



# Mikrobiální znečištění povrchových vod

**DANA BAUDIŠOVÁ, HANA MLEJNKOVÁ**

**Klíčová slova:** povrchová voda – fekální znečištění – mikrobiologické ukazatele – ČSN 75 7221

## SOUHRN

Tento příspěvek shrnuje problematiku mikrobiálního znečištění tekoucích povrchových vod v České republice. Jsou zde uvedeny limity indikátorových mikroorganismů v aktuálních právních předpisech a technických normách, dále jsou uvedeny charakteristiky nejpoužívanějších indikátorů fekálního znečištění a metody jejich stanovení. Příspěvek je určen především pracovníkům, kteří se zabývají hodnocením výsledků mikrobiologických ukazatelů a posuzováním kvality vody.

## ÚVOD

Sledování mikrobiálního znečištění povrchových vod má v České republice dlouholetou tradici, stanovení a hodnocení mikrobiologických ukazatelů je součástí pravidelného monitoringu kvality vod od 60. let minulého století. Informace o mikrobiologické kvalitě vody jsou významné nejen z hlediska

sledování vývoje znečištění, což zajímá odbornou veřejnost, ale zájem o tyto informace mají i občané, zejména z důvodů případných zdravotních rizik. S riziky spojenými s kontaminovanou vodou je možné se setkat nejen při vlastním koupání, ale také v souvislosti s provozováním vodních sportů (např. vodáctví), rekreací u vodních toků (např. chatové oblasti, letní tábory atd.). V loňském roce proběhlo v rámci projektu TA ČR (Kvalita a hodnocení povrchových vod) dotazníkové šetření za účelem zjištění zájmu obyvatel o informace týkající se kvality vody. Bylo osloveno 245 vodoprávních úřadů v České republice, z nichž odpovědělo 66 (27 %). Výsledky ukázaly, že dotazy na kvalitu vody od občanů obdrželo 98 % úřadů, které odpověděly na dotazník; v 11 % případů bývá dotazů více než deset ročně. V 50 % případů se občané zajímají o jakoukoli kvalitu vody a ve 33 % jmenovitě (a především) o mikrobiální znečištění.

České právní předpisy řeší mikrobiální kontaminaci toků především v souvislosti s užíváním vody ke koupání na vyhlášených koupacích profitech [1] a k odběru na vodu pitnou [2]. Limity mikrobiologických ukazatelů jsou zařazeny i do nařízení vlády o přípustném znečištění toků [3].

V současné době byla v rámci projektu TA ČR (Kvalita a hodnocení povrchových vod) dokončena revize normy ČSN 75 7221 Kvalita vod – Klasifikace kvality vod, která bude platná od prosince 2017 [4]. V rámci této revize byla věnována i ukazatelům mikrobiálního znečištění dostatečná pozornost. Pro revizi klasifikace mikrobiálního znečištění v rámci pěti tříd kvality vody byla použita rozsáhlá sada reálných výsledků mikrobiologických stanovení v povrchových vodách v ČR v období 2007–2012. Zároveň byly mezní hodnoty tříd kvality konfrontovány s ostatními právními předpisy a na základě získaných výsledků byla navržena změna mezních hodnot tříd kvality v ukazateli termotolerantní (fekální) koliformní bakterie. V rámci změn byly zvažovány také změny v rozsahu stanovovaných ukazatelů s přihlédnutím na jejich indikační hodnotu a metody stanovení. Současně je dosud v platnosti technická norma, určující jakost vody pro závlahu [5]. Přehled limitů mikrobiologických ukazatelů v jednotlivých právních předpisech a technických normách je uveden v *tabulce 1*.

Veškeré tyto normy a právní předpisy jsou založeny na stanovení indikátorů fekálního znečištění, což jsou střevní bakterie, ukazující na přímé ovlivnění povrchových vod nečistěnými nebo nedostatečně čištěnými odpadními vodami, z čehož plyne riziko výskytu střevních patogenů, včetně enterických virů.

