

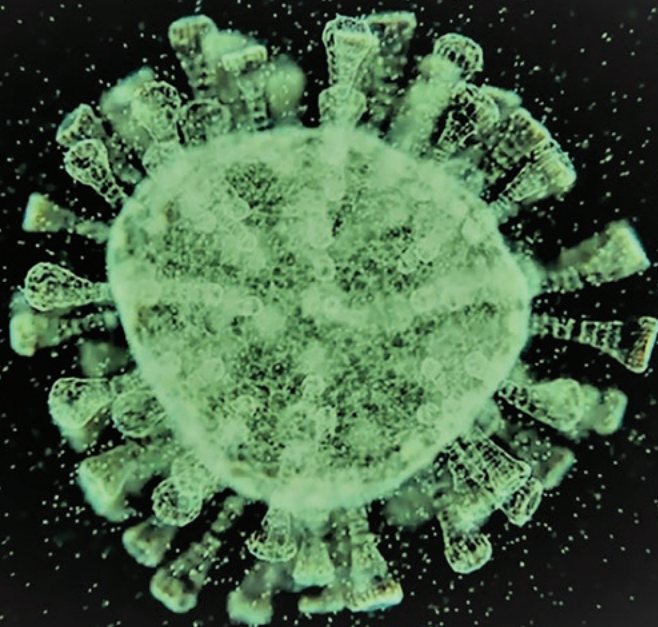
VÚV
TGM



Československá společnost mikrobiologická, z. s.,
a
Výzkumný ústav vodohospodářský T. G. Masaryka, v. v. i.

Mikrobiologie vody a prostředí 2021

Sborník abstraktů



9.–11. 6. 2021
Hotel Kamzík
Malá Morávka

Mikrobiologie vody a prostředí 2021

Sborník abstraktů

Editoři:

Lucie Jašíková
Hana Mlejnková

Vydal Výzkumný ústav vodohospodářský T. G. Masaryka, v. v. i., Praha 2021

STŘEDA 9. 6. 2021	PROGRAM KONFERENCE 2021
11:00–14:00	Registrace účastníků
12:00–13:30	Oběd
14:00–14:10	Zahájení konference
14:10–14:30	I. blok přednášek – Novinky v legislativě
14:30–15:30	II. blok přednášek – Mikrobiologická problematika odpadních a šedých vod
15:30–16:00	Přestávka s občerstvením
16:00–17:30	III. blok přednášek – Výskyt a význam virů ve vodách
17:30–18:00	Diskuzní a posterová sekce
Od 18:30	Společenská večeře
ČTVRTEK 10. 6. 2021	
7:00–9:00	Snídaně
9:00–10:30	IV. blok přednášek – Mikroorganismy v prostředí
10:30–11:00	Přestávka s občerstvením
11:00–12:00	V. blok přednášek – Mikroorganismy a ATB rezistence
12:00–13:00	Oběd
13:30–18:00	Odborná exkurze
18:30–20:00	Večeře
PÁTEK 11. 6. 2021	
7:00–9:00	Snídaně
9:00–10:00	VI. blok přednášek – Nové moderní metody používané v mikrobiologii
10:00–10:30	Přestávka s občerstvením
10:30–11:30	VI. blok přednášek – Nové moderní metody používané v mikrobiologii – pokračování
11:30–11:40	Ukončení konference
12:00–13:00	Oběd

ORGANIZAČNÍ VÝBOR:

RNDr. Hana Mlejnková, Ph.D., VÚV TGM Praha – odborný a organizační garant konference
(+420 220 197 376; +420 724 583 662; hana.mlejnkova@vuv.cz)

Mgr. Lucie Jašíková, Ph.D., VÚV TGM Praha – ubytování a přihlášky
(+420 220 197 198; +420 704 605 432; lucie.jasikova@vuv.cz)

Mgr. Kateřina Sovová, Ph.D., VÚV TGM Brno – registrace v místě konání
(+420 730 164 582; katerina.sovova@vuv.cz)

Ing. Lucia Gharwalová, VÚV TGM Praha – registrace v místě konání, technické zajištění prezentací, (+420 220 197 198; lucia.gharwalova@vuv.cz)

Obsah

Autor a název přednášky	Strana
I. blok přednášek – Novinky v legislativě	
Baudišová Dana: <i>Nová Směrnice EU o pitné vodě</i>	8
II. blok přednášek – Mikrobiologická problematika odpadních a šedých vod	
Matějů Ladislava, Drahošová Zdislava, Zimová Magdalena, Kořínková Marta, Bartáček Jan, Šátková Barbora: <i>Mikrobiologická rizika při využití šedých vod</i>	9
Roulová Nikola, Motková Petra, Brožková Iveta, Pejchalová Marcela: <i>Sledování vybraných patogenních bakterií v odpadních vodách</i>	11
Benáková Andrea, Vobecká Eliška, Pečenka Martin, Říhová Ambrožová Jana, Wanner Jiří: <i>Změna mikrobiálního společenství při terciárním čištění odpadních vod</i>	12
Sedláčková Helena, Drašar Vladimír, Kantorová Michaela, Mrázek Jakub: <i>Výskyt a detekce legionel v odpadních vodách na komunálních čistírnách odpadních vod. Jsou ČOV hrozbou pro okolí?</i>	13
III. blok přednášek – Výskyt a význam virů ve vodách	
Mlejnková Hana, Sovová Kateřina, Gharwalová Lucia, Jašíková Lucie, Vašíčková Petra, Fialová Alena: <i>Monitoring koronaviru SARS-CoV-2 v odpadních vodách ČR</i>	14
Bartáček Jan, Čermáková Eliška, Demnerová Kateřina, Dostálková Alžběta, Gajdoš Stanislav, Janda Václav, Křížová Ivana, Nováková Zuzana, Ruml Tomáš, Rumlová Michaela, Říhová Ambrožová Jana, Škodáková Klára, Vejmelková Dana, Wanner Jiří, Zdeňková Kamila: <i>Proces zavádění metodiky detekce SARS-CoV-2 v odpadních vodách na VŠCHT Praha</i>	16
Vašíčková Petra, Hrdý Jakub, Slaná Iva: <i>Role vody v přenosu virů způsobujících alimentární infekce</i>	18
Hrdý Jakub, Vašíčková Petra, Krásna Magdaléna: <i>Multiplexní nástroj pro rychlou detekci patogenních virů spojených s kontaminovanou vodou a prostředím</i>	19
Králík Petr, Dziedzinská Radka, Šerý Omar: <i>Výskyt SARS-CoV-2 v uzavřených prostorech se zvýšeným pohybem lidí</i>	20
IV. blok přednášek – Mikroorganismy v prostředí	
Rulík Martin: <i>Klimatické změny a mikroorganismy</i>	21
Gharwalová Lucia, Mlejnková Hana, Jašíková Lucie, Fojtík Tomáš, Makovcová Marcela, Juranová Eva: <i>Mikrobiologická kvalita vodních ploch na území hlavního města Prahy</i>	22
Morávková Monika, Seydlová Růžena, Kucharovičová Ivana, Bačová Romana: <i>Prototheca spp., environmentální patogen mléčných farem</i>	23
Janalíková Magda, Pleva Pavel, Berčíková Lucie, Peroutková Petra, Palarčík Jiří, Siglová Martina: <i>Identifikace mikrobiálních kmenů izolovaných z vod degradujících pesticidy</i>	24
V. blok přednášek – Mikroorganismy a ATB rezistence	
Sovová Kateřina, Buriánková Iva, Kuchta Peter, Molíková Anna, Výravský David, Rulík Martin, Vítězová Monika: <i>Účinnost mechanicko-biologických čistíren odpadních vod při odstraňování bakterií E. coli rezistentních k vybraným antibiotikům</i>	25
Buriánková Iva, Kuchta Peter, Sovová Kateřina, Rulík Martin, Vítězová Monika: <i>Účinnost mechanicko-biologického čištění odpadních vod při odstraňování genů antibiotické rezistence</i>	26
Škodáková Klára, Gajdoš Stanislav, Purkrťová Sabina, Říhová Ambrožová Jana, Vejmelková Dana: <i>Vliv způsobu izolace DNA z čistírenských kalů na kvantifikaci genů antibiotické rezistence</i>	27

VI. blok přednášek – Nové moderní metody používané v mikrobiologii	
Slaná Iva, Schillerová Petra: Izolace a detekce nukleových kyselin ze vzorků vod (Biotech)	28
Gajdoš Stanislav, Časarová Kristýna, Karpíšek Ivan, Kouba Vojtěch, Vejmelková Dana: Zkušenosti s metodami stanovení volné DNA v odpadních vodách	29
Janák David, Zuzáková Jana, Řihová Ambrožová Jana: Stanovení somatických kolifágů v různých typech vod a zkušenosti s metodikou jejich stanovení	30
Bobková Šárka, Baudišová Dana, Pumann Petr: Využití metod molekulární biologie pro identifikaci původců fekálního znečištění v koupacích vodách	31
Jakubů Vladislav, Šafránková Renáta: Identifikace bakterií pomocí MALDI-TOF a možnosti vyšetření citlivosti k antibiotikům	32
Baudišová Dana, Pumann Petr: Využití metody MALDI-TOF při identifikaci enterokoků z koupacích vod	33
Posterová sekce	
Maťašovská Václava, Kothan Filip, Fojtík Tomáš, Pumann Petr, Bendakovská Lenka, Makovcová Marcela: Koupací vody pohledem družic	34

Pohled zpět na konference Mikrobiologie vody (a prostředí)

Oblast mikrobiologie vody (a prostředí) zahrnuje široké spektrum odborností, jež spojuje zájem o poznání a bližší studium zákonitostí života mikroorganismů (zejména bakterií, virů a fágů) ve všech typech vod a dalších složkách životního prostředí. Takto zaměřené odborníky sdružil v ČR a SR RNDr. Jiří Häusler, DrSc., na vzdělávacích seminářích. Na jeho dlouholetou práci navázaly RNDr. Dana Baudišová, Ph.D., a RNDr. Miloslava Prokšová, Ph.D., které od roku 1998 organizovaly konference Mikrobiologie vody v pravidelném režimu – jeden ročník je pořádán v České republice, druhý na Slovensku. Každý třetí rok je problematika mikrobiologie vody zařazena jako samostatná sekce do programu Kongresu Československé společnosti mikrobiologické (ČSSM).

V roce 2012 se k „Mikrobiologii vody“ připojili kolegové z oblastí mikrobiologie půdy a název konference se změnil na „Mikrobiologii vody a prostředí“.

Konference jsou organizovány „Odbornou skupinou mikrobiologie vody“ pod záštitou Československé společnosti mikrobiologické. Ta v roce 2004 na 23. Kongresu nahradila „Komisi mikrobiologie vody“, jež byla součástí „Sekce mikrobiologie prostředí“.

Hana Mlejnková, Dana Baudišová, Miloslava Prokšová



Mikrobiologie vody, Luhačovice 2008

Konference Mikrobiologie vody (a prostředí) a Kongresy ČSSM:

Rok	Akce	Místo	Sborník ve formátu PDF
1961	1. Kongres ČSSM	Praha	
...			
1995	20. Kongres ČSSM	Ostrava	
1995	Mikrobiologie vody	Brno	
1998	21. Kongres ČSSM	Hradec Králové	
1998	Mikrobiologie vody	Bedřichov	
1999	Mikrobiologie vody	Poprad	
1999	22. Kongres ČSSM	Košice	
2000	Mikrobiologie vody	Bedřichov	
2001	nekonal se		
2002	Mikrobiologie vody	Ostravice	ano
2003	Mikrobiologie vody	Poprad	
2004	23. Kongres ČSSM	Brno	
2005	Mikrobiologie vody	Kralupy n. Vltavou	
2006	Mikrobiologie vody	Poprad	ano
2007	24. Kongres ČSSM	Liberec	
2008	Mikrobiologie vody	Luhačovice	
2009	Mikrobiologie vody	Poprad	ano
2010	25. Kongres ČSSM	Stará Lesná	
2011	Mikrobiologie vody	Tupadly	ano
2012	Mikrobiologie vody a prostředí	Nový Smokovec	ano
2013	26. Kongres ČSSM	Brno	
2014	Mikrobiologie vody a prostředí	Praha (VÚV)	ano
2015	Mikrobiologie vody a prostředí	Nový Smokovec	ano
2016	27. Kongres ČSSM	Praha (Hotel ILF)	
2017	nekonal se		
2018	Mikrobiologie vody a prostředí	Tatranská Lomnica	ano
2019	28. Kongres ČSSM	Tatranské Matliare	
2020 – zrušena z důvodu pandemie	Mikrobiologie vody a prostředí	Malá Morávka	ano
2021	Mikrobiologie vody a prostředí	Malá Morávka	ano

Sborníky, které byly dohledány v elektronické podobě, budou vyvěšeny na stránkách ČSSM nebo k dispozici u organizátorů.

