

Univerzita Hradec Králové
Přírodovědecká fakulta
Katedra biologie

**Monitoring jakosti povrchové vody před a za ČOV Hradec
Králové**

Bakalářská práce

Autor: Markéta Halamová

Studijní program: B0511A030001 - Biologie a ekologie

Studijní obor: Biologie a ekologie

Vedoucí práce: RNDr. Jakub Toman Ph.D.

Odborný konzultant: RNDr. Václav Koza, Povodí Labe, státní podnik

Hradec Králové

2024

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že jsem v seznamu použité literatury uvedla všechny prameny, ze kterých jsem vycházela.

V Hradci Králové dne

.....

Markéta Halamová

Poděkování:

Ráda bych poděkovala svému vedoucímu bakalářské práce RNDr. Jakubu Tomanovi, Ph.D., za odborné vedení a pomoc při vypracování této práce. Dále bych chtěla poděkovat svému odbornému konzultantovi RNDr. Václavu Kozovi za cenné rady, podporu a vstřícné jednání. Stejně tak děkuji Ivě Havránkové za podporu a za přátelskou atmosféru v mikrobiologické laboratoři. Děkuji státnímu podniku Povodí Labe a jeho vedení za možnost využívat mikrobiologickou laboratoř za účelem vypracování této bakalářské práce. Velké poděkování patří také mé rodině a příteli za neustálou podporu a trpělivost.

Anotace

Halamová, M. *Monitoring a mikrobiologický rozbor povrchové vody před a za ČOV Hradec Králové*. Hradec Králové, 2024.

Bakalářská práce na Přírodovědecké fakultě Univerzity Hradec Králové. Vedoucí bakalářské práce Jakub Toman. 77 s.

Práce je zaměřená na monitoring a mikrobiologický rozbor povrchové vody před a za ČOV Hradec Králové. Vzorky byly odebírány v pravidelných intervalech na dvou lokalitách před ČOV Hradec Králové a na jedné lokalitě za ní. Zároveň byla odebírána i samotná vyčištěná odpadní voda v odtokovém kanálu před vtokem do recipientu Labe. Cílem práce je zjištění kvality vody podle zvolených metod, porovnání výsledků mikrobiologie odebraných vzorků vody a následné zhodnocení vlivu odpadních vod na jakost vody v recipientu. Důraz byl kladen i na zjišťované faktory jako teplota vody a průtok. Výsledky mikrobiologických stanovení jsou v diskuzi porovnány s historickými daty poskytnutými Povodím Labe.

Klíčová slova

Čistírna odpadních vod, znečištění povrchových vod, změna klimatu, Endo agar, metoda přímého výsevu, koliformní bakterie, *Escherichia coli*

Annotation

Halamová, M. *Monitoring and microbiological analysis of surface water before and after the Hradec Králové WWTP*. Hradec Králové, 2024.

Bachelor Thesis at Faculty of Science University of Hradec Králové. Thesis Supervisor Jakub Toman. 77 p.

The bachelor thesis is focused on monitoring and microbiological analysis of surface water before and after the Hradec Králové WWTP. Samples were taken at regular intervals at two locations before the Hradec Králové WWTP and at one location and after it. At the same time, the cleaned wastewater itself was sampled in the outflow channel before entering the Elbe river. The aim of the work is to determine the water quality according to the selected methods, to compare the results of microbiology of the collected water samples and then to analyse the influence of the wastewater on the water quality in the recipient. The results of the microbiological determinations are compared in the discussion with historical data provided by the Elbe River Basin.

Key words

Wastewater treatment plant, surface water pollution, climate change, Endo agar, direct plating method, coliform bacteria, *Escherichia coli*

Obsah

Úvod.....	10
1 Teoretická část.....	11
1.1 Voda a její typy	11
1.2 Vodní zákon	12
1.3 Jakost vod dle ČSN 75 7221	13
1.4 Mikroorganismy ve vodním prostředí	14
1.5 Znečištění vod.....	15
1.6 Funkce bakterií v procesu samočištění vod	16
1.7 Charakteristika vybraných ukazatelů jakosti vod a jejich vliv na znečištění	18
1.7.1 Vliv teploty na mikrobiální znečištění	18
1.7.2 Vliv průtoku na mikrobiální znečištění.....	19
1.8 Čištění odpadních vod a mikroorganismy	22
1.9 Využití toku jako recipientu.....	26
1.10 Vliv odpadních vod na mikrobiální znečištění	27
1.11 Čistírna odpadních vod Hradec Králové.....	28
1.12 Indikátory fekálního znečištění povrchových vod.....	31
1.12.1 Koliformní bakterie.....	31
1.12.2 Termotolerantní koliformní bakterie.....	32
1.12.3 <i>Escherichia coli</i>	33
1.13 Metody detekce koliformních bakterií a <i>E. coli</i>	37
1.13.1 Odběr vzorků povrchové vody.....	37
1.13.2 Kultivační metody.....	38
2 Praktická část	40
2.1 Materiál	40
2.1.1 Chemikálie a spotřební materiál	40
2.1.2 Roztoky	40

2.1.3	Přístroje a pomocná zařízení	40
2.1.4	Použité programy a software.....	41
2.2	Metodika	41
2.2.1	Charakteristika odběrových míst	41
2.2.2	Odběr a přeprava vzorků.....	43
2.2.3	Příprava Endo agaru.....	43
2.2.4	Metoda přímého výsevu.....	43
2.2.5	Vyhodnocení.....	44
2.2.6	Cytochromoxidásový test.....	45
2.2.7	Dekontaminace.....	45
3	Výsledky	47
3.1	Teplota vody.....	47
3.2	Mikrobiologické ukazatele	47
3.2.1	HK Labe – Náplavka.....	49
3.2.2	Opatovice – břeh Vysoká nad Labem.....	50
3.2.3	Výtok ČOV HK	51
3.2.4	Orlice Nepasice	52
4	Diskuze	53
	Historická data	55
	Závěr	59

Terminologický slovník

Aerobní	proces nebo prostředí s přístupem dostatečného množství kyslíku; organismus vyžadující ke svému životu kyslík
Alochtonní	pocházející z jiného prostředí, nepůvodní danému místu
Anaerobní	proces nebo prostředí bez přítomnosti kyslíku, synonymum anoxní; organismus nevyžadující ke svému životu kyslík
Autochtonní	pocházející z daného prostředí, původní danému místu
Biofilm	společenství většího množství mikrobiálních buněk přichycených k sobě navzájem
Biotop	společné prostředí organismů žijících na určitém území, a také všech vlivů, které na toto prostředí působí; synonymum habitat
Disipace	rozptýlení, nevratná přeměna např. části celkové energie v jiné druhy energie, zejména teplo
Diverzita	rozmanitost
Ekosystém	soubor všech živých organismů žijících v určitém prostředí tvořící s tímto prostředím, s jeho neživými složkami, určitý vymezený celek
Eukaryota	doména jednobuněčných a mnohobuněčných organismů mající pravé jádro
Heterotrofní	odkázaný svojí výživou na organické látky vytvořené jinými organismy
Koagulace	proces srážení, shlukování rozptýlených částic
Metaloid	nekovový prvek, který má některé vlastnosti kovů
Nutrienty	živiny
Patogenní	vyvolávající chorobu
Prokaryota	jednoduché jednobuněčné organismy, které nemají pravé jádro
Recipient	příjemce; nádrž nebo vodní tok odvádějící v povodí povrchovou vodu, vodu z přítoků a odpadní vody
Resuspendované	znovu rozvířené, uvolněné do prostředí
Rezervoár	nádrž, zásobník

Seznam zkratek

ČOV	čistírna odpadních vod
ČOV HK	čistírna odpadních vod Hradec Králové
HK	Hradec Králové
CTO	cytochromoxidáza
KTJ	kolonie tvořící jednotky
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EHEC	enterohemoragická <i>E. coli</i>
HUS	hemolyticko-uremický syndrom

Úvod

Znečišťování povrchových a podzemních vod je pro naši společnost velkým problémem. Zdroje pitné sladkovodní vody pomalu ubývají a s klimatickými změnami se tyto stavy zhoršují. Silně znečištěná voda se ale nedá použít jako zdroj pitné vody, a často je kvalita vody dost na hraně. Konzumace kontaminované vody může lidem způsobit různé zdravotní problémy, proto je důležité sledování její kvality podle fyzikálně-chemických, organoleptických a mikrobiologických ukazatelů. Mikrobiologická kontrola pitné vody by měla být normou v každé zemi.

Již od 60. let minulého století jsou v České republice stanovení a hodnocení mikrobiologických ukazatelů součástí pravidelného monitoringu kvality vod (Baudišová *et Mlejnková*, 2017). Při kontrole hygienické nezávadnosti vody mají indikátory fekálního znečištění prioritní význam. Nepřítomnost těchto indikátorů poukazuje na to, že voda nebyla fekálně znečištěna, tudíž se neočekává ani přítomnost patogenních střevních mikroorganismů. Kontaminace vody patogeny a s tím související nemoci představují jeden z hlavních problémů pro téměř všechny typy vody na celém světě (Rulík *et al.*, 2013; Pandey *et al.*, 2014). Většina epidemií z vodního prostředí souvisí s přivalovými dešti po dlouhém období sucha spojovaných se zhoršujícími se klimatickými změnami (Baudišová *et al.*, 2012).

Tato práce se zabývá monitoringem znečištění povrchové vody a následným mikrobiologickým rozborem. Konkrétně zjištěním obsahu bakterií *Escherichia coli* a koliformních bakterií v 1 ml odebraného vzorku ze všech 4 zvolených odběrových profilů. Jako kultivační metoda byla použita metoda přímého výsevu na Endo agar. Zjišťován byl také vliv na znečištění toku Labe přečištěnými odpadními vodami z čistírny odpadních vod Hradec Králové (ČOV HK), které jsou vypouštěny do recipientu Labe. Mezi cíle práce patří posouzení účinnosti čištění ČOV HK a zda má výtok odpadních vod vliv na mikrobiální znečištění řeky Labe. Dále byl posouzen vliv různých průtoků a teplot na mikrobiální znečištění toku řeky Labe a Orlice.

1 Teoretická část

1.1 Voda a její typy

Zákon 254/2001 Sb., Zákon o vodách a o změně některých zákonů (vodní zákon), rozděluje vody na dva základní typy, a to vodu povrchovou a podzemní.

Dále lze rozčleňovat vodu dle původu, výskytu a použití. Dle původu lze dělit vody na přírodní a odpadní. Odpadní vody se ještě dělí na tři hlavní skupiny, a to vody splaškové, průmyslové a městské. Dle výskytu lze členit vody na atmosférické, povrchové a podzemní a dle využití na vody pitné, užitkové, odpadní a provozní (Ambrožová, 2003; Pitter, 2009).

Atmosférickou vodou se rozumí veškerá voda obsažená v ovzduší nehledě na její skupenský stav. Voda, která padá k zemi se označuje jako atmosférické srážky. Rozeznáváme srážky kapalně jako např. déšť a tuhé srážky (sníh, kroupy atd.) (Sýkora *et al.*, 2016).

Podzemní vody jsou charakterizovány jako vody, které se vyskytují pod zemským povrchem v zemských dutinách a vrstvách. Do tohoto typu vod se zařazují podzemní a jeskynní jezírka, dále podzemní toky, skalní a půdní vody. Za podzemní vodu je považována i voda, která protéká drenážními systémy a voda vyskytující se ve studnách a vrtech (Ambrožová, 2003; Sýkora *et al.*, 2016).

Povrchová voda je ta voda, které se přirozeně vyskytuje na zemském povrchu. Lze ji rozdělit na vodu kontinentální a mořskou. Přičemž kontinentální vody mohou být dále rozděleny na vody tekoucí (prameny, studánky, horní a dolní toky řek, potoky, střední toky řek) a stojaté (jezera, rybníky, drobné vody, tůňky a rašeliniště). Povrchové vody se vyznačují velkou dynamikou prostředí a změnami v průběhu času. Slouží jako zdroj pitné vody, užitkové a rekreační nebo i pro chov ryb (Ambrožová, 2003; Sýkora *et al.*, 2016).

Pro klasifikaci vody jako pitné, musí voda splňovat hygienické požadavky na zdravotní nezávadnost a čistotu. To bývá označováno jako jakost pitné vody. Požadavky na jakost pitné vody jsou stanoveny legislativou a hygienickými limity (Sýkora *et al.*, 2016).

Užitková voda není určena ke konzumaci, i když se jedná o hygienicky nezávadnou vodu. Nicméně kritéria pro tuto vodu mohou být méně přísná (Sýkora *et al.*, 2016).

Odpadní vody pocházejí z obytných budov a domácností, zemědělských, zdravotnických, průmyslových a jiných staveb, kde byly použity a čímž se změnila jejich jakost. Do této skupiny řadíme dešťovou vodu, která byla po spadnutí na zemský povrch znečištěna. U odpadních vod se rozlišují tři základní podskupiny, a to vody průmyslové, městské a splaškové. Průmyslové odpadní vody jsou vody, které byly znečištěny vlivem výrobního procesu a řadí se k nim i vody ze zemědělství a chovů. Jako městské odpadní vody je stanovena směs průmyslové a splaškové vody, případně i dešťové vody, které jsou vedeny městskou kanalizací. Mezi splaškové odpadní vody patří odpadní vody z domácností, ze zdravotních a hygienických zařízení, ubytovacích a stravovacích zařízení atd. (Pongmala *et al.*, 2015; Sýkora *et al.*, 2016).

1.2 Vodní zákon

Vodní zákon č. 254/2001 Sb. se zabývá ochranou vod, stanovuje správu vodních toků správci toků, jejich odběry, zabezpečuje rovnováhu mezi spotřebou a kapacitou vod, ochranou před možnými povodněmi, péčí o čistotu a využití vod (Ambrožová, 2003; Datel, 2017).

„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“ (Nařízení vlády č. 401/2015 Sb.).

„Toto nařízení

a) v souladu s právem Evropské unie stanoví

- 1. ukazatele vyjadřující stav povrchové vody,*
- 2. ukazatele a hodnoty přípustného znečištění povrchových vod,*
- 3. ukazatele a hodnoty přípustného znečištění odpadních vod,*
- 4. ukazatele a hodnoty přípustného znečištění odpadních vod pro citlivé oblasti a pro vypouštění odpadních vod do povrchových vod ovlivňujících kvalitu vody v citlivých oblastech,*
- 5. ukazatele a hodnoty přípustného znečištění pro zdroje povrchových vod, které jsou využívány nebo u kterých se předpokládá jejich využití jako zdroje pitné vody,*

6. ukazatele a hodnoty přípustného znečištění povrchových vod, které jsou vhodné pro život a reprodukci původních druhů ryb a dalších vodních živočichů,
 7. ukazatele a hodnoty přípustného znečištění povrchových vod, které jsou využívány ke koupání,
 8. normy environmentální kvality pro prioritní látky a některé další znečišťující látky,
 9. náležitosti a podmínky povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových a kanalizace,
 10. seznam prioritních látek a prioritních nebezpečných látek,
 11. nejlepší dostupné technologie v oblasti zneškodňování městských odpadních vod a podmínky jejich použití,
- b) v souladu s právem Evropské unie vymezuje citlivé oblasti“** (Nařízení vlády č. 401/2015 Sb., § 1).

Ministerstvo zemědělství stanovilo vyhláškou č. 470/2001 Sb. seznam významných vodních toků a jejich správce, dále i způsoby provádění činností, které souvisejí se správou toků. Co se týče Královehradeckého kraje správu významného vodního toku, řeky Labe, má na starost státní podnik Povodí Labe. Vzorky vody jsou odebírány na sledovaných profilech provozního monitoringu a vyhodnocení výsledků je prováděno odborem péče o vodní zdroje (Datel, 2017; Skalická *et* Zapletal, 2023).

Vodní zákon dále povoluje vypouštění odpadních vod do vod povrchových na základě povolení vodoprávního úřadu dle § 8 odst. 1 písm. c) vodního zákona a stanovuje podmínky pro vypouštění. V Královehradeckém kraji nejvíce přečištěných odpadních vod vypouští do recipientu ČOV HK, dále ČOV Trutnov a ČOV Náchod (Datel, 2017).

1.3 Jakost vod dle ČSN 75 7221

Sledování a hodnocení jakosti vod v tocích se řídí dle ČSN 75 7221 “*Kvalita vod – Klasifikace jakosti povrchových vod.*” Tato norma rozděluje tekoucí povrchové vody do 5 základních tříd dle míry znečištění a to na:

- I. Neznečištěná voda
- II. Mírně znečištěná voda
- III. Znečištěná voda
- IV. Silně znečištěná voda
- V. Velmi silně znečištěná voda

„První norma, která se zabývala touto problematikou, byla ČSN 83 0602 z 23. 6. 1965. Norma obsahovala celkem 25 ukazatelů (ukazatele kyslíkového režimu, ukazatele základního chemického složení, zvláštní ukazatele a ukazatele mikrobiálního znečištění)“ (ČSN 75 7221, 2017).

„Norma pro klasifikaci kvality povrchových vod byla pravidelně revidována a v souvislosti s výskytem nových znečišťujících látek v životním prostředí byly do normy doplňovány další ukazatele kvality vody“ (ČSN 75 7221, 2017).

Díky této normě je možné porovnat jakost tekoucích povrchových vod v různých časech na různých místech. Monitoring je nutné dělat minimálně jeden rok, pokud je výsledků méně než 11, nelze klasifikovat povrchovou vodu dle této normy. Voda se klasifikuje pro každý ukazatel zvlášť. Mezi ukazatele patří obecné fyzikální a chemické ukazatele, specifické organické ukazatele, kovy a metaloidy, mikrobiologické a biologické ukazatele a také radiologické ukazatele (Adámek *et al.*, 2008).

1.4 Mikroorganismy ve vodním prostředí

Mikroorganismus se definuje jako jednobuněčný, pouze mikroskopicky pozorovatelný organismus, který často vytváří různé shluky a kolonie, případně i symbiotická společenstva s jinými organismy (Baudišová, 2017).

Co se týče mikrobiální diverzity pevninských vod, v biotopech, které nejsou extrémní, tvoří bakterie více než 90 % všech vyskytujících se mikroorganismů. Mikroorganismy vytváří ve vodě rozmanité, druhově i početně velmi bohatá společenstva, které lze rozdělit na původní (autochtonní), a na druhy pro které voda není přirozeným prostředím (alochtonní). Alochtonní druhy se do vody dostaly z okolního prostředí, například splachem či znečištěním. Autochtonní společenstvo tvoří převážnou většinu přítomných mikroorganismů a podílí se na mnoha procesech v ekosystému, hlavně na koloběhu uhlíku, fosforu, dusíku a dalších důležitých živin a mikroelementů. Pokud jde o kvalitu vody a její úpravy, je stále věnována pozornost především druhům alochtonním, které výrazně zhoršují kvalitu vody svým namnožením a druhům patogenním, které znamenají pro člověka vysoké zdravotní riziko (Baudišová, 2017; Rulík *et al.*, 2013).

Mezi mikroorganismy nezahrnujeme pouze prokaryotní organismy (domény *Bacteria*, *Archea*), ale i eukaryota (mikromycety, prvoci), dále i viry, které klasifikujeme

jako nebuněčné organismy. Sinice a mikroskopické řasy díky jejich charakteru také patří mezi mikroorganismy. Prokaryota z domény *Archea* jsou běžnou součástí mikroflóry vodního prostředí, tvoří kolem 10 % všech prokaryotních buněk a v podzemní vodě i mnohonásobně více (Baudišová, 2017; Rulík *et al.*, 2013).

Analýzami bylo zjištěno, že většina bakteriálních sekvencí, které byly získány z habitatů sladkých vod jsou příbuzné jiným sladkovodním klonům, oproti tomu bylo málo sekvencí podobných sekvencím z půdy anebo mořského prostředí. Z čehož byla vyvozena domněnka, že většina bakterií, které obývají sladkovodní habitaty jsou vlastně původní tomuto prostředí (Rulík *et al.*, 2013).

Do skupiny hygienicky významných bakterií kultivovatelných na běžných médiích, které obsahují jako komplexní zdroj živin různé druhy natrávených bílkovin, patří i indikátorové bakterie. Nejvýznamnější skupinou jsou indikátory fekálního znečištění, které mohou poukazovat na výskyt střevních patogenů (Baudišová, 2017).

1.5 Znečištění vod

Jedním z velkých problémů současné doby je znečišťování životního prostředí. Znečištění vede i k trvalému znehodnocení podzemních vod, které poté není možné využívat jako zdroje nezávadné pitné vody. Vzhledem ke zvyšujícím se nárokům lidské společnosti na spotřebu pitné vody se k těmto účelům upravuje voda povrchová, jejíž kvalita je často na hranici použitelnosti, s čímž souvisí požadavky na přísnější kontrolu jakosti pitné vody a její hygienickou nezávadnost. Z tohoto důvodu jsou mikrobiologická stanovení nutnou součástí rozborů vody (Häusler, 1994).

V České republice má sledování mikrobiálního znečištění dlouholetou tradici. Od 60. let minulého století jsou stanovení a hodnocení mikrobiologických ukazatelů součástí pravidelného monitoringu kvality vod. Mikrobiální znečištění povrchových vod je založeno na sledování míry fekálního znečištění a výskytu střevních patogenů pomocí vhodných indikátorových bakterií, jako je například *E. coli*, fekální koliformní bakterie a intestinální enterokoky (Baudišová *et Mlejnková*, 2017).

Zdroje znečištění lze charakterizovat a rozčleňovat dle mnoha kritérií, rozdělení není v literatuře zcela jednotné. Jedno z rozdělení je dle původu na přírodní a antropogenní a dle prostorové povahy na zdroje plošné, liniové a bodové. Mezi bodové zdroje patří vypustě odpadních vod, průmyslových a dalších provozů, které znečištěnou

vodu vypouští do recipientu z místa soustředěného vypouštění. Jako plošné zdroje lze charakterizovat povrchové splachy a smyvy z povodí, do difúzních rozptýlené menší bodové zdroje jako například netěsné kanalizační potrubí či septiky a výkaly volně žijících živočichů. Jakmile jsou bodové a nebodové zdroje patogenů vypuštěny do recipientů, největší vliv na míru jejich úmrtnosti má teplota, sluneční záření a doba usazování (Langhammer, 2002; Kim *et al.*, 2010; Pandey *et al.*, 2014; Devane *et al.*, 2020).

