



ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ:
«Μικροβιολογική ανάλυση και
έλεγχος ποιότητας σε δείγματα
θαλασσινού νερού και άμμου από
παραλίες του νομού Χανίων».

ΔΕΣΠΟΙΝΑ ΚΟΣΣΥΒΑΚΗ

2011050041

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: ΔΑΝΑΗ ΒΕΝΙΕΡΗ

ΧΑΝΙΑ, ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ 2018

Πρόλογος

Ξεκινώντας, θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα καθηγήτριά μου κυρία Δανάη Βενιέρη, αρχικά για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε στο συγκεκριμένο θέμα, για την βοήθεια και για την τεράστια υπομονή της σε όλες τις δυσκολίες που αντιμετώπισα. Επιπλέον, θα ήθελα να την ευχαριστήσω ειλικρινά για τη βοήθεια που μου προσέφερε όσον αφορά την επιλογή της πρώτης μου εργασιακής εμπειρίας στο Istituto Italiano di Tecnologia, η οποία μου άλλαξε τη ζωή και της έδωσε μία κατεύθυνση. Να ευχαριστήσω, επίσης, θερμά τη βοηθό του εργαστηρίου Περιβαλλοντικής Μικροβιολογίας, κυρία Ιωσηφίνα Γουνάκη για την πολύ καλή εκπαίδευση όσον αφορά το εργαστήριο, αλλά και για την πολύτιμη βοήθεια στη διεκπεραίωση των πειραμάτων.

Συνεχίζοντας, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου για τη στήριξη που μου έχει προσφέρει καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής μου και φυσικά της παραμονής μου στα Χανιά, διότι χωρίς αυτούς δε θα ήμουν αυτή που είμαι τώρα. Όλους τους φίλους που έκανα στη διάρκεια της πορείας μου στα Χανιά, τους συναδέλφους... Ιδιαίτερα ευχαριστώ στο Γιώργο Κολομβάκη, για τη βοήθεια που μου προσέφερε κατά τη διάρκεια των δειγματοληψιών, στη Φρόσω Κοσσυβάκη, το Δημήτρη Γιαννακόπουλο, την Έλενα Βαλκάνου, την Αμαλία Γεωργοπούλου και τη Δορίνα Μουλοπούλου που με άντεξαν καθ' όλη τη διάρκεια της εργασίας, το Νίκο Κούση, το Γιώργο Κολομβάκη (ξανά), το Στέλιο Ηλιάδη, τη μουσικοθεατρική ομάδα *rasse-partout* και όλους τους υπόλοιπους μουσικούς που έδωσαν τη δική τους νότα σε αυτή την περίοδο της ζωής μου και καθυστέρησαν τη διεκπεραίωση της εργασίας με τον πιο όμορφο τρόπο!! Ένα κεφάλαιο της ζωής μου κλείνει και ένα νέο ανοίγει...

Θα αφιερώσω αυτή την εργασία στα Χανιά, γιατί η αγάπη μου για αυτά και για τις παραλίες τους με οδήγησαν στο να αποφασίσω το θέμα της διπλωματικής εργασίας μου.



Εικόνα 1: Μία σταγόνα θαλασσινού νερού σε μικροσκόπιο!

Περίληψη

Τα τελευταία χρόνια, η χρήση των θαλάσσιων υδάτων και γενικότερα των ακτογραμμών για λόγους αναψυχής αυξάνεται όλο και περισσότερο. Η ψυχαγωγία και ο τουρισμός που σχετίζονται με το νερό, μπορούν να αυξήσουν το μικροβιακό φορτίο των παραλιών και να εκθέσουν τον άνθρωπο σε κινδύνους που προκαλούνται από τους παθογόνους μικροοργανισμούς. Αυτοί οι κίνδυνοι μπορεί να έχουν επιπτώσεις στην υγεία των ανθρώπων, αλλά και στο περιβάλλον και την οικονομία των τουριστικών περιοχών. Έχει, λοιπόν, αυξηθεί αισθητά η ανησυχία τόσο για την ανθρώπινη υγεία όσο και για την περιβαλλοντική και οικονομική βιωσιμότητα.

Για τη διεξαγωγή ελέγχων αξιολόγησης της ποιότητας και της καταλληλότητας των παραλιών, η διεθνής νομοθεσία προτείνει έλεγχο σε δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης στο θαλασσινό νερό. Εκτός, όμως, από αυτούς, υπάρχουν και οι συμπληρωματικοί δείκτες μικροβιολογικής ποιότητας, οι οποίοι μπορούν να υποδείξουν την καταλληλότητα του νερού για διάφορες χρήσεις. Από έρευνες, φέρεται να μην υπάρχει πάντα καλή συσχέτιση μεταξύ δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης και συμπληρωματικών δεικτών, κάτι το οποίο δημιουργεί αμφιβολίες σχετικά με την επάρκεια των προτεινόμενων από τη νομοθεσία δεικτών. Επιπροσθέτως, δεν προβλέπονται έλεγχοι για την αξιολόγηση της άμμου των παραλιών, κάτι το οποίο την καθιστά αμφιβόλου ποιότητας, διότι η ποιότητα της άμμου δεν είναι αποκλειστικά συνυφασμένη με αυτή του νερού, καθώς η ευρεία χρήση των αμμωδών ακτών ως οργανωμένες παραλίες και θέρετρα, μπορεί να οδηγήσει σε πολλαπλασιασμό των μικροοργανισμών.

Με βάση τα παραπάνω, στην παρούσα διπλωματική εργασία εξετάστηκε η ποιότητα του θαλασσινού νερού και της άμμου παραλιών του νομού Χανίων, και συγκεκριμένα της παραλίας του Κουμ Καπί, της Νέας Χώρας, της Χρυσής Ακτής, των Αγίων Αποστόλων, της Αγίας Μαρίνας και του Πλατανιά. Στόχος είναι αφενός ο έλεγχος της ποιότητας δειγμάτων θαλασσινού νερού και άμμου, και αφετέρου η διερεύνηση πιθανής συσχέτισης της μικροβιολογικής ποιότητας του νερού με αυτή

της άμμου. Ο έλεγχος έγινε αρχικά χρήσει συμβατικών καλλιεργητικών μέσων για τους δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης *Escherichia coli* και *Enterococci* και για τους συμπληρωματικούς δείκτες *Staphylococcus sp.*, *Vibrio sp.*, *Salmonella sp.* και *Pseudomonas Aeruginosa*. Στη συνέχεια, έγινε προσπάθεια ταυτοποίησης των βακτηριακών παθογόνων *Pseudomonas Aeruginosa*, *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio vulnificus* και *Vibrio alginolyticus* μέσω της μεθόδου της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (polymerase chain reaction – PCR).

Με βάση την καλλιεργητική μέθοδο, η παραλία της Νέας Χώρας, της Χρυσής Ακτής, της Αγίας Μαρίνας και του Πλατανιά βρέθηκαν εντός των ορίων νομοθεσίας, ενώ του Κουμ Καπί και των Αγίων Αποστόλων βρέθηκαν εκτός ορίων. Αντιθέτως, κρίνοντας από τους συμπληρωματικούς δείκτες, πιο ασφαλής για κολύμβηση κρίθηκε η παραλία των Αγίων Αποστόλων, έπειτα του Κουμ Καπί, της Αγίας Μαρίνας, της Νέας Χώρας, του Πλατανιά και λιγότερο ασφαλής κρίθηκε η παραλία της Χρυσής Ακτής. Επιπλέον, δεν υπήρξε συνύφανση των αποτελεσμάτων του νερού με αυτών της άμμου των υπό εξέταση παραλιών, πιθανώς λόγω μη ικανότητας επιβίωσης των μικροοργανισμών αυτών στην άμμο, πλην του *Staphylococcus sp.* που εντοπίστηκε σε υψηλές τιμές. Επιπλέον, εντοπίστηκε πιθανώς *Salmonella sp.*, αλλά η μη ποσοτικοποίησή της δε μπορεί να δώσει ξεκάθαρη εικόνα για το νερό και την άμμο των παραλιών.

Με βάση τη μέθοδο της PCR, δεν έγινε ταυτοποίηση των αλληλουχιών που εισήχθησαν με τα είδη βακτηρίων που αναζητήθηκαν. Αυτό μπορεί να οφείλεται σε κάποιο πειραματικό σφάλμα, στο βαθμό καθαρότητας του γενετικού υλικού, ή στην πλήρη απουσία των συγκεκριμένων παθογόνων από τα δείγματά μας, τα οποία από την καλλιεργητική μέθοδο φέρεται να περιέχουν τα συγκεκριμένα βακτηριακά γένη, αλλά διαφορετικά είδη από αυτά που εμείς αναζητήσαμε με τη μέθοδο της PCR.

Πίνακας περιεχομένων

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	1
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	2
ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ	4
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	8
1.1. ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ ΣΤΟ ΘΑΛΑΣΣΙΝΟ ΝΕΡΟ	8
1.2. ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ ΣΤΗΝ ΑΜΜΟ	11
1.3. ΔΕΙΚΤΕΣ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΜΟΛΥΝΣΗΣ	13
1.4. ΝΟΜΟΘΕΤΙΚΑ ΟΡΙΑ.....	16
2. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	19
3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ.....	20
ΠΙΝΑΚΑΣ 3.1. Εργαστηριακά υλικά	20
ΠΙΝΑΚΑΣ 3.2. Συσκευές και όργανα.....	20
ΠΙΝΑΚΑΣ 3.3. Θρεπτικά υλικά και διαλύματα καλλιεργητικής μεθόδου	21
ΠΙΝΑΚΑΣ 3.4. Διαλύματα απομόνωσης γενετικού υλικού	21
ΠΙΝΑΚΑΣ 3.5. Υλικά για μείγμα αντίδρασης PCR	22
ΠΙΝΑΚΑΣ 3.6. Υλικά ηλεκτροφόρησης	23
4. ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΕΣ	24
5. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ	35
5.1. ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΣΕ ΤΡΥΒΛΙΑ	35
5.2. ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ.....	37
5.3. ΈΛΕΓΧΟΣ ΠΟΣΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΚΑΘΑΡΟΤΗΤΑΣ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ.....	39

5.4. ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ	40
5.4.1. Πρωτόκολλο PCR για <i>Staphylococcus aureus</i>	41
5.4.2. Πρωτόκολλο PCR για <i>Salmonella sp.</i>	42
5.4.3. Πρωτόκολλο PCR για <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	43
5.4.4. Πρωτόκολλο (Multiplex) PCR για <i>Vibrio sp.</i>	44
6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	46
6.1. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ	46
6.1.1. Παρουσία μικροοργανισμών στις υπό εξέταση παραλίες.....	48
NEPO.....	50
ΑΜΜΟΣ	54
6.1.1.1. Πληροφορίες και σχόλια για τους μικροοργανισμούς που εντοπίστηκαν	56
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	56
<i>Salmonella sp.</i>	57
<i>Staphylococcus sp.</i>	57
<i>Vibrio sp.</i>	58
<i>Enterococci</i>	59
<i>E. coli</i>	59
6.1.2. Συγκεντρώσεις μικροοργανισμών ανά παραλία και σύγκριση με νομοθετικά όρια.....	60
NEPO.....	60
ΑΜΜΟΣ	69
NEPO.....	75
ΑΜΜΟΣ	83
6.1.3. Γενική εικόνα παραλιών	87
NEPO.....	88
ΑΜΜΟΣ	90
6.1.4 Ποσοστιαία εικόνα παραλιών.....	91

ΝΕΡΟ.....	92
ΑΜΜΟΣ	97
6.2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ PCR.....	100
6.2.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100
6.2.2. <i>Salmonella sp.</i>	101
6.2.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	102
6.2.4. <i>Vibrio sp.</i>	103
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	103
<i>Vibrio cholerae</i>	104
<i>Vibrio vulnificus</i>	104
<i>Vibrio alginolyticus</i>	105
7. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ	107
8. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	110
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	118
I. ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ ΓΙΑ ΤΙΣ ΠΑΡΑΛΙΕΣ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΩΝ	118
ΠΑΡΑΛΙΑ Α.....	118
ΠΑΡΑΛΙΑ Β.....	120
ΠΑΡΑΛΙΑ Γ	123
ΠΑΡΑΛΙΑ Δ.....	125
ΠΑΡΑΛΙΑ Ε	127
ΠΑΡΑΛΙΑ ΣΤ	130
II. ΕΝΔΕΙΚΤΙΚΕΣ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΕΣ ΤΡΥΒΛΙΩΝ	133
III. ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΕΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗΣ	137
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	137
<i>Salmonella sp.</i>	139

<i>Staphylococcus aureus</i>	141
<i>Vibrio sp.</i>	142

1. Εισαγωγή

1.1. Μικροοργανισμοί στο θαλασσινό νερό

Το φυσικό νερό περιέχει έναν μεγάλο αριθμό μικροοργανισμών, που αποτελούν μέρος της φυσιολογικής μικροβιακής του χλωρίδας, αλλά και μικροοργανισμούς που χαρακτηρίζονται ως αλλόχθονες και εισέρχονται σε αυτό μέσω των φυσικών φαινομένων (πχ βροχή) ή με την ανθρώπινη δραστηριότητα (πχ λύματα) (Pityrigka, 2016).

Το νερό έχει αναφερθεί ως μία πιθανή «δεξαμενή» για τους παθογόνους μικροοργανισμούς και ως μία οδός μετάδοσης αυτών (Cui, Fang, Huang, Dong, & Wang, 2016) και αυτό συμβαίνει διότι αν η μικροβιολογική επιβάρυνση με αυτούς τους μικροοργανισμούς απορρυθμίζει την ικανότητα αυτοκαθαρισμού του φυσικού νερού (αραίωση, κατακρήμνιση, διήθηση, βιοχημικοί κύκλοι κτλ.), αυτό προοδευτικά καθίσταται μολυσμένο. Οι μικροοργανισμοί αυτοί, με βάση τις κατηγορίες μικροοργανισμών που υπάρχουν, μπορεί είτε να αποικίσουν τον άνθρωπο και να αποτελέσουν μέρος της φυσιολογικής μικροβιακής του χλωρίδας, είτε να προκαλέσουν νόσο στον πληθυσμό ή σε μέρος του πληθυσμού που εκτέθηκε. (Pityrigka, 2016). Ειδικότερα, εκτιμάται ότι η μικροβιακή μόλυνση των θαλάσσιων υδάτων μπορεί να προκαλέσει εκατομμύρια γαστρεντερικές και οξείες αναπνευστικές λοιμώξεις, αλλά και πολλά δερματικά προβλήματα κάθε χρόνο (Goodwin et al., 2012).

Οι συνήθεις μικροοργανισμοί του νερού, καθώς και οι ασθένειες που μπορούν να προκληθούν από αυτούς παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.1.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1.1: Ενδεικτικοί μικροοργανισμοί στο νερό και νοσήματα που μπορούν να προκαλέσουν. (Σαββαΐδης, 2014)

ΠΑΘΟΓΟΝΟΣ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ	ΝΟΣΗΜΑΤΑ
ΒΑΚΤΗΡΙΑ	
<i>Salmonella typhi</i>	Τυφοειδής πυρετός

Salmonella paratyphi A,B	Παράτυφος
Shigella spp	Μικροβιακή δυσεντερία
Yersinia enterocolitica	Μικροβιακή γαστρεντερίτιδα
E. coli O 157: H 7	
Campylobacter jejuni	
Vibrio cholerae	Χολέρα
Vibrio cholerae biot. El-Tor	
Legionella pneumophila	Πνευμονία, Πυρετός Pontiac
Atypical Mycobacteria	Κοκκιώματα, Νοσήματα αναπνευστικού όπως φυματίωση
Aeromonas hydrophila, sobria	Δερματικές-μυϊκές λοιμώξεις, διάρροιες, πνευμονίες, συψαιμία
Pseudomonas aeruginosa	Ωτίτιδες, επιπεφυκίτιδες, δερματίτιδες, πνευμονία
Staphylococcus spp	Δερματίτιδες, αποστήματα δέρματος, επιμολύνσεις τραυμάτων
Vibrio: vulnificus, parahaemolyticus, alginolyticus	Σηψαιμία σε ανοσοκατεσταλμένα άτομα, γαστρεντερίτιδες, ωτίτιδες
ΜΥΚΗΤΕΣ	
Candida albicans	Δερματίτιδες
Aspergillus	
Mucor	
Fusarium	
Rhisapus	
ΙΟΙ	
HAV	Ηπατίτιδα Α
Polio I, II, III viruses	Εντεροϊώσεις
Coxsackie A, B viruses	
Echo viruses	
Rota viruses	

Parvo viruses	
Norwalk agent virus	
ΠΑΡΑΣΙΤΑ	
<i>Entamoeba histolytica</i>	
<i>Giardia lamblia</i>	Γαστρεντερίτιδες
<i>Cryptosporidium spp</i>	
<i>Balantidium coli</i>	
<i>Naegleria fowleri</i>	Μηνιγγίτιδα
<i>Leptospira hictrohaemorrhagiae</i>	Μηνιγγίτιδα με ηπατονεφρική ανεπάρκεια
<i>Acanthamoeba spp</i>	Κερατίτιδα, αποστήματα και έμφρακτα εγκεφάλου

Τα τελευταία χρόνια, η χρήση του νερού της ενδοχώρας και των θαλάσσιων υδάτων για λόγους αναψυχής αυξάνεται όλο και περισσότερο σε πολλές χώρες. Εκτιμάται ότι οι τουρίστες και οι παραθεριστές μαζί περνούν γύρω στις δύο δισεκατομμύρια ημέρες ετησίως σε παραλιακά ψυχαγωγικά θέρετρα. Ο Οργανισμός Παγκοσμίου Τουρισμού (World Tourism Organization) προβλέπει ότι μέχρι το 2026, 346 εκατομμύρια τουρίστες θα επισκέπτονται ετησίως Μεσογειακούς προορισμούς – δηλ. το 22% των συνολικών αφίξεων τουριστών θα παρατηρείται στη Μεσόγειο. Η ψυχαγωγία και ο τουρισμός που σχετίζονται με το νερό, μπορούν να εκθέσουν τον άνθρωπο σε μία πληθώρα κινδύνων υγείας, όπως αυτών που προκαλούνται από τους παθογόνους μικροοργανισμούς του νερού. Αυτοί οι κίνδυνοι μπορεί να έχουν επιπτώσεις όχι μόνο στην υγεία, αλλά και στην οικονομία των περιοχών στις οποίες ο τουρισμός αποτελεί βασική πηγή εσόδων, όπως για παράδειγμα η Ελλάδα (Economidou et al., 2013).

Βάσει των παραπάνω, έχει αυξηθεί αισθητά η ανησυχία τόσο για την ανθρώπινη υγεία όσο και για την περιβαλλοντική και οικονομική βιωσιμότητα. Για την αντιμετώπιση του θέματος αυτού, έχουν οργανωθεί κάποιες δράσεις παγκοσμίως, όπως το πρόγραμμα «Γαλάζιες Σημαίες», με κατευθυντήριο γραμμή τη βελτίωση της βιώσιμης ανάπτυξης και χρήσης των παραλιών για λόγους αναψυχής.

Πιο συγκεκριμένα, στοχεύουν αφενός στη σύνδεση των ανθρώπων με τον περιβάλλον στο οποίο ζουν και δραστηριοποιούνται, και αφετέρου στην παρακίνησή τους να μάθουν περισσότερα πράγματα για αυτό. (Testolin et al., 2017).

1.2. Μικροοργανισμοί στην άμμο

Είναι ευρέως γνωστό ότι η παρουσία μικροοργανισμών στην άμμο είναι είτε αποκλειστικό αποτέλεσμα φυσικών φαινομένων, χωρίς ανθρώπινη παρέμβαση (ενδογενείς), είτε αποτέλεσμα της ανθρώπινης παρουσίας σε αυτήν, λόγω των παραπροϊόντων του μεταβολισμού των ανθρώπων και λοιπών απορροών. Οι μικροοργανισμοί που προκύπτουν από την ανθρώπινη δραστηριότητα ποικίλουν (βακτήρια, ιοί, μύκητες, πρωτόζωα, τρεματόζωα) και μπορούν να μεταφερθούν στην άμμο μέσω της επαφής των ανθρώπων με το νερό και την άμμο. Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι νερά με μεγάλο μικροβιακό φορτίο μπορούν να μολύνουν την άμμο (Testolin et al., 2017), στην οποία μικρά παιδιά ή και ενήλικες περνούν το χρόνο τους παίζοντας ή απλά καθήμενοι. Υπάρχει, λοιπόν, κίνδυνος μόλυνσης των λουόμενων από την άμμο, η οποία γίνεται μέσω της επαφής με το δέρμα και μέσω της κατάποσης, σε περίπτωση που κάποιος από αυτούς μεταφέρει τα μικρόβια της άμμου από το χέρι του στη στοματική του κοιλότητα. Επιπλέον, υπάρχει και μεταφορά μικροβίων από την άμμο στο νερό, η οποία μπορεί να λάβει χώρα μέσω του ξεπλύματος της άμμου από τα κύματα στην ενδιάμεση ζώνη (Sabino et al., 2014).

Εδώ να σημειωθεί ότι η ποιότητα της άμμου δεν είναι αποκλειστικά συνυφασμένη με την ποιότητα του νερού, καθώς η ευρεία χρήση των αμμωδών ακτών ως οργανωμένες παραλίες και θέρετρα, μπορεί να οδηγήσει σε πολλαπλασιασμό των μικροοργανισμών που οφείλονται στην ανθρώπινη παρουσία. Υπολείμματα τροφίμων, έλλειψη προσωπικής υγιεινής, κατοικίδια ζώα είναι κάποιοι παράγοντες που μπορούν να οδηγήσουν στον πολλαπλασιασμό των μικροοργανισμών αυτών. (Testolin et al., 2017). Ο πολλαπλασιασμός αυτός μπορεί να συμβαίνει και διότι στην άμμο μπορεί να υπάρχουν θρεπτικά συστατικά που

ευνοούν την ανάπτυξη των παθογόνων. Στην πραγματικότητα, μάλιστα, τα βακτηριακά κύτταρα μπορούν να είναι μεγαλύτερα σε αριθμό στην άμμο από ό,τι στο θαλασσινό νερό. Για παράδειγμα στην περιοχή Great Lakes των Ηνωμένων Πολιτειών Αμερικής, τα επίπεδα του *E. coli* στην άμμο μπορεί να βρεθεί 10 με 100 φορές πιο υψηλά από ό,τι στα γειτονικά νερά (Sabino et al., 2014).

Δυστυχώς, όμως, και σε παγκόσμια κλίμακα, δεν προβλέπονται μελέτες και έλεγχοι σχετικά με την άμμο των ακτών και την αξιολόγηση της ποιότητας αυτής, αλλά διεξάγονται έλεγχοι μόνο για το νερό. Επιπροσθέτως, ελάχιστες είναι οι μελέτες που έχουν συσχετίσει την ποιότητα του νερού και την ποιότητα της υγρής ή της ξηρής άμμου – με κάποιες από αυτές να παρουσιάζουν στοιχεία αντιφατικά μεταξύ τους. Η μόνη πόλη που έχει σπουδαιολογήσει και κάνει πράξη τον έλεγχο ποιότητας της άμμου των παραλιών είναι το Ρίο Ντε Τζανέιρο της Βραζιλίας, το οποίο έχει υιοθετήσει έναν έλεγχο βασισμένο στα ολικά κολοβακτηριοειδή και το *E. coli* (Testolin et al., 2017). Επιστήμονες, όμως, έχουν αποδείξει ότι η άμμος της παραλίας μπορεί να διαδραματίσει καθοριστικό ρόλο στην έκθεση των επισκεπτών της παραλίας σε μικρόβια μέσω της άμεσης επαφής του δέρματος με την άμμο, κάτι το οποίο μπορεί να δημιουργήσει προβλήματα υγείας.

Παρόλο που οι περισσότεροι Ευρωπαϊκοί Κανονισμοί εστιάζουν στη μείωση του αριθμού των δεικτών μικροβιακής μόλυνσης (Παράγραφος 1.4) του νερού μέσω της βελτίωσης της υγιεινής των γύρω περιοχών, όπως επιβάλλεται από την ισχύουσα Ευρωπαϊκή Οδηγία, εθνικές έρευνες που έχουν διεξαχθεί από συγγραφείς έχουν δείξει ότι οι «συμμορφωμένες» με τις οδηγίες παραλίες δε συμμορφώνονται απαραίτητα με τα μέγιστα τοπικά καθορισμένα μέσα όρια στην άμμο (Sabino et al., 2014).

Με βάση τα παραπάνω και σύμφωνα με την πεποίθηση ποικίλων οργανώσεων και ερευνών, η ανάγκη για τον έλεγχο της ποιότητας της άμμου στις παραλίες είναι επιτακτική (Testolin et al., 2017).

1.3. Δείκτες μικροβιακής μόλυνσης

Οι μικροβιολογικοί δείκτες είναι αλλόχθονοι μικροοργανισμοί, οι οποίοι περνούν παροδικά στο υδάτινο οικοσύστημα, προερχόμενοι κυρίως από τα κόπρανα του ανθρώπου και των θερμόαιμων ζώων.

Γενικά, η εξέταση του νερού για την παρουσία εντερικών παθογόνων είναι πάρα πολύ δύσκολη έως και αδύνατη. Ευτυχώς, όμως, η ανίχνευση εντερικών μη παθογόνων μικροοργανισμών, όπως το *E. coli*, ο *Streptococcus faecalis*, είναι πολύ ευκολότερη. Επομένως, η παρουσία τους στο νερό υποδηλώνει την ύπαρξη κοπρανώδους μόλυνσης. Για παράδειγμα, το *E. coli*, το οποίο είναι περισσότερο ανθεκτικό από τα βακτήρια που προκαλούν ασθένειες, συνδέεται άμεσα με τους παθογόνους μικροοργανισμούς του εντέρου και στο μολυσμένο νερό, η πυκνότητά του είναι ανάλογη του βαθμού περιττωματικής μόλυνσης. Συνιστάται, λοιπόν, η μελέτη των δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης, για την αξιολόγηση της ποιότητας των υδάτων αλλά και της άμμου που συνδέεται με τα υδάτινα οικοσυστήματα.

Ο ιδανικός μικροοργανισμός - δείκτης κοπρανώδους μόλυνσης του νερού πρέπει να πληροί τις παρακάτω προϋποθέσεις:

1. Να είναι κατάλληλος για όλους τους τύπους υδάτων.
2. Να είναι παρών όποτε υπάρχουν εντερικά παθογόνα.
3. Να έχει μεγαλύτερο χρόνο επιβίωσης από το πιο ανθεκτικό εντερικό παθογόνο.
4. Να μην αναπτύσσεται στο νερό.
5. Να έχει μέθοδο ανάλυσης απλή στην εφαρμογή της.
6. Η πυκνότητά του να σχετίζεται άμεσα με το βαθμό της κοπρανώδους μόλυνσης.
7. Να είναι μέλος της εντερικής μικροχλωρίδας θερμόαιμων ζώων.

Στον Πίνακα 1.2 παρουσιάζονται μικροοργανισμοί – δείκτες σε ανεπεξέργαστα λύματα, καθώς και τα εκτιμώμενα επίπεδά τους σε αυτά.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1.2: Εκτιμώμενα επίπεδα μικροοργανισμών – δεικτών σε ανεπεξέργαστα λύματα. (Βενιέρη, 2017)	
Μικροοργανισμός	CFU / 100 mL
Κολοβακτηριοειδή	$10^7 - 10^9$
Κοπρανώδη κολοβακτηριοειδή	$10^6 - 10^7$
Κοπρανώδεις στρεπτόκοκκοι	$10^5 - 10^6$
Εντερόκοκκοι	$10^4 - 10^5$
Κλωστηρίδιο διαθλαστικό	10^4
Σταφυλόκοκκοι	10^3
Ψευδομονάδα αεριογόνος	10^5
Οξεάντοχα βακτήρια	10^2
Κολιφάγοι	$10^2 - 10^3$
Βακτηριοειδή	$10^7 - 10^{10}$

Εκτός, όμως, από τους δείκτης κοπρανώδους μόλυνσης, υπάρχουν και οι συμπληρωματικοί δείκτες μικροβιολογικής ποιότητας, οι οποίοι έρχονται να συμπληρώσουν τις μελέτες για την καταλληλότητα του νερού για διάφορες χρήσεις. Οι δείκτες αυτοί απαρτίζονται από την Ολική μικροβιακή χλωρίδα (γέννη *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Klebsiella*, *Flavobacterium*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Acinetobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Alcaligenes* και *Moraxella*), το Θειοαναγωγικό κλωστηρίδιο (*Clostridium perfringens*), τους Βακτηριοφάγους και την *Pseudomonas aeruginosa*.

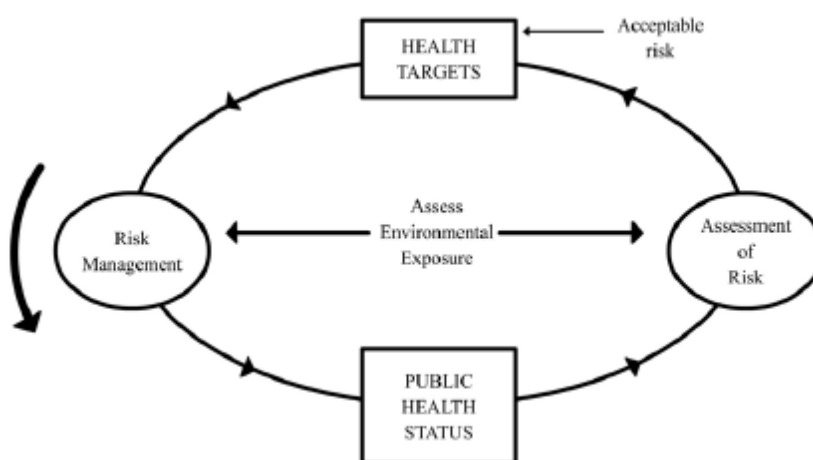
Παραδοσιακά, λοιπόν, οι μικροοργανισμοί-δείκτες χρησιμοποιούνται για να υποδείξουν την παρουσία παθογόνων μικροοργανισμών. Παρόλα αυτά, στις μέρες μας, επιστήμονες έχουν ανακαλύψει πληθώρα πιθανών λόγων για ταυτόχρονη παρουσία των δεικτών και απουσία των παθογόνων. Συνοπτικά, φέρεται να μην υπάρχει πάντα καλή συσχέτιση μεταξύ των αριθμών των δεικτών και των εντερικών παθογόνων (Ashbolt, Grabow, & Snozzi, 2001).

Τα τελευταία χρόνια, λοιπόν, έχουν διεξαχθεί έρευνες σχετικά με το κατά πόσο οι δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης είναι συνυφασμένοι με διάφορους παθογόνους

μικροοργανισμούς. Για παράδειγμα, έχει γίνει διερεύνηση για τον *Staphylococcus aureus*, τη *Salmonella sp.*, την *Candida albicans* σε σχέση με τα κοπρανώδη και ολικά κολοβακτηριοειδή και τον κοπρανώδη *streptococci* και διαπιστώθηκε τελικά ότι η μέτρηση των ολικών κολοβακτηριοειδών αρκεί για την πρόβλεψη της παρουσίας των δύο πρώτων, ενώ για την *Candida albicans* πιο αποτελεσματικά είναι τα κοπρανώδη κολοβακτηριοειδή (Gabutti et. al, 2000). Επιπροσθέτως, έχουν διεξαχθεί έρευνες για το αν τα βακτήρια-δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης είναι επαρκή για τη μελέτη και την ανάλυση της επικινδυνότητας σε νερά αναψυχής διάφορων περιοχών, πχ. σε τροπικές περιοχές (Lamparelli et al., 2015).

Γενικότερα, σε πολλές δημοσιευμένες έρευνες παρατηρείται η μέτρηση περαιτέρω μικροοργανισμών για το χαρακτηρισμό της ποιότητας μίας ακτής, όπως για παράδειγμα σε έρευνα που έγινε για παραλίες της Καλιφόρνια και τους λουόμενους αυτών, και χρησιμοποιήθηκαν σύνθετοι δείκτες (composite indicators) (Griffith et al., 2016).

Θα πρέπει εδώ να σημειωθεί ότι κανένας δείκτης από μόνος του δε μπορεί να καλύψει όλες τις ανάγκες επιδημιολογικής επιτήρησης των υδάτων, καθώς τα πιο έγκυρα αποτελέσματα επιτυγχάνονται χρήσει συνδυασμού δεικτών, καθένας εξ αυτών προσφέρει πληροφορίες οι οποίες σε συνδυασμό μας οδηγούν στην αξιολόγηση της ποιότητας του υπό εξέταση νερού.



Εικόνα 1.4: Ανάλυση επικινδυνότητας για τη δημόσια υγεία (Ashbolt, Grabow, & Snozzi, 2001).

1.4. Νομοθετικά όρια

Η διεθνής νομοθεσία προτείνει έλεγχο στα κοπρανώδη κολοβακτηριοειδή (faecal coliforms) και στους κοπρανώδεις στρεπτόκοκκους (faecal streptococci) στο θαλασσινό νερό, για την αξιολόγηση της ποιότητας και της καταλληλότητάς του για χρήση ως νερού αναψυχής. Πρόκειται για δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης, των οποίων η παρουσία στο νερό μπορεί να υποδηλώνει την παρουσία παθογόνων εντερικών μικροβίων (Gabutti, De Donno, Bagordo, & Montagna, 2000).

Στους Πίνακες 1.3 και 1.4 αναφέρονται τα νομοθετικά όρια για τα παράκτια και μεταβατικά ύδατα (νερό αναψυχής), σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Ένωση και την Ελληνική Νομοθεσία αντίστοιχα.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1.3: ΟΔΗΓΙΑ 2000/60/ΕΚ ΤΗΣ Ε.Ε.

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΗ ΠΟΙΟΤΗΤΑ	ΚΑΛΗ ΠΟΙΟΤΗΤΑ	ΕΠΑΡΚΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑ
Enterococci (CFU/100mL)	100	200	185
Escherichia coli (CFU/100mL)	250	500	500

ΠΙΝΑΚΑΣ 1.4: ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΕΠΙΘΥΜΗΤΗ ΤΙΜΗ	ΑΝΩΤΕΡΗ ΤΙΜΗ
Ολικά Κολοβακτηριοειδή (CFU/100mL)	500	10000
Κοπρανώδη κολοβακτηριοειδή (CFU/100ML)	100	500
Εντερόκοκκοι (CFU/100mL)	100	

Στην Ελλάδα, ο εργαστηριακός έλεγχος των νερών αναψυχής και των θαλάσσιων ακτών γίνεται μέσω του δικτύου εργαστηρίων ΚΕΔΥ-ΠΕΔΥ και με βάση την Ευρωπαϊκή νομοθεσία με δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης, όπως είναι ο εντερόκοκκος και το κολοβακτηρίδιο.

Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή οδηγία, τα ύδατα κολύμβησης ταξινομούνται ως ύδατα «εξαιρετικής ποιότητας»:

- ✓ Εάν, οι τιμές συγκέντρωσης εκφραζόμενες σε CFU/100 mL και για τις παραμέτρους Εντερόκοκκοι και Κολοβακτηρίδια είναι ίσες ή καλύτερες από τις τιμές 100 και 250 αντίστοιχα.
- ✓ Λαμβάνονται επαρκή διαχειριστικά μέτρα για την πρόληψη, μείωση ή εξάλειψη των αιτιών, οι οποίες ενδεχομένως να οδηγήσουν σε βραχυπρόθεσμα περιστατικά ρύπανσης.

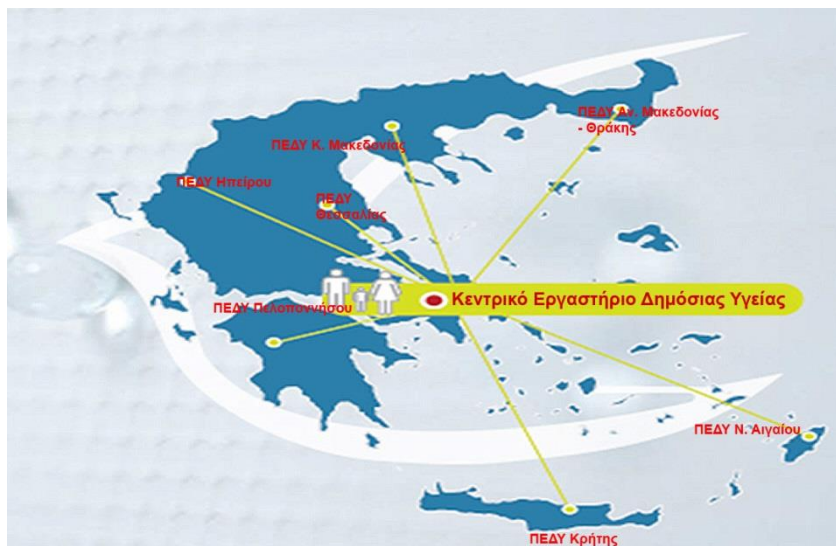
Εδώ να διευκρινιστεί ότι η αξιολόγηση της ποιότητας των υδάτων κολύμβησης πραγματοποιείται:

- ✓ Σε σχέση με κάθε τοποθεσία υδάτων κολύμβησης.
- ✓ Μετά το τέλος κάθε κολυμβητικής περιόδου.
- ✓ Με βάση το σύνολο ποιοτικών δεδομένων για την ποιότητα των υδάτων κολύμβησης, σε σχέση με την εν λόγω κολυμβητική περίοδο και τις προηγούμενες τρεις κολυμβητικές περιόδους.

Τελικός στόχος είναι η δημιουργία του προφίλ της ακτής χρησιμοποιώντας και τα αποτελέσματα της εκτίμησης κινδύνου.

Στην αρχή της τρέχουσας δεκαετίας, οι έλεγχοι που έγιναν τόσο στις ακτές, όσο και στις κολυμβητικές δεξαμενές από το Δίκτυο των Εργαστηρίων Δημόσιας Υγείας σε διάφορες περιοχές μας έδειξαν ότι οι ακτές μας πληρούν πάνω από 97% τα κριτήρια εξαιρετικής ποιότητας και οι κολυμβητικές δεξαμενές σε ένα ποσοστό 75% είναι υγειονομικά ασφαλείς, τηρώντας τις προϋποθέσεις της νομοθεσίας.

Χαρακτηριστικά αναφέρεται από το ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ., ότι *«θα πρέπει ο έλεγχος και η εφαρμογή των κανόνων υγιεινής που αφορούν τις κολυμβητικές δεξαμενές να είναι περισσότερο αυστηροί»*.



Εικόνα 1.5: Το δίκτυο εργαστηρίων ΚΕΔΥ- ΠΕΔΥ.

Υπάρχει, λοιπόν, ένα μεγάλο εύρος παθογόνων και ευκαιριακά παθογόνων βακτηριακών στελεχών που μπορούν να εντοπιστούν στο νερό και στην άμμο. Τα περισσότερα εξ αυτών μπορούν να απομονωθούν και να διατηρηθούν σε στερεό υπόστρωμα. Υπάρχουν πλέον εγκεκριμένες μέθοδοι και μέσα για αυτή την απομόνωση των βακτηριακών παθογόνων και των βακτηρίων – δεικτών (Toze, 1999). Παρά το γεγονός ότι τα περισσότερα βακτηριακά παθογόνα μπορούν εύκολα να καλλιεργηθούν, υπάρχουν κάποια προβλήματα που συνδέονται με τις προσπάθειες εντοπισμού και ποσοτικοποίησής τους σε δείγματα. Πιο συγκεκριμένα, υπάρχουν δυσκολίες όσον αφορά στην άμεση καλλιέργεια των βακτηριακών γενών. Έτσι, έχουν αναπτυχθεί επιπλέον μέθοδοι για τον εντοπισμό των παθογόνων. Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν τα συμβατικά καλλιεργητικά μέσα και η μέθοδος της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) (Xie, Qiu, & Wang, 2017).

2. Σκοπός της εργασίας

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι ο έλεγχος της ποιότητας του θαλασσινού νερού και της άμμου συγκεκριμένων παραλιών του νομού Χανίων. Πιο αναλυτικά, η έρευνα αυτή στοχεύει αφενός στον έλεγχο της ποιότητας δειγμάτων θαλασσινού νερού και άμμου, και αφετέρου στη διερεύνηση πιθανής συσχέτισης της μικροβιολογικής ποιότητας του νερού με αυτή της άμμου.

Ο έλεγχος πραγματοποιήθηκε σε πρώτη φάση με συμβατικά καλλιεργητικά μέσα, έτσι ώστε να διαπιστωθούν τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα αυτών, και σε δεύτερη φάση έγινε προσπάθεια ταυτοποίησης συγκεκριμένων στελεχών επικινδύνων βακτηριακών παθογόνων μέσω της μεθόδου της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (polymerase chain reaction) - η οποία στο εξής θα αναφέρεται ως PCR.

Στάδια εκτέλεσης:

- ✓ Συλλογή δειγμάτων θαλασσινού νερού και άμμου από συγκεκριμένες παραλίες του νομού Χανίων και καλλιέργεια σε τρυβλία για να διαπιστωθεί η ύπαρξη (ή η μη ύπαρξη) αποικιών συγκεκριμένων δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης και συμπληρωματικών δεικτών.
- ✓ Αποθήκευση των δειγμάτων.
- ✓ Απομόνωση γενετικού υλικού των αποθηκευμένων δειγμάτων.
- ✓ Προσπάθεια ταυτοποίησης συγκεκριμένων στελεχών επικινδύνων βακτηριακών παθογόνων χρήσει της PCR.

3. Υλικά και εργαστηριακός εξοπλισμός

Στους Πίνακες 3.1 – 3.6 έγινε καταγραφή των υλικών – διαλυμάτων – συσκευών και οργάνων που χρησιμοποιήθηκαν κατά την εκπόνηση της πειραματικής διαδικασίας της παρούσας εργασίας.