Organizátoři konference děkují sponzorům:



Be Right™



Nová směrnice EU o pitné vodě

Baudišová Dana

Státní zdravotní ústav, Šrobárova 48/49, 100 00 Praha 10
dana.baudisova@szu.cz

V prosinci 2020 vyšla kompletní novela směrnice 98/83/ES, o jakosti vody určené k lidské spotřebě, jako SMĚRNICE EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (EU) 2020/2184 ze dne 16. prosince 2020, o jakosti vody určené k lidské spotřebě (přepřacované znění).

Ve směrnici je hodně významných novinek, které se dotknou nejen provozovatelů a pracovníků orgánů ochrany veřejného zdraví (KHS), ale také analytických laboratoří. Jedná se

např. o povinné zavedení přístupu, založeném na posouzení a řízení rizik systémů zásobování vodou (včetně oblastí povodí, jež souvisejí s místem odběru jímání vody určené k lidské spotřebě), a na posouzení rizik domovního rozvodného systému. Dále je nově povinné zavedení testování materiálů pro styk s pitnou vodou apod. Proběhla i revize všech ukazatelů a jejich limitních hodnot na základě nových vědeckých poznatků. V tomto příspěvku však budou prezentovány především body, které se budou bezprostředně týkat pracovníků mikrobiologických laboratoří.

Minimální požadavky na hodnoty ukazatelů používané k posouzení jakosti vody určené k lidské spotřebě (bude implementováno jako NMH):

- *E. coli*: 0 KTJ/100 ml (pro stáčenou vodu do lahví nebo nádob 0 KTJ/250 ml)
- Intestinální enterokoky: 0 KTJ/100 ml (pro stáčenou vodu do lahví nebo nádob 0 KTJ/250 ml)

Indikátorové ukazatele:

- *Clostridium perfringens* včetně spor: včetně spor 0 KTJ/100 ml (tento ukazatel se má stanovit, pokud to vyplývá z posouzení rizik)
- Koliformní bakterie: 0 KTJ/100 ml (pro stáčenou vodu do lahví nebo nádob 0 KTJ/250 ml)
- Počet kolonií při 22 °C: bez abnormálních změn

Ukazatele relevantní pro posouzení rizik domovního rozvodného systému (v prioritních budovách):

- Bakterie rodu *Legionella* ($\leq 1\ 000$ KTJ/litr). Nápravná opatření lze zvažovat i v případě, že této hodnoty ukazatele není dosaženo, například v případě infekcí a ohnisek nálezů. V takových případech by měl být zdroj infekce potvrzen a určen jeho biologický druh.

Součástí provozního monitorovacího programu je také monitorování následujících ukazatelů u surové vody, aby se kontrolovala účinnost procesů úpravy zaměřené na mikrobiologická rizika:

- Somatické kolifágy: 50 PTJ/100 ml (v případě surové vody). Tento ukazatel se má sledovat, pokud to vyplývá z posouzení rizik. Je-li zjištěna přítomnost somatických kolifágů v surové vodě v koncentraci > 50 PTJ /100 ml, mělo by se toto stanovení provést po dokončení série kroků úpravy vody, aby bylo možné určit log hodnotu odstranění prostřednictvím existujících bariér a posoudit, zda je riziko průniku patogenních virů skrze úpravu dostatečně pod kontrolou.

Pro odběr a stanovení všech mikrobiologických ukazatelů jsou předepsány analytické metody podle platných norem ISO a EN ISO.

Mikrobiologická kontaminace šedých vod

Matějů Ladislava¹, Drahošová Zdislava¹, Zimová Magdalena¹, Kořínková Marta¹,
Bartáček Jan², Šátková Barbora²

¹Státní zdravotní ústav, Šrobárova 48/49, 100 00 Praha 10

ladislava.mateju@szu.cz; zdislava.drahosova@szu.cz; magdalena.zimova@szu.cz; marta.korinkova@szu.cz

²Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6

jan.bartacek@vscht.cz; barbora.satkova@vscht.cz

Nakládání s šedými vodami je již dlouho diskutovanou problematikou v souvislosti s efektivním nakládáním s vodou nejen v budovách. Jako šedé vody se označují vody z umyvadel, prádelen, koupelen (sprchy a umyvadla) a v některých případech z myček nádobí. Nepatří mezi ně odpadní vody z toalet, pisoárů či bidetů.

Se zavedenými recyklacemi šedých vod se setkáváme v rodinných a bytových domech, hotelech, obchodních centrech a třeba i v centrech ekologické výchovy. Ne všechny zavedené technologie byly výsledkem zkušebního testování, studií a ověřených technologií. Obzvláště v rodinných domech se často realizují systémy, které si lidé dělají svépomocí, a kvalita upravené vody je značně proměnlivá. Na druhou stranu existují technologie, jež jsou schopné upravit šedé vody tak, aby byly bezpečně použitelné pro různé varianty koncového využití.

Požadavky na kvalitu a limity opětovného použití závisí na typu opětovného použití, na původu šedých vod a na možnosti kontaktu člověka s recyklovanou vodou (Eriksson a kol., 2002; Hourlier a kol., 2010; Abu Ghunmi a kol., 2011; Leonard a kol., 2016). V České republice se nejvíce využívají recyklované vody ke splachování, v rodinných domech často i k zavlažování zahrad. Většina uživatelů nemá uloženy žádné požadavky na technologii úpravy šedých vod a její provozování. V omezeném počtu případů povinnost kontroly a specifikace požadavků na jakost koncové upravené vody uložena je.

Nejúčinnějším způsobem, jak zajistit kvalitu vyčištěné recyklované vody, je preventivní přístup k řízení rizik, který zahrnuje všechny kroky od sběru zdrojů vody po dodávku vody spotřebitelům. Řízení rizik zahrnuje pečlivě zvážený a zdokumentovaný postup. Nejde o použití zbytečně extrémních opatření. Vzhledem k tomu, že ochrana veřejného zdraví je prvořadá, je třeba vyvážit opatření tak, aby zvolené řešení bylo preventivní. Konečným cílem pokynů musí být především ochrana a podpora veřejného zdraví (NRMMC, EPHC, NHMRC, 2006). Z hlediska zdravotních rizik je nejdůležitější zvážení rizik z mikrobiologické kontaminace.

Ve sledovaných objektech A, B, C využívajících rozdílné systémy recyklace šedých vod byla monitorována koncentrace vybraných mikroorganismů, jejich změna po jednotlivých krocích přečištění a mikrobiologická kvalita upravené šedé vody. Pro zhodnocení zdravotních rizik spojených s užíváním šedé vody a upravené šedé vody byla provedena analýza rizik na základě reálných hodnot mikrobiologických parametrů zjištěných během provozování těchto technologií. Porovnání dopadů na zdraví, způsobených expozicí různým kontaminantům s rozdílnými zdravotními následky, byla provedena kvantifikací přes zkrácenou délku života v důsledku nemoci („disability-adjusted life years“, DALY) pro různá využití šedých a přečištěných vod.

V lokalitě A, v objektu zařízení pro environmentální vzdělávání, bylo přečištění realizováno membránovým bioreaktorem (MBR) s UV lampou pro dezinfekci upravené šedé vody. Systém obsahoval mechanické předčištění, MBR, akumulační nádrž na vyčištěnou vodu a UV lampu. Šedé vody přiváděné na čistírnu pocházejí z jedné sprchy a několika umyvadel. Do akumulační nádrže je zaústěn i přívod dešťových vod. Ostatní zařízení jsou napojena přímo na veřejnou kanalizaci. Umyvadla jsou využívána zaměstnanci a nedochází k výkyvům v množství natékajících vod. Produkce odpadní vody ze sprchy je kolísavá a nešlo ji přesně určit.

V lokalitě B byla čistírna šedých vod realizována v bytovém domě s 30 EO. Systém sestává z mechanického předčištění, MBR, akumulační nádrže na vyčištěnou vodu a UV lampy. Kromě šedé vody může být zdrojem recyklované vody také voda dešťová, která je vně objektu zachytávána do 4 000litrové nádrže.

V lokalitě C bylo přečištění šedých vod realizováno jako vertikální aerobní biofiltr v technické místnosti rodinného domku s 5 stálými obyvateli. Zařízení sestává z akumulační nádrže pro šedou vodu o objemu 91 l, kam je přiváděna odpadní šedá voda z jedné koupelny (cca 100–150 l/d), a vertikálního biofiltru, v němž dochází k samotnému čištění (akumulační část ve spodní části biofiltru – cca 25 l). Toto uspořádání bylo doplněno recyklem, kdy se přečištěná voda vrací do biofiltru. Na výstupu je vyčištěná voda upravena dezinfekcí NaClO (SAVO) s dobou kontaktu nejméně 3 h.

Hodnoty DALY byly stanoveny pro využití upravených šedých vod pro splachování WC, zavlažování rozstříkem, použití v pračkách a mytí aut. Z reálně zjištěných koncentrací mikroorganismů v šedých a upravených vodách a vypočítaných hodnot DALY bylo prokázáno, že použití surové šedé vody bez přečištění představuje vysoké zdravotní riziko u všech lokalit.

Použití přečištěné šedé vody pro mytí aut bylo značně rizikové především z důvodu expozice přítomným mikroorganismům v lokalitě A a B. Přečištěná voda použitá pro závlahu a při splachování WC nepředstavovala zdravotní riziko jednoznačně pro lokalitu A a C.

V důsledku častých zásahů do dezinfekce výstupní upravené vody v lokalitě B (vypínání UV lampy) bylo rizikové trvalé používání přečištěné šedé vody pro ostatní způsoby použití kromě splachování na toaletách.

Lokalita C byla monitorována nejkratší dobu. Po zapracování filtru a zařazení dezinfekce výstupní přečištěné vody vykazovaly negativní nálezy pro všechny námi sledované mikrobiologické parametry, a DALY tudíž nebylo možné spočítat. Přečištěné vody tak nepředstavovaly zdravotní riziko pro všechna použití v lokalitě C.

Na základě monitorování mikroorganismů a stanovených hodnot DALY bylo pro neupravené šedé vody zjištěno, že představují zdravotní riziko pro všechna využití.

U šedých vod po průchodu membránou (lokalita A a B) i filtračním zařízením (lokalita C) sice dojde ke snížení počtů sledovaných mikroorganismů, i tak ale tyto přečištěné vody při většině způsobů použití představují stále zdravotní riziko. To se minimalizuje při doplnění technologie o dezinfekci přečištěných vod.

Poděkování

Príspevek byl vypracován za finanční podpory projektu TAČR TH03030408u, „Modulární technologie pro oddělené čištění šedé vody“.

Literatura

- Abu Ghunmi, L., Zeeman, G., Fayyad, M., van Lier, J. B. Grey water biodegradability. *Biodegradation*. 2011, 22, 163–174
- Eriksson, E., Auffarth, K., Henze, M., Ledin, A.. Characteristics of grey wastewater. *Urban Water*. 2002, 4, 85–104
- Hourlier, F., Massé, A., Jaouen, P., Lakel, A., Gérente, C., Faur, C., Le Cloirec, P. Membrane process treatment for greywater recycling: Investigations on direct tubular nanofiltration. *Water Science and Technology*. 2010, 62, 1544–1550
- Leonard, M., Gilpin, B., Robson, B., Wall, K.. Field study of the composition of greywater and comparison of microbiological indicators of water quality in on-site systems. *Environ. Monit. Assess.* 188, 2016
- RMMC, EPHC, NHMRC. Australian Guidelines for Water Recycling: Managing Health and Environmental Risks (Phase 1). *Protection and Heritage Council and Australian Health Ministers Conference*. 2006, 1, 389

Sledování vybraných patogenních bakterií v odpadních vodách

Roulová Nikola^{1,2}, Motková Petra², Brožková Iveta², Pejchalová Marcela²

¹Katedra analytické chemie, Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice,
Studentská 573, 532 10 Pardubice

²Katedra biologických a biochemických věd, Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice,
Studentská 573, 532 10 Pardubice
nikola.roulova@student.upce.cz

Kontrola mikrobiologické kvality přečištěných odpadních vod je primárně zaměřena na sledování indikátorů fekálního znečištění. Nicméně jejich množství často neodráží skutečné zdravotní a hygienické riziko odpadní vody, neboť nemusí korelovat s výskytem patogenních bakterií, jejichž přítomnost je však z hlediska vlivu na zdraví člověka nejvýznamnější. Proto by sledování výskytu patogenních bakterií v odpadních vodách nemělo být podceňováno, a to i přesto, že jejich detekce je oproti indikátorovým organismům výrazně složitější. Navíc získání bakteriálního kmene umožňuje sledovat jeho fenotypové znaky a také stanovit profil antibiotické rezistence.