Současná zahraniční odborná literatura se zabývá oblastmi, které se ještě zcela nepromítly do naší vodohospodářské praxe. Jedná se například o problematiku výskytu patogenních mikroorganismů (jako jsou parazitární prvoci, např. rodu *Cryptosporidium*, termotolerantní mikroaerofilní bakterie rodu *Campylobacter* nebo různé skupiny virů) v různých typech povrchových vod [6], výzkum patogenních mikroorganismů v sedimentech a biofilmech, které mohou být jejich zásobárnou a při vyšších průtocích v souvislosti s významnými srážkami se uvolňují do tekoucí vody [7], nebo výzkum či modelování mikrobiálního znečištění vod za různých průtoků, především v souvislosti s přívalem deště [8–10]. V německých vnitrozemských přírodních koupacích vodách byla provedena epidemiologická studie [11], která se pokusila stanovit „bezpečné hodnoty mikrobiologických indikátorů“ (hodnota nejvyšší dávky, která ještě nezpůsobila v organismu odezvu), při které už nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi pokusnou a kontrolní (neexponovanou) skupinou. Jedná se o 25 enterokoků (KTJ/100 ml), 100 *Escherichia coli* (KTJ/100 ml) a 10 *Clostridium perfringens* (KTJ/100 ml).

## Mikrobiologické ukazatele a metody jejich stanovení

Klasickým (a v minulosti významně používaným) indikátorem fekálního znečištění jsou koliformní bakterie (veškeré koliformní bakterie, total coliforms). Patří sem většina druhů bakterií z čeledi *Enterobacteriaceae* (dříve podle definice tyto kmeny měly fermentovat laktózu, dnes postačuje aktivita enzymu  $\beta$ -D-galaktosidázy, tj. enzymu, který štěpí disacharid laktózu na glukózu a  $\beta$ -D-galaktózu). Tato skupina bakterií, jak již jejich název naznačuje (COLI = COLON = střevo), byla s fekálním znečištěním od začátku 20. století spojována. Nicméně díky dalšímu výzkumu a také díky přesnějším metodám analýz se ukázalo, že koliformní bakterie ideálním indikátorem fekálního znečištění určitě nejsou. Jejich zdrojem nemusí být výhradně střevní mikroflóra teplokrevných živočichů (ale také půda, zbytky rostlin apod.) a ve vodě se některé druhy mohou pomnožovat. Jedná se například o druhy rodu *Serratia*, *Yersinia*, některé druhy rodů *Citrobacter* a *Enterobacter* atd.

Podskupinou koliformních bakterií jsou termotolerantní koliformní bakterie (u nás jsou též známy i pod vhodnějším názvem fekální koliformní bakterie, faecal coliforms). Tato skupina zahrnuje především termotolerantní druhy rodů *Escherichia*, *Klebsiella*, *Citrobacter* a *Enterobacter*. Jsou to ty kmeny koliformních bakterií, které si ponechaly svoje růstové a biochemické vlastnosti i při vyšší teplotě kultivace (44 °C) a jsou mnohem více spjaté s fekálním znečištěním než koliformní bakterie. Pro stanovení fekálních koliformních bakterií není v současné době k dispozici žádná platná mezinárodní norma, lze však použít

českou normu ČSN 75 7835 [12], která byla vytvořena podle metodiky uvedené v Amerických standardních metodách [13] a která spočívá v jejich kultivaci na MFC médiu (*obr. 1*). Metoda je dostatečně citlivá a specifická a zcela vyhovuje účelu stanovení fekálních koliformních bakterií v povrchových vodách.



Obr. 1. Stanovení termotolerantních (fekálních) koliformních bakterií na MFC médiu  
Fig. 1. Detection of faecal coliforms on MFC medium

