλωσης εισέρχεται από μία ή περισσότερες πηγές και εντός της οποίας η ποιότητα του νερού μπορεί να διευρηθεί ως περίπου ομοιόμορφη.

Σημείωση 2: Οι όγκοι πιστολογίζονται ως μέσες της για ένα ημερολογιακό έτος. Για τον καθορισμό της ελάχιστης συγχύτησης, τα κράτη μέλη μπορούν να χρησιμοποιήσουν των αριθμό καταίσιων μιας ζύμης παροχής αντί του όγκου των νερού, διευρύνοντας όπως κάθε μέτρο κατανάλωσης 200 l/μερηγμάτως.

Σημείωση 3: Στην περίπτωση περισσότερης παροχής, βραχείας διαρκείας, η συγχύτηση παρακολούθησης του νερού που διανέμεται με βιτό απαραιτείται από τα ενδιαφερόμενα κράτη μέλη.

Σημείωση 4: Για τις διάφορες παραμέτρους των παραρτήματος Ι, τα καράτη μέλη δίκινονται να μείνουν των αριθμό δειγμάτων που ορίζονται στον τίτλο κάτιον.

- a) οι τιμές των αποτελεμάτων που επιτυγχάνονται από διένυματα λαμβανόμενα επί περίοδο τούλαγματον διά στιγμών επίληπτά είναι σταθερές και σημαντικάς καλύτερες από τις οριακές τιμές των παραρτήματος Ι και
- b) δεν πιστολογείται κάποιος παράγον που ειδίκευται να πιστοβιβάζει την ποιότητα του νερού.

Η κατέβαση σημαντικής δεν πρέπει να είναι μεριότερη των 50 % των αριθμού των δειγμάτων που αναφέρονται στον πίνακα εντός της ειδικής περιοχής παραγόντων της σημείωσης 6.

Σημείωση 5: Στο μέτρο την δινοτάτη, ο αριθμός των δειγμάτων πρέπει να κατανέμεται ομοιόμορφα στο χρόνο και το χώρο.

Σημείωση 6: Η συγκάτηση πρέπει να αποφασίζεται από τα ενδιαφερόμενα κράτη μέλη.

ΠΙΝΑΚΑΣ Β2

Ελάχιστη συγκότητα διειρητικού ληφθίους και ανάλυσης του νερού που εποπθετέσθαι σε φιάλες ή δοχεία προς πάλητρη

Όγκος ημερησίως παραγόμενου νερού προς πάλητρη σε φιάλες ή δοχεία () m ³	Δοκιμαστική παρακολούθηση Αριθμός δειγμάτων επηρεώς	Ελεγχτική παρακολούθηση Αριθμός δειγμάτων επηρεώς
≤ 10	1	1
> 10 ≤ 60	12	1
> 60	1 ανά 5 m ³ και, άνω/ημερησίως του συνολικού όγκου	1 ανά 100 m ³ και, άνω/ημερησίως του συνολικού όγκου

*) Οι όγκοι πατάλων παραγίζονται ως μέσες τημές για ένα ημερολογιακό έτος.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ III

ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ

Τα κράτη μέλη διασφαλίζουν ότι κάθε εργαστήριο στο οποίο αναλύονται δείγματα διαθέτει συστήμα αναλυτικού πιονισμού ελέγχου το οποίο, από καιρού εις καιρόν,, υποβάλλεται σε έλεγχο από πρόσωπο μη ελεγχόμενο από το εργαστήριο και το οποίο έχει εγκρίνει η αρμόδια αρχή προς το σκοπό αυτό.

1. ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΓΙΑ ΤΙΣ ΟΠΟΙΕΣ ΚΑΘΟΡΙΖΕΤΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

Οι κατωτέρω αρχες που διέπουν τις μεθόδους ανάλυσης μικροβιολογικών παραμέτρων δίδονται είτε ως αναφορά σταν δίδεται μεθόδος ISO GEN ή προς καθοδήγηση, εν αναμονή της ενδεχόμενης μελλοντικής θεωρίας στημένων με τη διάδοση 12, νέων διεθνών μεθόδων CEN/ISO για τις παραμέτρους αυτές. Τα κράτη μέλη μπορούν να χρησιμοποιούν εναλλακτικές μεθόδους, εφόσον τηρούνται οι διατάξεις του άρθρου 7 παράγραφος 5.