Z hlediska veřejného zdraví a životního prostředí představují nejvyšší riziko odpadní vody vypouštěné ze zdravotnických zařízení. Pro nakládání s takovým typem odpadních vod sice existuje norma ČSN 75 6404, jejíž revidovaná verze je platná od března 2020, není však pro zdravotnická zařízení závazná. Odpadní vody z těchto zařízení jsou tak často přímo vypouštěny do stokové sítě pro veřejnou potřebu a čištěny společně s dalšími typy odpadních vod až na městských čistírnách. Tímto způsobem se ale pouze otvírá snadná cesta pro šíření vysokých koncentrací antimikrobiálních látek, rezistentních bakteriálních kmenů a genů rezistence z nemocničního prostředí. Běžně využívaný biologický proces čištění odpadních vod nejenže nedokáže plně eliminovat mikrobiální kontaminaci, ale navíc poskytuje ideální podmínky pro vznik a šíření antimikrobiální rezistence mezi bakteriálními populacemi. Biologicky přečištěné odpadní vody tak stále obsahují řadu patogenních bakterií, které kromě hygienického rizika v podobě kontaminace povrchových vod mohou představovat i významné vektory pro šíření antibiotické rezistence prostřednictvím horizontálního přenosu genů.

Cílem této studie je dlouhodobě sledovat výskyt a antimikrobiální rezistenci patogenních bakterií rodu *Salmonella* a bakterií *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica* a *Pseudomonas aeruginosa* v nemocničních a městských odpadních vodách. K odhadu mikrobiálního znečištění vyšetřovaných odpadních vod jsou dále stanovovány indikátory fekálního znečištění, a to koliformní bakterie a *Escherichia coli*. Bodové vzorky odpadních vod jsou odebírány ve frekvenci minimálně jednou za měsíc na dvou odběrových místech. Prvním odběrovým místem je městská ČOV, kde je odebírán jak přítok, tak odtok odpadní vody. Druhým odběrovým místem je nemocniční zařízení, kde je odpadní voda vzorkována ze dvou revizních šachet, přičemž do každé je svedena odpadní voda z jiné části areálu nemocnice. K detekci vybraných patogenních bakterií jsou využívány experimentální kultivační postupy, na jejichž vývoj s ohledem na zlepšení účinnosti, citlivosti a zkrácení doby nutné pro průkaz cílové patogenní bakterie je náš výzkum dlouhodobě zaměřen.

Poděkování

Práce vznikla za podpory Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy, s přispěním z prostředků účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (SGS_2020_005).

Změna mikrobiálního společenství při terciárním čištění odpadních vod

Benáková Andrea, Vobecká Eliška, Pečenka Martin, Řihová Ambrožová Jana, Wanner Jiří

Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, Dejvice, 166 28 Praha 6
benakova@vscht.cz

Cílem příspěvku je prezentace dílčích výsledků testování poloprovodní jednotky pro terciární dočištění odpadních vod. Takto upravená voda bude vhodná pro zalévání hřišť, městské zeleně, kropení ulic apod. Důraz je kladen zejména na mikrobiologickou kvalitu, neboť chemické ukazatele upravované odpadní vody nepředstavují významné riziko při využívání vody pro nepitné účely.

Poloprovodní jednotku je možné provozovat v různých variantách uspořádání dle požadované kvality vody. Lze zařadit různé typy filtrační technologie, např. pískovou filtraci, ultrafiltraci či filtraci přes granulované aktivní uhlí (GAU). Do vstupní vody lze dávkovat koagulační činidlo, polymerní flokulant či chlornan sodný. Voda je pak vedena přes lamelovou usazovací nádrž pro odstranění sraženiny vzniklé během koagulace. Po filtraci je voda hygienicky zabezpečována (UV lampa, chlorace nebo jejich kombinace). Upravená voda je jímána v akumulaci nádrži (doba zdržení 90 minut). Ve vzorcích byly z mikrobiologických ukazatelů analyzovány koliformní bakterie, *Escherichia coli*, intestinální enterokoky, *Clostridium perfringens* a kultivovatelné mikroorganismy při 22 °C a 36 °C.

Ve vstupní odpadní vodě se hodnoty koliformních bakterií pohybovaly řádově mezi 10^4 – 10^6 MPN/100 ml, počty *E. coli* 10^3 – 10^5 MPN/100 ml, počty intestinálních enterokoků 103–105 KTJ/100 ml, počty *Clostridium perfringens* 10^2 – 10^4 KTJ/100 ml, počty kultivovatelných mikroorganismů při 22 °C 10^4 – 10^5 KTJ/ml a při 36 °C 10^3 – 10^5 KTJ/ml. Početně *E. coli* představovala v průměru 34 % koliformních bakterií. Koagulační stupeň v některých případech zhoršoval kvalitu upravované odpadní vody. Účinnost pískové filtrace oproti vstupní odpadní vodě byla více než 40 %. Membránová filtrace eliminovala mikrobiální znečištění často se 100% účinností. Zbytkové znečištění bylo odstraněno po hygienickém zabezpečení. GAU v případě zařazení za pískový filtr vylepšovalo kvalitu vody nejčastěji s účinností 95 % a více. Voda po dezinfekci splňovala vždy požadavky na závlahové vody dle ČSN 75 7143 v ukazatelích intestinální enterokoky a koliformní bakterie a dále kritéria podle Nařízení EU 2020/741, o minimálních požadavcích na opětovné využívání vod, v ukazateli *E. coli*. Požadavky na pitnou vodu byly splněny přibližně u 70 % vzorků. Během akumulace docházelo k mírnému zhoršení kvality upravované vody, avšak voda i nadále splňovala hodnoty intestinálních enterokoků a koliformních bakterií pro závlahy a hodnoty *E. coli* podle Nařízení EU 2020/741.

Poděkování

Práce byla podpořena v rámci projektu TA ČR TH03030080 „Recyklace odpadních vod pro využití ve vodním hospodářství měst budoucnosti“.

Výskyt a detekce legionel v odpadních vodách na komunálních čistírnách odpadních vod. Jsou ČOV hrozbou pro okolí?

Sedláčková Helena¹, Drašar Vladimír¹, Kantorová Michaela², Mrázek Jakub²

¹NRL pro legionely, ZÚ Ostrava

²Odd. molekulární biologie, ZÚ Ostrava

helena.sedlackova@zuova.cz

Čistírny odpadních vod byly v literatuře již několikrát identifikovány jako zdroj legionelózy. Technologie čištění vody v rámci komunální ČOV zahrnuje několik fází (sedimentace, aktivace + aerace, dozazování, zpracování kalů, vyčištěná voda), ale víme jen velmi málo o společenstvech legionel, které zde žijí. Odpadní voda vytváří prostředí bohaté na organické i anorganické látky a také se zde vyskytuje velké množství dalších konkurenčních druhů mikroorganismů, jež komplikují záchyt legionel běžnými kultivačními metodami. Proto většina dosud získaných informací byla založena na qPCR. Pro přímý záchyt jednotlivých *L. species* bylo nutné upravit stávající postupy kultivace.

Materiál, metody

Vzorky odpadní vody, kalů a vyčištěné vody byly napřímo kultivovány při 30 °C. Paralelně byly vzorky ponechány po dobu šesti týdnů v termostatu 30 °C a následně rovněž kultivovány při 30 °C. Teplota kultivace zohledňuje teplotní podmínky čištěných vod. Získané izoláty byly potvrzeny pomocí sekvenace genu mip.

Výsledky

Vzorky reprezentující jednotlivé fáze čištění byly odebrány čtyřikrát v průběhu sledovaného roku. Nejvyšší počty legionel byly zjištěny během fáze sedimentace, aktivace a ve výsledném separovaném kalu (10^4 – 10^5 KJT /ml). Vyčištěná voda rovněž obsahovala legionely (10^2 KJT/ml). Byla prokázána i *L. pneumophila* sg. 3,6 a sg. 1 (ST 393), což koresponduje s nálezem ve vodě spádové oblasti. Za pomoci upravené metody kultivace bylo zachyceno dalších 12 druhů *L. species* a rovněž dalších šest nových druhů. Většina z nich byla vykultivována při 30 °C, ale při 36 °C již nerostla. Za zmínku stojí přítomnost *L. steelei* ve všech fázích čistícího procesu a výskyt *L. longbeachae* v separovaném kalu. Vzorky odebrané aeroskopem zůstaly negativní.

Závěr

ČOV představují pro výskyt legionel ideální prostředí. Výsledky ukazují, že zde žije široké spektrum druhů napříč čistícím procesem. Možnost jejich kultivace je však podmíněna použitím nižších kultivačních teplot. Získané výsledky potvrzují, že jak voda, tak hlína i odpadní vody včetně kalů představují ekologickou niku pro spektrum nových druhů, jejich role v čistícím procesu však zatím zůstává neznámá, včetně zdravotního rizika, které představují.

Monitoring koronaviru SARS-CoV-2 v odpadních vodách ČR

Mlejnková Hana¹, Sovová Kateřina², Gharwalová Lucia¹, Jašíková Lucie¹, Vašíčková Petra³, Fialová Alena⁴

¹Výzkumný ústav vodohospodářský T. G. Masaryka, v. v. i., Podbabská 2582/30, 160 00 Praha 6
hana.mlejnkova@vuv.cz; lucie.jasikova@vuv.cz

²Výzkumný ústav vodohospodářský T. G. Masaryka, v. v. i., Brno, Mojžírovo náměstí 16, 612 00 Brno
katerina.sovova@vuv.cz

³Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Hudcova 296/70, Brno
vasickova@vri.cz

⁴Státní zdravotní ústav, Šrobárova 48/49, 100 00 Praha 10
alena.fialova@szu.cz

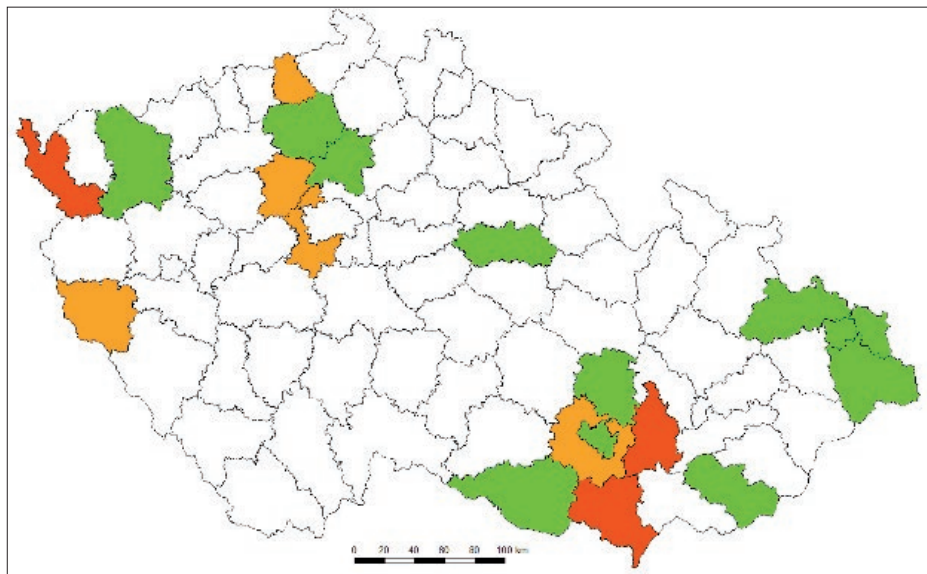
Na konci roku 2019 se z Číny do celého světa pandemicky rozšířil nový virus SARS-CoV-2, který byl do konce dubna 2021 prokázán u více než 150 milionů lidí (v ČR 1,6 mil.). Koronaviry jsou přednostně vylučovány respiračními sekrety, genové segmenty však byly prokázány také ve stolici infikovaných osob, kde mohou být až 35 dní, tj. před vypuknutím a po odeznění příznaků. V naší studii byl použit tzv. epidemiologický přístup k odpadním vodám, známý z kvantitativního měření lidských biomarkerů, např. drog v odpadních vodách. Správně nastavený systém monitoringu odpadních vod by mohl být využit pro surveillance závažných infekčních onemocnění nebo jako nástroj včasného varování pro nastavení systému účinného dohledu nad šířením nákazy. V ČR by monitoringem odpadních vod v ČOV mohlo být sledováno až 80 % obyvatel.





Monitoring přítomnosti koronaviru SARS-CoV-2 v odpadních vodách byl prováděn od dubna 2020. V jarní vlně epidemie bylo ve spolupráci se společností SOVAK získáno 124 vzorků nátoků na 40 ČOV z celého území ČR (Obr. 1). Další dvě etapy monitoringu probíhaly v období od listopadu do prosince 2020 (přes 240 vzorků z 50 ČOV) a od února 2021 (dosud). Cílem rozsáhlého vzorkování bylo zachytit různé úrovně počtů infikovaných osob. Extrakce RNA a detekce viru pomocí RT-qPCR analýzy byla prováděna ve Výzkumném ústavu veterinárního lékařství, v. v. i., v Brně. Optimalizace náročného postupu extrakce RNA z nečištěných odpadních vod je prováděna v rámci probíhajícího projektu programu 4. VS BV III „Využití monitoringu odpadních vod jako nástroje včasného varování před vznikem epidemiologické situace“.