Ideálním indikátorem fekálního znečištění se zdá být bakteriální druh *Escherichia coli* (dále *E. coli*). Tento druh je součástí střevní mikroflóry teplokrevných živočichů i člověka, ve vodě se nepomnožuje, přežívá v závislosti na přírodních podmínkách pouze omezenou dobu a lze jej specificky detekovat. Patogenní (enteropatogenní) *E. coli* jsou jen určité sérotypy, které jsou však naštěstí relativně vzácné. *E. coli* se detekuje na principu aktivity enzymu  $\beta$ -D-glukuronidázy. V novele normy ČSN 75 7221 bylo zvažováno i nahrazení ukazatele fekální koliformní bakterie druhem *E. coli*, nakonec se to však nestalo ze dvou důvodů. Za prvé by se přerušily dlouhodobé časové řady výsledků sledování termotolerantních (fekálních) koliformních bakterií a za druhé existují určité metodické problémy stanovení *E. coli* v povrchových vodách [14]. Metoda podle ČSN 75 7835 [12] je vysoce selektivní, ale málo citlivá (podhodnocuje až o 30 %), a metoda podle ČSN EN ISO 9308-1 (stanovení *E. coli* mezi koliformními bakteriemi [15]) je příliš citlivá s vysokým nárůstem doprovodné mikroflóry. Jako nejlepší metoda stanovení *E. coli* v povrchových vodách se jeví metoda Colilert Quantitray od firmy IDEXX, která je zakotvena i v ČSN EN ISO 9308-2 [16].

Intestinální enterokoky (enterokoky, enterococci) jsou též dobrým indikátorem fekálního znečištění a svým charakterem doplňují stanovení termotolerantních (fekálních) koliformních bakterií, resp. *E. coli*. Většina druhů pochází ze střevního traktu teplokrevných živočichů a člověka (výjimku tvoří například druh *Enterococcus casseliflavus*, který může pocházet z tlejících rostlinných zbytků). Pro stanovení intestinálních enterokoků v povrchových vodách je metoda podle normy ČSN EN ISO 7899-2 [17], která je dostatečně citlivá a specifická. Velký důraz však musí být kladen na provedení předepsaných konfirmačních testů a v případě vyššího výskytu presumptivních enterokoků zvážit zařazení dalšího konfirmačního testu, kterým je stanovení katalázy [14].

Tabulka 1. Limitní hodnoty mikrobiologických ukazatelů v platných právních předpisech a technických normách; všechny hodnoty jsou uvedeny v jednotkách KTJ/100 ml; u každého předpisu jsou uvedeny způsoby hodnocení výsledků; výpočet charakteristické hodnoty  $C_{90}$  je podrobně rozepsán v normě ČSN 75 7221; jedná se o oblast nepříznivých hodnot a tato hodnota může být považována za maximum

Table 1. Limits of microbiological indicators in current legislation and technical standards; the unit CFU/100 ml is used in all standards

Předpis a ukazatele		Poznámky		
<b>Nařízení vlády č. 401/2015 Sb. – přípustné znečištění</b>	<b>Percentil P95</b>	<b>Maximum</b>	Neporušená samočisticí schopnost toku. Stav bez přítomnosti organismů s potenciálně patogenními vlastnostmi.	
<i>E. coli</i>	900	2 500		
Termotolerantní (fekální) koliformní bakterie	2 000	2 000		
Intestinální (střevní) enterokoky	1 000/330	4 000		
<b>238/2011 Koupání ve volné přírodě</b>	<b>Percentil P95</b>	<b>Percentil P95</b>	<b>Percentil P90</b>	
	výborná jakost	dobrá jakost	příjemná jakost	
<i>E. coli</i>	500	1 000	900	
Intestinální (střevní) enterokoky	200	400	330	
<b>428/2001 Sb. příloha 13 – požadavky na jakost surové vody</b>	<b>A1</b>	<b>A2</b>	<b>A3</b>	Je uvedena mezní hodnota pro jednotlivé třídy (má vyhovovat 95 % vzorků).
Koliformní bakterie	50	5 000	50 000	
Termotolerantní (fekální) koliformní bakterie	20	2 000	20 000	
Intestinální (střevní) enterokoky	20	1 000	10 000	
<b>ČSN 75 7221 (2017)</b>	Mezní hodnoty třídy kvality vody na základě charakteristické hodnoty ( $C_{90}$ )			
	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>
Termotolerantní (fekální) koliformní bakterie	< 2 000	< 10 000	< 20 000	< 40 000
Enterokoky	< 600	< 1 300	< 2 500	< 4 600
<b>ČSN 75 7143 voda pro závlahu</b>	<b>I / voda vhodná</b>	<b>II / voda podmíněně vhodná</b>	<b>III / voda nevhodná</b>	
Koliformní bakterie	10 000	100 000	> 10 0000	
Termotolerantní (fekální) koliformní bakterie	1 000	10 000	> 10 000	
Enterokoky	1 000	10 000	> 10 000	
Patogenní mikroorganismy, salmonely	negativní v 500 ml	negativní v 200 ml	pozitivní v 200 ml	
Kolifágy	10	1 000	> 1 000	Používá se jednotka PTJ – plakotvorná jednotka (nikoliv KTJ kolonie tvořící jednotka).

