

VYUŽITÍ SOMATICKÝCH KOLIFÁGŮ PŘI SLEDOVÁNÍ HYGIENICKÉ NEZÁVADNOSTI RECYKLOVANÝCH ODPADNÍCH VOD

JANA ZUZÁKOVÁ^{a,b}, DAVID JANÁK^a, ELIŠKA VOBECKÁ^{a,b} a JANA ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ^a

^a Ústav technologie vody a prostředí, Fakulta technologie ochrany prostředí, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6, ^b Pražské vodovody a kanalizace, a.s., Ke Kablu 971/1, Hostivař, 102 00 Praha 10, Česká republika
jana.zuzakova@vscht.cz

Došlo 23.3.22, přijato 6.1.23.

Odtoky ze sekundárních stupňů konvenčních mechanicko-biologických čistíren odpadních vod stále obsahují významné koncentrace indikátorů fekálního znečištění poukazující na potenciální přítomnost patogenních organismů. V rámci této práce byl monitorován a diskutován pokles koncentrace somatických kolifágů i bakteriálních indikátorů fekálního znečištění v průběhu technologických stupňů (koagulace, písková filtrace, membránová ultrafiltrace, sorpce na granulovaném aktivním uhlí, dezinfekce, akumulace) polopropovzního zařízení určeného k víceetapovému terciárnímu dočištění resp. recyklaci vyčištěné odpadní vody. V průběhu terciárního čištění byly lépe odstraňovány bakteriální indikátory než somatické kolifágy, z toho důvodu je zařazení somatických kolifágů mezi indikátory fekálního znečištění při kontrole kvality vody pro opětovné použití zcela namístě. Pro bezpečné opětovné využití vyčištěné vody je nezbytné její následné terciární dočištění včetně zařazené dezinfekce.

Klíčová slova: somatické kolifágy, mikrobiální kontaminace, odpadní voda, recyklace

Úvod

Mikrobiologická kvalita vod (povrchových, podzemních, pitných, odpadních atd.) a jejich hygienická nezávadnost je celosvětově posuzována pomocí tzv. bakteriálních indikátorů fekálního znečištění (FIB – faecal indicator bacteria), mezi které patří koliformní bakterie, termotolerantní koliformní bakterie, *E. coli*, intestinální enterokoky a sulfát redukující klostridia^{1,2}. V pitných vodách jsou z důvodu minimalizace negativních dopadů na veřejné zdraví výše zmíněné ukazatele již řadu let limitovány, a to prostřednictvím hygienických požadavků stanovených v mezinárodních směrnících i právních předpisech jednotlivých zemí^{3,4}. Metodické pokyny a legislativní dokumenty v současné době postupně vznikají také pro vyčištěné odpadní vody určené k opětovnému využití pro nepitné účely, a to v souvislosti s výrazně rostoucím zájmem o recyklaci odpadních vod v důsledku některých globálních problémů, jako jsou populační růst a klimatické změny. Zásadní překážkou pro možnost opětovného využívání vyčištěných odpadních vod je však mikrobiální kontaminace. Je známo, že v odtocích ze sekundárního stupně konvenčních čistíren odpadních vod se kromě patogenních bakterií běžně vyskytují také prvoci, helminti i enterické viry⁵. Kromě výše uvedených organismů je v odtocích z čistíren odpadních vod prokázána i přítomnost viru SARS-CoV-2 (cit.⁶).

Viry v porovnání s bakteriemi vykazují odlišné biologické a morfologické vlastnosti i chování, a to jak v přirozeném vodním prostředí, tak i v průběhu čištění odpadních vod. Z toho důvodu je u vyčištěných odpadních vod určených k opětovnému využití kontrola mikrobiologické kvality spočívající pouze ve stanovení FIB nedostatečná, protože FIB nejsou schopny účinně postihnout přítomnost enterických virů⁷. Vzhledem k tomu, že enterické viry disponují oproti bakteriím vyšší stabilitou a odolností vůči stresovým faktorům, mohou déle setrávat v životním prostředí. Při vystavení lidského organismu kontaminované rekreační nebo pitné vodě či kontaminovaným potravinám mohou viry následně vyvolat onemocnění⁸. V posledních letech bylo po celém světě hlášeno mnoho virových infekcí přenášených vodou. V Evropě byly zaznamenány virové nákazy např. ve Finsku (2007)⁹, Černé Hoře (2008)¹⁰, Itálii (2011)¹¹ a Řecku (2012)¹². Za hlavní příčinu akutních gastroenteritid bývají nejčastěji považovány noroviry, dále viry hepatitidy A, viry hepatitidy E, rotaviry a enteroviry^{13,14}.