Do přírodního organického znečištění se řadí výluhy z půd či sedimentů, produkty rostlin, živočichů a mikroorganismů jako jsou i bakterie. Tyto látky jsou především biogenního původu. Látky organické mají ve vodách autochtonní (vznikají přímo na daném místě) anebo alochtonní původ (pocházejí z jiného prostředí a do vody byly transportovány nebo spláchnuty). Antropogenní organické látky mají původ z lidské činnosti, jedná se například o vody splaškové a průmyslové, zemědělské, skládkové atd. (Pitter, 2015).

Zdrojem fekální kontaminace jsou hlavně nedostatečně čištěné odpadní vody, čímž se tedy jedná o bodové zdroje znečištění. Dále se na fekálním znečištění do určité míry podílejí i prosakující septiky, špatně těsnící kanalizační potrubí či kanalizace, která je rozvodněná (Pongmala *et al.*, 2015; Baudišová *et al.*, 2017).

Biofilmy v povrchových vodách obsahují převážně alochtonní mikroorganismy. S těmito biofilmy mohou interagovat bakterie fekálního znečištění. Přítomnost fekálních indikátorových mikroorganismů může naznačovat i přítomnost střevních patogenů. Nadloží voda obsahuje zhruba o dva řády menší koncentraci celkových koliformních bakterií, *E. coli* a enterokoků ve srovnání s biofilmy. Fekální indikátorové bakterie mohou přežívat za současné přítomnosti autochtonní mikroflóry v biofilmech a sedimentech. Zároveň tyto biofilmy mohou fungovat jako rezervoár bakteriálních patogenů ve znečištěných řekách. Přestože biofilmy obsahují významné počty fekálních bakterií, v celkovém počtu buněk ale představují pouze menší část z celkových biofilmových společenstev (Balzer *et al.*, 2010).

1.6 Funkce bakterií v procesu samočištění vod

Povrchové vody mají samočistící schopnost, díky které se mohou zbavovat cizorodých znečišťujících látek, a to jak alochtonního, tak autochtonního původu. Samočištění představuje složitý soubor vzájemně provázaných procesů povahy fyzikální,

biologické a chemické. Co se týče biologické degradace organických látek, je úzce spjata s fyzikálními a chemickými procesy. „Mezi nimi se na samočištění nejvíce podílí sedimentace, která odráží celou řadu jednodušších fyzikálních charakteristik, jako je rychlost toku nebo proudění, velikost a hustota suspendovaných částic, ale také jejich stabilita, tj. tendence těchto částic ke koagulaci, nebo naopak k rozpadu“ (Mlejnková, 2000).

Samočistící procesy mohou být schopné pod výtokem odpadních vod rozložit biologické znečištění organického původu. Vlivem přísunu znečištění se tato schopnost samočištění a biologická rovnováha ovšem narušuje (Sýkora *et al.*, 2016).

Kyslík je hlavním limitujícím faktorem pro biologický rozklad organických látek. Dle obsahu kyslíku rozdělujeme degradační procesy organických látek na aerobní a anaerobní procesy. Za aerobních podmínek je degradace účinnější, jelikož je energeticky výhodnější a konečnými produkty metabolismu uhlíkatých sloučenin je voda a oxid uhličitý. Oproti tomu v anaerobních podmínkách jsou rozkladné procesy pomalejší a konečnými produkty jsou soli organických kyselin, sirovodík, metan, oxid uhličitý a amoniak (Mlejnková, 2000).

V ekosystému toku jsou rozkladné aktivity úzce spjaty s biomasou aktivních heterotrofních mikroorganismů, a dle Mlejnkové (2000) je lze rozdělit do třech forem.

- 1) Biomasa driftující ve vodě, jejíž stav určuje okamžitá situace na úseku toku nad daným profilem. Výrazný vliv má například kolísání průtoku, ale změny se projevují v podélném profilu pomalu.
- 2) Biomasa v sedimentech indikuje stav znečištění na profilu lépe, hlavně v delším časovém období. Při změně průtoku sedimenty postupují po proudu, tudíž jejich stabilita není konstantní na daném profilu.
- 3) Biomasa v nárostech na pevných podkladech, se vyznačuje relativně pevnou fixací. Tento biofilm se stále obnovuje a jejich částice se uvolňují do driftující složky. Tímto se udržuje stálá tloušťka biofilmu, která je nezávislá na okamžitých výkyvech a odpovídá poměrům daného profilu.

Jak uvádí Mlejnková (2000), z výzkumů vyplývá, že heterotrofní bakterie v sedimentech a nárostech toku mají pro samočistící procesy velký význam. Aktivita těchto bakterií mnohem lépe odráží stupeň znečištění než aktivita bakterií v driftující

složce. Tato přisedlá složka také poskytuje více informací o specifitě podmínek na dané lokalitě, jelikož má více času na adaptaci nežli driftující složka.

Samočistící procesy zprostředkované bakteriemi, se často využívají za účelem čištění vod v klasických biologických a kořenových čistírnách (Mlejnková, 2000).

Vypouštěné odpadní vody z ČOV se v recipientu naředí a dále v toku probíhá samočištění, tedy degradační procesy, které vedou k poklesu polutantů. Některé složky odpadních vod jsou rozloženy až na plynný CO₂ nebo N₂, některé těkavé látky se uvolní do atmosféry. V sedimentech, biomase či biofilmech jsou imobilizovány rezistentní organické polutanty a kovy (Fuksa, 2007).

1.7 Charakteristika vybraných ukazatelů jakosti vod a jejich vliv na znečištění

Z ukazatelů jakosti vod byl vybrán a dále charakterizován teplotní ukazatel a průtok, jelikož jsou pro tuto práci relevantní.

1.7.1 Vliv teploty na mikrobiální znečištění

Teplota vody se mění v závislosti se sezónními a denními změnami, mírou slunečního záření, které ohřívá hladinu. Dle Langhammera (2002) je rozpětí teplot vody od 0 °C až po vysoké teploty, které mohou přesahovat 30 °C. Dlouhodobý roční průměr teploty vody se pohybuje od 5,6 °C do 17,3 °C.

Co se týče vlivu teploty na jakost povrchové vody, nejvíce teplota ovlivňuje biochemické procesy a kyslíkový režim toku a tím i vodní organismy. Tím, jak se teplota vody v toku zvyšuje, tím se snižuje obsah rozpuštěného kyslíku. Pokud se teplota sníží pod 5 °C, biochemické procesy začnou probíhat pomaleji. Výrazné tepelné znečištění z bodových zdrojů znečištění může vyvolat kyslíkový deficit, na který jsou citlivé organismy žijící ve vodě. O tepelném znečištění lze hovořit při vypouštění odpadních oteplených vod do recipientu. Dále teplota vody významně ovlivňuje i samočistící schopnost vodního toku (Langhammer, 2002; Sýkora *et al.*, 2016).

„Teplotní znečištění bývá problematické zejména na malých tocích, kde vypusti odpadních vod z průmyslu mohou výrazným způsobem ovlivnit tepelné poměry toku. Podle imisních limitů nařízení vlády 82/1999 je u vodárenských toků maximální přípustná teplota 20 °C, u ostatních toků pak 26 °C“ (Langhammer, 2002).

1.7.2 Vliv průtoku na mikrobiální znečištění

Výsledky mikrobiologických stanovení mohou být ve velké míře ovlivněny změnami průtoků. Jedná se o řádové až několika řádové zvýšení počtu se zvýšením průtoku. Letní přívalové deště mají na zhoršení stavu mnohem větší vliv než jarní tání, zejména po období delšího sucha. Na zhoršení stavu se podílí splach z okolí, odlehčovací výpustě ČOV a nedostatečně vyčištěná odpadní voda. Největší vliv mají ale resuspendované sedimenty s jejich rezervoárem velkého množství hygienicky významných mikroorganismů (Pachepsky *et* Shelton, 2011; Pongmala *et al.*, 2015; Baudišová *et* Mlejnková, 2017).

Oba klimatické jevy jako je sucho a přívalové deště představují problém pro udržení dobré mikrobiální jakosti povrchových vod. V období dlouhého sucha je nízký průtok a nedochází tak k dostatečnému naředění přečištěných odpadních vod vypouštěných do recipientu, naopak dochází ke zvyšování jejich koncentrace. Na druhou stranu přívalové deště zatíží vodní tok natolik, že ČOV jej kapacitně nezvládnou přečistit a prakticky nečištěná odpadní voda se odlehčovacími kanály dostává přímo do recipientu. Nicméně silné srážky zvyšují objem průtoku a navzdory zvýšení čistého objemu kontaminantů může být koncentrace *E. coli* zředěna. Oba tyto procesy společně ovlivňují koncentrace *E. coli* v tocích (Kraay *et al.*, 2000; Nichols *et al.*, 2009; Mlejnková *et al.*, 2023; Li *et al.*, 2023).

Do budoucna bude nutné přijmout přísnější opatření, která budou chránit řeky před vypouštěním odpadních vod jako důsledku nepříznivého počasí, jelikož je pravděpodobně hlavním důvodem fekální kontaminace (Amirat *et al.*, 2012). Koncentrace *E. coli* je v městské vodě ovlivněna srážkami a vypouštěním odpadních vod. Silné srážky nebo tání sněhu zaplaví městský kanalizační systém a v nečištěných odpadních vodách je vypouštěna přímo do vodních toků (Jallifier-Verne, 2017). Dalším důsledkem srážek je eroze půdy a vyšší zákal ve vodě, což podporuje přichycení *E. coli* k částicím a sedimentům. *E. coli* vázaná na sediment může přežívat pod vodou po významnou dobu a může být remobilizována během srážkových událostí (Chen *et* Chang, 2014). V suchých obdobích má půda nižší filtrační účinek, což by mohlo zvyšovat koncentraci patogenů během odtokových událostí (Nichols *et al.*, 2009). Předpokládá se, že i další vodní patogeny mohou být podobně ovlivněny změnou klimatu (Jallifier-Verne, 2017).

Transport a přežití *E. coli* je značně ovlivněn místními klimatickými proměnnými, konkrétně srážkami, teplotou a způsobem vypouštění odpadních vod (Li *et al.*, 2023). V teplém a vlhkém období se koncentrace *E. coli* v povrchové vodě zvyšují v důsledku vysokých teplot a zvýšeného odtoku dešťové vody (McKergow *et Davies-Colley*, 2010). Na rozdíl od zemědělské kontaminace *E. coli* způsobené hnojením je rozšíření splaškové *E. coli* v městských tocích více řízena přirozenými srážkami (Rochelle-Newall *et al.*, 2016).

Dlouhodobý nárůst srážek vyvolaný změnou klimatu bude pravděpodobně neustále zhoršovat problémy s *E. coli* v městských vodních systémech (Li *et al.*, 2023).

Vypouštění čištěných odpadních vod do recipientů činí v mnoha případech významný podíl na celkovém průtoku recipientu, a to hlavně v období dlouhodobého sucha, kdy se dostává až nad 25 % průtoku v recipientu. Což pro tok znamená vážné zhoršení jakosti a zatížení říčního ekosystému (Fuksa, 2020).

Shodně referuje i Datel (2017), že vypouštění odpadních vod z bodových zdrojů má negativní vliv na jakost vodních ekosystémů v období sucha. Za sucha dojde k významnému snížení průtoků v tocích a dochází tak k nízkému naředění vypouštěného znečištění. Toxickou zátěží pro vodní organismy, především pro ryby, je kombinace zvýšené koncentrace amoniakálního dusíku za současného zvýšení teploty a pH. Růst vodního květu sinic podporuje fosfor z vypouštěných odpadních vod za současného nízkého průtoku a vyšších teplot vody.

Ve studii Baudišové *et al.* (2012), kde bylo zkoumáno šest profilů na toku Olešky a šest hlavních přítoků a odtoků dvou ČOV za účelem zjištění případných změn mikrobiální kontaminace vlivem zvýšeného průtoku, bylo potvrzeno významné zvýšení kontaminace se zvýšeným průtokem. Obě sledované ČOV dle autorky za běžných podmínek dosahují dobré účinnosti čištění odpadní vody, ale během přívalových dešťů nebo jarního tání fungují odlehčovací komory, které odvádějí víceméně nečištěnou odpadní vodu přímo do recipientu. Autorka dále poukazuje na důležitost tohoto tématu, hlavně ve spojitosti s klimatickými změnami, konkrétně výraznějšího střídání suchého období s přívalovými dešti, jelikož většina popsaných epidemií z vodního prostředí souvisí s přívalovými dešti po dlouhém období sucha. Maximální hodnoty byly zjištěny hlavně v období letních přívalových dešťů. Autorka to odůvodňuje resuspendací sedimentů a také přisuzuje velký vliv odtoku z odlehčovacích komor ČOV a významným

splachům. Nejvíce patrné toto zvýšení bylo u toků, které měly za běžných průtoků velmi nízké hodnoty *E. coli*. Kromě zvýšení bakterií indikujících fekální znečištění, došlo i k výraznému zvýšení celkového počtu bakterií až o dva řády. Autorka ve své studii potvrzuje, že hlavní zvýšení počtu mikroorganismů nastává především na začátku zvyšování průtoku.

Povodně na řekách mohou významně zvýšit zátěž koliformními bakteriemi a *E. coli*. Po rozsáhlých záplavách na území ČR v srpnu 2002 došlo k extrémnímu zhoršení kvality povrchových a podzemních vod v oblasti fekálního znečištění. Vliv na tento stav měly poškozené ČOV, splachy ze zemědělských závodů a skládek, uvolněné staré ekologické zátěže a nebezpečné látky, narušené kanalizace, vypláchnuté žumpy a mnoho dalších problémů. Obecně vysoké počty koliformních bakterií a *E. coli* byly detekovány v blízkosti poškozených kanalizačních systémů a ČOV. Kvalita vody hlavně na dolních tocích odpovídala velmi znečištěným odpadním vodám a hrozilo i vysoké riziko hygienického ohrožení obyvatel. Zvýšení počtu fekálních indikátorů bylo většinou desetinásobné, což odpovídalo zhoršení o jeden stupeň, ale na Vltavě a Berounce bylo zhoršení až o tři stupně, voda tedy byla velmi silně fekálně znečištěna. Následné snížení množství koliformních bakterií po povodňové situaci si lze vysvětlit abiotickými a biotickými faktory, jako je nedostatek živin, nižší teplota, stres, sluneční záření či predace nebo sedimentace (Mlejnková *et* Horáková, 2004; Karrash *et al.*, 2009).

Skalická *et al.* (2018) předpokládá na území ČR výskyt delších a opakovaných období hydrologického sucha, přičemž vychází z klimatických scénářů prezentovaných pro naše území. V důsledku menšího průtoku vlivem sucha může být významným problémem nedostatečné odkanalizování a čištění odpadních vod, jelikož tyto vody výrazně zatěžují recipienty s malou vodností, kdy nedojde k dostatečnému naředění.

Indikátorové organismy fekálního znečištění jsou přítomny v povrchových vodách pouze v důsledku přímého ukládání výkalů nebo transportem v odtoku. Výsledky studií však ukazují na výměnu mezi vodou v sedimentu a nadložním vodním sloupcem během období základního odtoku. V indikačních koncentracích nebyly pozorovány žádné denní trendy. Během období základního odtoku nebyly pozorovány ani jiné zdroje fekálních indikátorových organismů než sediment ze dna (Pachepsky *et al.*, 2017).

E. coli může přetrvávat v sedimentech koryt vodních toků a ovlivňovat tím monitoring kvality vody prostřednictvím své resuspenze do nadložní vody. Koncentrace

E. coli v sedimentech dna za normálního odtoku a po bouřkovém odtoku jsou signifikantně rozdílné. (Piorowski, 2014)

1.8 Čištění odpadních vod a mikroorganismy

Na veřejné kanalizace, které ústí do ČOV, je napojeno téměř 90 % obyvatel ČR. Surová odpadní voda je v ČOV čištěna dle nejlepších dostupných technologií tak, aby bylo možné ji vypouštět do recipientu. Pozitivně lze hodnotit zavedení kanalizačních řádů a vznik ČOV. Jejich stálé zlepšování jak po stránce technické, tak i legislativní, což vedlo k eliminaci klasických epidemií. I přesto jsou čištěné i nečištěné komunální vody největším zdrojem fekálního znečištění povrchových vod (Fuksa, 2007; Mlejnková *et al.*, 2023).

Čištění odpadních vod probíhá intenzivními nebo extenzivními procesy. Pod intenzivní patří mechanicko-biologické ČOV různých velikostí, od malých domovních až po velké městské ČOV. Extenzivní likvidace odpadních vod probíhá na základě hnojení a závlah, čištění vody půdní filtrací a v biologických rybnících. Řadí se k nim stabilizační nádrže, vegetační ČOV, ČOV na principu zemního filtru, dále i žumpy a septiky (Adámek *et al.*, 2008).

Mezi významné mikroorganismy v čištění odpadních vod patří skupiny bakterií jako fermentující, acetogenní, nitrifikační a denitrifikační, síru oxidující a redukující, vláknité, tvořící vločky, klouzavé bakterie, gram-negativní aerobní koky a tyčinky a metanogenní archea. Do skupiny gram-negativních bakterií spadají spirochety, bakterie pochvaté, saprofytické, poly-P, patogenní, koliformní a fekálně koliformní, nokardie a podobné bakterie a sinice (Rulík *et al.*, 2013).

V městských mechanicko-biologických ČOV se dosahuje dvou až třístupňového čištění. Hlavním cílem je odstranění organických látek a znečišťujících látek, tak, aby do recipientu byla vypouštěna voda blížící se svojí jakostí vodě v toku. V primárním a sekundárním stupni čištění dochází k téměř úplnému odstranění organických látek. Ve třetím stupni dochází k odstranění minerálních látek. Během primárního (mechanického) stupně se odstraňují suspendované látky, tuky a hrubé pevné nečistoty pomocí česel, lapačů šterku a písku, případně i lapačů tuků. Část nečistot se odstraní sedimentací v usazovacích nádržích. Neusaditelné látky s organickými rozpuštěnými látkami jsou odstraněny v druhém stupni. Jako vločky kalu jsou vycytávány v dosazovacích nádržích (Ambrožová, 2003; Adámek *et al.*, 2008; Bitton, 2011; Rulík *et al.*, 2013).

V sekundárním (biologickém) stupni probíhá rozklad a mineralizace organických látek. Tento proces probíhá díky mikrobiální aktivitě buďto v aerobním nebo anaerobním prostředí. Nejprve je v odpadní vodě převládající výskyt bakterií, které rozkládají cukry. Následují bakterie, které rozkládají lipidy, a nakonec nitrifikační bakterie v aerobních podmínkách. Tento stupeň čištění může využívat dvou různých procesů, které se od sebe technicky liší. Prvním jsou procesy označované jako biofilmové, tedy založené na aktivitě a růstu organismů v přisedlé složce. Tento typ čištění se ale v konvenčních čistírnách odpadních vod prakticky nevyužívá. Druhým jsou procesy označované jako tzv. proces aktivace, taktéž založené na aktivitě a růstu organismů, ale v suspendované polykultuře (Ambrožová, 2003; Adámek *et al.*, 2008; Bitton, 2011; Rulík *et al.*, 2013).

Proces aktivace využívá činnosti aerobního společenstva mikroorganismů, které je schopné odstranit znečištění přímo díky enzymatickému rozkladu látek, anebo díky pohlcování drobných částic včetně baterií. Využívána je vlastní biologická jednotka a separační jednotka. Schopnost využití odpadní vody jako substrátu jednotlivými druhy mikroorganismů má velký vliv na celkové složení společenstva čistících jednotek. Principem procesu aktivace je tvorba směsné kultury mikroorganismů, které jsou volně rozptýlené ve vodě a navazují se do vloček, čímž vytváří tzv. aktivovaný kal. V aktivačním procesu jsou přítomné bakterie, flexibakterie, houby, prvoci a drobná metazoa. Nejvýznamnější z těchto skupin organismů jsou bakterie a prvoci. Hlavní bakteriální rody, které se vyskytují v aktivovaném kalu jsou *Zooglea*, *Pseudomonas*, *Citromonas*, *Commomonas*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Brevibacterium*, *Bacillus*, *Achromobacter*, *Arthrobacter* a *Corynebacterium*. Tato kultura vznikne smísením přítékající odpadní vody s navraceným aktivovaným kalem za současného provzdušňování a intenzivního míchání v tzv. aktivační nádrži. Výsledkem je nárůst aktivovaného kalu a úbytek organických rozložitelných látek. Aktivovaný kal spolu s čištěnou odpadní vodou odtéká do dosazovací nádrže, kde probíhá oddělování a zahušťování. Část zahuštěného kalu recirkuluje zpět do dosazovací nádrže a přebytečný kal se zpracuje vyhníváním (Ambrožová, 2003; Adámek *et al.*, 2008; Bitton, 2011; Rulík *et al.*, 2013).

Oddělená vyčištěná odpadní voda je vypouštěna do recipientu, v případě, že splňuje povolené limity. Pokud limity nesplňuje, následuje třetí stupeň čištění. Kdyby takováto voda byla vypuštěna do recipientu, hrozila by eutrofizace v důsledku vysokého přísunu živin. Ve třetím (chemickém) stupni dochází k odstranění fosforu, dusíku a

dalších minerálních živin. Využívány jsou například fermentující a poly-P bakterie pro odstranění fosforu a pro odstranění dusíkatých látek bakterie nitrifikační a denitrifikační (Ambrožová, 2003; Adámek *et al.*, 2008; Bitton, 2011; Rulík *et al.*, 2013).

Čistírenským kalem se rozumí znečišťující látky v odpadní vodě, převedené do nerozpustné formy, která je oddělena od vody. Primární kal vzniká v mechanickém stupni čištění a je zachycen v lapácích či na dně usazovací nádrže. Sekundární kal je odebírán z dosazovacích nádrží v sekundárním stupni čištění. Kaly je nutné stabilizovat, kvůli přítomnosti organických látek, které podléhají rozkladu. Mezi způsoby biologického odbourání organických látek patří anaerobní anebo aerobní procesy. Anaerobní vyhnívání závisí na pH prostředí a teplotě. Pokud je prostředí kyselé, vzniká oxid uhličitý a vodík činností mikroorganismů. V zásaditém prostředí se uplatňují bakteriální rody *Methanosarcina* a *Methanococcus*, za mezofilních či termofilních podmínek dochází k uvolňování metanu. Aerobní způsob stabilizace probíhá za přítomnosti kyslíku. V tekutém stavu je přebytečný kal z aerobních a anaerobních stabilizací vypouštěn na kalová pole, do uskladňovacích nádrží či lagun (Ambrožová, 2003).