ΠΙΝΑΚΑΣ 3.1. Εργαστηριακά υλικά

ΥΛΙΚΟ	ΕΤΑΙΡΕΙΑ
Αποστειρωμένα τρυβλία Petri διαμέτρου 9cm	
Αποστειρωμένα τρυβλία Petri διαμέτρου 5cm	
Φίλτρα διήθησης 0,45 µm diameter 47mm	GE Healthcare Life Sciences Whatman
Λυσοζύμη(Lysozyme molecular biology grade)	Applichem
Πρωτεΐνωση Κ	PanReac Applichem iTW Reagents
Διάλυμα Φαινόλη/Χλωροφόρμιο/Ισοαμυλική αλκοόλη (25:24:1)	Sigma-Aldrich
Υπερκάθαρο νερό (mQ)	

ΠΙΝΑΚΑΣ 3.2. Συσκευές και όργανα

ΣΥΣΚΕΥΗ/ΟΡΓΑΝΟ	ΕΤΑΙΡΕΙΑ
Ζυγαριά	KERN 440-21A
Ζυγαριά ακριβείας	Adventurer OHAUS
Επωαστικός θάλαμος	Thermo Scientific Heraeus
Κλίβανος ξηρής αποστείρωσης	Elvem K103
Κλίβανος υγρής αποστείρωσης	TRADERaypa
Μετρητής αποικιών	Stuart
Υδατόλουτρο	GFL
Συσκευή διήθησης	PALL Gelman Laboratory

Λύχνος Bunsen	
Φυγόκεντρος Centrifuge 5418R	Eppendorf
Φωτόμετρο Biophotometer	Eppendorf
Block heater (dry bath incubator)	Clever scientific Ltd
ARE Heating Magnetic Stirrer	VELP SCIENTIFICA

ΠΙΝΑΚΑΣ 3.3. Θρεπτικά υλικά και διαλύματα καλλιεργητικής μεθόδου

ΘΡΕΠΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ	ΕΤΑΙΡΕΙΑ
MANNITOL SALT AGAR	LABM Limited
TCBS CHOLERA MEDIUM	LABM Limited
SLANETZ AND BARTLEY MEDIUM	HIMEDIA LABORATORIES
BILE AESCULIN	HIMEDIA LABORATORIES
HICROME	HIMEDIA LABORATORIES
PSEUDOMONAS AGAR BASE	HIMEDIA LABORATORIES
XLD AGAR	HIMEDIA LABORATORIES
NUTRIENT AGAR	HIMEDIA LABORATORIES

ΔΙΑΛΥΜΑ	ΕΤΑΙΡΕΙΑ
RAPPAPORT VASSILIADIS SOYA BROTH	HIMEDIA LABORATORIES
SELENITE CYSTINE BROTH	HIMEDIA LABORATORIES
BUFFERED PEPTONE WATER	LABM Limited

ΠΙΝΑΚΑΣ 3.4. Διαλύματα απομόνωσης γενετικού υλικού

Ρυθμιστικό διάλυμα Tris-EDTA (TE), συγκέντρωσης 100 mM Tris, 100Mm EDTA, pH 8.0, αποστειρωμένο στους 121 °C για 15 min.
Ρυθμιστικό διάλυμα Lysozyme lysis buffer, 200 mM NaCl, 1000 mM Tris, pH 8.0, αποστείρωση στους 121° C για 15 min και προσθήκη Lysozyme 30 mg/mL.
Διάλυμα 10% w/v SDS.
Διάλυμα πρωτεΐνάσης K 20 mg/mL

Διάλυμα CTAB – NaCl (4,1g NaCl, 10g CTAB, 100mL dd H₂O)

ΠΙΝΑΚΑΣ 3.5. Υλικά για μείγμα αντίδρασης PCR

ΥΛΙΚΟ	ΕΤΑΙΡΕΙΑ
PCR BUFFER	BioLab
MgCl ₂	BioLab
dNTPs	BioLab
TAQ	BioLab
SPA-F εκκινητής της PCR για <i>Staphylococcus</i> <i>sp.</i>	BioLab
SPA-R εκκινητής της PCR για <i>Staphylococcus</i> <i>sp.</i>	BioLab
SAL-3 εκκινητής της PCR για <i>Salmonella sp.</i>	BioLab
SAL-4 εκκινητής της PCR για <i>Salmonella sp.</i>	BioLab
ETA397-F εκκινητής της PCR για <i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i>	BioLab
ETA397-R εκκινητής της PCR για <i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i>	BioLab
VP-F εκκινητής της PCR για <i>Vibrio</i> <i>parahaemolyticus</i>	BioLab
VP-R εκκινητής της PCR για <i>Vibrio</i> <i>parahaemolyticus</i>	BioLab
VC-F εκκινητής της PCR για <i>Vibrio cholerae</i>	BioLab
VC-R εκκινητής της PCR για <i>Vibrio cholerae</i>	BioLab

VV-F	εκκινητής της PCR για <i>Vibrio vulnificus</i>	BioLab
VV-R	εκκινητής της PCR για <i>Vibrio vulnificus</i>	BioLab
VA-F	εκκινητής της PCR για <i>Vibrio</i> <i>alginolyticus</i>	BioLab
VA-R	εκκινητής της PCR για <i>Vibrio</i> <i>alginolyticus</i>	BioLab

ΠΙΝΑΚΑΣ 3.6. Υλικά ηλεκτροφόρησης

ΥΛΙΚΟ	ΕΤΑΙΡΕΙΑ
TRIS BASE	Sigma-Aldrich
ACETIC ACID	Sigma-Aldrich
EDTA	Sigma Life Science
ΑΓΑΡΟΖΗ	AppliChem Panreac
ΒΡΩΜΙΟΥΧΟ ΑΙΘΙΔΙΟ	Sigma-Aldrich
GEL LOADING DYE Purple	BioLabs

4. Δειγματοληψίες

Οι Δειγματοληψίες έλαβαν χώρα σε παραλίες του νομού Χανίων. Πιο συγκεκριμένα, επιλέχθηκαν τέσσερις ακτές κολύμβησης, οι οποίες επιλέγονται τόσο από νέους όσο και από οικογένειες για κοντινές αποδράσεις στη θάλασσα, αλλά και δύο πολυσύχναστες παραλίες που είναι δημοφιλείς εξαιτίας των γνωστών χώρων εστίασης που διαθέτουν και επιλέγονται από τους νέους τόσο για κολύμπι όσο και για τη διασκέδασή τους. Οι παραλίες, λοιπόν, που εξετάστηκαν είναι οι παρακάτω και παρουσιάζονται στις Εικόνες 4.1 – 4.6:

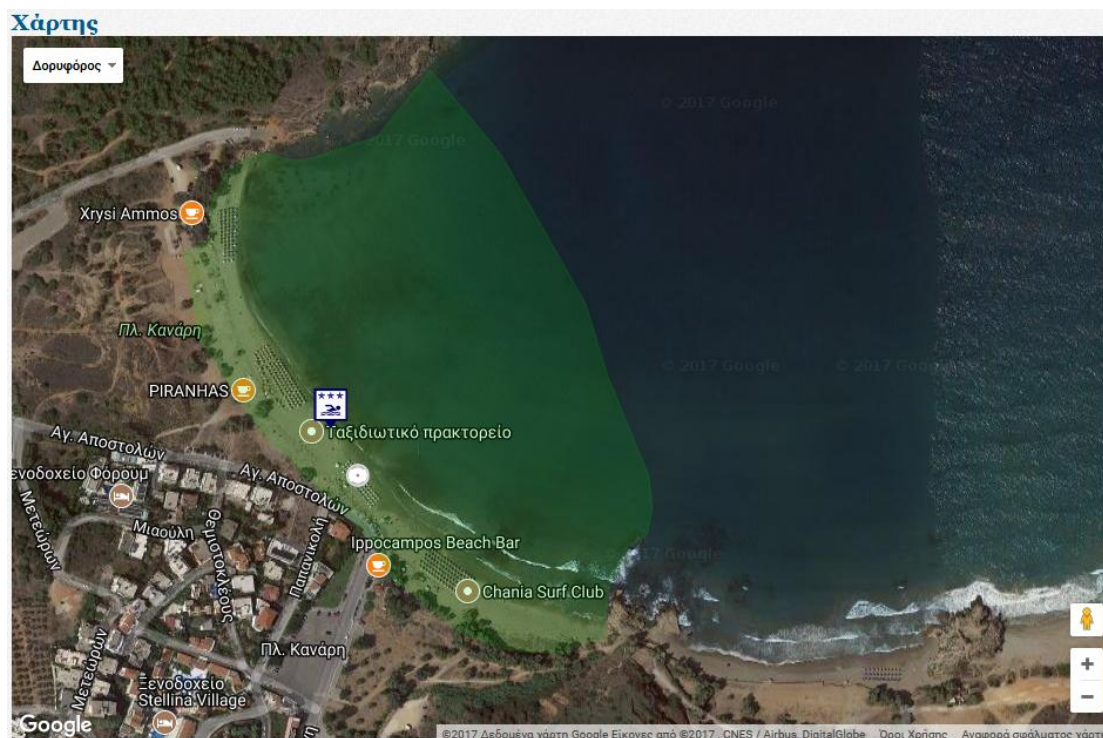
- ✓ Παραλία **Κουμ Καπί**, η οποία στο εξής θα ονομάζεται **ΠΑΡΑΛΙΑ Α.**
- ✓ Παραλία **Νέας Χώρας**, η οποία στο εξής θα ονομάζεται **ΠΑΡΑΛΙΑ Β.**
- ✓ Παραλία **Χρυσή Ακτή**, η οποία στο εξής θα ονομάζεται **ΠΑΡΑΛΙΑ Γ.**
- ✓ Παραλία **Αγίων Αποστόλων** (IGUANA BEACH), η οποία στο εξής θα ονομάζεται **ΠΑΡΑΛΙΑ Δ.**
- ✓ Παραλία **Αγίας Μαρίνας** (CABANA MARE), η οποία στο εξής θα ονομάζεται **ΠΑΡΑΛΙΑ Ε.**
- ✓ Παραλία **Πλατανιά** (NEROMYLOS), η οποία στο εξής θα ονομάζεται **ΠΑΡΑΛΙΑ ΣΤ.**

Όλες οι άνωθεν παραλίες εντάσσονται στο Υδατικό Διαμέρισμα Κρήτης (GR13), στη Λεκάνη Απορροής Ρεμάτων Βορείου Τμήματος Χανίων – Ρεθύμνου – Ηρακλείου (GR39) και στο Παράκτιο Υδατικό Σύστημα “Ακτές κόλπου Χανίων (GR1339C0002N)”, του οποίου η οικολογική κατάσταση έχει χαρακτηριστεί ως καλή, με βάση τα αποτελέσματα της ταξινόμησης, που πραγματοποιήθηκε στο Σχέδιο Διαχείρισης αρ. οικ. 163/8.04.2015. Υ.Α. (ΦΕΚ Β’ 570). Επιπλέον, εντάσσονται στο Παράκτιο Υδατικό Σύστημα των Ακτών Χανίων (GR001300010001N). Στο Υδατικό Σύστημα υπάρχει σταθμός εποπτικής παρακολούθησης που έχει οριστεί στο πλαίσιο εφαρμογής του Άρθρου 8 της Οδηγίας 2000/60/ΕΚ. Η παρακολούθηση γίνεται σύμφωνα με τα οριζόμενα στην ΚΥΑ 140384/2011. Η οικολογική κατάστασή του έχει χαρακτηριστεί ως καλή, με βάση τον προκαταρκτικό χαρακτηρισμό που πραγματοποιήθηκε από το ΕΛΚΕΘΕ το 2008. Στην ευρύτερη περιοχή δεν έχουν

εντοπιστεί άλλα υδάτινα σώματα, αναγνωρισμένα στο πλαίσιο της Οδηγίας 2000/60/ΕΚ που να επηρεάζουν αυτές τις κολυμβητικές ακτές.

Η διαδικασία των δειγματοληψιών πραγματοποιήθηκε κατά τη διάρκεια του έτους 2016. Λόγω της φύσης της παρούσας εργασίας, πραγματοποιήθηκαν τρεις (3) εποχικές Δειγματοληψίες. Πιο συγκεκριμένα, διεξήχθησαν Δειγματοληψίες κατά την άνοιξη, το καλοκαίρι και το φθινόπωρο του έτους 2016. Οι Δειγματοληψίες έγιναν κατά τις πρωινές ώρες ηλιόλουστων ημερών, και πιο συγκεκριμένα μεταξύ 9-10 π.μ. . Τα δείγματα του νερού συλλέχθηκαν σε μπουκάλια των 750 mL από τα ρηχά νερά της παραλίας, ενώ τα δείγματα της άμμου συλλέχθηκαν με γάντια από βάθος περίπου 10 εκατοστών σημείων που δε βρέχονταν από το θαλασσινό νερό.

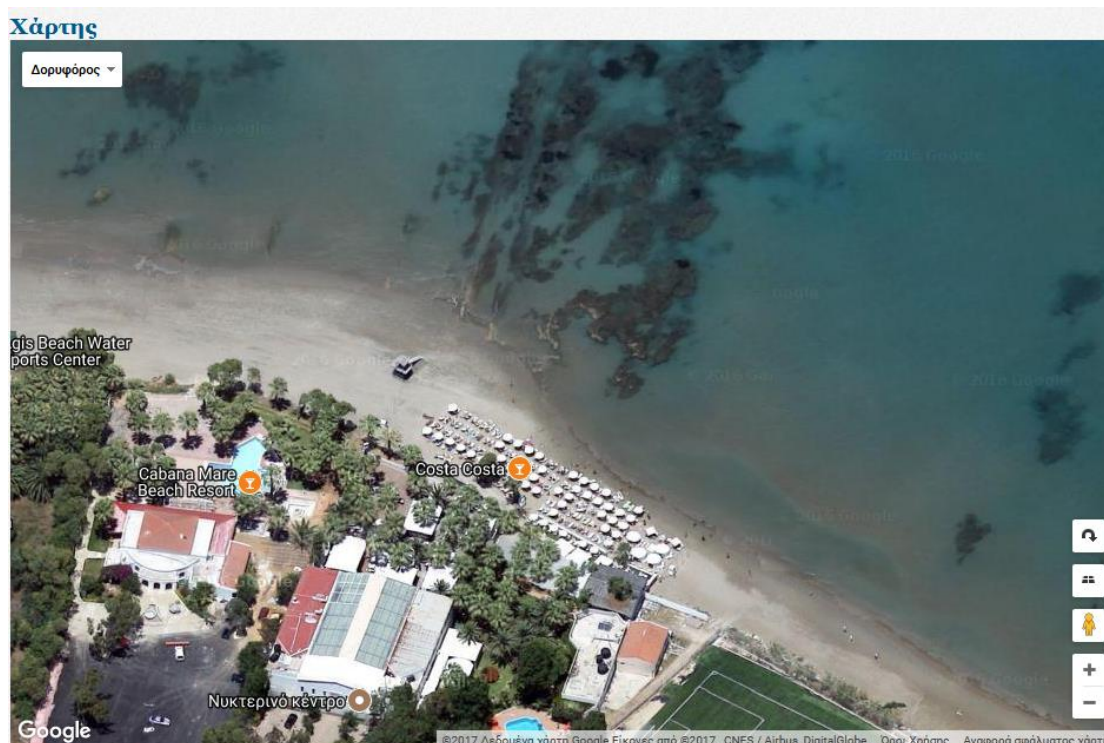
Για να υπάρχει καλύτερη συνολική εικόνα της κάθε παραλίας όσον αφορά το μικροβιακό της φορτίο, κρίθηκε σκόπιμο να επιλεγθούν 3 σημεία Δειγματοληψίας από κάθε παραλία, ένα στο αριστερό τμήμα, ένα στο κέντρο και ένα στο δεξί τμήμα της παραλίας. Τα σημεία αυτά παρουσιάζονται στις Εικόνες 4.7 - 4.12 για κάθε παραλία ξεχωριστά. Επιπλέον, στο ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ παρέχονται πληροφορίες για την κάθε παραλία ξεχωριστά. Εδώ να σημειωθεί πως για τις παραλίες Ε και ΣΤ, έγινε αναφορά των χαρακτηριστικών των ευρύτερων ακτών στις οποίες ανήκουν, δηλαδή Σταλός/Αγία Μαρίνα και Γεράνι/Πλατανιάς αντίστοιχα.



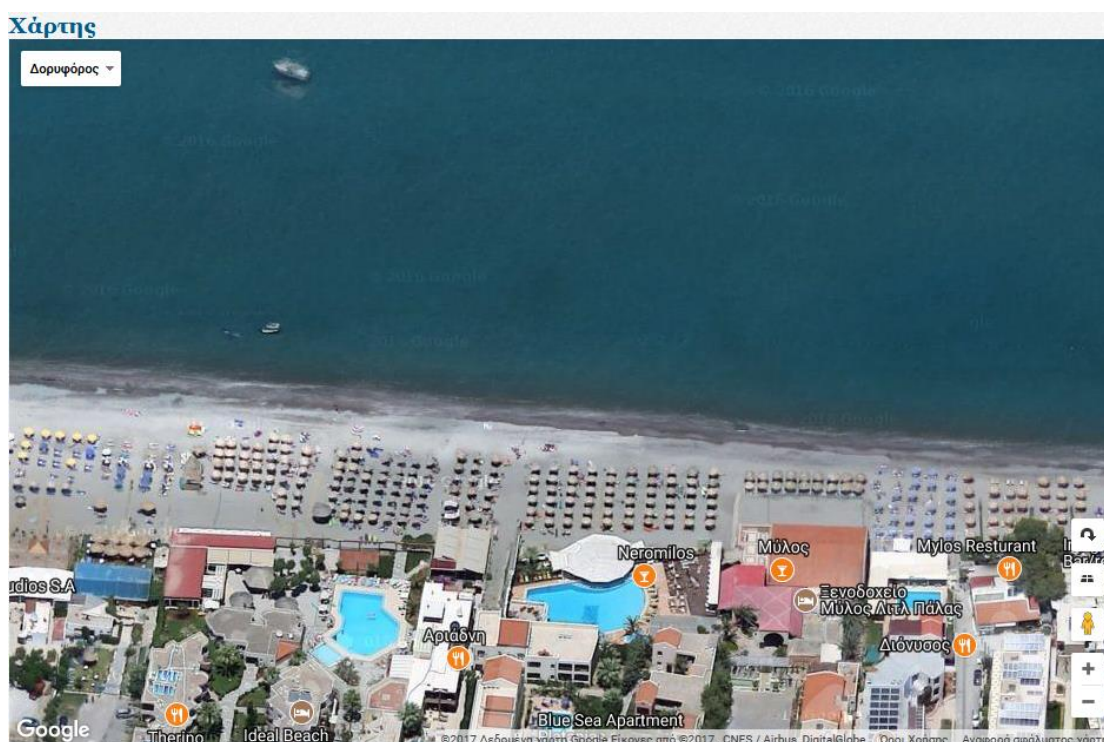
Εικόνα 4.3: Χρυσή Ακτή (ακτή GRBW139325108)



Εικόνα 4.4: Άγιοι Απόστολοι - Ιγκουάνα (ακτή GRBW139325109)



Εικόνα 4.5: Αγία Μαρίνα – CABANA MARE



Εικόνα 4.6: Πλατανιάς – NEROMYLOS



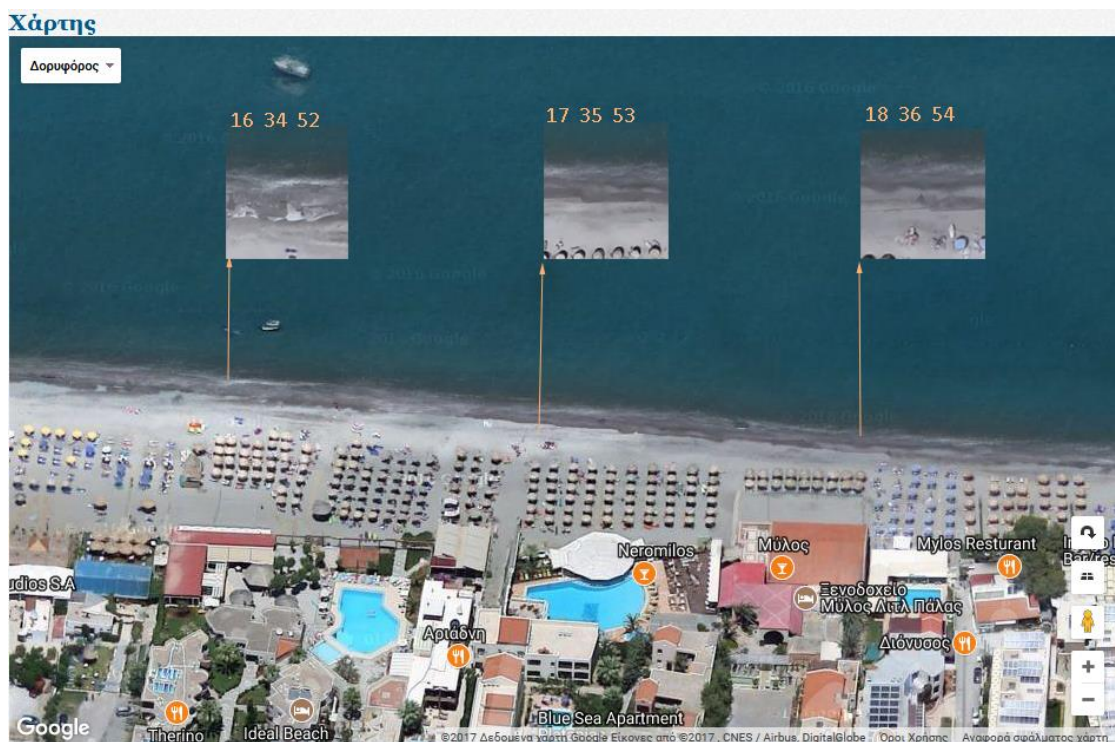
Εικόνα 4.9: Σημεία δειγματοληψιών Παραλίας Γ.






















Εικόνα 4.10: Σημεία δειγματοληψιών Παραλίας Δ.



Εικόνα 4.11: Σημεία δειγματοληψιών Παραλίας Ε.



Εικόνα 4.12: Σημεία δειγματοληψιών Παραλίας ΣΤ.



 Εξαιρετική ποιότητα	 Καλή ποιότητα	 Επαρκής ποιότητα	 Ανεπαρκής ποιότητα
 Σημείο Δειγματοληψίας	 Εκβολή ποταμού/ρέματος	 Ιχθυοκαλλιέργειες	
 Μαρίνα	 Αγκυροβόλιο/Προβλήτα	 Αγκυροβολημένα σκάφη	
 Βιομηχανία	 Αντλιοστάσιο	 Αγωγός	
 Χερσαίο τμήμα υποθαλάσσιου αγωγού διάθεσης	 Εγκατάσταση Επεξεργασίας Λυμάτων (Ε.Ε.Λ.)	 Χώρος Ανεξέλεγκτης Διάθεσης Απορριμάτων (ΧΑΔΑ)	
 Σημείο εκβολής αγωγού διάθεσης	 Χώρος Υγειονομικής Ταφής Απορριμάτων (ΧΥΤΑ)	 Άλλο	



2016 © ΥΠΕΝ | Όροι Χρήσης

Μ. Ιατρίδου 2 & Λεωφ. Κηφισίας, 115 26 Αθήνα,

Τηλ: 210 693 1250 - 1

email: bathingwaterprofiles@prv.ypeka.gr





Εικόνα 4.12: Υπόμνημα.

Στον Πίνακα 4.1 παρουσιάζεται μία γενική εικόνα των δειγματοληψιών.

Πίνακας 4.1: Κωδικοποίηση δειγμάτων.				
ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ	ΠΑΡΑΛΙΑ	ΔΕΙΓΜΑ	ΣΗΜΕΙΟ ΠΑΡΑΛΙΑΣ	ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ
(1)ΑΝΟΙΞΗ 2016	A	1	ΑΡΙΣΤΕΡΑ	5/4/2016
	A	2	ΚΕΝΤΡΟ	5/4/2016
	A	3	ΔΕΞΙΑ	5/4/2016
	B	4	ΑΡΙΣΤΕΡΑ	12/4/2016
	B	5	ΚΕΝΤΡΟ	12/4/2016
	B	6	ΔΕΞΙΑ	12/4/2016
	Γ	7	ΑΡΙΣΤΕΡΑ	18/4/2016
	Γ	8	ΚΕΝΤΡΟ	18/4/2016
	Γ	9	ΔΕΞΙΑ	18/4/2016
	Δ	10	ΑΡΙΣΤΕΡΑ	19/4/2016
	Δ	11	ΚΕΝΤΡΟ	19/4/2016
	Δ	12	ΔΕΞΙΑ	19/4/2016
	Ε	13	ΑΡΙΣΤΕΡΑ	18/5/2016
	Ε	14	ΚΕΝΤΡΟ	18/5/2016
	Ε	15	ΔΕΞΙΑ	18/5/2016
	ΣΤ	16	ΑΡΙΣΤΕΡΑ	25/5/2016
	ΣΤ	17	ΚΕΝΤΡΟ	25/5/2016
	ΣΤ	18	ΔΕΞΙΑ	25/5/2016
(2)ΚΑΛΟΚΑΙΡΙ 2016	A	19	ΑΡΙΣΤΕΡΑ	28/5/2016

	A	20	ΚΕΝΤΡΟ	28/5/2016
	A	21	ΔΕΞΙΑ	28/5/2016
	B	22	ΑΡΙΣΤΕΡΑ	31/5/2016
	B	23	ΚΕΝΤΡΟ	31/5/2016
	B	24	ΔΕΞΙΑ	31/5/2016
	Γ	25	ΑΡΙΣΤΕΡΑ	21/6/2016
	Γ	26	ΚΕΝΤΡΟ	21/6/2016
	Γ	27	ΔΕΞΙΑ	21/6/2016
	Δ	28	ΑΡΙΣΤΕΡΑ	21/6/2016
	Δ	29	ΚΕΝΤΡΟ	21/6/2016
	Δ	30	ΔΕΞΙΑ	21/6/2016
	Ε	31	ΑΡΙΣΤΕΡΑ	3/7/2016
	Ε	32	ΚΕΝΤΡΟ	3/7/2016
	Ε	33	ΔΕΞΙΑ	3/7/2016
	ΣΤ	34	ΑΡΙΣΤΕΡΑ	3/7/2016
	ΣΤ	35	ΚΕΝΤΡΟ	3/7/2016
	ΣΤ	36	ΔΕΞΙΑ	3/7/2016
(3)ΦΘΙΝΟΠΩΡΟ 2016	A	37	ΑΡΙΣΤΕΡΑ	12/10/2016
	A	38	ΚΕΝΤΡΟ	12/10/2016
	A	39	ΔΕΞΙΑ	12/10/2016
	B	40	ΑΡΙΣΤΕΡΑ	19/10/2016
	B	41	ΚΕΝΤΡΟ	19/10/2016
	B	42	ΔΕΞΙΑ	19/10/2016
	Γ	43	ΑΡΙΣΤΕΡΑ	17/10/2016
	Γ	44	ΚΕΝΤΡΟ	17/10/2016
	Γ	45	ΔΕΞΙΑ	17/10/2016
	Δ	46	ΑΡΙΣΤΕΡΑ	17/10/2016
	Δ	47	ΚΕΝΤΡΟ	17/10/2016
	Δ	48	ΔΕΞΙΑ	17/10/2016
	Ε	49	ΑΡΙΣΤΕΡΑ	23/10/2016
	Ε	50	ΚΕΝΤΡΟ	23/10/2016
	Ε	51	ΔΕΞΙΑ	23/10/2016
	ΣΤ	52	ΑΡΙΣΤΕΡΑ	23/10/2016

	ΣΤ	53	ΚΕΝΤΡΟ	23/10/2016
	ΣΤ	54	ΔΕΞΙΑ	23/10/2016

5. Πειραματική Διαδικασία

5.1. Καλλιέργεια μικροοργανισμών σε τρυβλία

Για την απομόνωση των βακτηριακών στελεχών των δειγμάτων που συλλέχθηκαν έγινε χρήση της τεχνικής της διήθησης και της επιφανειακής διασποράς σε στερεό θρεπτικό υλικό (άγαρ).

ΠΙΝΑΚΑΣ 5.1: Θρεπτικά υλικά που χρησιμοποιήθηκαν.

ΔΕΙΚΤΗΣ	ΘΡΕΠΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ
<i>Staphylococcus sp.</i>	Mannitol Salt Agar
<i>Vibrio sp.</i>	TCBS
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Pseudomonas Agar Base
<i>E. coli</i>	HiCrome Coliform Agar
<i>Enterococci</i>	(1)Slanetz and Bartley medium & (2)Bile-aesculin-azide agar
<i>Salmonella sp.</i>	XLD agar

Πιο αναλυτικά, για τα δείγματα νερού ακολουθήθηκαν τα παρακάτω βήματα:

1. Παραλαβή δείγματος νερού.
2. Διήθηση 100mL δείγματος νερού από ειδικό φίλτρο νιτροκυτταρίνης με διάμετρο πόρων 0,45 μm .
3. Μεταφορά του δείγματος νερού σε τρυβλίο με το κατάλληλο στερεό θρεπτικό υπόστρωμα (Πίνακας 5.1).
4. Επώαση του τρυβλίου σε κλίβανο με ελεγχόμενη θερμοκρασία είτε για 24 είτε για 48 h.

Για τα δείγματα της άμμου, ακολουθήθηκαν τα παρακάτω βήματα:

1. Ζύγιση 10g άμμου και μεταφορά της σε μπουκάλι που περιέχει 95mL αποστειρωμένο νερό. Αναμονή 10-15 min για ομογενοποίηση.
2. Μεταφορά 200 μL δείγματος άμμου σε τρυβλίο με το κατάλληλο στερεό θρεπτικό υπόστρωμα (Πίνακας 5.1).

3. Επώαση του τρυβλίου σε κλίβανο με ελεγχόμενη θερμοκρασία είτε για 24 h είτε για 48 h.
4. Επιπλέον, έγινε ζύγιση 20g άμμου από κάθε δείγμα και τοποθέτησή της στον κλίβανο στους 105° C για 24 h, έτσι ώστε να επιτευχθεί ξήρανση και με τους κατάλληλους υπολογισμούς να είμαστε σε θέση να ανάγουμε τα αποτελέσματά μας σε CFU/g ξηρής άμμου.

Για τη *Salmonella sp.* ακολουθήθηκε διαφορετική διαδικασία. Πιο αναλυτικά, για κάθε ένα δείγμα πραγματοποιήθηκαν τα εξής βήματα:

1. Μετά τη διήθηση, τοποθέτηση του φίλτρου σε κωνική φιάλη που περιέχει 90mL Buffered peptone water (δείγμα νερού). //
- Τοποθέτηση 10g άμμου σε κωνική φιάλη που περιέχει 90mL buffered peptone water (δείγμα άμμου).
2. Επώαση στους 37° C για 24 h.
3. Λήψη 0,1mL εναιωρήματος βακτηρίων και εμβολιασμός σε δοκιμαστικό σωλήνα που περιέχει 10mL Rappaport-Vassiliadis Soya Broth.
4. Επώαση του δοκιμαστικού σωλήνα στους 44° C για 48 h.
5. Από το αρχικό εναιώρημα βακτηρίων, λήψη 1mL και εμβολιασμός σε δοκιμαστικό σωλήνα που περιέχει 9mL Selenite Cystine Broth.
6. Επώαση του δοκιμαστικού σωλήνα στους 37° C για 48 h.
7. Μετά την επώαση, καλλιέργεια και από τους δύο δοκιμαστικούς σωλήνες αντίστοιχα σε τρυβλία Petri που είναι επιστρωμένα με θρεπτικό υλικό *Salmonella-Shigella agar* / XLD agar.

Ακολούθησε επώαση των τρυβλίων ως εξής:

- ✓ Για τον *Staphylococcus sp.* επώαση στους 37° C για 24-48 h.
- ✓ Για το *Vibrio sp.* επώαση στους 37° C για 24-48 h.
- ✓ Για την *Pseudomonas aeruginosa* επώαση στους 36±2° C για 48 h.
- ✓ Για τους *Enterococci* επώαση στους 36±2° C για 48 h.
- ✓ Για το *E.coli* επώαση στους 37±0,5° C για 24 h.

- ✓ Για τη *Salmonella sp.* επώαση στους 37° C για 24 h.

Τέλος, έγινε η καταμέτρηση των αποικιών για τη διεξαγωγή αποτελεσμάτων.

Να σημειωθεί ότι για τους *Enterococci* πραγματοποιήθηκε έλεγχος των αναπτυχθεισών αποικιών, με μεταφορά της μεμβράνης διήθησης σε θρεπτικό υλικό Bile-aesculin-azide agar, το οποίο έχει προθερμανθεί στους 44±0,5° C και έγινε επώαση στους 44±0,5° C για 2 h και εκ νέου καταμέτρηση των αποικιών.

5.2. Απομόνωση γενετικού υλικού

Η απομόνωση του γενετικού υλικού έγινε με τη χρήση διαλύματος φαινόλης-χλωροφορμίου-ισοαμυλικής αλκοόλης. Επιπλέον, για την περάτωση της διαδικασίας, παρασκευάστηκαν και χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω διαλύματα:

- ✓ Ρυθμιστικό διάλυμα Tris-EDTA (TE) (10mM Tris, 1mM EDTA, pH 8,0 και αποστείρωση σε αυτόκαυστο στους 121° C για 15 min)
- ✓ Ρυθμιστικό διάλυμα Lysozyme Lysis buffer (100mM NaCl, 500mM Tris (pH 8.0), ένζυμο λυσοζύμη συγκέντρωσης 30mg/mL).
- ✓ CTAB-NaCl (4,1g NaCl, 10g CTAB, 100mL dd H₂O)
- ✓ SDS 10% w/v
- ✓ Διάλυμα πρωτεΐνης K 20mg/mL.

Έπειτα από την παρασκευή των διαλυμάτων, ακολουθήθηκε η παρακάτω διαδικασία, σύμφωνα με το πρωτόκολλο για την απομόνωση γενετικού υλικού (Gram - & Gram +):

1. Φυγοκέντρηση των αποθηκευμένων δειγμάτων στα 14000 X g για 30 min στους 20° C.
2. Λήψη του ιζήματος και διάλυσή του προσθέτοντας 467μL TE.

3. Προσθήκη 30μL SDS συγκέντρωσης 10w/v.
4. Προσθήκη 3μL διαλύματος ενζύμου πρωτεϊνάση-K συγκέντρωσης 20mg/mL και 100μL διαλύματος Lysozyme lysis buffer. Ανάδευση με πιπέτα.
5. Επώαση στους 37°C για 1 h. Η επώαση γίνεται σε Block Heater.
6. Προσθήκη 80μL CTAB που περιέχει 0.7% M χλωριούχο νάτριο.
7. Επώαση στους 65°C για 10 min.
8. Προσθήκη 750μL διαλύματος Φαινόλη / Χλωροφόρμιο / Ισοαμυλική αλκοόλη (25:24:1).
9. Έντονη ανάδευση με τη χρήση μηχανικού αναδευτήρα (Vortex).
10. Φυγοκέντρηση στα 14000 X g για 10 min.
11. Λήψη της υδατικής φάσης και μεταφορά της σε νέο eppendorf.
12. Προσθήκη 500μL ισοπροπανόλης και ανάδευση με πιπέτα.
13. Παραμονή στους -20°C κατά τη διάρκεια της νύχτας.
14. Φυγοκέντρηση στα 10000 X g και στους 4°C για 20 min.
15. Απόρριψη του υπερκείμενου και λήψη του ιζήματος (DNA).
16. Καθαρισμός του γενετικού υλικού προσθέτοντας 500μL αιθανόλης συγκέντρωσης 70% και αναδεύοντας με πιπέτα.
17. Φυγοκέντρηση στα 10000 X g και στους 4°C για 20 min.
18. Απόρριψη της αιθανόλης.
19. Λήψη του ιζήματος και τοποθέτηση του eppendorf στους 37°C στο Block heater προκειμένου να εξατμιστεί η αιθανόλη.
20. Επαναδιάλυση του γενετικού υλικού σε 50μL TE.
21. Φύλαξη του απομονωμένου γενετικού υλικού στους -20°C.

5.3. Έλεγχος ποσότητας και καθαρότητας γενετικού υλικού

Μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας απομόνωσης του γενετικού μας υλικού και πριν προχωρήσουμε στη χρήση της PCR, είναι μεγίστης σημασίας να εκτιμηθεί η ποιότητα και η καθαρότητα του απομονωμένου υλικού, αλλά και ο υπολογισμός της συγκέντρωσής του, έτσι ώστε σε πρώτη φάση να επιλεγούν τα δείγματα που θα χρησιμοποιηθούν στη μέθοδο της PCR και σε δεύτερη φάση να χρησιμοποιηθούν τα επιλεγόμενα δείγματα στις κατάλληλες συγκεντρώσεις.

Η μέθοδος, λοιπόν, που χρησιμοποιήθηκε για τον έλεγχο της ποσότητας και της καθαρότητας του γενετικού υλικού των δειγμάτων μας, είναι αυτή της φωτομέτρησης σε φασματοφωτόμετρο, και πιο συγκεκριμένα στα μήκη κύματος 260 nm και 280 nm.

Για την εκτίμηση της καθαρότητας ενός διαλύματος νουκλεϊκών οξέων, συνιστάται να μετρηθεί η απορρόφηση στα 260 και 280 nm έτσι ώστε να υπολογιστεί ο λόγος των δύο απορροφήσεων $R = A_{260nm}/A_{280nm}$. Χαρακτηριστικές τιμές λόγου R για καθαρό RNA και DNA είναι 2 και 1,8 αντίστοιχα. Η μέθοδος αυτή δε μπορεί να διακρίνει ανάμεσα στο DNA και το RNA, οπότε τιμές μεταξύ του 1,8 και του 2 είναι γενικά οι βέλτιστες.

Επιπλέον, να σημειωθεί ότι τιμές του $R < 1,7$ είναι ενδεικτικές της ύπαρξης προσμίξεων, είτε πρωτεϊνών είτε φαινόλης που χρησιμοποιήθηκε κατά την απομόνωση του γενετικού υλικού, ενώ τιμές του $R > 1,8$ είναι ενδεικτικές πρόσμιξης με RNA, κάτι το οποίο δε μας δημιουργεί πρόβλημα. Τέλος, χαμηλές τιμές του λόγου R παρατηρούνται σε δείγματα με πολύ χαμηλή συγκέντρωση DNA (δηλαδή μικρότερη από 10ng/μL).

Όσον αφορά, τώρα, στη συγκέντρωση των νουκλεϊκών οξέων, ο υπολογισμός της βασίζεται στην εφαρμογή του νόμου Beer-Lambert. Το DNA, σε συγκεντρώσεις 5-50ng/μL, εμφανίζει γραμμική συσχέτιση με την απορρόφηση στα 260nm. Για να υπολογιστεί, λοιπόν, η συγκέντρωση των νουκλεοτιδίων πρέπει να λάβουμε υπόψιν μας τα παρακάτω:

- ✓ Διάλυμα καθαρού δίκλωνου DNA που έχει στα 260nm απορρόφηση $A_{260nm}=1$ έχει συγκέντρωση 50ng/μL.
- ✓ Διάλυμα καθαρού μονόκλωνου DNA που έχει στα 260nm απορρόφηση $A_{260nm}=1$ έχει συγκέντρωση 33ng/μL.
- ✓ Διάλυμα καθαρού RNA που έχει στα 260nm απορρόφηση $A_{260nm}=1$ έχει συγκέντρωση 40ng/μL.

Με βάση, λοιπόν, τα παραπάνω, η συγκέντρωση ενός διαλύματος δίκλωνου DNA υπολογίζεται χρήσει του τύπου $C(\text{ng}/\mu\text{L}) = A_{260nm} * 50$.

5.4. Ταυτοποίηση μικροοργανισμών

Σε αυτό το σημείο, έγινε προσπάθεια ταυτοποίησης συγκεκριμένων στελεχών επικινδύνων βακτηριακών παθογόνων μέσω της μεθόδου PCR. Πιο αναλυτικά, έγινε χρήση του απομονωμένου DNA των βακτηριακών στελεχών και των αντίστοιχων εκκινητών (universal primers) για κάθε στέλεχος. Η μέθοδος εφαρμόστηκε για τους συμπληρωματικούς δείκτες. Στις υποενότητες 5.4.1 – 5.4.4 παρουσιάζεται αναλυτικά το πρωτόκολλο της PCR που ακολουθήθηκε για τους υπό εξέταση δείκτες.

5.4.1. Πρωτόκολλο PCR για *Staphylococcus aureus*

<i>Βακτήριο</i>	<i>Γένος</i>	<i>Εκκινητής</i>	<i>Νουκλεοτιδική αλυσίδα εκκινητή 5'-3'</i>	<i>Προϊόν PCR (bp)</i>	<i>Βιβλιογραφική αναφορά</i>
<i>S.aureus</i>	protein A gene	spa-F	ATCTGGTGGCGTAACACCTG	1200	Omar et al. 2014
		spa-R	CGCTGCACCTAACGCTAATG		

Μείγμα αντίδρασης PCR	
Μείγμα αντίδρασης	40μL
PCR buffer	1X
MgCl ₂	2mM
dNTPs	250μM
Taq	1U
spa-F	0,5μM
spa-R	0,5μM
DNA	2μL

Κύκλοι PCR	
94 °C - 4min	35 cycles
94 °C - 1min	
56 °C - 1min	
72 °C - 3min	
72 °C - 5min	

Ακολουθήσε ηλεκτροφόρηση των προϊόντων της PCR σε πήκτωμα αγαρόζης.

5.4.2. Πρωτόκολλο PCR για *Salmonella* sp.

<i>Βακτήριο</i>	<i>Γένος</i>	<i>Εκκινητής</i>	<i>Νουκλεοτιδική αλυσίδα εκκινητή 5'-3'</i>	<i>Προϊόν PCR (bp)</i>	<i>Βιβλιογραφική αναφορά</i>
<i>Salmonella</i> sp.	invA	SAL-3	TATCGCCACGTTCTGGGCAA	275	Vantarakis et al., 2000; Wang et al., 1997
		SAL-4	TCGCACCGTCAAAGGAACC		

Μείγμα αντίδρασης PCR	
Μείγμα αντίδρασης	40μL
PCR buffer	1X
MgCl ₂	2mM
dNTPs	250μM
Taq	1,5U
SAL-3	0,25μM
SAL-4	0,25μM
DNA	2μL

Κύκλοι PCR	
94°C - 2min	35 cycles
94°C - 45s	
50°C - 30s	
74°C - 45s	
74°C - 2min	

Ακολουθήσε ηλεκτροφόρηση των προϊόντων της PCR σε πήκτωμα αγαρόζης.

5.4.3. Πρωτόκολλο PCR για *Pseudomonas aeruginosa*

Βακτήριο	Γένος	Εκκινητής	Νουκλεοτιδική αλυσίδα εκκινητή 5'-3'	Προϊόν PCR (bp)	Βιβλιογραφική αναφορά
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	toxA	ETA397-F	ATGGTGTAGATCGGCGACAT	397	Shi et al., 2012
		ETA397-R	AAGCCTTCGACCTCTGGAAC		

Μείγμα αντίδρασης PCR	
Μείγμα αντίδρασης	40μL
PCR buffer	1X
MgCl ₂	2,5mM
dNTPs	0,2mM
Taq	1U
ETA397-F	0,5μM
ETA397-R	0,5μM
DNA	5μL

Κύκλοι PCR	
95°C - 5min	40 cycles
95°C - 1min	
58°C - 1min	
72°C - 3min	
72°C - 10min	

Ακολουθήσε ηλεκτροφόρηση των προϊόντων της PCR σε πήκτωμα αγαρόζης.

5.4.4. Πρωτόκολλο (Multiplex) PCR για *Vibrio* sp.

Βακτήριο	Γένος	Εκκινητής	Νουκλεοτιδική αλυσίδα εκκινητή 5'-3'	Προϊόν PCR (bp)	Βιβλιογραφική αναφορά
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	NC_004605.1 (c1155272- 1154856)	VP-F	AGCTTATTGGCGGTTTCTGTCGG	297	Omar et al. 2014
		VP-R	CKCAAGACCAAGAAAAGCCGTC		
<i>Vibrio cholerae</i>	NC_002506.1 (C634002- 633547)	VC-F	CAAGTCCGCATGTCCAGAAGC	154	
		VC-R	GGGGCGTGACGCGAATGATT		
<i>Vibrio vulnificus</i>	NC_005139.1 (2055918- 2056664)	VV-F	CAGCCGGACGTCGTCCATTTTG	484	
		VV-R	ATGAGTAAGCGTCCGACGCGT		
<i>Vibrio alginolyticus</i>	NZ_CH902589.1 (1198230- 1198616)	VA-F	ACGGCATTGAAATTGCGACTG	199	
		VA-R	TACCCGTCTCACGAGCCAAG		

Μείγμα αντίδρασης PCR	
Μείγμα αντίδρασης	40μL
PCR buffer	1X
MgCl ₂	2mM
dNTPs	250μM
Taq	1,5U
VP-F	0,24μM
VP-R	0,24μM
VC-F	0,24μM
VC-R	0,24μM
VV-F	0,4μM
VV-R	0,4μM
VA-F	0,4μM
VA-R	0,4μM
DNA	2μL

Κύκλοι PCR	
94 °C - 5min	35 cycles
94 °C - 30s	
60 °C - 30s	
72 °C - 30s	
72 °C - 10min	

Ακολουθήσε ηλεκτροφόρηση των προϊόντων της PCR σε πήκτωμα αγαρόζης.

6. Αποτελέσματα - Συζήτηση

6.1. Αποτελέσματα καλλιεργητικής μεθόδου

Τα αποτελέσματα της καλλιεργητικής μεθόδου παρουσιάζονται σε μορφή διαγραμμάτων, πλην της *Salmonella sp.*, η οποία, βάσει πρωτοκόλλου, δεν ποσοτικοποιήθηκε. Συγκεκριμένα, στον Πίνακα 6.2 παρουσιάζονται τα δείγματα τα οποία βγήκαν θετικά στον έλεγχο για *Salmonella sp.*.

Στις Εικόνες 6.1 – 6.62 , παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της πειραματικής διαδικασίας όσον αφορά το κομμάτι της καλλιέργειας των μικροοργανισμών σε τρυβλία. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται σε CFU/100mL για το νερό και σε CFU/g ξηρής άμμου για την άμμο. Τα αποτελέσματα για την άμμο μετατράπηκαν από υγρή σε ξηρή άμμο μέσω του υπολογισμού του συντελεστή υγρασίας θg και παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.1.

ΠΙΝΑΚΑΣ 6.1: Συντελεστής υγρασίας θg για τα δείγματα άμμου.	
ΔΕΙΓΜΑ	θg
1	0,05
2	0,10
3	0,14
4	0,18
5	0,19
6	0,16
7	0,22
8	0,15
9	0,18
10	0,26
11	0,14
12	0,07

13	0,29
14	0,24
15	0,20
16	0,04
17	0,02
18	0,10
19	0,15
20	0,04
21	0,20
22	0,17
23	0,20
24	0,16
25	0,11
26	0,12
27	0,16
28	0,26
29	0,09
30	0,15
31	0,25
32	0,18
33	0,16
34	0,08
35	0,08
36	0,04
37	0,07
38	0,08
39	0,23
40	0,12
41	0,19
42	0,08

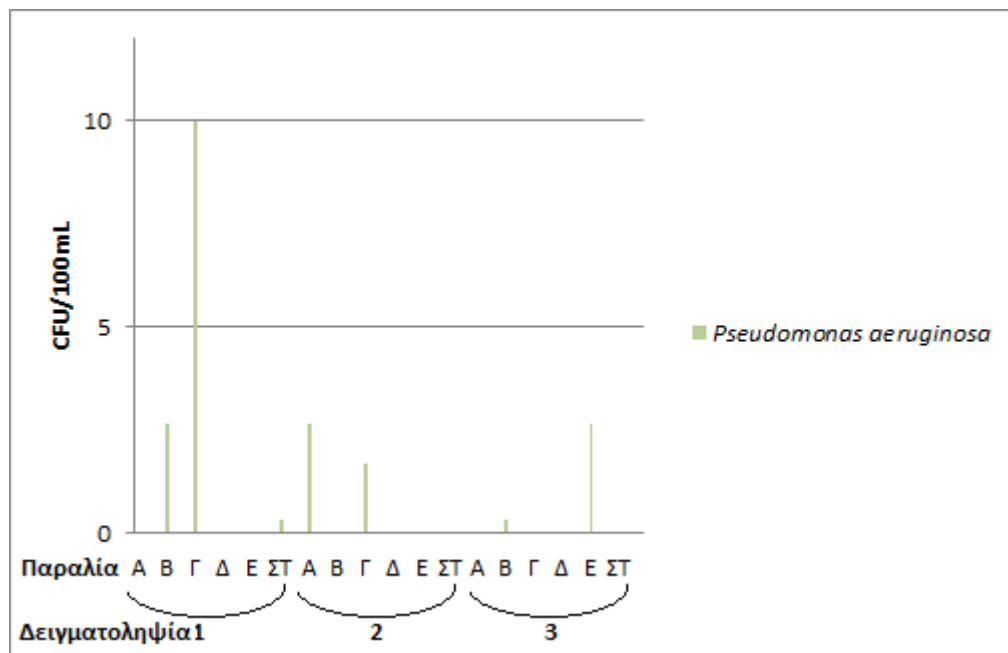
43	0,14
44	0,08
45	0,13
46	0,08
47	0,08
48	0,30
49	0,30
50	0,20
51	0,15
52	0,03
53	0,05
54	0,03

6.1.1. Παρουσία μικροοργανισμών στις υπό εξέταση παραλίες

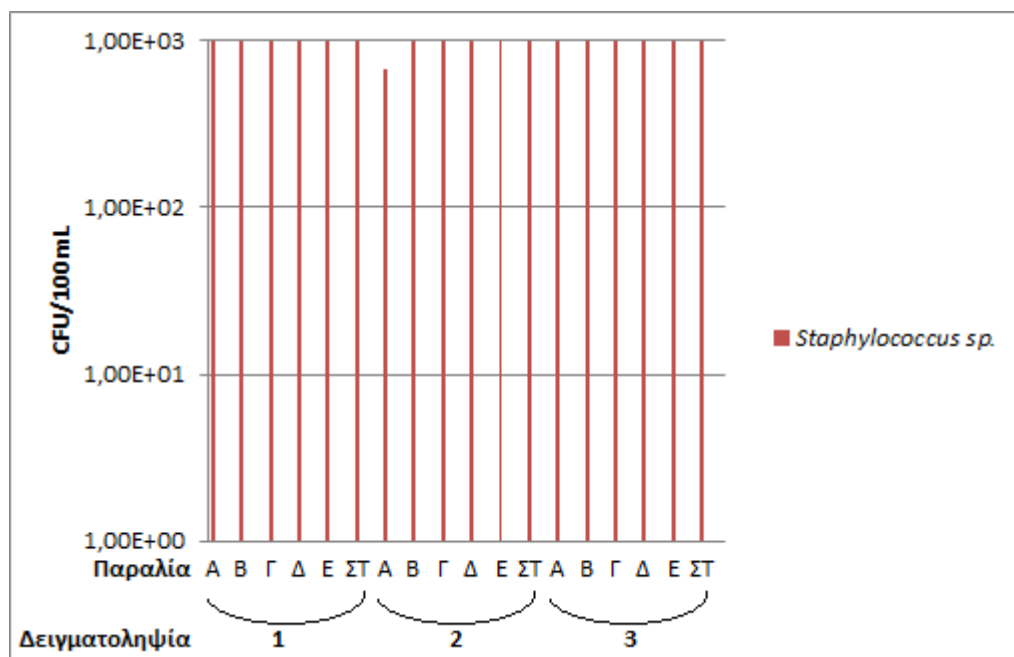
ΠΙΝΑΚΑΣ 6.2: Δείγματα θετικά σε <i>Salmonella sp.</i>			
	ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ	ΔΕΙΓΜΑ	ΠΑΡΑΛΙΑ
ΝΕΡΟ	1	3	A
	1	6	B
	2	20	A
	2	21	A
	3	49	E
	3	50	E
ΑΜΜΟΣ	2	23	B
	3	37	A
	3	38	A
	3	39	A

Στον Πίνακα 6.2, μπορούμε να παρατηρήσουμε ότι η *Salmonella sp.* εντοπίστηκε σε μόλις 6 δείγματα νερού και 4 δείγματα άμμου. Τόσο στο νερό όσο και στην άμμο, η πιο συχνή παρουσία παρατηρήθηκε στην Παραλία Α.