Pro detekci enterických virů ve vodním prostředí lze využít standardizované metody, jedná se však o postupy, které jsou ekonomicky náročné, vyžadují laboratoře se speciálním vybavením i proškoleným personálem. Nejsou tedy vhodné pro rutinní monitorování kvality vod¹⁴. Jako potenciální indikátory schopné poukazovat na přítomnost virové fekální kontaminace ve vodách byly navrženy

bakteriofágy. Jedná se o nepatogenní viry infikující výhradně buňky bakterií, přičemž bez bakteriálního hostitele nejsou schopny replikace. Nejčastěji studované z pohledu chování a transportu v souvislosti s fekálním znečištěním vod jsou somatické kolifágy a F-specifické kolifágy infikující buňky bakterií *E. coli*. Somatické kolifágy a F-specifické kolifágy jsou za účelem monitorování kvality vod a posuzování účinnosti čistírenských i úpravárenských technologií při odstraňování virových částic postupně začleňovány do regulačních rámců^{13,15}. Bylo však zjištěno, že somatické kolifágy ve vodním prostředí obecně převyšují počty F-specifických kolifágů³.

Přestože jsou somatické kolifágy skupinou bakteriofágů, které infikují buňky bakterií *E. coli*, bylo zjištěno, že *E. coli* není jejich jediným hostitelem. Somatické kolifágy mohou infikovat také některé další bakterie z čeledi Enterobacteriaceae, např. bakterie *Klebsiella* spp. a *Shigella* spp. (cit.¹⁶). Tyto pro člověka nepatogenní viry jsou považovány nejen za indikátory fekálního znečištění, ale vzhledem k podobné velikosti, struktuře a morfologickým vlastnostem s lidskými enterickými viry rovněž za indikátory přítomnosti virového znečištění ve vodách¹⁷. Jejich spolehlivost při predikci virové kontaminace v povrchových vodách však nebývá zatím jednoznačně prokázána, naopak významná korelace mezi somatickými kolifágy a enterickými viry byla nalezena v nedezinfikovaných odtocích ze sekundárního stupně čistění odpadních vod (ČOV)^{5,13,18}.

Výskyt somatických kolifágů se v městských odpadních vodách celosvětově uvádí v koncentracích o řádu přibližně 10^4 – 10^7 PTJ ve 100 ml (cit.^{2,19–22}). Oproti tomu FIB se v surové odpadní vodě vyskytují přibližně v následujících koncentracích: koliformní bakterie v řádu 10^6 – 10^8 KTJ ve 100 ml vody (cit.^{23,24}); *E. coli* v řádu 10^5 – 10^8 KTJ ve 100 ml vody (cit.^{2,22}); intestinální enterokoky v řádu 10^4 – 10^7 KTJ ve 100 ml vody (cit.^{2,24}). Dle dosavadních znalostí jsou FIB během čištění odpadních vod odstraňovány efektivněji než kolifágy. Konvenční mechanicko-biologické ČOV využívající k čištění aktivovaný kal jsou schopny snížit koncentrace FIB (koliformních bakterií, *E. coli*, intestinálních enterokoků) přibližně o hodnoty 2,0–3,2 na logaritmické stupnici \log_{10} (cit.^{23–25}), zatímco koncentrace somatických kolifágů přibližně o 1,0–2,2 \log_{10} (cit.^{22,25}).

Přestože ČOV jsou schopny významně snižovat mikrobiální znečištění, v odtocích ze sekundárních stupňů čištění jsou stále přítomny vysoké koncentrace FIB včetně patogenních organismů. Při opětovném využití této vody bez následného terciárního dočištění, zahrnujícího rovněž dezinfekci, existuje značné riziko ohrožení lidského zdraví. Cílem této práce bylo vyhodnotit účinnost odstranění somatických kolifágů zařízením určeným pro recyklaci vyčištěné odpadní vody z městské ČOV a porovnat ji s účinností odstranění vybraných FIB (koliformní bakterie, *E. coli*, intestinální enterokoky). Dále byla posouzena korelace mezi koncentracemi somatických kolifágů a FIB v odtoku ze sekundárního stupně dané ČOV.

Experimentální část

Zařízení pro recyklaci vyčištěné odpadní vody

Ke sběru vzorků byla využita poloprovozní jednotka určená pro recyklaci vyčištěné odpadní vody (odtoku ze sekundárního stupně ČOV) a realizovaná v rámci projektu TAČR TH03030080 „Recyklace odpadních vod pro využití ve vodním hospodářství měst budoucnosti“ podpořené Technologickou agenturou České republiky. Poloprovozní jednotka byla umístěna v areálu městské mechanicko-biologické ČOV, kde je v rámci sekundárního stupně biologicky odstraňován dusík pomocí aktivovaného kalu (v procesech nitrifikace a denitrifikace), a dále chemicky sráženy fosforečnany. Vyčištěná odpadní voda není před vyústěním do povrchového vodního toku dezinfikována.

Nátokem na poloprovozní jednotku byl odtok ze sekundárního stupně čistírny. Jednotka byla vybavena řadou technologických modulů sloužících k terciárnímu dočištění vody, přičemž zahrnovala postupně řazenou koagulaci, pískovou filtraci, membránovou ultrafiltraci, sorpci na granulovaném aktivním uhlí (GAU), dezinfekci a akumulaci. Vzorky vod byly odebírány z každého stupně tohoto technologického uspořádání.