Při hodnocení procesu čištění odpadních vod a posouzení aktivačního procesu, je důležité se zaměřit na velikost, složení a tvar vloček aktivovaného kalu. Základní hmota vloček by měla být řídká anebo kompaktní, pokud se od sebe vločky neoddělují, indikuje to zvýšený přísun substrátu. Pokud je mechanické předčištění odpadní vody nedostatečné, projeví se zvýšeným výskytem cizorodých látek v kalu. Složení vloček může být mykoidní, tedy s obsahem kvasinek, sphaerických hub *Saprochaete*, dále bakteriální s obsahem bakterií jako je *Zooglea*, *Sphaerotilus*, *Leucothrix*, *Beggiatoa*, zároveň je i minerální, detritové a amorfní. Kvalitu vyčištěné odpadní vody a její stupeň zatížení lze hodnotit mikroskopickou analýzou aktivovaného kalu. Obecně při výskytu přisedlých nálevníků lze předpokládat dobrý čistící efekt, větší druhy bezbarvých bičíkovců pak značí vysokou kvalitu vyčištěné vody. Dále i výskyt krytenek a slunivek indikuje nízké zatížení, nízké zastoupení bakterií a dobrou kvalitu čištěné odpadní vody. Oproti tomu limax améby mohou indikovat vysoké zatížení a nedočištěnou vodu (Říhová Ambrožová *et al.*, 2017).

Kvalitu vody také indikují vodní organismy, které mají různé požadavky na kvalitu prostředí a míru znečištění. Vzorky surové vody se odebírají na přítoku do čistírny, v technologické části čistírny se odebírá mechanicky čištěná voda a nárosty z přelivu či

odtokového žlabu. Dále se analyzuje aktivovaný kal z biologické části čistíren, poté i vzorky vody z dosazovací nádrže. Dále se rozborů zaměřují i na samotný odtok z čistíren, pozornost se zaměřuje i na posouzení lokality, kam ústí odtok z čistírny. Již pouhým okem lze zhodnotit dobře fungující čistírnu, jelikož na přelivu dosazovacích nádrží a na odtoku vyčištěných odpadních vod se vyskytují zelenohnědé nebo zelené nárosty. Zapáchající bělavé až šedavě černé nárosty značí špatně fungující čistírnu (Říhová Ambrožová *et al.*, 2017).

V odpadní vodě je zjištěn výskyt bakterií a archeí, které se podílejí na biogeochemických cyklech dusíku, fosforu a síry. Aerobní organismy se většinou vyskytují v surové odpadní vodě protékající stokovou sítí do čistírny či ve vodě z mechanické části čistírny. Tato voda je totiž většinou čerstvá a nezahnívající. Jako indikátory vyčerpání kyslíku a stagnace odpadní vody lze označit anaerobní organismy, odpočinková stádia aerobních nebo fakultativně anaerobních organismů. Pokud je odpadní voda zakalená nebo mléčně zabarvená, značí to nedostatek základních nutrientů nebo obsah těžce rozložitelných látek (Říhová Ambrožová *et al.*, 2017).

Výskyt různých druhů patogenních mikroorganismů a jejich množství ve vodě je narázový, jelikož se uvolňují do prostředí infikovanými jedinci. Nebezpečí nákazy hrozí při přímém kontaktu s nedostatečně vyčištěnou odpadní vodou, při požití produktů zalévaných touto vodou případně i konzumací produktu živočišného původu, který byl kontaminován odpadní vodou (Říhová Ambrožová *et al.*, 2017).

U odpadních vod se při mikrobiologickém rozboru stanovují stejné ukazatele jako u vod povrchových a pitných, a to především koliformní bakterie (ČSN 75 7837), termotolerantní koliformní bakterie a *E. coli* (ČSN 75 7835), dále i intestinální enterokoky (ČSN EN ISO 7899-2) (Říhová Ambrožová *et al.*, 2017).

Kvůli případnému negativnímu vlivu odtoku z čistíren odpadních vod do recipientu, je vhodné se zaměřit na hydrobiologické rozborů vzorky nárostů a bentosu, které charakterizují sledované stanoviště. Co se týče výběru odběrových míst, je doporučován odběr z říčního profilu nad výústí, tedy neovlivněná část toku odtokem z čistírny. Dále říční profil těsně pod odtokovým kanálem, a poté profil dále po toku, kde je již vyčištěná odpadní voda dostatečně smíchána s tekoucí vodou v recipientu (Říhová Ambrožová *et al.*, 2017).

1.9 Využití toku jako recipientu

Vodním recipientem se rozumí vodní útvar, který přijímá vodu odpadní nebo vodu z daného povodí (Pitter, 2009).

Čistírenskými procesy nedojde ke 100% eliminaci všech hygienicky významných a patogenních mikroorganismů i přes povinnost čistíren používat nejlepší dostupné mechanismy čištění. Přítomnost těchto mikroorganismů ve vyčištěné odpadní vodě vypouštěné do recipientu může představovat různá zdravotní rizika. Extrémní klimatické stavy navíc přispívají ke zvýšenému riziku (Mlejnková *et al.*, 2023).

Předpokládá se, že městské ČOV patří mezi hlavní antropogenní zdroje uvolňování antibiotik do životního prostředí. Jsou také významným zdrojem bakterií rezistentních vůči antibiotikům, které se s vyčištěnými odpadními vodami dostávají do životního prostředí. Tento velký rezervoár genů rezistence může potenciálně přispět ke vzniku klinických případů rezistentních bakterií u zvířat a lidí prostřednictvím přímé expozice z kontaminované říční vody. Zároveň bylo prokázáno, že některé antimikrobiální látky mohou inhibovat důležité mikrobiální procesy jako je například denitrifikace nebo primární produkce sinic (Garcia-Armisen *et al.*, 2011; Koczura *et al.*, 2012; Rizzo *et al.*, 2013; Amos *et al.*, 2014).

Pokročilé technologie úpravy a dezinfekční proces jsou považovány za hlavní nástroj kontroly šíření antibiotické rezistence do životního prostředí. Proces biologického čištění vytváří prostředí potenciálně vhodné pro rozvoj a šíření rezistence, protože bakterie jsou neustále míchány s antibiotiky (Rizzo *et al.*, 2013).

Odpadní voda vytéká do recipientu již od 19. století, kdy byly obce vybaveny kanalizací a rozvodem pitné vody. Později došlo k budování ČOV jejichž výpustě odpadních vod ústí do recipientů toků a nikdo si ani neumí představit jiné řešení. Problémem je kolik a jaké vody lze do konkrétních recipientů za různých situací vypouštět, což je stále předmět řešení legislativy. Splaškové znečištění oproti stavům v minulosti výrazně pokleslo a havarijní stavy jsou už jen vzácné. Až na výjimky nejsou toky, které slouží jako recipienty odpadních vod, tolik zatěžovány, jak tomu bylo například ještě před čtyřiceti lety. Toky povrchových vod by měly jako recipienty sloužit potřebám lidí až v druhé řadě. V první řadě by měly toky fungovat jako součást životního prostředí a součást zemského koloběhu. Návrat k historickému přírodnímu stavu řek je dnes nereálný a neočekávaný, i přesto je nutné usilovat o jejich ochranu (Fuksa, 2007).

Velkým problémem jsou i nedostatečná odkanalizování a odlehčované odpadní vody. Je nutné nalézt řešení omezení plošného znečištění, a to hlavně splachů ze zemědělsky obdělávaných ploch. Co se týče snížení nadměrného bakteriálního znečištění povrchových vod, bylo by nutné přistoupit k hygienizaci veškerých vyčištěných odpadních vod, k čemuž z technicko-ekonomických důvodů nejspíš nedojde (Skalická *et al.*, 2018).

1.10 Vliv odpadních vod na mikrobiální znečištění

Biologické čištění odpadních vod je velmi účinné, jelikož snižuje počty fekálních bakterií až o 98 %, tedy o dva řády. V surové odpadní vodě se celkové počty bakterií pohybují v řádech 10^7 – 10^8 /ml. Oproti tomu v biologicky vyčištěné odpadní vodě to už je řádově 10^6 /ml (Baudišová *et* Benáková, 2011).

I přes 90 – 99% eliminaci bakterií v městských čistírnách s mechanicko-biologickými stupni čištění, se nadále v odtoku čištěných odpadních vod vyskytují hygienicky významné patogeny, jelikož odpadní voda není dokonale dezinfikována. Dle Evropské agentury pro životní prostředí jsou evropské řeky významně kontaminovány bakteriemi, které pocházejí z odpadních vod městských ČOV. Někteří autoři je dokonce považují za hlavní zdroj mikroorganismů fekálního znečištění v povrchových vodách. Výzkumy ukazují, že vypouštěné odpadní vody obsahují až 2 % patogenů z celkového obsahu ve vodě přitékající do ČOV. ČOV jsou nejspíš i hlavním zdrojem *E. coli* rezistentní vůči antibiotikům, která se přenáší do vodních ekosystémů spolu s přečištěnou odpadní vodou (Osínska *et al.*, 2017). I přes významné snížení počtu mikroorganismů díky procesům ČOV, odpadní vody vypouštěné do recipientu stále obsahují patogenní bakterie jako například *Campylobacter coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella* spp, *Clostridium perfringens*, *Shigella flexneri*, viry hepatitidy A, enteroviry a další. Využívání povrchové vody k rekreačním účelům nemusí být vždy bezpečné. Voda, která obsahuje více jak 1000 KTJ/ml (tzn. kolonie tvořící jednotky v 1 ml vzorku) fekálních koliformních bakterií, 35 KTJ/ml enterokoků a 126 KTJ/ml *E. coli*, může u lidí způsobit infekce. Ovšem studie zabývající se reálnými riziky spojenými s koupáním v kontaminované vodě se jednoznačně neshodují (Soller *et al.*, 2010; Badurová, 2011).

Čištění ČOV eliminuje 94 % *E. coli*. Zátěž *E. coli* je vyšší v městské odpadní vodě než v nemocniční odpadní vodě (Bréchet *et al.*, 2014).

Organizace WHO předpokládá obecnou platnost tvrzení, že jiné zdroje kontaminace, než jsou lidské fekálie, představují pro lidské zdraví menší riziko, vzhledem k druhové bariéře. Předpokládá se, že obsah patogenů nebezpečný pro lidské zdraví, je ve zvířecích exkrementech nižší než v těch lidských (Soller *et al.*, 2010).

Jelikož má každý bakteriální druh jinou schopnost přežívání a přizpůsobení se stresovým faktorům probíhajících v ČOV během procesu čištění, je složité stanovení vhodného mikrobiálního indikátoru. Díky relativně konstantnímu obsahu jsou za indikátorové mikroorganismy považovány fekální koliformní bakterie, *E. coli* a intestinální enterokoky, jelikož se ve vysokých počtech nacházejí jak ve vyčištěných odpadních vodách, tak i ve vodách povrchových. Jejich výskyt často značí i přítomnost jiných patogenních mikroorganismů. Indikátorové mikroorganismy se v praxi využívají, díky časové a menší finanční náročnosti, než kdyby se stanovovaly samostatné patogeny (Badurová, 2011; Amirat *et al.*, 2012).

V přítoku se mikroorganismy jako *E. coli*, enterokoky a koliformní bakterie vyskytují v množství $10^4 - 10^{10}$ KTJ/ml a po vyčištění odpadní vody mechanicko-biologickými procesy se jejich hodnoty snižují. U *E. coli* na 103 KTJ/ml, enterokoků na 103 KTJ/ml a fekálních koliformních bakterií na 101 – 105 KTJ/ml. Dále je uváděno, že pokud jsou fekální mikroorganismy v odpadní vodě obsahově v řádech tisíců jednotek, lze předpokládat vysokou pravděpodobnost, že se v ní budou vyskytovat vysoce patogenní mikroorganismy (Badurová, 2011).

1.11 Čistírna odpadních vod Hradec Králové

ČOV v Hradci Králové byla vybudována v první polovině 90. let 20. století jako mechanicko – biologická ČOV s terciárním stupněm čištění a zkušební provoz byl zahájen v roce 1995. Díky ČOV jsou z odpadní vody odstraňovány organické látky, dusík a fosfor. Specifikem této čistírny je čerpací stanice, která zvedá odpadní vody z hloubky 32 metrů. Na ČOV HK probíhají 3 základní stupně čištění, a to mechanické čištění, biologické čištění a dočištění. Dále se vyčleňuje kalové a plynové hospodářství (Hošek *et Hofmanová*, 2019; Král *et Staněk*, 2022; Vodovody a kanalizace Hradec Králové, s. a; VAK Hradec Králové, s. a).

Odpadní voda natéká do ČOV vstupní čerpací stanicí, následuje úsek mechanického (primárního) čištění, kde voda protéká a pročišťuje se v česlovně, lapačích písku a končí v usazovacích nádržích. Z těchto nádrží se voda dále čistí tzv. biologickým

(sekundárním) čištěním v aktivační nádrži, dosazovací nádrži a v reagenční nádrži kalu. Během terciárního čištění neboli dočištění dochází k odstraňování dusíku v postdenitrifikačním filtru. Co se týče kalového a plynového hospodářství, je primární kal a přebytečný kal z dosazovacích nádrží odčerpán do zahušťovacích nádrží, následně do vyhnívacích nádrží, kde je kal držen jeden měsíc za anoxických podmínek při 37 °C. Za těchto podmínek se z kalu uvolňuje bioplyn, který může být dále spalován za současné výroby elektrické energie a tepla. Kal, který vyhnije je odvodněn a zbaven patogenních organismů a lze jej využít při rekultivaci terénu, či jako hnojivo pro zemědělské půdy. Ročně je v čistírně vyprodukováno 7000 – 8000 tun kalu (Hošek *et* Hofmanová, 2019; Král *et* Staněk, 2022; Vodovody a kanalizace Hradec Králové, s. a; VAK Hradec Králové, s. a).

Vyčištěná odpadní voda odtéká do recipientu řeky Labe, přičemž je tato voda pravidelně kontrolována akreditovanou laboratoří dle zákona o vodách č. 254/2001 Sb. v platném znění. Dále provádí vlastní měření i Povodí Labe a Česká inspekce životního prostředí. Při nadlimitních průtocích natékajících na ČOV je odpadní voda čištěna pouze mechanicky a odlehčovacími zařízeními odváděna do recipientu (Hošek *et* Hofmanová, 2019; Vodovody a kanalizace Hradec Králové, s. a; VAK Hradec Králové, s. a).

Z dostupných informací Vodovodů a kanalizací Hradec Králové, a. s. (s. a.) je počet připojených osob na ČOV 117 338. Na ČOV jsou přiváděny jak odpadní vody ze samotného města Hradec Králové, tak i z několika přilehlých obcí a měst. Počet připojených ekvivalentních obyvatel (EO) dle bilančního výpočtu na ČOV je připojeno 101 836 obyvatel, přičemž kapacita čistírny je 141 000 EO. Množství čištěných odpadních vod celkem činí 14 mil. m³/rok. Průměrný denní bezdeštný nátok na ČOV je 44 700 m³/den.

První rekonstrukce ČOV proběhla v roce 2003 za účelem zvýšení odstraňování anorganického dusíku, který je obsažen v odtékající odpadní vodě vypuštěné do recipientu. V povrchových vodách totiž dusík spolu s fosforem způsobuje tzv. eutrofizaci. Další rekonstrukce proběhla v roce 2008, taktéž kvůli zpřísnění limitů vypouštěných odpadních vod v rámci ukazatele celkového dusíku. V rámci této rekonstrukce byl vybudován dvoukomorový postdenitrifikační filtr. Do obou filtračních komor je čerpáno cca 50 % vyčištěné odpadní vody, která před výstavbou odtékala do recipientu. Voda protékající těmito komorami prochází filtry a také speciálně upravenými

polystyrénovými kuličkami, na jejichž povrchu narostlé mikroorganismy odstraňují z odpadní vody vázaný dusík, který je přeměněn na dusík uvolňující se do atmosféry. I přesto, že ČOV Hradec Králové disponuje kapacitou 141 000 EO, s rozvojem bytové a průmyslové výstavby bude v budoucnosti nejspíše kapacita naplněna (Vlček, 2022; Vodovody a kanalizace Hradec Králové, s. a; VAK Hradec Králové, s. a).

V Hradci Králové z velké části funguje gravitační kanalizace a ve většině případů se jedná o jednotnou kanalizační síť, tedy do kanalizace ústí jak dešťová, tak i splašková voda. Lokality s oddílnou kanalizační sítí jsou odkanalizované na ČOV HK. Vypouštění dešťové vody do splaškové je v tomto typu kanalizace zakázáno. Kanalizační systém Hradce Králové je tvořen 6 kmenovými gravitačními stokami, do kterých je svedena odpadní voda. Téměř všechny stoky jsou spadištěm odvedeny do hloubkové štol, která přivádí odpadní vodu na ČOV HK. Za dešťů odtéká srážková voda z oblasti starého města a severovýchodní části města zvláštní odlehčovací stokou, která je vyústěna do řeky Orlice v Jiráskových sadech. Z ostatních stok jsou odlehčené dešťové vody vypouštěny do Labe (Hošek *et* Hofmanová, 2019).

Odpadní vody z ČOV HK jsou vypouštěny do Labe otevřeným odpadním kanálem. V místě zaústění kanálu je hladina Labe vzduta Opatovickým jezem. Za den čistírna vypouští průměrně 44 000 m³. Při měření prováděném v dubnu 2007, byla odpadní voda o 2,6 °C teplejší než voda v Labi. Ovšem v červenci téhož roku byla odpadní voda o 1,7 °C nižší. V dubnu se proud odpadní vody držel při levém břehu a po 100 metrech od výpustě dosahoval zhruba třetiny šířky samotného toku Labe. V červenci bylo z měření zjištěno, že proud chladnější odpadní vody klesal ke dnu a směřoval k pravému břehu. V dalším úseku mísení byla odpadní voda promíchávána ode dna k hladině a současně od břehu levého k pravému. Z výsledků měření konduktivity vyplývá, že v recipientu dochází k pomalému mísení, citlivému na změny teplot (Šajer, 2010).

Znečištění vypouštěnými odpadními vodami do řeky při lokálním průměrném průtoku představuje relativní zatížení vodního toku, a to pouze 0,52 % pro Hradec Králové a Pardubice, podle výpočtu v poměru k Labi. Oproti tomu například pro Prahu, byla hodnota vypočtena na 1,25 %, naopak nejnižší hodnota byla vypočtena pro Děčín, a to 0,026 % (Fuksa *et al.*, 2022).

Většina toků v Královéhradeckém kraji je hodnocena jako znečištěná voda a spadá tedy do III. kategorie. Nejvíce je jakost ovlivňována průmyslovými provozy, intenzivním zemědělstvím, komunálními zdroji znečištění a odpadní vodou vypouštěnou z ČOV (Štěpán, 2018).

1.12 Indikátory fekálního znečištění povrchových vod

Při kontrole hygienické nezávadnosti vody, mají indikátory fekálního znečištění prioritní význam. Jejich nepřítomnost poukazuje na to, že voda nebyla fekálně znečištěna, tudíž se neočekává ani přítomnost patogenních střevních mikroorganismů. Kontaminace vody patogeny a s tím související nemoci jsou hlavním problémem pro téměř všechny typy vody na celém světě (Rulík *et al.*, 2013; Pandey *et al.*, 2014).

Současná legislativa pro zdravotní nezávadnost pitné vody v EU nepřipouští výskyt indikátorů fekálního znečištění ve 100 ml vzorku. Výskyt *E. coli* v pitné vodě je problémový, protože často značí případný výskyt salmonel, shigel anebo kampylobakter, které jsou střevními patogeny. Situace u jiných typů vod je odlišná, v bazénové vodě by měla být také dodržena nepřítomnost indikátorů fekálního znečištění. Ovšem v koupacích vodách jsou přípustné hodnoty ve stovkách KTJ/100 ml až po tisícové hodnoty v čištěných odpadních vodách (Rulík *et al.*, 2013; Říhová Ambrožová *et al.*, 2017).

1.12.1 Koliformní bakterie

Koliformní bakterie jsou gramnegativní tyčinky z čeledi *Enterobacteriaceae*, které netvoří spory a výsledek jejich cytochromoxidázového testu je negativní. Jsou schopné růst na kultivačním médiu, které obsahuje žlučové soli (např. Endo agaru). Za současné tvorby organických kyselin a acetaldehydu zkvašují laktózu při 37 °C do 48 hodin za aerobních či fakultativně anaerobních podmínek (Häusler *et al.*, 1984; Rulík *et al.*, 2013; Říhová Ambrožová *et al.*, 2017).

V současnosti za dostatečný parametr, pro zařazení bakterií do skupiny koliformních bakterií, postačuje jejich schopnost štěpit disacharid laktózu na glukózu a β -D-galaktózu pomocí enzymu β -D-galaktosidázy. Dle dřívějších definic měly mít koliformní bakterie hlavně schopnost fermentace laktózy (Baudišová *et Mlejnková*, 2017).

Koliformní bakterie byly v minulosti významně používány jako indikátor fekálního znečištění, ovšem dnes díky přesnějším analýzám víme, že ideálním

indikátorem rozhodně nejsou. V klasickém pojetí byla jejich zdrojem pouze mikroflóra střev teplokrevných živočichů, nicméně jejich zdrojem může být i půda či zbytky rostlin a tak podobně (Baudišová *et* Mlejnková, 2017).

Na Endo agaru, jehož zbarvení je růžové, nerostou grampozitivní bakterie, a bakterie které zde vyrostou štěpí laktózu a způsobí červené zbarvení (bakterie laktóza+) (Hurych *et*. Štícha, 2021).