Nález genových segmentů viru SARS-CoV-2 v odpadních vodách byl v jarní etapě pozitivní u 18 vzorků (tj. 15 %) z 12 ČOV (30 %). Díky velmi nízkým počtům infikovaných osob v ČR v jarní vlně epidemie se podařilo získat jedinečné výsledky, které umožnily zachytit dolní mez detekce zvolené metody. Fragmenty SARS-CoV-2 byly stanoveny v odpadních vodách od 6 000 do 80 000 obyvatel napojených na ČOV, mezi nimiž byly aktuálně v daný den evidovány pouze jednotky infikovaných osob. Tato velmi nízká čísla ukazují na velmi vysokou citlivost metody.

Naše i zahraniční výsledky ukazují, že zvolený přístup detekce infekčních agens v odpadních vodách by mohl být při systematickém sledování spolehlivě využitelný k tvorbě systému, jehož cílem bude včasné zachycení varovného signálu nastupující epidemiologické situace a sledování vývoje epidemie.

Obr. 1. Oblasti v ČR, v nichž byl monitorován výskyt SARS-CoV-2 RNA v odpadních vodách



-  netestováno
-  oblasti s negativním nálezem SARS-CoV-2 RNA
-  oblasti s pozitivním nálezem SARS-CoV-2 RNA
-  oblasti s opakovaným nálezem SARS-CoV-2 RNA

Poděkování

Práce vznikla za podpory institucionálních prostředků MŽP prostřednictvím interního grantu 3600.52.33/2020 VÚV T. G. M., v. v. i., a projektu VI04000017 „Využití monitoringu odpadních vod jako nástroje včasného varování před vznikem epidemiologické situace“ programu 4. VS BV III. Autoři děkují za poskytnutí výsledků sdružení SOVAK ČR a provozovatelům ČOV za vstřícnou spolupráci při poskytování vzorků odpadní vody.

Proces zavádění metodiky detekce SARS-CoV-2 v odpadních vodách na VŠCHT Praha

Bartáček Jan¹, Čermáková Eliška², Demnerová Kateřina², Dostálková Alžběta³,
Gajdoš Stanislav¹, Janda Václav¹, Křížová Ivana³, Nováková Zuzana⁴, Ruml Tomáš²,
Rumlová Michaela³, Říhová Ambrožová Jana¹, Škodáková Klára¹,
Vejmelková Dana¹, Wanner Jiří¹, Zdeňková Kamila²

¹Vysoká škola chemicko-technologická Praha, ÚTVP, Technická 5, 166 28 Praha 6
dana.vejmelkova@vscht.cz; katerina.demnerova@vscht.cz

²Vysoká škola chemicko-technologická Praha, ÚBM, Technická 5, 166 28 Praha 6

³Vysoká škola chemicko-technologická Praha, ÚB, Technická 5, 166 28 Praha 6
⁴PVK, a. s., Ke Kablu 971/1, Hostivař, 102 00 Praha 10

Na počátku pandemie covid-19 v Česku vyvstala potřeba zavést metodiku detekce SARS-CoV-2 v odpadních vodách. Předpokládá se, že screening SARS-CoV-2 v odpadních vodách lze použít jako nástroj k monitoringu cirkulace tohoto viru v populaci, popřípadě k dřívějšímu varování před příchodem nové vlny (Medema et al., 2020). Pro rychlejší zavedení metodiky spojením odborností technologie vody, virologie a molekulární biologie RNA byla navázána spolupráce Ústavu technologie vody a prostředí, Ústavu biochemie a mikrobiologie a Ústavu biotechnologie. Pro financování této spolupráce jsme využili možnosti rozšíření stávajících projektů TA ČR v souvislosti s koronavirovou pandemií. Konkrétně byl rozšířen projekt TAČR SS01020112 „Technologie pro odstranění antibiotické rezistence z čistírenských kalů aplikovaných v zemědělství“. Cílem rozšířené části projektu je zavedení metody stanovení viru SARS-CoV-2 v odpadních vodách v laboratořích VŠCHT a následně dlouhodobé sledování výskytu viru na cca 15 místech pražské stokové sítě v dvou týdenních intervalech.

Na základě informací z několika článků publikovaných formou preprintu byl vybrán postup analýzy, který se jevil jako nejsnáze dostupný a bezpečný z hlediska ochrany pracovníků v laboratoři (Wu et al., 2020), a byl jen mírně upraven. Vzorek odpadní vody byl nejdříve pasterizován při 60 °C po dobu 1,5 h, filtrován přes 0,45 μm membránový filtr a filtrát byl smíchán se směsí polyethylenglykolu a chloridu sodného. Následovala centrifugace při 12000xg a 4 °C po dobu 2 h. Peleta byla resuspendována v Trizolu a RNA izolovaná dle instrukcí výrobce byla podrobena RT-qPCR.

Vyskytlo se několik praktických komplikací, některé vzorky např. ucpávaly membránové filtry již po desítkách ml. To značně prodloužilo dobu zpracování vzorků a zvýšilo finanční náklady, neboť na jeden vzorek bylo potřeba použít více filtrů. Zároveň vyvstává otázka, jestli při ucpávání filtrů nedochází k významnějšímu zachytu virových částic na filtru.

Po získání prvních výsledků, které byly SARS-CoV-2 negativní, jsme optimalizovali vybrané kroky postupu. V souvislosti s pandemií se však vyskytly problémy s dostupností některých chemikálií na českém trhu, např. nebylo možné navýšit množství PEG8000 z 10% na 20%. Proto byl navýšen objem zpracovávaného vzorku z 80 ml na 120 ml. Dále nebylo možné testovat postup publikovaný týmem z KWR, Výzkumného ústavu pro vodní hospodářství v Nizozemí, opět pro nedostupnost zboží na českém trhu, konkrétně ultrafiltračních membránek o MWCO 100 kDa.

Pravidelné vzorkování na pražské stokové síti probíhá od druhé poloviny června. V současné době bylo získáno několik pozitivních výsledků pohybujících se na hranici meze kvantifikace až po 91 kopií genu/ml odpadní vody. Na konferenci budou prezentovány podrobnější výsledky detekce SARS-CoV-2 v odpadních vodách pomocí RT-qPCR včetně výstupů optimalizace metodiky a konzultací se zahraničními kolegy zabývajícími se stejnou problematikou.

Reference

- Medema, G., Elsinga, G., Heijnen, L., Italiaander, R., Brouwer, A. Presence of SARS-Coronavirus-2 RNA in Sewage and Correlation with Reported COVID-19 Prevalence in the Early Stage of the Epidemic in The Netherlands. *Environ. Sci. Technol. Lett.* 2020, 7, 7, 511–516
- Wu, F., Xiao, A., Zhang, J., Gu, X., Lee, W. L., Kauffman, K., Hanage, W., Matus, M., Ghaeli, N., Endo, N., Duvallet, C., Moniz, K., Erickson, T., Chai, P., Thompson, J., Alm, E. SARS-CoV-2 titers in wastewater are higher than expected from clinically confirmed cases. *MedRxiv* [preprint], 2020

Poděkování

Příspěvek vznikl za finanční podpory projektu TA ČR SS01020112 „Technologie pro odstranění antibiotické rezistence z čistírenských kalů aplikovaných v zemědělství“.

Role vody v přenosu virů způsobujících alimentární infekce

Vašíčková Petra, Hrdý Jakub, Slaná Iva

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Hudcova 70, 621 00 Brno
vasickova@vri.cz, hrdy@vri.cz, slana@vri.cz

V poslední době se důležitou oblastí zájmu nejen v bezpečnosti potravin stávají virová agens a onemocnění jimi způsobená. O jejich významu svědčí periodické zprávy Evropského úřadu pro bezpečnost potravin (EFSA), které viry řadí mezi nejčastější původce onemocnění v souvislosti s kontaminovanými potravinami a vodou. Ačkoli byl přenos kontaminovanými potravinami či vodou popsán u téměř 11 čeledí, podle EFSA mezi nejvýznamnější zástupce patří noroviry (NoV GI a NoV GII), virus hepatitidy A (HAV) a virus hepatitidy E (HEV). Vzhledem ke svému významu pro lidské zdraví je možné mezi tato agens zařadit i viry z čeledi Adenoviridae (adenovirus 40 a 41, AdV 40/41) a rotaviry (RVA).

Hlavní způsob šíření těchto virů je fekálně-orální přenos. Kombinací přímého kontaktu s infikovanými osobami (klinicky nemocnými či asymptomatickými přenašeči) a nedodržování základních hygienických návyků dochází pak v populaci k obtížně kontrolovatelnému šíření onemocnění. Infikovaná osoba většinou vylučuje zmíněné viry už před objevením klinických příznaků a několik týdnů po jejich odeznění. Tato agens se následně dostávají do prostředí a kanalizačních systémů. Oproti bakteriím viry obecně vykazují větší rezistenci vůči čistícím procesům, proto nemusí být běžnými postupy zcela spolehlivě odstraněna či inaktivována. Ke kontaminaci povrchové i pitné vody tak dochází odtokem nedostatečně ošetřené vody z čistíren odpadních vod do vodních zdrojů, prostřednictvím netěsnících/porušených kanalizačních systémů a septiků či přímým odtokem odpadních vod a kalů do prostředí. Kontaminovaná voda pak může sloužit jako vhodné vehikulum těchto virů a následně být zdrojem sekundárních kontaminací potravin. Vzrůstající počty zaznamenaných epidemií souvisejících s kontaminovanými potravinami či vodou svědčí právě o tom, že ani tento způsob přenosu virů by neměl být opomíjen.

Na základě těchto dat bude cílem příspěvku podrobněji seznámit posluchače s rolí vody v přenosu virů způsobujících alimentární infekce a s výsledky analýz různých druhů vod na přítomnost vybraných virových agens (humánní noroviry, adenoviry, virus hepatitidy A a virus hepatitidy E), včetně molekulárně epidemiologických studií, které byly provedeny ve Výzkumném ústavu veterinárního lékařství, v. v. i., Brno.

Poděkování

Práce vznikla za podpory projektů Ministerstva zdravotnictví NV17-31921A a Ministerstva zemědělství QK1810212.

Multiplexní nástroj pro rychlou detekci patogenních virů spojených s kontaminovanou vodou a prostředím

Hrdý Jakub^{1,2}, Vašíčková Petra¹, Krásna Magdaléna¹

¹Oddělení Mikrobiologie a antimikrobiální rezistence, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i.,
Hudcova 296/70, 621 00 Brno

²Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita,
Kamenice 753/5, 625 00 Brno

hrdy@vri.cz; vasickova@vri.cz; krasna@vri.cz

Virová agens se v poslední době dostávají do popředí zájmu, a to i ve spojitosti s možnou kontaminací vodních zdrojů a prostředí. Nejčastějšími následky onemocnění, která se s těmito kontaminacemi pojí, jsou gastroenteritidy projevující se horečkou, zvracením a vodnatými průjmy. Kromě mírných horečnatých onemocnění však mohou viry způsobovat i závažnější stavy – infekce dýchacího ústrojí, hepatitidy, konjunktivitidy, aseptické meningitidy, myokarditidy, encefalitidy či paralyzy.

V současnosti rutinně používané metody pro detekci těchto agens mají své limity. Jedním z nejpodstatnějších je omezená možnost vytvářet multiplexní systémy pro detekci většího množství patogenů současně. Z tohoto důvodu jsme vyvinuli nový detekční nástroj, který toto omezení umožní překonat. Zkombinovali jsme metodu multiplexní ligační reakce a PCR s komerčně dostupnou technologií xMAP (Luminex corporation, Texas, USA). Kombinace těchto metod umožňuje vytvářet otevřené detekční systémy až pro 50 různých cílů.

Pro detekci virů spojených s alimentárními nákazami byl vyvinut a optimalizován panel zahrnující nejvíce diskutované původce – noroviry, viry hepatitidy A a E, adenoviry a rotaviry. Spolehlivost tohoto panelu byla ověřena i mezilaboratorními testy, kdy byl potvrzen limit detekce této metody, 5×100 až 5×101 genomových ekvivalentů v reakci. Tento systém představuje rychlou, robustní, spolehlivou a dostatečně citlivou metodu pro možné monitorování a kontrolu mikrobiologické bezpečnosti potravin, vodních zdrojů a prostředí, kromě toho může sloužit i jako pomocný nástroj při epidemiologických šetřeních.