Stupeň koagulace byl realizován jako mikrokoagulace v potrubí síranem železitým s přepočtenou dávkou železa $0,7 \text{ mg l}^{-1}$. Dále byla voda vedena přes usazovací nádrž s lamelovou vestavbou na tlakový pískový filtr s tryskovým mezidnem. Výška pískové náplně byla 1,2 m. Jako ultrafiltrační modul byla použita membrána Hydra-Cap Max 40 s dutými vlákny z polyvinylidenfluoridu o vnitřním průměru vláken 0,6 mm a velikostí pórů $0,08 \text{ }\mu\text{m}$. Membrána byla provozována v režimu průtoku vody „out-in“ tzn. z vnější strany membrány směrem dovnitř a „dead-end“ tzn. způsobem podobným koláčové filtraci. Filtrace na GAU typu Filtrasorb F300 probíhala v tlakové nádobě s tryskovým mezidnem a výškou náplně 1 m. Doba kontaktu s GAU byla 14 minut. Dezinfekce byla prováděna dávkováním chlornanu sodného o dávce $4,0 \text{ mg l}^{-1}$ aktivního chloru. Pro akumulaci upravené vody byla použita nádrž o objemu $2,5 \text{ m}^3$ s dobou zdržení 90 min. Koncentrace volného chloru v akumulační nádrži byla průměrně $0,12 \text{ mg l}^{-1}$.

Odběr vzorků

Odběry vzorků byly prováděny jednou týdně v období červen až červenec roku 2020. Celkem bylo provedeno 7 sad odběrů, přičemž každý odběr zahrnoval vzorky vod ze všech technologických stupňů recyklační jednotky, tzn. vstup na jednotku, koagulace, písková filtrace, membránová ultrafiltrace, sorpce na GAU, dezinfekce, akumulace. Vzorky vstupní vody na jednotku tzn. odtoku z městské ČOV (bez dezinfekce) byly odebírány v delším časovém horizontu (květen až říjen 2020) za účelem posouzení případného kolísání koncentrací indikátorů fekál-

ního znečištění a jejich vzájemné korelace. Vzorky vod byly odebírány do sterilních vzorkovnic o objemu 1 litr a následně přepraveny do mikrobiologické laboratoře na Ústavu technologie vody a prostředí VŠCHT Praha, kde byla stanovena přítomnost FIB (*E. coli*, koliformní bakterie, intestinální enterokoky) a somatických kolifágů.

Stanovení množství somatických kolifágů

Množství přítomných somatických kolifágů bylo stanovováno metodou dvouvrstvého agaru dle normy ČSN EN ISO 10705-2 (cit.²⁶), a to s využitím hostitelské kultury kmene *E. coli* CNCTC 5005, který byl získán ze sbírky Státního zdravotního ústavu v Praze. Výsledky byly odečítány jako počet plaky tvořících jednotek (PTJ) v 1 ml vody s mezí detekce 1 PTJ v 1 ml. Plaky jsou projasněná místa vzniklá na plochách misek s médiem. Stanovení každého vzorku bylo provedeno v duplikátu, přičemž při každé sérii vzorků byl vždy stanoven také slepý vzorek jako negativní kontrola.

Stanovení bakteriálních indikátorových organismů

Stanovení *E. coli*, koliformních bakterií a intestinálních enterokoků bylo provedeno dle uzančních metod. *E. coli* a koliformní bakterie byly detegovány metodou Colilert®-18/Quanti-Tray® (ČSN EN ISO 9308-2, cit.²⁷), a proto jsou výsledky uváděny v jednotkách MPN ve 100 ml vody (MPN – nejpravděpodobnější počet, most probable number). Intestinální enterokoky byly stanoveny metodou membránové filtrace dle ČSN EN ISO 7899-2 a výsledky jsou uváděny v jednotkách KTJ ve 100 ml vody (KTJ – kolonie tvořící jednotky).

Vyhodnocení dat a statistická analýza

U všech sledovaných indikátorových organismů (*E. coli*, koliformní bakterie, intestinální enterokoky, somatické kolifágy) byly za účelem vyhodnocení získaných dat a jejich prezentace v logaritmickém měřítku nahrazeny zjištěné nulové počty hodnotou meze detekce příslušné metody (1 MPN ve 100 ml, 1 KTJ ve 100 ml nebo 1 PTJ v 1 ml). Prezentovaná data (původně zjištěné počty KTJ, MPN, PTJ v objemu vzorku) jsou vyjadřována v logaritmickém měřítku o základu 10 ($\log_{10}x$). Střední hodnoty sledovaných ukazatelů v jednotlivých odběrových profilech jsou uváděny formou geometrických průměrů a směrodatných odchylek, variabilita získaných dat je zároveň vyjádřena pomocí krabicových grafů. Snížení koncentrace (početního zastoupení) indikátorových organismů technologickou linkou zařízení je vyjádřeno procentuálně i rozdílem na logaritmické stupnici \log_{10} koncentrace organismů oproti nátoku na jednotku, tzn. odtoku z městské ČOV.