Κολοβακτηριωσιδή και Escherichia coli (E.coli) (ISO 9308-1)

Εντερόκοκκος (ISO 7899-2)

Pseudomonas aeruginosa (prEN ISO 12780)

Απαριθμητη καλλιεργήσιμων μικροοργανισμών — Αριθμός αποικιών σε 22 °C (prEN ISO 6222)

Απαριθμητη καλλιεργήσιμων μικροοργανισμών — Αριθμός αποικιών σε 37 °C (prEN ISO 6222)

Clostridium perfringens (συμπεριλαμβανομένων των απορίων)

Διήθηση από μεριβράνη και στη σημείωση επώασης της μεριβράνης παρό αναερόβιες συνθήκες σε θρεπτικό σύλικό Clostridium perfringens (σημείωση 1) σε 44 ± 1 °C επί 21 ± 3 ώρες. Μέτρηση των αποτελών κίτρινων αποικιών που μετατρέπονται σε ροζ ή κόκκινες μετά από εκθεση σε αριθμός υδροξειδίου του αμμωνίου επί 20 έως 30 δευτερόλεπτα.

Σημείωση 1: Το «θρεπτικό ίλικο Clostridium perfringens» περιέχει:

Βασικό θρεπτικό ίλικό	
Τριντέζη	30 g
Εγχύλιομα μυκήτων	20 g
Σανγαρόζη	5 g
Υδρογλωσσικός L-αιστερίνη	1 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0,1 g
Ιώδες βρωμοχελεύτης	40 g
Άγρια	15 g
Υδωρ	1 000 ml

Τα συστατικά του βασικού θρεπτικού ίλικου διαλέγονται και το pH προσαρμόζεται σε 7,6. Το ίλικό αποστειρώνεται σε αντόλειστο στον 121 °C επί 15 λεπτών, το θρεπτικό ίλικό φίγεται και προστίθενται:

D-κυνοδεξερίνη	400 mg
B-θειακή πολυμεξίνη	25 mg
Ινδοξινό-β-D-γλυκοζίδιο διατηρήσιο σε 8 ml αποστειρωμένο νερό ή σέριν την προσθήκη	60 mg
Διώνυμη 0,5 % διφωσφορική φραντζολαρθαλείνης αποστειρωμένο με διήθηση	20 ml
Διώνυμη 4,5 % διφωσφορικό FeCl ₃ · 6H ₂ O	2 ml

2. ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΓΙΑ ΤΙΣ ΟΠΟΙΕΣ ΚΑΘΟΡΙΖΟΝΤΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΠΙΔΟΣΕΩΝ

2.1. Για τις ακόλουθες παραμέτρους, τα καθοριζόμενα χαρακτηριστικά επιδόσεων είναι τέτοια ώστε με τη χρησιμοποιήση μέθοδο ανάλυσης να είναι, τουλάχιστον, δυνατόν να μετρηθούν συγκεντρώσεις ίσες προς την παραμετρική τιμή με την οριζόμενη πιονότητα, ακρίβεια και τα οριζόμενα όρια ανίχνευσης. Όποια και να είναι η εναυσθησία της χρησιμοποιουμένης μεθόδου ανάλυσης, το αποτέλεσμα εκφράζεται χρησιμοποιώντας τουλάχιστον τον ίδιο αριθμό δεκαδικών ψηφίων με την παραμετρική τιμή του παραφερόμενης Ι μέρη Β και Γ.

Πορόμετροι	Πιστόητα % της παραμετρικής τιμής (Σημείωση 1)	Ανεβασικά % της παραμετρικής τιμής (Σημείωση 2)	Όριο ανύψωσης % της παραμετρικής τιμής (Σημείωση 3)	Συνθήκες	Σημείωσης
Ακρωτηριασμένο				Ελέγχεται με βάση τις προδιαγραφές του προτίτος	
Αργύριο	10	10	10		
Αρμόνιο	10	10	10		
Αντιμέριο	25	25	25		
Αρσενικό	10	10	10		
Βενζο-α-πυρένιο	25	25	25		
Βενζόλιο	25	25	25		
Βέριο	10	10	10		
Βραμικά άλατα	25	25	25		
Κάδριο	10	10	10		
Σιλικοτιχα άλατα	10	10	10		
Χρόμιο	10	10	10		
Αγωγμάστητα	10	10	10		
Χαλκός	10	10	10		
Κυανιστιχα άλατα	10	10	10		Σημείωση 4
1,2-διγλωροαμινούνιο	25	25	10		
Επιχλωρυδρίνη				Ελέγχεται με βάση τις προδιαγραφές του προτίτος	
Φθοριστιχα άλατα	10	10	10		
Σίδηρος	10	10	10		
Μόλυβδος	10	10	10		
Μαργαρίνιο	10	10	10		
Υδρόργυρος	20	10	20		
Νικελίο	10	10	10		
Νιτρικά άλατα	10	10	10		
Νιτρώδη άλατα	10	10	10		
Οξειδωσιμάστητα	25	25	10		Σημείωση 5
Παρασιτοκτόνα	25	25	25		Σημείωση 6
Πολυκυανηινοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες	25	25	25		Σημείωση 7