V souvislosti s aktuální epidemiologickou situací byl tento detekční panel doplněn o systémy cílené na viry způsobující respirační onemocnění (tzn. původce nového onemocnění covid-19 a chřipky A a B).

Poděkování

Práce byla provedena s podporou projektu Ministerstva zdravotnictví ČR 17-31921A „Viry v souvislosti s alimentárními infekcemi – molekulární epidemiologie a metody rychlé detekce“ a Bezpečnostního výzkumu Ministerstva vnitra BV VI20152020044 „Multiplexní xMAP technologie pro komplexní detekci patogenních agens významných z pohledu zajištění ochrany zdraví lidí a zvířat“. Tento detekční nástroj je aktuálně testován v projektu Ministerstva vnitra VI04000017 „Využití monitoringu odpadních vod jako nástroje včasného varování před vznikem epidemiologické situace“.

Výskyt SARS-CoV-2 v uzavřených prostorech se zvýšeným pohybem lidí

Králík Petr^{1,2}, Dziedzinská Radka^{1,2}, Šerý Omar^{1,2,3}

¹Laboratoř neurobiologie a patologické fyziologie, Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, v. v. i., Rumburská 89, 277 21 Liběchov

²Elisabeth Pharmakon, spol. s r. o., Rokycanova 4437/5, 615 00 Brno

³Laboratoř DNA diagnostiky, Ústav biochemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kamenice 5, 625 00 Brno

pkralik@elisabeth.cz; pkralik@iapg.cas.cz

Epidemie SARS-CoV-2 vyvolala celosvětovou krizi a ukázala nedostatečnou připravenost mnoha zemí na takový typ ohrožení. Byla přijata řada opatření, jejichž dopad na zvládnání epidemie lze hodnotit jako spíše sporný. Mezi taková opatření lze zařadit i kompletní uzavření obchodů na podzim 2020 s výjimkou prodeje potravin, které trvalo až do začátku května 2021. Vliv uzavření obchodů na zvládnání epidemie nemá jednoznačně prokázáný účinek, který by bylo možné hodnotit bez vztahu k ostatním opatřením.

Vzhledem k diskutabilnímu vlivu uzavření obchodů na šíření infekce SARS-CoV-2 jsme provedli dvě šetření v místech, kde dochází ke zvýšenému pohybu osob. První se uskutečnilo na centrální poště v Brně před Vánocemi 2020, tedy v době raketového růstu počtu nakažených, který kulminoval na přelomu roku. Druhé šetření proběhlo ve velkém nákupním centru v Olomouci na začátku února 2021, tedy v době dalšího růstu počtu nově nakažených po poklesu v lednu 2021. V obou případech byly analyzovány vzorky vzduchu a prostředí metodou qPCR. Vzorky vzduchu byly odebírány přímo do konzervačního média prostřednictvím vedení vzduchu přímo na vlhčené lamely, aby nedocházelo k degradaci virové RNA. Vzorky prostředí byly reprezentovány stěry z povrchů a rukou zaměstnanců, a to ve večerních hodinách před ukončením provozu zařízení. V den odběru poštu navštívilo 2 600 osob a nákupní centrum navštívilo více než 10 000 osob. Stěry byly odebírány z míst, jichž se dotýká velké množství lidí, jako jsou např. madla a kliky dveří, terminál vyvolávacího systému, madla nákupních vozíků, výtahová tlačítka, madla eskalátorů apod.

Po transportu do laboratoře byla ze všech vzorků stěrů izolována RNA pomocí standardního komerčně dostupného kitu EliGene® Viral DNA/RNA FAST Isolation Kit. Přítomnost RNA SARS-CoV-2 byla ověřena pomocí komerčně dostupných detekčních souprav EliGene® COVID19 CONFIRM RT a EliGene® COVID19 Triple RIC RT na qPCR přístroji CFX 96 Touch.

Výsledky ukázaly, že v místech se zvýšeným pohybem osob není množství viru ani ve vzduchu, ani na povrchích detekovatelné. Výběr míst pro provedení stěrů a odběr vzorků vzduchu byl proveden tak, aby pravděpodobnost záchytu byla maximalizována. Přesto nebyl virus v prostředí s vysokým výskytem osob prokázán. Tyto výsledky naznačují, že místa s vysokou kumulací lidí při dodržování hygienických opatření, což je především ochrana dýchacích cest a používání dezinfekce, nepředstavují z pohledu šíření infekce SARS-CoV-2 riziko.

Poděkování

Výsledky vznikly v rámci řešení projektu Bezpečnostního výzkumu Ministerstva vnitra VI04000071 „Systém pro zorkování a detekci koronaviru a dalších původců respiračních onemocnění ze vzduchu“. Poděkování patří vedení České pošty, s. p., a majitelům Galerie Šantovka za umožnění vstupu a sběru vzorků.

Klimatické změny a mikroorganismy

Rulík Martin

*Katedra ekologie a životního prostředí, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého,
Šlechtitelů 27, 783 71 Olomouc
martin.rulik@upol.cz*

Bakterie představují cca 15 % biomasy Země a přispívají minimálně 20–30 % ke globální primární fotosyntetické produktivitě. Rovněž klíčové procesy a reakce v biogeochemických cyklech prvků jsou zprostředkovány bakteriemi – např. bakterie a archea jsou jediné známé organismy schopné fixovat plynný dusík. Chceme-li proto lépe pochopit dopady probíhající klimatické změny na přírodní ekosystémy, je nezbytné zahrnout do našich úvah i do globálních modelů roli mikroorganismů.

Globální oteplování jakožto hlavní rys klimatických změn ovlivňuje jak vodní, tak terestrické mikroorganismy, včetně patogenních. S rostoucí teplotou vzduchu i vody se např. rozšiřují areály původců závažných onemocnění, jako jsou cholera nebo západonilská horečka, a zvyšuje se rezistence mikroorganismů na antibiotika. Vyšší teplota vody rovněž stimuluje rychlejší rozklad opadu ve vodních tocích, což může v budoucnu vést k nedostatku potravy pro bezobratlé rozkladače. Na druhou stranu, mikroorganismy mohou klimatické změny ovlivňovat prostřednictvím pozitivní zpětné vazby. Příkladem je zvýšená respirace a produkce CO_2 v důsledku zvyšování teploty nebo produkce CH_4 následkem tání permafrostu. Oba plyny patří mezi tzv. skleníkové plyny a jejich akumulace v atmosféře vede k dalšímu zvyšování teploty vzduchu.

V rámci přednášky budou demonstrovány různé příklady přímých a nepřímých vlivů klimatických změn na mikrobiální společenstva ve vodách a stejně tak i příklady ukazující zpětnovazební roli mikroorganismů.

Mikrobiologická kvalita vodních ploch na území hlavního města Prahy

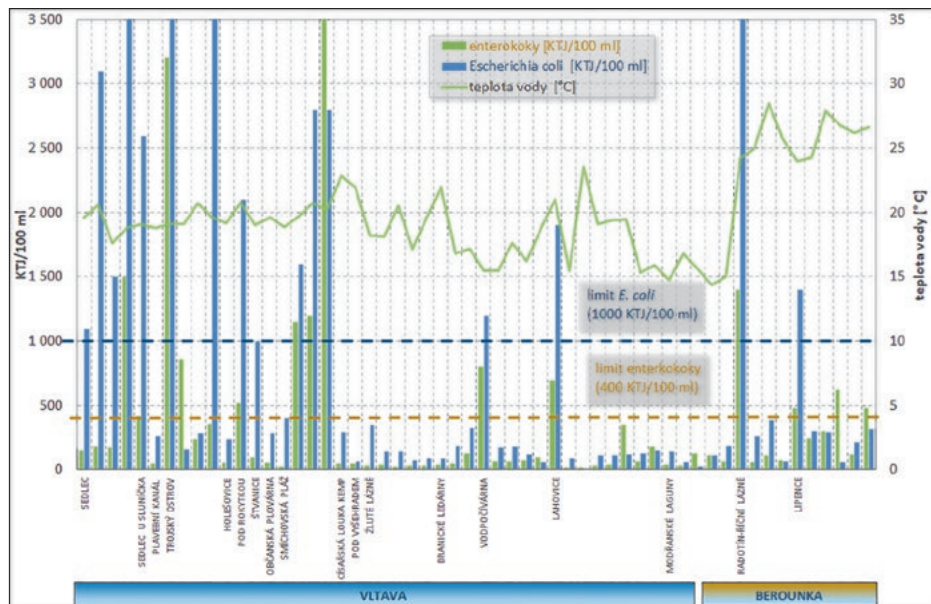
Gharwalová Lucia, Mlejnková Hana, Jašíková Lucie, Fojtik Tomáš,
Makvcová Marcela, Juranová Eva

Výzkumný ústav vodohospodářský T. G. Masaryka, v. v. i., Podbabská 30, 160 00 Praha 6
lucia.gharwalova@vuv.cz

Revidovaná směrnice Evropského parlamentu o vodách ke koupání (2006/7/ES) vyžaduje, aby členské státy EU minimalizovaly riziko pro veřejné zdraví z mikrobiálního znečištění prostřednictvím zlepšených přístupů k monitorování. V rámci projektu CZ.07.1.02/0.0/0.0/16_040/0000382 „Praha – Pól růstu II: Možnosti vodní rekreace na území hlavního města Prahy (od historie po současnost)“ byl v letech 2018 a 2019 prováděn průzkum potenciálních možností rozšíření míst ke koupání a rekreaci u vody na území Prahy. Z cca 150 zvažovaných míst bylo vybráno 57, v nichž byla monitorována jakost vody a hodnocen jejich stav a potenciál. Pro posouzení jakosti vody těchto lokalit bylo, alternativně k Vyhlášce 238/2011 Sb., navrženo „orientační posouzení aktuálního stavu přírodních koupališť“. Byly vytvořeny kategorie (vyhovující/nevhovující/vyhovující s výhradou) a s využitím vyhlášky č. 238/2011 Sb., byly kategoriím přiřazeny limitní hodnoty. Výstupy projektu přispějí ke zvýšení informovanosti veřejnosti o aktuálních možnostech rekreace u vody na území Prahy.

Poděkování

Práce byla financována prostřednictvím projektu CZ.07.1.02/0.0/0.0/16_040/0000382 Operačního programu Praha – pól růstu ČR www.penizeproprahu.cz.



Mikrobiální kvalita řeky Vltavy a Berounky v létě 2018 a 2019

Prototheca spp., environmentální patogen mléčných farem

Morávková Monika¹, Seydlová Růžena², Kucharovičová Ivana³, Bačová Romana¹

¹Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Hudcova 70, 621 00 Brno
moravkova@vri.cz; bacova@vri.cz

²Výzkumný ústav mlékárenský, Ke Dvoru 12a, 160 00 Praha 6
seydlova@milcom-as.cz

³Státní veterinární ústav, Rantířovská 93/20, 586 01 Jihlava
kucharovicova@svujihlava.cz

Zástupci rodu *Prototheca* patří mezi jednobuněčné achlorofylní řasy vyskytující se ve vlhkém prostředí bohatém na organické látky. Jsou většinou detekováni ve vzorcích z fekálií, odpadních vod, ve vlhké půdě, krmivu, stelivu či výkalech, zejména prasat a skotu. Avšak některé druhy mohou vyvolat za určitých podmínek onemocnění lidí a zvířat. Mezi nejčastější zástupce vyvolávající onemocnění lidí je řazena *P. wickerhamii*, u zvířat je nejčastěji izolována *P. bovis* (dříve *P. zopfii* genotyp II). Méně často se setkáváme s *P. blaschkeae* nebo *P. ciferii*.

U zvířat nejzávažnější problémy prototeky způsobují v chovech mléčného skotu, kde se podílejí na vzniku mastitidního onemocnění. Hlavním rysem prototekové mastitidy je změna kvality mléka a snížení jeho produkce. V pozdějších fázích infekce může dojít k významnému a nenávratnému poškození mléčné žlázy. U infikovaných krav je prototéka vylučována zejména prostřednictvím mléka, případně výkaly do prostředí, čímž dochází k větší infekční zátěži a šíření prototék v chovu. V současné době neexistuje spolehlivá léčba. K ozdravení chovu jsou vytipována organizační opatření, která významně brání rozšiřování infekce, nicméně pozitivní dojnice musejí být vždy z chovu vyřazeny.

Diagnostika je většinou založena na kultivaci mikroorganismů s následnou mikroskopii. Pro přesnou identifikaci izolátů lze použít specifickou PCR, případně sekvenaci genu *cytb* nebo 18S/28S rDNA. Pro přímou detekci a přesnou identifikaci vybraných prototék v mléce, klinických vzorcích či v prostředí lze též využít molekulárních metod na bázi real-time PCR (qPCR).