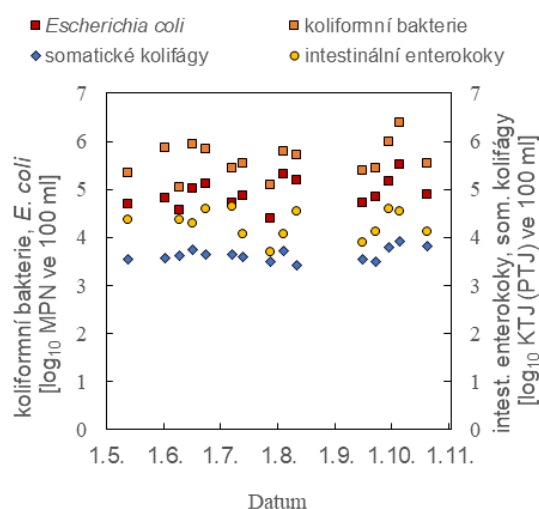
Pro posouzení vzájemného vztahu mezi sledovanými ukazateli (somatické kolifágy, koliformní bakterie, *E. coli*, intestinální enterokoky) byl zvolen Pearsonův korelační koeficient. Zároveň byl proveden výpočet p-hodnot, při-

čemž za významnou korelaci byla považována p-hodnota menší než 0,05.

Výsledky a diskuse

Mikrobiální kontaminace odtoku z ČOV

Mikrobiální znečištění vody v odtoku z vybrané městské mechanicko-biologické ČOV je ve sledovaném období (květen až říjen 2020) znázorněno na obr. 1. Somatické kolifágy stanovované v jednotkách PTJ v 1 ml vody byly pro snazší porovnání s bakteriálními indikátory fekálního znečištění v případě odtoku z ČOV vyjádřeny v jednotkách PTJ ve 100 ml vody. Po celé sledované období byly koncentrace všech indikátorových organismů poměrně stabilní a nedocházelo k jejich významnému kolísání. Zjištěné koncentrace se rovněž shodují s hodnotami uváděnými v jiných publikacích, ve kterých se koncentrace koliformních bakterií v nedezinfikovaném odtoku z ČOV pohybují přibližně v rozmezí 3,3–6,0 \log_{10} MPN ve 100 ml (cit.^{28–31}), *E. coli* 4,4–5,4 \log_{10} MPN ve 100 ml (cit.^{29,32,33}), intestinální enterokoky 3,8–5,9 \log_{10} KTJ ve 100 ml (cit.^{20,32,33}) a somatické kolifágy 2,3–3,9 \log_{10} PTJ ve 100 ml (cit.^{20,21,32}).



Obr. 1. Koncentrace bakteriálních indikátorů fekálního znečištění (*Escherichia coli*, koliformní bakterie, intestinální enterokoky) a somatických kolifágů v odtoku z městské ČOV za rok 2020. Pozn.: Koncentrace somatických kolifágů uváděné v jednotkách PTJ ve 100 ml vody byly získány převedením původně zjištěných hodnot v jednotkách PTJ v 1 ml vody. Barevná verze obrázku je dostupná na webových stránkách časopisu Chemické listy.

Korelace koncentrací somatických kolifágů s bakteriálními indikátory fekálního znečištění

Vzájemná korelace mezi sledovanými mikrobiologickými ukazateli (somatické kolifágy, *E. coli*, koliformní bakterie, intestinální enterokoky) byla posuzována v profilu odtoku z městské ČOV (vstup na jednotku) a je patrná z tab. I. Významný vztah byl dle očekávání zjištěn mezi koliformními bakteriemi a *E. coli* ($r = 0,89$), neboť bakterie *E. coli* je zástupcem koliformních bakterií, ale také mezi koliformními bakteriemi/*E. coli* a somatickými kolifágy. Somatické kolifágy vykazovaly s koliformními bakteriemi silnější korelaci ($r = 0,78$) než s bakteriemi *E. coli* ($r = 0,69$). Vysvětlením by mohl být fakt, že *E. coli* není jediným hostitelem těchto bakteriálních virů, ale mohou jimi být i další koliformní bakterie³⁴. Podobně silnou korelaci mezi somatickými kolifágy, koliformními bakteriemi a *E. coli* v surové i vyčištěné odpadní vodě uvádí také další studie²⁵. Nízká korelace byla zjištěna mezi intestinálními enterokoky a somatickými kolifágy ($r = 0,27$). To je v rozporu s výsledky ve studii²⁵, která mezi těmito ukazateli uvádí silnější vztah (0,558). Jednalo se však o hodnotu korelace vypočtenou nejen z vyčištěné odpadní vody, ale také ze surové odpadní vody, což by mohlo být důvodem rozdílných hodnot. Pro nízkou korelaci může hovořit skutečnost, že intestinální enterokoky jsou oproti ostatním FIB citlivější k vnějším vlivům prostředí a přežívají tak pouze krátkou dobu. Navíc nepatří mezi hostitelské buňky somatických kolifágů, neboť se ve srovnání s koliformními bakteriemi jedná o taxonomicky odlišnou skupinu.

Eliminace mikrobiálních indikátorů terciárním čištěním

Počty všech mikrobiologických ukazatelů včetně somatických kolifágů byly v průběhu terciárního čištění až na výjimky postupně snižovány, viz obr. 2. Somatické kolifágy byly oproti ostatním sledovaným mikrobiologickým ukazatelům zpravidla odstraňovány s nejnižší účinností, a to ve všech technologických stupních čištění. Účinnost jednotlivých technologických mezistupňů v odstranění mikrobiální kontaminace je patrná v tab. II.