Koliformní bakterie byly dlouhý čas považovány za nejzávažnější ukazatel hygienického významu. Jejich pojetí se během let vyvíjelo a měnilo. Mezi koliformní bakterie jsou tradičně řazeny rody *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* a *Klebsiella*. Dle moderních taxonomických metod tvoří heterogenní skupinu, zahrnující bakterie fermentující laktózu, vyskytující se ve fekáliích člověka a teplokrevných živočichů, ve vodách bohatých na živiny, půdě i rozkládajícím se rostlinném materiálu. Výskyt druhů, které se zřídka vyskytují ve fekáliích do jisté míry zpochybňuje použitelnost skupiny koliformních bakterií jako indikátorů fekálního znečištění. Mezi tyto druhy patří například *Serratia fonticola*, *Rahnella aquatilis* nebo i *Buttiauxella agrestis*. Fekálním koliformním bakteriím je dáván větší hygienický význam především proto, že byly v minulosti považovány za indikátor čerstvého fekálního znečištění. V praxi se ukázalo, že není zcela spolehlivé tyto mikroorganismy označovat jako indikátory čerstvého fekálního znečištění, jelikož mohou pocházet z organicky obohacených vod, z rozkládajícího rostlinného materiálu, půdy či z průmyslových vod. V současné době je tedy termín „fekální“ nahrazen termínem „termotolerantní“ (Häusler, 1994).

Když se test na koliformní organismy provádí s vodami z okolního prostředí, několik druhů ze čtyř rodů *Enterobacteriaceae* – *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* a *Citrobacter* dává pozitivní výsledky, a proto jsou podle této definice koliformní. Nicméně environmentální význam těchto čtyř rodů je velmi odlišný (Cabral, 2010).

1.12.2 Termotolerantní koliformní bakterie

Termotolerantní koliformní bakterie jsou gramnegativní tyčinky, které netvoří spory a mají negativní cytochromoxidázový (CTO) test. Za aerobních podmínek během 24 hodinové kultivace a při teplotě 44 °C tvoří kolonie na selektivně diagnostickém médiu s laktózou za současné tvorby kyselin (nebo aldehydu). Mezi typické zástupce této skupiny patří zástupci rodů *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia* a v menším zastoupení i druhy rodu *Klebsiella*. Tyto kmeny si totiž ponechaly schopnost růstu a biochemických

procesů i při výše zmíněné teplotě kultivace (Häusler, 1994; Rulík *et al.*, 2013; Říhová Ambrožová *et al.*, 2017; Baudišová *et Mlejnková*, 2017).

I druh *E. coli* sám o sobě je termotolerantní, ale tato vlastnost, v nefyziologickém tedy vodním prostředí, mizí jako první (Baudišová *et al.*, 2022).

Baudišová *et Mlejnková* (2017) tuto skupinu klasifikují jako podskupinu koliformních bakterií. Dále autorky zmiňují, že bývají nazývány vhodněji jako fekální koliformní bakterie, jelikož jsou více spjaty s fekálním znečištěním.

Rozsah druhů detekovaných experimentálním postupem je mnohem nižší než u celkových koliformních bakterií. U vod znečištěných životním prostředím vykázaly v testu pozitivní výsledky pouze *E. coli*, *K. oxytoca* a *K. pneumoniae* (Cabral, 2010).

1.12.3 *Escherichia coli*

Bakterie *E. coli* spadá pod čeleď *Enterobacteriaceae*, do které patří velká skupina gramnegativních fakultativně anaerobních tyčinek. Jako první u ní byl znám kompletní genom, tudíž se řadí mezi nejprozkoumanější organismy na Zemi. Mnoho rodů enterobakterií jsou běžnou součástí mikrobioty tlustého střeva teplokrevných živočichů a nijak svému nositeli neškodí. Ve střevním mikrobiomu figuruje jako komenzál, saprofyt a symbiont, dále se podílí na produkci vitamínu K a pro některé bakterie je toxický její produkt kolicin. *E. coli* je termotolerantní bakterie tvaru tyčinky s bičíky. Tento bakteriální druh je důležitým indikátorem kontaminace vodních ekosystémů, půdy a potravin. Kontaminace vodních zdrojů fekálními indikátorovými bakteriemi, jako je *E. coli*, je vážným problémem, kvůli její schopnosti přenášet nemoci. V rámci druhu je popsáno několik kmenů s patogenitou způsobující nejčastěji průjemy a močové infekce. Co se týče její mikrobiologické diagnostiky, lze kultivovat na Endo agaru, kde zkvašuje laktózu a tvoří tmavě červené až kovově lesklé kolonie (Titilawo *et al.*, 2015; Baudišová, 2017; Říhová Ambrožová *et al.*, 2017; Hurych *et. Štícha*, 2021).

Na závažné fekální a částečně i organické znečištění může poukazovat procentuální zastoupení *E. coli* mezi koliformními (příp. i termotolerantními) bakteriemi. Zastoupení *E. coli* v různých typech vod bylo procentuálně nejčetnější v surových šedých vodách, a to konkrétně 31 %. Velké zastoupení měla *E. coli* i v městských vodních prvcích, a to 19,3 %, což lze odůvodnit možným přímým fekálním znečištěním. Oproti

tomu nejmenší procentuální zastoupení bylo zjištěno u srážkové vody (Baudišová *et al.*, 2022).

Enteropatogenní *E. coli* jsou jen určité sérotypy, které jsou ale relativně vzácné. Detekce *E. coli* probíhá na základě aktivity enzymu β -D-glukuronidázy. Co se týče stanovení *E. coli* v povrchových vodách, vyskytují se u některých metod problémy. Například metoda dle ČSN 75 7835 je sice velmi selektivní, ale podhodnotí až 30 % výsledků, kvůli nízké citlivosti. Oproti tomu metoda dle ČSN EN ISO 9308-1 je až příliš citlivá a výsledek narušuje doprovodná mikroflóra. Metodu Colilert Quantitray zmíněná v ČSN EN ISO 9308-2, se zdá být nejlepší metodou pro stanovení *E. coli* v povrchových vodách (Baudišová *et Mlejnková*, 2017).

V environmentálních vodách je většina fekálních koliformních kmenů *E. coli* (Cabral, 2010).

Dle faktorů virulence lze rozlišit řadu kmenů *E. coli*. Mezi nejčastější faktory virulence patří endotoxin, dále adhezivní faktory jako fimbrie, které pomáhají přichycení a občas i průniku do střevního epitelu. Jelikož se jedná o výhradně lidský patogen, není vyloučena jako zdroj infekce i možná endogenní infekce. Co se týče onemocnění, které zapříčiňuje *E. coli*, jsou ve většině případů léčitelné antibiotiky případně jinými léčivými, i přesto, že rezistentních kmenů stále přibývá. Enterotoxigenní *E. coli* způsobuje serózní průjmy cestovatelů, enteropatogenní zase serózní průjmy u novorozenců a kojenců, enteroagregativní vodnaté průjmy cestovatelů, enteroinvazivní krvavé průjmy kvůli své invazivnosti proniká až do epiteliálních buněk, ve kterých se množí. Infekci močového systému má na svědomí uropatogenní *E. coli*, a řadí se mezi nejčastější původce komunitní uroinfekce, z čehož je většina případů nekomplikovaných. V hemolyticko-uremický syndrom (HUS) může přejít pak nákaza enterohemoragickou *E. coli* (EHEC) a svými komplikacemi, které způsobuje pacientovi, může končit i smrtí. Nejvíce ohroženými skupinami HUS jsou malé děti a osoby s oslabenou imunitou. Člověk se EHEC může nakazit například nedokonale tepelně upraveným masem či nepasterizovaným mlékem. Infekční dávka je totiž velmi nízká, stačí pouhých 10 bakterií. EHEC bývá také označována jako Shiga-like toxigenní, kvůli produkci Shiga-like toxinu, který se naváže na endotelie a způsobuje kolitidu s hemoragií a může přejít až do HUS. Přítomnost toxinu lze prokázat metodou PCR. Nejznámější sérotyp EHEC jsou O157 a O104 (Chart, 2000; Kaper *et al.*, 2004; Shelton *et al.*, 2006; Cabral, 2010; Soller *et al.*,

2010; Pachepsky *et al.*, 2011; Osińska *et al.*, 2017; Devane *et al.*, 2020; Hurych *et al.*, 2021).

Většina kmenů *E. coli* neškodně kolonizuje gastrointestinální trakt lidí a zvířat jako normální flóra. Existují však některé kmeny, které se vyvinuly v patogenní *E. coli* získáním faktorů virulence prostřednictvím plazmidů, transpozonů, bakteriofágů a/nebo ostrovů patogenity. Tyto patogenní *E. coli* lze kategorizovat na základě séro skupin, mechanismů patogenity, klinických příznaků nebo faktorů virulence (Kaper *et al.*, 2004; Lim *et al.*, 2010).

Několik sérotypů v EHEC je často spojeno s lidskými chorobami, jako je O26:H11, O91:H21, O111:H8, O157:NM a O157:H7. *E. coli* O157:H7 je nejčastěji izolovaným sérotypem EHEC od nemocných osob. EHEC sérotyp O157:H7 byl poprvé rozpoznán v roce 1982 jako lidský patogen spojený s propuknutím krvavého průjmu (Lim *et al.*, 2010).

Povrchové vody mohou být vystaveny kontaminaci *E. coli* O157:H7 prostřednictvím stékání z organických odpadů aplikovaných na zemědělskou půdu a přímého ukládání fekálií. Sladká voda v blízkosti systémů chovu hospodářských zvířat proto může představovat potenciální rezervoár pro střevní patogeny, což umožňuje cykly reinfekce hospodářských zvířat a zvyšuje potenciál pro šíření organismu. V důsledku toho existuje možnost, že závlahová voda pocházející z řek by mohla působit jako vektor pro kontaminaci plodin fekálními patogeny. Odhaduje se, že 1,5 milionu úmrtí na průjmy ročně na celém světě je připisováno kontaminaci vody *E. coli* a jejich škodlivých kmenů, především O157:H7 (Tyrrel, 1999; McGee *et al.*, 2002; Avery *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2023).

Výskyt infekce EHEC způsobený vodou byl dlouhou dobu opomíjen. Potvrzení expozice EHEC přenášeného vodou je obtížné kvůli přechodné povaze bakteriálních kmenů ve vodě; organismy jsou snadno transportovány pryč z místa expozice, jsou zředěny pod detekovatelnou hladinu nebo zemřou. Pro detekci *E. coli* O157:H7, celosvětově nejčastěji uváděného sérotypu EHEC, byla vyvinuta řada rychlých imunotestů (Shelton *et al.*, 2006; Kaper, 2004; Cabral, 2010).

Přežití *E. coli* O157:H7 v povrchových vodách může zvýšit potenciál disipace organismu, aby se usnadnily cykly reinfekce hospodářských zvířat a mohly vést k infekci člověka. Dle studií bylo přežívání *E. coli* lepší v jezerech s nízkým obsahem živin a

kaluží s naopak vysokým obsahem živin, než v řekách a napajedlech pro zvířata (Avery *et al.*, 2008).

Léčba infekcí *E. coli* je nyní ohrožena vznikem antimikrobiální rezistence. Šíření rezistence je spojeno s genetickými mobilními prvky, jako jsou plazmidy, které mohou nést determinanty virulence. V posledních desetiletích rostoucí používání antibiotik jako léčebných postupů a jako stimulátorů růstu v živočišné výrobě zvýšilo selektivní tlak v bakteriálních populacích a přispělo k rezistenci bakterií vůči antibiotikům. Antibiotická rezistence u bakterií představuje přímou hrozbu pro zdraví lidí a zvířat. Multirezistentní *E. coli* se nyní stává hlavním problémem veřejného zdraví jak ve vyspělých, tak v rozvojových zemích. Nejen že antibiotiková rezistence bakterií snižuje možnost léčby bakteriálních infekcí, ale ohrožuje i lékařské postupy jako transplantace či implantace, kde je nutná preventivní terapie antibiotiky. Léková rezistence je spojena i s nemocnicemi a jejich odpadními vodami (Martinez, 2009; Koczura *et al.*, 2012; Da Silva *et Mendonca*, 2012; Titilawo *et al.*, 2015).

Za původ antibiotické kontaminace v povrchových a podzemních vodách je považováno bodové a nebodové vypouštění komunálních a zemědělských odpadních vod (Yang *et Carlson*, 2003).

Největším rezervoárem *E. coli* O157 je především střevní trakt dobytka. Dále pro přenos infekce může být nebezpečná i pitná a užitková fekálně znečištěná voda, včetně studánek a pramenů. Nejohroženější jsou země s difúzním znečištěním a vysokou živočišnou výrobou (Baudišová, 2017).

1.12.3.1 Přežívání *E. coli* ve vodním prostředí

Edberg *et al.* (2000) uvádí, že ve výkalech savců se *E. coli* vyskytuje v koncentracích 10^9 buněk/g, v pitné vodě přežije 4 až 12 týdnů v závislosti na podmínkách prostředí. Ovšem v distribučních soustavách může přeživat delší dobu. Autor dále zmiňuje, že v životním prostředí se tato bakterie dál znatelně nerozmnožuje. Oproti tomu Rulík *et al.* (2013) píše, že v tropických vodách s průměrnou roční teplotou vody nad 15 °C se rozmnožovat mohou.

Míra odumírání je problematická a vysoce závislá i na schopnosti zavlečených kmenů přizpůsobit se a přetrvávat v konkrétních sedimentech. Hlavním faktorem, který rozhoduje o přežívání je teplota. Rychlost odumírání při teplotě 4 °C je velmi nízká, což naznačuje, že by *E. coli* mohla být schopna přežít ve vodních sedimentech přes zimu.

Mezi další faktory patří organické látky a živiny, slanost a znečišťující látky, textura sedimentu či asociace do biofilmů (Pachepsky *et* Shelton, 2011).

Doba pro 50% snížení koncentrace pro *E. coli* byla stanovena na 1,5 – 3 dny a pro koliformní bakterie 0,9 dní (Medema *et al.*, 2003).

1.13 Metody detekce koliformních bakterií a *E. coli*

1.13.1 Odběr vzorků povrchové vody

Mikrobiologické vyšetření povrchových vod se původně omezovalo jen na posouzení hygienického stavu vody, důraz byl především kladen na výskyt patogenních organismů a možnost šíření infekcí vodou na člověka a hospodářská zvířata. Stanovovány byly hlavně indikátory fekálního znečištění, jelikož jejich přítomnost vždy naznačovala potenciální nebezpečí střevních onemocnění. Během let se však ukázalo, že tento přístup je nedostatečný, a mělo by se sledovat mnohem více hygienicky významných organismů a také i další faktory, které mají vliv na jejich výskyt (Häusler, 1994).

Oproti rozboru pitné vody je mikrobiologický rozbor povrchové vody značně náročnější a obsáhlejší. Úspěšný a směřodatný rozbor povrchové vody závisí na správné volbě odběrového místa a samotném způsobu odběrů, dále i na volbě vhodné metodiky. Volbu odběrového místa by měl podmiňovat účel, za jakým rozbor děláme (Häusler, 1994).

Odběrům z řek a potoků se podrobněji zabývá ČSN EN ISO 5667-6 (757051) (ČSN EN ISO 5667-6, 2017).

Jak píše Baudišová (2017), pro standardní sledování kvality vody se používají metody, které jsou popsány v příslušných technických normách (z řad ČSN, ČSN ISO, ČSN EN, ČSN EN ISO) podle platné legislativy. Tyto normy nemusejí být primárně závazné, i když jsou platné. Jejich závaznost lze nařídít jejich uvedením v právních předpisech, taktéž může být metoda závazná, pokud se tak určí smluvními vztahy.

„Při sledování vlivu přítoku vedlejšího toku či odpadních vod na jakost hlavního toku je nutno přihlídnout i k významu mísení obou zdrojů vody“ (Häusler, 1994).

Přítok se s hlavním tokem může mísit ve třech rozměrech, a to vertikálně, příčně nebo podélně. Při vertikálním mísení dochází k mísení od hladiny ke dnu, u příčného od jednoho břehu k druhému a u podélného dochází směrem po proudu k postupnému

vyrovnávání jakosti. Vliv na rychlost mísení má hlavně rychlost vodního proudu. Odběr vzorků pro mikrobiologické hodnocení stavu by měl být zároveň plánován tak, aby zachytil pravidelné cyklické změny, které se v řekách vyskytují. Jedním rozbořem totiž zjistíme pouze momentální stav v době odběru. Z tohoto důvodu má nesmírný význam četnost odběrů, jelikož variabilita a počet mikroorganismů je značně ovlivněn i řadou meteorologických i ekologických podmínek (Häusler, 1994; Baudišová, 2017). Co se týče volby odběrového místa, mělo by být vybráno tak, aby byl vzorek reprezentativní a vystihoval všechny podmínky vyskytující se ve vodním prostředí. Je také nutné zohlednit i všechny okolnosti, které mohou vybrané odběrové místo ovlivňovat (např. zdroj znečištění) a taktéž určit vhodnou vzdálenost mezi jednotlivými odběrovými místy (Baudišová, 2017).

1.13.2 Kultivační metody

Živná média můžeme rozdělit na tekutá, která slouží hlavně k pomnožení mikroorganismů a pevná, která slouží k izolaci jednotlivých kolonií (Baudišová, 2017). Hlavní rozdíl mezi tekutým a pevným médiem je v obsahu ztužovacích látek, přičemž tekutá média žádné tyto látky neobsahují. Pevná média naopak obsahují ztužovací látky, a to nejčastěji agar (Říhová Ambrožová *et al.*, 2017). Tekuté médium je vhodné pro mikroorganismy, které byly fyziologicky poškozené nebo stresované, jelikož poskytují optimální podmínky pro daný mikroorganismus (Říhová Ambrožová *et al.*, 2017).

Z hlediska stanovení počtu mikroorganismů je výhodnější použít pro kultivaci pevná média, na kterých lze spočítat kolonie vykazující jim typické vlastnosti. Vzorek se na živné médium očkuje buďto na povrch, nebo se naočkuje do prázdné misky a zalije se roztopeným agarovým médiem o teplotě mezi 40 – 45 °C. V druhém případě je pak obtížná následná izolace a další práce s koloniemi. Výsledek se vyjadřuje pomocí jednotek KTJ (tj. kolonie tvořící jednotky) v daném objemu vzorku, který byl naočkován na médium. Pokud potřebujeme pracovat s větším objemem vzorku, je vhodné použití koncentrace tzv. membránovou filtrací, kdy se vzorek pod tlakem filtruje přes nitrocelulózový filtr o určité porozitě (Baudišová, 2017).

Dle účelu použití lze kultivační média rozdělit na půdy základní, diagnostické, selektivní a selektivně diagnostické. Na základních půdách roste většina běžných mikroorganismů, a proto se používají v případě potřeby kultivace škály blíže nespecifikovaných mikroorganismů (Dvořák, 2012; Říhová Ambrožová *et al.*, 2017).

Diagnostické půdy obsahují složky, které hledaný mikrobiální druh svým metabolismem pozmění a na základě biochemických reakcí je možné ho identifikovat (Dvořák, 2012). U selektivních půd je k médiu přidána určitá chemická látka zvýhodňující pouze určitou skupinu mikroorganismů tím, že ostatní potlačuje (Baudišová, 2017). Selektivně diagnostická média obsahují kromě selektivní složky ještě složku diagnostickou, která využívá specifických vlastností hledaného mikroorganismu, čímž jej odliší od ostatních narostlých mikroorganismů. V praxi jsou využívány nejčastěji, jelikož umožňují izolaci i velmi málo běžných druhů i přes převládající původní mikroflóru (Baudišová, 2017; Dvořák, 2017).

2 Praktická část

2.1 Materiál

2.1.1 Chemikálie a spotřební materiál

- Disky pro detekci oxidázy produkované mikroorganismy (HiMedia)
- Endo Agar M029 (HiMedia)
- Desam® spray (500 ml) – tekutý alkoholový přípravek na dezinfekci povrchů (Schuelke)
- Ethanol
- Očkovací klíčky (VWR)
- Plastové sterilní vzorkovnice (500 ml) (Golias)
- Pipetovací špičky (5ml) vyrobeny firmou Brand
- Automatická pipeta (0,5 ml – 5 ml) vyrobeny firmou Brand
- Petriho miska Ø 90 mm AP (Gama Group a.s.)
- Laboratorní sklo
- Jednorázové gumové rukavice
- Chladicí ledové vložky
- Lihové fixy

2.1.2 Roztoky

- Činidlo pro cytochromoxidázový test
 - Připravovaný dle ČSN 83 0521. Tetrametylparafenyldiamidihydrochlorid 1 g, pentahydrát thiosíranu sodného 0,2 g, Chelaton 30,1 g, destilovaná voda doplněna do 100 ml
- Fosforečnanový tlumivý ředící roztok
 - Připravovaný dle ČSN EN ISO 8199. Vyroben z 5 ml roztoku chloridu hořečnatého, 1,25 ml fosforečnanového roztoku a 1 l vody.

Výše uvedené roztoky byly připraveny chemickou laboratoří Povodí Labe, státní podnik, Hradec Králové.

2.1.3 Přístroje a pomocná zařízení

- ProtoCOL 2 – přístroj na focení a počítání kolonií (Synbiosis)
- ColonyStar 8500 – přístroj s LED osvětlením na počítání kolonií (Funke gerber)

- sušárna Model FED 400 (Binder)
- chladnička FKS 3600 (Liebherr)
- lednice CFKS 470 (Vestfrost)
- Testo 147T – datalogger teploty (Testo SE & Co. KGaA)
- autokláv DX-23 (Systec)
- autokláv DX-45 (Systec)
- autokláv BTE-23D (Boeco)
- analytické digitální váhy EW1500-2M (Kern)
- bezkontaktní infračervený teploměr GIM 530 MS (Greisinger)
- vodotěsný teploměr model 620-2017 (Traceable)

2.1.4 Použité programy a software

- Microsoft® Excel®, verze 2016, součást sady Microsoft 365®, Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA
- Microsoft® Word®, verze 2016, součást sady Microsoft 365®, Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA
- Mapy.cz

2.2 Metodika

2.2.1 Charakteristika odběrových míst

V roce 2023 v období od 11.9.2023 do 20.11.2023 byly prováděny pravidelné odběry na 2 profilech Labe, jednom profilu Orlice a také odběry ze samotné výpustě ČOV Hradec Králové (viz obr. 1). Za sledované období byly zaznamenány různé průtoky. Obě řeky jsou součástí povodí Labe. Sledované oblasti jsou vyznačeny na obr. 1. Všechny profily se nacházejí v Královehradeckém kraji, v aglomeraci Hradec Králové. Statutární město Hradec Králové se nachází na soutoku Labe s Orlicí. Celkem bylo z každého profilu odebráno 12 vzorků. Každý vzorek byl náležitě zapsán do Průvodního protokolu.

2.2.1.1 HK Labe – Náplavka

Vzorky v této lokalitě byly odebírány z pravého břehu na Náplavce (50.2131297N, 15.8274983E), kde řeka v tomto místě má šířku koryta zhruba 46 metrů (Mapy.cz, 2023). Průtok byl měřen na Hučáku. Dno na této lokalitě je písčito-hlinité.