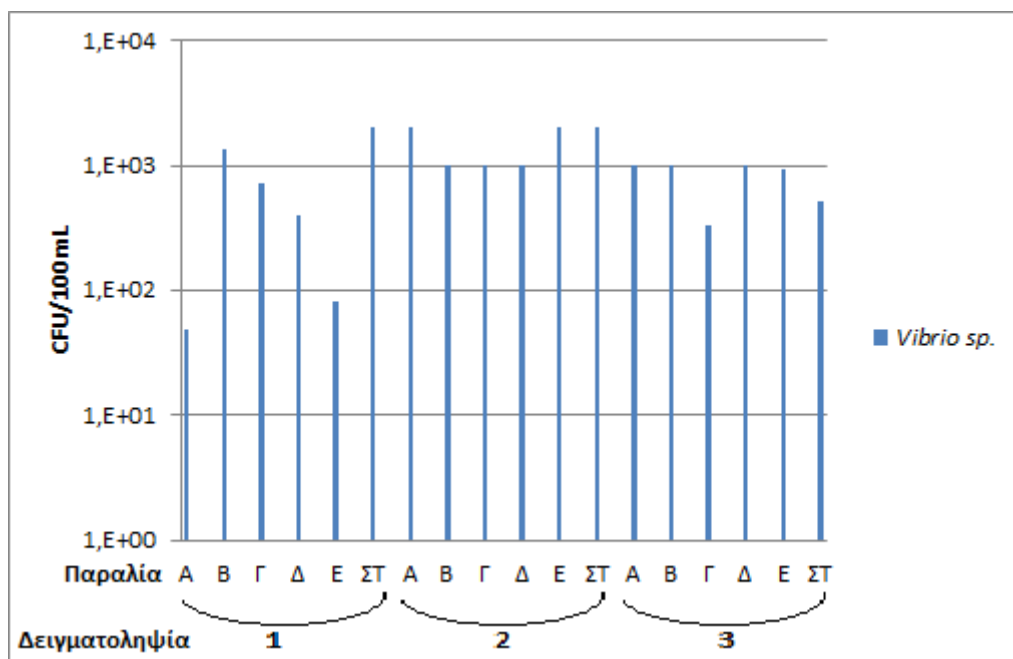
Στις Εικόνες 6.1 – 6.9, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που αφορούν στην παρουσία των μικροοργανισμών για το νερό και την άμμο των υπό εξέταση παραλιών.



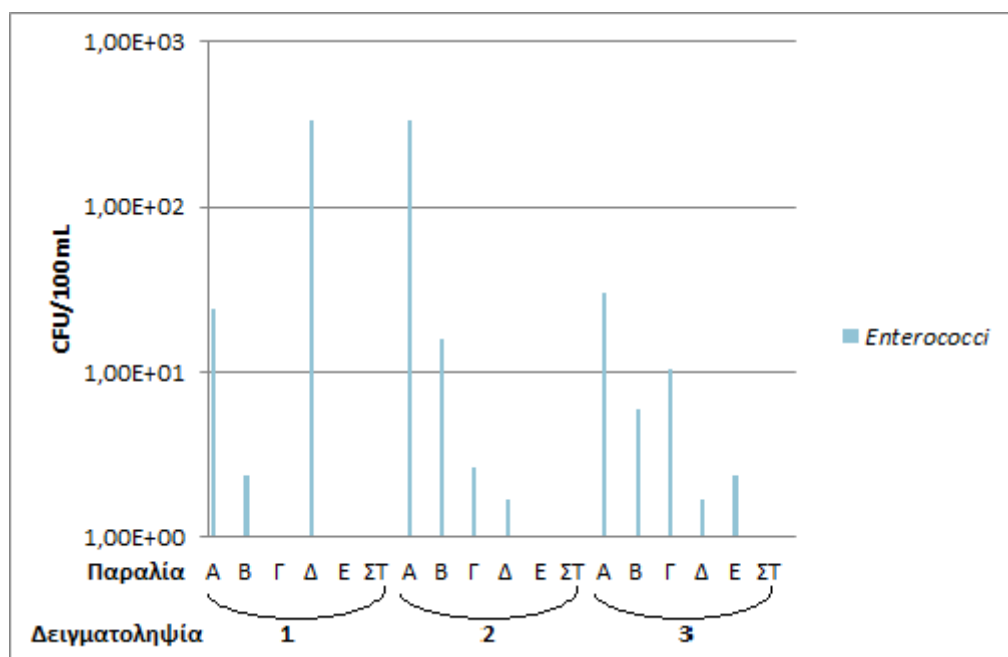
Εικόνα 6.1: Παρουσία *Pseudomonas aeruginosa* στο νερό των υπό εξέταση παραλιών.



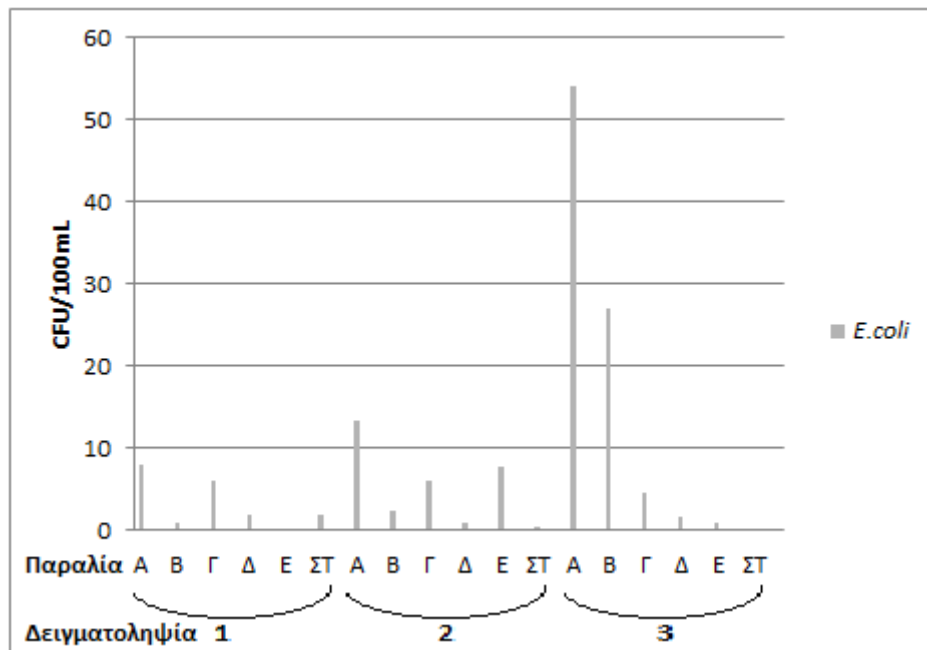
Εικόνα 6.2: Παρουσία *Staphylococcus sp.* στο νερό των υπό εξέταση παραλιών.



Εικόνα 6.3: Παρουσία *Vibrio sp.* στο νερό των υπό εξέταση παραλιών.



Εικόνα 6.4: Παρουσία *Enterococci* στο νερό των υπό εξέταση παραλιών.



Εικόνα6.5: Παρουσία *E. coli* στο νερό των υπό εξέταση παραλιών.

Όπως παρατηρείται στην Εικόνα 6.1, η παρουσία της *Pseudomonas aeruginosa* στο νερό των παραλιών που εξετάστηκαν ήταν από μικρή έως και ανύπαρκτη. Συγκεκριμένα, η μέγιστη τιμή που παρατηρήθηκε ήταν 10 CFU/100mL (Παραλία Γ, Δειγματοληψία 1), ενώ στις περισσότερες εκ των περιπτώσεων υπήρξε πλήρης απουσία του συγκεκριμένου βακτηρίου. Οι περιπτώσεις αυτές είναι οι Παραλίες Α, Δ, Ε για τη Δειγματοληψία 1, οι Παραλίες Β, Δ, Ε, ΣΤ για τη Δειγματοληψία 2 και οι Παραλίες Α,Γ,Δ,ΣΤ για τη Δειγματοληψία 3. Επιπλέον, υπήρχαν και σχεδόν μηδενικές συγκεντρώσεις, συγκεκριμένα στην Παραλία ΣΤ για τη Δειγματοληψία 1 και στην Παραλία Β για τη Δειγματοληψία 3). Τέλος, συγκεντρώσεις μικρότερες της τάξης των 10^1 CFU/100mL παρατηρήθηκαν στις λοιπές περιπτώσεις.

Ο *Staphylococcus sp.* θα μπορούσε να χαρακτηριστεί ως ο πιο σταθερός δείκτης όσον αφορά τη συγκεκριμένη πειραματική διαδικασία της παρούσας διπλωματικής εργασίας, καθώς στην Εικόνα 6.2 παρατηρείται σταθερή συγκέντρωση στα 10^3 CFU/100mL καθ' όλη τη διάρκεια των δειγματοληψιών και για όλες τις παραλίες, πλην της Παραλίας Α στη Δειγματοληψία 2, όπου υπήρξε μία

μείωση στα 667 CFU/100mL. Ο μικροοργανισμός αυτός, λοιπόν, καθίσταται ένας από τους πιο σημαντικούς για το χαρακτηρισμό της ποιότητας των υδάτων των εν λόγω παραλιών, καθώς την καθορίζει σε μεγάλο βαθμό.

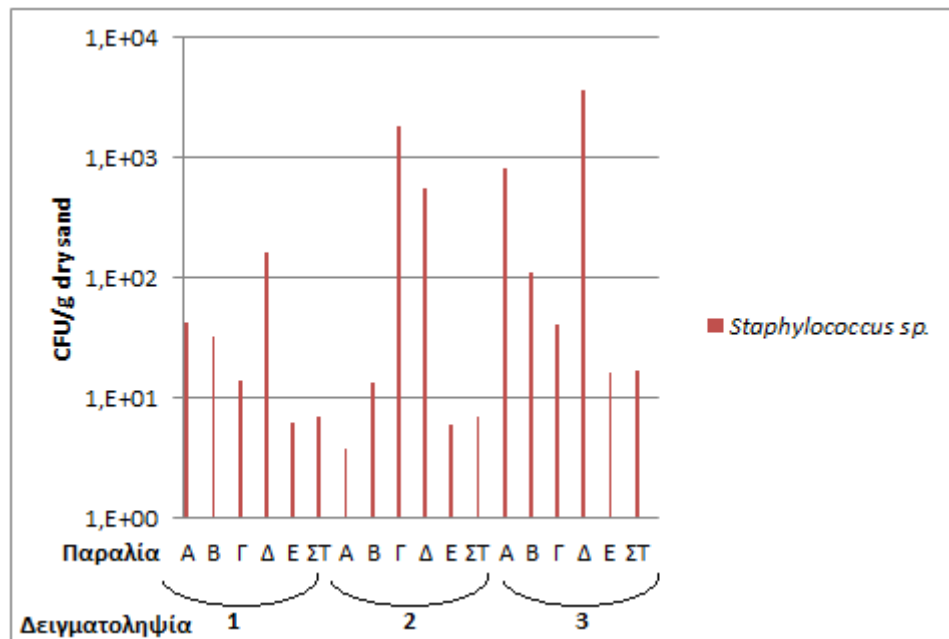
Συχνή παρουσία θα μπορούσε να χαρακτηριστεί και αυτή του *Vibrio sp.*. Όπως φαίνεται στην Εικόνα 6.3, στο νερό, και συγκεκριμένα στις Παραλίες Β και ΣΤ για τη Δειγματοληψία 1, σε όλες τις Παραλίες της Δειγματοληψίας 2, αλλά και στις Παραλίες Α, Β, Δ για τη Δειγματοληψία 3, βρέθηκαν τιμές συγκέντρωσης της τάξεως των 10^3 CFU/100mL. Στα υπόλοιπα δείγματα, οι συγκεντρώσεις έφταναν είτε την τάξη των 10^1 ή 10^2 CFU/100mL.

Όσον αφορά στους δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης, και ξεκινώντας από τους *Enterococci* στην Εικόνα 6.4, παρατηρείται ότι η παρουσία τους δεν είναι τόσο συχνή όσο αυτή των δύο προηγούμενων μικροοργανισμών που παρουσιάστηκαν στις Εικόνες 6.2 και 6.3. Πιο αναλυτικά, οι μεγαλύτερη συγκέντρωση που παρατηρήθηκε είναι τα 334 CFU/100mL στην Παραλία Α για τη Δειγματοληψία 2, ενώ υπήρξαν περιπτώσεις που δεν εντοπίστηκε καθόλου το εν λόγω βακτήριο, και συγκεκριμένα στις Παραλίες Γ, Ε για τη Δειγματοληψία 1, Παραλίες Ε, ΣΤ για τη Δειγματοληψία 2 και Παραλία ΣΤ για τη Δειγματοληψία 3.

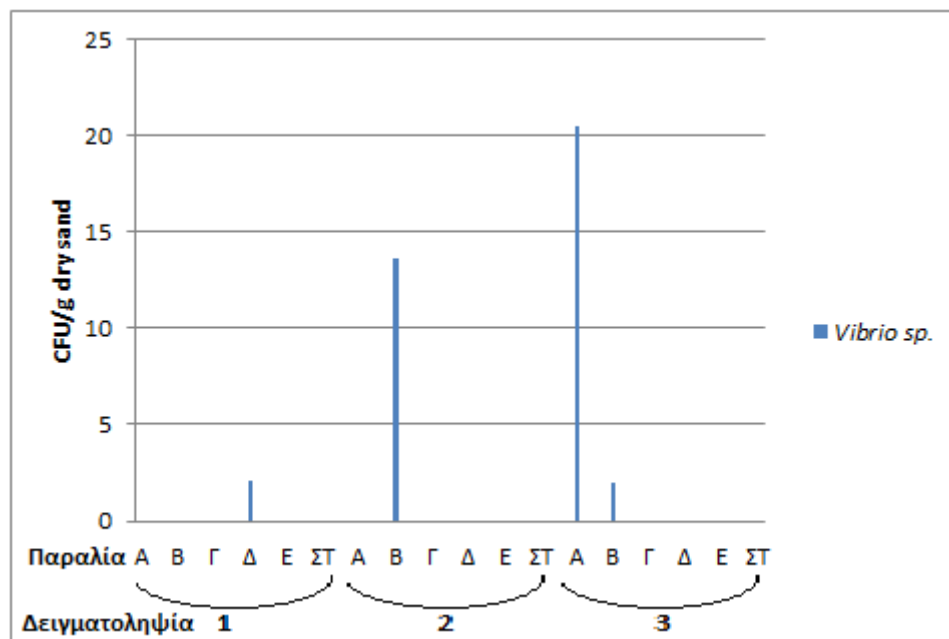
Τέλος, στην Εικόνα 6.5 παρατηρείται μία γενική εικόνα για την παρουσία του *E. coli* στο νερό των παραλιών που εξετάστηκαν. Η μέγιστη συγκέντρωση που παρατηρήθηκε είναι τα 54 CFU/100mL για την Παραλία Α για τη Δειγματοληψία 3, ενώ για τις Παραλίες Β,Ε για τη Δειγματοληψία 1, Παραλίες Δ,ΣΤ για τη Δειγματοληψία 2 και Παραλίες Ε, ΣΤ για τη Δειγματοληψία 3 παρατηρήθηκε μηδαμινή παρουσία ή και πλήρης απουσία του δείκτη αυτού. Κατά τα άλλα, παρατηρήθηκε ότι στις λοιπές μετρήσεις υπάρχουν συγκεντρώσεις μικρότερες της τάξεως των 10^1 CFU/100mL, με εξαίρεση τη μέγιστη συγκέντρωση και την αμέσως επόμενη, που παρατηρήθηκε στην Παραλία Β για τη Δειγματοληψία 3, που έχουν συγκέντρωση της τάξεως αυτής. Ούτε εδώ, λοιπόν, υπάρχει μία τόσο συχνή παρουσία όσο αυτή των *Staphylococcus sp.* (Εικόνα 6.2) και *Vibrio sp.* (Εικόνα 6.3) , ούτε όσο του άλλου δείκτη κοπρανώδους μόλυνσης, δηλ. του *Enterococci* (Εικόνα

6.5.), δεδομένου ότι οι συγκεντρώσεις του *E. coli* φτάνουν μόλις την τάξη των 10^1 CFU/100mL.

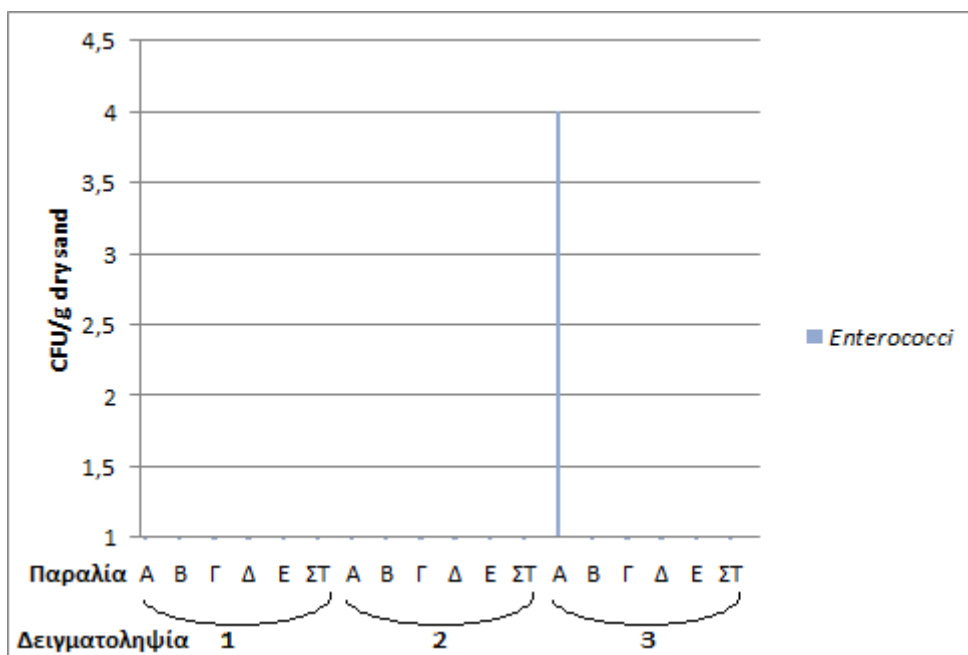
ΑΜΜΟΣ



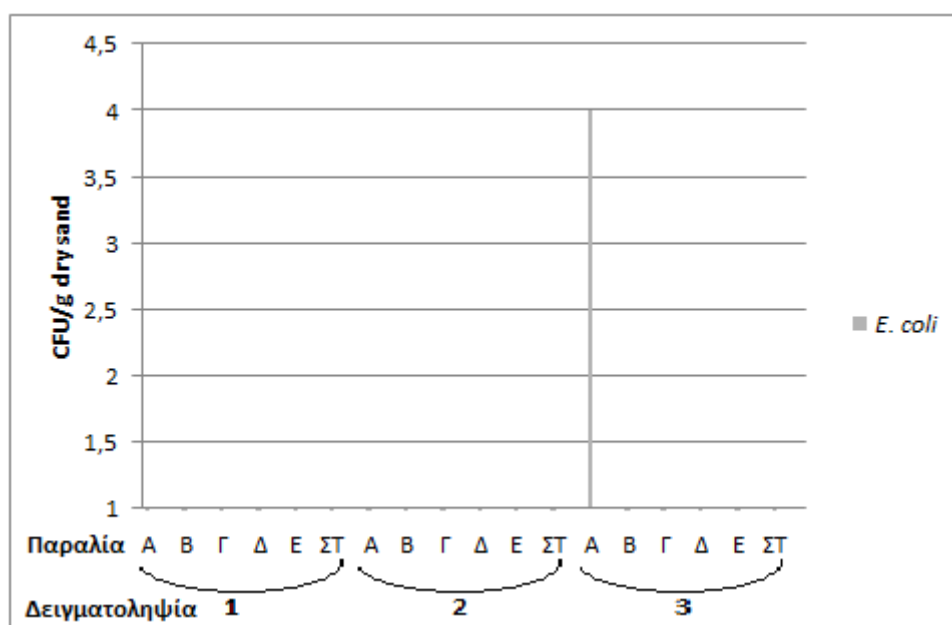
Εικόνα 6.6: Παρουσία *Staphylococcus sp.* στην άμμο των υπό εξέταση παραλιών.



Εικόνα 6.7: Παρουσία *Vibrio sp.* στην άμμο των υπό εξέταση παραλιών.



Εικόνα 6.8: Παρουσία *Enterococci* στην άμμο των υπό εξέταση παραλιών.



Εικόνα 6.9: Παρουσία *E. coli* στην άμμο των υπό εξέταση παραλιών.

Ξεκινώντας με την άμμο, η *Pseudomonas aeruginosa* ήταν πλήρως απύσχα στις μετρήσεις.

Ο *Staphylococcus sp.* κατέχει στην άμμο την πιο συχνή παρουσία, όσον αφορά τις συγκεντρώσεις που παρουσίασε. Όπως φαίνεται και στην Εικόνα 6.6, όλες οι παραλίες που εξετάστηκαν έδωσαν συγκεντρώσεις του εν λόγω βακτηρίου

διάφορες του μηδενός. Η μέγιστη τιμή ανήκει στην Παραλία Δ, η οποία κατά τη Δειγματοληψία 3 παρουσίασε τιμή συγκέντρωσης 3630 CFU/g dry sand, ενώ η ελάχιστη τιμή παρατηρήθηκε στην Παραλία Α κατά τη Δειγματοληψία 2, στα 4 CFU/g dry sand. Οι υπόλοιπες τιμές συγκεντρώσεων κυμάνθηκαν μεταξύ αυτών των δύο τιμών, με τις περισσότερες να βρίσκονται μεταξύ 10^0 και 10^2 CFU/g dry sand – εκτός ελαχίστων εξαιρέσεων.

Στην Εικόνα 6.7 παρουσιάζεται το *Vibrio sp.*. Παρατηρήθηκαν συγκεντρώσεις μικρότερες της τάξεως των 10^1 CFU/g dry sand στην Παραλία Δ κατά τη Δειγματοληψία 1 και στις Παραλίες Α και Β κατά τη Δειγματοληψία 3. Η μόνη περίπτωση κατά την οποία η τιμή της συγκέντρωσης μετρήθηκε πάνω από 10 CFU/g dry sand ήταν αυτή της Παραλίας Β κατά τη Δειγματοληψία 2 και αυτή της Παραλίας Α κατά τη Δειγματοληψία 3. Κατά τα άλλα, το *Vibrio sp.* είναι απόν από τις παραλίες που μελετήθηκαν.

Τέλος, όσον αφορά τους δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης στην άμμο των υπό εξέταση παραλιών, παρουσίασαν τιμή διάφορη του μηδενός μόνο στην Παραλία Α και συγκεκριμένα στη Δειγματοληψία 3, όπως φαίνεται στις Εικόνες 6.8 και 6.9. Η τιμή αυτή ήταν 4 CFU/g dry sand και για το *E. coli* και για τους *Enterococci*.. Κατά τα άλλα, υπήρξε απουσία των δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης από την άμμο.

6.1.1.1. Πληροφορίες και σχόλια για τους μικροοργανισμούς που εντοπίστηκαν

Pseudomonas aeruginosa

Οι μικρές τιμές του εν λόγω βακτηρίου στο νερό, όπως φαίνεται στην Εικόνα 1, και η ανυπαρξία του στην άμμο, μας καθησυχάζουν σε κάποιο βαθμό σχετικά με την ποιότητα του θαλασσινού νερού και της άμμου, καθώς η *Pseudomonas aeruginosa* αποτελεί δείκτη ποιότητας νερού αναψυχής και είναι σημαντικό είδος για τη δημόσια υγεία. Μπορεί να προκαλέσει δερματίτιδες, ωτίτιδες και επιπεφυκίτιδες, ενώ είναι συχνό ευκαιριακό παθογόνο, ειδικά σε ανοσοκατεσταλμένα άτομα. Περισσότερες πληροφορίες για το εν λόγω βακτήριο παρουσιάζονται στο 6.3.1. της παρούσας εργασίας.

Salmonella sp.

Γενικά, η σαλμονέλα θεωρείται ο κύριος παράγοντας του μεγαλύτερου αριθμού εντερικών λοιμώξεων στον πλανήτη. Εκτός από την παρουσία της σε ωμά φαγητά ή έτοιμα προς κατανάλωση προϊόντα, παρουσία της *Salmonella sp.* έχει ταυτοποιηθεί σε θαλάσσια περιβάλλοντα. Η *Salmonella* που εισάγεται στα θαλάσσια περιβάλλοντα μολύνει την πανίδα, ειδικά τα οστρακοειδή και τα μαλάκια, που τρέφονται από τη θαλάσσια μικροχλωρίδα (Martinez-Urtaza et al., 2004). Ο υδροφόρος ορίζοντας μολύνεται όταν υπάρχει ανθυγιεινή αποχέτευση και καταλήγουν σε αυτόν αστικά λύματα μολυσμένα με *Salmonella*, όπως σε λίμνες, ποτάμια, και θάλασσες, με αποτέλεσμα να μολύνονται όχι μόνο τα οστρακοειδή που ζουν σε υδάτινο περιβάλλον, αλλά και τα υδρόβια πτηνά, τα ζώα που πίνουν από αυτό το νερό, καθώς και τα αγροτικά προϊόντα που για το πότισμά τους χρησιμοποιείται αυτό το νερό. Περισσότερες πληροφορίες για τη *Salmonella sp.* και την παθογένειά της παρουσιάζονται στην υποενότητα 6.3.2..

Η Παραλία Α βρίσκεται μέσα στον αστικό ιστό των Χανίων, και συγκεκριμένα σε ένα μέρος όπου υπάρχουν αγωγοί εκβολής λυμάτων και πολλοί χώροι εστίασης όπως εστιατόρια, καφετέριες σε κοντινή απόσταση. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των μετρήσεων που διεξήχθησαν, η παραλία αυτή κατέχει την πιο συχνή εμφάνιση του δείκτη *Salmonella sp.*. Όλα τα παραπάνω ενισχύουν την ανησυχία σχετικά με τη σωστή επεξεργασία και απόρριψη των λυμάτων που προέρχονται από τους χώρους εστίασης αυτής της περιοχής.

Staphylococcus sp.

Γενικότερα, ο *Staphylococcus sp.* παρουσιάζει παθογένεια, οπότε η παρουσία του σε μεγάλες συγκεντρώσεις στο υπό εξέταση νερό είναι άξια ανησυχίας. Το σύνηθες παθογόνο στέλεχος που παρατηρείται, είναι ο *Staphylococcus aureus*, ένας ευκαιριακά παθογόνος μικροοργανισμός που μεταφέρεται από το 20-40% των ανθρώπων. Οι παραλίες έχουν παρουσιαστεί ως μία πιθανή πηγή κοινοτικής κερκτημένης μόλυνσης *S. aureus*, δηλαδή μόλυνσης που μεταδίδεται μεταξύ των ανθρώπων. Συγκεντρώσεις του *S. aureus* και γενικότερα του *Staphylococcus sp.* έχουν συνυφανθεί με γαστρεντερικά προβλήματα και μολύνσεις ματιών, αυτιών, δέρματος μεταξύ των λουόμενων (Goodwin et. al, 2012).

Περισσότερες πληροφορίες για τον εν λόγω μικροοργανισμό υπάρχουν στην υποενότητα 6.3.3..

Βάσει των Εικόνων 6.2 και 6.6, είναι προφανές ότι ο *Staphylococcus sp.* θα πρέπει να αποτελεί κριτήριο ελέγχου ποιότητας τόσο για την άμμο, όσο και για το νερό, καθώς έτσι θα μπορούσαν να συνδεθούν αρκετά κρούσματα ασθενειών με αυτόν (Sabino et al., 2014).

Vibrio sp.

Τα *Vibrio sp.* αποτελούν μία ετερογενή ομάδα της τάξης των γαμμα-πρωτεοβακτηρίων και απαντώνται σε θαλάσσια και παράκτια περιβάλλοντα παγκοσμίως. Αυτός ο τύπος βακτηρίων (*Vibrio sp.*) μπορεί να σχηματίσει βιοφίλμ σε επιφάνειες θαλάσσιων ευκαριωτικών οργανισμών και να συσσωρευτεί σε οργανισμούς όπως μπλε μύδια και στρείδια. Κάποια είδη του μπορεί να είναι παθογόνα για θαλάσσια ασπόνδυλα, ψάρια και θηλαστικά. Τα κύρια είδη που σχετίζονται με γαστρεντερικές ασθένειες, μολύνσεις τραυμάτων και σηψαιμία σε ανθρώπους είναι το *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* και *Vibrio cholerae* – τα οποία εξετάζονται αναλυτικά στην υποενότητα 6.3.4.. Οι επιπτώσεις των μολύνσεων του *Vibrio sp.* μπορούν να αυξηθούν από ανθρωπογενείς αλλαγές στο περιβάλλον, όπως για παράδειγμα η αύξηση των θαλάσσιων δραστηριοτήτων και η υπερθέρμανση του πλανήτη. Αυτή η αύξηση των συνεπειών βρίσκει εφαρμογή περισσότερο στα *Vibrio sp.* που δε σχετίζονται με τη χολέρα, αλλά παρόλα αυτά δεν τίθενται ως προτεραιότητα και δε συμπεριλαμβάνονται σε προγράμματα επιτήρησης. Πιο συγκεκριμένα, η αύξηση των θερμοκρασιών του θαλασσινού νερού υπό μορφή κυμάτων καύσωνα μπορεί να οδηγήσει σε περισσότερα κρούσματα μολύνσεων *Vibrio sp.* που δε σχετίζονται με τη χολέρα, δηλαδή σε μολύνσεις από είδη *Vibrio sp.* εκτός του *Vibrio cholerae*. Έτσι, κρίθηκε σημαντικός ο έλεγχος των εύκρατων υδάτων για τυχόν παθογόνα *Vibrio sp.* (Erler et. al, 2015).

Πράγματι, στις Εικόνες 6.3 και 6.7, βάσει των αποτελεσμάτων σχετικά με το εν λόγω βακτήριο, παρατηρείται ότι επαληθεύονται οι ανησυχίες των επιστημόνων, καθώς – ειδικά στο νερό – βρέθηκαν πολύ υψηλές συγκεντρώσεις *Vibrio sp.*.

Enterococci

Οι *Enterococci* αποτελούν θετικά κατά Gram βακτήρια. Περιλαμβάνουν όλους τους στρεπτόκοκκους που έχουν κοινές βιοχημικές ιδιότητες και μεγάλο εύρος αντοχής και ανοχής σε ποικίλες περιβαλλοντικές συνθήκες. Η ύπαρξή τους στο νερό σημαίνει τη μόλυνσή του από κόπρανα θερμόαιμων ζώων. Από αυτούς, ο *Enterococcus faecalis* και ο *Enterococcus faecium* φαίνεται να προέρχονται κυρίως από τα ανθρώπινα κόπρανα, ενώ οι *Enterococcus bovis*, *Enterococcus equinus* και *Enterococcus avium* υπάρχουν σε μεγάλες πυκνότητες στα κόπρανα ζώων. Τα πλεονεκτήματα χρήσης τους είναι ότι σπανίως αναπτύσσονται στο νερό, είναι περισσότερο ανθεκτικοί σε περιβαλλοντικό στρες και σε μεθόδους απολύμανσης από ό,τι τα κολοβακτηριοειδή και έχουν την τάση να παραμένουν για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα στο περιβάλλον. Αποτελούν χρήσιμους δείκτες για την ποιότητα νερών αναψυχής. Επιπλέον, τα επίπεδα *Enterococci* έχουν συνδεθεί με τα επίπεδα ανθρώπινων παθογόνων στην άμμο των παραλιών (Sabino et al., 2014), κάτι το οποίο είναι καθησυχαστικό για τις παραλίες μας, αφού δεν εντοπίστηκε σχεδόν καθόλου εντερόκοκκος στην άμμο, όπως φαίνεται στην Εικόνα 6.8. Στην υποενότητα 6.1.2. θα εξεταστεί το κατά πόσο το νερό των υπό εξέταση παραλιών είναι «συμμορφωμένο» με τα νομοθετικά όρια που αφορούν στους *Enterococci*.

E. coli

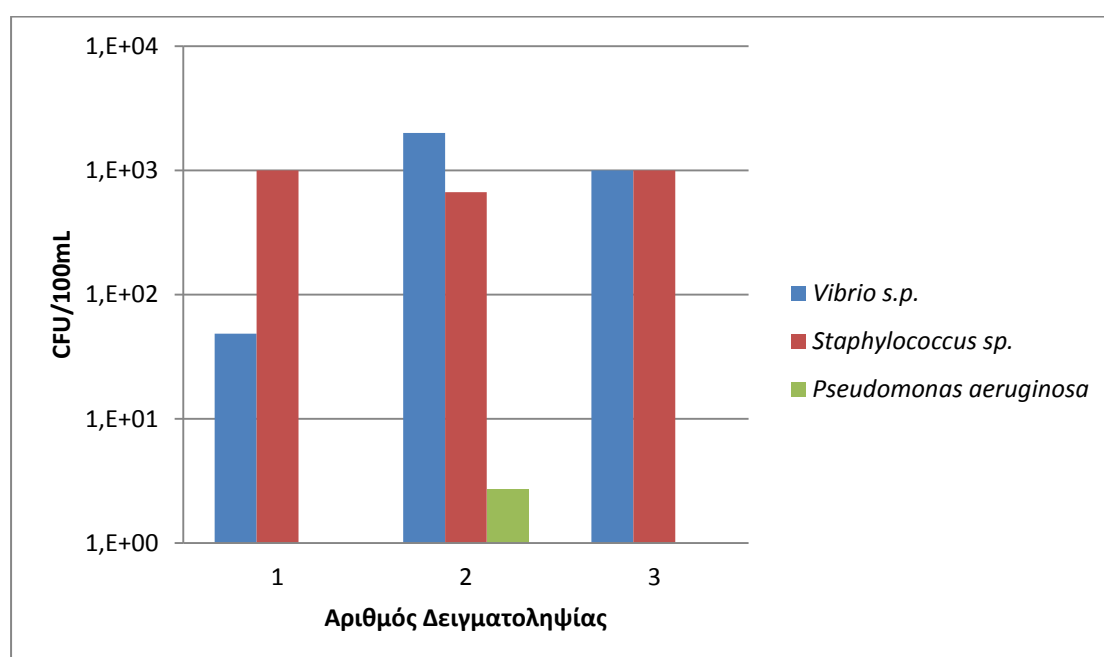
Το *Escherichia coli* συνιστά ένα τυπικό μέλος της ομάδας των Κοπρανωδών Κολοβακτηριοειδών (Faecal coliforms). Τα τελευταία, έχουν προέλευση τον εντερικό σωλήνα ανθρώπων και θερμόαιμων ζώων και υποδεικνύουν μόλυνση κοπρανώδους προέλευσης, κάτι το οποίο σημαίνει κίνδυνο να υπάρχουν και παθογόνοι μικροοργανισμοί. Έχουν την ικανότητα να αναπτύσσονται σε υψηλές θερμοκρασίες. Έχουν ως περιορισμό να αναπτύσσονται στο υδάτινο περιβάλλον, και αυτό μπορεί να εξηγήσει το γεγονός ότι υπήρχε σχεδόν μηδενική παρουσία του *E.coli* στην άμμο, όπως φαίνεται στις Εικόνες 6.5 και 6.9. Στην υποενότητα 6.1.2. θα εξετάσουμε το κατά πόσο το νερό των υπό εξέταση παραλιών μας είναι «συμμορφωμένο» με τα νομοθετικά όρια που αφορούν το *E. coli*.

6.1.2. Συγκεντρώσεις μικροοργανισμών ανά παραλία και σύγκριση με νομοθετικά όρια

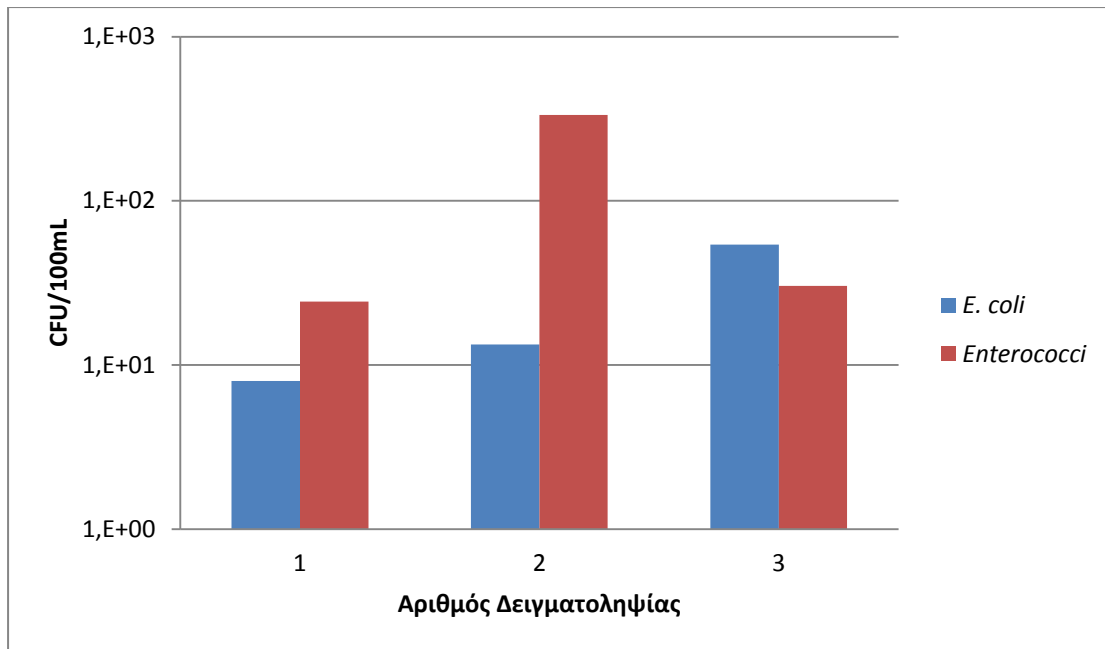
Βάσει της ισχύουσας νομοθεσίας, η οποία αναφέρθηκε στους Πίνακες 1.2 και 1.3 της εργασίας, και βάσει των μετρήσεων της τελευταίας τετραετίας, τα κολυμβητικά ύδατα που μελετήθηκαν έχουν χαρακτηριστεί ως «εξαιρετικής ποιότητας» από την Ειδική Γραμματεία Υδάτων. Θα μελετηθεί, τώρα, βάσει των μετρήσεων, την κατάσταση της κάθε παραλίας που εξετάστηκε.

Στις Εικόνες 6.10 – 6.28 παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις των δεικτών που μελετήθηκαν κατά τις 3 Δειγματοληψίες, ανά παραλία.

NEPO



Εικόνα 6.10: Συμπληρωματικοί δείκτες νερού για την Παραλία Α.

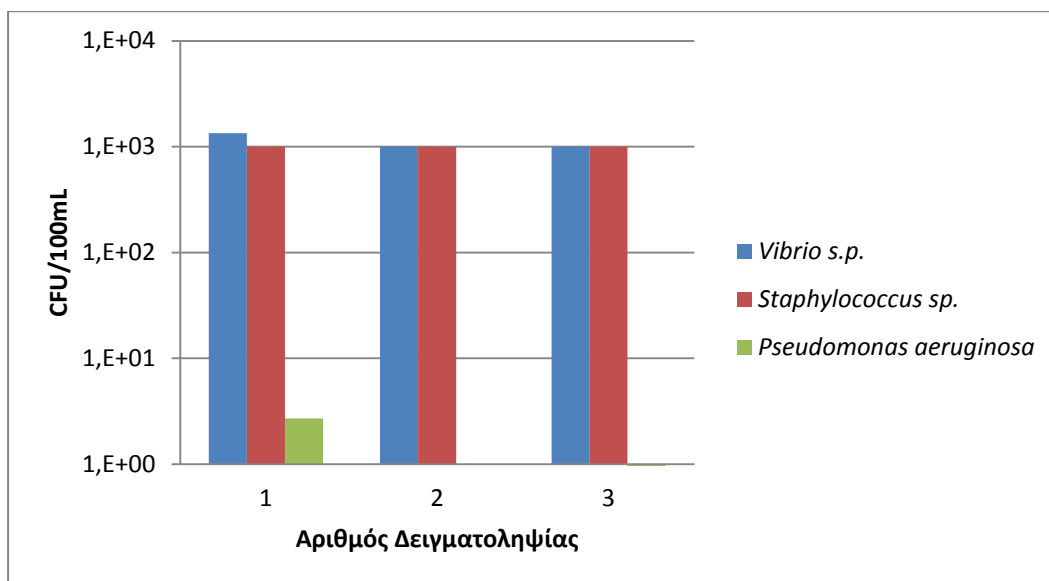


Εικόνα 6.11: Δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης νερού για την Παραλία Α.

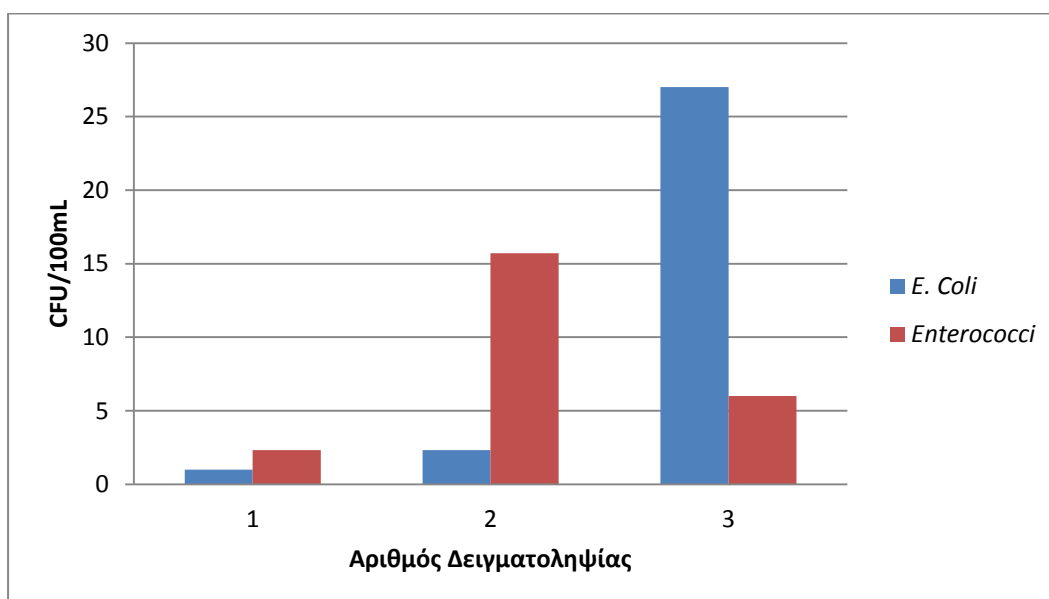
Στην Εικόνα 6.10, παρατηρείται ότι για την Παραλία Α, η μέγιστη συγκέντρωση των συμπληρωματικών δεικτών εντοπίζεται κατά τη Δειγματοληψία 2 και πιο συγκεκριμένα για το *Vibrio sp.* στα 2000 CFU/100mL, ενώ η ελάχιστη εντοπίζεται στις Δειγματοληψίες 1 και 3 για την *Pseudomonas aeruginosa* στα 0 CFU/100mL. Σε υψηλά επίπεδα κυμαίνονται επίσης και οι τιμές των δεικτών *Staphylococcus sp.* και *Vibrio sp.* – με εξαίρεση την πρώτη Δειγματοληψία που υπάρχει αισθητή διαφορά της συγκέντρωσης του τελευταίου με τις πολύ υψηλές τιμές των δειγματοληψιών 2 και 3 -, ενώ η *Pseudomonas aeruginosa* παρουσιάζει τις χαμηλότερες συγκεντρώσεις, με μηδενική συγκέντρωση στις Δειγματοληψίες 1 και 3. Όσον αφορά, λοιπόν, στους συμπληρωματικούς δείκτες, το νερό της Παραλίας Α είναι πιο επιβαρυνμένο κατά τους καλοκαιρινούς μήνες.

Στην Εικόνα 6.11 παρατηρείται ότι το νερό της Παραλίας Α παρουσίασε μέγιστη τιμή συγκέντρωσης για το δείκτη κοπρανώδους μόλυνσης *Enterococci* με 334 CFU/100mL κατά τη Δειγματοληψία 2, ενώ ελάχιστη τιμή συγκέντρωσης είναι αυτή του *E. coli* για τη Δειγματοληψία 1 στα 8 CFU/100mL. Κατά τ' άλλα, οι τιμές των συγκεντρώσεων καθ' όλη τη διάρκεια των δειγματοληψιών παρέμειναν σε επίπεδα της τάξεως των 10^1 CFU/100mL.

Σύμφωνα με την ισχύουσα νομοθεσία όσον αφορά στις τιμές των δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης στην Εικόνα 6.11, αποδεικνύεται ότι όλες οι τιμές βρίσκονται εντός νομοθετικών ορίων όπως αυτά παρουσιάζονται στους Πίνακες 1.2 και 1.3, πλην του *Enterococci*, ο οποίος στη Δειγματοληψία 2 βρέθηκε εκτός ορίων με τιμές μεγαλύτερες από 100, 185, 200 CFU/100mL.



Εικόνα 6.12: Συμπληρωματικοί δείκτες νερού για την Παραλία Β.

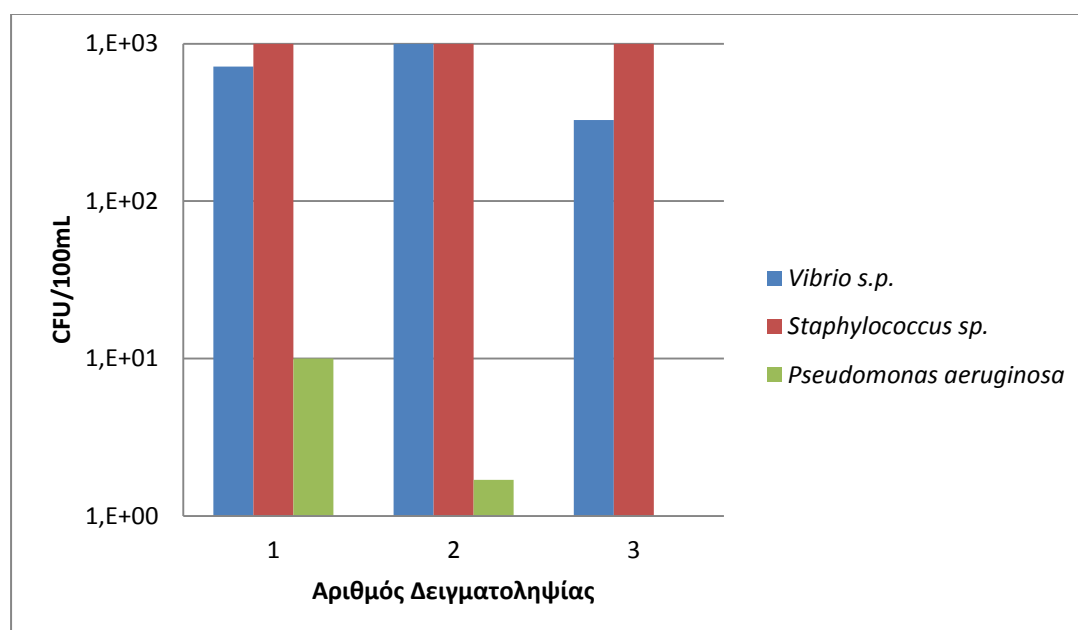


Εικόνα 6.13: Δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης νερού για την Παραλία Β.