Mikrokoagulace s minimální dávkou koagulačního činidla ($0,7 \text{ mg l}^{-1} \text{ Fe}$) odstranila pouze minimální množství sledovaných organismů. Neměla v podstatě žádný vliv na odstranění somatických kolifágů a intestinálních enterokoků (míra redukce v obou případech $0,0 \log_{10}$), zatímco koliformní bakterie a *E. coli* byly sníženy o $0,3 \log_{10}$ a $0,2 \log_{10}$. Důvodem rozdílných výsledků může být závislost účinnosti koagulace a flokulace na velikosti ve vodě přítomných mikroorganismů a jejich povrchovém náboji.

Písková filtrace s předřazenou mikrokoagulací snížila počty somatických kolifágů o $0,3 \log_{10}$, zatímco množství koliformních bakterií i *E. coli* bylo sníženo o $0,3 \log_{10}$ a množství intestinálních enterokoků o $0,5 \log_{10}$. Částečná redukce počtu somatických kolifágů, přestože se jedná o pískovou filtraci, může být vysvětlena jejich tendencí adsorbovat na pevné částice². Separovány mohou být také společně s hostitelskou buňkou po adsorpci na její povrch.

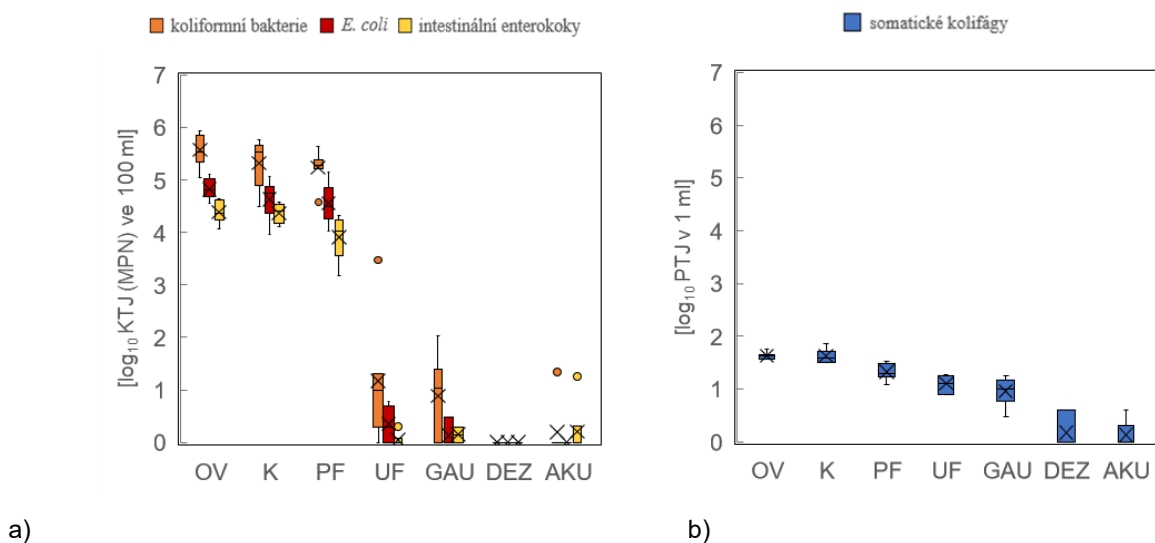
Významného odstranění všech mikrobiologických ukazatelů bylo dosaženo po použití ultrafiltrační membrány s velikostí pórů $0,08 \mu\text{m}$, přičemž míra odstranění činila téměř 100 %. Množství koliformních bakterií, *E. coli* i intestinálních enterokoků bylo sníženo o $4,4 \log_{10}$, $4,5 \log_{10}$ a $4,4 \log_{10}$. Hlavním separačním mechanismem byla v tomto případě rozdílná velikost buněk a pórů membrány. Přesto je nutné podotknout, že vzorky permeátu byly ve více než 50 % případů testovány pozitivně na přítomnost všech bakteriálních ukazatelů a jejich počty se pohybovaly u *E. coli* i intestinálních enterokoků v rozmezí jednotek MPN ve 100 ml resp. KTJ ve 100 ml a u koliformních bakterií převážně v rozmezí jednotek až desítek MPN ve 100 ml (vzhledem k počátečním koncentracím se však jedná o zanedbatelné hodnoty a míra jejich odstranění membránou dosahuje téměř 100 %). Obdobná situace výskytu koliformních bakterií v permeátu byla popsána ve studii²¹, kde byla přisuzována vznikající vrstvě biofilmu na vnitřní straně membrány (permeátové straně). Oproti tomu množství somatických kolifágů bylo po stupni membránové ultrafiltrace sníženo o $0,5 \log_{10}$ s průměrnou účinností odstranění 69 %. Velikost somatických kolifágů je uváděna v rozmezí 30–100 nm (cit.³⁵), tedy převážně menší než rozměry pórů použité membrány. Nicméně kromě separace na základě rozdílných velikostí virových částic a pórů membrány hraje důležitou roli také zanášení tzv.

