



# Problematika stanovení a případného využití somatických kolifágů v hygieně vody



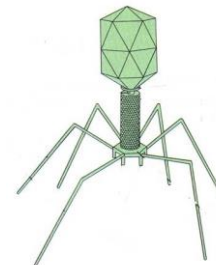
**Jana Říhová Ambrožová, Jana Zuzáková a Jana Kofroňová**

*Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, FTOP, Ústav technologie vody a prostředí, Technická 5, 166 28 Praha 6, e-mail: [jana.ambrozova@vscht.cz](mailto:jana.ambrozova@vscht.cz)*



# Úvod do problematiky

- **Běžný monitoring** v hygieně vody: koliformní bakterie, *Escherichia coli*, intestinální enterokoky a anaerobní klostridia.
- **Rizika v systému** zásobování vodou: pomocné mikroorganismy
  - Enteroviry;
  - Bakterie rodu *Campylobacter* (referenční enterické patogeny);
  - Bakterie druhu *Legionella pneumophila* (referenční patogen pro patogeny v distribuční síti);
  - **Bakteriofágy** (somatické kolifágy; indikátory fekálního znečištění, kontrola enterovirů).



# Bakteriofágy

---

- **Bakteriofágy** jsou nepatogenní viry - napadají bakteriální buňky (pomnožení uvnitř, destrukce buněk).
- Jsou klasifikovány do čeledí *Myoviridae*, *Siphoviridae*, *Podoviridae* a *Microviridae* a jsou vhodné pro operační monitoring.
- **Výhody v monitoringu:** stabilní ukazatel, snadná replikace, kultivace, levná detekce, jednoduchost provedení.
- Biosenzory pro detekci patogenů.
- Indikátor specifických bakteriálních a virových patogenů zejména v pitné vodě a alternativní biologickou metodou pro ověření stupně čištění odpadních vod na čistírnách (ČOV).
- Novou možnou metodou je využití bakteriofágů jako indikátorů enterovirů, vázané na jejich vzájemné podobnosti.
- Somatické kolifágy atakující receptory na buněčné stěně hostitele (např. *Escherichia coli*).

# Postup stanovení

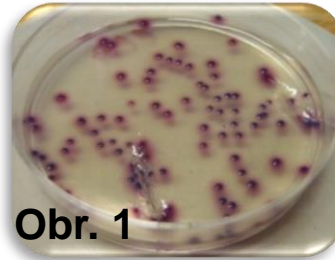
- Průkaz přítomnosti a kvantitativní stanovení somatických kolifágů dle **ČSN EN ISO 10705-2** (dvouvrstvá kultivace, základní Scholtensovo MSB médium, tuhé MSA a polotekuté ss MSA médium)

## I. Práce s kulturou hostitelského kmene *E. coli* CNCTC 5005

Oživení lyofilizovaného kmene



Kultivace na médiích s laktózou (obr. 1)



Odběr 5 až 10 kolonií kličkou a resuspendace v 25 ml MSB média

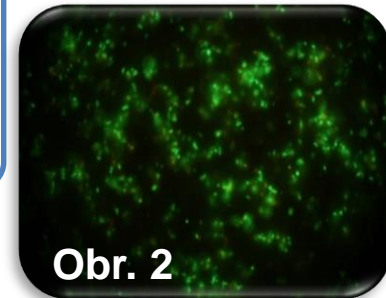
Pomnožení v lázni 3 až 5 h při 45 až 50 °C



Aplikace 5 ml glycerolu a 1,5 ml směsi do Eppendorf zkumavek



Zamražení/termostat – kontrola vitality (obr. 2)



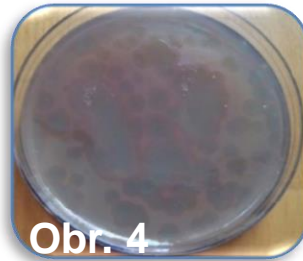
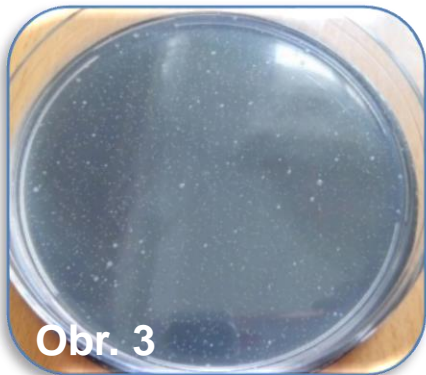
# Postup stanovení

## II. Práce se vzorkem vody

1 ml kultury,  
měření absorbance  
(obr. 3)