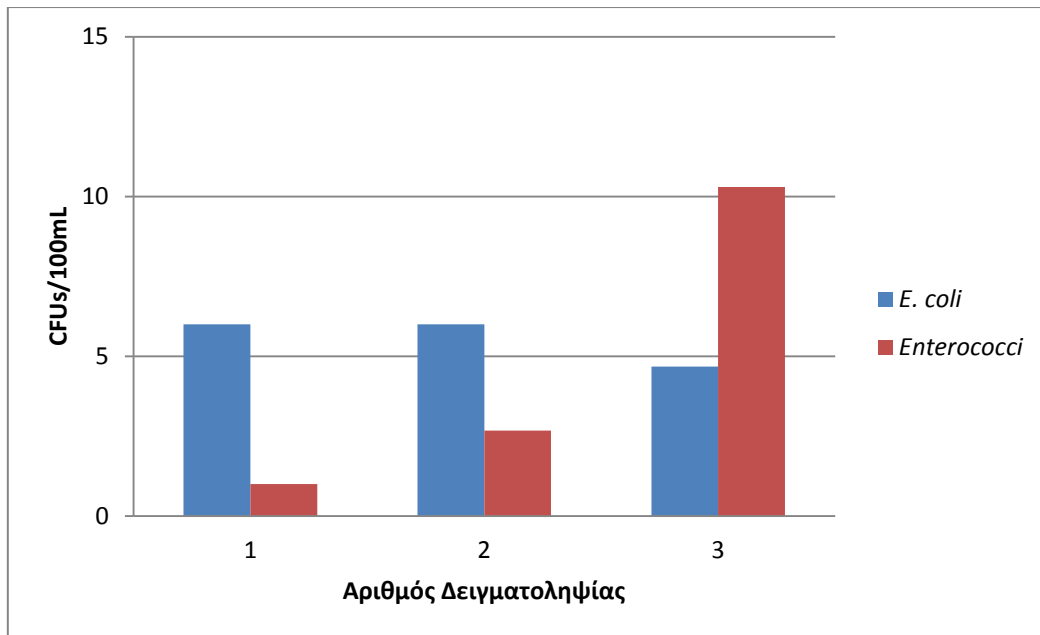
Στην Εικόνα 6.12 παρατηρείται ότι το *Vibrio sp.* παρουσιάζει τη μέγιστή του συγκέντρωση στη Δειγματοληψία 1 στα 1343 CFU/100mL, η οποία είναι και η μέγιστη συγκέντρωση συμπληρωματικού δείκτη που παρατηρείται στην Παραλία Β. Η ελάχιστη συγκέντρωση, δηλαδή 0 CFU/100mL, ανήκει στην *Pseudomonas aeruginosa* για τις Δειγματοληψίες 2 και 3. Συγκεντρώσεις της τάξεως των 10^3 CFU/100mL παρουσιάζονται για τους συμπληρωματικούς δείκτες – με εξαίρεση την *Pseudomonas aeruginosa*, που παρουσιάζει εξαιρετικά χαμηλές συγκεντρώσεις. Γενικά, το νερό της Παραλίας Β είναι πιο επιβαρυνμένο την άνοιξη.

Συνεχίζοντας στην κοπρανώδη μόλυνση και στην Εικόνα 6.13, οι συγκεντρώσεις δεν ξεπερνούν την τάξη των 10^1 CFU/100mL, και πιο συγκεκριμένα τα 27 CFU/100mL, η οποία είναι η μέγιστη τιμή του *Enterococci*, ενώ παρουσιάζουν ελάχιστη τιμή τα 2 CFU/100mL στη Δειγματοληψία 1 και 2, για τους *Enterococci* και το *E. coli* αντίστοιχα.

Από στους Πίνακες 1.2 και 1.3 επιβεβαιώνεται ότι στην περίπτωση της Παραλίας Β, καμία τιμή δείκτη κοπρανώδους μόλυνσης δεν ξεπερνάει αυτές των νομοθετικών ορίων, με τα νερά της να χαρακτηρίζονται ως «εξαιρετικής ποιότητας».



Εικόνα 6.14: Συμπληρωματικοί δείκτες νερού για την Παραλία Γ.

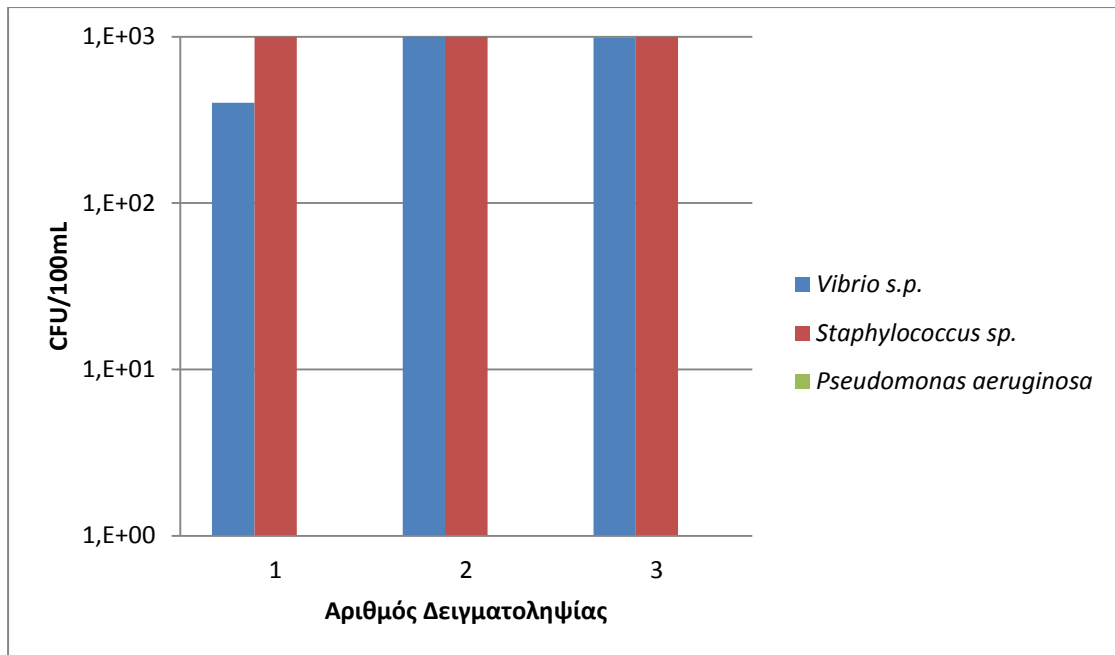


Εικόνα 6.15: Δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης νερού για την Παραλία Γ.

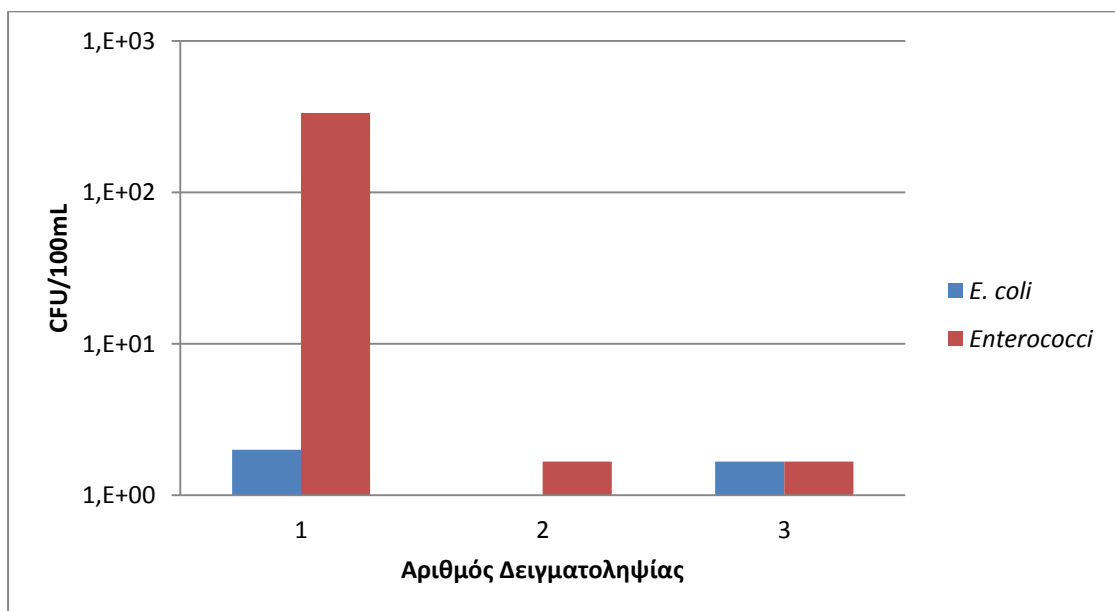
Στην Εικόνα 6.14, όσον αφορά το νερό της Παραλίας Γ η υψηλότερη συγκέντρωση, δηλαδή 10^3 CFU/100mL, ανήκει τόσο στο *Staphylococcus sp.* όσο και στο *Vibrio sp.*, στις Δειγματοληψίες 1, 2, 3 και 2 αντίστοιχα για τον κάθε δείκτη. Η χαμηλότερη συγκέντρωση παρατηρείται στη Δειγματοληψία 3 και ανήκει στην *Pseudomonas aeruginosa* και είναι 0 CFU/100mL. Πιο γενικά, υπάρχουν συγκεντρώσεις της τάξεως των 10^3 CFU/100mL για τους δείκτες *Staphylococcus sp.* και *Vibrio sp.* και της τάξεως των 10^1 CFU/100mL για την *Pseudomonas aeruginosa* και σαν σύνολο, μία αρκετά επιβαρυμένη παραλία, όσον αφορά το νερό.

Για την κοπρανώδη μόλυνση, στην Εικόνα 6.15 υπάρχει απουσία *Enterococci* κατά τη Δειγματοληψία 1, ενώ μέγιστη τιμή παρουσιάζουν πάλι οι *Enterococci* με 10 CFU/100mL στη Δειγματοληψία 3. Οι υπόλοιπες τιμές συγκεντρώσεων δεν ξεπερνούν την τάξη του 10^1 CFU/100mL.

Έπειτα από σύγκριση των συγκεντρώσεων που βρέθηκαν για το *E.coli* και τους *Enterococci* στην Εικόνα 6.15 με τους Πίνακες 1.2 και 1.3, αποδεικνύεται ότι η Παραλία Γ βρίσκεται εντός ορίων νομοθεσίας και τα νερά είναι «εξαιρετικής ποιότητας», όσον αφορά στην κοπρανώδη μόλυνση.



Εικόνα 6.16: Συμπληρωματικοί δείκτες νερού για την Παραλία Δ.

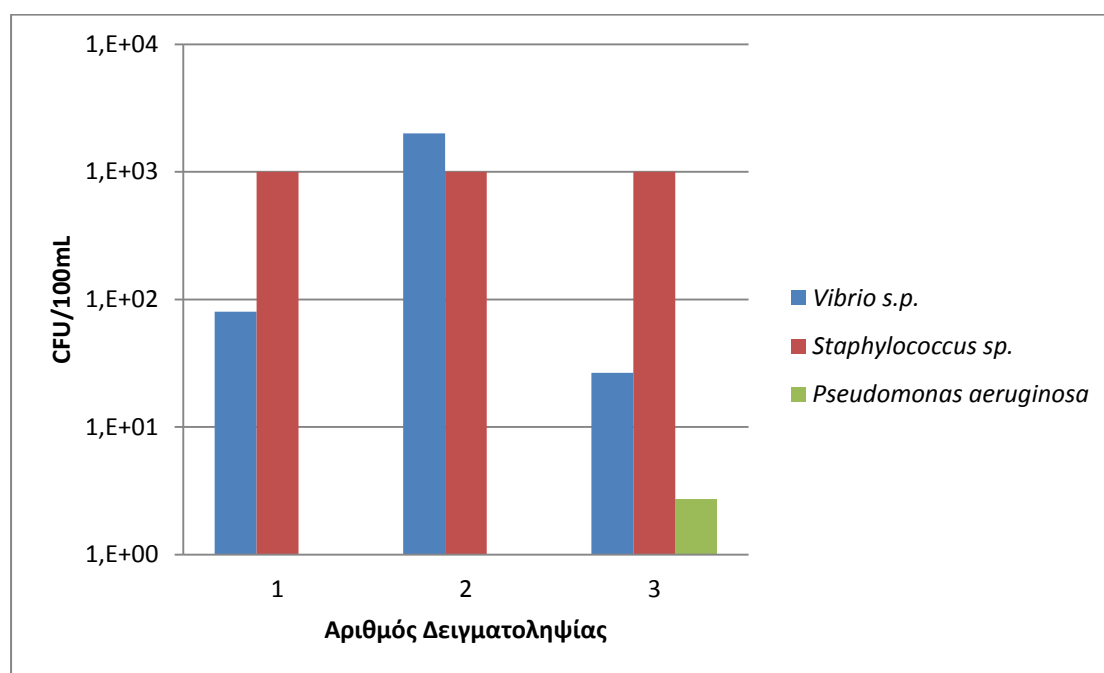


Εικόνα 6.17: Δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης νερού για την Παραλία Δ.

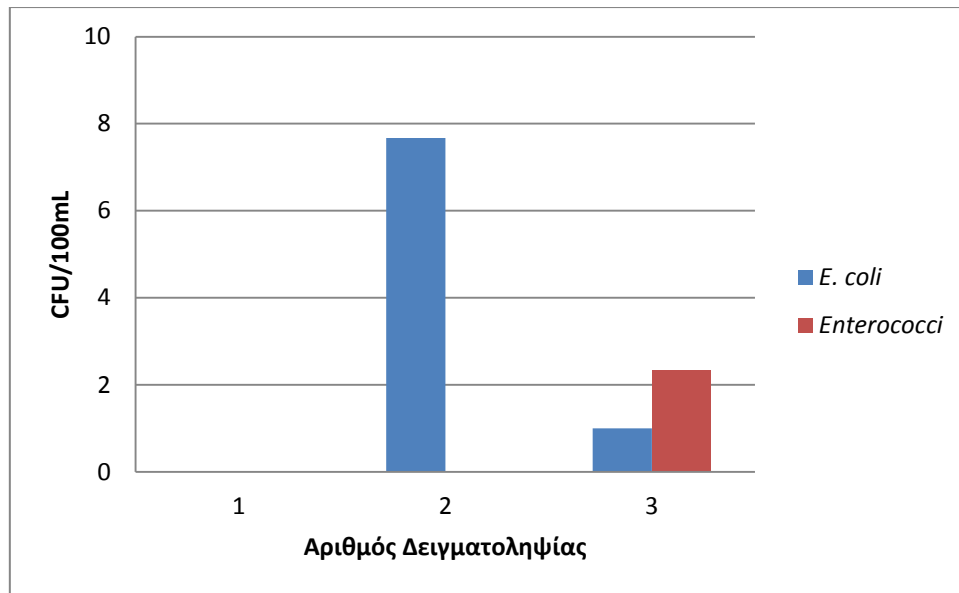
Στο νερό της Παραλίας Δ, παρατηρείται πλήρης απουσία της *Pseudomonas aeruginosa*, και μία σχετικά σταθερή κατάσταση όσον αφορά το *Staphylococcus sp.* και το *Vibrio sp.*, με τη μέγιστη συγκέντρωσή τους να βρίσκεται στα 10^3 CFU/100mL και να διατηρείται σταθερή και στις τρεις Δειγματοληψίες, με εξαίρεση την πρώτη Δειγματοληψία κατά την οποία το *Vibrio sp.* παρουσίασε ελαφρώς πιο χαμηλή τιμή (401 CFU/100mL). Τα παραπάνω παρουσιάζονται στην Εικόνα 6.16.

Προχωρώντας στην κοπρανώδη μόλυνση και στην Εικόνα 6.17, διαπιστώνεται μία μέγιστη τιμή συγκέντρωσης 333 CFU/100mL, η οποία ανήκει στους *Enterococci* που εντοπίστηκαν κατά τη Δειγματοληψία 1. Η ελάχιστη συγκέντρωση παρατηρείται στη Δειγματοληψία 2, όπου ο δείκτης *E. coli* παρουσιάζει 0 CFU/100mL. Οι λοιπές συγκεντρώσεις είναι εξαιρετικά χαμηλές, καθώς δεν αγγίζουν ούτε την τάξη του 10^1 CFU/100mL.

Σύμφωνα με τους Πίνακες 1.2 και 1.3 για την ισχύουσα νομοθεσία και την Εικόνα 6.17, παρατηρείται ότι στη Δειγματοληψία 1 της Παραλίας Δ, οι *Enterococci* βγαίνουν εκτός ορίων, δηλαδή οι τιμές είναι μεγαλύτερες από 100, 185, 200 CFU/100mL. Κατά τα άλλα, οι δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης κινούνται εντός ορίων.



Εικόνα 6.18: Συμπληρωματικοί δείκτες νερού για την Παραλία Ε.

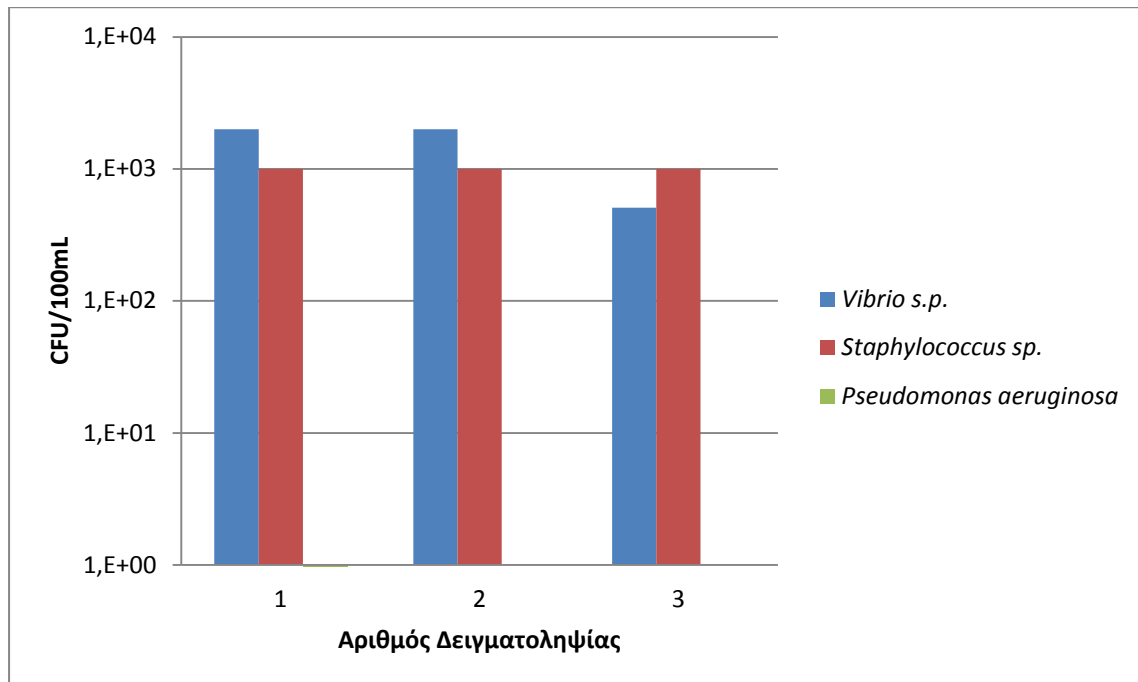


Εικόνα 6.19: Δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης νερού για την Παραλία Ε.

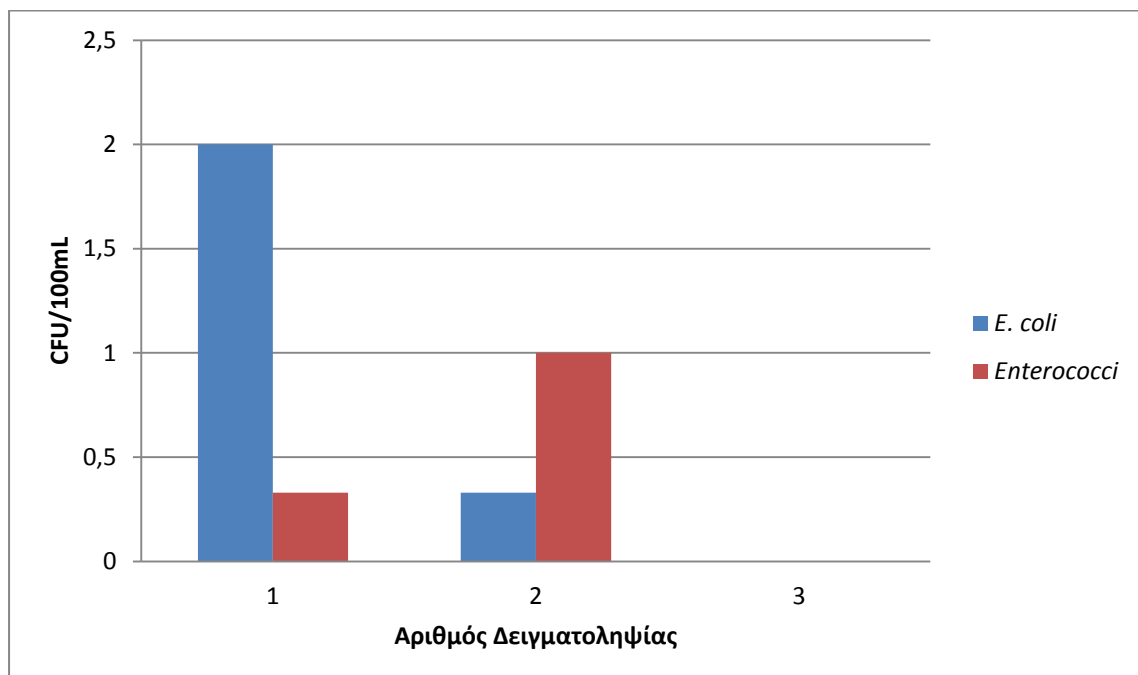
Στην Εικόνα 6.18 παρουσιάζεται η εικόνα των συγκεντρώσεων για το νερό της Παραλίας Ε. Συγκεκριμένα, το νερό της Παραλίας Ε παρουσίασε τη μέγιστη συγκέντρωση μικροβιακού φορτίου κατά τη Δειγματοληψία 2, και συγκεκριμένα 2000 CFU/100mL για το δείκτη *Vibrio sp.*. Η ελάχιστη συγκέντρωση ανήκει στην *Pseudomonas aeruginosa*, με 0 CFU/100mL στις Δειγματοληψίες 1 και 2. Κατά τα άλλα, ο *Staphylococcus sp.* παρουσίασε σταθερή τιμή στα 10^3 CFU/100mL, το *Vibrio sp.* κυμάνθηκε σε συγκεντρώσεις της τάξεως των 10^1 CFU/100mL, πλην της μέγιστης τιμής, και η *Pseudomonas aeruginosa* παρουσίασε πολύ μικρή συγκέντρωση στη Δειγματοληψία 3.

Στην Εικόνα 6.19, παρατηρείται ότι για την Παραλία Ε η μέγιστη συγκέντρωση παρουσιάζεται για το δείκτη *E. coli* και έχει τιμή 8 CFU/100mL, ενώ υπάρχει απουσία και των δύο δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης κατά τη Δειγματοληψία 1, *Enterococci* στη Δειγματοληψία 2 και *E. coli* στη Δειγματοληψία 3, κάνοντας τη μηδενική τους συγκέντρωση την ελάχιστη που παρατηρήθηκε. Κατά τα άλλα, υπάρχει και συγκέντρωση των *Enterococci* στη Δειγματοληψία 3 στα 3 CFU/100mL.

Βάσει της ισχύουσας νομοθεσίας που παρουσιάζεται στους Πίνακες 1.2 και 1.3 και την Εικόνα 6.19, τα νερά της Παραλίας Ε χαρακτηρίζονται ως «εξαιρετικής ποιότητας» ως προς τους δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης, που κινούνται εντός ορίων.



Εικόνα 6.20: Συμπληρωματικοί δείκτες νερού για την Παραλία ΣΤ.



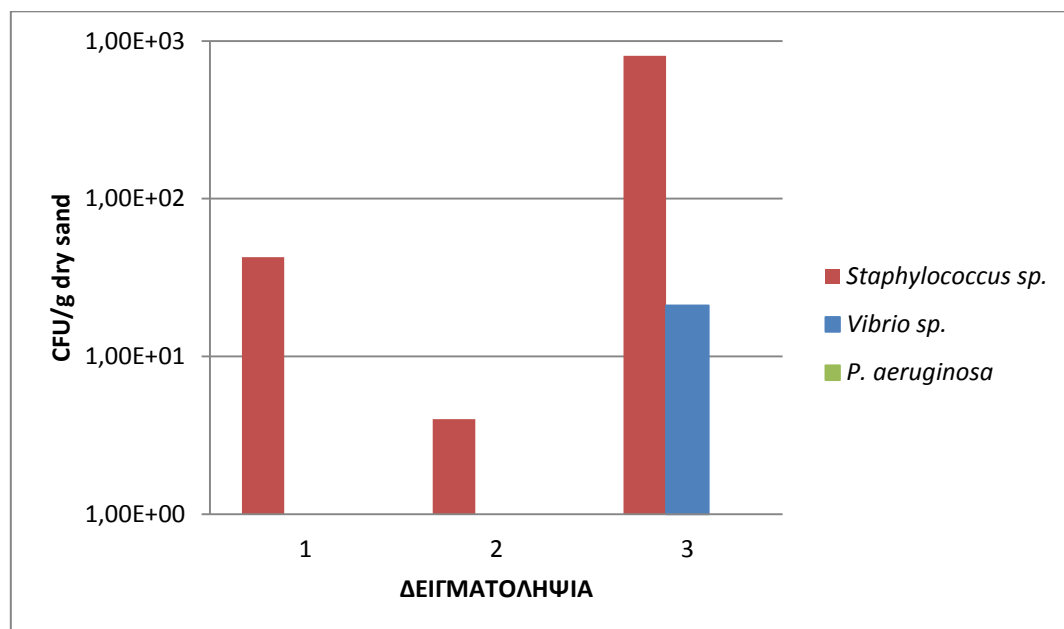
Εικόνα 6.21: Δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης νερού για την Παραλία ΣΤ.

Στην Εικόνα 6.20 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα για το νερό της Παραλίας ΣΤ. Συγκεκριμένα, παρατηρείται μέγιστη συγκέντρωση μικροβιακού φορτίου στις Δειγματοληψίες 1 και 2, με το *Vibrio sp.* να φτάνει τα 2000 CFU/100mL. Για ακόμα μία φορά, η ελάχιστη συγκέντρωση ανήκει στην *Pseudomonas aeruginosa*, η οποία δεν εντοπίστηκε σε καμία Δειγματοληψία, ενώ ο *Staphylococcus sp.* παρέμεινε σταθερός στα 10^3 CFU/100mL. Τέλος, το *Vibrio sp.* παρουσίασε μείωση στη Δειγματοληψία 3, αφού έπεσε σε συγκέντρωση της τάξης των 10^2 CFU/100mL.

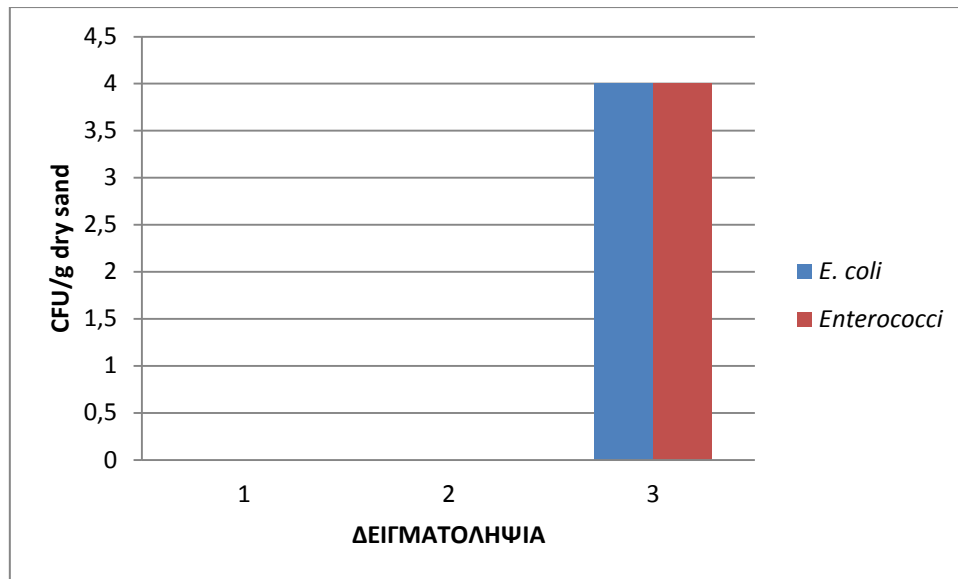
Στην Εικόνα 6.21, για την κοπρανώδη μόλυνση διαπιστώνεται ότι τη μέγιστη συγκέντρωση κατέχει το *E. coli* στη Δειγματοληψία 1, με τιμή 2 CFU/100mL. Κατά τα άλλα, παρατηρείται απουσία των δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης

Η Παραλία ΣΤ είναι «συμμορφωμένη» με τα νομοθετικά όρια που αναφέρονται στους Πίνακες 1.2, 1.3, καθώς οι τιμές των δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης δεν ξεφεύγουν από αυτά, όπως φαίνεται από την Εικόνα 6.21, και τα νερά της χαρακτηρίζονται ως «εξαιρετικής ποιότητας».

ΑΜΜΟΣ



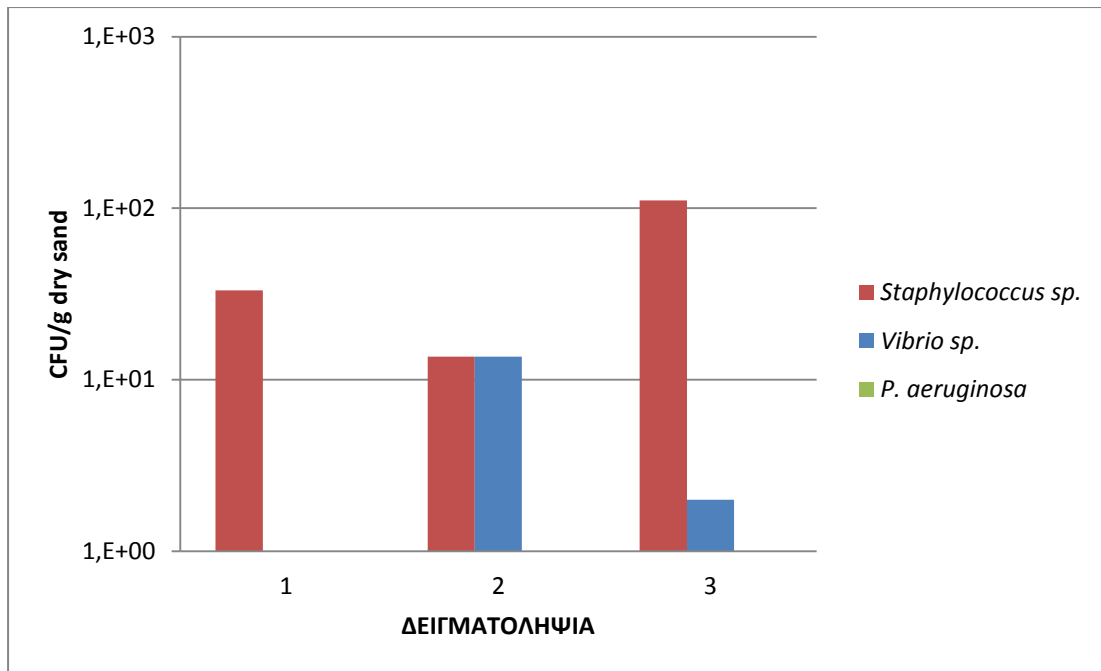
Εικόνα 6.22: Συμπληρωματικοί δείκτες άμμου για την Παραλία Α.



Εικόνα 6.23: Δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης άμμου για την Παραλία Α.

Στην Εικόνα 6.22, παρατηρείται ότι για την Παραλία Α, η μέγιστη συγκέντρωση των συμπληρωματικών δεικτών στην άμμο εντοπίζεται κατά τη Δειγματοληψία 3 και πιο συγκεκριμένα για το *Staphylococcus sp.* στα 805 CFU/g dry sand, ενώ η ελάχιστη εντοπίζεται για την *Pseudomonas aeruginosa*, η οποία είναι απύσχα, δηλαδή 0 CFU/g dry sand. Κατά τα άλλα, δεν υπάρχουν υψηλές συγκεντρώσεις των *Staphylococcus sp.* και *Vibrio sp.*. Όσον αφορά, λοιπόν, τους συμπληρωματικούς δείκτες, η άμμος της Παραλίας Α είναι πιο επιβαρυνμένη κατά τους φθινοπωρινούς μήνες.

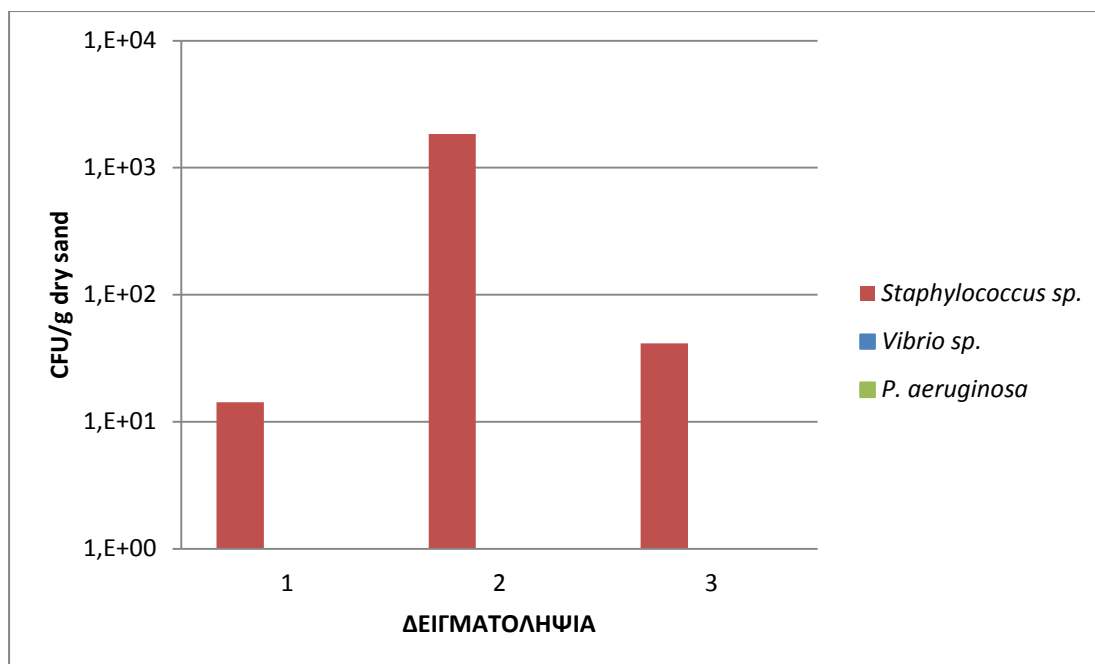
Δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης για την άμμο παρατηρήθηκαν μόνο κατά τη Δειγματοληψία 3 και μόνο για την Παραλία Α, όπως φαίνεται στην Εικόνα 6.23. Οι τιμές που παρουσιάστηκαν είναι ίσες για το *E. coli* και τους *Enterococci* στα 4 CFU/g dry sand. Δεν υπάρχει, λοιπόν, επιβάρυνση από κοπρανώδη μόλυνση της άμμου της Παραλίας Α.



Εικόνα 6.24: Συμπληρωματικοί δείκτες άμμου για την Παραλία Β.

Όσον αφορά την Παραλία Β, παρατηρώντας την Εικόνα 6.24, η μέγιστη τιμή είναι και πάλι αυτή του *Staphylococcus sp.* της Δειγματοληψίας 3, δηλαδή 111 CFU/g dry sand, ενώ η ελάχιστη ανήκει στην *Pseudomonas aeruginosa*, με μηδενική συγκέντρωση στη Δειγματοληψία 1. Κατά τα άλλα, οι συγκεντρώσεις των συμπληρωματικών δεικτών που μετρήθηκαν για την Παραλία Β δε φτάνουν ούτε τα 10^2 CFU/g dry sand. Η μεγαλύτερη επιβάρυνση για την άμμο της Παραλίας Β, λοιπόν, εντοπίζεται κατά το φθινόπωρο.

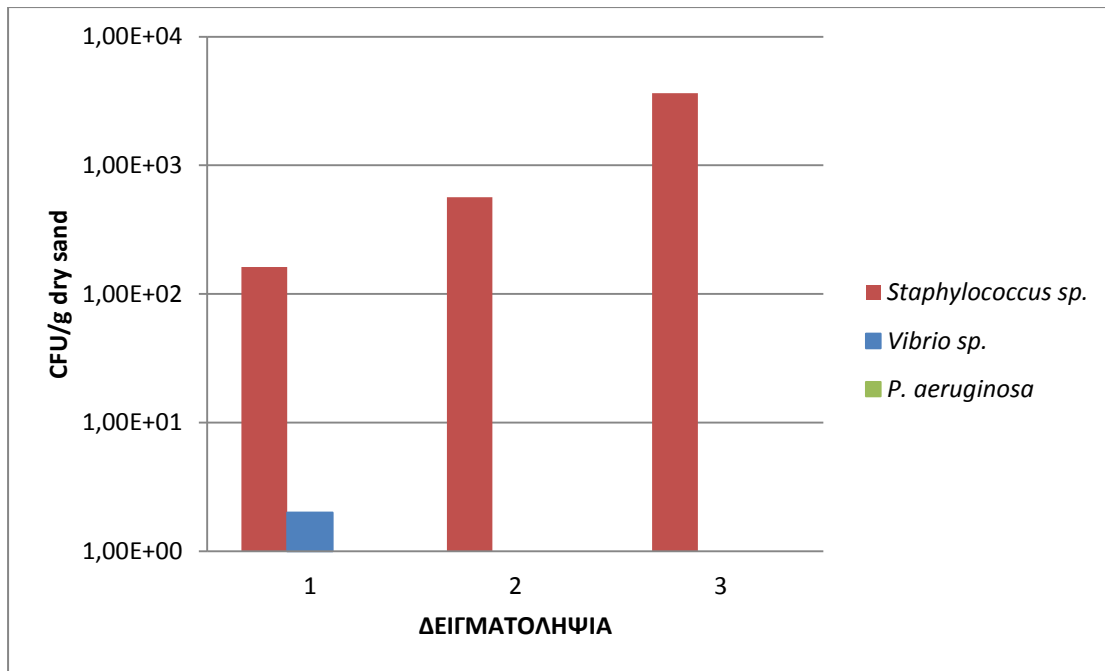
Η κοπρανώδης μόλυνση της άμμου για την Παραλία Β είναι μηδενική.



Εικόνα 6.25: Συμπληρωματικοί δείκτες άμμου για την Παραλία Γ.

Ο μοναδικός συμπληρωματικός δείκτης που παρουσίασε μη μηδενικές συγκεντρώσεις στην άμμο της Παραλίας Γ είναι ο *Staphylococcus sp.*, όπως φαίνεται από την Εικόνα 6.25. Η μέγιστη τιμή του, μάλιστα, είναι στα 1842 CFU/g dry sand. Κατά τα άλλα, παρουσίασε τιμές μικρότερες της τάξεως των 10^2 CFU/g dry sand, γεγονός το οποίο κάνει την άμμο της Παραλίας Γ πιο βεβαρυμμένη κατά τη Δειγματοληψία 2.

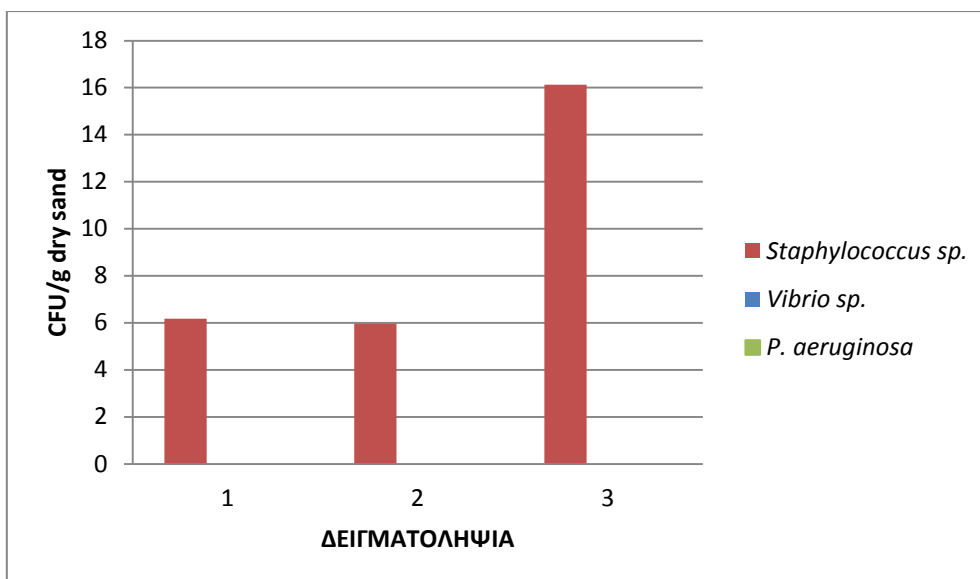
Η κοπρανώδης μόλυνση της άμμου για την Παραλία Γ είναι μηδενική.



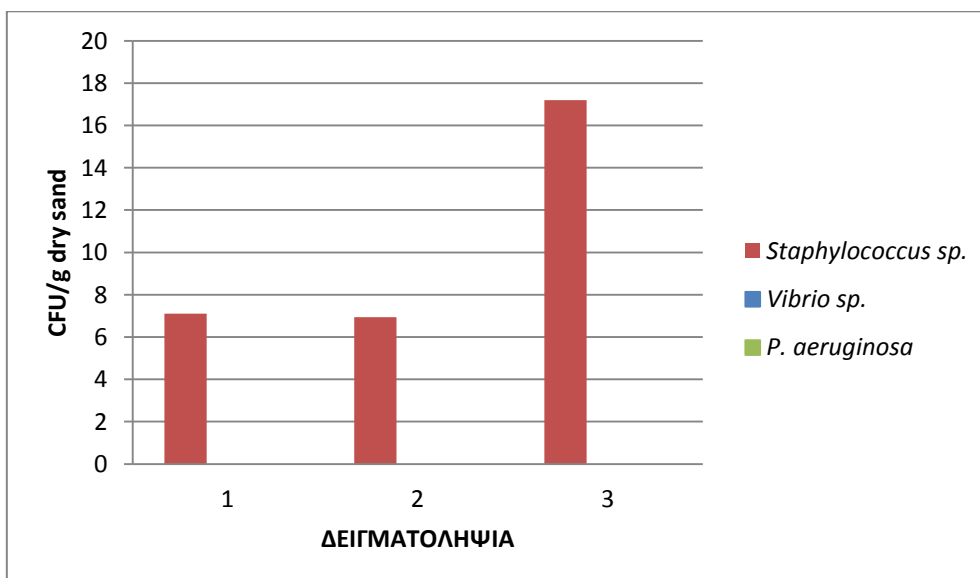
Εικόνα 6.26: Συμπληρωματικοί δείκτες άμμου για την Παραλία Δ.

Στην Παραλία Δ, η μέγιστη τιμή που παρατηρείται από την Εικόνα 6.26. ανήκει και πάλι στον *Staphylococcus sp.* και είναι 3630 CFU/g dry sand, ενώ μηδενικές συγκεντρώσεις παρουσιάζουν τόσο η *Pseudomonas aeruginosa*, όσο και το *Vibrio sp.* για τις Δειγματοληψίες 2 και 3. Το *Vibrio sp.* παρουσιάζει μία μικρή τιμή στην Δειγματοληψία 1, ενώ ο *Staphylococcus sp.* είναι παρών και στις 3 Δειγματοληψίες, με τιμές μεταξύ $10^2 - 10^3$ CFU/g dry sand, πλην της μέγιστης. Η άμμος, λοιπόν, παρουσιάζεται πιο επιβαρυνμένη κατά το φθινόπωρο όσον αφορά την Παραλία Δ.

Η κοπρανώδης μόλυνση της άμμου για την Παραλία Δ είναι μηδενική.



Εικόνα 6.27: Συμπληρωματικοί δείκτες άμμου για την Παραλία Ε.



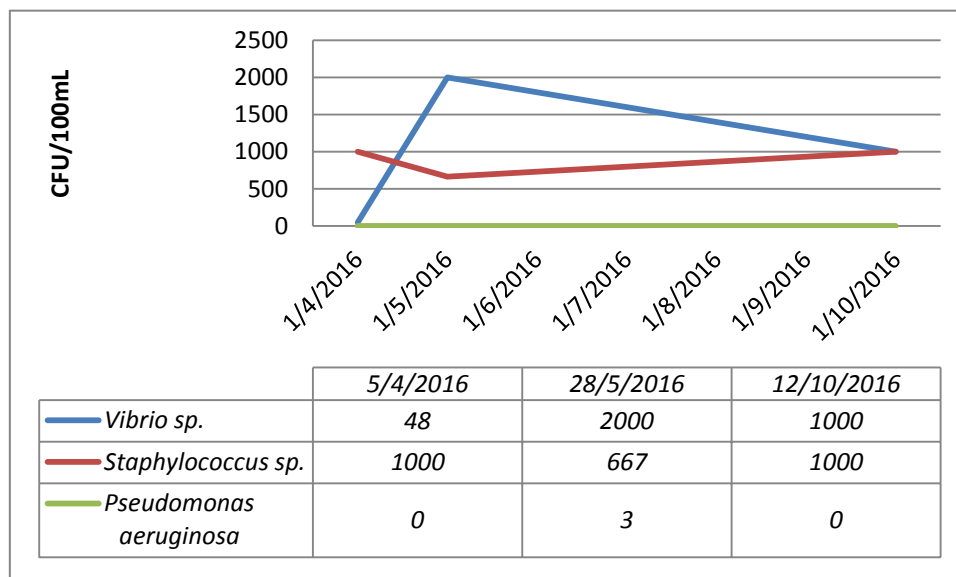
Εικόνα 6.28: Συμπληρωματικοί δείκτες άμμου για την Παραλία ΣΤ.

Στις Παραλίες Ε και ΣΤ, παρουσιάζονται μόνο τιμές του *Staphylococcus sp.*. Πιο συγκεκριμένα και με βάση τις Εικόνες 6.27 και 6.28, υπάρχει πλήρης απουσία των *Vibrio sp.* και *Pseudomonas aeruginosa* από την άμμο των συγκεκριμένων παραλιών, και οι μέγιστες τιμές του *Staphylococcus sp.* παρατηρούνται κατά το φθινόπωρο και είναι 16 και 17 CFU/g dry sand αντίστοιχα για την Παραλία Ε και ΣΤ. Οι υπόλοιπες τιμές του εν λόγω δείκτη δεν ξεπερνούν τα 7 CFU/g dry sand.