Tabulka I

Pearsonův korelační koeficient mezi sledovanými mikrobiologickými ukazateli

	<i>Escherichia coli</i>	Koliformní bakterie	Intestinální enterokoky	Somatické kolifágy
<i>Escherichia coli</i>	x	0,89	0,36	0,69
Koliformní bakterie	0,89	x	0,40	0,78
Intestinální enterokoky	0,36	0,40	x	0,27
Somatické kolifágy	0,69	0,78	0,27	x

Pozn.: Významná korelace ($p < 0,05$) je uvedena tučným písmem



Obr. 2. Koncentrace a) bakteriálních indikátorů fekálního znečištění a b) somatických kolifágů v odtoku z čistírny odpadních vod (OV) a v průběhu terciálního čištění po stupních koagulace (K), pískové filtrace (PF), ultrafiltrace (UF), sorpce na granulovaném aktivním uhlí (GAU), dezinfekce (DEZ) a akumulace (AKU). Pozn.: Úsečky na vertikálních čarách v jednotlivých krabicových grafech představují postupně shora maximum, horní kvartil (75 %), medián, spodní kvartil (25 %), minimum. Křížky symbolizují průměrné hodnoty a kolečka statisticky odlehle hodnoty. Barevná verze obrázku je dostupná na webových stránkách časopisu Chemické listy.

Tabulka II

Redukce množství mikrobiologických ukazatelů technologickou linkou terciálního dočištění odpadních vod (vyjádřené v log₁₀) včetně průměrné účinnosti odstranění

Profil	Somatické kolifágy		<i>Escherichia coli</i>		Koliformní bakterie		Intestinální enterokoky	
	log ₁₀	%	log ₁₀	%	log ₁₀	%	log ₁₀	%
Koagulace	0,00 ± 0,13	9,9	0,21 ± 0,30	31	0,29 ± 0,50	29	0,03 ± 0,18	14
Písková filtrace	0,30 ± 0,14	47	0,27 ± 0,29	48	0,34 ± 0,15	51	0,48 ± 0,29	62
Ultrafiltrace	0,53 ± 0,13	69	4,47 ± 0,35	100	4,40 ± 1,09	100	4,34 ± 0,17	100
Sorpce GAU	0,67 ± 0,22	76	4,69 ± 0,32	100	4,69 ± 0,79	100	4,24 ± 0,27	100
Dezinfekce	1,46 ± 0,29	97	4,82 ± 0,18	100	5,57 ± 0,30	100	4,39 ± 0,19	100
Akumulace	1,50 ± 0,20	97	4,82 ± 0,18	100	5,38 ± 0,63	100	4,18 ± 0,52	100

Pozn.: nejedná se o vyjádření účinnosti samostatných technologických stupňů, ale účinnosti dosažené jejich postupným řazením za sebou v technologické lince

„fouling“ membrány a schopnost bakteriofágů adsorbovat na povrch pevných částic, včetně membrány^{36,37}.

Zařazením sorpce na GAU bylo množství somatických kolifágů sníženo o 0,7 log₁₀. V případě bakteriálních ukazatelů (koliformní bakterie, *E. coli* a intestinální enterokoky) nedošlo k významným změnám a v porovnání s nátokem na GAU byly jejich koncentrace srovnatelné nebo mírně zvýšené. To může být vysvětleno adsorpcí organických látek na GAU, které mohou být následně využity těmito bakteriemi jako substrát pro případné sekundární pomnožování.

Na konci celého procesu terciálního čištění, tzn. po dezinfekci chlornanem sodným, byla koncentrace somatických kolifágů průměrně o 1,5 log₁₀ nižší oproti jejich koncentraci v nátoce na poloprovozní jednotku a bylo dosaženo průměrně 97% účinnosti odstranění. Koliformní bakterie, *E. coli* a intestinální enterokoky nebyly v žádném z odebraných vzorků po dezinfekci detegovány. Jejich počty byly celou technologickou linkou sníženy průměrně o 5,6 log₁₀, 4,8 log₁₀ a 4,4 log₁₀ (viz tab. II). Během následné krátkodobé akumulace nebyly zaznamenány žádné významné změny v mikrobiální kvalitě vyčištěné vody.

Přestože bakteriální ukazatele mohou být s využitím membránové ultrafiltrace v procesu terciárního čištění téměř kompletně eliminovány, je nezbytně nutné upravenou vodu vždy následně hygienicky zabezpečit. Důvodem je jak riziko sekundární kontaminace a tvorba biofilmů při delší době akumulace, tak fakt, že ultrafiltrační membrána není spolehlivou bariérou pro separaci virových částic. Přítomnost somatických kolifágů v permeátu po stupni ultrafiltrace indikuje riziko výskytu patogenních virů, které mohou v závislosti na výsledné aplikaci upravené vody bez hygienického zabezpečení způsobovat případné zdravotní komplikace.