## Hlavní problémy mikrobiálního znečištění tekoucích povrchových vod

Zdrojem fekální kontaminace povrchových vod jsou především nedostatečně čištěné odpadní vody – bodové zdroje znečištění. Kromě vlastních odtoků čištěných či nečištěných odpadních vod se na fekální kontaminaci povrchových vod podílejí prosakující septiky, netěsné kanalizační potrubí, rozvodněná kanalizace apod. Dlouhodobě zvýšená kontaminace toků mikroorganismy byla zjištěna např. po povodních v srpnu 2002. Ještě začátkem září, kdy již byly u většiny mikrobiologických ukazatelů zjištěny běžné hodnoty, byla fekální mikrobiální kontaminace zvýšená, především pod většími městy s nefunkčními ČOV [18].

Celkově se kvalita povrchových vod v České republice v souvislosti se zlepšováním čištění odpadních vod postupně zlepšuje. Je to patrné i z tabulky 2, kde je uveden počet profilů, spadajících do tříd kvality vody podle novely normy ČSN 75 7221 podle ukazatele fekální koliformní bakterie. Do hodnocení byly zařazeny pouze profily, u kterých bylo v jednotlivých dvouletích k dispozici minimálně 24 odběrů, aby byla vhodným způsobem spočtena charakteristická hodnota ( $C_{90}$ ).

Hlavními problémy, se kterými je třeba počítat při hodnocení výsledků, jsou nejistoty stanovení mikrobiologických ukazatelů a velké výkyvy počtů sledovaných bakterií v povrchové tekoucí vodě v souvislosti se změnami průtoků.

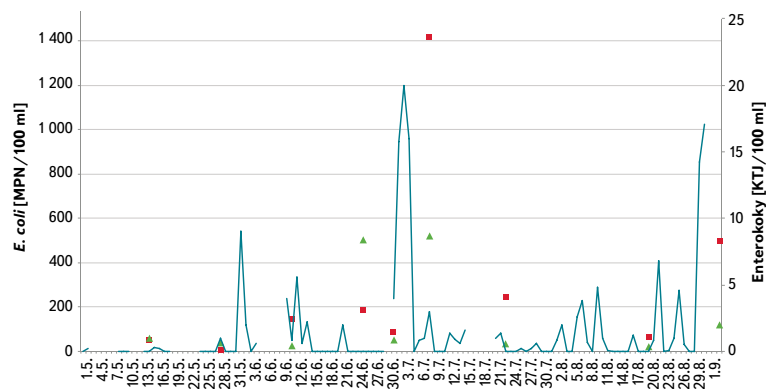
### NEJISTOTY MIKROBIOLOGICKÝCH STANOVENÍ

Metody stanovení mikrobiologických ukazatelů nejsou robustní a jakékoliv odchylky od předepsané metody (výběr vhodné/předepsané/doporučené metody, dodržení podmínek transportu (chlazení) vzorku a maximální doby do jeho zpracování (24 hodin), provedení dostatečného počtu ředění) vedou k nepřesným výsledkům. I v případě, že je vše výše uvedené dodrženo, je nutné počítat s nejistotou stanovení mikrobiologických ukazatelů minimálně 30 %. To je nutné zohlednit i při odborném hodnocení výsledků.