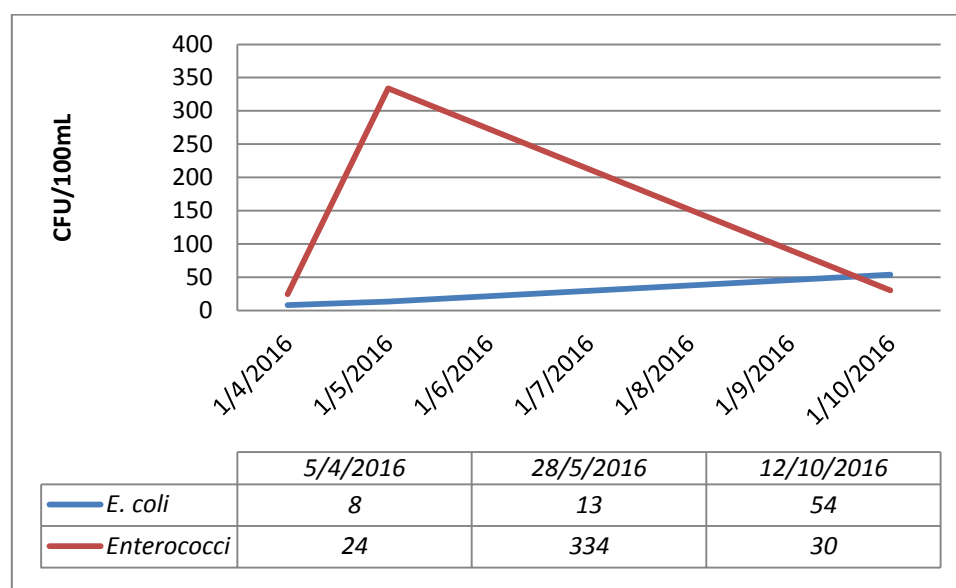
Η κοπρανώδης μόλυνση της άμμου για την Παραλίες Ε και ΣΤ είναι μηδενική.

Στις Εικόνες 6.29 – 6.47 παρουσιάζεται η εποχική διακύμανση των δεικτών που μελετήθηκαν, ανά παραλία.

NEPO



Εικόνα 6.29: Εποχική διακύμανση συμπληρωματικών δεικτών για την Παραλία Α.

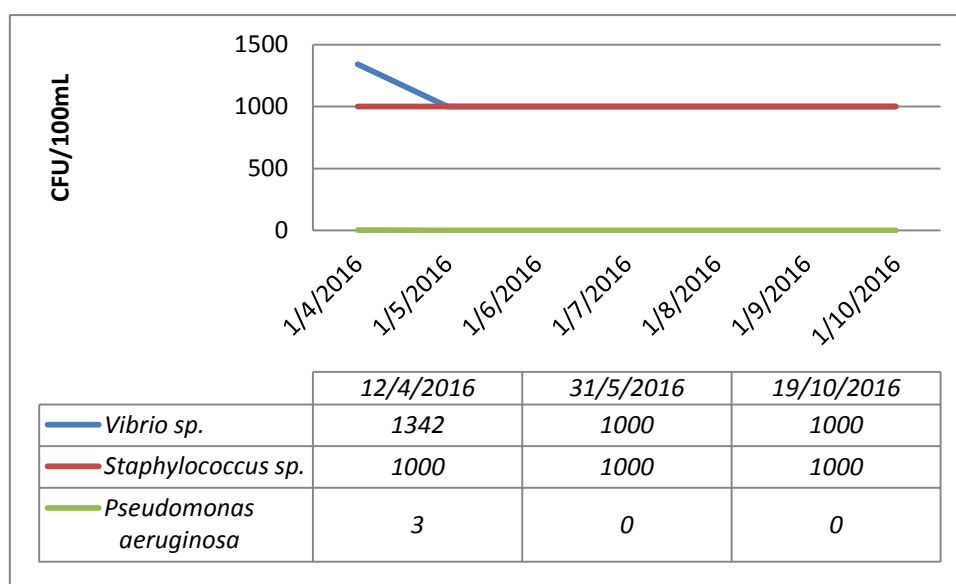


Εικόνα 6.30: Εποχική διακύμανση δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης νερού για την Παραλία Α.

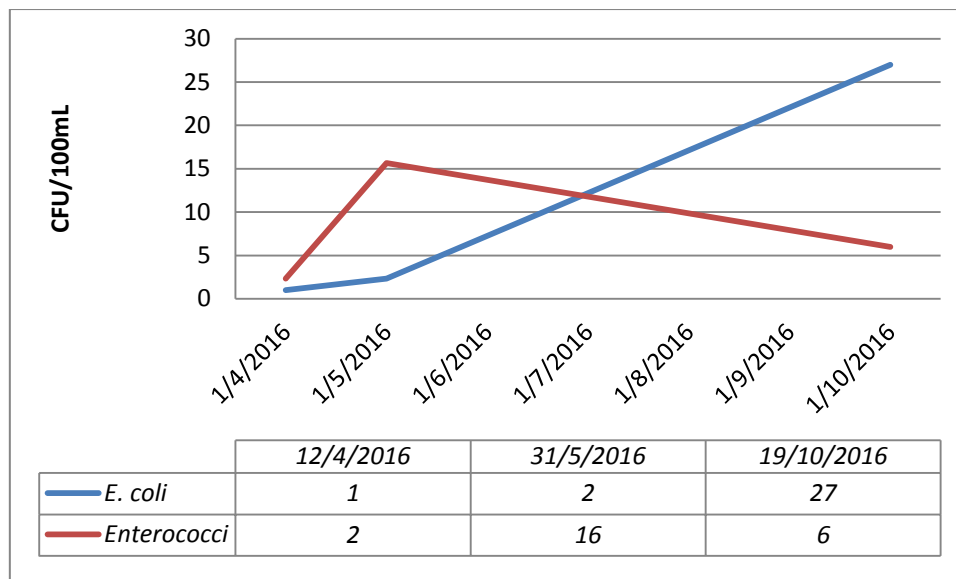
Όσον αφορά στην εποχική διακύμανση, για την *Pseudomonas aeruginosa* στην Εικόνα 6.29 φαίνεται ότι παρατηρήθηκαν αποικίες μόνο κατά τη

Δειγματοληψία 2, η οποία ανήκει στην καλοκαιρινή εποχή, και έπειτα υπήρξε μία απότομη μείωση στο 0 CFU/100mL. Ο *Staphylococcus sp.* παρουσίασε εποχική διακύμανση, με τη συγκέντρωση να μειώνεται προς τη θερινή περίοδο και παρουσιάζει αύξηση κατά τους θερινούς μήνες και προς τη φθινοπωρινή περίοδο, όπου επανέρχεται στην αρχική της τιμή. Το *Vibrio sp.* παρουσίασε ελάχιστη τιμή συγκέντρωσης κατά την ανοιξιάτικη περίοδο, μία αύξηση μέχρι και την αρχή του καλοκαιριού, και μέχρις ότου έρθει το φθινόπωρο, παρουσίασε μείωση. Ενώ, λοιπόν, υπάρχει μείωση των συγκεντρώσεων του *Vibrio sp.*, ταυτόχρονα υπάρχει αύξηση της συγκέντρωσης του *Staphylococcus sp.*.

Όσον αφορά στην εποχική διακύμανση των δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης, στην Εικόνα 6.30 παρατηρείται σταδιακή αύξηση της συγκέντρωσης του *E. coli* από την άνοιξη έως και το φθινόπωρο από τα 8 CFU/100mL στα 54 CFU/100mL, και αύξηση των *Enterococci* από την άνοιξη με τιμή 24 CFU/100mL στο καλοκαίρι με 334 CFU/100mL. Τέλος, και σε αντίθεση με το *E. coli*, οι *Enterococci* μειώνονται στα 30 CFU/100mL από το καλοκαίρι στο φθινόπωρο.



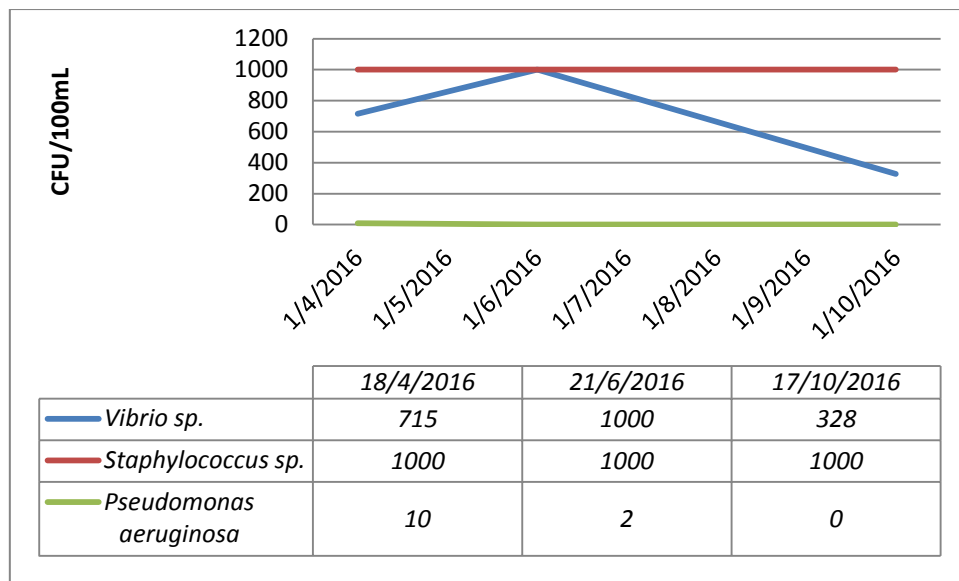
Εικόνα 6.31: Εποχική διακύμανση συμπληρωματικών δεικτών για την Παραλία Β.



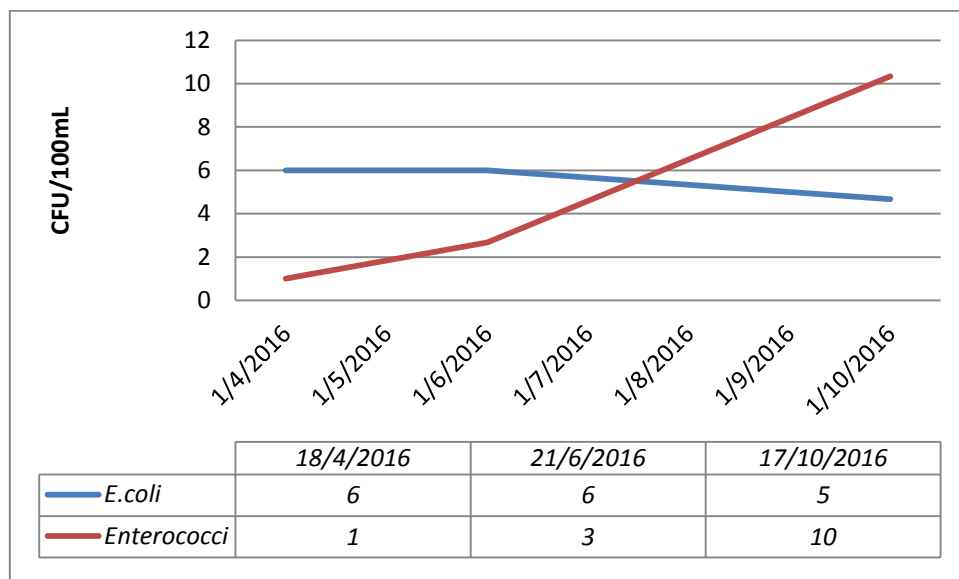
Εικόνα 6.32: Εποχική διακύμανση δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης νερού για την Παραλία Β.

Παρατηρώντας την Εικόνα 6.31 για την Παραλία Β, διαπιστώνεται πως τόσο η *Pseudomonas aeruginosa*, όσο και το *Vibrio* sp. παρουσίασαν μία τιμή συγκέντρωσης διάφορη του μηδενός κατά την ανοιξιάτικη περίοδο, ενώ στη συνέχεια οι συγκεντρώσεις τους έπεσαν στο 0 CFU/100mL. Το *Vibrio* sp. παρουσίασε μία πιο ομαλή διακύμανση, η οποία ουσιαστικά ήταν η αύξηση της συγκέντρωσης από την άνοιξη στο καλοκαίρι, η οποία παρέμεινε σταθερή κατά το καλοκαίρι και το φθινόπωρο, ενώ σταθερή υπήρξε η παρουσία του *Staphylococcus* sp. καθ' όλη τη διάρκεια των δειγματοληψιών, χωρίς καμία εποχική διακύμανση.

Όσον αφορά στην εποχική διακύμανση των δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης, από την Εικόνα 6.32 παρατηρείται διαρκής αύξηση της συγκέντρωσης του *E. coli* από την άνοιξη με 1 CFU/100mL στο φθινόπωρο με 27 CFU/100mL. Επιπροσθέτως, υπάρχει αύξηση της συγκέντρωσης των *Enterococci* από την άνοιξη στο καλοκαίρι από 2 CFU/100mL στα 16 CFU/100mL και τελικά μείωσή της από το καλοκαίρι στο φθινόπωρο, στα 6 CFU/100mL.



Εικόνα 6.33: Εποχική διακύμανση συμπληρωματικών δεικτών για την Παραλία Γ.

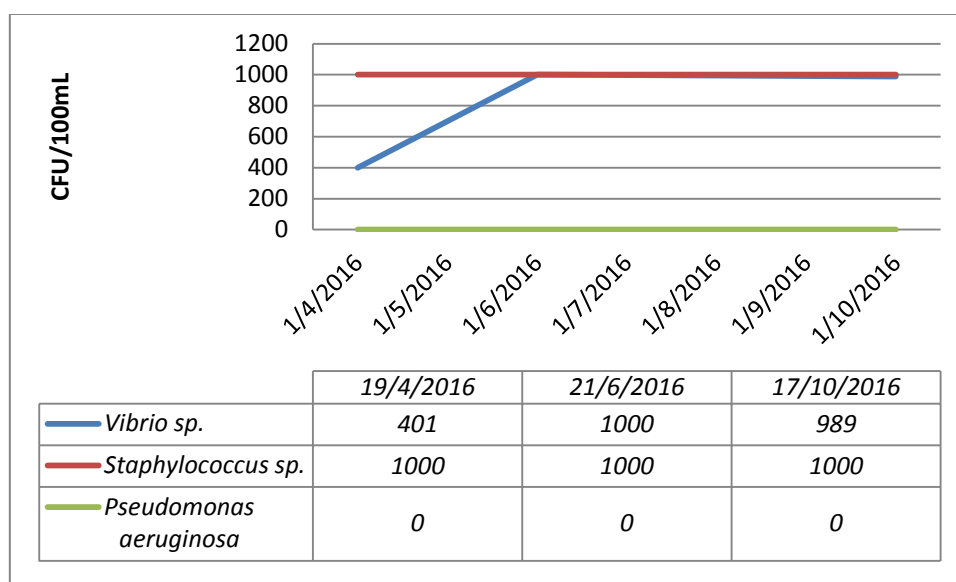


Εικόνα 6.34: Εποχική διακύμανση δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης νερού για την Παραλία Γ.

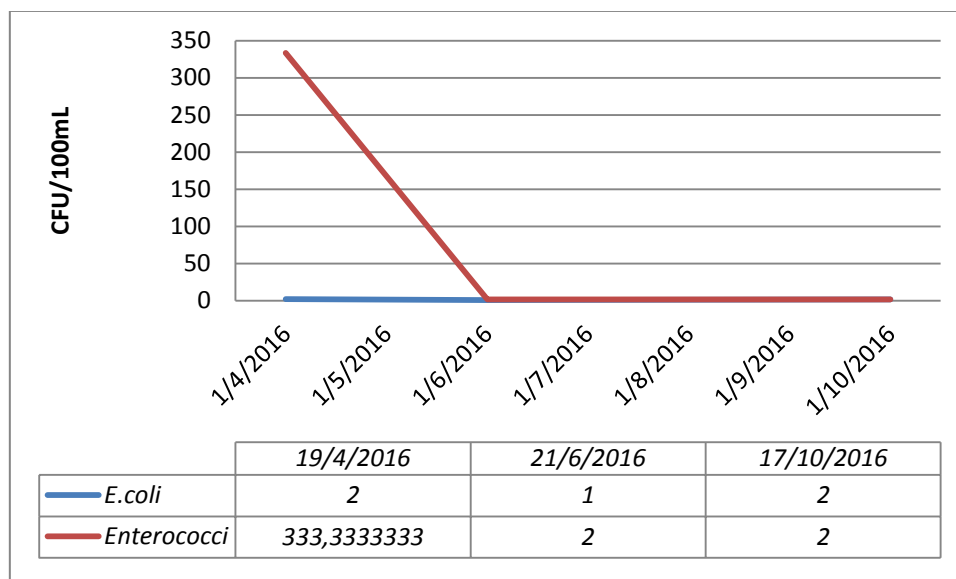
Στην Εικόνα 6.33, σταθερή παρουσιάζεται και στην Παραλία Γ η παρουσία του *Staphylococcus sp.*, ενώ οι υπόλοιποι συμπληρωματικοί δείκτες παρουσιάζουν διακυμάνσεις στις τιμές τους. Πιο αναλυτικά, η *Pseudomonas aeruginosa* παρουσίασε μείωση συγκέντρωσης από την άνοιξη στο καλοκαίρι και από το

καλοκαίρι στο φθινόπωρο, ενώ το *Vibrio sp.* παρουσίασε αύξηση από την άνοιξη στο καλοκαίρι και τελικά μείωση από το καλοκαίρι προς το φθινόπωρο.

Όσον αφορά στην εποχική διακύμανση των δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης, η Παραλία Γ παρουσιάζει λίγο διαφορετική εικόνα από αυτή των προηγούμενων δύο παραλιών. Πιο αναλυτικά, στην Εικόνα 6.34 απεικονίζεται μία σταθερή συγκέντρωση του *E. coli* κατά την άνοιξη και το καλοκαίρι και μικρή μείωσή της το φθινόπωρο, από τα 6 στα 5 CFU/100mL. Απεναντίας, οι *Enterococci* παρουσιάζουν διαρκή αύξηση της συγκέντρωσής τους, φτάνοντας από το 1 CFU/100mL την άνοιξη, στα 10 CFU/100mL το φθινόπωρο.



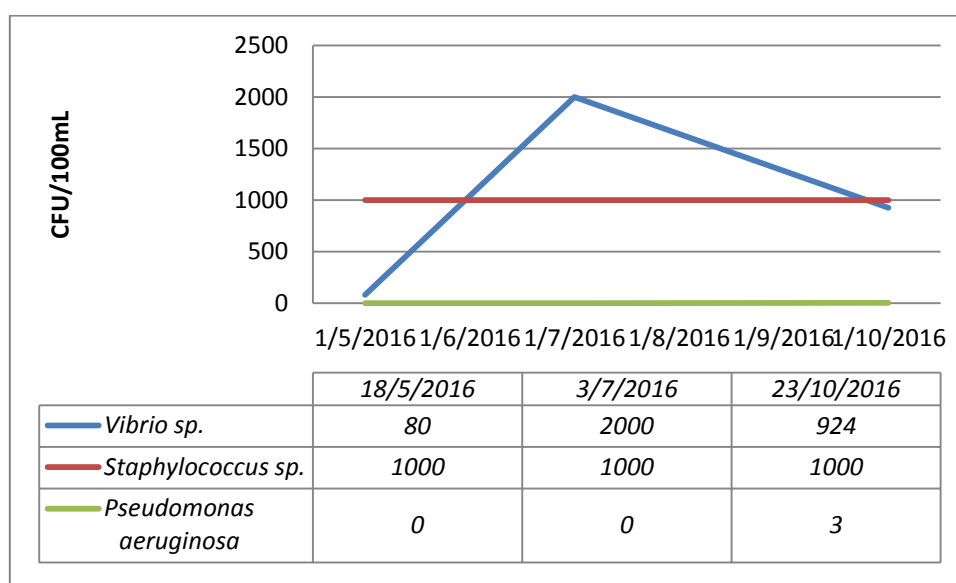
Εικόνα 6.35: Εποχική διακύμανση συμπληρωματικών δεικτών για την Παραλία Δ.



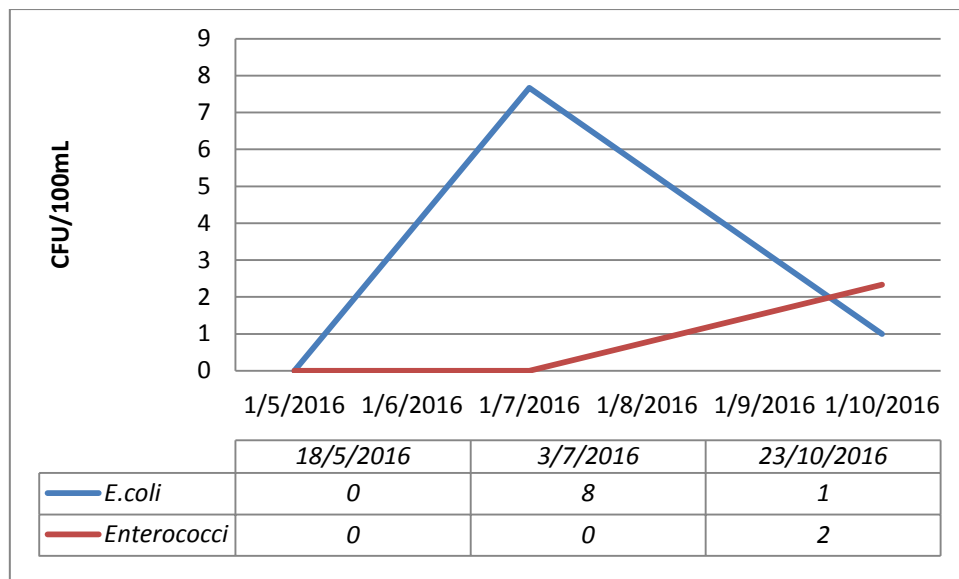
Εικόνα 6.36: Εποχική διακύμανση δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης νερού για την Παραλία Δ.

Από την Εικόνα 6.35 , φαίνεται ότι ο μόνος δείκτης που παρουσίασε διακύμανση σχετικά με τη συγκέντρωση CFU/100mL είναι το *Vibrio sp.*, καθώς ο *Staphylococcus sp.* παρουσίασε σταθερότητα, με τιμή συγκέντρωσης 10^3 CFU/100mL καθ' όλη τη χρονική διάρκεια των δειγματοληψιών, ενώ η *Pseudomonas aeruginosa* δεν εντοπίστηκε. Το *Vibrio sp.* παρουσίασε αύξηση από την άνοιξη ως το καλοκαίρι, με διακύμανση 401-1000 CFU/100mL, και στη συνέχεια παρέμεινε σταθερό έως και τη λήξη των δειγματοληψιών.

Στην Εικόνα 6.36 , παρατηρείται ότι τόσο η συγκέντρωση του *E. coli* όσο και αυτή των *Enterococci*, παρουσιάζουν μείωση από την άνοιξη στο καλοκαίρι με 2-1 CFU/100mL και 333-2 CFU/100mL αντίστοιχα, με τους *Enterococci*, όμως, να παρουσιάζουν πολύ μεγαλύτερη μείωση. Τέλος, από το καλοκαίρι στο φθινόπωρο, η συγκέντρωση του *E. coli* αυξάνεται και πάλι στα 2 CFU/100mL, ενώ των *Enterococci* παραμένει σταθερή.



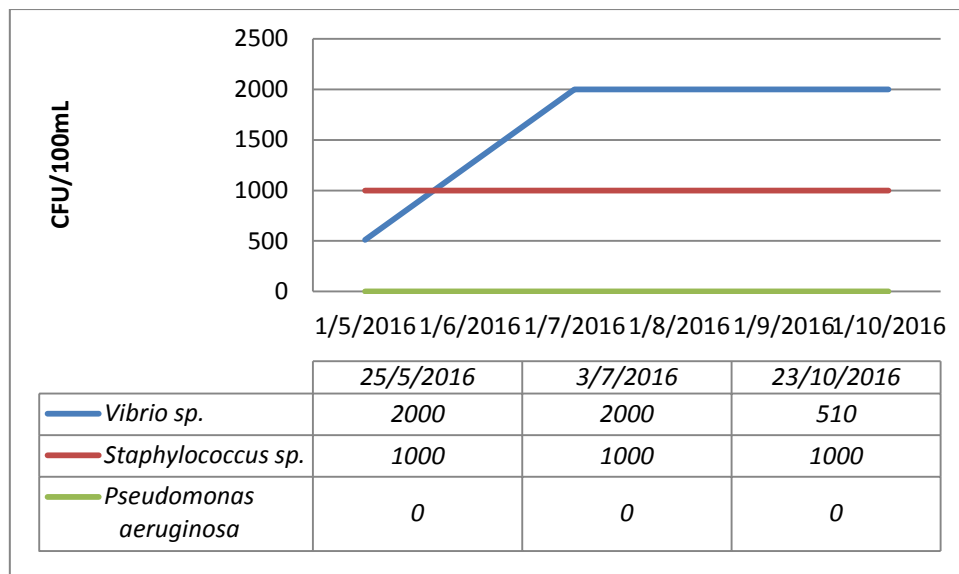
Εικόνα 6.37: Εποχική διακύμανση συμπληρωματικών δεικτών για την Παραλία Ε.



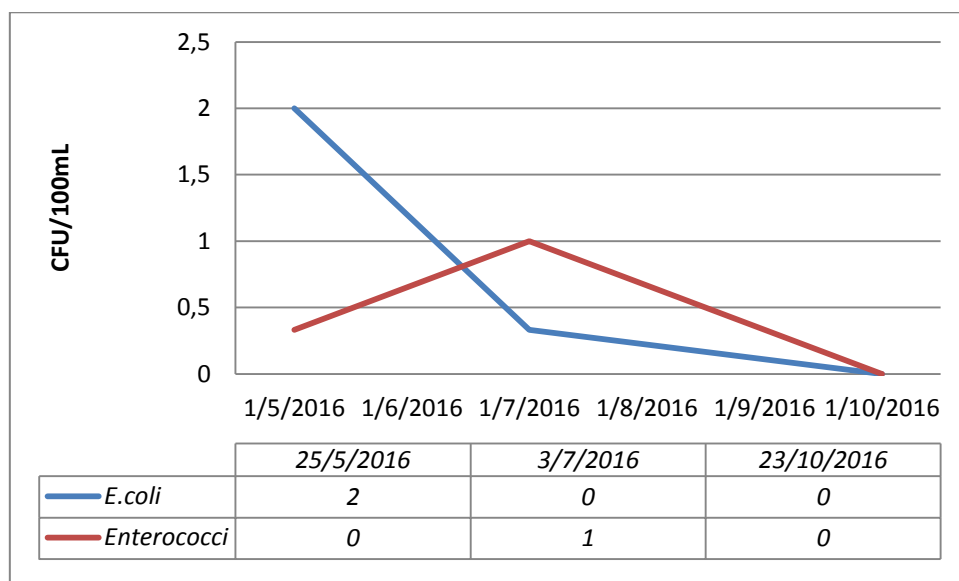
Εικόνα 6.38: Εποχική διακύμανση δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης νερού για την Παραλία Ε.

Στην Εικόνα 6.37 , παρουσιάζεται η εικόνα της εποχικής διακύμανσης για την Παραλία Ε. Πιο αναλυτικά, η *Pseudomonas aeruginosa* ξεκίνησε από 0 CFU/100mL και το φθινόπωρο έφτασε τα 3 CFU/100mL, ενώ ο *Staphylococcus sp.* παρουσίασε σταθερότητα στα 10^3 CFU/100mL. Πιο έντονα διακυμάνθηκε το *Vibrio sp.* με τη συγκέντρωσή του να παρουσιάζει μεγάλη αύξηση από την άνοιξη προς το καλοκαίρι και να παραμένει σταθερή μέχρι και το φθινόπωρο, και τελικά να υπόκειται σε μείωση.

Όσον αφορά την κοπρανώδη μόλυνση, έχουμε απουσία και των δύο δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης κατά την ανοιξιιάτικη περίοδο, με τους *Enterococci* να μην εντοπίζονται ούτε τους καλοκαιρινούς μήνες. Το *E. coli* παρουσιάζει συγκέντρωση 8 CFU/100mL το καλοκαίρι, η οποία όμως μειώνεται στο 1 CFU/100mL το φθινόπωρο. Τέλος, οι *Enterococci* παρουσιάζουν τιμή συγκέντρωσης 2 CFU/100mL το φθινόπωρο. Όλα τα παραπάνω παρουσιάζονται στην Εικόνα 6.38.



Εικόνα 6.39: Εποχική διακύμανση συμπληρωματικών δεικτών για την Παραλία ΣΤ.



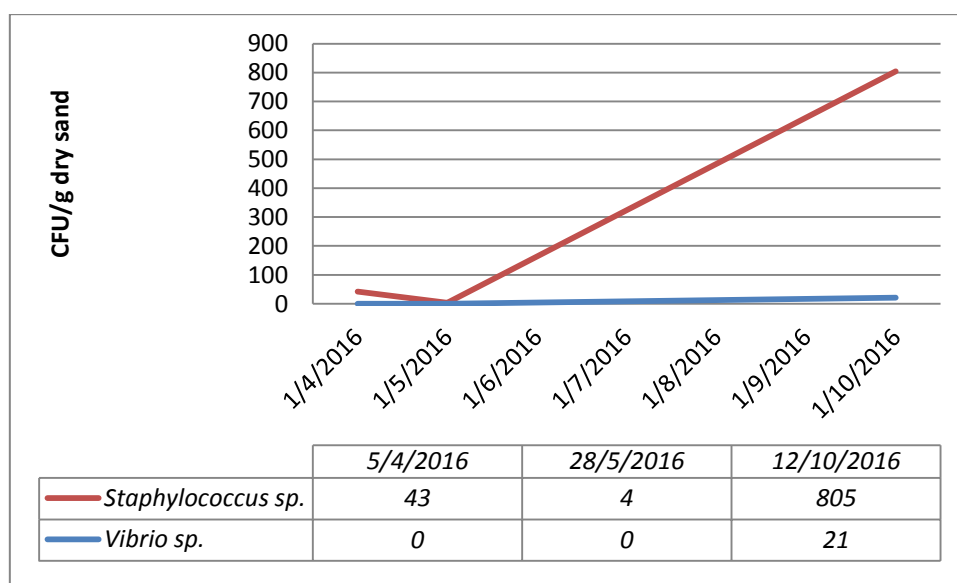
Εικόνα 6.40: Εποχική διακύμανση δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης νερού για την Παραλία ΣΤ.

Στην Εικόνα 6.39, παρατηρείται πλήρης απουσία της *Pseudomonas aeruginosa*. Επιπλέον, δεν υπάρχει διακύμανση του *Staphylococcus sp.*, με την τιμή της συγκέντρωσής του να παραμένει στα 10^3 CFU/100mL καθ' όλη τη διάρκεια των δειγματοληψιών. Τέλος, διακύμανση παρουσιάζει το *Vibrio sp.*, ξεκινώντας από συγκεντρώσεις 10^3 CFU/100mL την άνοιξη και το καλοκαίρι, και έπειτα από το

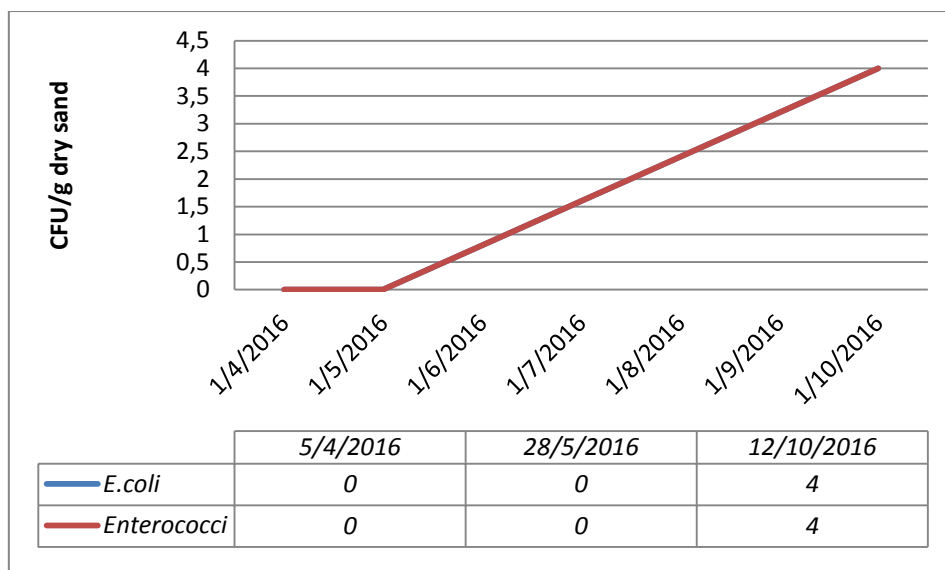
καλοκαίρι ξεκινά μείωση, καταλήγοντας στα 500 CFU/100mL στη Δειγματοληψία του φθινοπώρου.

Όσον αφορά στην εποχική διακύμανση των δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης στην Παραλία ΣΤ, στην Εικόνα 6.40 διαπιστώνεται μείωση του δείκτη *E. coli* από την άνοιξη στο καλοκαίρι από 2-0 CFU/100mL και αύξηση των *Enterococci* κατά την ίδια χρονική περίοδο από 0-1 CFU/100mL. Κατά τα άλλα, παρατηρείται απουσία του *E. coli* από το καλοκαίρι έως και το φθινόπωρο, και μείωση της συγκέντρωσης των *Enterococci* από το 1 CFU/100mL ξανά στο 0 CFU/100mL.

ΑΜΜΟΣ



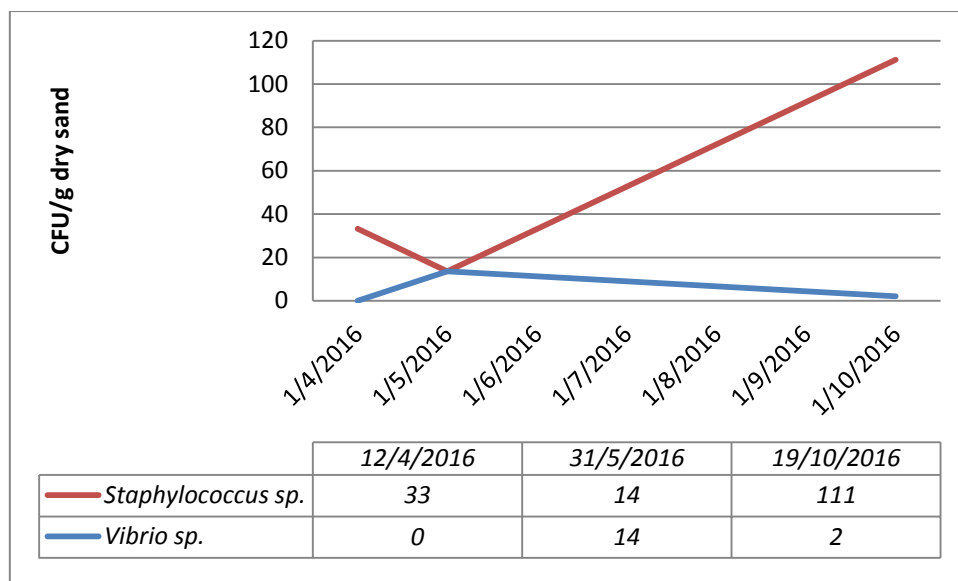
Εικόνα 6.41: Εποχική διακύμανση συμπληρωματικών δεικτών άμμου για την Παραλία Α.



Εικόνα 6.47: Εποχική διακύμανση δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης άμμου για την Παραλία Α.

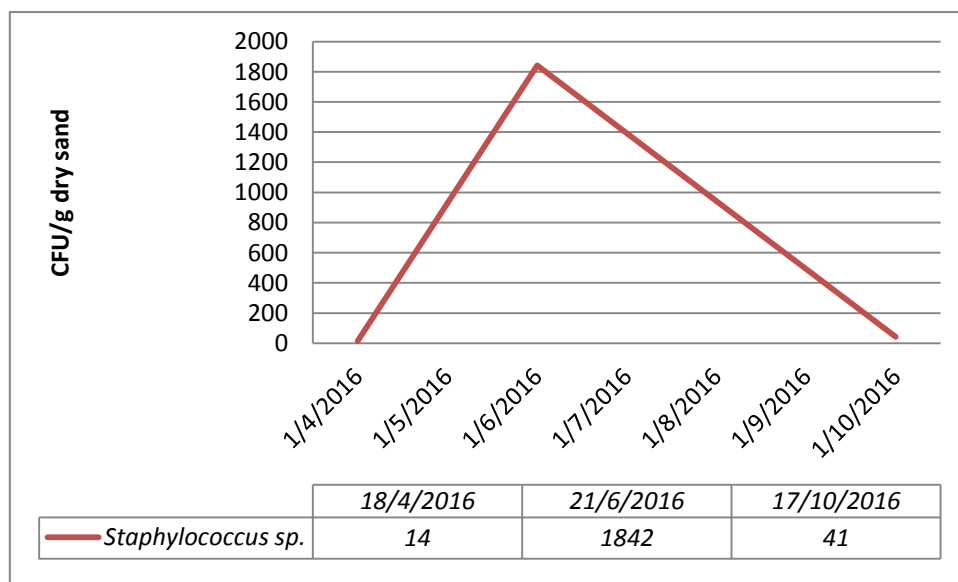
Στην άμμο της Παραλίας Α, για τους συμπληρωματικούς δείκτες εποχική διακύμανση παρουσίασαν μόνο οι δείκτες *Staphylococcus sp.* και *Vibrio sp.*. Συγκεκριμένα, στην Εικόνα 6.41 παρατηρείται ότι ο *Staphylococcus sp.* μειώθηκε από την άνοιξη ως το καλοκαίρι, και από το καλοκαίρι ως το φθινόπωρο παρουσίασε μεγάλη αύξηση, στα 805 CFU/g dry sand. Το *Vibrio sp.* είχε μηδενικές συγκεντρώσεις για την άνοιξη και το καλοκαίρι, ενώ από το καλοκαίρι ως το φθινόπωρο η συγκέντρωση αυξήθηκε στα 21 CFU/g dry sand.

Για την κοπρανώδη μόλυνση της Παραλίας Α, εντοπίστηκαν *E.coli* και *Enterococci* μόνο για το φθινόπωρο στα 4 CFU/g dry sand.



Εικόνα 6.42: Εποχική διακύμανση συμπληρωματικών δεικτών άμμου για την Παραλία Β.

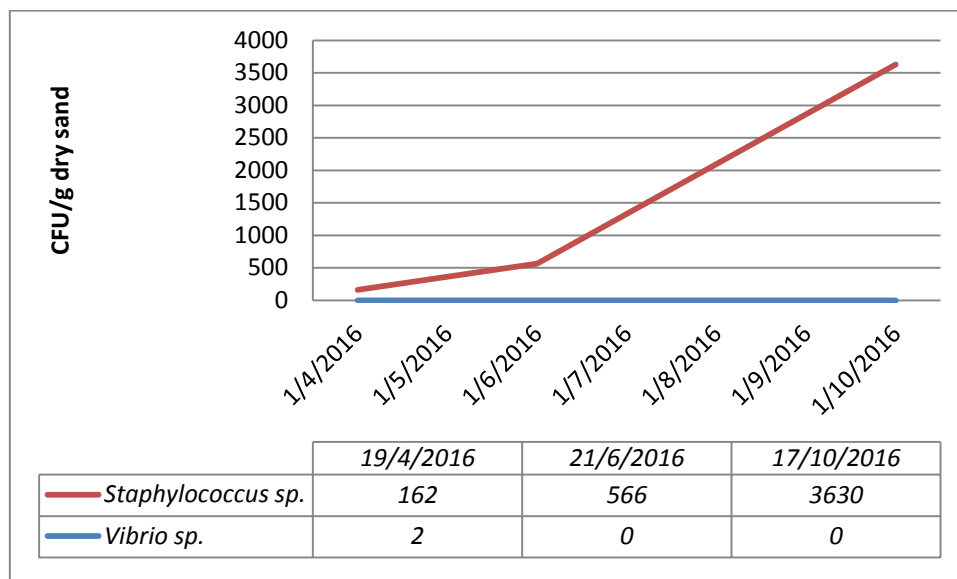
Στην άμμο της Παραλίας Β, εποχική διακύμανση παρουσίασαν μόνο οι δείκτες *Staphylococcus sp.* και *Vibrio sp.*. Συγκεκριμένα, στην Εικόνα 6.42 διακρίνεται ότι από την άνοιξη ως το καλοκαίρι υπάρχει μείωση του *Staphylococcus sp.* και αύξηση του *Vibrio sp.*, ενώ από το καλοκαίρι ως το φθινόπωρο υπάρχει αύξηση του πρώτου και μείωση του δεύτερου.



Εικόνα 6.43: Εποχική διακύμανση συμπληρωματικών δεικτών άμμου για την Παραλία Γ.

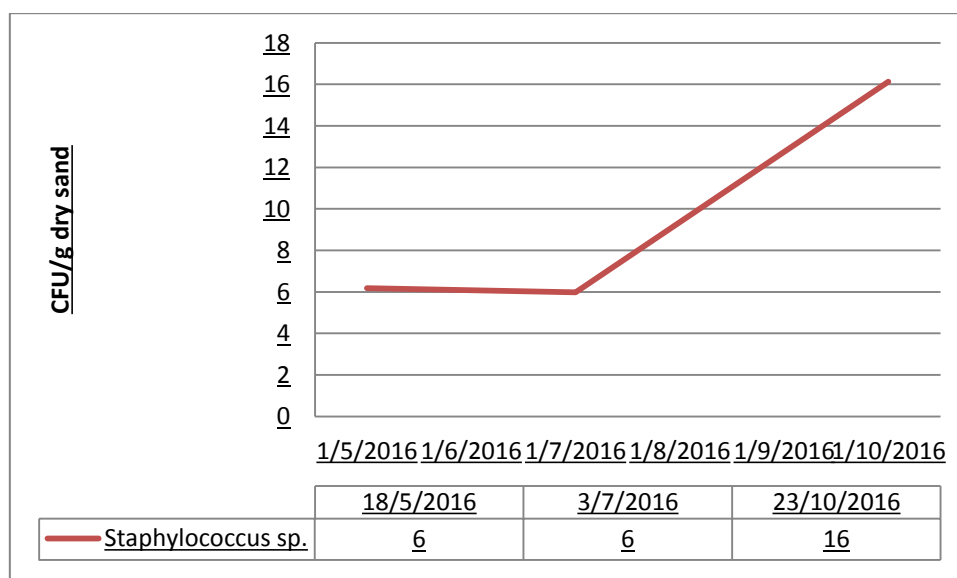
Στην άμμο της Παραλίας Γ, εποχική διακύμανση παρουσίασε μόνο ο δείκτης *Staphylococcus sp.*. Συγκεκριμένα, στην Εικόνα 6.43 διακρίνεται ότι από την άνοιξη

ως το καλοκαίρι υπάρχει αύξηση του εν λόγω δείκτη από τα 14 στα 1842 CFU/g dry sand, ενώ από το καλοκαίρι ως το φθινόπωρο υπάρχει μείωση στα 41 CFU/g dry sand.



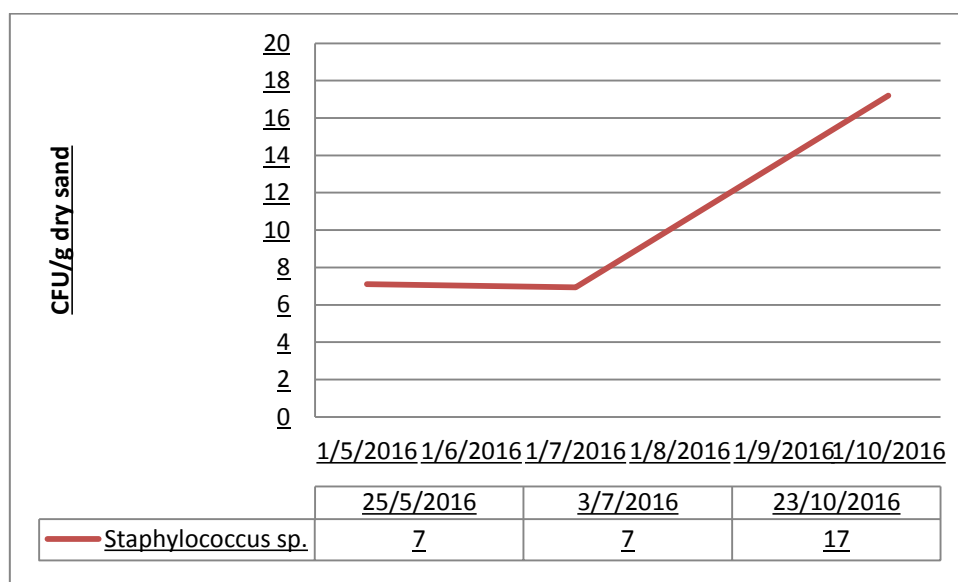
Εικόνα 6.44: Εποχική διακύμανση συμπληρωματικών δεικτών άμμου για την Παραλία Δ.

Στην άμμο της Παραλίας Δ, εποχική διακύμανση παρουσίασαν μόνο οι δείκτες *Staphylococcus sp.* και *Vibrio sp.*. Συγκεκριμένα, στην Εικόνα 6.44 διακρίνεται ότι από την άνοιξη ως το καλοκαίρι υπάρχει αύξηση του *Staphylococcus sp.* από τα 162 στα 566 CFU/ g dry sand και μείωση του *Vibrio sp.* από τα 2 στα 0 CFU/g dry sand, ενώ από το καλοκαίρι ως το φθινόπωρο υπάρχει αύξηση του πρώτου στα 3630 CFU/g dry sand και σταθερότητα του δεύτερου.



Εικόνα 6.45: Εποχική διακύμανση συμπληρωματικών δεικτών άμμου για την Παραλία Ε.

Στην άμμο της Παραλίας Ε, εποχική διακύμανση παρουσίασε μόνο ο δείκτης *Staphylococcus sp.*. Συγκεκριμένα, στην Εικόνα 6.45 διακρίνεται ότι από την άνοιξη ως το καλοκαίρι υπάρχει σταθερότητα στα 6 CFU/g dry sand, ενώ από το καλοκαίρι ως το φθινόπωρο υπάρχει αύξηση στα 16 CFU/g dry sand.