Závěr

V rámci práce byla posouzena korelace množství somatických kolifágů s množstvím FIB v odtoku ze sekundárního stupně konvenční městské ČOV a zároveň bylo sledováno odstraňování těchto ukazatelů v průběhu jednotlivých technologických stupňů terciárního dočištění. Zjištěné koncentrace vybraných FIB a somatických kolifágů v odtoku ze sekundárního stupně ČOV byly po celé sledované období víceméně stabilní a shodovaly se s hodnotami uváděnými v dalších odborných studiích. Významná korelace byla nalezena mezi somatickými kolifágy, koliformními bakteriemi a *E. coli*. V průběhu terciárního čištění byly efektivněji odstraňovány FIB oproti somatickým kolifágům, přičemž významný rozdíl byl zaznamenán po technologickém stupni membránové ultrafiltrace, během které byly FIB téměř kompletně eliminovány na rozdíl od somatických kolifágů. Membránová ultrafiltrace tedy nemusí vždy být úplnou bariérou pro virové patogeny, velmi závisí na velikosti pórů dané membrány. Finálním krokem by mělo být vždy hygienické zabezpečení vody a současně monitorování její kvality pomocí mikrobiologických ukazatelů včetně somatických kolifágů, které byly navrženy jako vhodné indikátory enterických virů. Vzhledem k tomu, že jsou somatické kolifágy ve své podstatě jednoduše detegovatelné kultivační metodou v poměrně krátkém časovém intervalu (do 18 h), je možné je používat jako biosenzorové organismy a zařadit je do rizikové analýzy provozované technologické linky. Pokud somatické kolifágy ve větších počtech procházejí skrze technologickou linku pro recyklaci vody, je možné předpokládat, že mohou procházet také další virové částice a tudíž nemusí být recyklovaná voda použitelná pro některé způsoby opětovného využití. Tato studie poukazuje na význam zařazení somatických kolifágů do monitoringu recyklovaných vod i z jiného hlediska, tím je dostatečné technologické uspořádání linky terciárního čištění neboli recyklace umožňující opětovné využití vycištěných odpadních vod.

Seznam zkratk

ČOV	čistírna odpadních vod
FIB	bakteriální indikátory fekálního znečištění, (faecal indicator bacteria)
GAU	granulované aktivní uhlí
KTJ	kolonie tvořící jednotky
MPN	nejpravděpodobnější počet, (most probable number)
PTJ	plaky tvořící jednotky

Publikace vznikla v rámci projektu TAČR TH03030080 „Recyklace odpadních vod pro využití ve vodním hospodářství měst budoucnosti“.

LITERATURA

- Ashbolt N. J., Grabow W. O., Snozzi M., v knize: *Water quality: Guidelines, standards and health*, kap. 13, str. 424. World Health Organization, IWA Publishing, Cornwall 2001.
- Jofre J., Lucena F., Blanch A. R.: *Water 13*, 1110 (2021).
- Guidelines for Drinking-Water Quality*, 4. vyd. World Health Organization, Geneva, Švýcarsko 2011.
- Vyhláška č. 252/2004 Sb., *vyhláška, kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody*. Sbírnka zákonů 2004, částka 82.
- Chacón L., Barrantes K., Santamaría-Ulloa C., Solano M., Reyes L., Taylor L., Valiente C., Symonds E. M., Achí R.: *Appl. Environ. Microbiol.* 86, e00616 (2020).
- Varbanov M., Bertrand I., Philippot S., Retourney C., Gardette M., Hartard C., Jeulin H., Duval R., Loret J.-F., Schvoerer E.: *Sci. Total Environ.* 797, 149112 (2021).
- Montazeri N., Goettert D., Achberger E. C., Johnson C. N., Prinyawiwatkul W., Janes M. E.: *Appl. Environ. Microbiol.* 81, 6436 (2015).
- Svraka S., Duizer E., Vennema H., de Bruin E., van der Veer B., Dorresteijn B., Koopmans M.: *J. Clin. Microbiol.* 45, 1389 (2007).
- Laine J., Huovinen E., Virtanen M., Snellman M., Lumio J., Ruutu P., Kujansuu E., Vuento R., Pitkänen T., Miettinen I.: *Epidemiol. Infect.* 139, 1105 (2011).
- Werber D., Laušević D., Mugoša B., Vratnica Z., Ivanović-Nikolić L., Žižić L., Alexandre-Bird A., Fiore L., Ruggeri F., Di Bartolo I.: *Epidemiol. Infect.* 137, 1713 (2009).
- Di Bartolo I., Pavoni E., Tofani S., Consoli M., Galuppini E., Losio M. N., Ruggeri F. M., Varisco G.: *New Microbiol.* 38, 109 (2015).
- Mellou K., Katsioulis A., Potamiti-Komi M., Pournaras S., Kyritsi M., Katsiaflaka A., Kallimani A., Kokkinos P., Petinaki E., Sideroglou T.: *Epidemiol. Infect.* 142, 40 (2014).