2.2.1.2 Opatovice – břeh Vysoká nad Labem

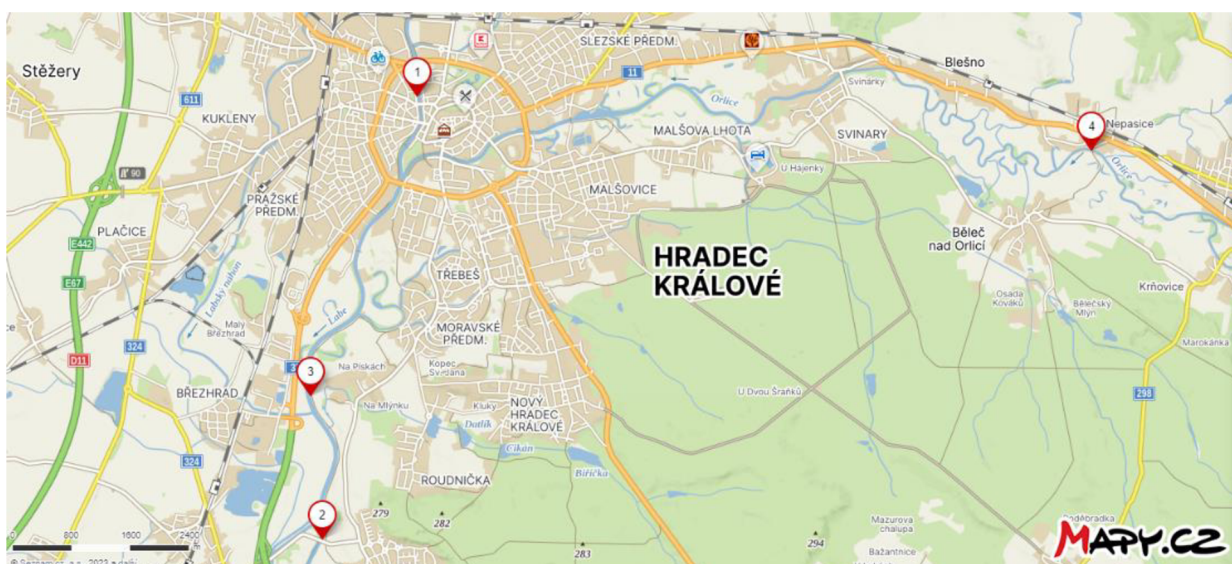
Vzorky v této lokalitě byly odebírány z pravého břehu pod železným silničním mostem (Labe, km 987,6, (150,3)). Odběrový profil je vzdálen cca 240 metrů za jezem a cca 2 km za výtokem ČOV HK. Dno na lokalitě má písčito-hlinitý charakter. Jakost této vody je ovlivňována soutokem Labe s Orlicí a výtokem ČOV HK. Řeka vytváří v tomto místě zhruba 64 m široké koryto (Mapy.cz, 2023). Průtok byl zaznamenáván v Němčicích.

2.2.1.3 Výtok ČOV HK

Vzorky v této lokalitě byly odebírány přímo z kanálu výpustě ČOV Hradec Králové (50.1766133N, 15.8072514E), kde se odpadní voda vlévá do levého břehu recipientu Labe (Mapy.cz, 2023). Průtok na této lokalitě měřen nebyl.

2.2.1.4 Orlice – Nepasice

Vzorky v této lokalitě byly odebírány z levého břehu pod silničním mostem (Orlice, km 12,9), kde má řeka šířku koryta zhruba 25 metrů (Mapy.cz, 2023). Řeka Orlice je pravostranným přítokem Labe v místě označovaném jako soutok. Jakost vody v tomto profilu je ovlivňována zejména hospodářskou činností. Dno tohoto profilu je písčito-hlinité. Průtok byl zaznamenáván v Týništi nad Orlicí.



¹ HK Labe – Náplavka; ² Opatovice – břeh Vysoká nad Labem; ³ Výtok ČOV HK; ⁴ Orlice – Nepasice

Obrázek 1. Mapa odběrových lokalit (Mapy.cz, 2023)

2.2.2 Odběr a přeprava vzorků

Vzorky byly odebírány v pravidelném intervalu na 4 vybraných lokalitách v ranních hodinách zhruba od 7:00 do 9:00. Odběr se prováděl vždy ze stejného, předem určeného místa. Během přepravy byly vzorky uchovávány v odběrovém boxu vybaveném chladícími vložkami pro zachování nízké teploty (7 – 11 °C).

Odběr se prováděl do sterilních plastových vzorkovnic o objemu 500 ml (viz obr. 2). Samotnému odběru předcházelo nasazení gumových rukavic a dezinfekce ethanolem. Vzorkovnice rozbalená z plastového obalu byla na odběrové lokalitě v příslušném místě označena pomocí lihové fixy datem a číslem lokality. Odběr byl prováděn natažením ruky, co nejdále, s otevřenou vzorkovnicí a jejím následným ponořením. Vzorkovnice by správně měla být ponořena do střední části toku asi 15 – 20 cm pod hladinu. Hrdlo muselo vždy směřovat proti proudu toku, aby voda natékala do vzorkovnice. Jako hrubá chyba se považuje odběr vody z povrchu hladiny, jelikož může být ovlivněn plovoucími nečistotami. U dvou profilů bylo nutné vstoupení do řeky cca 1 – 2 metry a kvůli rozvíření bylo nutné chvíli počkat. Po naplnění po rysku se vzorkovnice zavřela a uložila do odběrového boxu. V odběrovém boxu byly uchovávány všechny vzorkovnice i během transportu v chladu a temnu. Na všech profilech byla také kontinuálně měřena teplota vody v čase odběru pomocí vodotěsného teploměru.

Po příjezdu do laboratoře byly vzorky v co nejkratším čase zpracovány.

2.2.3 Příprava Endo agaru

Endo agar byl připraven navážením 41,5 g přípravku do 1000 ml destilované vody a zahřátím do úplného rozpuštění. Následovala sterilizace v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut. Dále byl roztok ochlazen na 45 – 50 °C. Před naléváním na Petriho misky byl roztok důkladně promíchán.

2.2.4 Metoda přímého výsevu

Tato metoda byla zpracována dle ČSN 83 0531-3, 6, ČSN 75 7835, ČSN 757837 a dle ČSN EN ISO 8199 (757810) do standardních pracovních postupů Povodí Labe. Metoda přímého výsevu je využívána ke stanovení přímého kvantitativního vyjádření počtu mikroorganismů v předem určeném objemu vody a k zachycení mikroorganismů kultivací na povrchu Endo agaru. Potvrzení příslušnosti bakterií do skupiny koliformních bakterií bylo následně prováděno cytochromoxidázovým testem.

Misky s připraveným Endo agarem byly vytaženy z lednice, kde jsou běžně skladovány. Následně byly umístěny do termostatu na předsušení před samotným použitím (viz obr. 2). V termostatu byly otevřené misky, dnem vzhůru, sušeny při 44 °C cca 10 – 15 minut do vysušení vysrážených kapek vody na miskách. Dostatečně protřepaný vzorek vody byl v laboratoři přelit ze vzorkovnice do lahvičky o objemu 100 ml. Před dalším zpracováním bylo nutné nechat vychlazený vzorek vytemperovat na laboratorní teplotu. Předsušené misky s Endo agarem byly po vyndání z termostatu vyrovnány na vydezinfikovanou pracovní plochu a náležitě ze spodní strany popsány (číslo lokality nahoře, dole ředění). Pro jednu lokalitu byly nasazeny 3 Petriho misky. Za aseptických podmínek byl do Petriho misky s Endo agarem pipetován 1 ml vzorku pomocí sterilní pipety, který byl předtím intenzivně protřepán (aby se mikroorganismy rovnoměrně rozptýlili v celém objemu vzorku) a vytemperován na laboratorní teplotu $24 \pm 0,5$ °C). Pro vzorek z každé lokality byla použita samostatná sterilní pipeta. Vzorek vody byl krouživým pohybem rozmístěn po celém povrchu agarů (viz obr. 2). Miska byla otevřená vždy jen na dobu nutnou, aby se co nejvíce zamezilo mikrobiálnímu spadu z okolí. Po naočkování byly vzorky vráceny do termostatu, kde se s nazdvihnutým víčkem nechali vyschnout cca 15 – 20 minut při 44 °C (viz obr. 2). Po zaschnutí naočkovaných vzorků vody se uzavřené Petriho misky uložily dnem vzhůru do termostatu a 24 hodin při 37 °C se kultivovaly.

Vzorky více znečištěné vody byly před očkovaním zředěny. Stupeň zředění určoval zkušený mikrobiolog. Ředění se provádělo v reagenčních lahvičkách se zábrusovou zátkou o obsahu 50 ml. Často bylo využíváno ředění 10x (desetinásobné), případně u velmi znečištěných vzorků i 100x (stonásobné). Jako zředovací složka byl použit fosforečnanový tlumivý ředící roztok. Na každý stupeň zředění byla použita nová sterilní pipeta.

2.2.5 Vyhodnocení

Po 24 hodinách (± 2 hodiny) byly nasazené Petriho misky vyjmuty z termostatu a ihned byly vyhodnocovány. Vyrostlé kolonie byly počítány na přístroji s LED osvětlením ColonyStar 8500. Při kultivaci na Endo agaru (koliformní bakterie) byly počítány laktóza pozitivní kolonie (purpurově červené, případně s kovovým leskem = *E. coli*). Na každé (nebo z náhodně vybraných při početnějším nárůstu na misce) kolonie narostlé na Endo agaru byl proveden CTO test. Počítány byly laktóza pozitivní kolonie s negativním CTO testem. Výsledek byl vyjádřen jako počet zjištěných KTJ/ml. Výsledné hodnoty byly

sepsány do tabulky v programu MS Excel, kde byl následně vytvořen aritmetický průměr ze tří hodnot napočítaných pro koliformní bakterie a pro *E. coli*.

Stanoveny byly koliformní bakterie fekálního původu a *E. coli*. Ve všech vzorcích byly stanoveny celkové počty bakterií. Kultivace probíhala metodou přímého výsevu na Endo agar. Z každého vzorku z dané lokality byly nasazeny 3 misky s Endo agarem. Celkem bylo počítáno 144 misek.

2.2.6 Cytochromoxidásový test

CTO test slouží k vyloučení bakteriálních skupin, které mají podobné biochemické a morfologické vlastnosti jako koliformní bakterie, ale nepatří do této skupiny bakterií. Na živnou půdu s narostlými koloniemi byl přikapáván CTO roztok pomocí plastové kličky, přímo ke koloniím, u kterých bylo nejisté jejich zařazení. Aby se zabránilo kontaminaci, bylo nutné se přímo nedotknout kolonie. Pokud se tak stalo, musela se klička vyměnit za novou sterilní. Jako cytochrom pozitivní bakterie jsou označovány ty, u kterých se po CTO testu v průběhu 2 minut vytvoří modrý prstenec. Tyto bakterie nejsou započítávány mezi koliformní bakterie. Naopak u cytochrom negativních bakterií neproběhne žádná barevná změna.

2.2.7 Dekontaminace

Dekontaminace probíhala dle platných standardních administrativních postupů Povodí Labe. Konkrétně „*Nakládání s odpady a závadnými látkami*“ (platnost od 1.1.2023), zpracovaných Ing. Dolénkem a schválených Ing. Medkem. Vzorky odebrané povrchové a odpadní vody byly likvidovány prostým vylitím do výlevky po příslušném naředění. Použité plastové vzorkovnice byly po sterilizaci v autoklávu dále likvidovány jako tuhý domovní odpad. S použitými pevnými médii s narostlými kulturami bylo nakládáno se zachováním pravidel bezpečnosti práce. Tuhé médium bylo vyjmutu pomocí dezinfikované pinzety z kultivační nádoby do polyethylenového pytle. Pytel byl po naplnění umístěn do bezpečnostní nádoby s označením Biohazard. Takováto nádoba byla dále skladována ve velkoobjemovém mrazícím boxu. Po určité době přijela smluvní organizace, která pravidelně odváží tento odpad k likvidaci do spalovny (Dolének, 2023).



Odběr vzorků, a následná doprava do laboratoře v odběrovém boxu.



Předsušení Endova agaru v sušárně, při 43°C cca 20 minut.



Temperování vzorku a důkladné protřepání před výsevem na Endův agar.



Výsev 1 ml vzorku pomocí automatické pipety dle metody přímého výsevu na povrch půdy.



Sušení naočkovaného vzorku na povrchu Endovy půdy při 43°C cca 20 minut.



Kultivace bakterií 24 hodin při 37 °C v termostatu.



Počítání narostlých kolonií po 24 hodinách.



Cytochromoxidázový test pro určení koliformních bakterií.

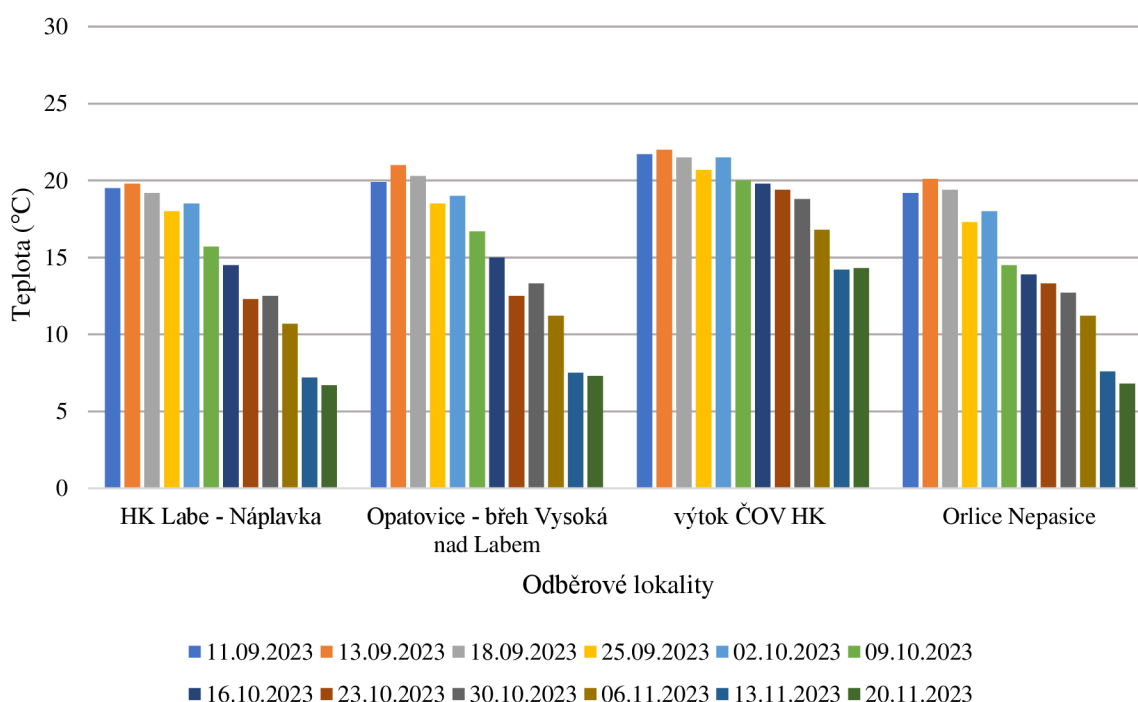
Obrázek 2. Schéma postupu stanovení koliformních bakterií od odběru až po vyhodnocení narostlých kolonií (Halamová, 2024)

3 Výsledky

3.1 Teplota vody

Co se týče ukazatele teploty vody popsané v příloze číslo 3 Nařízení vlády 401/2015 Sb. stanovuje jako limitní hranici teplotního znečištění povrchové vody 29 °C. Graf č. 1 zobrazuje naměřené teploty odběrových míst.

Graf 1. Teplota vody naměřená během sledovaného období na všech odběrových lokalitách.



Jak lze vidět v grafu č. 1, tato limitní hranice nebyla překročena. Nejvyšší naměřená teplota vody byla naměřena 13.9.2023 ve výtoku ČOV - a to 22 °C, naopak nejnižší teplota byla naměřena dne 20.11.2023 na lokalitě HK Labe - Náplavka a to 6,7 °C. Z grafu č. 1 je viditelná klesající tendence naměřených teplot vody.

3.2 Mikrobiologické ukazatele

Příloha číslo 3 Nařízení vlády 401/2015 Sb. dále stanovuje přípustné znečištění pro mikrobiologické ukazatele, a to konkrétně pro *E. coli*, intestinální enterokoky a termotolerantní (fekální) bakterie. Přípustné znečištění je uvedeno v jednotkách KTJ/100 ml a zprůměrováno na roční průměr. Podmínkou pro hodnocení tohoto nařízení je minimální délka monitoringu po dobu jednoho roku. Jelikož monitoring v této bakalářské

práci neprobíhal jeden rok, hodnocení výsledků dle Nařízení vlády 401/2015 Sb. není dále uváděno.

V této práci byla z mikrobiologických ukazatelů stanovována *E. coli* a koliformní bakterie. Dle výsledků v tabulce č. 1 byla maximální stanovená hodnota *E. coli* ze všech výsledků byla 533 KTJ/ml a u koliformních 177 KTJ/ml (zprůměrované hodnoty).

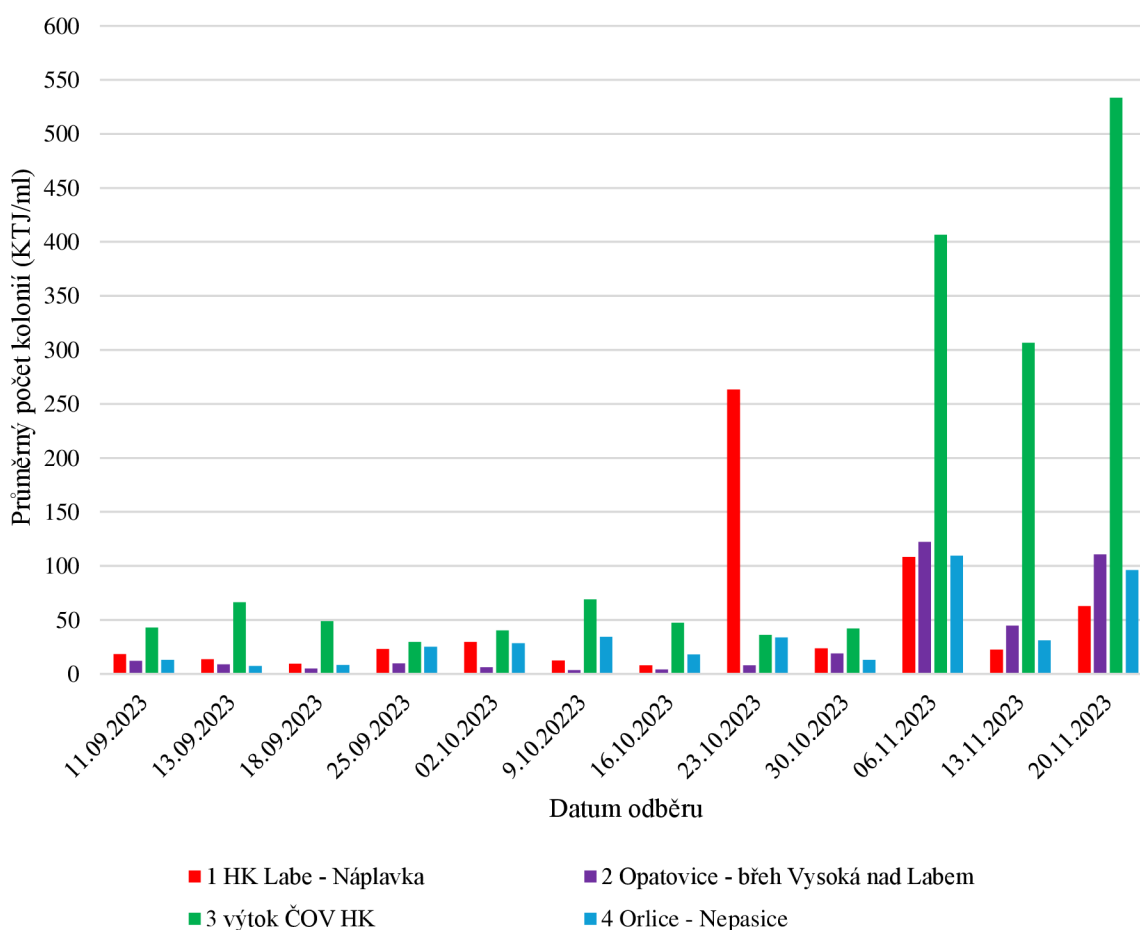
Tabulka 1. Statistické výsledky celkových hodnot ze všech lokalit pro stanovované mikrobiologické ukazatele.

Mikrobiologické ukazatele		n ¹	průměr	medián	min	max
<i>Escherichia coli</i>	KTJ/ml	144	63	29	3	533
koliformní bakterie	KTJ/ml	144	21	10	2	177

¹n – celkový počet nasazených misek.

Pozn. – hodnoty jsou zaokrouhleny na celá čísla.

Graf 2. Průměrné počty kolonií *E. coli* KTJ/ml na všech sledovaných lokalitách.