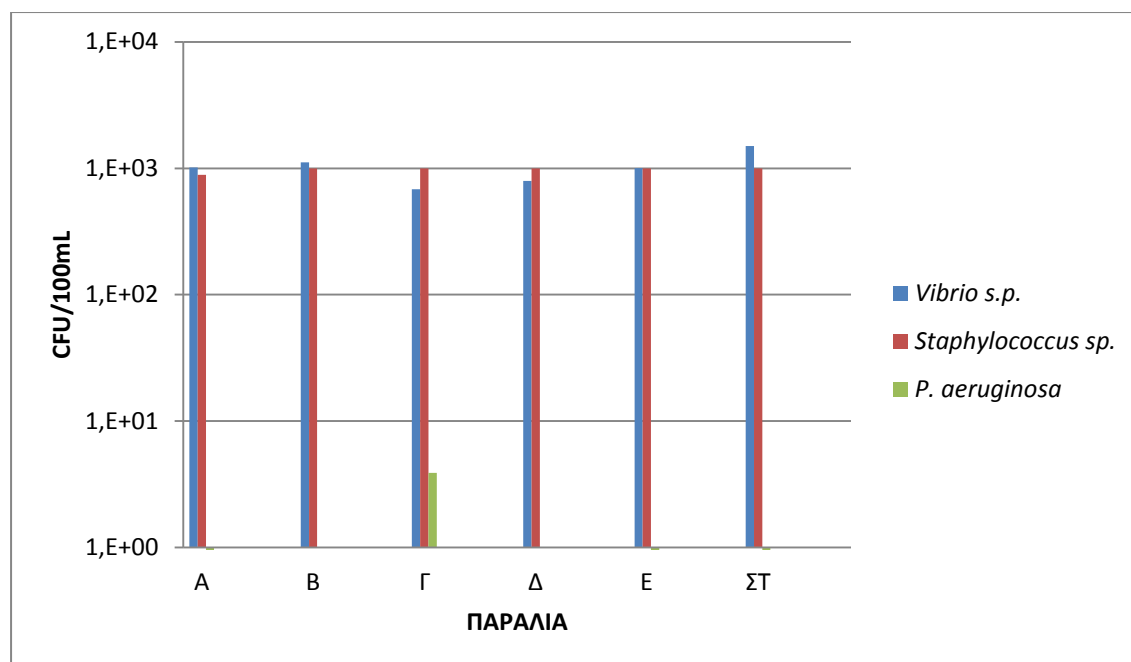
Εικόνα 6.46: Εποχική διακύμανση συμπληρωματικών δεικτών άμμου για την Παραλία ΣΤ.

Στην άμμο της Παραλίας ΣΤ, εποχική διακύμανση παρουσίασε μόνο ο δείκτης *Staphylococcus sp.*. Συγκεκριμένα, στην Εικόνα 6.46 διακρίνεται ότι από την άνοιξη ως το καλοκαίρι υπάρχει σταθερότητα στα 7 CFU/g dry sand, ενώ από το καλοκαίρι ως το φθινόπωρο υπάρχει αύξηση κατά 10 CFU/g dry sand.

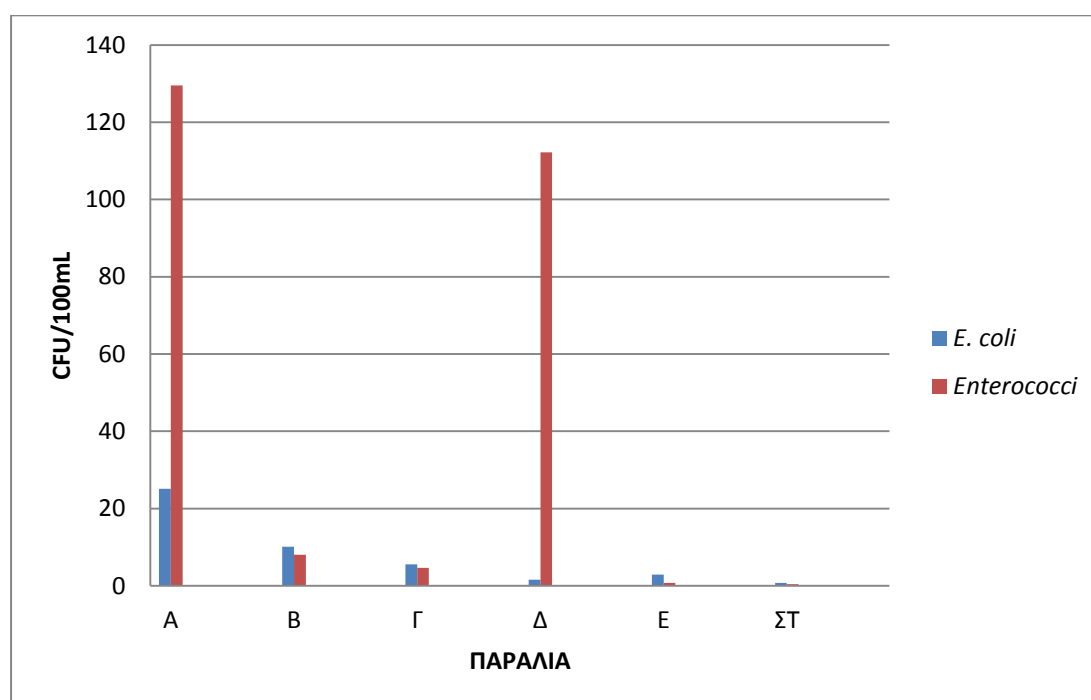
6.1.3. Γενική εικόνα παραλιών

Για την καλύτερη κατανόηση της πλήρους εικόνας του νερού και της άμμου των παραλιών, κατασκευάστηκαν τα διαγράμματα που απεικονίζουν τις τιμές των συγκεντρώσεων των συμπληρωματικών δεικτών και των δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης ξεχωριστά, ως προς την παρουσία τους στις υπό εξέταση παραλίες. Τα διαγράμματα παρατίθενται στις Εικόνες 6.47 και 6.48 για το νερό και στις Εικόνες 6.49 και 6.50 για την άμμο.

NEPO



Εικόνα 6.47: Συμπληρωματικοί δείκτες νερού ανά παραλία.



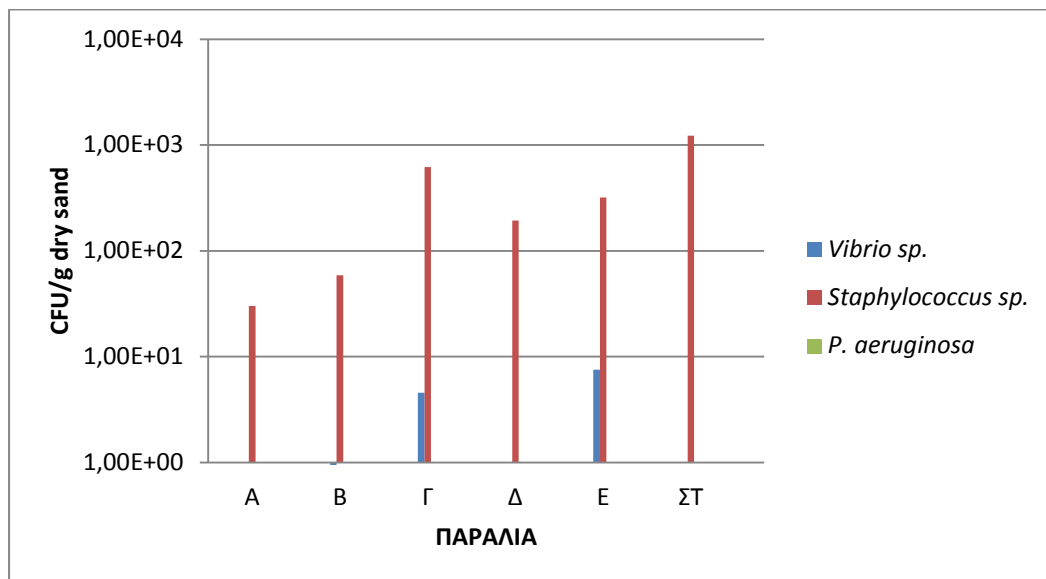
Εικόνα 6.48: Δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης νερού ανά παραλία.

Στην Εικόνα 6.47 παρουσιάζεται η εικόνα των συγκεντρώσεων των συμπληρωματικών δεικτών που εξετάστηκαν, ανά παραλία, έτσι ώστε να καταταχθούν ανάλογα με το μικροβιακό τους φορτίο. Πιο αναλυτικά, παρατηρείται

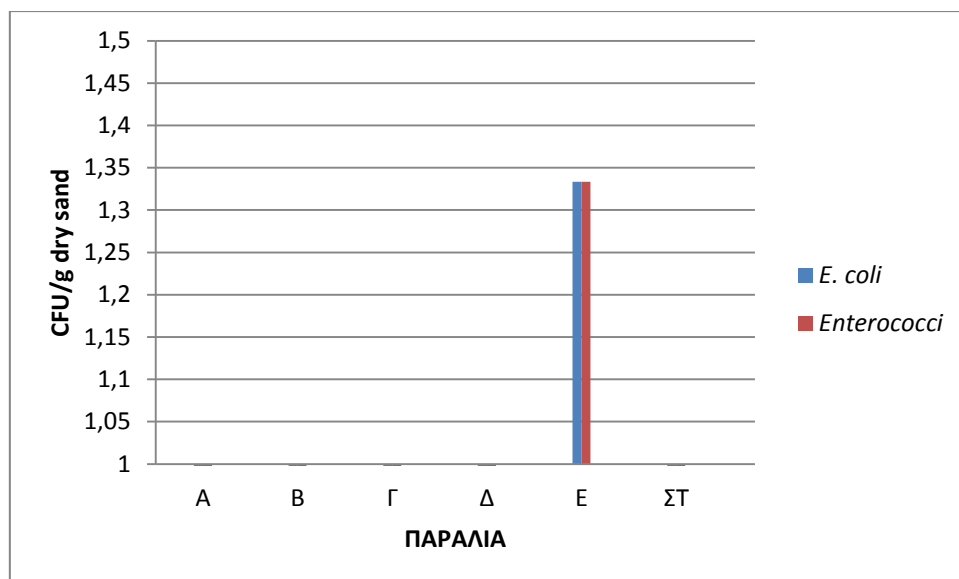
ότι η πιο επιβαρυμένη παραλία φέρεται να είναι η Παραλία Γ. Παρόλο που η Παραλία ΣΤ κατέχει τη μεγαλύτερη τιμή συγκέντρωσης για το *Vibrio sp.*, η Παραλία Γ είναι η μοναδική που παρουσιάζει και συγκέντρωση *Pseudomonas aeruginosa*, καθώς οι σχεδόν μηδενικές συγκεντρώσεις του εν λόγω δείκτη στις παραλίες Α, Ε και ΣΤ είναι αμελητέες. Τα παραπάνω, σε συνδυασμό με τις υψηλές τιμές *Vibrio sp.* και *Staphylococcus sp.*, την κατατάσσουν στην πρώτη θέση ως την πιο επιβαρυμένη παραλία όσον αφορά στους συμπληρωματικούς δείκτες, αφήνοντας στη δεύτερη θέση την Παραλία ΣΤ. Επόμενη στην κατάταξη έρχεται η Παραλία Β, με λίγο μικρότερη τιμή συγκέντρωσης *Vibrio sp.*, αλλά ίδια συγκέντρωση *Staphylococcus sp.*. Γενικότερα, όλες οι παραλίες παρουσιάζουν την ίδια συγκέντρωση *Staphylococcus sp.* (10^3 CFU/100mL), πλην της Παραλίας Α που παρουσιάζει ελαφρώς μικρότερη συγκέντρωση. Έτσι, βάσει αυτού και βάση της συγκέντρωσης του *Vibrio sp.*, τις επόμενες θέσεις καταλαμβάνουν η Παραλία Ε, η Παραλία Α και τέλος η Παραλία Δ.

Συγκρίνοντας, τώρα, τις υπό εξέταση παραλίες ως προς την κοπρανώδη τους μόλυνση, στην Εικόνα 6.48 η Παραλία Α παρουσιάζεται ως η πιο επιβαρυμένη, καθώς παρουσίασε τις μεγαλύτερες τιμές *E. coli* και *Enterococci*. Ακολουθεί η Παραλία Δ, με αισθητά μικρότερη τιμή συγκέντρωσης *E. coli*, αλλά με εξίσου μεγάλη τιμή συγκέντρωσης *Enterococci* με αυτή της Παραλίας Α. Σε πολύ πιο χαμηλά επίπεδα μόλυνσης παρουσιάζονται οι Παραλίες Β και Γ, εκ των οποίων πιο επιβαρυμένη φέρεται να είναι η Β, ενώ η Παραλία Ε παρουσιάζει ένα μικρό αριθμό συγκέντρωσης *Enterococci* και σχεδόν μηδενική συγκέντρωση *E. coli*. Τέλος, σχεδόν χωρίς κοπρανώδη μόλυνση παρουσιάζεται η Παραλία ΣΤ, κάνοντάς την την πιο καθαρή όσον αφορά τους συγκεκριμένους δείκτες στο νερό.

ΑΜΜΟΣ



Εικόνα 6.49: Συμπληρωματικοί δείκτες άμμου ανά παραλία.



Εικόνα 6.50: Δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης άμμου ανά παραλία.

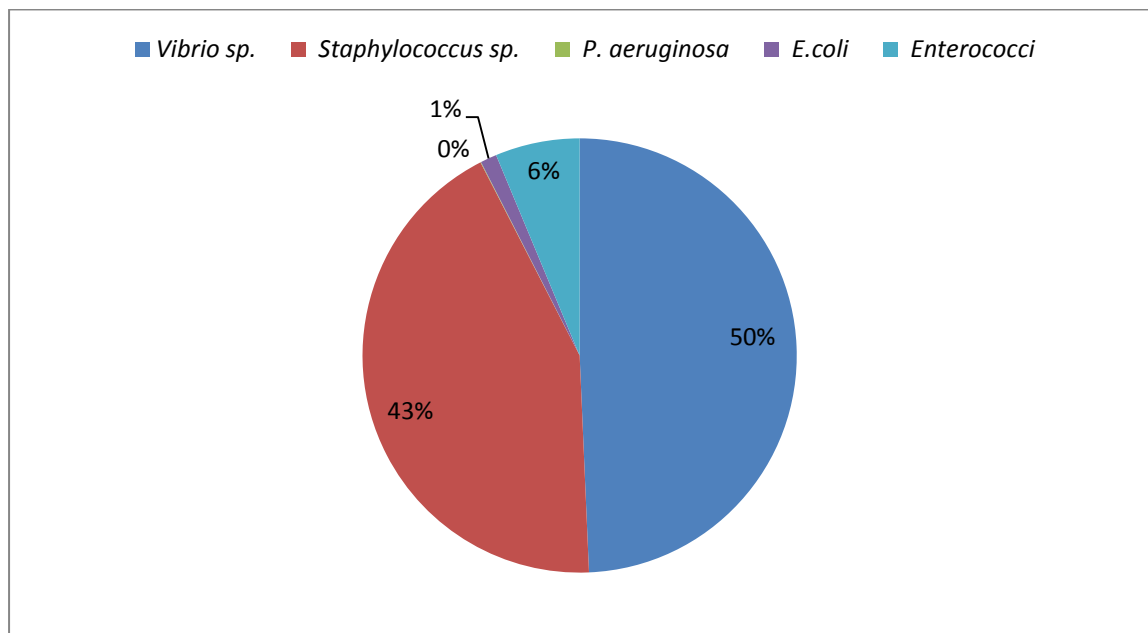
Η συνολική εικόνα για τους συμπληρωματικούς δείκτες της άμμου των παραλιών μας υποδεικνύει ότι οι πιο επιβαρυνμένες φέρεται να είναι οι Παραλίες Γ

και Ε. Παρόλο που η Παραλία ΣΤ κατέχει τη μεγαλύτερη τιμή συγκέντρωσης για τον *Staphylococcus sp.*, οι Παραλίες Γ και Ε είναι οι μοναδικές που παρουσιάζουν και συγκέντρωση *Vibrio sp.*, καθώς οι σχεδόν μηδενικές συγκεντρώσεις του εν λόγω δείκτη στις παραλίες Α, Ε και ΣΤ είναι αμελητέες, και σε συνδυασμό με την απουσία της *Pseudomonas aeruginosa* και των υψηλών τιμών *Staphylococcus sp.*, χαρακτηρίζονται ως οι πιο επιβαρυμένες παραλίες, όσον αφορά τους συμπληρωματικούς δείκτες, αφήνοντας στη επόμενη θέση την Παραλία ΣΤ. Επόμενες στην κατάταξη έρχονται οι Παραλίες Δ, Β και Α με λίγο μικρότερες τιμές συγκέντρωσης *Staphylococcus sp.*. Τα παραπάνω φαίνονται στην Εικόνα 6.49 σε μορφή διαγράμματος.

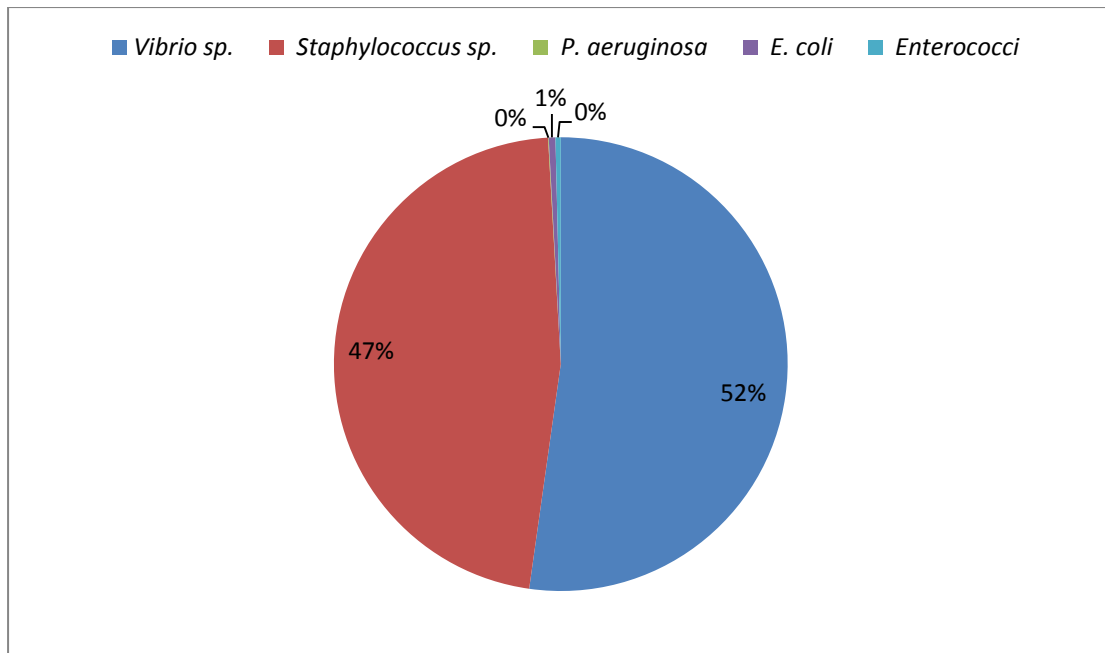
Τέλος, από την Εικόνα 6.50 είναι προφανές ότι η Παραλία Ε είναι η πιο επιβαρυμένη όσον αφορά τους δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης, αφού είναι η μοναδική που παρουσιάζει τιμές *E. coli* και *Enterococci* διάφορες του μηδενός.

6.1.4 Ποσοστιαία εικόνα παραλιών

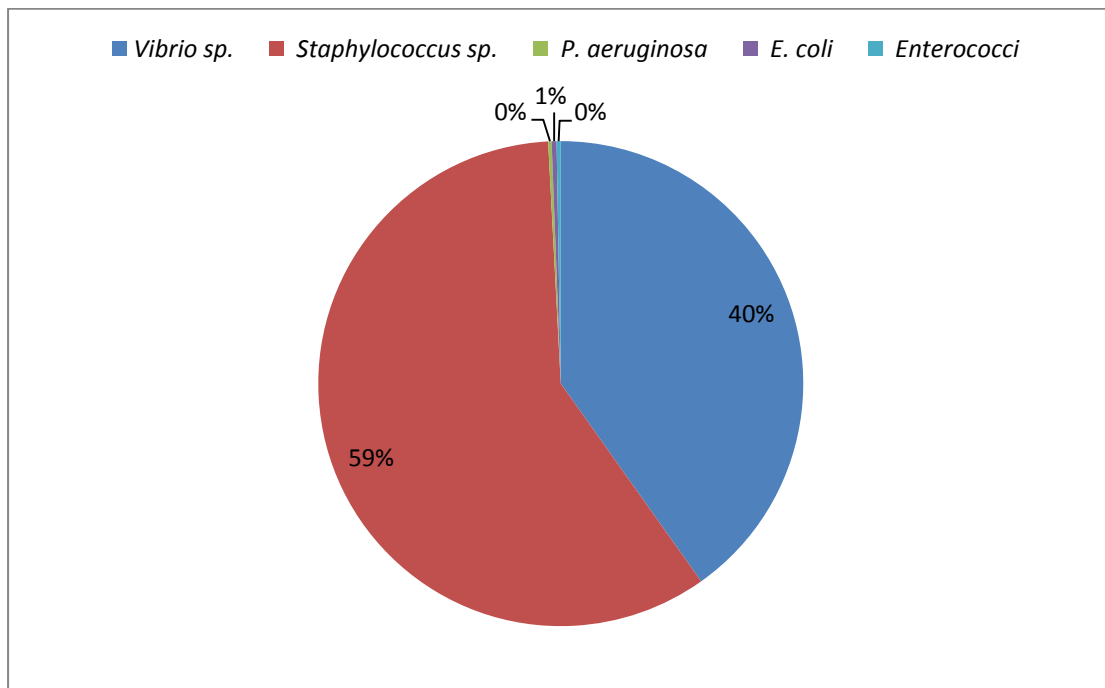
Τέλος, για την καλύτερη κατανόηση της πλήρους εικόνας του νερού και της άμμου των παραλιών, κατασκευάστηκαν τα διαγράμματα που απεικονίζουν τις ποσοστιαίες τιμές των συγκεντρώσεων των συμπληρωματικών δεικτών και των δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης ξεχωριστά, για κάθε παραλία. Τα διαγράμματα παρατίθενται στις Εικόνες 6.51 – 6.56 για το νερό και στις Εικόνες 6.57 – 6.62 για την άμμο.



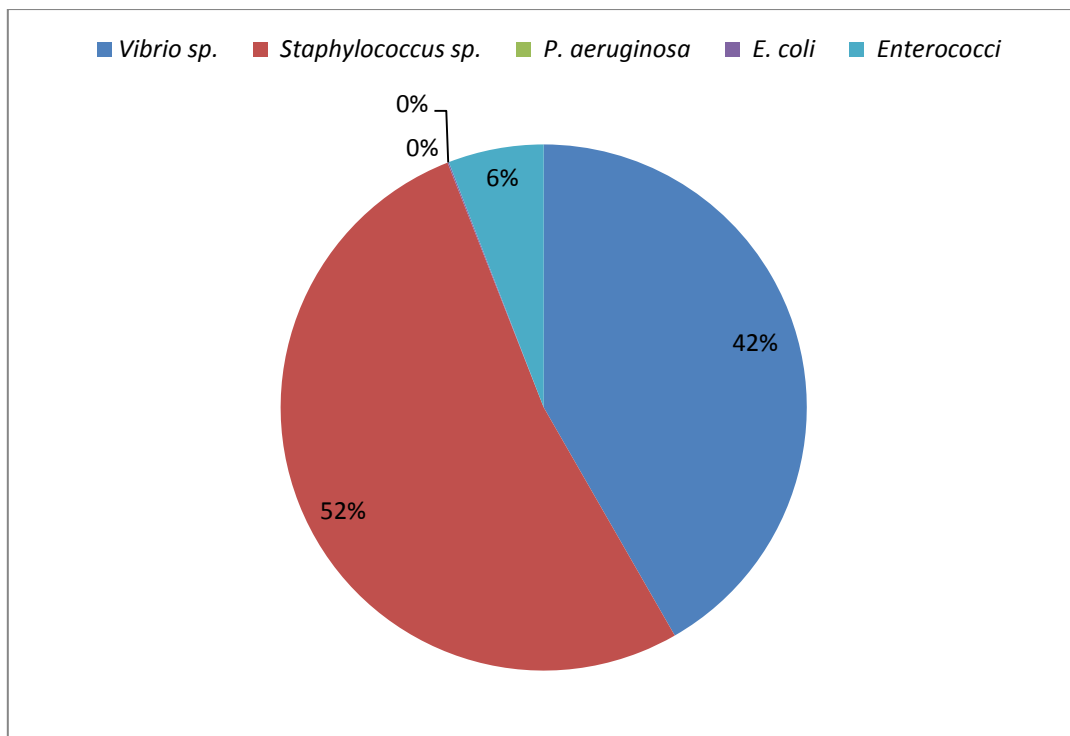
Εικόνα 6.51: Ποσοστιαία εικόνα νερού για την Παραλία Α.



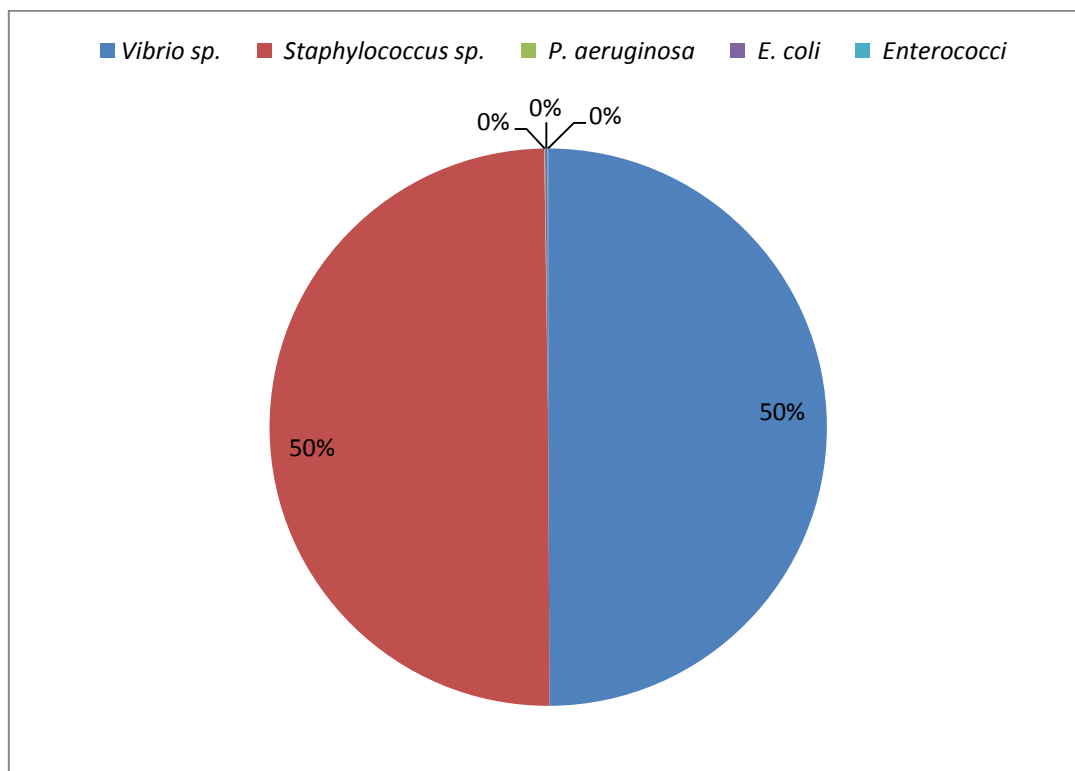
Εικόνα 6.52: Ποσοστιαία εικόνα νερού για την Παραλία Β.



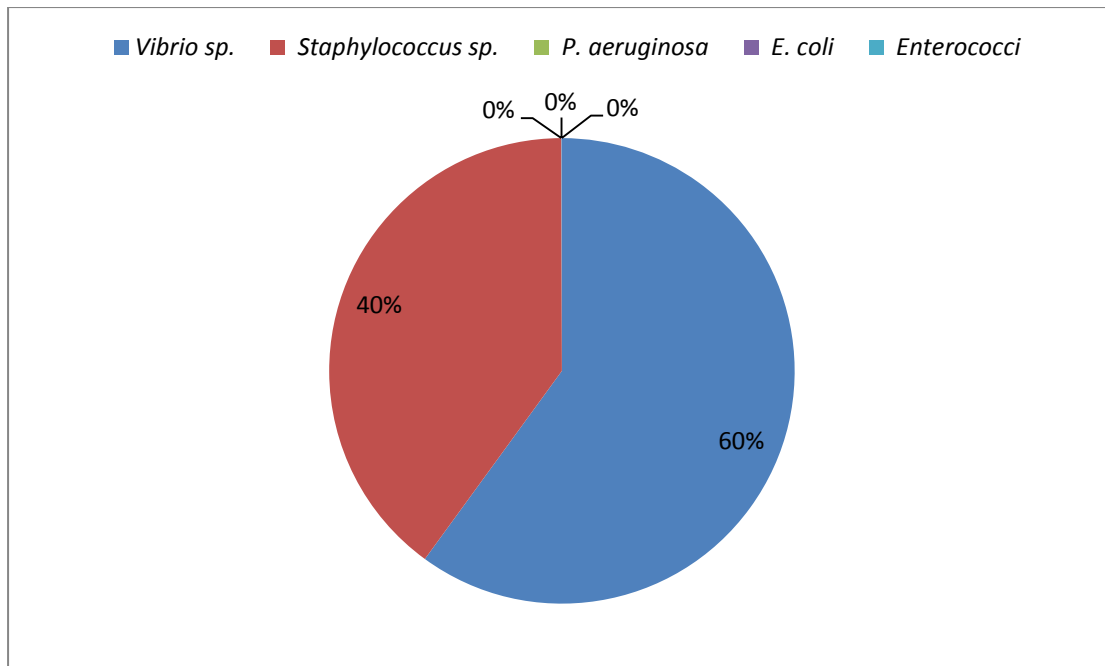
Εικόνα 6.53: Ποσοστιαία εικόνα νερού για την Παραλία Γ.



Εικόνα 6.54: Ποσοστιαία εικόνα νερού για την Παραλία Δ.



Εικόνα 6.55: Ποσοστιαία εικόνα νερού για την Παραλία Ε.



Εικόνα 6.56: Ποσοστιαία εικόνα νερού για την Παραλία ΣΤ.

Στην Εικόνα 6.51, παρουσιάζεται μία γενική ποσοστιαία εικόνα των δεικτών που εξετάστηκαν στο νερό της Παραλίας Α, βάσει των συγκεντρώσεων CFU/100mL που εντοπίστηκαν. Πιο αναλυτικά, η πιο συχνή παρουσία είναι αυτή του δείκτη *Vibrio sp.*, το οποίο κατέχει ένα ποσοστό 50%. Ακολουθεί ο *Staphylococcus sp.* με ένα αξιοσημείωτο ποσοστό 43%. Σε πιο μικρά ποσοστά εντοπίστηκαν οι δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης *Enterococci* 6% και *E. coli* 1%, ενώ η *Pseudomonas aeruginosa* κατέχει ποσοστό 0%. Οι πιο επίφοβες, λοιπόν, τιμές είναι αυτές του *Vibrio sp.* και του *Staphylococcus sp.*.

Παρομοίως με την Παραλία Α, στην Εικόνα 6.52 φαίνεται ότι στην Παραλία Β εντοπίστηκε *Vibrio sp.* σε ποσοστό 52%, κάνοντάς το τον πιο επίφοβο δείκτη εκ των εξεταζόμενων. Αρκετά επίφοβος, όμως, είναι και ο *Staphylococcus sp.*, ο οποίος κατέχει το 47% των μετρούμενων συγκεντρώσεων σε CFU/100mL. Ένα ποσοστό 1% ανήκει στους *Enterococci*, ενώ οι μετρήσεις των συγκεντρώσεων *E. coli* και η *Pseudomonas aeruginosa* δεν ήταν αξιοσημείωτες.

Στην Παραλία Γ, όπως φαίνεται από την Εικόνα 6.53, παρατηρείται συχνή παρουσία του *Staphylococcus sp.* καθ' όλη τη διάρκεια των δειγματοληψιών, με ποσοστό 59% επί των συνολικών συγκεντρώσεων CFU/100mL που μετρήθηκαν. Το

Vibrio sp. Κατέχει το 40% των μετρήσεων, ενώ το *E. coli* μόλις το 1% αυτών. Τέλος, οι *Enterococci* και η *Pseudomonas aeruginosa* έχουν ποσοστό 0%, λόγω των πολύ χαμηλών έως μηδενικών συγκεντρώσεων που έδωσαν έπειτα από την επεξεργασία των δειγμάτων μας.

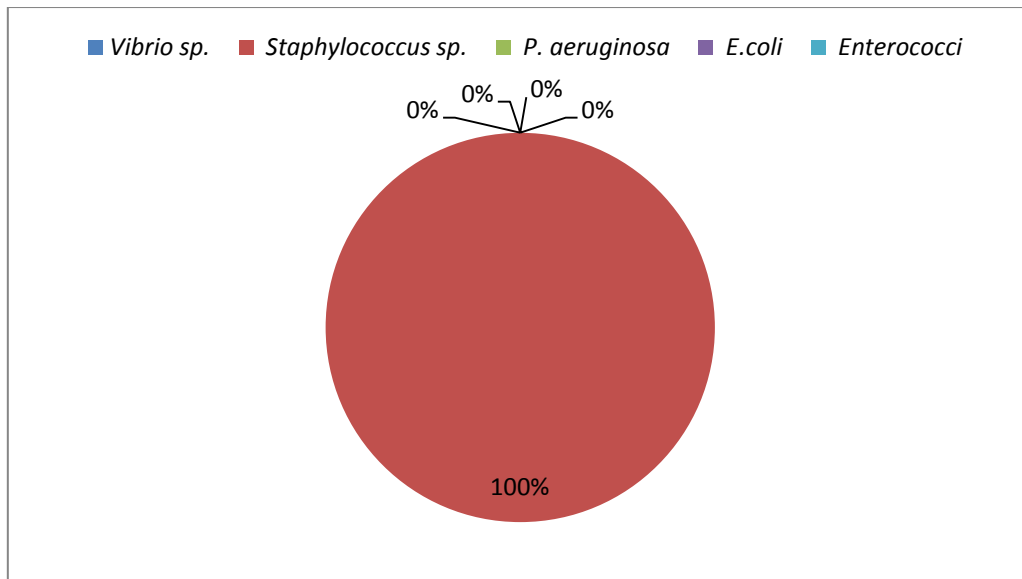
Στην Εικόνα 6.54 για την Παραλία Δ, επικρατεί και πάλι ο *Staphylococcus sp.*, με ποσοστό 52% επί των μετρήσεων. Ακολουθεί το *Vibrio sp.* με 42%, και οι *Enterococci* με μόλις 6%. Οι συγκεντρώσεις των *E. coli* και *Pseudomonas aeruginosa* μεταφράζονται σε ποσοστά 0%, εξαιτίας των ιδιαίτερα χαμηλών τιμών τους σε σχέση με τους υπόλοιπους δείκτες.

Στην Εικόνα 6.55 για την Παραλία Ε, ο *Staphylococcus sp.* και το *Vibrio sp.* αποτελούν το 100% της παρουσίας της μικροβιακής μόλυνσης του νερού, με ένα ποσοστό 50% έκαστος. Η παρουσία των υπολοίπων δεικτών *E. coli*, *Enterococci*, *Pseudomonas aeruginosa* είναι αμελητέα, με ποσοστά 0%.

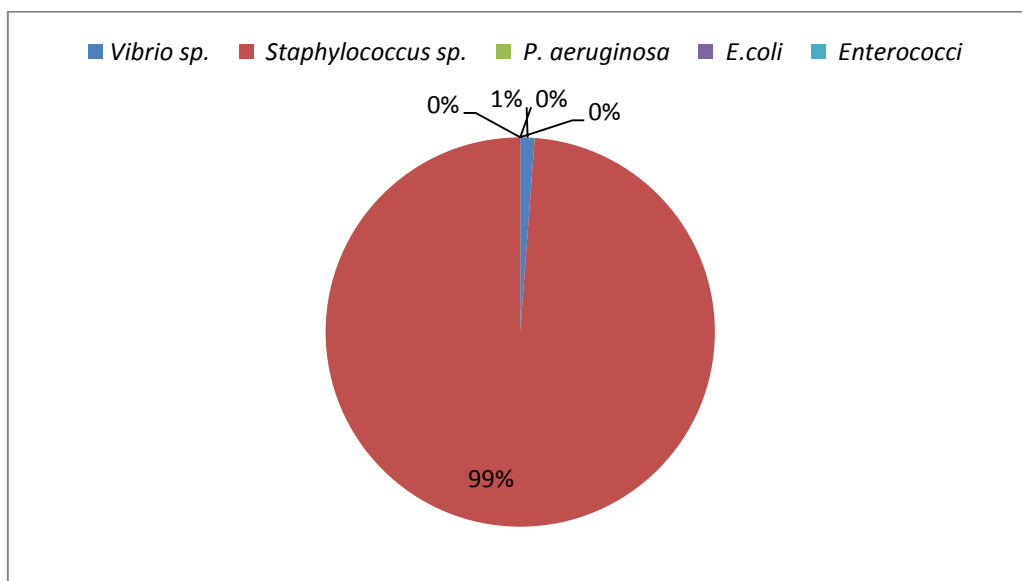
Παρόμοια με αυτήν της Παραλίας Ε είναι και η κατάσταση του νερού της Παραλίας ΣΤ, όπως φαίνεται στην Εικόνα 6.56, με τη μόνη διαφορά στα ποσοστά του *Staphylococcus sp.* 40% αντί για 50% και του *Vibrio sp.* 60% αντί για 50%. Έτσι, τα ποσοστά που κατέχουν οι υπόλοιποι δείκτες μικροβιακής μόλυνσης των υδάτων που εξετάστηκαν *E. coli*, *Enterococci* και *Pseudomonas aeruginosa* είναι και πάλι μηδενικά.

Παρατηρούμε, λοιπόν, ότι η πιο συχνή παρουσία μικροοργανισμών στο νερό των εξεταζόμενων παραλιών είναι αυτή του *Vibrio sp.* και του *Staphylococcus sp.*.

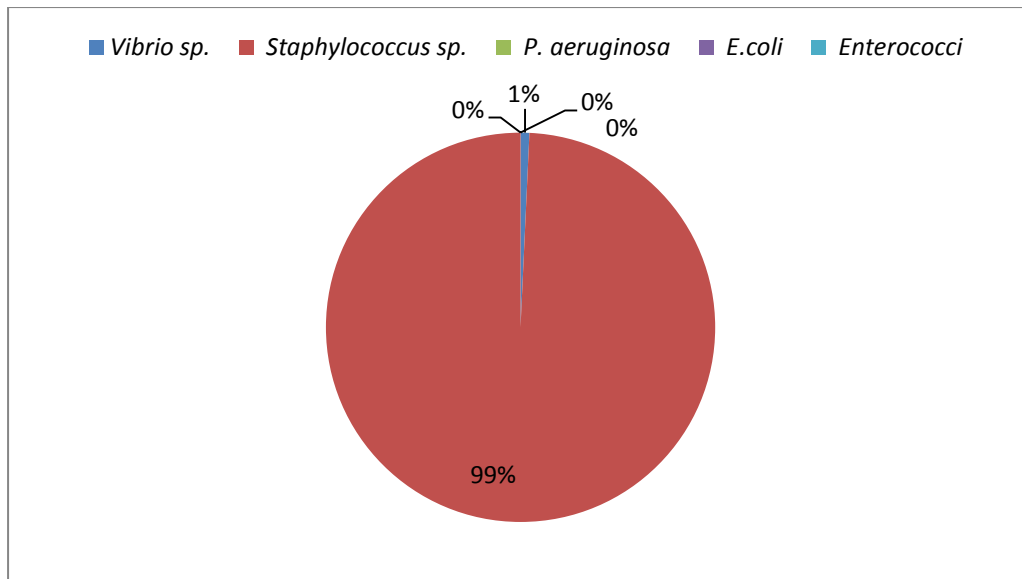
ΑΜΜΟΣ



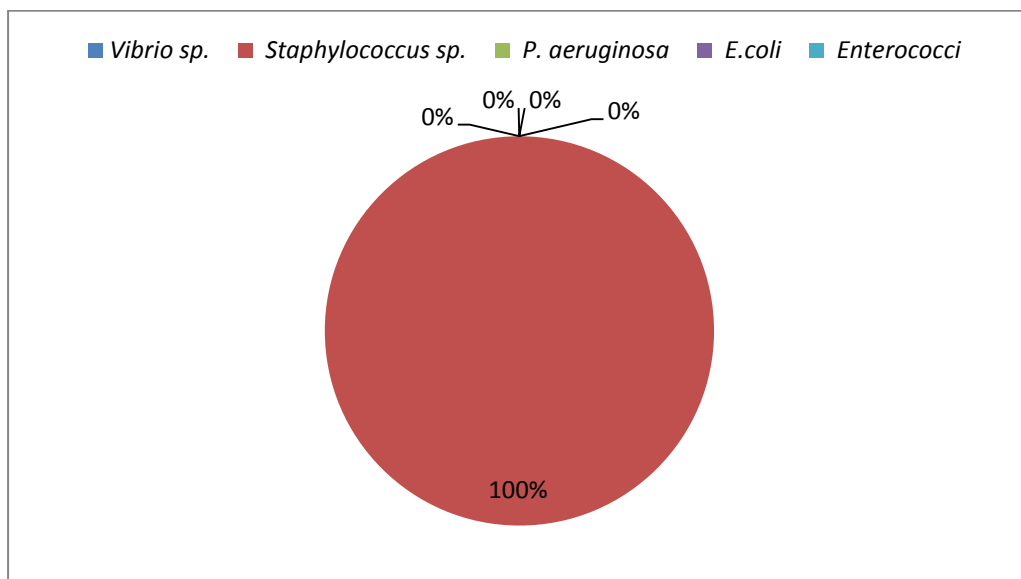
Εικόνα 6.57: Ποσοστιαία εικόνα άμμου για την Παραλία Α.



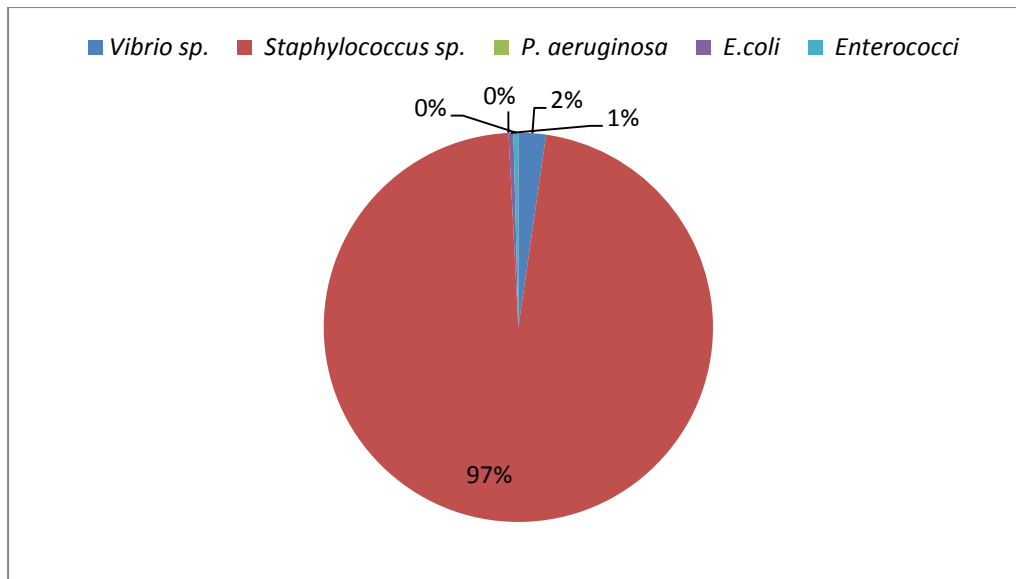
Εικόνα 6.58: Ποσοστιαία εικόνα άμμου για την Παραλία Β.



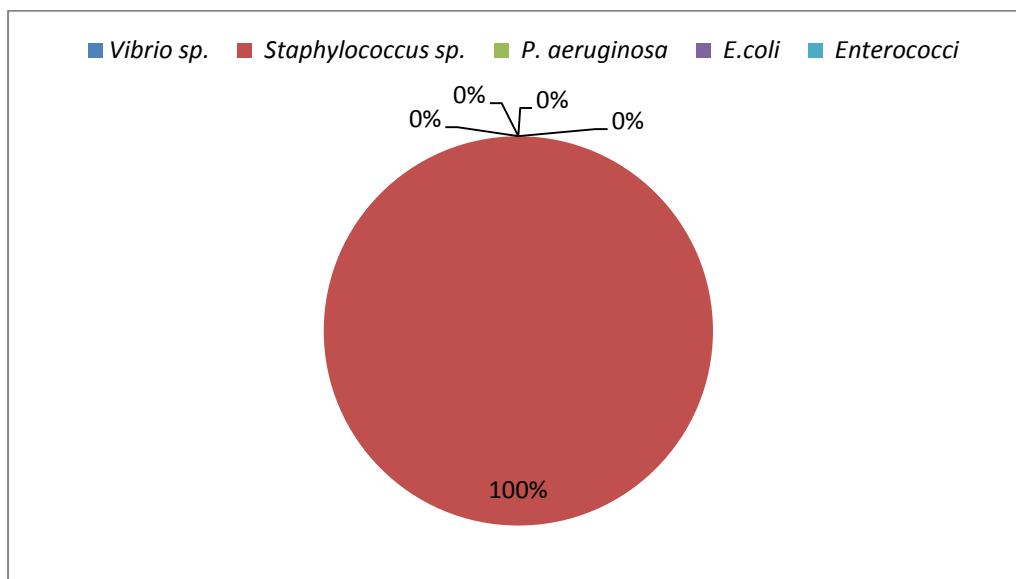
Εικόνα 6.59: Ποσοστιαία εικόνα άμμου για την Παραλία Γ.



Εικόνα 6.60: Ποσοστιαία εικόνα άμμου για την Παραλία Δ.



Εικόνα 6.61: Ποσοστιαία εικόνα άμμου για την Παραλία Ε.



Εικόνα 6.62: Ποσοστιαία εικόνα άμμου για την Παραλία ΣΤ.

Συνοψίζοντας για την άμμο, από τις Εικόνες 6.58 – 6.62, παρατηρείται ότι ο *Staphylococcus sp.* κυριαρχεί σε όλες τις υπό εξέταση παραλίες με ποσοστά 100% στις Α, Δ και ΣΤ, 99% στις Β και Γ και 97% στην Ε. Οι υπόλοιποι δείκτες κατέχουν σχεδόν μηδενικά ποσοστά.

6.2. Αποτελέσματα PCR

Όπως έγινε γνωστό από το Κεφάλαιο 5 (5.5.1 – 5.5.4), εφαρμόστηκε η μέθοδος της PCR με ηλεκτροφόρηση των δειγμάτων σε πήκτωμα αγαρόζης. Λόγω της φύσης της μεθόδου, επιλέχθηκαν συγκεκριμένα είδη των υπό μελέτη βακτηριακών γενών. Τα είδη των μικροοργανισμών, καθώς και συνοπτικές πληροφορίες αυτών παρουσιάζονται στις υποενότητες 6.2.1 – 6.2.4.