### ZMĚNY PRŮTOKŮ

Jak již bylo uvedeno, výsledky stanovení mikrobiologických ukazatelů vykazují velké výkyvy (řádové až několika řádové zvýšení počtů), především v souvislosti se změnami průtoků (jarní tání, srážkové epizody – zejména silné deště, kterým předcházelo delší období sucha). Bylo prokázáno [8], že letní příválové deště mají na zhoršení stavu větší vliv než jarní tání. Maximální počty indikátorových bakterií nebyly zaznamenány v době maximálního průtoku, ale v době jeho zvyšování (vzestupná část vlny). Pro orientační hodnocení mikrobiální kontaminace toků tak není vhodné vzorkovat v extrémních podmínkách (pokud to není vyloženě účelové). Na této situaci se kromě splachů, odlehčovacích výpustí a přísunu nedostatečně čištěných odpadních vod významně podílí především resuspendace sedimentů, které jsou významným rezervoárem

hygienicky významných mikroorganismů. Příklad kolísání mikrobiologických ukazatelů během léta v profilu Berounka-Černošice v souvislosti se srážkami je uveden na obr. 2.



Obr. 2. Kolísání počtů *E. coli* a enterokoků během léta 2012 v říčním profilu Berounka-Černošice

Fig. 2. Changes of counts of *E. coli* and enterococci during summer season (2012) in the river profile Berounka-Černošice

## ZÁVĚR

Mikrobiální znečištění povrchových vod je založeno na sledování indikátorů, které ukazují na míru fekálního znečištění a možnost výskytu střevních patogenů ve vodním prostředí. Při této kontrole je důležité vybrat vhodné indikátorové mikroorganismy (termotolerantní (fekální) koliformní bakterie, resp. *E. coli*, intestinální enterokoky), zajistit stanovení vhodnými (předepsanými) metodami a při hodnocení výsledků brát v úvahu specifika mikrobiologického rozboru vody a výkyvy počtů mikroorganismů v souvislosti se změnami průtoků.

## Poděkování

Príspevek byl zpracován za podpory projektu Technologické agentury České republiky Kvalita a hodnocení povrchových vod – TD 03000215.

Tabulka 2. Počet profilů odpovídajících hraničním mezním tříd podle novely normy ČSN 75 7221 – fekální koliformní bakterie

Table 2. The count of profiles meet the requirements of quality classes according to the new version of standard ČSN 75 7221 – faecal coliforms

Třídy kvality	Mezní hodnota – KTJ/100 ml	2006–2007	2007–2008	2011–2012			
I	< 2 000	45	17 %	65	21 %	177	55,5 %
II	< 10 000	154	60 %	158	51,2 %	81	25,4 %
III	< 20 000	31	12 %	51	16,5 %	30	9,4 %
IV	< 40 000	17	7 %	19	6,1 %	10	3,1 %
V	≥ 40 000	11	4 %	16	5,2 %	21	6,6 %
Celkem		258		309		319	