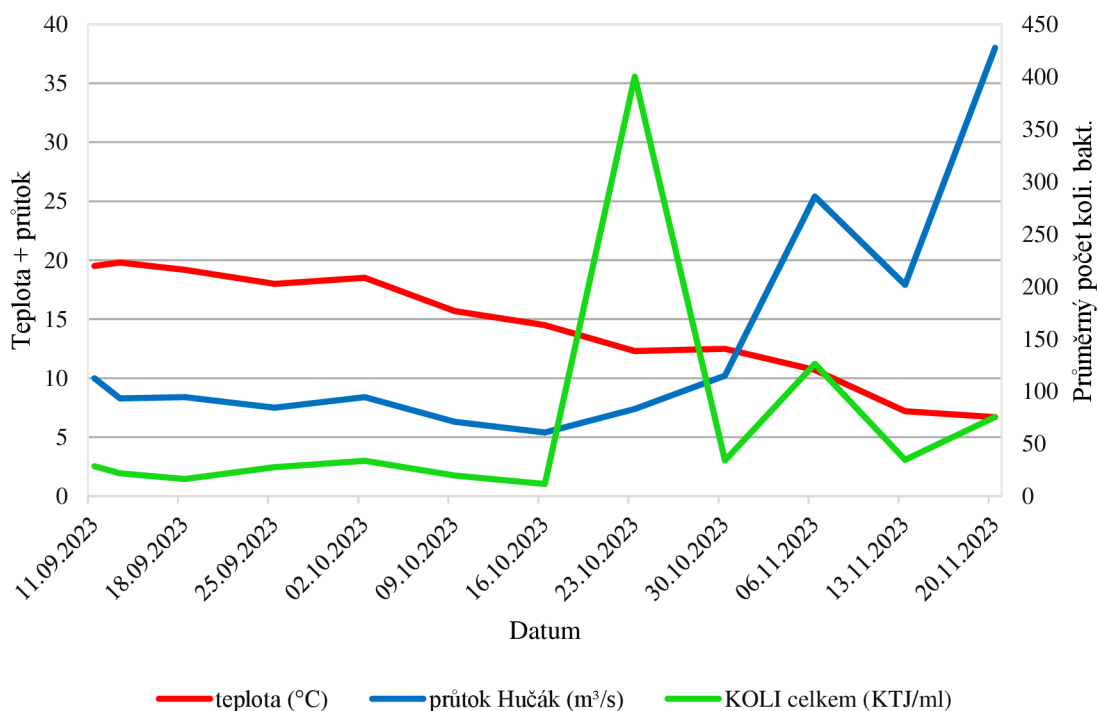


Z grafu č. 2, který popisuje průměrné počty kolonií *E. coli* je viditelný nárůst KTJ *E. coli* během sledovaného období. Dle předpokladu byly hodnoty stanovené z výtoku

ČOV HK ve většině odběrů vyšší než z ostatních odběrových lokalit. Během listopadu byly tyto hodnoty několikanásobně vyšší. Ke zvýšení došlo v listopadu i u ostatních profilů nejspíše vlivem vyššího úhrnu srážek po delší době sucha a s tím souvisejícím zvýšeným průtokem. V prvních dvou odběrových měsících panovalo sušší a teplé počasí bez velkých úhrnů srážek. V tomto období byly hodnoty *E. coli* ve většině případů pod 50 KTJ/ml (vyjma ČOV HK – zde hodnoty lehce přesahovaly 50 KTJ/ml). Nejvyšší hodnota byla stanovena v odběru ze dne 20.11.2023 na odběrové lokalitě výtoku ČOV HK a to konkrétně 533 KTJ/ml. Nejnižší průměrná hodnota byla stanovena ve vzorku z odběrového profilu v Opatovicích ze dne 9.10.2023 a to 3 KTJ/ml. Profil v Opatovicích byl lokalitou, kde se předpokládalo vyšší znečištění vlivem výpustě ČOV HK umístěné před tímto profilem, jakožto bodového zdroje znečištění. Tento předpoklad se nepotvrdil, ba naopak, profil v Opatovicích vynikal při většině stanoveních nízkými hodnotami KTJ/ml *E. coli* (vyjma listopadu). Z tohoto faktu se lze domnívat, že v recipientu Labe probíhá dostatečné naředění přečištěné odpadní vody vypouštěné z ČOV HK, dále také, že tok Labe má dobrou samočisticí schopnost.

3.2.1 HK Labe – Náplavka

Graf 3. Vliv teploty a průtoku na počet koliformních bakterií v lokalitě HK Labe – Náplavka.

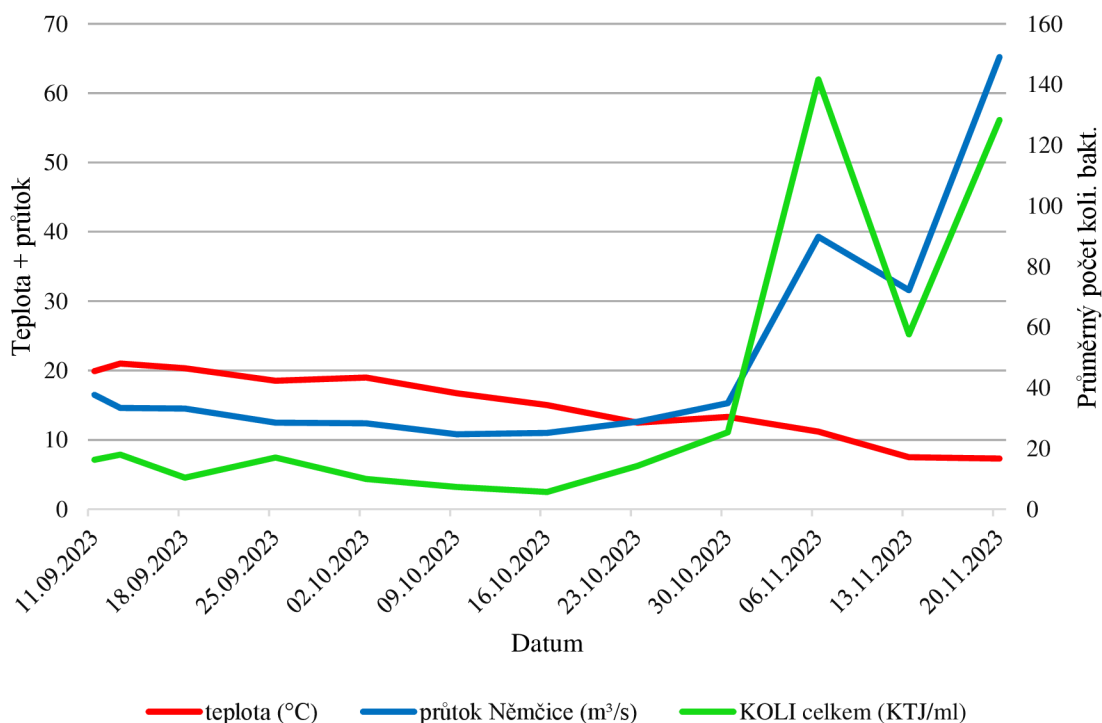


KOLI celkem = počet KTJ *E. coli* + koliformních bakterií v 1 ml vzorku

Z grafu č. 3 zobrazujícího teplotu, průtok a počet stanovených celkových koliformních bakterií (tzn. *E. coli* + koliformní bakterie) lze usoudit, že při zvyšujícím se průtoku se zvyšovali i hodnoty koliformních bakterií. Stejně tak i v opačné situaci, kdy se průtok snížil, snížily se i hodnoty celkových koliformních bakterií. Naopak teplota vody se během sledovaného období postupně snižovala. Chybný odběr či stanovení nastalo 23.10.2023, kdy hodnota celkových koliformních bakterií extrémně vzrostla až na 400 KTJ/ml. Tato chyba mohla být způsobena nechtěným odběrem exkrementu vodního ptactva, které se na této lokalitě vyskytuje. Druhá nejvyšší průměrná hodnota byla stanovena 6.11.2023 126,3 KTJ/ml při zvýšeném průtoku 25,4 m³/s. Hodnota 11,7 KTJ/ml ze dne 16.10.2023 je nejnižší stanovenou hodnotou průměrného počtu celkových koliformních bakterií na tomto profilu za současného průtoku 5,4 m³/s a teploty vody 14,5 °C. Podrobné informace o lokalitě a ukazatelích jsou uvedeny tab. 2 v příloze této práce.

3.2.2 Opatovice – břeh Vysoká nad Labem

Graf 4. Vliv teploty a průtoku na počet koliformních bakterií v lokalitě Opatovice – břeh Vysoká nad Labem.

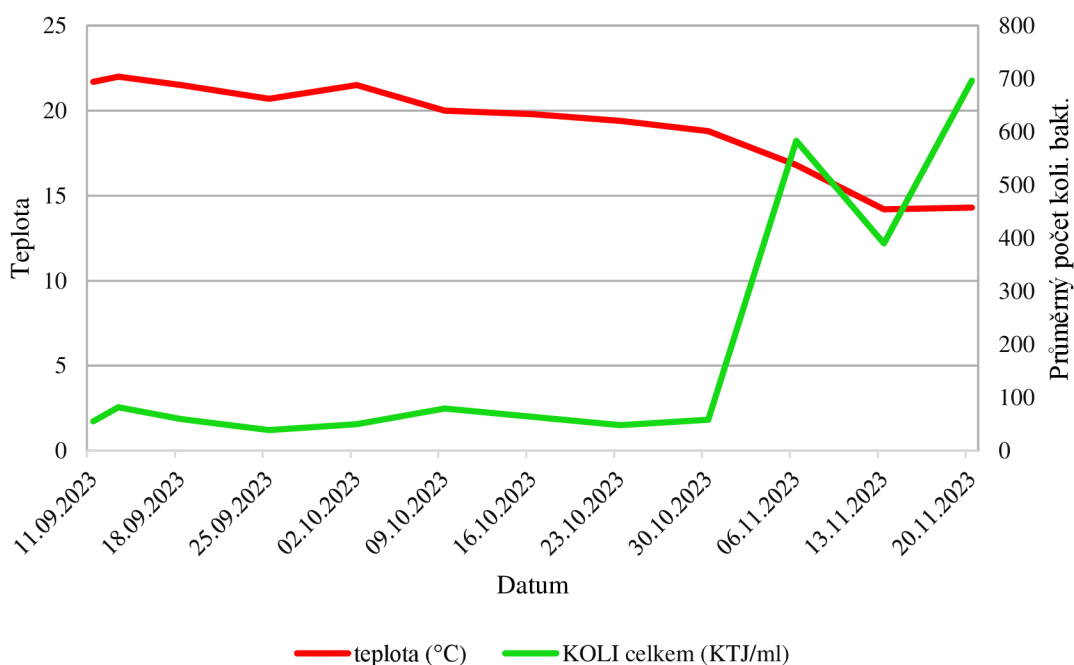


KOLI celkem = počet KTJ *E. coli* + koliformních bakterií v 1 ml vzorku

Z grafu č. 4 je vidět, že na profilu v Opatovicích měly stanovené hodnoty podobnou tendenci jako na profilu HK Labe Náplavka. Do listopadu nebyly zaznamenány prudké výkyvy teploty, průtoku a ani stanovených hodnot celkových koliformních bakterií. Ovšem se zvýšeným průtokem se zvýšily i průměrné hodnoty KTJ/ml celkových koliformních bakterií. Nejvyšší hodnota byla stanovena 6.11.2023 za průtoku 39,3 m³/s po delším období sucha, a to 141,7 KTJ/ml. Naopak nejnižší hodnota 5,7 KTJ/ml byla zaznamenána 16.10.2023 za současného průtoku 11 m³/s a teploty 15 °C. Podrobné informace o lokalitě a ukazatelích jsou uvedeny tab. 3 v příloze této práce.

3.2.3 Výtok ČOV HK

Graf 5. Vliv teploty na počet koliformních bakterií v lokalitě výtok ČOV HK.



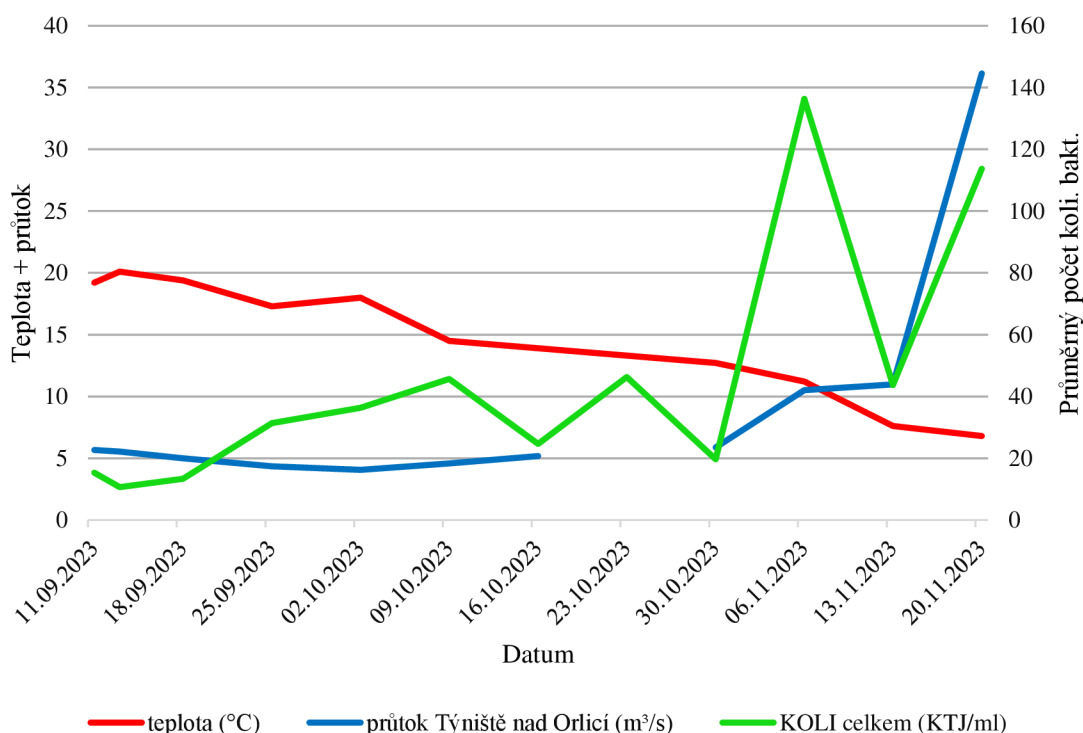
KOLI celkem = počet KTJ *E. coli* + koliformních bakterií v 1 ml vzorku

Na samotném výtoku ČOV HK byla zjišťována pouze teplota přitékající vyčištěné odpadní vody a průměrné počty celkových koliformních bakterií, jak je vidět v grafu č. 5. Hodnoty KTJ/ml byly dle předpokladu několikanásobně vyšší než na ostatních profilech, jelikož se jedná o odpadní vodu. Stanovení ze dne 6.11.2023, kdy na ostatních lokalitách byly stanoveny nejvyšší hodnoty celkových koliformních bakterií, v případě ČOV HK nebyl nejvyšší hodnotou, ale ostatní profily svou hodnotou převýšil čtyřnásobně. Nejvyšší hodnota průměrného počtu celkových koliformních bakterií byla stanovena 696,7 KTJ/ml v odběru ze dne 20.11.2023 za současné teploty vody 14,3 °C.

Hodnota 39 KTJ/ml je na této odběrové lokalitě nejnižší, co se týče stanovení průměrného počtu celkových koliformních bakterií. Podrobné informace o lokalitě a ukazatelích jsou uvedeny tab. 4 v příloze této práce.

3.2.4 Orlice Nepasice

Graf 6. Vliv teploty a průtoku na počet koliformních bakterií v lokalitě Orlice – Nepasice.



KOLI celkem = počet KTJ *E. coli* + koliformních bakterií v 1 ml vzorku

Na řece Orlici v Nepasicích byly, jak je vidět z grafu č. 6, stanoveny hodnoty KTJ/ml průměrného počtu celkových koliformních bakterií, teploty vody a průtoku, který bohužel kvůli výpadku při jednom odběru naměřen nebyl. Jako na většině ostatních profilech byla nejvyšší hodnota průměrného počtu celkových koliformních bakterií stanovena v odběru ze dne 6.11.2023 a to 136,3 KTJ/ml za současného průtoku 10,5 m³/s a teplotě 11,2 °C. Nejnižší hodnota 13,3 KTJ/ml celkových koliformních bakterií byla naměřena 13.9.2023 za průtoku 5,5 m³/s a teploty 20,1 °C. Podrobné informace o lokalitě a ukazatelích jsou uvedeny tab. 5 v příloze této práce.

4 Diskuze

Baudišová (1998) sledovala procentuální zastoupení *E. coli* v povrchových vodách (Labe a Vltava) mezi koliformními bakteriemi kultivací na Endo agaru, kde bylo procentuální zastoupení ve 24,7 % případů. V porovnání s mými výsledky jsou tyto hodnoty velmi nízké. Lze se tedy domnívat, že se v průběhu let buďto zvýšily koncentrace *E. coli* v tocích, nebo se zvýšilo usazování bakterie v biofilmech. Je také nutné podotknout, že ve studii nebyla stejná odběrová místa jako v mé práci. Výsledky Baudišové (1998) nemusely být ovlivněny odpadní vodou z ČOV, vysokými srážkami, které resuspendovali *E. coli* v toku, splachem z okolí a odlehčovacími zařízeními.

Dle ČSN 75 7221 se Labe v profilu Hradec Králové zařazuje do IV. třídy výsledné kvality, profil Opatovice do III. třídy a tok Orlice v profilu Nepasice do II. třídy (Skalická *et al.*, 2023). K významnému zlepšení jakosti povrchové vody v Labi přispěly rekonstrukce velkých ČOV v Hradci Králové a Pardubicích za účelem zvýšení účinnosti odstraňování nutrientů a zvýšení kapacity. Ve shodě je Baudišová *et al.* (2017) i Langhammer (2002) co se týče dlouhodobého trendu kvality povrchových vod v České republice, situace se zlepšuje hlavně díky modernizaci a zlepšení funkčnosti čistíren odpadních vod.

Řeka Orlice vykazuje II. třídu jakosti ve většině ukazatelů. Od roku 1995 (po dokončení ČOV) má setrvalou jakost vody a všechny ukazatele až na fekální koliformní bakterie splňují hodnoty přípustného znečištění (Skalická *et al.*, 2018). Z výsledků této práce je taktéž viditelné, že co se týče koliformních bakterií a *E. coli*, byly na profilu Orlice naměřeny vyšší hodnoty.

V nizozemské studii Vermeulen a Hofstra (2014) se měření *E. coli* pohybují od 0 do 83 000 KTJ/100 ml. Průměr dat je 1 847 KTJ /100 ml a střední hodnota je 410 KTJ /100 ml. Na tyto výsledky má vliv lokální klima a srážky, odtoky ČOV a kvalita čištěné odpadní vody, ale také míra osídlení a zemědělství. Při přepočtu vyjadřovaných výsledků v mé práci z 1 ml na 100 ml, je viditelné, že maximální hodnota v nizozemské studii je vyšší. V mé práci dosáhla maximální hodnota *E. coli* 53 333 KTJ/100 ml.

Londýnská studie z roku 2012 zkoumala kontaminaci řeky Temže bakterií *E. coli* v různých ročních obdobích a za různého počasí. *E. coli* byla detekována metodou

membránových filtrů. Obecně došlo ke zvýšení počtu bakterií na podzim. Dále došlo k prudkému nárůstu vlivem prudkých a vydatných dešťů. (Amirat *et al.*, 2012)

Relativní význam sedimentů jako bakteriálních biotopů a jako zdroje vodou přenášených fekálních koliformních bakterií a *E. coli* však nebyl rozpoznán až do nedávné doby, kdy velký počet publikací ukázal, že v mnoha případech resuspenze sedimentu spíše než splach z okolí, může zvýšit koncentrace *E. coli* ve vodě (Pachepsky *et Shelton*, 2011).

Výsledky americké studie naznačují, že koncentrace *E. coli* se obecně zvýšily se srážkami, naopak korelace s teplotou a koncentrací *E. coli* byla velmi slabá. Sezónní trendy *E. coli* ukazují, že nejvyšší koncentrace *E. coli* se vyskytovala v létě, zatímco zima vykazovala nejnižší koncentraci (Li *et al.*, 2023).

Autoři Baudišová a Mlejnková (2007), Pachepsky a Shelton (2011), Vermeulen a Hofstra (2014), Ye a Kameyama (2020) se shodují, že zvýšení srážek vede ke zvýšení koncentrace *E. coli* ve vodách. Nicméně je také důležité si uvědomit, že studované oblasti mohou mít jiné klimatické poměry, jinou hustotu osídlení či jinak účinné systémy čištění odpadních vod, kanalizační síť, a i jiné řešení odlehčovacích zařízení. Všechny tyto faktory mohou různými způsoby ovlivňovat výsledky. Významnou roli má také samotná lokalita a využití okolních pozemků.

Diskutabilní je také zvolená metoda kultivace bakterií, která mohla negativně ovlivnit výsledky. Dle Häuslera (1994) mezi nevýhody této metody patří mikrobiální spad do otevřených misek v termostatu při sušení a pomnožení mikroorganismů v rozprostřeném malém množství vody na povrchu. Často také dochází ke stékání vzorku k okraji misky vlivem nerovností poliček a manipulací. To, že naočkovaná miska není stále ve vodorovné poloze se může projevit nahromaděním kolonií u okraje a následně je tedy nelze kvantifikovat. Kontrola cytochromoxidázovým testem taktéž není snadno proveditelná při kvantitativním ověření všech narostlých kolonií.

Z uvedených studií a z mých výsledků lze usoudit, že největší vliv na zhoršení mikrobiální kontaminace toků mají srážky, a především přívalové deště po delším období sucha, jak vlivem splachů, tak i odlehčovacích zařízení a resuspendací. Dále se lze domnívat, že Labe má velkou kapacitu pro přijetí znečištění a jeho eliminace. Po zhruba 2 kilometrech na odběrovém místě v Opatovicích za výtokem ČOV HK již povrchová

voda nevykazovala zvýšenou mikrobiální kontaminaci. Tudiž lze vyvodit dobrou schopnost samočištění, dostatečné naředění, a sedimentaci.