Diagnostika mastitidních původců se historicky orientovala pouze na kontagiózní a bakteriální environmentální patogeny, nicméně v souvislosti s jejich částečným potlačením vzrůstá problematika dalších nebakteriálních původců, k nimž právě patří *Prototheca* spp. Proto bylo za účelem předběžného zjištění rozšíření prototekových infekcí v chovech mléčného skotu v České republice vyšetřeno pomocí kultivace a přímé multiplexní qPCR, vyvinuté a zavedené na jednom z podílejících se pracovišť, 120 bazénových vzorků mléka. Následně byla vytipována jedna farma s diagnostikovanou mastitidou způsobenou *Prototheca* sp. a na této farmě byla zjišťována kontaminace prostředí. Bylo odebráno 21 vzorků, které byly vyšetřeny jak kultivačně, tak pomocí multiplexní qPCR.

Pro kultivační vyšetření byl použit Sabourad agar s chloramfenikolem. Pro molekulární detekci byla použita multiplexní qPCR umožňující detekovat, identifikovat a kvantifikovat rod *P. bovis*, *P. wickerhamii*, *P. blaschkeae* a *P. ciferii*. DNA byla izolována pomocí kitu Quick-DNA Fecal/Soil Microbe Microprep kit (Zymo Research).

Pomocí multiplexní qPCR byla *P. bovis*, případně *P. blaschkeae*, detekována ve 14 % vzorků bazénového mléka. Počet buněk prototék na mililitr mléka se pohyboval v rozmezí 10^0 – 10^6 . Kultivačně byla prototéka izolována pouze u tří vysoce qPCR pozitivních bazénových vzorků s hodnotami nad 10^4 /ml mléka.

V prostředí pozitivní farmy se zdroj nákazy prokázat nepodařilo, kultivačně byly všechny vzorky včetně vzorků krmiva, vody či biofilmu z napájecích zařízení negativní. qPCR analýza odhalila pouze dva pozitivní vzorky seškrabu z chodby a podestýlky ze stáje, kde byly ustájeny pozitivní kusy zvířat.

Z výsledků předběžné studie vyplývá, že *P. bovis*, případně *P. blaschkeae*, se může vyskytovat ve více než 10 % mléčných farem, proto je třeba podrobněji prošetřit dané chovy a zavést zásadní organizační opatření proti dalšímu šíření infekce. Ze studie též vyplývá, že qPCR metoda je vhodnou metodou, jež může napomoci odhalit již nízké koncentrace prototék ve vzorcích, především těch, kde se vyskytují kvasinky, které kultivační vyšetření na prototéku značně komplikují.

Poděkování

Práce byla vypracována za podpory Ministerstva zemědělství NAZV QK1910092 a za institucionální podpory Ministerstva zemědělství MZE-RO0518.

Identifikace mikrobiálních kmenů izolovaných z vod degradujících pesticidy

Janalíková Magda¹, Pleva Pavel¹, Berčíková Lucie¹, Peroutková Petra², Palarčík Jiří², Siglová Martina³

¹Ústav inženýrství ochrany životního prostředí, Fakulta technologická, Univerzita Tomáše Bati,
Vavrečkova 275, 760 01 Zlín
mjanalikova@utb.cz

²Ústav environmentálního a chemického inženýrství, Fakulta chemicko-technologická,
Univerzita Pardubice, Studentská 573, 530 09 Pardubice
jiri.palarcik@upce.cz

³EPS biotechnology, s. r. o., V Pastouškách 205, 686 04 Kunovice
martina.siglova@epsbiotechnology.cz

Degradační mikrobiální flóra lze očekávat především tam, kde se vyskytují látky strukturně podobné cizorodým, nebo v prostředí s dlouhodobou přítomností cizorodých látek. V takových místech totiž již proběhla (či probíhá) potřebná selekce mikroorganismů. Výbornými zdroji degradačních kultur jsou proto zejména znečištěné vody dlouhodobě kontaminované pesticidními látkami.

Z vytipovaných lokalit byly odebrány vzorky vod, z nichž byly stanoveny kultivovatelné heterotrofy a specifické heterotrofní mikroorganismy s pravděpodobným degradačním potenciálem vůči acetochloru a alachloru. Byly provedeny úpravy kultivačního prostředí pro zvýšení selekčního tlaku tak, aby byly odstraněny zejména primární nedostatky omezující nebo vylučující rozvoj degradační mikrobiální flóry (přídavek alachloru nebo acetochloru). Většina vzorků prošla také procesem nabohacování přítomných degradérů a teprve poté bylo finálně rozhodnuto o vzorcích, které projdou primární selekcí do dalších experimentů.

Celkem bylo izolováno 19 mikrobiálních kmenů s degradačním potenciálem – 17 kmenů z vody lokality Vysočina, jeden kmen z vody lokality Jihlava a jeden kmen z vody lokality Ivančice.

Pro identifikaci byly zvoleny metody MALDI-TOF a sekvenace genu pro 16S rRNA. Mezi identifikovanými rody se vyskytuje 12 zástupců gramnegativních bakterií (např. *Brevundimonas*, *Paraburkholderia*, *Pseudomonas*), pět zástupců grampozitivních bakterií (např. *Exiguobacterium*, *Microbacterium*), jedna kvasinka (*Cystobasidium*) a jedna plíseň (*Cadophora*). Většinu kmenů se podařilo pomocí obou metod identifikovat na úroveň druhu, pouze čtyři kmeny byly identifikovány na rodovou úroveň.

Poděkování

Publikované výsledky byly dosaženy s podporou projektu TA ČR č. TJ04000226.

Účinnost mechanicko-biologických čistíren odpadních vod při odstraňování bakterií *E. coli* rezistentních k vybraným antibiotikům

Sovová Kateřina¹, Buriánková Iva², Peter Kuchta², Anna Molíková², David Výravský¹,
Martin Rulík³, Monika Vítězová²

¹Výzkumný ústav vodohospodářský T. G. Masaryka, v. v. i., pobočka Brno,
Mojmírovo náměstí 16, 612 000 Brno
katerina.sovova@vuv.cz; david.vyravsky@vuv.cz

²Oddělení mikrobiologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita,
Kamenice 5, 625 00 Brno
buriankova@sci.muni.cz; 461217@mail.muni.cz;
molikova.anna@gmail.com; vitezova@sci.muni.cz

³Katedra ekologie a životního prostředí, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého,
17. listopadu 12, 779 00 Olomouc
martin.rulik@upol.cz

Antibiotika jsou celosvětově intenzivně využívána pro léčbu lidí i zvířat, což vede k jejich neustálému uvolňování do životního prostředí. Společně s antibiotiky se do odpadních vod dostávají i bakterie rezistentní na antibiotika.

Cílem této práce bylo zjistit, jak přispívají mechanicko-biologické čistírny odpadních vod (ČOV) nad 10 000 EO k eliminaci bakterií *E. coli* rezistentních na vybraná antibiotika – ampicilin, tetracyklin, sulfomethaxazol, ceftazidim, cefotaxim a kolistin.

Počty rezistentních *E. coli* dosahovaly na nátoky na ČOV hodnot 10^1 – 10^4 KTJ/ml a tvořily často i přes polovinu celkového počtu *E. coli*. Podle prvotních výsledků v průměru docházelo k eliminaci rezistentních *E. coli* o 99 % na hodnoty 10^0 – 10^2 KTJ/ml. Nebyl pozorován rozdíl v eliminaci *E. coli* rezistentních na různá antibiotika.

Sledované ČOV prokázaly vysokou účinnost při eliminaci rezistentních bakterií *E. coli* z odpadních vod, nicméně množství rezistentních bakterií ve vyčištěných odpadních vodách je i přesto rizikem pro životní prostředí i zdraví lidí a zvířat.

Poděkování

Práce byla finančně podpořena z Institucionálních prostředků na rozvoj výzkumné organizace VÚV TGM, v. v. i., v rámci interního grantu č. 3600.52.20/2020.

Účinnost mechanicko-biologického čištění odpadních vod při odstraňování genů antibiotické rezistence

Buriánková Iva¹, Kuchta Peter¹, Sovová Kateřina², Rulík Martin³, Vítězová Monika¹

¹Ústav experimentální biologie – Oddělení mikrobiologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova Univerzita,

Kamenice 5, 625 00 Brno

buriankova@sci.muni.cz

²Katedra ekologie a životního prostředí, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci,

17. listopadu 12, Olomouc, 77900

martin.rulik@upol.cz

³Výzkumný ústav vodohospodářský T. G. Masaryka, v. v. i., Mojžírovo náměstí 16, 612 00 Brno

katerina.sovova@vuv.cz

Kvůli dlouhodobému nadužívání antibiotik přibývá důkazů, že se do vodních recipientů dostávají mikroorganismy nesoucí získané geny rezistence (ARGs) k různým druhům antibiotik, jejichž zdrojem jsou splaškové odpadní vody a především odpadní vody ze zemědělské produkce. V současné době není dostatečně známo, jaká je účinnost zachytu, resp. odstraňování rezistentních mikroorganismů a ARGs na příslušných ČOV. Cílem výzkumu byla relativní kvantifikace vybraných ARGs pomocí metody kvantitativní PCR a zhodnocení účinnosti jejich eliminace při čištění odpadních vod na ČOV Modřice (Brno). Vzhledem k faktu, že „hot-spots“ mikrobiálního metabolismu se nacházejí v biofilmech hyporheických sedimentů, byl kromě nátoky a odtoku z ČOV testován také sediment a voda z recipientu řeky Svratky nad a pod výpustí. Výsledky naznačují, že k obohacování říčního ekosystému o geny rezistence dochází i přes poměrně vysokou účinnost jejich eliminace na ČOV.

Vliv způsobu izolace DNA z čistírenských kalů na kvantifikaci genů antibiotické rezistence

Škodáková Klára¹, Gajdoš Stanislav¹, Purkrťová Sabina², Bartáček Jan¹,
Říhová Ambrožová Jana¹, Vejmelková Dana¹

¹Vysoká škola chemicko-technologická, ÚTVP, Technická 5, Dejvice, 166 28 Praha 6
skodakok@vscht.cz

²Vysoká škola chemicko-technologická, ÚBM, Technická 5, Dejvice, 166 28 Praha 6

Antibiotická rezistence se stává hlavním globálním zdravotním problémem. Nadměrnou konzumací antibiotik dochází k selekci rezistentních bakterií a šíření genů antibiotické rezistence (ARG). Bakterie nesoucí geny rezistence putují v odpadních vodách na čistírnu odpadních vod, kde dochází k jejich značné eliminaci, a to včetně patogenních druhů. ARG se však mohou dále dostávat do životního prostředí prostřednictvím odtoku z ČOV či kalu aplikovaného na zemědělskou půdu. Kal použitý jako hnojivo může bez dostatečných úprav představovat potenciální zdravotní riziko pro člověka. Různou úpravou kalů, jako jsou pasterizace a mezofilní nebo termofilní anaerobní stabilizace, může docházet k eliminaci ARG, a tím i k omezení jejich přenosu do prostředí.

Cílem tohoto příspěvku je zjištění rozdílů v kvantifikaci vybraných ARG v kalu po čtyřech různých postupech izolace DNA z čistírenských kalů, kdy postup izolace DNA zásadně ovlivňuje efektivitu, a tím množství izolované DNA. Pro toto stanovení byla v čistírenských kaltech provedena kvantifikace počtu kopií genu *sul1*, který zodpovídá za rezistenci k sulfonamidům, a dále genu pro 16S rRNA pomocí metody qPCR (kvantitativní PCR).

Poděkování

Příspěvek vznikl za finanční podpory projektu TA ČR SS01020112 „Technologie pro odstranění antibiotické rezistence z čistírenských kalů aplikovaných v zemědělství“. Za poskytnutí některých vzorků děkujeme PVK, a. s.

Izolace a detekce nukleových kyselin ze vzorků vod

Slaná Iva, Schillerová Petra

BioTech, a. s., Služeb 4, 108 00 Praha 10
slana@ibitech.cz

Základním parametrem pitné vody je její mikrobiologická nezávadnost, která je hlídána legislativními normami. Výskyt nežádoucích mikroorganismů ve vzorcích vody lze stanovit několika metodami. Kulti-vační metody jsou časově i laboratorně náročné. Také neposkytují spolehlivé výsledky, a to kvůli možné přítomnosti mikroorganismů, které nelze kultivovat. Mikroorganismy se navíc mohou vyskytovat ve velmi malých koncentracích, které kulturačními metodami nejsou zachytitelné. Proto bylo vyvinuto mnoho molekularně biologických metod pro rychlou detekci a kvantifikaci mikroorganismů (patogenních bakterií, virů či parazitů) ve vodě. Mezi tyto metody patří polymerázová řetězová reakce (PCR), digitální dropleto-vá PCR (dd PCR), real time PCR či sekvenování nové generace (NGS). Pro všechny uvedené molekularně biologické metody je zásadním krokem izolace nukleové kyseliny (NK; DNA/RNA), jež v ideálním případě neobsahuje inhibitory PCR. Pro izolaci nukleových kyselin lze využít klasické metody pomocí fenol-chlo-roformu, avšak tento přístup je poměrně pracný a zdoluhavý. Ke zrychlení celého postupu izolací NK byla komerčními firmami vyvíjena izolace využívající gravitačních kolonek. Tento přístup je v současné době nejčastějším způsobem izolace NK, neboť se jedná o rychlé a účinné metody poskytující NK o dostatečné čistotě. U komerčně dostupných kitů je důležité pro jejich správný výběr brát v úvahu několik parametrů (druh vstupního materiálu, vstupní množství, délka protokolu a vazebná kapacita kolonky).