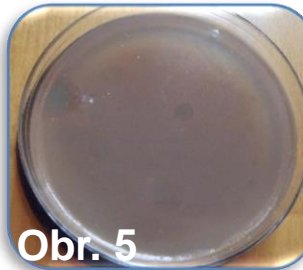


Čas (min)	Absorbance	KTJ/ml
0	0,75	2 800
30	0,16	6 300
60	0,02	22 300



Obr. 4

2,5 ml ssMSA média +  
1 ml vzorku +  
1 ml kultury



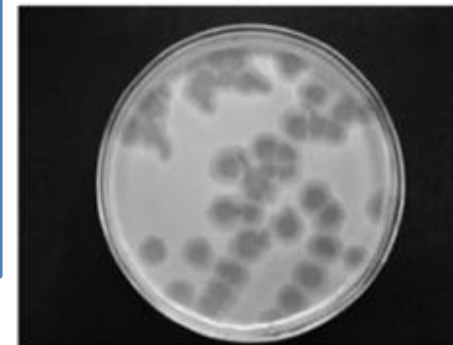
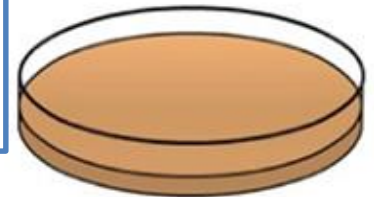
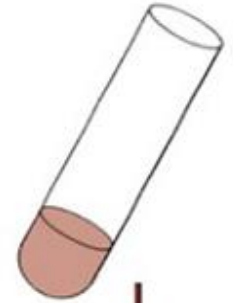
Obr. 5

Pevné MSA médium, po  
zatuhnutí kultivace  
18 h při 36 °C



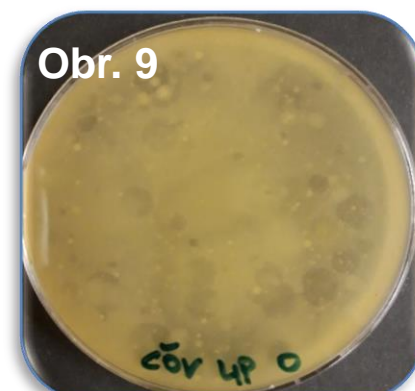
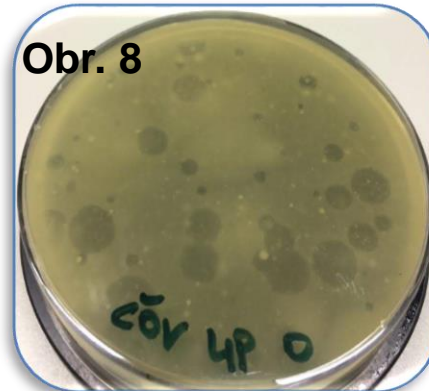
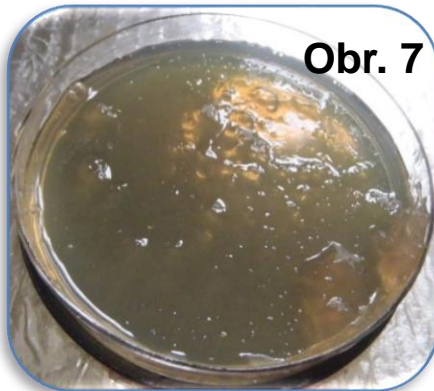
Obr. 6

Odečty PTJ  
(možnost aplikace  
TTC, nalidixové  
kyseliny)  
(obr. 4 a 5 – odtok z  
ČOV, použité TTC; obr.  
6 – přítok na ČOV, bez  
nalidixové kyseliny)



# Poznámky k metodě stanovení

- Kontrola vitality hostitelského kmene *E. coli* (velmi vhodné je m-FC, VRBG a VRBL), buňky je možné mikroskopicky hodnotit LIVE/DEAD kitem.
- Problematická příprava všech médií (při teplotě dané normou) – hrudky (viz obr. 7), rychlé tuhnutí, správná dávka agaru.
- Inkubace kmene při vyšší teplotě (až 45 °C).
- Postup aplikace vzorku, kmene a média.
- PTJ je zapotřebí odečíst po 18 h nikoli déle! (viz obr. 8 a 9)



# Závěry

---

## Výhody:

- jednoduchost a nízké náklady detekce;
- dobrá dostupnost činidel a médií; snadná replikace kolifágů v přítomnosti hostitele;
- stabilita v prostředí;
- dostupnost referenčních kultur;
- nepatogenní;
- použití metody pro „x“ matric;
- možnost uchování pracovní kultury po dobu 2 let;
- kvantitativní/kvalitativní stanovení.

## Nevýhody:

- modifikace normovaného postupu;
- nižší koncentrace v povrchových vodách;
- různé výsledky při použití oživeného kmene (média, lyofilizát).

## Potenciál metody:

- indikátory fekálního znečištění (*E. coli*, enteroviry);
- indikace nedostatečné úpravy vody nebo čištění odpadních vod;
- přítomnost i jiných, odolných a velikostně podobných organismů);
- vhodné pro operační monitoring.

# Děkuji za pozornost

*Poděkování: Financováno z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č.21-SVV/2019), IGA projekt 217881902.*