Historická data

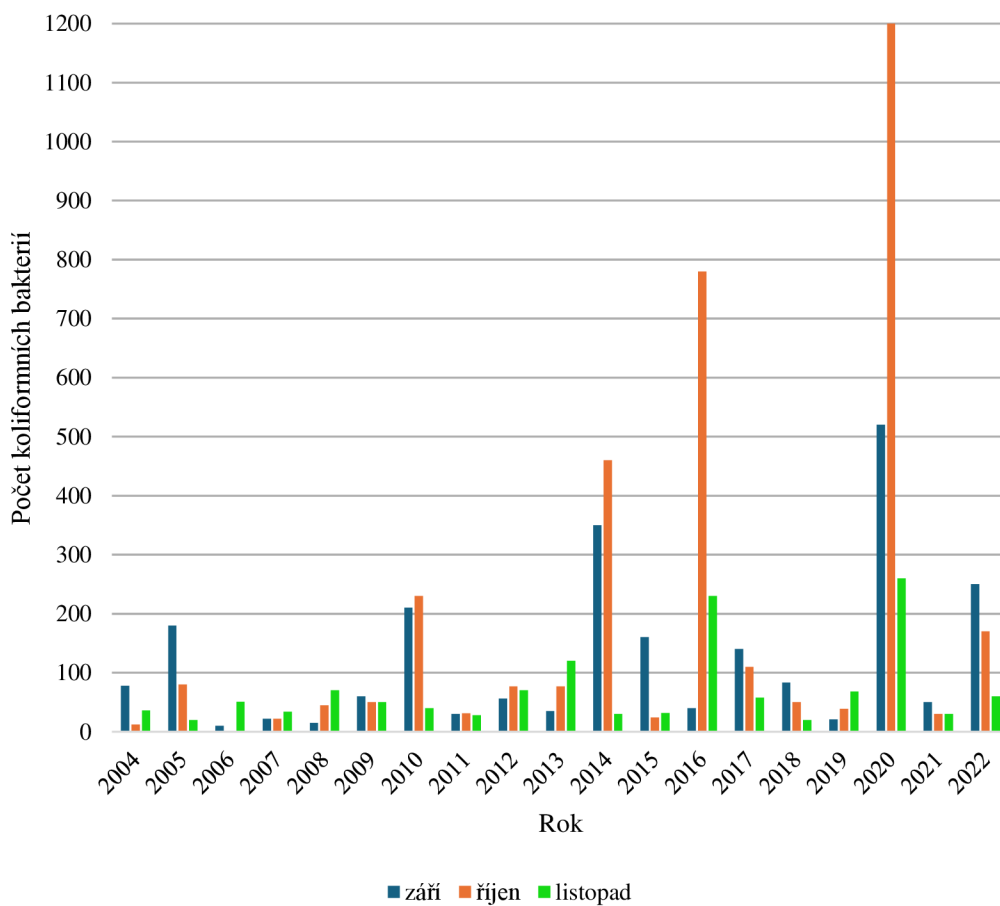
Historická data stanovených koliformních bakterií na lokalitách Hradec Králové, Opatovice a Nepasice byla poskytnuta Povodím Labe od roku 2004 až do roku 2022. Ze souboru dat byla vybrána pouze ty data, která byla stanovena ve stejném období jako vzorkování v této práci, tedy od září do listopadu. Vzorkování u lokalit s historickými daty neprobíhalo tak často jako v této práci, proto jsou v grafech uvedeny pouze jednotlivé měsíce, jelikož byl odběr prováděn pouze jednou za měsíc.

Data stanovená v této práci vykazují nárůst koliformních bakterií především v listopadu vlivem zvyšujícího se průtoku. Naopak během září a října byla stanovená data v porovnání s listopadem na většině lokalit nižší.

Situace u historických dat je poměrně odlišná. Říjen roku 2020, co se týče počtu koliformních bakterií, je hodnotami nejvyšší na lokalitě Hradec Králové a Nepasice. Na profilu Opatovic tomu tak ale není. Na profilu Opatovic byla nejvyšší hodnota stanovena v září 2014, a to 500 KTJ/ml.

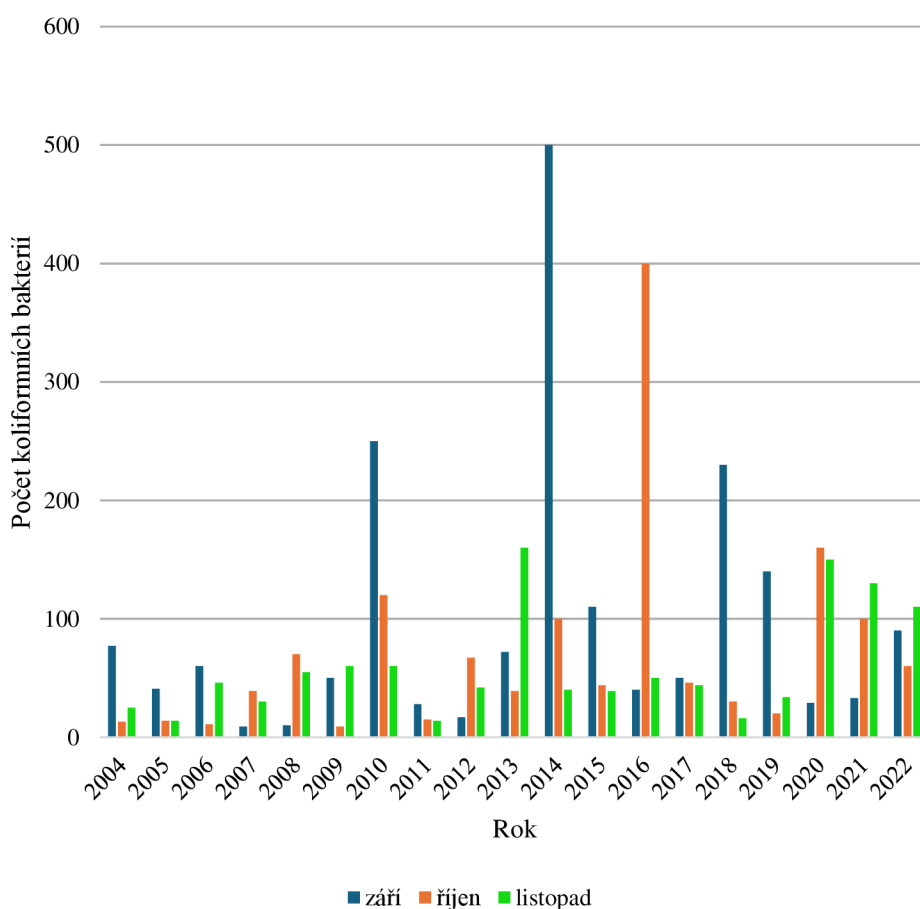
Pokud by se porovnály nejvyšší naměřené hodnoty v této práci s historickými daty na stejných lokalitách, lze usoudit, že co se týče znečištění koliformními bakteriemi není rok 2023 nijak extrémní.

Graf 7. Historická data znázorňující počet kol. bakt. v letech 2004 – 2022 (září – listopad) na lokalitě Hradec Králové.



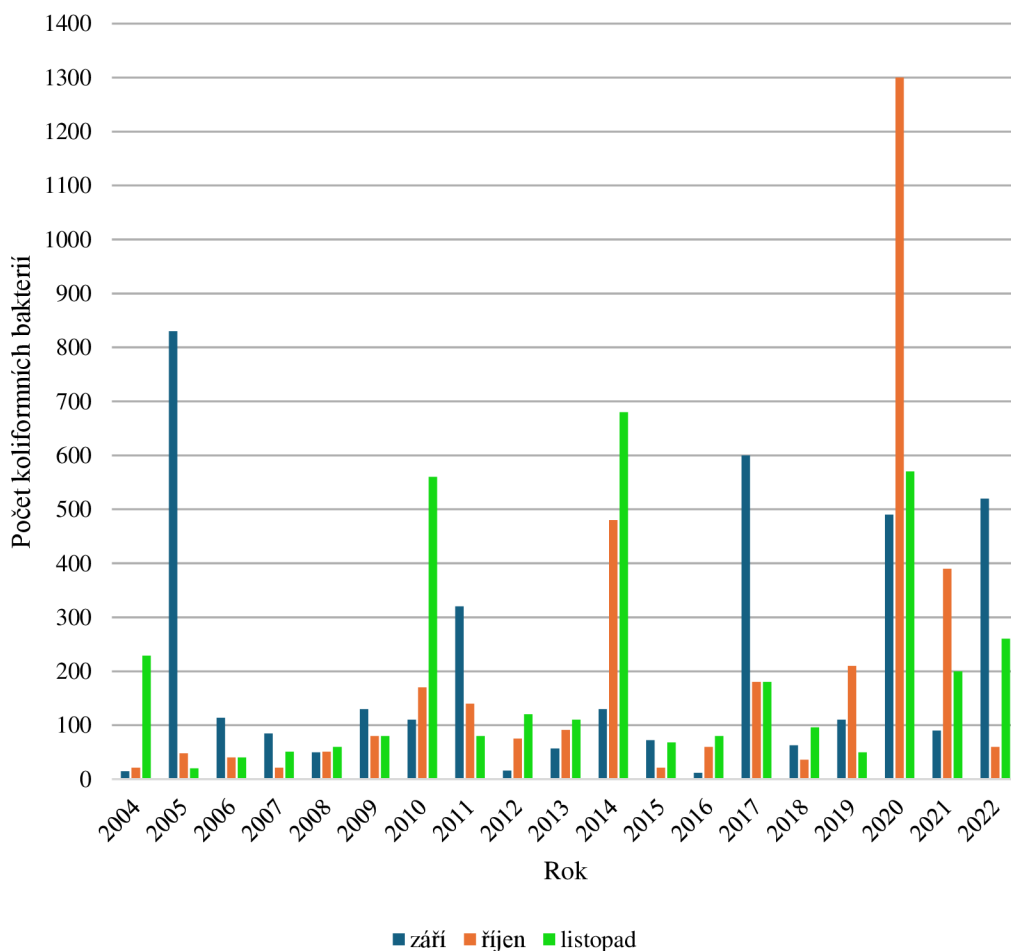
Při porovnání stanovených dat z profilu HK Labe Náplavka s historickými daty v lokalitě Hradec Králové, je nejvyšší naměřená hodnota z roku 2023 126,3 KTJ/ml (pokud se nezapočítává chybné stanovení) přesažena v roce 2005, 2010, 2014, 2016, 2020 a 2022 (viz. graf č. 7). Nejvyšší hodnota z historických dat byla stanovena v roce 2020 a to 1200 KTJ/ml, další je hodnota 780 KTJ/ml z roku 2016 a 460 KTJ/ml z roku 2014. Všechny tyto nejvyšší historické hodnoty byly naměřeny v říjnu. Nejnižší hodnota z historických dat byla stanovena v říjnu 2006 a to 0 KTJ/ml

Graf 8. Historická data znázorňující počet kol. bakt. v letech 2004 – 2022 (září – listopad) na lokalitě Opatovice.



V roce 2023 dosahovala nejvyšší stanovená hodnota na profilu Opatovic 141 KTJ/ml, což je v porovnání s historickými daty střední hodnota a je přesažena pouze v šesti letech (viz. graf č. 8). Nejvyšší hodnoty v rámci historických dat bylo dosaženo v roce 2014, a to 500 KTJ/ml. Nejnižší hodnota roku 2023 byla 5,7 KTJ/ml, v historických datech byla nejnižší stanovenou hodnotou 9 KTJ/ml z let 2007 a 2009.

Graf 9. Historická data znázorňující počet kol. bakt. v letech 2004 – 2022 (září – listopad) na lokalitě Nepasice.



Nejvyšší naměřená hodnota 136,3 KTJ/ml v roce 2023 na profilu Orlice Nepasice je oproti historickým datům velmi nízká, jelikož je přesažena hned deseti lety z historických dat (viz. graf č. 9). Hodnota 1300 KTJ/ml z roku 2020 je nejvyšší stanovenou hodnotou na tomto profilu v rámci historických dat. 12 KTJ/ml je nejnižší hodnotou z historických dat stanovenou v září roku 2016, čemuž se přibližuje nejnižší hodnota stanovená v roce 2023 13,3 KTJ/ml.

Závěr

V teoretické části této práce bylo mým cílem shrnutí poznatků o ČOV HK, koliformních bakteriích a *E. coli*. V jednotlivých kapitolách jsou shrnuty i zásady správného odběru vzorku povrchové vody, manipulace se vzorkem a jeho kultivace metodou přímého výsevu.

Cíle praktické části byly taktéž splněny. Mikrobiologickým rozbořem odebraných vzorků byl zjištěn obsah koliformních bakterií a *E. coli*, jež byl následně porovnán s teplotou vody a průtokem. Dle očekávání se ve vyčištěné odpadní vodě vyskytovalo největší množství koliformních bakterií a *E. coli* KTJ/ml, tudíž výtok ČOV HK figuruje jako zdroj bodového znečištění recipientu Labe. Nicméně účinnost čištění v ČOV HK se díky modernizaci a rekonstrukcím zlepšuje. Zároveň bylo zjištěno, že nárůst počtu mikroorganismů souvisí více se zvýšeným průtokem nežli s teplotou. Z výsledků mikrobiologických stanovení se lze domnívat, že na profilu Labe funguje dobrá samočisticí schopnost toku, jelikož na odběrové lokalitě v Opatovicích umístěné zhruba 2 km pod výtokem ČOV HK byly naměřeny ve většině případů nejnižší hodnoty koliformních bakterií a *E. coli*.

Z porovnání zjištěných výsledků mikrobiální kontaminace s historickými daty je možné se domnívat, že dochází k pozitivnímu vývoji trendu, díky zlepšujícím se technologickým postupům čištění odpadních vod. Nicméně se zpřísňující se legislativou a klimatickými výkyvy bude nutné vyvíjet lepší metody čištění odpadních vod. Spojení znalostí z hydrobiologie, mikrobiologie a ekologie by mohlo napomoci porozumět příčinám a úrovním znečištění a pomoci navrhnout dlouhodobé strategie ke zlepšení jakosti vod.

Propojení mezi klimatickými proměnnými a *E. coli* může být cenné pro budoucí předpověď kvality vody a vývoj strategií pro zlepšení kvality vod. Cílem ČOV by měl být vývin a instalace technologií, které budou schopné odstraňovat znečištění s vyšší účinností, dále i antibiotické látky a další farmaka, aby nedocházelo ke zvyšování rezistence bakterií.

V budoucí práci by bylo možné se zaměřit na dlouhodobé sledování více ukazatelů jakosti vod, pro zhodnocení komplexního stavu jakosti vybraných profilů. Případně i odebírání vzorků odpadní vody přímo v čistírně odpadních vod.

Seznam použité literatury

ADÁMEK, Z., HELEŠIC, J., MARŠÁLEK, B., RULÍK, M. *Aplikovaná hydrobiologie*. 1. vyd. Vodňany: VÚRH JU Vodňany, 2008, 256 s. Učebnice. ISBN 978-80-85887-79-2.

AMBROŽOVÁ, J. *Aplikovaná a technická hydrobiologie*. 2. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2003. ISBN 80-7080-521-8. [online]. [cit. 2024-04-07]. Dostupné z: http://147.33.74.135/knihy/uid_isbn-80-7080-521-8/pages-img/030.html

AMIRAT, L., WILDEBOER, D., ABUKNESHA, R., PRICE, R. *Escherichia coli contamination of the river Thames in different seasons and weather conditions*. Water and Environment Journal. 2012. 26. 10.1111/j.1747-6593.2012.00308.x. [online]. [cit. 2024-04-22]. Dostupné z: https://www.academia.edu/51358998/Escherichia_coli_contamination_of_the_river_Thames_in_different_seasons_and_weather_conditions?uc-g-sw=97147525

AMOS, G. C., ZHANG, L., HAWKEY, P. M., GAZE, W. H., WELLINGTON, E. M. *Functional metagenomic analysis reveals rivers are a reservoir for diverse antibiotic resistance genes*. Vet Microbiol. 2014 Jul 16;171(3-4):441-7. doi: 10.1016/j.vetmic.2014.02.017. Epub 2014 Feb 16. PMID: 24636906. [online]. [cit. 2024-04-22]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113514000947>

AVERY, L.M., WILLIAMS, A.P., KILLHAM, K., JONES, D.L. *Survival of Escherichia coli O157:H7 in waters from lakes, rivers, puddles and animal-drinking troughs*, Science of The Total Environment, Volume 389, Issues 2–3, 2008, Pages 378-385, ISSN 0048-9697. [online]. [cit. 2024-04-25]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969707009382>

BADUROVÁ, J. *Mikrobiální znečištění vypouštěných odpadních vod městských čistíren*. VTEI, 2011, roč. 53, č. 3, str. 17–19, příloha Vodního hospodářství č. 6/2011. [online]. [cit. 2024-03-24]. Dostupné z: https://www.vtei.cz/wp-content/uploads/2015/08/vtei_2011_3.pdf

BALZER, M., WITT, N. FLEMMING, H.C., WINGENDER, J. *Faecal indicator bacteria in river biofilms*. Water Science Technology, 2010, vol. 61, No. 5, p. 1105–1111. DOI: 10.2166/wst.2010.022. PMID: 20220231. [online]. [cit. 2024-03-23]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20220231/>

BAUDIŠOVÁ, D. *Escherichia coli v povrchových vodách*. VTEI, 2007, roč. 49, č. 3, str. 1-4, příloha Vodního hospodářství 3/2007. ISSN 0322 – 8916. [online]. [cit. 2024-03-27]. Dostupné z: https://www.vtei.cz/wp-content/uploads/2015/08/2007_3.pdf

BAUDIŠOVÁ, D., BENÁKOVÁ, A. *Detekce patogenních bakterií v odpadních vodách*. VTEI, 2011, roč. 53, č. 5, str. 1–2, příloha Vodního hospodářství č. 10/2011. [online]. [cit. 2024-03-23]. Dostupné z: https://www.vtei.cz/wp-content/uploads/2015/08/2007_3.pdf_5.pdf

BAUDIŠOVÁ, D., MLEJNKOVÁ, H. *Mikrobiální znečištění povrchových vod*. VTEI, 2017, roč. 59, č. 6, str. 12–16. ISSN 0322-8916. [online]. [cit. 2024-03-23]. Dostupné z: https://www.vtei.cz/wp-content/uploads/2015/08/2007_3.pdftění povrchových vod | VTEI

BAUDIŠOVÁ, D. *Metody mikrobiologického rozboru vody: (příručka pro hydroanalytické laboratoře)*. 1. vyd. Praha: Výzkumný ústav vodohospodářský T. G. Masaryka, 2017. 123 str. ISBN 978-80-87402-61-0.

BAUDIŠOVÁ, D. *Mikrobiální zatížení Labe*. VTEI, 1998, roč. 40, č. 11, str. 409–416. ISSN 0322-8916.

BAUDIŠOVÁ, D., BENÁKOVÁ, A., HLAVÁČEK, J. *Vliv zvýšených průtoků na změny mikrobiální kontaminace vody v povodí Olešky*. VTEI, 2012, roč. 54, č. 1, str. 13–16. [online]. [cit. 2024-03-23]. Dostupné z: https://www.vtei.cz/wp-content/uploads/2015/08/2007_3.pdf2_1-1.pdf

BAUDIŠOVÁ, D., BOBKOVÁ, Š., JAKUBŮ, V., JELIGOVÁ, H., KOŽÍŠEK, F. *Bakterie z čeledi Enterobacteriaceae v recyklovaných vodách, metody jejich stanovení a citlivost na vybraná antibiotika*. VTEI, 2022, roč. 64, č. 4, str. 4–9. ISSN 0322-8916. [online]. [cit. 2024-03-25]. Dostupné z: <https://www.vtei.cz/2022/08/bakterie-z-celedi-enterobacteriaceae-v-recyklovaných-vodách-metody-jejich-stanovení-a-citlivost-na-vybrana-antibiotika/>

BITTON, G. *Wastewater microbiology. 4th edition.* John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, New Jersey, 2011, 781 pp. ISBN: 9780470630334

BRÉCHET, C., PLANTIN, J., SAUGET, M., THOUVEREZ, M., TALON, D., CHOLLEY, P., GUYEUX, CH., HOCQUET, D., BERTRAND, X. *Wastewater Treatment Plants Release Large Amounts of Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Escherichia coli Into the Environment*, Clinical Infectious Diseases, Volume 58, Issue 12, 15 June 2014, Pages 1658–1665, <https://doi.org/10.1093/cid/ciu190>. [online]. [cit. 2024-04-22]. Dostupné z: <https://academic.oup.com/cid/article/58/12/1658/303849>

CABRAL, J. P. S. *Water microbiology. Bacterial pathogens and water.* International journal of environmental research and public health, 2010, 7.10: 3657-3703. [online]. [cit. 2024-04-27]. Dostupné z: <https://www.mdpi.com/1660-4601/7/10/3657#b131-ijerph-07-03657>

ČSN 75 7221 (757221) *Kvalita vod - Klasifikace kvality povrchových vod.* 2017. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2011, 20 s. Třídící znak 757221.

ČSN 75 7835. *Jakost vod – stanovení termotolerantních koliformních bakterií a Escherichia coli.* Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2009, 12 s. Třídící znak 7577835.

ČSN 75 7837. *Jakost vod – stanovení koliformních bakterií v nedesinfikovaných vodách.* Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2010, 8 s. Třídící znak 7577837.

ČSN EN ISO 8199 (757810). *Jakost vod – Obecné požadavky a návod pro stanovení mikroorganismů kultivačními metodami* Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2019, 56 s. Třídící znak 7577810.

ČSN EN ISO 5667-6 (757051). *Kvalita vod - Odběr vzorků - Část 6: Návod pro odběr vzorků z řek a potoků.* Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2017, 32 s. Třídící znak 757051.

DA SILVA, G. J. , MENDONCA, N. *Association between antimicrobial resistance and virulence in Escherichia coli.* Virulence. 2012 Jan-Feb;3(1):18-28. doi: 10.4161/viru.3.1.18382. Epub 2012 Jan 1. PMID: 22286707. [online]. [cit. 2024-04-25]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22286707/>

DATEL, J. V. *Komplexní faktografická rešerše existujících odborných dokumentů zabývajících se problematikou vody a vodního hospodářství, které se vztahují ke Královehradeckému kraji*. Praha: Výzkumný ústav vodohospodářský T.G. Masaryka, v.v.i., srpen 2017, číslo výtisku 1/3, 86 str. [online]. [cit. 2024-04-06]. Dostupné z: https://www.khk.cz/assets/krajsky-urad/ziv-prostredi-zemedelstvi/aktuality/vodni-hospodarstvi/HK_souhrnna_zprava.pdf

DEVANE, M. L., MORIARTY, E., WEAVER, L., COOKSON, A., GILPIN, B. *Fecal indicator bacteria from environmental sources; strategies for identification to improve water quality monitoring*, Water Research, Volume 185, 2020, 116204, ISSN 0043-1354, [online]. [cit. 2024-04-26]. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116204>.

DVOŘÁK, V. *Mikrobiologie a virologie – úvod do praktických cvičení*. UHK: Hradec Králové, 2012 (studijní on-line materiál PřF UHK, CZ.1.07/2.2.00/28.0118).

EDBERG, S. C., RICE, E. W., KARLIN, R. J., ALLEN, M. J. *Escherichia coli: the best biological drinking water indicator for public health protection*. Journal of Applied Microbiology. 2000, volume 88, issue 1, pages 106-116.