6.2.1. *Pseudomonas aeruginosa*

Γενικά, απαντώνται πολλά είδη *Pseudomonas* στο περιβάλλον, και κυρίως στο νερό και στο έδαφος. Είναι αρνητικά κατά Gram βακτήρια που έχουν την ικανότητα να αναπτύσσονται σε περιπτώσεις ύπαρξης χαμηλού ποσοστού θρεπτικών υλικών. Η περίπτωση της *Pseudomonas aeruginosa* (Ψευδομονάδα η πυοκυανική ή αεριογόνος) είναι η πιο σημαντική όσον αφορά τη δημόσια υγεία, διότι είναι ανθεκτική σε πολλά αντιβιοτικά και σε περίπτωση πρόσβασης στο σώμα μέσω πληγών ή ενδοφλέβιων διαδικασιών, μπορεί να οδηγήσει σε σοβαρότατες νοσοκομειακές μολύνσεις. Ασθένειες που μπορούν να προκληθούν από το εν λόγω βακτήριο είναι: ενδοκαρδίτιδα, πνευμονία (ινοκυστική νόσος), σηψαιμία, μηνιγγίτιδα, εξωτερική ωτίτιδα, κερατίτιδα, ενδοφθαλμίτιδα, λοιμώξεις τραυμάτων, ουρολοιμώξεις, δερματικές λοιμώξεις. Η ακραία αντίστασή της σε αντιβιοτικά μπορεί να αιτιολογήσει το γεγονός του ότι είναι πανταχού παρόν βακτήριο και επιλέγει να αποικίσει στο δέρμα και στις βλεννώδεις μεμβράνες των ανθρώπων. Είναι επίσης εντερικό παθογόνο και αιτιολογικός παράγοντας της διάρροιας σε νήπια και παιδιά.

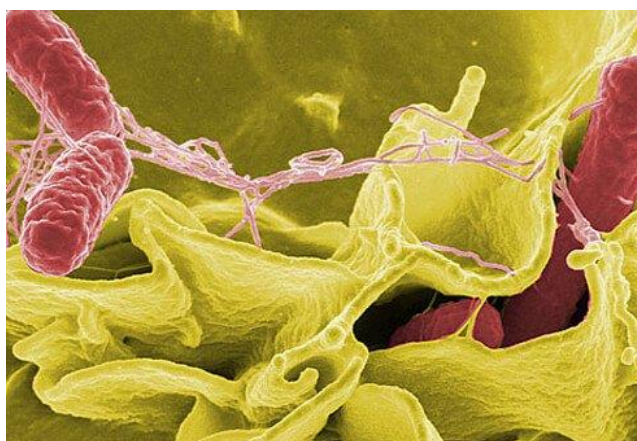
Να τονιστεί ότι δεν καθορίζεται καμία Οδηγία για την αντιμετώπισή της *Pseudomonas aeruginosa*. Παρόλα αυτά, έχει προταθεί από επιστήμονες να συμπεριληφθεί μεταξύ άλλων στις παραμέτρους για την αξιολόγηση ποιότητας της άμμου, έτσι ώστε να διατυπωθούν συνδέσεις μεταξύ ασθενειών και παθογόνων (Sabino et al., 2014).



Εικόνα 6.63: *Pseudomonas aeruginosa*.

6.2.2. *Salmonella* sp.

Ο μικροβιολογικός έλεγχος του θαλασσινού νερού περιλαμβάνει, σε συγκεκριμένες περιπτώσεις, την αναζήτηση για *Salmonella* sp., της οποίας η παρουσία έχει συνυφανθεί με πολύ υψηλές συγκεντρώσεις κοπρανωδών κολοβακτηριοειδών (>10000 unit/100mL) και ολικών κολοβακτηριοειδών (Gabutti et. al, 2000). Η σχέση του εν λόγω βακτηρίου με μικροβιακούς δείκτες έχει μελετηθεί από την επιστημονική κοινότητα τόσο παλαιότερα (Moriñigo, Córnaç, Muñoz, Romero, & Borrego, 1990), όσο και πιο πρόσφατα (Maria A. Efstratiou, Mavridou, & Richardson, 2009).



Εικόνα 6.64: *Salmonella* sp.

Όσον αφορά, λοιπόν, τη *Salmonella* sp., πρόκειται για ένα αρνητικό κατά Gram βακτηριακό γένος. Η μόλυνση από *Salmonella* sp. Μπορεί να προκαλέσει νοσηρότητα και θνησιμότητα παγκοσμίως στους ξενιστές της, ανάλογα με το αν η

μόλυνση είναι οξεία και περιορισμένη ή συστηματική και χρόνια. Επιπροσθέτως, τα βακτήρια αυτά έχουν αναπτύξει πολύπλοκους μηχανισμούς για να αποφεύγουν ή να ανατρέπουν την ανοσία προς όφελός τους, ενώ συχνά το σημείο που έχει μολυνθεί μπορεί να διαδραματίσει σπουδαίο ρόλο τόσο στην απόκριση ανοσοποιητικού συστήματος όσο και στην τύχη του βακτηρίου (Kurtz, Goggins, & McLachlan, 2017). Μπορεί μεταξύ άλλων να προκαλέσει γαστρεντερίτιδα, τυφοειδή πυρετό, σαλμονέλωση, παράτυφο.

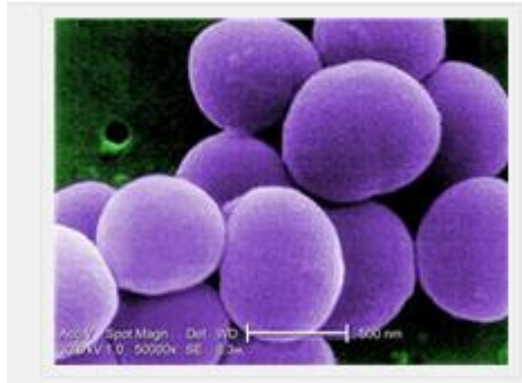
6.2.3. *Staphylococcus aureus*

Ο *Staphylococcus aureus* θεωρείται εδώ και πολύ καιρό ως μία νέα παράμετρος αξιολόγησης της ποιότητας του θαλασσινού νερού και έχει προστεθεί στις ήδη υπάρχουσες παραμέτρους. Η παρουσία του στο θαλάσσιο παράκτιο περιβάλλον συνδέεται με τον αριθμό των λουόμενων και μπορεί να θεωρηθεί ως δείκτης επικινδυνότητας για ασθένειες στο δέρμα, τα μάτια και τα αυτιά. Είναι επίσης γεγονός ότι γενικότερα φέρεται να είναι όλο και πιο συχνά συνδεδεμένος με αυτά τα είδη ασθενειών από ό,τι με γαστρεντερικά συμπτώματα.

Άλλες έρευνες έχουν δείξει ότι το εν λόγω βακτήριο απορρίπτεται από λουόμενους καθώς κολυμπούν. Επιπλέον, φέρεται να προέρχεται από το στόμα, τη μύτη, το δέρμα και από το λαιμό των λουόμενων. Είναι άξιο αναφοράς, επίσης, ότι η αξιοσημείωτη παρουσία του σταφυλόκοκκου στα ούρα τον κάνει έναν καλό δείκτη για την πυκνότητα της παραλίας σε λουόμενους ή των ρύπων που προέρχονται από αυτούς.

Επιπλέον, έχει προταθεί, όπως και η *Pseudomonas aeruginosa*, από επιστήμονες να συμπεριληφθεί μεταξύ άλλων στις παραμέτρους για την αξιολόγηση ποιότητας της άμμου, έτσι ώστε να διατυπωθούν συνδέσεις μεταξύ ασθενειών και παθογόνων (Sabino et al., 2014).

Εδώ να σημειωθεί ότι παρόλο που οι *Staphylococci* είναι αλοφιλικά βακτήρια, που σημαίνει ότι μπορεί να αναπτυχθούν σε περιβάλλοντα με αλάτι, όπως είναι η θάλασσα, η σταθερότητά τους στο θαλασσινό νερό και η ικανότητά τους να προσαρμόζονται σε διαφορετικά περιβάλλοντα είναι ακόμα αμφίβολη (Gabutti, De Donno, Bagordo, & Montagna, 2000).

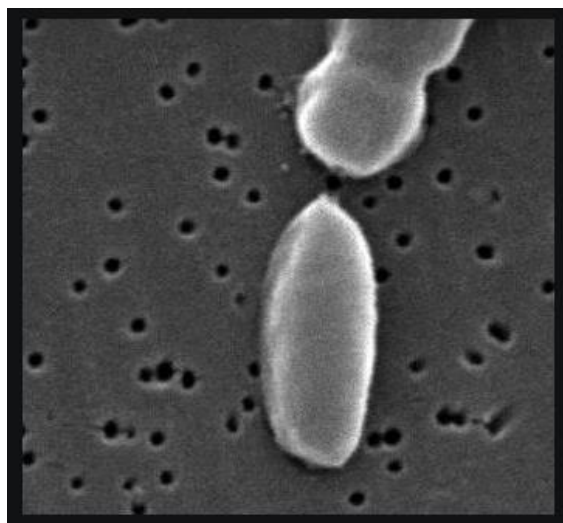


Εικόνα 6.65 : Χρυσίζων σταφυλόκοκκος (*S. aureus*).

6.2.4. *Vibrio* sp.

Vibrio parahaemolyticus

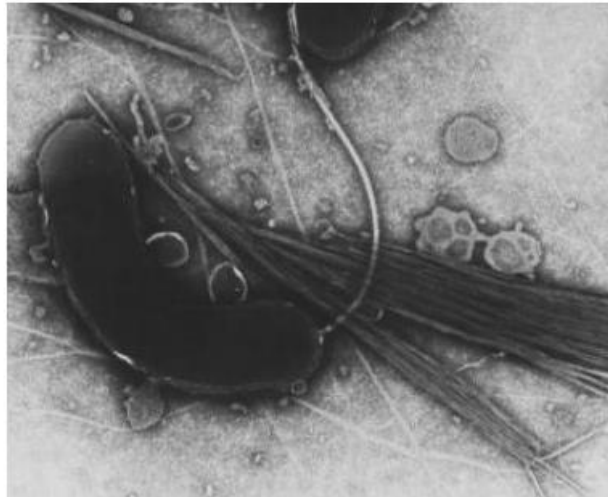
Το παρααιμολυτικό δονάκιο (*Vibrio parahaemolyticus*) είναι ένα αρνητικό κατά Gram αλοφιλικό βακτήριο. Συναντάται σε εκβολές ποταμών, θάλασσα και παράκτια περιβάλλοντα. Το *V. parahaemolyticus* είναι ο κυρίαρχος αιτιώδης παράγοντας γαστρεντερίτιδας έπειτα από κατανάλωση ωμών, μαγειρεμένων ή κακώς χειρισμένων θαλάσσιων προϊόντων. Σε πιο σπάνιες περιπτώσεις, το εν λόγω βακτήριο προκαλεί μόλυνση τραυμάτων, αυτιών ή σηψαιμία σε άτομα με προϋπάρχοντα συμπτώματα (Letchumanan, Chan, & Lee, 2014).



Εικόνα 6.66: Το *Vibrio parahaemolyticus* από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης.

Vibrio cholerae

Όπως λέει και το όνομά του, το δονάκιο της χολέρας (*Vibrio cholerae*) είναι το βακτήριο που προκαλεί τη χολέρα. Πρόκειται για μία διαρροϊκή ασθένεια, η οποία μπορεί να είναι ασυμπτωματική ή ήπια, αλλά μπορεί να προκαλέσει αφυδάτωση ή ακόμα και θάνατο μέσα σε κάποιες ώρες από την έναρξη της ασθένειας.



Εικόνα 6.67: Το *Vibrio cholerae* από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.

Vibrio vulnificus

Το *Vibrio vulnificus* είναι ένα αλόφιλο βακτήριο, αρνητικό κατά Gram, που απαντάται συνήθως σε υδάτινα περιβάλλοντα. Διαφέρει από τα άλλα δονάκια στο ότι χρησιμοποιεί τη λακτόζη. Διακρίνονται 3 βιότυποι του εν λόγω βακτηρίου, με βάση φυσιολογικές, βιοχημικές και ορολογικές ιδιότητες. Μεταξύ των παθογόνων στελεχών για τον άνθρωπο επικρατεί ο βιότυπος 1, ο οποίος μπορεί να προκαλέσει πρωτοπαθή σηψαιμία, ακολουθούμενη από εμφάνιση δερματικών βλαβών σχεδόν πάντα σχετιζόμενων με κατανάλωση ωμών θαλασσινών, κυτταρίτιδα έπειτα από επιμόλυνση τραύματος που είτε προϋπήρχε, είτε συνέβη σε θαλασσινό νερό ή ακόμα και σε υγιή άτομα, συνήθως ανοσοκατασταλμένα και οξεία γαστρεντερίτιδα έπειτα από κατανάλωση θαλασσινών. Αξιοσημείωτο είναι ένα μεμονωμένο περιστατικό, κατά το οποίο 65χρονος διεκομίσθη στο Γενικό Νοσοκομείο Πειραιά «Τζάνειο» με ξηρά γάγγραινα στο δεξί του χέρι έπειτα από δάγκωμα που υπέστη από κάβουρα σε θαλάσσιο περιβάλλον. Στις εξετάσεις που υπεβλήθη

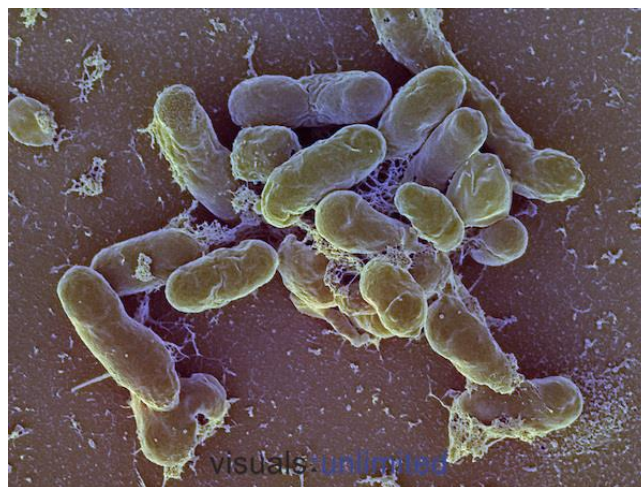
ταυτοποιήθηκε *V. vulnificus*. Ο ασθενής υπέστη ακρωτηριασμό και τελικά κατέληξε (Gerogiokas et al., 2014).



Εικόνα 6.68: Το *Vibrio vulnificus*.

Vibrio alginolyticus

Το *Vibrio alginolyticus* είναι ένα από τα πολλά αρνητικά κατά Gram βακτήρια θαλάσσιας προέλευσης παγκοσμίως. Από προγενέστερες έρευνες έχει διαπιστωθεί η παθογένειά του, και πιο συγκεκριμένα μπορεί να προκαλέσει εντερικά προβλήματα, προβλήματα στα αφτιά και το δέρμα (Schmidt, Chmel, & Cobbs, 1979), ενώ έχει αναφερθεί περιστατικό χρόνιας μηνιγγίτιδας στην Τουρκία που σχετίζεται με το εν λόγω βακτήριο (Citil, Derin, Sankur, Sahan, & Citil, 2015).



Εικόνα 6.69: Το *Vibrio alginolyticus*.

Από τις πληροφορίες που παρατέθηκαν παραπάνω, μπορούμε να καταλάβουμε τη σπουδαιότητα και το λόγο που έγινε διερεύνηση στα βακτήρια που αναφέρονται στα 6.3.1 – 6.3.4.

Παρόλα αυτά, δεν έγινε ταυτοποίηση των αλληλουχιών που εισήχθησαν στη μέθοδο της PCR με τα παραπάνω είδη βακτηρίων. Οι φωτογραφίες που δείχνουν τα αποτελέσματα της PCR έπειτα από ηλεκτροφόρηση παρουσιάζονται στο ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ. Η μη ταυτοποίηση μπορεί να οφείλεται είτε σε κάποιο πειραματικό σφάλμα τυχαίο ή συστηματικό, ανθρώπινο ή αστοχία της μεθόδου, είτε στο βαθμό καθαρότητας του γενετικού υλικού, είτε στην πλήρη απουσία των συγκεκριμένων παθογόνων από τα δείγματά μας. Όμως, στα αποτελέσματα της καλλιεργητικής μεθόδου που παρουσιάζεται στην παράγραφο 6.1 της εργασίας, έχουμε παρουσία *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus sp.*, *Vibrio sp.* και πιθανή παρουσία *Salmonella sp.*. Οφείλουμε, λοιπόν, να αναφέρουμε ότι στα δείγματά μας φέρεται να υπάρχουν τα συγκεκριμένα βακτηριακά γένη, αλλά διαφορετικά είδη από αυτά που εμείς αναζητήσαμε με τη μέθοδο της PCR, με πιθανότητα, βέβαια, σφάλματος, κατά την οποία εμείς ή ο εργαστηριακός εξοπλισμός δεν ανταποκριθήκαμε και έτσι δεν έγινε δυνατός ο εντοπισμός των ειδών που αναζητήθηκαν.

7. Συμπεράσματα – Προτάσεις για μελλοντική έρευνα

Τα συμπεράσματα της παρούσας διπλωματικής εργασίας αφορούν αρχικά την ποιότητα του νερού των παραλιών που εξετάστηκαν. Πιο αναλυτικά, όσον αφορά τους δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης, η παραλία της Νέας Χώρας, της Χρυσής Ακτής, της Αγίας Μαρίνας και του Πλατανιά βρέθηκαν εντός των ορίων νομοθεσίας, ενώ σε αυτές του Κουμ Καπί και των Αγίων Αποστόλων βρέθηκαν τιμές εκτός ορίων. Στην περίπτωση των Αγίων Αποστόλων, αυτό μπορεί να οφείλεται στη μεγάλη επισκεψιμότητα σε συνδυασμό με το μικρό μέγεθος του κόλπου στον οποίο βρίσκεται, ενώ στην περίπτωση του Κουμ Καπί, μπορεί να οφείλεται στην έλλειψη επαρκούς επεξεργασίας των λυμάτων που εκρέουν από την πόλη των Χανίων αλλά και πιο συγκεκριμένα από τους χώρους εστίασης που την περιβάλλουν.

Μεγίστης σημασίας είναι, επίσης, η επισήμανση των υψηλών τιμών των *Staphylococcus sp.* και *Vibrio sp.* κατά την έρευνά που διεξήχθη. Κρίνοντας από τους συμπληρωματικούς μας δείκτες, πιο ασφαλής για κολύμβηση κρίθηκε η παραλία των Αγίων Αποστόλων, έπειτα του Κουμ Καπί, της Αγίας Μαρίνας, της Νέας Χώρας, του Πλατανιά και λιγότερο ασφαλής κρίθηκε η παραλία της Χρυσής Ακτής. Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε αντίθεση με αυτά των δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης, αφού με βάση αυτά οι λιγότερο ασφαλείς παραλίες για κολύμβηση είναι του Κουμ Καπί και των Αγίων Αποστόλων. Συμπερασματικά, λοιπόν, τα στοιχεία που δίνουν οι δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης και οι συμπληρωματικοί δείκτες είναι αντιφατικά μεταξύ τους και προτείνεται έρευνα για επαναπροσδιορισμό κάποιων παραμέτρων αξιολόγησης υδάτων κολύμβησης.

Συνεχίζοντας, πρέπει να επισημανθεί η μη συνύφανση των αποτελεσμάτων του νερού με αυτών της άμμου των υπό εξέταση παραλιών. Συνολικά, παρατηρήθηκε σχεδόν πλήρης απουσία των δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης από την άμμο, πλήρης απουσία της *Pseudomonas aeruginosa*, σχεδόν πλήρης απουσία του *Vibrio sp.*, ενώ ο μόνος μικροοργανισμός που εντοπίστηκε σε αξιοσημείωτες

τιμές είναι ο *Staphylococcus sp.*. Αυτό συμβαίνει πιθανώς λόγω μη ικανότητας επιβίωσης των μικροοργανισμών που διερευνήθηκαν στην άμμο, πλην του *Staphylococcus sp.*. Παρόλα αυτά, έρευνες έχουν δείξει αφενός ότι στην άμμο υπάρχουν ζώντες μικροοργανισμοί ικανοί ή μη να προκαλέσουν προβλήματα υγείας και αφετέρου ότι υπάρχουν συνδέσεις μεταξύ των δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης με τους παθογόνους μικροοργανισμούς της άμμου. Σε αυτό το σημείο, προτείνεται εκτενέστερη μελλοντική έρευνα σχετικά με την ανθεκτικότητα στελεχών μικροοργανισμών στην άμμο των παραλιών και με την παθογένεια αυτών, αλλά και κρούεται ο κώδωνας του κινδύνου για την αξιολόγηση του *Staphylococcus sp.* ως δείκτη για την ποιότητα της άμμου.

Επιπλέον, εντοπίστηκε πιθανώς *Salmonella sp.*, αλλά η μη ποσοτικοποίησή της δε μπορεί να δώσει ξεκάθαρη εικόνα για το νερό και την άμμο των παραλιών. Να σημειωθεί ότι, όπως έχει προαναφερθεί, παλαιότερες και νεότερες έρευνες έχουν συσχετίσει τον εν λόγω μικροοργανισμό με τους δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης, πχ. τα ολικά ή κοπρανώδη κολοβακτηριοειδή είναι ικανά να υποδεικνύουν την παρουσία *Salmonella sp.* (Maria A. Efstratiou, Mavridou, & Richardson, 2009). Θα μπορούσε, λοιπόν, να διεξαχθεί μία εκτενέστερη έρευνα που να αφορά κατ' εξοχήν τη *Salmonella sp.* και το κατά πόσο κρίνεται σκόπιμος κάποιος έλεγχός της για την αξιολόγηση ποιότητας των κολυμβητικών υδάτων και της άμμου των παραλιών. Η έρευνα αυτή θα μπορούσε να γίνει και για την *Pseudomonas aeruginosa*, που εντοπίστηκε γενικά σε χαμηλές συγκεντρώσεις.

Όσον αφορά τα πλεονεκτήματα της καλλιεργητικής μεθόδου, προκύπτει ότι είναι πιο απλή και άμεση στην εφαρμογή μέθοδος από αυτή της PCR, μπορεί δηλαδή να δώσει αποτελέσματα εύκολα και γρήγορα. Επιπλέον, είναι πιο οικονομική λόγω του εργαστηριακού εξοπλισμού και των υλικών που απαιτούνται για την εφαρμογή της. Όμως, η μέθοδος PCR μπορεί να δώσει πιο συγκεκριμένα και σίγουρα αποτελέσματα σχετικά με τα στελέχη των υπό εξέταση μικροοργανισμών. Εδώ να σημειωθεί ότι η ύπαρξη *Pseudomonas aeruginosa* στην καλλιεργητική μέθοδο και η μη ύπαρξή της στην εφαρμογή της PCR δημιουργεί κάποιες αμφιβολίες σχετικά με το βαθμό εγκυρότητας των μεθόδων, χωρίς όμως να χάνουν

την αξιοπιστία τους, διότι υπάρχει και η πιθανότητα σφάλματος κατά την εφαρμογή τους.

Γενικά, και όπως έχει προταθεί (Sabino et al., 2014), οι καλλιεργητικές μέθοδοι μπορούν να συνεχίσουν να χρησιμοποιούνται τακτικά ως μία μέθοδος αξιολόγησης ποιότητας για τους καλλιεργήσιμους μικροοργανισμούς, ενώ οι μοριακές μέθοδοι που υπάρχουν ήδη, αλλά και αυτές που πρόκειται να ανακαλυφθούν μελλοντικά, μπορούν να εφαρμόζονται για τον εντοπισμό μη καλλιεργήσιμων μικροοργανισμών, έτσι ώστε να γίνεται πιο ραγδαία ο εντοπισμός πιθανών εξάρσεων τους. Καταλαβαίνουμε, βέβαια, ότι η συχνή διεξαγωγή ελέγχων χρήσει μοριακών μεθόδων και τεχνολογιών απαιτεί αξιοσημείωτες επενδύσεις χρημάτων όσον αφορά την εκπαίδευση του εργατικού δυναμικού και τις ανάγκες αναβάθμισης του εξοπλισμού και των εργαστηριακών υλικών. Ωστόσο, τα πλεονεκτήματα των μοριακών μεθόδων θα έκαναν απόσβεση του κόστους μέσω της βελτίωσης της ποιότητας των παραλιών αλλά και της υγείας των λουόμενων.

8. Βιβλιογραφία

1. Ashbolt, N., Grabow, W., & Snozzi, M. (2001). Indicators of microbial water quality. *Water Quality: Guidelines, Standards and Health*, (Grabow 1996), 289–316. <https://doi.org/10.4324/9781315693606>
2. Citil, B. E., Derin, S., Sankur, F., Sahan, M., & Citil, M. U. (2015). Case Report Vibrio alginolyticus Associated Chronic Myringitis Acquired in Mediterranean Waters of Turkey. *Case Report in Infectious Diseases*, 2015, 1–3. <https://doi.org/10.1155/2015/187212>
3. Cleaver Scientific Ltd [ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ]
Available at: <http://www.cleaverscientific.com/>
Πρόσβαση: 08/2017
4. Cui, Q., Fang, T., Huang, Y., Dong, P., & Wang, H. (2016). Evaluation of bacterial pathogen diversity, abundance and health risks in urban recreational water by amplicon next-generation sequencing and quantitative PCR. *Journal of Environmental Sciences (China)*, 57. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2016.11.008>
5. Economou, V., Gousia, P., Kansouzidou, A., Sakkas, H., Karanis, P., & Papadopoulou, C. (2013). Prevalence, antimicrobial resistance and relation to indicator and pathogenic microorganisms of Salmonella enterica isolated from surface waters within an agricultural landscape. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 216(4), 435–444. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2012.07.004>
6. Efstratiou, M. A., Mavridou, A., & Richardson, C. (2009). Prediction of Salmonella in seawater by total and faecal coliforms and Enterococci. *Marine Pollution Bulletin*, 58(2), 201–205. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2008.10.003>
7. Efstratiou, M. A., Mavridou, A., Richardson, S. C., & Papadakis, J. A. (1998). Correlation of bacterial indicator organisms with Salmonella sp.,

Staphylococcus aureus and *Candida albicans* in sea water. *Lett. Appl. Microbiol.*, 26(5), 342–346.

8. Erler, R., Wichels, A., Heinemeyer, E. A., Hauk, G., Hippelein, M., Reyes, N. T., & Gerdt, G. (2015). VibrioBase: A MALDI-TOF MS database for fast identification of *Vibrio* sp. that are potentially pathogenic in humans. *Systematic and Applied Microbiology*, 38(1), 16–25. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2014.10.009>
9. Gabutti, G., De Donno, A., Bagordo, F., & Montagna, M. T. (2000). Comparative survival of faecal and human contaminants and use of *Staphylococcus aureus* as an effective indicator of human pollution. *Marine Pollution Bulletin*, 40(8), 697–700. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(00\)00007-2](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(00)00007-2)
10. Goodwin, K. D., McNay, M., Cao, Y., Ebentier, D., Madison, M., & Griffith, J. F. (2012). A multi-beach study of *Staphylococcus aureus*, MRSA, and enterococci in seawater and beach sand. *Water Research*, 46(13), 4195–4207. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.04.001>
11. Government of South Australia, SA Health, Cholera - including symptoms, treatment and prevention. [HΛEKPONIKO]
Available at: <http://www.sahealth.sa.gov.au/wps/wcm/connect/Public+Content/SA+Health+Internet/Health+topics/Health+conditions+prevention+and+treatment/Infectious+diseases/Cholera/Cholera+-including+symptoms+treatment+and+prevention>
Πρόσβαση: 09/2017
12. Griffith, J. F., Weisberg, S. B., Arnold, B. F., Cao, Y., Schiff, K. C., & Colford, J. M. (2016). Epidemiologic evaluation of multiple alternate microbial water quality monitoring indicators at three California beaches. *Water Research*, 94, 371–381. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.02.036>
13. HIMEDIA [HΛEKPONIKO]
Available at: <http://www.himedialabs.com/HML/Pages/default.aspx>

Πρόσβαση: 08/2017

14. HCDCP E-bulletin: Εργαστηριακοί έλεγχοι νερών αναψυχής από το δίκτυο εργαστηρίων ΚΕΔΥ-ΠΕΔΥ. [ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ]

Available at: <http://www2.keelpno.gr/blog/?p=1958>

Πρόσβαση: 09/2017

15. IMAGES [ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΑ]: Salmonella sp.

Available at: http://www.emedicinehealth.com/salmonella/article_em.htm

Πρόσβαση: 09/2017

16. IMAGES [ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΑ]: Vibrio alginolyticus

Available at: http://www.picquery.com/vibrio-alginolyticus_%7CzNw%7CwICKJqnz0u*aQm2rxnw5Jqm*TmoS2mO7XcLict/

Πρόσβαση: 09/2017

17. IMAGES [ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΑ]: Vibrio cholerae

Available at: <http://emedicine.medscape.com/article/962643-overview>

Πρόσβαση: 09/2017

18. IMAGES [ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΑ]: Vibrio parahaemolyticus

Available at: <http://www.ppdictionary.com/bacteria/gnbac/parahemolyticus.htm>

Πρόσβαση: 09/2017

19. Kurtz, J. R., Goggins, J. A., & McLachlan, J. B. (2017). Salmonella infection: Interplay between the bacteria and host immune system. *Immunology Letters*, 190(July), 42–50. <https://doi.org/10.1016/j.imLet.2017.07.006>

20. LABM – A Neogen Company [ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ]

Available at: <http://www.labm.com/>

Πρόσβαση: 08/2017

21. Lamparelli, C. C., Pogreba-Brown, K., Verhougstraete, M., Sato, M. I. Z., de Castro Bruni, A., Wade, T. J., & Eisenberg, J. N. S. (2015). Are fecal indicator bacteria appropriate measures of recreational water risks in the tropics: A cohort study of beach goers in Brazil? *Water Research*, 87, 59–68. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.09.001>

22. Letchumanan, V., Chan, K. G., & Lee, L. H. (2014). *Vibrio parahaemolyticus*: A review on the pathogenesis, prevalence, and advance molecular identification techniques. *Frontiers in Microbiology*, 5(DEC), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00705>
23. Martinez-Urtaza, J., Saco, M., de Novoa, J., Perez-Pineiro, P., Peiteado, J., Lozano-Leon, A., & Garcia-Martin, O. (2004). Influence of Environmental Factors and Human Activity on the Presence of Salmonella Serovars in a Marine Environment. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(4), 2089–2097. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.4.2089>
24. Medscape, 2017, Cholera [ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ]
Available at: <http://emedicine.medscape.com/article/962643-overview>
Πρόσβαση: 09/2017
25. Moriñigo, M. A., Córna, R., Muñoz, M. A., Romero, P., & Borrego, J. J. (1990). Relationships between Salmonella spp and indicator microorganisms in polluted natural waters. *Water Research*, 24(1), 117–120. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(90\)90073-F](https://doi.org/10.1016/0043-1354(90)90073-F)
26. Nayak, M., Kotian, A., Marathe, S., & Chakravorty, D. (2009). Detection of microorganisms using biosensors-A smarter way towards detection techniques. *Biosensors and Bioelectronics*, 25(4), 661–667. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2009.08.037>
27. PanReac AppliChem [ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ]
Available at: <https://www.applichem.com/en/home-page/>
Πρόσβαση: 08/2017
28. Sabino, R., Rodrigues, R., Costa, I., Carneiro, C., Cunha, M., Duarte, A., ... Brandão, J. (2014). Routine screening of harmful microorganisms in beach sands: Implications to public health. *Science of the Total Environment*, 472, 1062–1069. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.11.091>
29. Schmidt, U., Chmel, H., & Cobbs, C. (1979). *Vibrio alginolyticus* infections in humans. *Journal of Clinical Microbiology*, 10(5), 666–668.

30. Testolin, R. C., Almeida, T. C. M., Polette, M., Branco, J. O., Fischer, L. L., Niero, G., ... Radetski, C. M. (2017). Comparing different methods for fast screening of microbiological quality of beach sand aimed at rapid-response remediation. *Marine Pollution Bulletin*.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.02.069>
31. Toze, S. (1999). PCR and the detection of microbial pathogens in water and wastewater. *Water Research*, 33(17), 3545–3556.
[https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(99\)00071-8](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(99)00071-8)
32. Xie, Y., Qiu, N., & Wang, G. (2017). Toward a better guard of coastal water safety—Microbial distribution in coastal water and their facile detection. *Marine Pollution Bulletin*. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.02.029>
33. Βασιλική Ευθ. Καραούλη, Γενικό Χημείο του Κράτους, ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΝΕΡΩΝ ΑΚΤΩΝ ΚΟΛΥΜΒΗΣΗΣ [ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ]
 Available at: <http://www.gcsf.gr/media/environment/karaoulh.pdf>
 Πρόσβαση: 08/2017
34. Βενιέρη Δανάη, 2015. Πολυτεχνείο Κρήτης – Σχολή Μηχανικών Περιβάλλοντος, Presentation_09: ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ ΥΔΑΤΙΝΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ (ΝΕΡΟ - ΛΥΜΑΤΑ) [ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ]
 Available at: <https://www.eclass.tuc.gr/>
 Πρόσβαση: 09/2017
35. Γουνάκη Ιωσηφίνα, 2017. Πολυτεχνείο Κρήτης – Σχολή Μηχανικών Περιβάλλοντος, ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΑΣΚΗΣΕΙΣ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ (ΜΠ 126), σελ. 3, 15, 54-55.
36. Γ. Παπανικολάου και Δ. Παλαιολόγου, ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΑΣΚΗΣΕΙΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ, Κεφάλαιο 6: Έλεγχος της ποιότητας και μέτρηση της συγκέντρωσης των νουκλεϊκών οξέων [ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ]
 Available at:
https://repository.kallipos.gr/bitstream/11419/646/1/02_chapter_06.pdf
 Πρόσβαση: 07/2017

37. Δρ Ε. Ν. Βελονάκης , Ελληνική Επιτροπή για τη Διαχείριση των Υδάτινων Πόρων, Μικροβιολογική ποιότητα πόσιμου νερού και δημόσια υγεία, σελ 3,6 [ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ]

Available at: http://www.waterinfo.gr/eedyp/Paros_papers/velonakis_e.pdf

Πρόσβαση: 09/2017

38. ΕΙΔΙΚΗ ΓΡΑΜΜΑΤΕΙΑ ΥΔΑΤΩΝ Μητρώο ταυτοτήτων υδάτων κολύμβησης της Ελλάδας [ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ]

Available at: <http://www.bathingwaterprofiles.gr/>

http://www.bathingwaterprofiles.gr/sites/all/themes/danland/docs/pdf_profiles/GRBW139325117.pdf

http://www.bathingwaterprofiles.gr/sites/all/themes/danland/docs/pdf_profiles/GRBW139325112.pdf

http://www.bathingwaterprofiles.gr/sites/all/themes/danland/docs/pdf_profiles/GRBW139325108.pdf

http://www.bathingwaterprofiles.gr/sites/all/themes/danland/docs/pdf_profiles/GRBW139325109.pdf

http://www.bathingwaterprofiles.gr/sites/all/themes/danland/docs/pdf_profiles/GRBW139325110.pdf

http://www.bathingwaterprofiles.gr/sites/all/themes/danland/docs/pdf_profiles/GRBW139323083.pdf

<http://www.bathingwaterprofiles.gr/map>

Πρόσβαση: 07/2017

39. Ελληνική Εταιρία Προστασίας της Φύσης [ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ]

Available at: <https://eepf.gr/el/blueflag>

Πρόσβαση: 09/2017

40. Ιατρονέτ, 2011, Σαλμονέλωση και τρόποι προστασίας [ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ]

Available at: http://www.iatronet.gr/article.asp?art_id=15622

Πρόσβαση: 09/2017

41. Καθηγητής Ιωάννης Σαββαΐδης, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, «Γενική Μικροβιολογία. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ ΥΔΑΤΙΝΟΥ ΟΙΚΟΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ & ΥΔΑΤΟΓΕΝΕΙΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ» Έκδοση: 1.0. Ιωάννινα 2014 [ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ]

Available at:

<http://ecourse.uoi.gr/course/view.php?id=1151>

Κεφάλαιο 12 available at:

http://ecourse.uoi.gr/pluginfile.php/88685/mod_resource/content/2/%CE%9A%CE%B5%CF%86%CE%AC%CE%BB%CE%B1%CE%B9%CE%BF%2012.pdf

Πρόσβαση: 09/2017

42. Κατσιαφλάκα Άννα, ΠΕΔΥ Θεσσαλίας, Ερμηνεία αποτελεσμάτων για μικροβιολογικές παραμέτρους και διορθωτικές ενέργειες. [ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ]

Available

at:

http://www.keelpno.gr/Portals/0/%CE%91%CF%81%CF%87%CE%B5%CE%AF%CE%B1/%CE%A0%CF%81%CE%BF%CE%B3%CF%81%CE%AC%CE%BC%CE%B%CE%B1%CF%84%CE%B1/%CE%94%CE%95%CE%94%CE%A5/%CE%98%CE%B5%CF%83%CF%83%CE%B1%CE%BB%CE%AF%CE%B1/08_%CE%91.%20%CE%9A%CE%B1%CF%84%CF%83%CE%B9%CE%B1%CF%86%CE%BB%CE%AC%CE%BA%CE%B1.pdf

Πρόσβαση: 09/2017

43. Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ.): Χάρτης Εργαστηρίων Δημόσιας Υγείας (ΚΕΔΥ, ΠΕΔΥ). [ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ]

Available at:

<http://www.keelpno.gr/el-gr/%CE%BA%CE%B5%CE%B4%CF%85%CF%80%CE%B5%CE%B4%CF%85.aspx>

Πρόσβαση: 09/2017

44. Πανεπιστήμιο Κρήτης (αρχείο), 2012, Παράρτημα IV: Κατηγορίες παθογόνων μικροοργανισμών [ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ]

Available

at:

https://www.uoc.gr/files/items/9/996/parartima_iv.pdf?rnd=1348063962

Πρόσβαση: 09/2017

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Ι. Πληροφορίες για τις παραλίες των δειγματοληψιών

ΠΑΡΑΛΙΑ Α



Εικόνα Ι.1 : Η παραλία του Κούμ Καπί.

ΠΙΝΑΚΑΣ Ι.1 : ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΑΡΑΛΙΑΣ Α	
ΟΝΟΜΑΣΙΑ	ΚΟΥΜ ΚΑΠΙ
ΤΟΠΟΘΕΣΙΑ	Κέντρο Χανίων Κρήτης (βορειοδυτικά παράλια)
ΜΗΚΟΣ ΑΚΤΗΣ	270 μέτρα
ΠΛΑΤΟΣ ΑΚΤΗΣ	2-15 μέτρα
ΚΛΙΣΗ ΠΥΘΜΕΝΑ	5 μέτρα σε μέση απόσταση 100 μέτρων
ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΜΟΣ;	Βόρειος
ΟΡΓΑΝΩΜΕΝΗ ΠΑΡΑΛΙΑ	Όχι
ΜΕΓΙΣΤΟΣ ΑΡΙΘΜΟΣ ΛΟΥΟΜΕΝΩΝ	Η παραλία δεν προτιμάται από τους λουόμενους
ΑΜΕΣΗ ΠΕΡΙΟΧΗ ΑΚΤΗΣ	Οικιστική / Εμπορικές-τουριστικές υποδομές
ΒΙΟΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ	Φαιοφύκη, χλωροφύκη
ΧΡΗΣΕΙΣ ΓΗΣ ΕΥΡΥΤΕΡΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ	Αστικός ιστός

ΠΙΝΑΚΑΣ Ι.2: ΥΔΡΟΛΟΓΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΤΕΩΡΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΑΡΑΛΙΑΣ Α	
ΜΕΣΟ ΕΤΗΣΙΟ ΥΨΟΣ ΒΡΟΧΗΣ	664mm
ΜΕΓΙΣΤΟ ΜΗΝΙΑΙΟ ΥΨΟΣ ΒΡΟΧΗΣ	497,1mm
ΕΛΑΧΙΣΤΟ ΜΗΝΙΑΙΟ ΥΨΟΣ ΒΡΟΧΗΣ	0,1mm
ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ ΑΝΕΜΟΥ (ΕΠΙΚΡΑΤΕΣΤΕΡΗ)	Βορειοδυτική, ακολουθούμενη από βόρεια και νοτιοδυτική με μικρή ένταση
ΜΕΣΗ ΜΗΝΙΑΙΑ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΚΟΛΥΜΒΗΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΔΟ	24 ^ο C
ΜΕΓΙΣΤΗ ΜΗΝΙΑΙΑ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΚΟΛΥΜΒΗΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΔΟ	30 ^ο C

ΠΙΝΑΚΑΣ Ι.3: ΠΙΕΣΕΙΣ ΠΑΡΑΛΙΑΣ Α	
ΥΓΡΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ	<ol style="list-style-type: none"> 1. Δίκτυο αποχέτευσης που εξυπηρετείται από την Εγκατάσταση Επεξεργασίας Λυμάτων Χανίων (115.000 ισοδύναμοι κάτοικοι). Περιλαμβάνει τριτοβάθμια επεξεργασία με χλωρίωση και η διάθεση των επεξεργασμένων λυμάτων γίνεται μέσω υποθαλάσσιου αγωγού, με εκβολή στη θαλάσσια περιοχή βόρεια της ακτής. 2. Αντλιοστάσιο μεταφοράς λυμάτων. Σε περίπτωση διακοπής λειτουργίας του, ενεργοποιείται η υπερχειλίση ασφαλείας του με αποτέλεσμα την παροδική διάθεση ανεπεξέργαστων λυμάτων στο θαλάσσιο χώρο της ακτής.
ΕΚΒΟΛΕΣ ΠΟΤΑΜΩΝ, ΡΕΜΑΤΩΝ – ΕΚΒΑΛΛΟΝΤΕΣ ΑΓΩΓΟΙ	Εκβολές αγωγών μεταφοράς ομβρίων (που μπορεί να περιέχουν τοξικές ουσίες λόγω της πόλης) κατά μήκος της ακτής.

ΠΑΡΑΛΙΑ Β



Εικόνα 1.2: Η παραλία της Νέας Χώρας.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1.4: ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΑΡΑΛΙΑΣ Β	
ΟΝΟΜΑΣΙΑ	ΝΕΑ ΧΩΡΑ
ΤΟΠΟΘΕΣΙΑ	2χλμ. δυτικά της πόλης των Χανίων (βορειοδυτικά παράλια Κρήτης)
ΜΗΚΟΣ ΑΚΤΗΣ	510 μέτρα
ΠΛΑΤΟΣ ΑΚΤΗΣ	30 μέτρα
ΚΛΙΣΗ ΠΥΘΜΕΝΑ	5 μέτρα σε μέση απόσταση 210 μέτρων από την ακτή
ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΜΟΣ;	Βορειοδυτικός
ΟΡΓΑΝΩΜΕΝΗ ΠΑΡΑΛΙΑ	Ναι
ΜΕΓΙΣΤΟΣ ΑΡΙΘΜΟΣ ΛΟΥΟΜΕΝΩΝ	1000
ΑΜΕΣΗ ΠΕΡΙΟΧΗ ΑΚΤΗΣ	Παραλιακός δρόμος, αστικός ιστός
ΒΙΟΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ	-
ΧΡΗΣΕΙΣ ΓΗΣ ΕΥΡΥΤΕΡΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ	Αστική χρήση, περιορισμένες εκτάσεις με καλλιέργειες

ΠΙΝΑΚΑΣ Ι.5: ΥΔΡΟΛΟΓΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΤΕΩΡΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΑΡΑΛΙΑΣ Β	
ΜΕΣΟ ΕΤΗΣΙΟ ΥΨΟΣ ΒΡΟΧΗΣ	664mm
ΜΕΓΙΣΤΟ ΜΗΝΙΑΙΟ ΥΨΟΣ ΒΡΟΧΗΣ	497,1mm
ΕΛΑΧΙΣΤΟ ΜΗΝΙΑΙΟ ΥΨΟΣ ΒΡΟΧΗΣ	0,1mm
ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ ΑΝΕΜΟΥ (ΕΠΙΚΡΑΤΕΣΤΕΡΗ)	Βορειοδυτική, ακολουθούμενη από βόρεια και νοτιοδυτική με μικρή ένταση
ΜΕΣΗ ΜΗΝΙΑΙΑ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΚΟΛΥΜΒΗΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΔΟ	24° C
ΜΕΓΙΣΤΗ ΜΗΝΙΑΙΑ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΚΟΛΥΜΒΗΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΔΟ	30° C

ΠΙΝΑΚΑΣ Ι.6: ΠΙΕΣΕΙΣ ΠΑΡΑΛΙΑΣ Β	
ΥΓΡΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ	Δίκτυο αποχέτευσης που εξυπηρετείται από την Εγκατάσταση Επεξεργασίας Λυμάτων Χανίων (115.000 ισοδύναμοι κάτοικοι). Περιλαμβάνει τριτοβάθμια επεξεργασία με χλωρίωση και η διάθεση των επεξεργασμένων λυμάτων γίνεται μέσω υποθαλάσσιου αγωγού, με εκβολή στη θαλάσσια περιοχή ανοικτά της ακτής.
ΕΚΒΟΛΕΣ ΠΟΤΑΜΩΝ, ΡΕΜΑΤΩΝ – ΕΚΒΑΛΛΟΝΤΕΣ ΑΓΩΓΟΙ	Εκβολή ποταμού Κλαδισού (200 μέτρα δυτικά της παραλίας).
ΛΙΜΑΝΙΑ – ΜΑΡΙΝΕΣ	Χώρος ελλιμενισμού μικρών ιδιωτικών πλεούμενων στο ανατολικό άκρο της ακτής (50 μέτρα από την περιοχή κολύμβησης) → απορρίψεις (αστικά απόβλητα, απορρίματα) μικρών σκαφών που προσεγγίζουν την παραλία και πιθανή διαρροή πετρελαίου από σκάφη με ελλιπή συντήρηση.

ΛΟΙΠΕΣ ΠΗΓΕΣ	Ο μεγάλος αριθμός λουόμενων είναι πιθανό να υποβαθμίζει την ποιότητα των υδάτων της ακτής.
---------------------	--

ΠΑΡΑΛΙΑ Γ



Εικόνα 1.3: Η παραλία της Χρυσής Ακτής.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1.7: ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΑΡΑΛΙΑΣ Γ	
ΟΝΟΜΑΣΙΑ	ΧΡΥΣΗ ΑΚΤΗ
ΤΟΠΟΘΕΣΙΑ	Έμπροσθεν οικισμού Αγ. Αποστόλων, 2,5 χλμ. δυτικά των Χανίων (βορειοδυτικά παράλια Κρήτης)
ΜΗΚΟΣ ΑΚΤΗΣ	530 μέτρα
ΠΛΑΤΟΣ ΑΚΤΗΣ	45 μέτρα
ΚΛΙΣΗ ΠΥΘΜΕΝΑ	5 μέτρα σε μέση απόσταση 250 μέτρων από την ακτή
ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΜΟΣ;	Ανατολικός
ΟΡΓΑΝΩΜΕΝΗ ΠΑΡΑΛΙΑ	Ναι
ΜΕΓΙΣΤΟΣ ΑΡΙΘΜΟΣ ΛΟΥΟΜΕΝΩΝ	1000
ΑΜΕΣΗ ΠΕΡΙΟΧΗ ΑΚΤΗΣ	Παραλιακός δρόμος, οικιστική περιοχή, ξενοδοχεία, μόνιμες και παραθεριστικές κατοικίες

ΒΙΟΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ	Πώδης βλάστηση, πεύκα, αλμυρίκια, ευκάλυπτοι
ΧΡΗΣΕΙΣ ΓΗΣ ΕΥΡΥΤΕΡΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ	Χορτολιβαδική και ποολιβαδική βλάστηση, ασυνεχής δόμηση, καλλιέργειες ελαιώνων

ΠΙΝΑΚΑΣ Ι.8: ΥΔΡΟΛΟΓΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΤΕΩΡΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΑΡΑΛΙΑΣ Γ	
ΜΕΣΟ ΕΤΗΣΙΟ ΥΨΟΣ ΒΡΟΧΗΣ	664mm
ΜΕΓΙΣΤΟ ΜΗΝΙΑΙΟ ΥΨΟΣ ΒΡΟΧΗΣ	497,1mm
ΕΛΑΧΙΣΤΟ ΜΗΝΙΑΙΟ ΥΨΟΣ ΒΡΟΧΗΣ	0,1mm
ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ ΑΝΕΜΟΥ (ΕΠΙΚΡΑΤΕΣΤΕΡΗ)	Βορειοδυτική, ακολουθούμενη από βόρεια και νοτιοδυτική με μικρή ένταση
ΜΕΣΗ ΜΗΝΙΑΙΑ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΚΟΛΥΜΒΗΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΔΟ	24° C
ΜΕΓΙΣΤΗ ΜΗΝΙΑΙΑ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΚΟΛΥΜΒΗΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΔΟ	30° C

ΠΙΝΑΚΑΣ Ι.9: ΠΙΕΣΕΙΣ ΠΑΡΑΛΙΑΣ Γ
Δεν υπάρχουν πιέσεις, λόγω της περιορισμένης ανθρώπινης δραστηριότητας.