Παραγμένοι	Πιστοποιητικό % της παραγμένων τημής (Σημείωση 1)	Ανεβάσια % της παραγμένων τημής (Σημείωση 2)	Όριο ανίχνευσης % της παραγμένων τημής (Σημείωση 3)	Συνθήκας	Σημείωσης
Σελήνιο	10	10	10		
Νάτριο	10	10	10		
Θειικά άλατα	10	10	10		
Τετραχλωροσιαμένιο	25	25	10		Σημείωση 8
Τριχλωροσιαμένιο	25	25	10		Σημείωση 8
Ολικά τριαλογονομεθάνια	25	25	10		Σημείωση 7
Βιωσιογλωρίδιο				Ελέγχεται με βάση τις περιοδικηραφές του προιόντος	

2.2. Για τη συγκέντρωση άντων αιδρογόνων, τα οριζόμενα γιαρακητηριωτικά επιδόσεων είναι τέτοια ώστε με τη χρησιμοποιούσαθενη μεθόδο ανάλυσης να είναι δυνατόν να μετρηθούν συγκεντρώσεις λιγότερος από την παραμετρική τημή με πιστότητα 0,2 μονάδων pH και ανεβάσια 0,2 μονάδων pH.

Σημείωση 1 (1): Πιστοποιητικά είναι το σημειωματικό σφράμα και είναι η διαφορά μεταξύ της μετρήσης πημής μεγάλου αριθμού επαναλαμβανόμενων μετρήσεων και της πραγματικής πημής.

Σημείωση 2 (2): Ανεβάσια είναι το τυχαίο σφράμα και εκφράζεται συνήθως ως η κανονική απόσταση (εντός και μεταξύ μιας φασίδας) των φάσματος αισθητορυθμάτων γύρω από το μέσο όρο. Απόδειξη ανεβάσια είναι η διπλότιστη σχετική συνήθηση απόστασης.

(*) Οι ορόσιαν περιστροφές σημαίνουν περιστροφή στο σύρτισμα ISO 5725.

Σημείωση 3: Όριο ανίχνευσης είναι

- η τελείωση σημειώσης απόστασης, εντός μιας ομάδας, ενός φυσικού δείγματος που περιέχει μικρή στηργέντωση της παραμετρικής πημής
- ή
- η πενταλιάσια σημειώση σημειώσης απόστασης, εντός μιας ομάδας, ενός τυφλού δείγματος.

Σημείωση 4: Η μεθόδος προσδιορίζει άκινη κτιανοτήγα δίλατα κόδις μορφής.

Σημείωση 5: Η οξειδωτή πραγματοποιείται για 10 λεπτά σε 100 °C με τη χρησιμοποίηση υπερμαγγανικών αλάτων, σε δέκιο περιβάλλον.

Σημείωση 6: Τα γιαρακητηρικά επιδόσεων ισχύουν για κάθε επιμέρους παρασιτοκτόνου και εξαρτώνται από το συγκεκριμένο παρασιτοκτόνο. Προς το παρόν, ενδέχεται να μην είναι δυνατόν να επιτεληθεί το όριο ανίχνευσης για όλα τα παρασιτοκτόνα, αλλά τα κράτη πρέπει να επιθίκων την επίτεληση των στοχών αντού.

Σημείωση 7: Τα γιαρακητηρικά επιδόσεων ισχύουν για τις επιμέρους ουσίες που ορίζονται στο 25 % της παραμετρικής πημής των παραδοσιακών I.

Σημείωση 8: Τα γιαρακητηρικά επιδόσεων ισχύουν για τις επιμέρους ουσίες που ορίζονται στο 50 % της παραμετρικής πημής των παραδοσιακών I.

3. ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΓΙΑ ΤΙΣ ΟΠΟΙΕΣ ΔΕΝ ΚΑΘΟΡΙΖΕΤΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

Χρόνια

Οριή

Γενοη

Συνολικός οργανικός ένθρακας

Θαλάσση (σημείωση 1)

Σημείωση 1: Για την παρακολούθηση της θαλάσσης των επιεξεργασμένων επικρατειακού νερού τα οριζόμενα γιαρακητηρικά επιδόσεων οφείλονται να παρέχονται τουλάχιστον τη διαταστήρια μέτρησης συγκεντρώσεων λιγότερος πρόσος την παραμετρική πημή με πιστότητα 25%, ανεβάσια 25% και όριο ανίχνευσης 25 %.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ IV