## Literatura

- [1] Vyhláška 238/2011 Sb. Vyhláška Ministerstva zdravotnictví, kterou se stanoví hygienické požadavky na koupaliště, sauny a hygienické limity písku v pískovištích venkovních hracích ploch, ve znění pozdějších předpisů.
- [2] Vyhláška 428/2001 Sb. Vyhláška ministerstva zemědělství ze dne 16. listopadu 2001, kterou se provádí zákon č. 274/2001 Sb., o vodovodech a kanalizacích pro veřejnou potřebu a o změně některých zákonů (zákon o vodovodech a kanalizacích), ve znění pozdějších předpisů.
- [3] Nařízení vlády č. 401/2015 Sb. Nařízení vlády o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod, náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových a do kanalizací a o citlivých oblastech.
- [4] ČSN 75 7221 Kvalita vod. Klasifikace kvality povrchových vod, 2017.
- [5] ČSN 75 7143 Jakost vod. Jakost vod pro závlahu, 1991.
- [6] HOKARJÄVI, A.M., PITKÄNEN, T., SILJANEN, H.M.P., et. al. Occurrence of thermotolerant *Campylobacter* spp. and adenoviruses in Finnish bathing waters and purified sewage effluents. *Journal of Water and Health*, 2013, vol. 11, No. 1, p. 120–134.
- [7] BALZER, M., WITT, N. FLEMMING, H.C., and WINGENDER, J. Faecal indicator bacteria in river biofilms. *Water Science Technology*, 2010, vol. 61, No. 5, p. 1105–1111.
- [8] BAUDIŠOVÁ, D., BENÁKOVÁ, A. a HLAVÁČEK, J. Vliv zvýšených průtoků na změny mikrobiální kontaminace vody v povodí Olešky. *Vodohospodářské technicko-ekonomické informace*, 2012, roč. 54, č. 1, s. 13–16.
- [9] PAN, X., and JONES, K.D. Seasonal variation of fecal indicator bacteria in storm events within the US stormwater database. *Water Science Technology*, 2012, vol. 65, No. 6, p. 1076–1080.
- [10] STERK, A., SCHUIJVEN, J., DE RODA HUSMAN, A.M., and DE NIJS, T. Effect of climate change on runoff of *Campylobacter* and *Cryptosporidium* from land to surface water. *Water research*, 2016, 95, p. 90–102.
- [11] WIENDENMANN, A., KRÜGER, P., DIETZ, K., LÓPEZ-PILA, J.M., SZEWYK, R., and BOTZENHART, K. A randomized controlled trial assessing infectious disease risks from bathing in fresh recreational waters in relation to the concentration of *Escherichia coli*, intestinal enterococci, *Clostridium perfringens*, and somatic coliphages. *Environ. Health Perspect*, 2006, vol. 114, No. 2, p. 228–236.
- [12] ČSN 75 7835 Jakost vod – Stanovení termotolerantních koliformních bakterií a *Escherichia coli*, 2009.
- [13] Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater. 22<sup>nd</sup> Edition. APHA, 2012.
- [14] BAUDIŠOVÁ, D. Metody stanovení *Escherichia coli* a intestinálních enterokoků v koupacích vodách. *Vodohospodářské technicko-ekonomické informace*, 2013, roč. 55, č. 1, s. 5–7.
- [15] ČSN EN ISO 9308-1 (75 7836): Kvalita vod – Stanovení *Escherichia coli* a koliformních bakterií – Část 1: Metoda membránových filtrů pro vody s nízkým obsahem doprovodné mikroflóry, 2015.
- [16] ČSN EN ISO 9308-2 (75 7836): Kvalita vod – Stanovení *Escherichia coli* a koliformních bakterií – Část 2: Metoda nejpravděpodobnějšího počtu, 2014.
- [17] ČSN EN ISO 7899-2 (75 7831) Jakost vod – Stanovení intestinálních enterokoků – Část 2: Metoda membránových filtrů, 2001.
- [18] MLEJNKOVÁ, H. a HORÁKOVÁ, K. Jakost povrchových a podzemních vod za povodňové situace – kontaminace záplavových vod bakteriemi. *Vodohospodářské technicko-ekonomické informace*, 2004, roč. 46, č. 1, s. 6–8, příloha *Vodního hospodářství*.

## Autoři

**RNDr. Dana Baudišová, Ph.D.**

✉ [dana.baudisova@vuv.cz](mailto:dana.baudisova@vuv.cz)

**RNDr. Hana Mlejnková, Ph.D.**

✉ [hana.mlejnkova@vuv.cz](mailto:hana.mlejnkova@vuv.cz)

Výzkumný ústav vodohospodářský T. G. Masaryka, v. v. i.

Příspěvek prošel lektorským řízením.

## MICROBIAL POLLUTION OF SURFACE WATERS

**BAUDIŠOVA, D.; MLEJNKOVA, H.**

TGM Water Research Institute, p. r. i.

**Keywords:** surface water – faecal pollution – microbiological indicators – ČSN 757221

The aim of this study is a summary of problems dealing with microbial pollution of flowing surface waters in the Czech Republic. Limits of counts of indicator microorganisms in current legislation and technical standards are presented, together with characteristics of the mostly used indicators of faecal pollution and methods of their detection. The paper is intended for workers, engaged in the evaluation of microbiological results and the water quality.