13. Lamy M.-C., Sanseverino I., Niegowska M., Lettieri T.: *Microbiological Parameters under the Drinking Water Directive*, 2020.
14. *Guidelines for Canadian drinking water. Quality guideline technical document: Copper*, Health Canada, Ottawa, Ontario 2019.
15. McMin B. R., Ashbolt N. J., Korajkic A.: *Lett. Appl. Microbiol.* **65**, 11 (2017).
16. Jofre J.: *J. Appl. Microbiol.* **106**, 1059 (2009).
17. Skrabber S., Gassilloud B., Gantzer C.: *Appl. Environ. Microbiol.* **70**, 3644 (2004).
18. Costán-Longares A., Montemayor M., Payan A., Mendez J., Jofre J., Mujeriego R., Lucena F.: *Water Res.* **42**, 4439 (2008).
19. De Sanctis M., Del Moro G., Chimienti S., Ritelli P., Levantesi C., Di Iaconi C.: *Sci. Total Environ.* **580**, 17 (2017).
20. De Luca G., Sacchetti R., Leoni E., Zanetti F.: *Bioresour. Technol.* **129**, 526 (2013).
21. Zhang K., Farahbakhsh K.: *Water Res.* **41**, 2816 (2007).
22. Yahya M., Hmaied F., Jebri S., Jofre J., Hamdi M.: *J. Appl. Microbiol.* **118**, 1217 (2015).
23. Akiba M., Senba H., Otagiri H., Prabhasankar V. P., Taniyasu S., Yamashita N., Lee K., Yamamoto T., Tsutsui T., Joshua D. I.: *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **115**, 203 (2015).
24. Rose J. B.: *Reduction of pathogens, indicator bacteria, and alternative indicators by wastewater treatment and reclamation processes*, IWA Publishing, 2005.
25. Mandilara G. D., Smeti E. M., Mavridou A. T., Lambiri M. P., Vatopoulos A. C., Rigas F. P.: *FEMS Microbiol. Lett.* **263**, 119 (2006).
26. ČSN EN ISO 10705-2: *Jakost vod – Průkaz přítomnosti a kvantitativní stanovení bakteriofágů – Část 2: Kvantitativní stanovení somatických kolifágů*. (2002)
27. ČSN EN ISO 9308-2 (757836): *Kvalita vod – Stanovení Escherichia coli a koliformních bakterií – Část 2: Metoda nejpravděpodobnějšího počtu*. (2014)
28. Gamage S., Gerrity D., Pisarenko A. N., Wert E. C., Snyder S. A.: *Ozone: Sci. Eng.* **35**, 501 (2013).
29. Guimarães J. R., Guadagnini R. A., Franco R. M. B., dos Santos L. U.: *J. Adv. Oxid. Technol.* **19**, 93 (2016).
30. Nasuhoglu D., Isazadeh S., Westlund P., Neamatallah S., Yargeau V.: *Chem. Eng. J.* **346**, 466 (2018).
31. Al-Jassim N., Ansari M. I., Harb M., Hong P.-Y.: *Water Res.* **73**, 277 (2015).
32. Sauter D., Stange C., Schumacher V., Tiehm A., Gnirss R., Wintgens T.: *Environ. Sci.: Water Res. Technol.* (2021).
33. Moulin L., Richard F., Stefania S., Goulet M., Gosselin S., Gonçalves A., Rocher V., Paffoni C., Dumètre A.: *Water Res.* **44**, 5222 (2010).
34. Leclerc H., Edberg S., Pierzo V., Delattre J.: *J. Appl. Microbiol.* **88**, 5 (2000).
35. Purnell S., Ebdon J., Buck A., Tupper M., Taylor H.: *Water Res.* **73**, 109 (2015).
36. Zanetti F., De Luca G., Sacchetti R.: *Bioresour. Technol.* **101**, 3768 (2010).
37. Farahbakhsh K., Smith D.: *Water Res.* **38**, 585 (2004).

J. Zuzáková^{a,b}, D. Janák^a, E. Vobecká^{a,b}, and J. Řihová Ambrožová^a (^aDepartment of Water Technology and Environmental Engineering, Faculty of Environmental Technology, University of Chemistry and Technology Prague, ^bPVK, a.s., Prague, Czech Republic): **Use of Somatic Coliphages in Biosensing of Hygiene Safety of Recycled Wastewater**

Outflows from secondary stages of conventional mechanical-biological wastewater treatment plants (WWTPs) still contain significant concentrations of faecal pollution indicators suggesting the potential presence of pathogenic organisms. The decrease in the concentration of somatic coliphages and bacterial indicators of faecal pollution during the technological stages (coagulation, sand filtration, membrane ultrafiltration, sorption on granular activated carbon, disinfection, accumulation) of a semi-operational plant designed for multi-stage tertiary treatment or rather recycling of treated wastewater was monitored and discussed. During the tertiary treatment, faecal bacteria indicators were better removed than somatic coliphages, hence the inclusion of somatic indicators among faecal pollution indicators in water quality control for reuse is entirely appropriate. Subsequent tertiary treatment, including disinfection, is essential for safe reuse of treated water.

Keywords: somatic coliphages, microbial contamination, wastewater, recycling

Acknowledgements

This work was supported by grant number TH03030080 entitled „The use of treated wastewater in water management of cities of the future“ from the Technology Agency of the Czech Republic (TACR).