ΠΡΟΕΞEMIE ΓΙΑ TH MΕΤΑΓΡΑΦΗ ΣTHN EENIKH NOMOΘEIA KAI ΓIA THN EΦAPMOTI

Οδηγία 20/778/EOK Μεταρρυθμός 17.7.1982 Εφεδρογράφη 17.7.1985 Ολα τα γραμματικά εκτός της Ιστονίας σε της Προτογόνων που των ψευτών Länder της Γερμανίας	Οδηγία 81/838/EOK (Προσαρμοστικό νόμο της προστασίας στην της Ευρώπης) Εφεδρογράφη 17.7.1985 Ολα τα γραμματικά εκτός της Ιστονίας σε της Προτογόνων που των ψευτών Länder της Γερμανίας	Πρόστιμη προστασίας της Ιστονίας μεταρρυθμός 1.1.1986 Προτογόνων: μεταρρυθμός 1.1.1986 εφεδρογράφη 1.1.1986 Προτογόνων: μεταρρυθμός 1.1.1989 εφεδρογράφη 1.1.1989	Οδηγία 90/656/EOK για την Länder της Γερμανίας Ιστονία: εφεδρογράφη 1.1.1986 Προτογόνων: μεταρρυθμός 1.1.1986 εφεδρογράφη 1.1.1989	Πρόστιμη προστασίας της Αναρρίχησης, της φύλαξης και της διατήρησης: Α. πρόστιμο: μεταρρυθμός 1.1.1995 εφεδρογράφη 1.1.1995 μεταρρυθμός 1.1.1995 εφεδρογράφη 1.1.1995 Συντήρηση: μεταρρυθμός 1.1.1995 εφεδρογράφη 1.1.1995	Οδηγία 91/659/EOK
Αρθρο 1 έως 14			Εφεδρογράφη 31.12.1995		
Αρθρο 15	Τροποποιήστε με την από 1.1.1981	Τροποποιήστε με την από 1.1.1986		Τροποποιήστε με την από 1.1.1995	
Αρθρο 16					Προετοιμασία των διεθνών 17α
Αρθρο 17					
Αρθρο 18					
Αρθρο 19		Τροποποιήστε	Τροποποιήστε		
Αρθρο 20					
Αρθρο 21					

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ V**ΠΙΝΑΚΑΣ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΙΑΣ**

Παρούσα οθηγία	Οθηγία 80/778/EOK
Άρθρο 1 παράγραφος 1	Άρθρο 1 παράγραφος 1
Άρθρο 1 παράγραφος 2	—
Άρθρο 2 παράγραφος 1 (ποικιλή α) και β)	Άρθρο 2
Άρθρο 2 παράγραφος 2	—
Άρθρο 3 παράγραφος 1 σταγέα α) και β)	Άρθρο 4 παράγραφος 1
Άρθρο 3 παράγραφος 2 σταγέα α) και β)	—
Άρθρο 3 παράγραφος 3	—
Άρθρο 4 παράγραφος 1	Άρθρο 7 παράγραφος 6
Άρθρο 4 παράγραφος 2	Άρθρο 11
Άρθρο 5 παράγραφος 1	Άρθρο 7 παράγραφος 1
Άρθρο 5 παράγραφος 2 πρώτη πρόταση	Άρθρο 7 παράγραφος 3
Άρθρο 5 παράγραφος 2 δεύτερη πρόταση	—
Άρθρο 5 παράγραφος 3	—
Άρθρο 6 παράγραφος 1	Άρθρο 12 παράγραφος 2
Άρθρο 6 παράγραφοι 2 κα. 3	—
Άρθρο 7 παράγραφος 1	Άρθρο 12 παράγραφος 1
Άρθρο 7 παράγραφος 2	—
Άρθρο 7 παράγραφος 3	Άρθρο 12 παράγραφος 3
Άρθρο 7 παράγραφος 4	—
Άρθρο 7 παράγραφος 5	Άρθρο 12 παράγραφος 5
Άρθρο 7 παράγραφος 6	—
Άρθρο 8	—
Άρθρο 9 παράγραφος 1	Άρθρο 9 παράγραφος 1 και άρθρο 10 παράγραφος 1
Άρθρο 9 παράγραφοι 2 έως 6	—
Άρθρο 9 παράγραφος 7	Άρθρο 9 παράγραφος 2 και άρθρο 10 παράγραφος 3
Άρθρο 9 παράγραφος 8	—
Άρθρο 10	Άρθρο 8

Παραπάνω αόριστα	Οδηγία 80/78/EOK
Άρθρο 11 παράγραφος 1	—
Άρθρο 11 παράγραφος 2	Άρθρο 12
Άρθρο 12 παράγραφος 1	Άρθρο 14
Άρθρο 12 παράγραφοι 2 και 3	Άρθρο 15
Άρθρο 13 παράγραφος 1	—
Άρθρο 13 παράγραφοι 2 έως 5	Άρθρο 17 σπουδείο α) (παρεμβάλλεται με την οδηγία 91/692/EOK)
Άρθρο 14	Άρθρο 19
Άρθρο 15	Άρθρο 20
Άρθρο 16	—
Άρθρο 17	Άρθρο 18
Άρθρο 18	—
Άρθρο 19	Άρθρο 21