Po úspěšné izolaci NK je její následná detekce dalším důležitým faktorem. Kromě vhodného výběru poly-merázy (ve formě jednotlivých komponent potřebných PCR, případně ve formě PCR reakčních mixů) také záleží na výběru a možnostech nastavení použitého termocykleru. V současné době je k dispozici značné množství různých termocyklerů, vždy založených na možnosti automatické regulace teploty během jed-notlivých cyklů PCR. Při výběru vhodného přístroje je třeba zvážit několik parametrů, které napomohou správnému výběru (velikost a počet vzorků, flexibilita a možnosti nastavení různých parametrů, počet uživatelských licencí apod.).

V současné době je několik komerčních firem schopno dodávat různé izolační kity, reagenty pro PCR a také termocykly. Příspěvek bude zaměřen právě na komerční výrobky, jež mohou být využity pro molekularně-biologickou analýzu vod (pitná, užitková, závlahová, mořská či odpadní).

Zkušenosti s metodami stanovení volné DNA v odpadních vodách

Gajdoš Stanislav, Časarová Kristýna, Karpíšek Ivan, Kouba Vojtěch, Vejmelková Dana

Vysoká škola chemicko-technologická, ÚTVP, Technická 3, 166 28 Praha 6
stanislav.gajdos@vscht.cz; kristyna.casarova@vscht.cz; ivan.karpisek@vscht.cz;
vojtech.kouba@vscht.cz; dana.vejmelkova@vscht.cz

Extracelulární DNA (volná DNA, exDNA, eDNA), která se vzhledem ke svojí dostupnosti významně podílí na přenosu genů antibiotické rezistence (eARG) a na šíření antibiotické rezistence obecně, se řadí mezi nově zkoumané kontaminanty životního prostředí. Konvenční procesy čištění odpadních vod se zaměřují zejména na odstranění nebo zničení buněk, nikoli však na jejich obsah, který se po destrukci buňky může rozlévat do okolního prostředí, do něhož lze eDNA zařadit. Pro posuzování účinnosti procesů čištění odpadních vod při odstraňování eDNA je tedy zásadní vytvořit metodiku její detekce. DNA v environmentálních vzorcích sice stanovována je, jedná se však o veškerou DNA (nebo o samotnou intracelulární DNA). V odpadních vodách je zároveň koncentrace eDNA nižší, než je limit stanovení konvenčních metod a kitů (řádově jednotky až desítky µg/L), vzorky je proto při izolaci DNA z vodných vzorků pro další zpracování třeba nejprve zakonzentrovat. Zabývali jsme se proto různými metodami zakonzentrování vodných vzorků pro účely stanovení extracelulární DNA v odpadních vodách. Zkoumány byly mimo jiné ethanolová srážecí metoda, adsorpčně-eluční metoda, metoda využívající ionexovou chromatografii, evaporační metoda. Tento příspěvek dále přibližuje zkušenosti pracovní skupiny molekulární biologie ÚTVP VŠCHT v Praze a některé argumenty, proč je exDNA pro popis šíření ARG zásadní.

Klíčová slova: antibiotická rezistence – eARG – zakonzentrování eDNA z vody – optimalizace

Poděkování

Tento výstup vznikl v rámci projektu Specifického vysokoškolského výzkumu – projekt č. A1_FTOP_2020_002 – a za finanční podpory projektu TA ČR TJ02000139 „Vývoj technologie pro eliminaci vnosu mikropolutantů a genů rezistence na antibiotika do životního prostředí a lidského organismu“.

Stanovení somatických kolifágů a koncentrační metody používané pro vzorky vod s jejich nízkým výskytem

Janák David, Zuzáková Jana, Říhová Ambrožová Jana

*Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, FTOP, Ústav technologie vody a prostředí,
Technická 5, 166 28 Praha 6
janakd@vscht.cz*

Somatické kolifágy, patřící do skupiny bakteriofágů, jsou nepatogenní bakteriální viry, které jako hostitelský organismus využívají bakterie *Escherichia coli*, případně mohou k replikaci využít i jiné koliformní bakterie. V odborné literatuře se uvádí, že viry včetně bakteriofágů jsou více rezistentní vůči hygienickému zabezpečení. Kvůli jejich přirozenému výskytu v gastrointestinálním traktu člověka i teplokrevných živočichů a určitým podobnostem s enteroviry byly zařazeny jako doplňkové indikátory fekálního znečištění do dvou legislativních předpisů.

Dne 25. května 2020 vstoupilo v platnost Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 2020/741, o minimálních požadavcích na opětovné využívání vody, dle kterého je nutné somatické kolifágy posuzovat v rámci validačního monitorování zařízení u kategorie s nejpřísnějšími požadavky na kvalitu vody (třída A). Druhým legislativním dokumentem zmiňujícím somatické kolifágy je Směrnice Evropského parlamentu a Rady (EU) 2020/2184 ze dne 16. prosince 2020, o jakosti vody určené k lidské spotřebě, na jejímž základě budou členské státy Evropské unie (EU) povinny zařadit somatické kolifágy mezi mikrobiologické ukazatele kvality pitné vody, které budou stanovovány v rámci provozního monitoringu.

V důsledku výše uvedených informací probíhá v mikrobiologické laboratoři Ústavu technologie vody a prostředí na VŠCHT v Praze analýza somatických kolifágů v různých typech vod. Analyzovány byly vzorky šedých vod, odpadní vody vstupující a vystupující z čistíren odpadních vod (ČOV), voda z linky terciárního čištění odpadních vod (OV), kohoutková voda a povrchové vody. Jednotlivé vzorky byly stanovovány metodou dvouvrstvé plakové titrace podle normy ČSN EN ISO 10705-2. Pro stanovení somatických kolifágů ve vzorcích vod s jejich nízkým výskytem byly použity koncentrační metody doporučené normou ČSN ISO 10705-3, při nichž dochází ke zkoncentrování většího objemu vzorku. Součástí příspěvku jsou poznatky a doporučení získaná při detekci somatických kolifágů v laboratoři.

Poděkování

Tento výstup vznikl v rámci projektu Specifického vysokoškolského výzkumu – projekt č. A2_FTOP_2020_026.

Využití metod molekulární biologie pro identifikaci původců fekálního znečištění v koupacích vodách

Bobková Šárka, Baudišová Dana, Pumann Petr

Státní zdravotní ústav, Šrobárova 48/49, 100 00 Praha 10
sarka.bobkova@szu.cz

Fekální znečištění koupacích vod se hodnotí podle vyhlášky MZ č. 238/2011 Sb. Podle této vyhlášky se stanovuje množství tzv. indikátorů fekálního znečištění, tj. *E. coli* a intestinálních enterokoků. Stanovení se provádí kultivačně na selektivních médiích a výsledkem je počet kolonie tvořících jednotek (KTJ/100 ml). V některých evropských zemích (Finsko) a v USA je přípustné i použití komerčních testů založených na využití definovaného substrátu (dříve patent IDEXX Laboratories, Inc. Colilert Quanti-Tray IDEXX Laboratories, Inc. USA, dnes norma ČSN EN ISO 9308-2), kde je výsledek vyjádřen jako nejpravděpodobnější počet (MPN). Další norma uvedená ve vyhlášce – miniaturizovaná metoda stanovení *E. coli* v tekutém mediu (ČSN EN ISO 9308-3), kde je výsledkem též MPN, se v ČR neujala. Jako alternativa ke kultivačním metodám se mohou uplatňovat i molekulárně biologické postupy, a to zejména qPCR a RT-PCR (reverse transcriptase-PCR). Tyto metody poskytují výsledek rychleji (již za několik hodin) než klasické kultivační metody, na druhou stranu mají však i své nedostatky, a pokud by byly použity v praxi, musejí být vždy doplněny kultivací. Uplatnění qPCR může být tedy především doplňkové, a to pro rychlé orientační posouzení kvality dané koupací vody. Kromě kvantifikace indikátorů fekálního znečištění může být qPCR použita též k vystopování původu fekálního znečištění pomocí specifických mikrobiologických markerů, tzv. „Microbial source tracking“ (MST).

V prezentovaném příspěvku budou zhodnoceny výhody a nevýhody qPCR v mikrobiologii koupacích vod a na příkladu *E. coli* uvedeny možnosti optimalizace metodiky (promývání membránových filtrů, před-úprava vzorku s ohledem na odstranění mrtvých buněk, srovnání izolačních kitů). Dále budou uvedeny možnosti využití qPCR k zjištění původu znečištění.

Poděkování

Tento příspěvek vznikl v rámci projektu „Využití metod molekulární biologie k identifikaci zdrojů znečištění v koupacích vodách“ (TJ04000132) podpořeného Technologickou agenturou ČR.

Identifikace bakterií pomocí MALDI-TOF a možnosti vyšetření citlivosti k antibiotikům

Jakubů Vladislav, Šafránková Renáta

*Státní zdravotní ústav, Šrobárova 49/48, 100 00 Praha 10
vladislav.jakubu@szu.cz; renata.safrankova@szu.cz*

Pro získání jistoty účinku určitého antibiotika je potřeba provést řádné laboratorní vyšetření citlivosti mikroba. Hlavní body mikrobiologické diagnostiky proto jsou:

- 1) Průkaz bakterie a jeho identifikace
- 2) Vyšetření citlivosti k antibiotikům
- 3) Interpretace výsledků

K identifikaci bakterií se v současné době stále více používá metoda MALDI-TOF (matrix assisted laser desorption/ionization – time of flight) hmotnostní spektrometrie (MS), založená na analýze části buněčného proteomu. Hlavními výhodami MALDI-TOF MS aplikované při analýze bakterií je především jednoduchost a rychlost testu (vše do několika minut). Technika je vhodná jak pro rutinní identifikaci kmenů, tak pro identifikaci kmenů, jejichž rodové či druhové určení je standardními metodami obtížné, a je aplikovatelná i pro fenotypové taxonomické účely u bakterií a kvasinek ve specializovaných laboratořích.

Základy dnes používaných vyšetřovacích metod se rodily ve 40. letech 20. století. Již Fleming popsal vyšetřování citlivosti v bujonových živných půdách s obsahem různých koncentrací antibiotik pro zjištění minimální inhibiční koncentrace (MIC). MIC je definována jako nejnižší koncentrace antibiotika schopná inhibovat viditelný růst bakterie za definovaných podmínek. MIC slouží k vyjádření mnoha klinicko-statisticko-epidemiologických parametrů, jako jsou kategorie citlivosti, rozmezí MIC, distribuce MIC, MIC₅₀ a MIC₉₀, kumulativní četnost atd. Kromě MIC můžeme pracovat i s pojmy minimální baktericidní koncentrace, minimální antibiotická koncentrace, letální křivky apod. Ke stanovení MIC se používá bujonová diluční metoda (BDM), agarová diluční metoda, Etest. Při BDM je do jednotlivých jamek 96jamkové mikrotitrační destičky namíchána jiná koncentrace antibiotik. Při agarové metodě se antibiotikum přidává do živného agaru v různých koncentracích a na povrch agaru se očkují testované kmeny. Metoda Etest kombinuje diluční a difuzní metodu, kdy je na povrch naočkované agarové plotny umístěn proužek s koncentračním gradientem antibiotika. Difuzní metoda byla odvozena od MIC a spočívá v kladení papírových disků napuštěných antibiotikem na povrch naočkované agarové Petriho misky. Při diskové difuzní metodě se pak měří zóna inhibice bakteriálního růstu kolem antibiotických disků.

Cílem vyšetření citlivosti je získat validní informaci o účinnosti antibiotika bez ohledu na použitou metodu. Přísná standardizace metod umožňuje interpretaci vyšetření dle nastavených hraničních hodnot (brakpointů). Standardizací metod se v Evropě zabývá instituce EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing), jež od roku 2010 vydává bezplatně širokou škálu dokumentů vztahující se k problematice vyšetření citlivosti k antibiotikům.