ΠΑΡΑΛΙΑ Δ



Εικόνα Ι.4: Η παραλία των Αγίων Αποστόλων (IGUANA).

ΠΙΝΑΚΑΣ Ι.10: ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΑΡΑΛΙΑΣ Δ	
ΟΝΟΜΑΣΙΑ	ΑΓΙΟΙ ΑΠΟΣΤΟΛΟΙ (ΙΓΚΟΥΑΝΑ)
ΤΟΠΟΘΕΣΙΑ	Έμπροσθεν οικισμού Αγ. Αποστόλων, 3 χλμ. δυτικά των Χανίων (βορειοδυτικά παράλια Κρήτης)
ΜΗΚΟΣ ΑΚΤΗΣ	250 μέτρα
ΠΛΑΤΟΣ ΑΚΤΗΣ	35 μέτρα
ΚΛΙΣΗ ΠΥΘΜΕΝΑ	5 μέτρα σε μέση απόσταση 210 μέτρων από την ακτή
ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΜΟΣ;	Βόρειος
ΟΡΓΑΝΩΜΕΝΗ ΠΑΡΑΛΙΑ	Ναι
ΜΕΓΙΣΤΟΣ ΑΡΙΘΜΟΣ ΛΟΥΟΜΕΝΩΝ	500
ΑΜΕΣΗ ΠΕΡΙΟΧΗ ΑΚΤΗΣ	Παραλιακός δρόμος, χαμηλή βλάστηση, αραιή δόμηση, μόνιμες και παραθεριστικές κατοικίες, πευκοδάση, καλλιέργειες ελαιώνων

ΒΙΟΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ	-
ΧΡΗΣΕΙΣ ΓΗΣ ΕΥΡΥΤΕΡΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ	Χορτολιβαδική και ποολιβαδική βλάστηση, αραιή δόμηση, καλλιέργειες ελαιώνων

ΠΙΝΑΚΑΣ Ι.11 : ΥΔΡΟΛΟΓΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΤΕΩΡΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΑΡΑΛΙΑΣ Δ	
ΜΕΣΟ ΕΤΗΣΙΟ ΥΨΟΣ ΒΡΟΧΗΣ	664mm
ΜΕΓΙΣΤΟ ΜΗΝΙΑΙΟ ΥΨΟΣ ΒΡΟΧΗΣ	497,1mm
ΕΛΑΧΙΣΤΟ ΜΗΝΙΑΙΟ ΥΨΟΣ ΒΡΟΧΗΣ	0,1mm
ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ ΑΝΕΜΟΥ (ΕΠΙΚΡΑΤΕΣΤΕΡΗ)	Βορειοδυτική, ακολουθούμενη από βόρεια και νοτιοδυτική με μικρή ένταση
ΜΕΣΗ ΜΗΝΙΑΙΑ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΚΟΛΥΜΒΗΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΔΟ	24° C
ΜΕΓΙΣΤΗ ΜΗΝΙΑΙΑ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΚΟΛΥΜΒΗΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΔΟ	30° C

ΠΙΝΑΚΑΣ Ι.12: ΠΙΕΣΕΙΣ ΠΑΡΑΛΙΑΣ Δ
Δεν υπάρχουν πιέσεις, λόγω της περιορισμένης ανθρώπινης δραστηριότητας.

ΠΑΡΑΛΙΑ Ε



Εικόνα 1.5: Η παραλία της Αγίας Μαρίνας στο Cabana Mare.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1.13: ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΑΡΑΛΙΑΣ Ε	
ΟΝΟΜΑΣΙΑ	ΑΓΙΑ ΜΑΡΙΝΑ (CABANA MARE)
ΤΟΠΟΘΕΣΙΑ	Έμπροσθεν οικισμού Αγ. Μαρίνας, περί τα 8 χλμ. δυτικά των Χανίων
ΜΗΚΟΣ ΑΚΤΗΣ	1800
ΠΛΑΤΟΣ ΑΚΤΗΣ	25
ΚΛΙΣΗ ΠΥΘΜΕΝΑ	5 μέτρα σε μέση απόσταση 240 μέτρων από την ακτή
ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΜΟΣ	Βορειοανατολικός
ΟΡΓΑΝΩΜΕΝΗ ΠΑΡΑΛΙΑ	Ναι
ΜΕΓΙΣΤΟΣ ΑΡΙΘΜΟΣ ΛΟΥΟΜΕΝΩΝ	3500
ΑΜΕΣΗ ΠΕΡΙΟΧΗ ΑΚΤΗΣ	Οικιστική με έντονη τουριστική δραστηριότητα / ξενοδοχειακά καταλύματα, μόνιμες και παραθεριστικές κατοικίες
ΒΙΟΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ	-
ΧΡΗΣΕΙΣ ΓΗΣ ΕΥΡΥΤΕΡΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ	Ασυνεχής δόμηση, καλλιέργειες ελαιώνων, αμπελώνων, οπωρώνων.

ΠΙΝΑΚΑΣ Ι.14: ΥΔΡΟΛΟΓΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΤΕΩΡΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΑΡΑΛΙΑΣ Ε	
ΜΕΣΟ ΕΤΗΣΙΟ ΥΨΟΣ ΒΡΟΧΗΣ	664mm
ΜΕΓΙΣΤΟ ΜΗΝΙΑΙΟ ΥΨΟΣ ΒΡΟΧΗΣ	497,1mm
ΕΛΑΧΙΣΤΟ ΜΗΝΙΑΙΟ ΥΨΟΣ ΒΡΟΧΗΣ	0,1mm
ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ ΑΝΕΜΟΥ (ΕΠΙΚΡΑΤΕΣΤΕΡΗ)	Βορειοδυτική, ακολουθούμενη από βόρεια και νοτιοδυτική με μικρή ένταση
ΜΕΣΗ ΜΗΝΙΑΙΑ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΚΟΛΥΜΒΗΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΔΟ	24° C
ΜΕΓΙΣΤΗ ΜΗΝΙΑΙΑ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΚΟΛΥΜΒΗΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΔΟ	30° C

ΠΙΝΑΚΑΣ Ι.15: ΠΙΕΣΕΙΣ ΠΑΡΑΛΙΑΣ Ε	
ΥΓΡΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ	Δίκτυο αποχέτευσης που εξυπηρετείται από την Εγκατάσταση Επεξεργασίας Λυμάτων Νέας Κυδωνίας (30.000 ισοδύναμοι κάτοικοι). Περιλαμβάνει τριτοβάθμια επεξεργασία με χλωρίωση και η διάθεση των επεξεργασμένων λυμάτων γίνεται μέσω υποθαλάσσιου αγωγού, με εκβολή στη θαλάσσια περιοχή Γερανίου, δυτικά της ακτής.
ΕΚΒΟΛΕΣ ΠΟΤΑΜΩΝ, ΡΕΜΑΤΩΝ – ΕΚΒΑΛΛΟΝΤΕΣ ΑΓΩΓΟΙ	<p>1. Εκβολές τριών (3) ρευμάτων διαλείπουσας ροής, που σε περιπτώσεις έντονης βροχόπτωσης δυνητικά μεταφέρουν ρυπαντικό φορτίο από αγροτικές δραστηριότητες (νιτρικά, φωσφορικά άλατα)</p> <p>Καλαμιώνας στις όχθες των ρεμάτων → ένδειξη ρύπανσης από θρεπτικές ουσίες.</p>

	<p>2. Ακτή Αγίας Μαρίνας→ εκβολές τριών (3) αγωγών μεταφοράς ομβρίων (που μπορεί να περιέχουν τοξικές ουσίες λόγω της πόλης).</p> <p>Δεν αναμένεται σημαντική επίδραση στην ποιότητα των υδάτων.</p>
ΛΟΙΠΕΣ ΠΗΓΕΣ	<p>Ο μεγάλος αριθμός λουόμενων είναι πιθανό να υποβαθμίζει την ποιότητα των υδάτων της ακτής.</p>

ΠΑΡΑΛΙΑ ΣΤ



Εικόνα Ι.6: Η παραλία του Πλατανιά στο NEROMYLOS.

ΠΙΝΑΚΑΣ Ι.16: ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΑΡΑΛΙΑΣ ΣΤ	
ΟΝΟΜΑΣΙΑ	ΠΛΑΤΑΝΙΑΣ (NEROMYLOS)
ΤΟΠΟΘΕΣΙΑ	Έμπροσθεν οικισμού Πλατανιά, περί τα 13 χλμ. δυτικά των Χανίων
ΜΗΚΟΣ ΑΚΤΗΣ	2500 μέτρα
ΠΛΑΤΟΣ ΑΚΤΗΣ	45 μέτρα
ΚΛΙΣΗ ΠΥΘΜΕΝΑ	5 μέτρα σε μέση απόσταση 330 μέτρων από την ακτή
ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΜΟΣ	Βόρειος
ΟΡΓΑΝΩΜΕΝΗ ΠΑΡΑΛΙΑ	Ναι
ΜΕΓΙΣΤΟΣ ΑΡΙΘΜΟΣ ΛΟΥΟΜΕΝΩΝ	3500
ΑΜΕΣΗ ΠΕΡΙΟΧΗ ΑΚΤΗΣ	Οικιστική / ξενοδοχειακά καταλύματα, μόνιμες και παραθεριστικές κατοικίες / καλλιέργειες ελαιώνων και σπρωρώνων / Λιμενικές εγκαταστάσεις για μικρά ιδιωτικά πλεούμενα

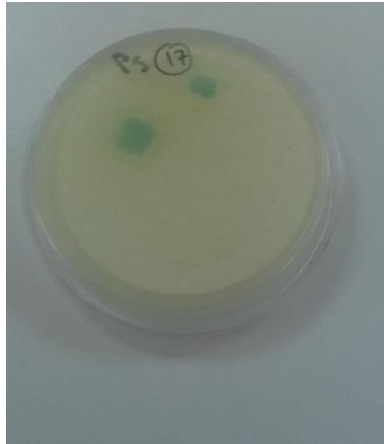
ΒΙΟΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ	Θίνες με αγρωστώδη και καλάμια Arundo donax, όπου βρίσκουν καταφύγιο ερωδιοί, τσιροβάκοι, ποταμίδες και φυλλοσκόποι.
ΧΡΗΣΕΙΣ ΓΗΣ ΕΥΡΥΤΕΡΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ	Ασυνεχής δόμηση, καλλιέργειες ελαιώνων, αμπελώνων, οπωρώνων.

ΠΙΝΑΚΑΣ Ι.17: ΥΔΡΟΛΟΓΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΤΕΩΡΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΑΡΑΛΙΑΣ ΣΤ	
ΜΕΣΟ ΕΤΗΣΙΟ ΥΨΟΣ ΒΡΟΧΗΣ	664mm
ΜΕΓΙΣΤΟ ΜΗΝΙΑΙΟ ΥΨΟΣ ΒΡΟΧΗΣ	497,1mm
ΕΛΑΧΙΣΤΟ ΜΗΝΙΑΙΟ ΥΨΟΣ ΒΡΟΧΗΣ	0,1mm
ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ ΑΝΕΜΟΥ (ΕΠΙΚΡΑΤΕΣΤΕΡΗ)	Βορειοδυτική, ακολουθούμενη από βόρεια και νοτιοδυτική με μικρή ένταση
ΜΕΣΗ ΜΗΝΙΑΙΑ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΚΟΛΥΜΒΗΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΔΟ	24° C
ΜΕΓΙΣΤΗ ΜΗΝΙΑΙΑ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΚΟΛΥΜΒΗΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΔΟ	30° C

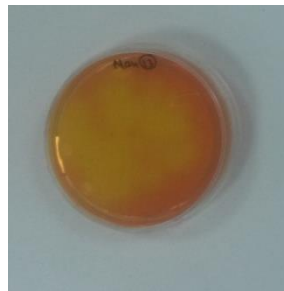
ΠΙΝΑΚΑΣ Ι.18: ΠΙΕΣΕΙΣ ΠΑΡΑΛΙΑΣ ΣΤ	
ΥΓΡΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ	Δίκτυο αποχέτευσης που εξυπηρετείται από την Εγκατάσταση Επεξεργασίας Λυμάτων Νέας Κυδωνίας (30.000 ισοδύναμοι κάτοικοι). Περιλαμβάνει τριτοβάθμια επεξεργασία με χλωρίωση και η διάθεση των επεξεργασμένων λυμάτων γίνεται μέσω υποθαλάσσιου αγωγού, με εκβολή στη θαλάσσια περιοχή της ακτής, σε απόσταση 1120 μέτρων.
ΕΚΒΟΛΕΣ ΠΟΤΑΜΩΝ, ΡΕΜΑΤΩΝ – ΕΚΒΑΛΛΟΝΤΕΣ ΑΓΩΓΟΙ	Εκβολή ρέματος (συνεχούς ροής) Κερίτης, που μεταφέρει ρυπαντικό φορτίο από αγροτικές δραστηριότητες (νιτρικά,

	φωσφορικά άλατα)
ΛΙΜΑΝΙΑ – ΜΑΡΙΝΕΣ	Χώρος ελλιμενισμού μικρών ιδιωτικών πλεούμενων, σε κοντινή απόσταση από την περιοχή κολύμβησης) → απορρίψεις (αστικά απόβλητα, απορρίματα) μικρών σκαφών που προσεγγίζουν την παραλία και πιθανή διαρροή πετρελαίου από σκάφη με ελλιπή συντήρηση.

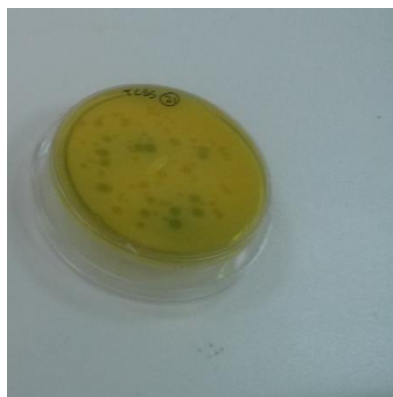
II. Ενδεικτικές φωτογραφίες τρυβλίων



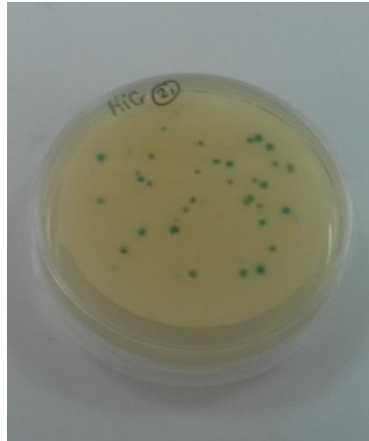
Εικόνα III.1 : *Pseudomonas aeruginosa*, τρυβλίο νερού.



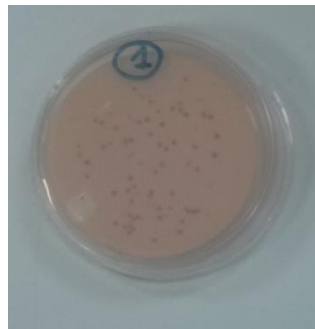
Εικόνα III.2: *Staphylococcus sp.*, τρυβλίο νερού.



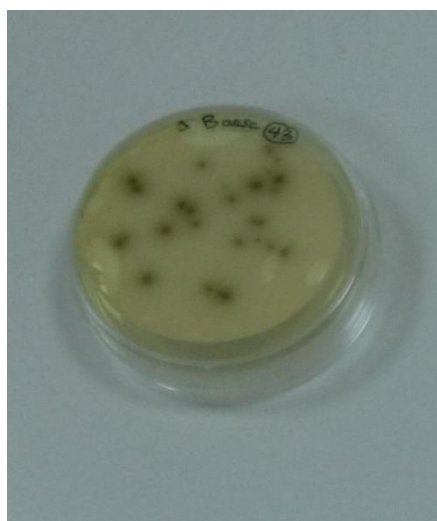
Εικόνα III.3: *Vibrio sp.*, τρυβλίο νερού.



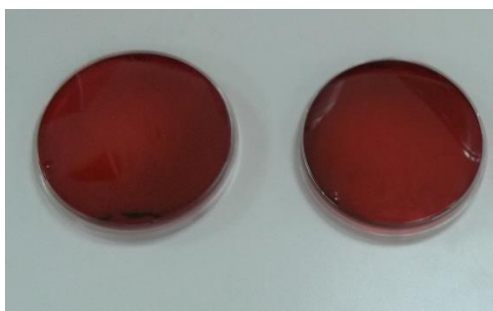
Εικόνα III.4: *E. coli*, τρυβλίο νερού.



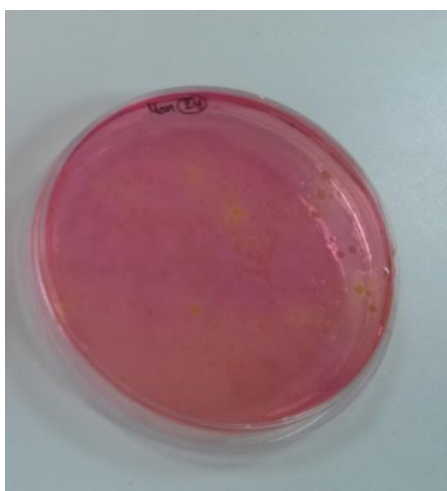
Εικόνα III.5: *Enterococci*, τρυβλίο νερού.



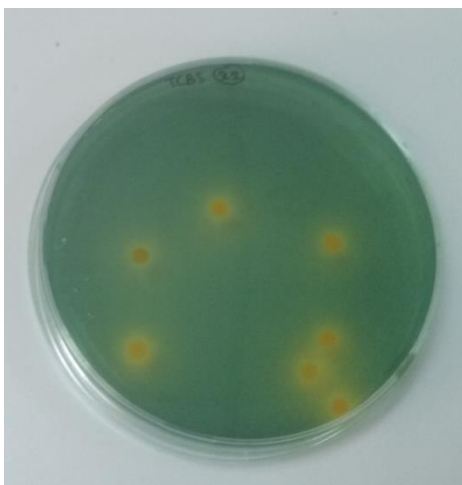
Εικόνα III.6 : Επιβεβαίωση *Enterococci*, τρυβλίο νερού.



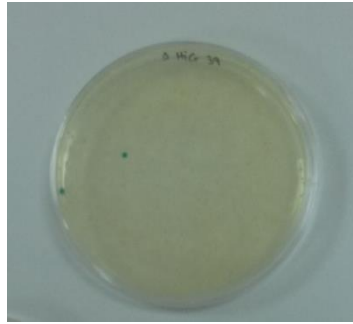
Εικόνα III.7 : Τρυβλία για *Salmonella sp.*.



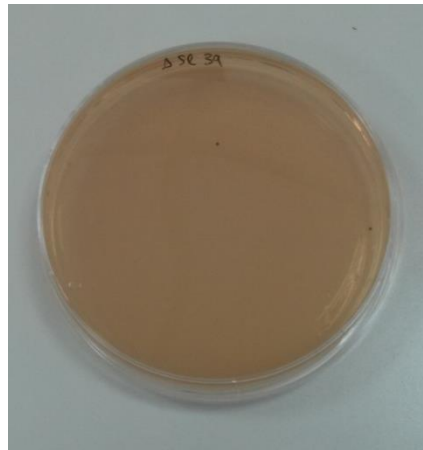
Εικόνα III.8 : *Staphylococcus sp.*, τρυβλίο άμμου.



Εικόνα III.9 : *Vibrio sp.*, τρυβλίο άμμου.



Εικόνα III.10: *E. coli*, τρυβλίο άμμου.

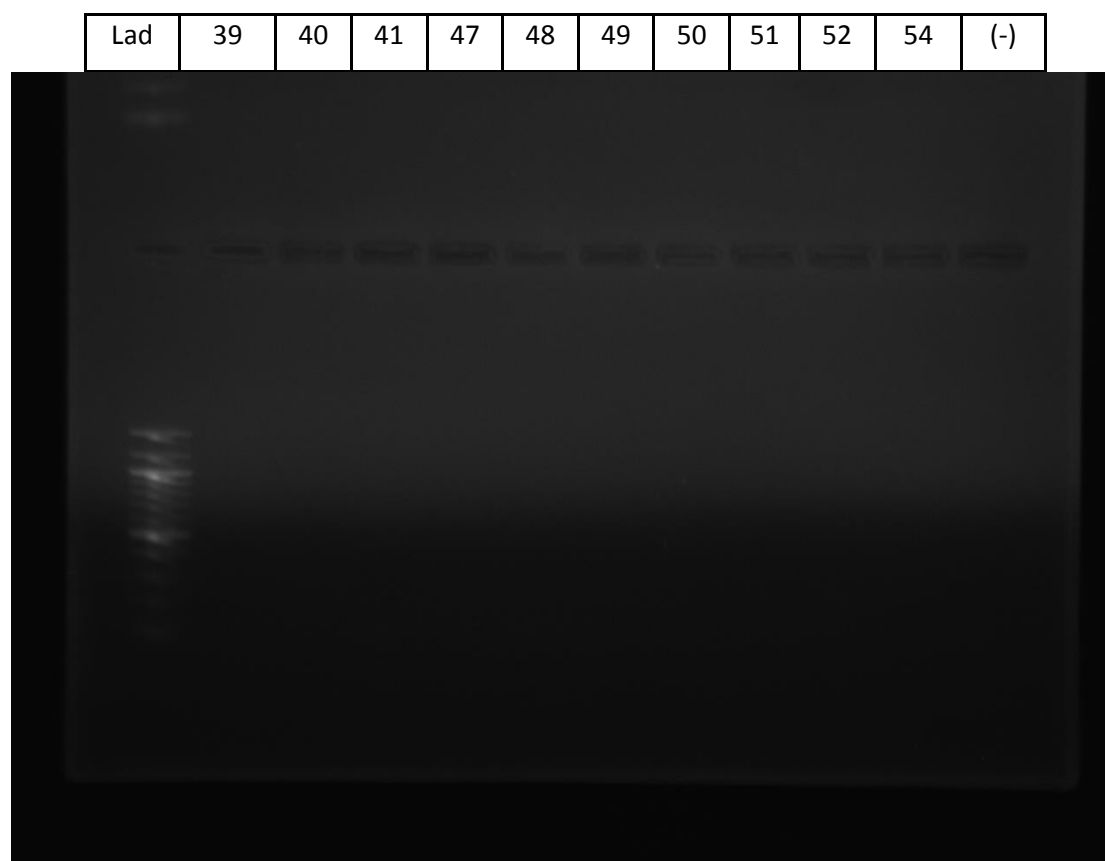


Εικόνα III. 11: *Enterococci*, τρυβλίο άμμου.

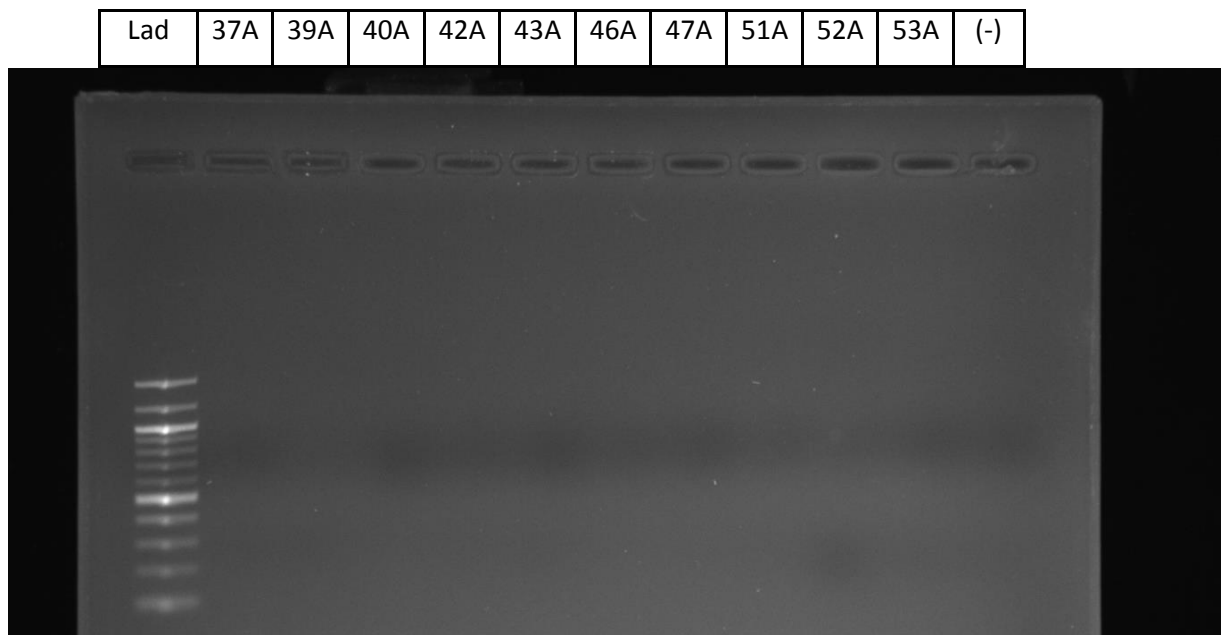
III. Φωτογραφίες αποτελεσμάτων ηλεκτροφόρησης

Παρακάτω, παρατίθενται οι φωτογραφίες των αποτελεσμάτων της ηλεκτροφόρησης. Συγκεκριμένα, πρόκειται για ασπρόμαυρες φωτογραφίες πήκτωματος αγαρόζης. Για να υπάρξει οπτικοποίηση των θραυσμάτων DNA, έγινε προσθήκη παράγοντα χρώσης Gel Loading Dye (Purple). Στη συνέχεια, το πήκτωμα εκτέθηκε σε υπεριώδες φως για να παρατηρηθούν οι τυχόν φθορίζουσες ίνες. Όσο περισσότερη ποσότητα DNA υπάρχει σε μία ζώνη, τόσο μεγαλύτερη είναι και η χρώση στη συγκεκριμένη ζώνη. Οι φωτογραφίες τραβήχτηκαν με φωτογραφική μηχανή εφοδιασμένη με φίλτρο UV.

Pseudomonas aeruginosa

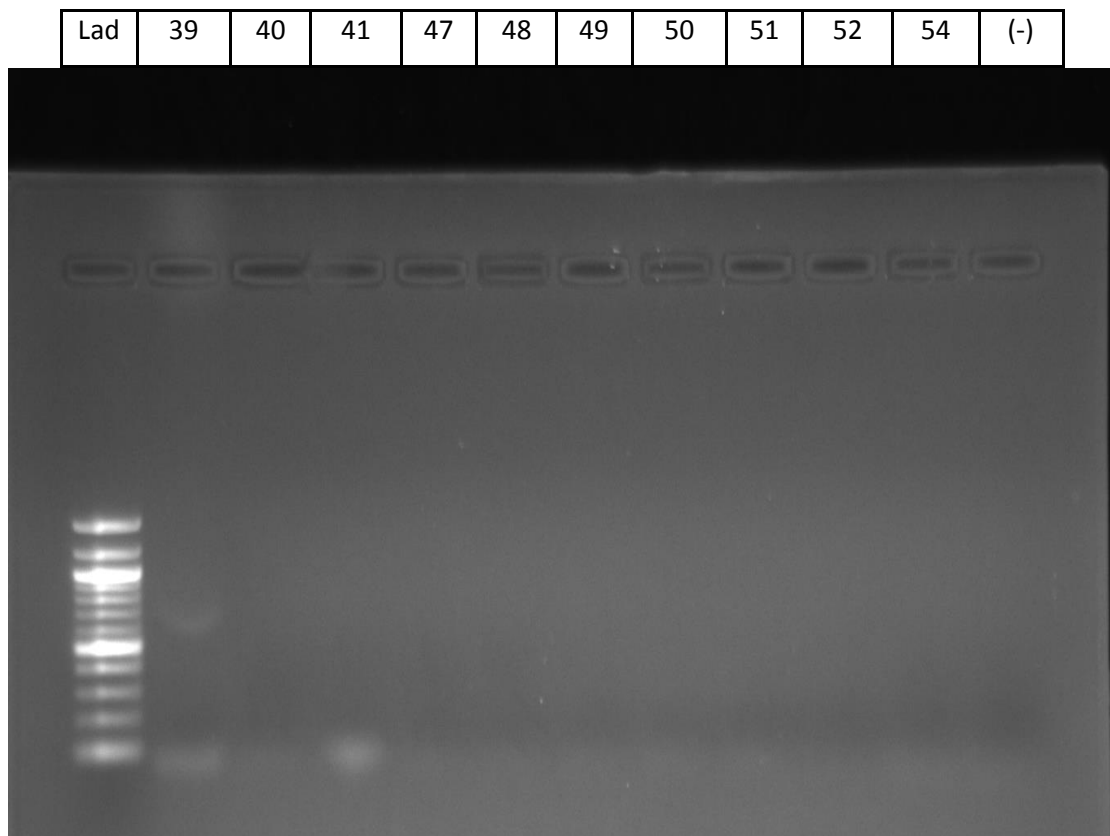


Εικόνα IV.1: *Pseudomonas aeruginosa* στο νερό. Φωτογραφία ηλεκτροφόρησης, προϊόντα PCR σε πήκτωμα αγαρόζης 2%, Διαδρομές →Lad:Ladder(397 bp.), 39, 40, 41, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 54, (-):αρνητικό δείγμα.

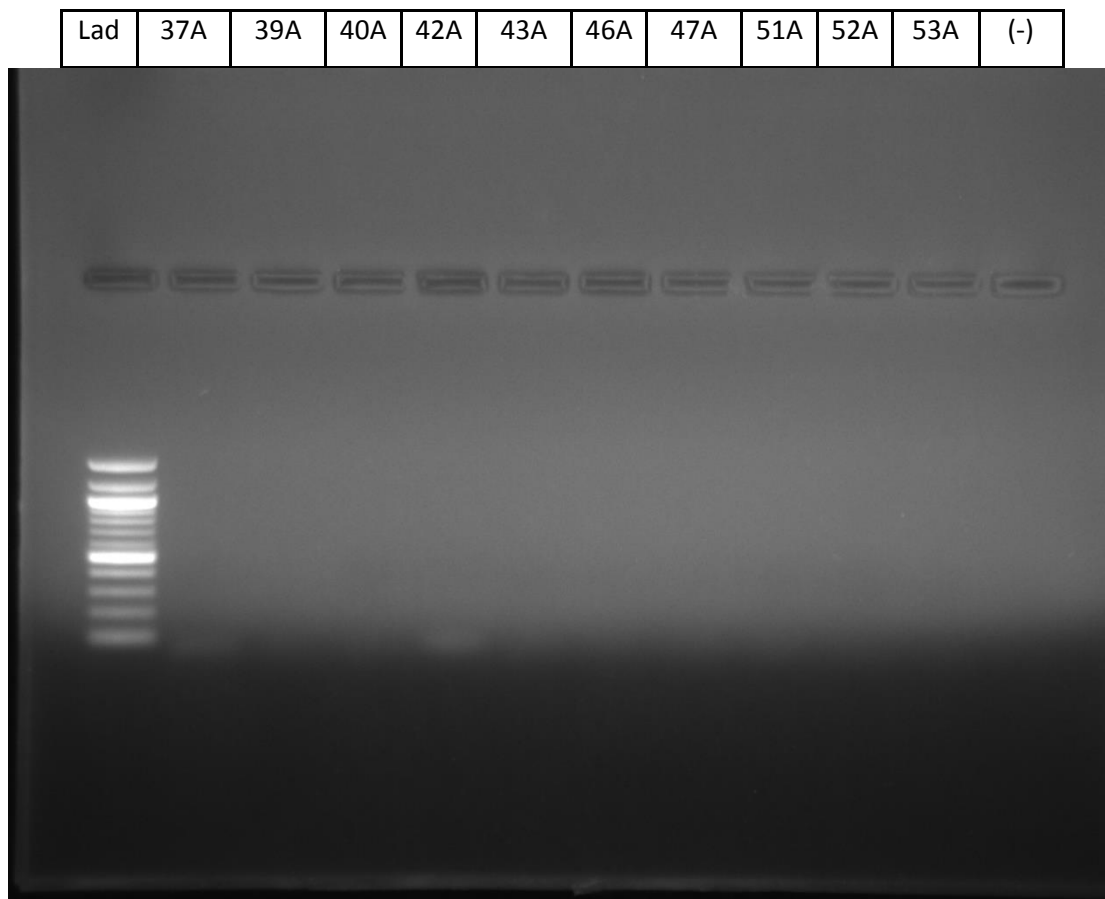


Εικόνα IV.2: *Pseudomonas aeruginosa* στην άμμο. Φωτογραφία ηλεκτροφόρησης, προϊόντα PCR σε πήκτωμα αγαρόζης 2%, Διαδρομές →Lad:Ladder(397bp.), 37A, 39A, 40A, 42A, 43A, 46A, 47A, 51A, 52A, 53A, (-):αρνητικό δείγμα.

Salmonella sp.

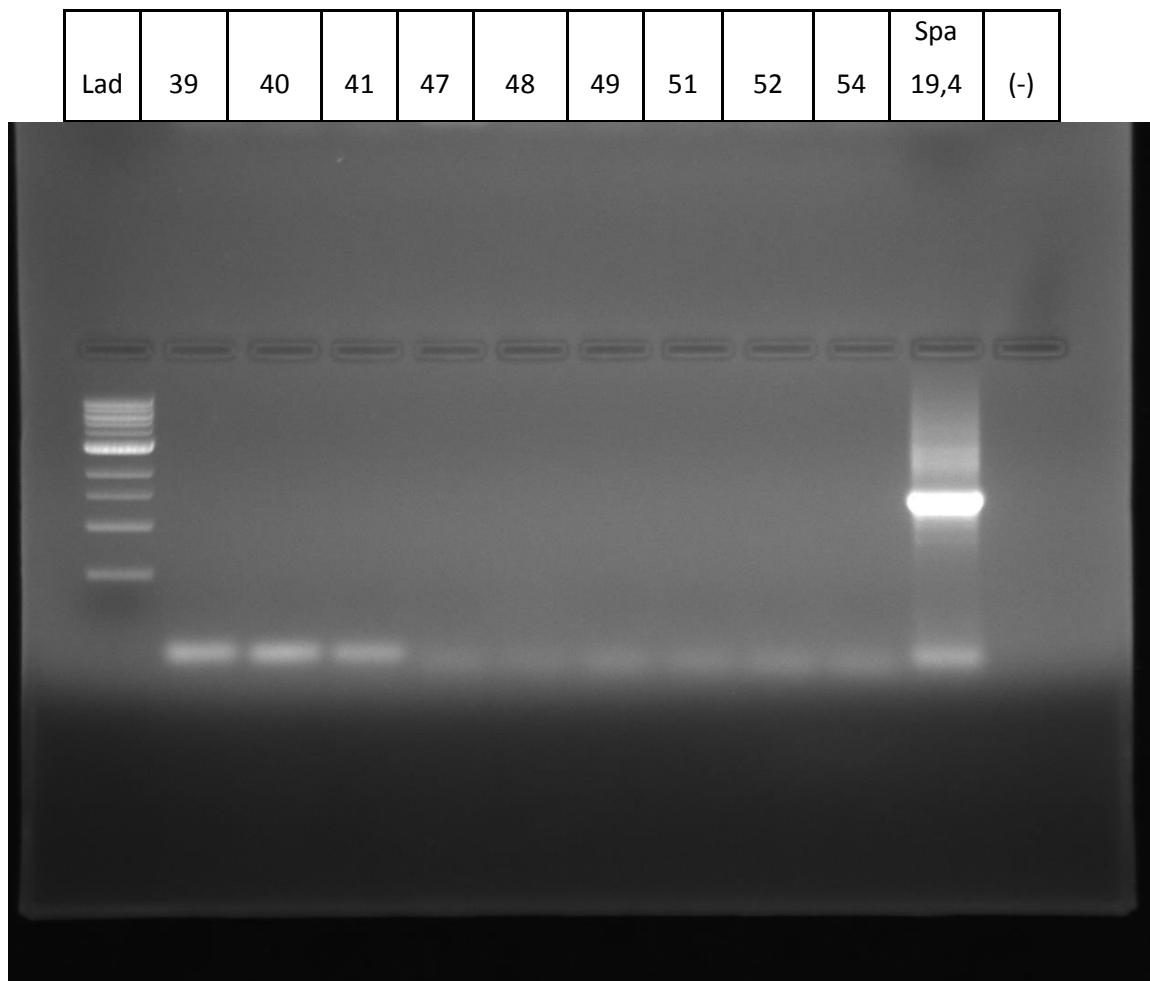


Εικόνα IV.3: *Salmonella sp.* στο νερό. Φωτογραφία ηλεκτροφόρησης, προϊόντα PCR σε πήκτωμα αγαρόζης 2%, Διαδρομές →Lad:Ladder(275bp), 39, 40, 41, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 54, (-):αρνητικό δείγμα.

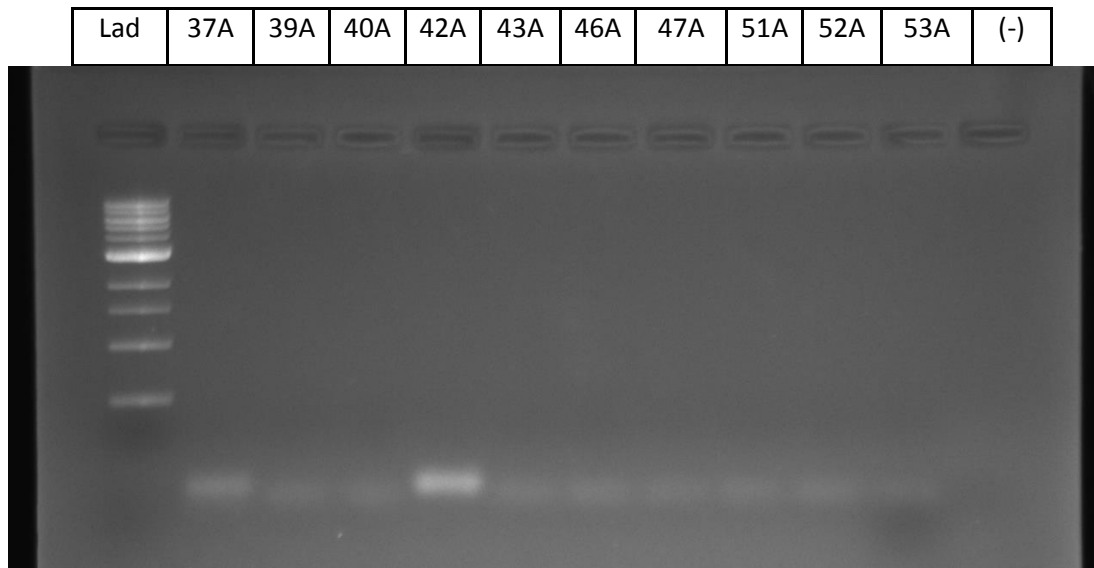


Εικόνα IV.4: *Salmonella sp.* στην άμμο. Φωτογραφία ηλεκτροφόρησης, προϊόντα PCR σε πήκτωμα αγαρόζης 2%, Διαδρομές →Lad:Ladder(275bp.), 37A, 39A, 40A, 42A, 43A, 46A, 47A, 51A, 52A, 53A, (-):αρνητικό δείγμα.

Staphylococcus aureus

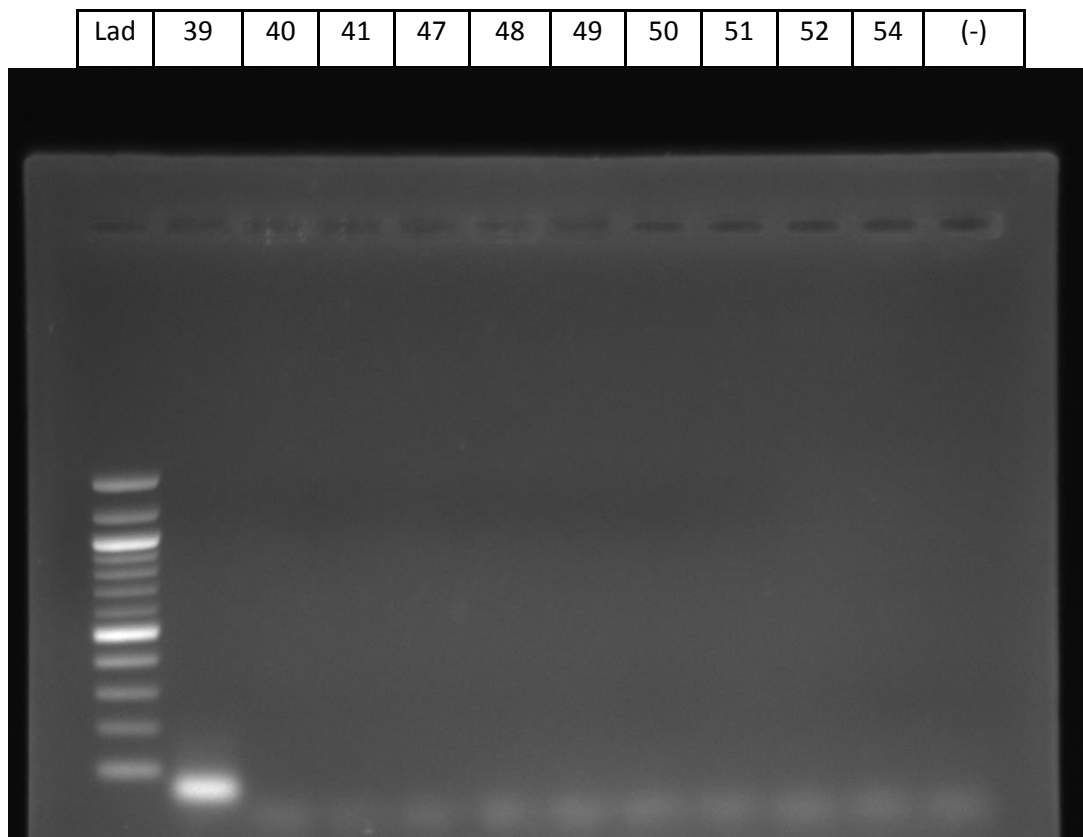


Εικόνα IV.5: *Staphylococcus aureus* στο νερό. Φωτογραφία ηλεκτροφόρησης, προϊόντα PCR σε πήκτωμα αγαρόζης 2%, Διαδρομές →Lad:Ladder(1200bp.), 39, 40, 41, 47, 48, 49, 51, 52, 54, spa 19.4, (-):αρνητικό δείγμα.

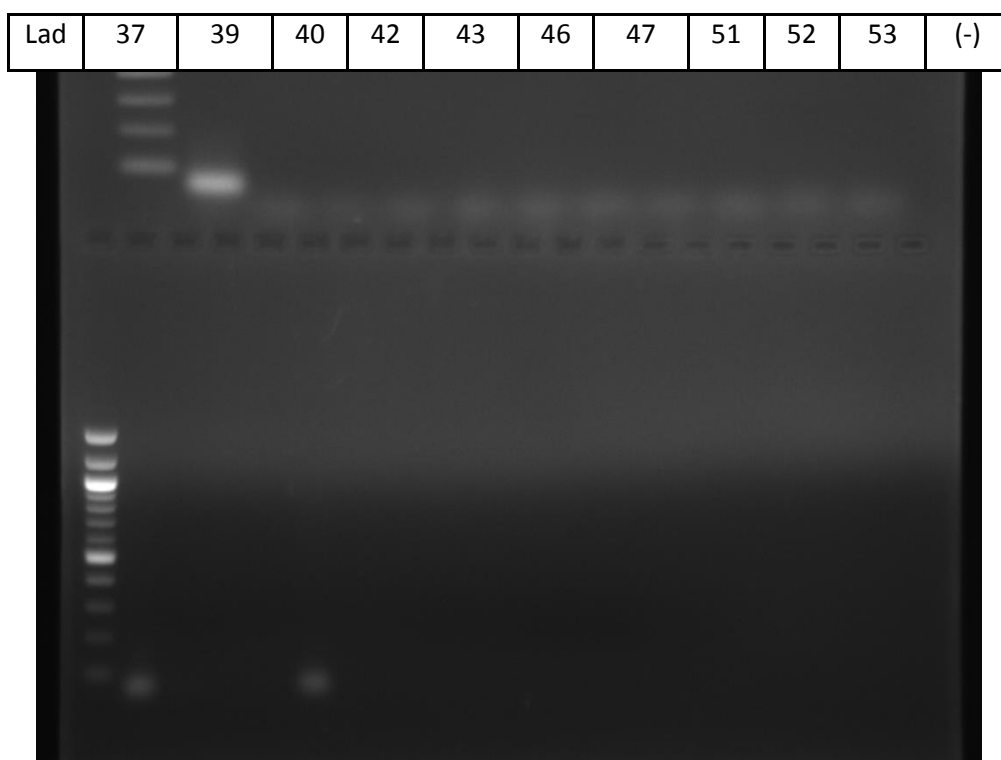


Εικόνα IV.6: *Staphylococcus aureus* στην άμμο. Φωτογραφία ηλεκτροφόρησης, προϊόντα PCR σε πήκτωμα αγαρόζης 2%, Διαδρομές →Lad:Ladder(1200bp.), 37A, 39A, 40A, 42A, 43A, 46A, 47A, 51A, 52A, 53A, (-):αρνητικό δείγμα.

Vibrio sp.



Εικόνα IV.7: *Vibrio sp.* στο νερό. Φωτογραφία ηλεκτροφόρησης, προϊόντα PCR σε πήκτωμα αγαρόζης 2%, Διαδρομές →Lad: Ladder, 37, 39, 40, 42, 43, 46, 47, 51, 52, 53, (-):αρνητικό δείγμα.



Εικόνα IV.8: *Vibrio* sp. στην άμμο. Φωτογραφία ηλεκτροφόρησης, προϊόντα PCR σε πήκτωμα αγαρόζης 2%, Διαδρομές →Lad: Ladder, 37, 39, 40, 42, 43, 46, 47, 51, 52, 53, (-):αρνητικό δείγμα.