Využití metody MALDI-TOF při identifikaci enterokoků z koupacích vod

Baudišová Dana, Pumann Petr

Státní zdravotní ústav, Šrobárova 48/49, 100 00 Praha 10
dana.baudisova@szu.cz

Intestinální enterokoky jsou významným ukazatelem fekálního znečištění a jejich limitní hodnoty jsou uvedeny ve většině právních předpisů, které se zabývají hodnocením kvality vody. V současné době (2015) je popsáno 43 druhů intestinálních enterokoků, ale přestože je odborná literatura týkající se tohoto tématu poměrně bohatá, výsledky výskytu jednotlivých druhů enterokoků v určitém prostředí rozhodně nejsou jednoznačné.

Celkem bylo námi analyzováno cca 650 kmenů enterokoků izolovaných z koupacích vod a dalších 70 kmenů izolovaných z fekálií teplokrevných živočichů. Kmeny byly zachyceny na agaru Slanetze a Bartleyové po kultivaci 48 hodin při 36 °C, konfirmovány žluč eskulinovým testem, přeočkovány na krevní agar a po 24hodinové kultivaci při 36 °C konfirmovány pomocí metody MALDI-TOF (identifikace kmenů je na základě jedinečného složení proteinů). Použitá databáze MALDI umí identifikovat 34 druhů enterokoků.

Cílem tohoto příspěvku je diskutovat možnosti využití metody MALDI-TOF při identifikaci enterokoků izolovaných z koupacích vod a také druhové složení enterokoků na jednotlivých lokalitách (ve vztahu k možnému typu znečištění). Hlavní získané poznatky, které budou prezentovány (a jež v současné době ještě prověřujeme):

- Předepsaná metoda ČSN EN ISO 7899-2 je vhodná pro stanovení intestinálních enterokoků v koupacích vodách, musí však být velmi pečlivě prováděna a pozornost musí být věnována výskytu druhů rodu *Pediococcus* či druhu *Lactobacillus plantarum*, které sice na SB médiu nerostou jako červené kolonie, mají však pozitivní žluč eskulinový test.
- Izolované enterokoky patřily do 13 druhů, překvapivě nebyl nalezen druh *E. avium*, přestože se v databázi MALDI vyskytuje. Výskyt druhů enterokoků v lokalitě se může lišit nejen v souvislosti s průběhem sezony (přísnus znečištění, srážky, teplota vody), ale i v různých částech rybníku/nádrže/jezera. Volba vzorkovacího místa tak může hrát významnou roli pro hodnocení profilu.
- Správnost identifikace druhů enterokoků pomocí metody MALDI-TOF byla ověřena na sbírkových kmenech.
- Podle velikosti, tvaru a barvy kolonie intestinálních enterokoků nelze určit druh. Vždy drobné kolonie vykazoval druh *E. peroxidus* a převážně drobné kolonie vykazují druh *E. casseliflavus*. Druh *E. faecalis* vykazují všechny tvary a velikosti kolonií, skupina *E. faecium* spíše kolonie velké a světlejší.
- Druhy *E. casseliflavus/gallinarum* nemusejí být spojeny s fekálním znečištěním teplokrevných živočichů, zřejmě může docházet i k jejich pomožení v rákosových systémech. Druh *E. mundtii* by mohl být spojen s fekálním znečištěním vodních ptáků.

Poděkování

Příspěvek byl zpracován v rámci projektů TA ČR TJ04000132 „Využití metod molekulární biologie k identifikaci zdrojů znečištění v koupacích vodách“ a MZ ČR – RVO (Státní zdravotní ústav – SZÚ, IČ 75010330).

Koupačí vody pohledem družic

Maťašovská Václava¹, Kothan Filip², Fojtík Tomáš¹, Pumann Petr²,
Bendakovská Lenka², Makovcová Marcela¹

¹Výzkumný ústav T. G. Masaryka, v. v. i., Podbabská 2582/30, 160 00 Praha 6
vaclava.matasovska@vuv.cz

²Státní zdravotní ústav, Šrobárova 49/48, 100 00 Praha 10

Současný způsob provádění monitoringu stavu koupacích vod na našem území je založen pouze na kombinaci laboratorního hodnocení bodových vzorků a vizuálního posouzení na místech odběru, kvůli jeho finanční a časové náročnosti tak nelze plně zajistit kontinuální a ucelený přehled o heterogenitě sledovaných vodních ploch a jejich vývoji v čase. Řešitelé projektu TJ02000091 „Využití metod dálkového průzkumu Země pro monitoring stavu a kvality koupacích míst v České republice“ si kladou za cíl pomocí dat pořízených při současném monitoringu v kombinaci s daty satelitními nalézt vzájemnou korelaci mezi těmito hodnotami a také všeobecně platný vztah mezi nimi, to vše za využití GIS nástrojů a moderních statistických technik.

Poděkování

Informační materiál vznikl za podpory TJ02000091 „Využití metod dálkového průzkumu Země pro monitoring stavu a kvality koupacích míst v České republice“ (2019–2021).

HORIBA LAQUA
Scientific

SÉRIE 300 – SMART elektrody

měření pH, ORP, EC, TDS, RES, SAL, DO, iontů, teploty

- Až 3 měřicí kanály
- Automatické rozpoznání senzorů
- Vodotěsný kryt (IP67), odolný proti poškrábání, s protiskluzovou úpravou
- Velký vícekanálový barevný displej
- Interní paměť až 10000 položek
- Transport dat přes USB nebo WiFi

Záruka 3 roky



Dodavatel v ČR: BIOING, s.r.o.

T: +420 776 054 558 | E: info@bioing.cz | www.bioing.cz | eshop.bioing.cz



www.himedia.cz

Dodavatel produktů firmy HiMedia Laboratories Pvt. Ltd. pro mikrobiologické laboratoře, farmaceutický průmysl, výrobu vakcín a biotechnologické výroby

 MIKROBIOLOGIE

KLASICKÁ KULTIVAČNÍ MÉDIA A SUPLEMENTY

 ŽIVOČIŠNÉ TKÁŇOVÉ KULTURY

GRANULOVANÁ KULTIVAČNÍ MÉDIA

 ROSTLINNÉ TKÁŇOVÉ KULTURY


MÉDIA SE 100% ROSTLINNÝMI NUTRIČNÍMI ZDROJI

 MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE

CHROMOGENNÍ MÉDIA

 CHEMIKÁLIE

MÉDIA V KVALITĚ DLE EVROPSKÉHO LÉKOPISU

 LABORATORNÍ POTŘEBY

DIFERENČAČNÍ POMŮCKY

SEPARAČNÍ MÉDIA S GRADIENTEM HUSTOTY

PEPTONY

CHEMIKÁLIE

LABORATORNÍ POTŘEBY

HIMEDIA

HiMedia Laboratories Pvt.Limited, India

ČADERSKÝ-ENVITEK, spol. s r.o., Bednářova 21, 619 00 Brno

tel. +420 543 250 103

e-mail: info@himedia.cz

Vše pro Vaši laboratoř

- > laboratorní přístroje
- > pipety a dávkovače
- > spotřební materiál
- > servis a kalibrace



Zastoupení v České republice: www.eppendorf.cz

Eppendorf Czech & Slovakia s.r.o. · Voděradská 2552/16 · 251 01 Říčany u Prahy
Tel.: +420 323 605 454 · E-mail: eppendorf@eppendorf.cz · servis@eppendorf.cz



Nový standard v elektrochemické analýze

Přenosné přístroje řady HQ

- 1- až 3-vstupové pro víceparametrová měření
- Kompatibilní se sondami a elektrodami Intellical
- Pro širokou škálu aplikací – odpadní, pitná a průmyslová voda, potraviny a nápoje, energetika a další
- Správná a přesná měření pomocí ilustrovaných kalibračních postupů
- Bezpečný přenos dat pomocí USB/Bluetooth
- Bezstarostnost díky servisu a technické podpoře Hach



cz.hach.com/hq-series



Potřebujete poradit s výběrem podle dané aplikace? Kontaktujte nás!

HACH LANGE s.r.o.
Zaštrbena 1278/B
141 00 Praha 4 – Chodov

Tel.: +420 272 52 45 45
info-cz@hach.com
cz.hach.com

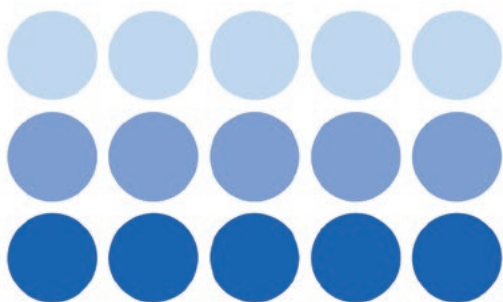


Innovative technologies for your laboratory



ibiotech
innovative

GOLD STANDARD
Life Science



QIAGEN

www.ibiotech.cz

Laboratorní přístroje a technika

- Laboratorní přístroje (klimatické komory / váhy / optické přístroje homogenizátory / vakuová technika a další)
- Bezpečnostní a oční sprchy, laboratorní kohouty
- Spotřební materiál
- Chemikálie a reagensie
- Bezpečnostní skříně a nábytek



Výukové systémy

Technická výuka / přírodní vědy / zdravotní výuka a prevence



www.helago-cz.cz



Mikrobiologická analýza
během několika minut

Alternativa k časově náročné bakteriální kultivaci je rychlá, spolehlivá a efektivní

- analýza všech typů vzorků vody
- spolehlivé stanovení počtu bakterií za méně než 20 minut
- detekce i nekultivovatelných bakterií (VBNC) díky vysoké citlivosti a nízkému detekčnímu limitu
- rozlišení mezi mrtvými a živými bakteriemi
- zvýšení efektivity laboratoře volitelnou automatizací

cz.sysmex-flowcytometry.com



Navštivte náš eshop
nebo nás kontaktujte přímo:



RNDR. Ing. Pavel Poliak
Key Account Manager
Průtoková cytometrie
Email: poliak.pavel@sysmex.cz

Millipore

Filtration, Separation
& Preparation

skupina EZ-PRODUKTŮ

Udělejte si Váš mikrobiologický pracovní postup EZ

- **EZ-Pak® rozbalovač:**
Rychlé, robustní, bezdotykové rozbalování membrán
- **EZ-Fit™ filtrační aparatura:**
Mějte kontrolu nad riziky kontaminace
- **EZ-Fit™ filtrační jednotky:**
Sterilní filtrační jednotky připravené k použití
- **EZ-Stream™ vývěva:**
Odtok filtrovaných kapalin přímo do odpadu
- **EZ-Fluo™:**
Rychlý, nedestruktivní systém pro mikrobiální průkaz, založený na fluorescenčním barvení



Poznejte naše laboratorní přístroje



- Autoklávy • Bezodtahové digestoře
- Centrifugy • Dekontaminační systémy
- Chladicí, mrazicí a hlubokomrazicí boxy
- Koncentrátory vzorků • Lyofilizátory
- Laminární boxy • Mikrodestičkové readery
- Pipety • Termostaty -10° C až +280° C
- Vodní a suché lázně • Třepáčky

Obchodní a servisní zastoupení firem

thermoscientific
divize laboratorní techniky

Arctiko | Bioquell | CLST | Erlab | EuroBioConcept | Evermed
JRI HMC Europe | Labogene | Getinge Lancer | Baker Ruskin
Synbiosis | Syngene | Tecniplast

akreditovaná kalibrační laboratoř teplotní senzory
akreditovaná zkušební laboratoř měření zařízení s řízenou čistotou vzduchu

www.trigonplus.cz



<https://www.hotelkamzik.cz/>





<https://www.hotelkamzik.cz/>

Mikrobiologie vody a prostředí 2021
Sborník abstraktů
9. – 11. 6. 2021, Hotel Kamzík, Malá Morávka

Text prošel redakční a jazykovou úpravou.

Grafická úprava: Redakce Výzkumného ústavu vodohospodářského T. G. Masaryka, v. v. i.
Vydavatel: Výzkumný ústav vodohospodářský T. G. Masaryka, v. v. i.
Tisk: Wertu studio, s. r. o., Brno

ISBN 978-80-87402-81-8

VÝZKUMNÝ ÚSTAV
VODOHOSPODÁŘSKÝ
T. G. MASARYKA

veřejná výzkumná instituce

Výzkumný ústav vodohospodářský T. G. Masaryka, v. v. i. | T. G. Masaryk Water Research Institute, p.r.i.
Podbabská 2582/30, 160 00 Praha 6, Czech Republic | T: +420 220 197 111 | info@vuv.cz, www.vuv.cz

Pobočka Brno | Brno Branch Department

Mojmírovo náměstí 16, 612 00 Brno-Královo Pole | T: +420 541 126 311 | info.brno@vuv.cz

Pobočka Ostrava | Ostrava Branch Department

Macharova 5, 702 00 Ostrava | T: +420 595 134 800 | info.ostrava@vuv.cz