FUKSA, J. K. *Sucho a vliv čistíren odpadních vod na řeky*. Vodní hospodářství, 2020, str. 4-7. [online]. [cit. 2024-04-06]. Dostupné z: <https://vodnihospodarstvi.cz/sucho-a-vliv-cistiren-odpadnich-vod-na-reky/>

FUKSA, J. K., SMETANOVÁ, L. *Vliv Prahy na jakost vody ve Vltavě a v českém Labi*. VTEI, 2022, roč. 64, č. 3, str. 4–14. DOI: 10.46555/VTEI.2022.03.002. [online]. [cit. 2024-03-26]. Dostupné z: <https://www.vtei.cz/wp-content/uploads/2022/06/6454-casopis-VTEI-3-22.pdf>

FUKSA, J. K. *Toky jako recipienty odpadních vod – dnes a zítra*. VTEI, 2007, roč. 49, č. 3, příloha Vodního hospodářství 3/2007, str. 1- 4. ISSN 0322 – 8916. [online]. [cit. 2024-03-27]. Dostupné z: https://www.vtei.cz/wp-content/uploads/2015/08/2007_3.pdf

GARCIA-ARMISEN, T., VERCAMMEN, K., PASSERAT, J., TRIEST, D., SERVAIS, P., CORNELIS, P. *Antimicrobial resistance of heterotrophic bacteria in sewage-contaminated rivers*, Water Research, Volume 45, Issue 2, 2011, Pages 788-796, ISSN 0043-1354. [online]. [cit. 2024-04-25]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0043135410006329>

HÄUSLER, J. *Mikrobiologické kultivační metody kontroly jakosti vod. D. 2., Mikrobiologický rozbor vod.* Praha: Ministerstvo zemědělství ČR, 1994, 164 str. ISBN 80-7084-107-9.

HÄUSLER, J. *Mikrobiologické kultivační metody kontroly jakosti vod: receptář.* Praha: Agrospoj, 1995, 129 str. ISBN 80-7084-126-5.

HÄUSLER, J., ADÁMEK, R., JOHNOVÁ, V. *Mikrobiologický rozbor pitné a povrchové vody.* Praha: Ministerstvo lesního a vodního hospodářství, 1984, 92 str.

HOŠEK, V., HOFMANOVÁ, A. *Kanalizační řád města Hradec Králové.* Hradec Králové: 2019, 57 str. Vodovody a kanalizace Hradec Králové, a.s. [online]. [cit. 2024-04-05]. Dostupné z: <https://www.khp.cz/res/archive/1683/227883.pdf?seek=1571223720>

HURYCH, J., ŠTÍCHA, R. *Lékařská mikrobiologie: repetitorium. 2. vydání.* Praha: Stanislav Juhaňák - Triton, 2021. ISBN 978-80-7553-900-7.

CHART, H. *VTEC enteropathogenicity.* Journal of Applied Microbiology, Volume 88, Issue S1, 1 December 2000, Pages 12S–23S, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2000.tb05328.x>

CHEN, H. J., CHANG, H. Response of discharge, TSS, and E. coli to rainfall events in urban, suburban, and rural watersheds. Environmental Science: Processes & Impacts, 2014, 16.10: 2313-2324. [online]. [cit. 2024-04-26]. Dostupné z: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-84907816067&origin=inward&txGid=e44c28770edf19f846c53794a0d4c235>

JALLIFFIER-VERNE, I., LECONTE, R., HUARINGA-ALVAREZ, U., HENICHE, M., MADOUX-HUMERY, A. S., AUTIXIER, L., GALARNEAU, M., SERVAIS, P., PRÉVOST, M., DORNER, S. *Modelling the impacts of global change on concentrations of Escherichia coli in an urban river,* Advances in Water Resources, Volume 108, 2017, Pages 450-460, ISSN 0309-1708, [online]. [cit. 2024-04-26]. <https://doi.org/10.1016/j.advwatres.2016.10.001>.

KAPER, J. B., NATARO, J. P., MOBLEY, H. L. *Pathogenic Escherichia coli.* Nat Rev Microbiol. 2004 Feb;2(2):123-40. doi: 10.1038/nrmicro818. PMID: 15040260. [online]. [cit. 2024-04-27]. Dostupné z: <https://www.nature.com/articles/nrmicro818>

KAPER, J. B., NATARO, J. P., MOBLEY, H. LT. *Pathogenic escherichia coli*. Nature reviews microbiology, 2004, 2.2: 123-140. [online]. [cit. 2024-04-25]. Dostupné z: <https://www.nature.com/articles/nrmicro818>

KARRASH, B., MEHRENS, M., LINK, U.. (2009). *Increased incidence of saprophytic bacteria, coliforms and E. coli following severe flooding requires risk assessment for human health: Results of the River Elbe flood in August 2002*. Journal of Flood Risk Management. 2. 16-23. DOI: 10.1111/j.1753-318X.2009.01017.x. [online]. [cit. 2024-04-22]. Dostupné z: https://www.academia.edu/97147525/Increased_incidence_of_saprophytic_bacteria_coliforms_and_E_coli_following_severe_flooding_requires_risk_assessment_for_human_health_results_of_the_River_Elbe_flood_in_August_2002?uc-sb-sw=106360041

KIM, G., HUR, J. *Mortality rates of pathogen indicator microorganisms discharged from point and non-point sources in an urban area*. Journal of Environmental Sciences, 2010, 22.6: 929-933. [online]. [cit. 2024-04-27]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S100107420960200X>

KOCZURA, R., MOKRACKA, J., JABLÓNSKA, L., GOZDECKA, E., KUBEK, M., KAZNOWSKI, A. *Antimicrobial resistance of integron-harboring Escherichia coli isolates from clinical samples, wastewater treatment plant and river water*, Science of The Total Environment, Volume 414, 2012, Pages 680-685, ISSN 0048-9697. [online]. [cit. 2024-04-25]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969711012289>

KRAAY, A. N., MAN, O., LEVY, M. C., LEVY, K., IONIDES, E., EISENBERG, J. N. *Understanding the impact of rainfall on diarrhea: testing the concentration-dilution hypothesis using a systematic review and meta-analysis*. Environmental health perspectives, 2020, 128.12: 126001. [online]. [cit. 2024-04-26]. Dostupné z: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85097377680&origin=inward&txGid=843b1d3355622cab26877f0ea2f41363>

KRÁL, P., STANĚK, R. *Převedení anaerobní stabilizace kalu ČOV Hradec Králové na termofilní proces*. Praha: Sovak, prosinec 2022, ročník 31, str. 7-11. ISSN 1210-3039. [online]. [cit. 2024-04-06]. Dostupné z: <https://www.sovak.cz/sites/default/files/2023-12/Sovak122272.pdf>

LANGHAMMER, J. *Kvalita povrchových vod a jejich ochrana*. Praha: Katedra fyzické geografie a geoekologie PřF UK, 2002, 225 str. Skripta. [online]. [cit. 2024-04-07]. Dostupné z: https://web.natur.cuni.cz/~langhamr/lectures/wq/skripta/skriptaWQ_2009_web.pdf

LI, R., FILIPPELLI, G., WANG, L. *Precipitation and discharge changes drive increases in Escherichia coli concentrations in an urban stream*, *Science of The Total Environment*, Volume 886, 2023, 163892, ISSN 0048-9697. [online]. [cit. 2024-04-25]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969723025135>

LIM, J. Y., YOON, J. W., HOVDE, C. J. *A brief overview of Escherichia coli O157: H7 and its plasmid O157*. *Journal of microbiology and biotechnology*, 2010, 20.1: 5. [online]. [cit. 2024-04-27]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3645889/>

MAPY.CZ. Hradec Králové. Online. Seznam.cz, 2023. Dostupné z: <https://mapy.cz/zakladni?vlastnibody&ut=Nov%C3%BD%20bod&ut=Nov%C3%BD%20bod&ut=Nov%C3%BD%20bod&ut=Orlice%20%20Nepasice&uc=9kAPnxYh.vdkNxYSSjfeJl8O9k85ExYfeo&ud=50%C2%B012%2746.831%22N%2C%2015%C2%B049%2739.004%22E&ud=50%C2%B09%2732.596%22N%2C%2015%C2%B048%2733.884%22E&ud=50%C2%B010%2735.675%22N%2C%2015%C2%B048%2725.908%22E&ud=Nepasice%2C%20T%C5%99ebechovice%20pod%20Orebem%2C%20Hradec%20Kr%C3%A1lov%C3%A9&x=15.8851311&y=50.1882281&z=13>, [citováno 7.12.2023].

MARTINEZ, J. L. The role of natural environments in the evolution of resistance traits in pathogenic bacteria. *Proc Biol Sci.* 2009 Jul 22;276(1667):2521-30. doi: 10.1098/rspb.2009.0320. Epub 2009 Apr 8. PMID: 19364732; PMCID: PMC2684669. [online]. [cit. 2024-04-25]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2684669/>

MCGEE, P., BOLTON, D. J., SHERIDAN, J. J., EARLEY, B., KELLY, G., LEONARD, N. *Survival of Escherichia coli O157:H7 in farm water: its role as a vector in the transmission of the organism within herds*, *Journal of Applied Microbiology*, Volume 93, Issue 4, 1 October 2002, Pages 706–713, <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2002.01752.x> [online]. [cit. 2024-04-25].

MCKERGOW, L. A., DAVIES-COLLEY, R. J. *Stormflow dynamics and loads of Escherichia coli in a large mixed land use catchment*. Hydrological Processes: An International Journal, 2010, 24.3: 276-289. [online]. [cit. 2024-04-25]. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/hyp.7480>

MEDEMA, G. J., SHAW, S., WAITE, M., SNOZZI, M., MORREAU, A., GRABOW, W. *Catchment characteristics and source water quality*. In *Assessing Microbial Safety of Drinking Water Improving Approaches and Method*, WHO & OECD, IWA Publishing: London, UK, 2003; pp. 111–158. [online]. [cit. 2024-04-27]. Dostupné z: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/42790/9241546301.pdf?sequence=1>

MLEJNKOVÁ, H., ŠMÍDA, A., VALÁŠEK, V. *Vliv odpadních vod na mikrobiální kontaminaci Vltavy pod Prahou*. VTEI, 2023, roč. 65, str. 4-12. DOI: 10.46555/VTEI.2023.05.002. [online]. [cit. 2024-03-26]. Dostupné z: <https://www.vtei.cz/wp-content/uploads/2023/08/6575-casopis-VTEI-4-23.pdf>

MLEJNKOVÁ, H., HORÁKOVÁ, K. *Jakost povrchových a podzemních vod za povodňové situace – kontaminace záplavových vod bakteriemi*. VTEI, 2004, roč. 46, č. 1, str. 6–8, příloha Vodního hospodářství č. 1/2004. [online]. [cit. 2024-03-26]. Dostupné z: https://www.vtei.cz/wp-content/uploads/2015/08/2004_1.pdf

MLEJNKOVÁ, H. *Výskyt fyziologických skupin bakterií v říční vodě a sedimentu*. Praha: Výzkumný ústav vodohospodářský T.G. Masaryka, 2000. ISBN 80-85900-33-5.

Nařízení vlády č. 401/2015 Sb., 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. [online]. [cit. 2024-04-06]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2015-401>

NICHOLS, G., LANE, C., ASGARI, N., VERLANDER, N. Q., CHARLETT, A.. *Rainfall and outbreaks of drinking water related disease and in England and Wales*. Journal of water and health, 2009, 7.1: 1-8. [online]. [cit. 2024-04-26]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18957770/>

OSIŇSKA, A. , KORZENIEWSKA, E., HARNISZ, M., NIESTEPSKI, S. *The prevalence and characterization of antibiotic-resistant and virulent Escherichia coli strains in the municipal wastewater system and their environmental fate*, Science of The Total Environment, Volume 577, 2017, Pages 367-375, ISSN 0048-9697. [online]. [cit.

2024-04-22]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969716323944>

PACHEPSKY, Y. A., SHELTON, D. R. *Escherichia coli and fecal coliforms in freshwater and estuarine sediments*. Critical reviews in environmental science and technology, 2011, 41.12: 1067-1110. [online]. [cit. 2024-04-26]. Dostupné z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10643380903392718>

PACHEPSKY, Y., STOCKER, M., SALDAÑA, MO., SHELTON, D. *Enrichment of stream water with fecal indicator organisms during baseflow periods*. *Environ Monit Assess.* 2017 Jan; 189 (2): 51. DOI: 10.1007/s10661-016-5763-8. Epub 2017 Jan 6. PMID: 28063117. [online]. [cit. 2024-04-04]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28063117/>

PANDEY, P. K., KASS, P. H., SOUPIR, M. L., BISWAS, S., SINGH, V. P. *Contamination of water resources by pathogenic bacteria*. *Amb Express*, 2014, 4: 1-16. [online]. [cit. 2024-04-26]. Dostupné z: <https://amb-express.springeropen.com/articles/10.1186/s13568-014-0051-x>

PIORKOWSKI, GS., JAMIESON, RC., HANSEN, LT., BEZANSON, GS., YOST, CK. *Characterizing spatial structure of sediment E. coli populations to inform sampling design*. *Environ Monit Assess.* 2014 Jan; 186 (1): 277-91. DOI: 10.1007/s10661-013-3373-2. PMID: 23959344. [online]. [cit. 2024-04-04]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23959344/>

PITTER P. *Hydrochemie*. 4th ed. Praha: VŠCHT Praha, 2009. 363 str. ISBN 978-80-7080-701-9. [online]. [cit. 2024-04-05]. Dostupné z: http://147.33.74.135/knihy/uid_isbn-978-80-7080-701-9/pages-pdf/363.html

PITTER, P. *Hydrochemie*. 5. aktualizované a doplněné vydání. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2015. 568 str. ISBN 978-80-7080-928-0. [online]. [cit. 2024-04-05]. Dostupné z: https://vydavatelstvi.vscht.cz/katalog/publikace?uid=uid_isbn-978-80-7080-928-0

PONGMALA, K., AUTIXIER, L., MADOUX-HUMERY, A. S., FUAMBA, M., GALARNEAU, M., SAUVÉ, S., PRÉVOST, M., DORNER, S. *Modelling total suspended solids, E. coli and carbamazepine, a tracer of wastewater contamination from combined sewer overflows*, *Journal of Hydrology*, Volume 531, Part 3, 2015, Pages 830-

839, ISSN 0022-1694, [online]. [cit. 2024-04-27].
<https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2015.10.042>.

DOLÉNEK, P. *Příručka kvality zkušební laboratoře, příloha: Standardní pracovní postupy Bio*; Povodí Labe, 2023.

RIZZO, L., MANAIA, C., MERLIN, C., SCHWARTZ, T., DAGOT, C., PLOV, M. C., MICHAEL, I., FATTA-KASSINOS, D. *Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment: A review*, Science of The Total Environment, Volume 447, 2013, Pages 345-360, ISSN 0048-9697. [online]. [cit. 2024-04-25]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969713000429>

ROCHELLE-NEVALL, E., RIBOLZI, O., VIGUIER, M. *et al. Effect of land use and hydrological processes on Escherichia coli concentrations in streams of tropical, humid headwater catchments*. Sci Rep 6, 32974 (2016). [online]. [cit. 2024-04-26]. <https://doi.org/10.1038/srep32974>

RULÍK, M., BAUDIŠOVÁ, D., RŮŽIČKA, J., ŠIMEK, K. *Mikrobiální ekologie vod*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2013. ISBN 978-80-244-3477-3.

ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ, J., VEJMELOVÁ, D., ČIHÁKOVÁ, P. *Technická mikrobiologie a hydrobiologie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2017. ISBN 978-80-7080-986-0.

SHELTON, D. R., KARNS, J. S., HIGGINS, J. A., VAN KESSEL, J. A. S., PERDUE, M. L., BELT, K. T., RUSSELL-ANELLI, J., DEBROY, CH. *Impact of microbial diversity on rapid detection of enterohemorrhagic Escherichia coli in surface waters*, FEMS Microbiology Letters, Volume 261, Issue 1, August 2006, Pages 95–101, <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2006.00334.x> [online]. [cit. 2024-04-25]. Dostupné z: <https://academic.oup.com/femsle/article/261/1/95/539213>

SKALICKÁ, I., ZAPLETAL, T. *Zpráva o hodnocení jakosti povrchových vod pro území ve správě Povodí Labe, státní podnik. Vodohospodářská bilance za rok 2022*. Hradec Králové: Povodí Labe, státní podnik, 2023.

SKALICKÁ, I., ZAPLETAL, T., KOVÁŘ, A., POPELKOVÁ, J. *Zpráva o hodnocení jakosti povrchových vod v územní působnosti Povodí Labe. Vodohospodářská*

bilance za rok 2017, období 2012 – 2017 a výhled k roku 2027. Hradec Králové: Povodí Labe, státní podnik, 2018.

SOLLER, JA., SCHOEN, ME., BARTRAND, T., RAVENSCROFT, JE., and ASHBOLT, NJ. (2010) *Estimated human health risks from exposure to recreational waters impacted by human and non-human sources of faecal contamination*. *Water Research*, vol. 44, No. 16, p. 4674–4691. [online]. [cit. 2024-03-25]. Dostupné z: https://id.elsevier.com/as/authorization.oauth2?platSite=SD%2Fscience&additionalPlatSites=GH%2Fgeneralhospital%2CRX%2Freaxys%2CSC%2Fscopus&scope=openid%20email%20profile%20els_auth_info%20els_idp_info%20els_idp_analytics_attrs%20els_sa_discover%20urn%3Acom%3Aelsevier%3Aidp%3Aproduct%3Ainst_assoc&response_type=code&redirect_uri=https%3A%2F%2Fwww.sciencedirect.com%2Fuser%2Fidentity%2Flanding&authType=SINGLE_SIGN_IN&prompt=login&client_id=SDFE-v4&state=retryCounter%3D0%26csrfToken%3D51576bca-6c25-4f74-a74f-938f79f9b106%26idpPolicy%3Durn%253Acom%253Aelsevier%253Aidp%253Aproduct%253Ainst_assoc%26returnUrl%3D%252Fscience%252Farticle%252Fabs%252Fpii%252FS0043135410004367%253Fvia%25253Dihub%26prompt%3Dlogin%26cid%3Darp-04b765a6-97dd-434d-a6a1-c5e6f628cc6b

ŠÝKORA, V., KUJALOVÁ, H., PITTER, P. *Hydrochemie: pro studenty bakalářského studia*. 1. vydání. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2016. 219 str. ISBN 978-80-7080-949-5. [online]. [cit. 2024-04-05]. Dostupné z: https://vydavatelstvi.vscht.cz/katalog/publikace?uid=uid_isbn-978-80-7080-949-5

ŠAJER, J. *Modelová interpretace výsledků měření mísící zóny v Labi pod vypouštěním z ČOV Hradec Králové*, *Journal of Hydrology and Hydromechanics*, 2010, roč. 58, č. 2, str. 126–13. [online]. [cit. 2024-04-06]. Dostupné z: <https://intapi.sciendo.com/pdf/10.2478/v10098-010-0012-2>

ŠTĚPÁN, J. *Plán rozvoje vodovodů a kanalizací Královehradeckého kraje*. Hradec Králové: Ekologický rozvoj a výstavba s. r. o., 2018, 58 str. [online]. [cit. 2024-04-06]. Dostupné z: https://portal.cenia.cz/eiasea/download/U0VBX0hLSzAwOEtfb3puYW1lbmlfMzExNDQyMTk0NDYzODYwMjE5NS5wZGY/HKK008K_oznameni.pdf

Technické normy ČSN. ČSN EN ISO 5667-6: 2001. [online]. 2022-11-01 [cit. 2024-02-29]. Dostupné z: <https://www.technicke-normy-csn.cz/csn-en-iso-5667-6-757051-226200.html#>

TITILAWO, Y., OBI, L., OKOH, A. *Antimicrobial resistance determinants of Escherichia coli isolates recovered from some rivers in Osun State, South-Western Nigeria: Implications for public health*, Science of The Total Environment, Volume 523, 2015, Pages 82-94, ISSN 0048-9697. [online]. [cit. 2024-04-25]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969715003708>

TYRREL, S. F. *The microbiological quality of water used for irrigation*. IRRIGATION NEWS-SILSOE-UK IRRIGATION ASSOCIATION-, 1998, 39-42. [online]. [cit. 2024-04-25]. Dostupné z: <https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=9f8294e1644b15c8d4ef3b4a61f9c855e23ee7ea>

VAK Hradec Králové, a.s. (s. a): *Čistírna odpadních vod Hradec Králové*. Veolia, voda, Královehradecká provozní, a.s. Propagační leták.

VERMEULEN, L. C., HOFSTRA, N. *Influence of climate variables on the concentration of Escherichia coli in the Rhine, Meuse, and Drentse Aa during 1985–2010*. Regional environmental change 14, 2014, 307-319. [online]. [cit. 2024-04-26]. <https://doi.org/10.1007/s10113-013-0492-9>

VLČEK, J. *Spolupráce vodárny s obcemi v okrese Hradec Králové při přípravě a realizaci zvyšování kapacit čistíren odpadních vod*. Praha: Sovak, prosinec 2022, roč. 31, 4. ISSN 1210-3039. [online]. [cit. 2024-04-06]. Dostupné z: <https://www.sovak.cz/sites/default/files/2023-12/Sovak122272.pdf>

Vodovody a kanalizace Hradec Králové, a.s. (s. a): *ČOV Hradec Králové* [online]. [cit. 2024-04-05]. Dostupné z: <https://www.vakhk.cz/COV-Hradec-Kralove.html>

YANG, S., CARLSON, K. *Evolution of antibiotic occurrence in a river through pristine, urban and agricultural landscapes*, Water Research, Volume 37, Issue 19, 2003, Pages 4645-4656, ISSN 0043-1354. [online]. [cit. 2024-04-25]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0043135403003993>

YE, F., KAMEYAMA, S. *Long-term spatiotemporal changes of 15 water-quality parameters in Japan: An exploratory analysis of countrywide data during 1982–2016*,

Chemosphere, Volume 242, 2020, 125245, ISSN 0045-6535, [online]. [cit. 2024-04-27].
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125245>.

Zákon č. 254/2001 Sb., o vodách a o změně některých zákonů (vodní zákon). In:
Zákony pro lidi.cz [online]. © AION CS 2010–2024 [cit. 29. 4. 2024]. Dostupné z:
<https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2001-254>

Seznam obrázků

Obrázek 1. Mapa odběrových lokalit (Mapy.cz, 2023)

Obrázek 2. Schéma postupu stanovení koliformních bakterií od odběru až po vyhodnocení narostlých kolonií (Halamová, 2024)

Seznam tabulek

Tabulka 1. Statistické výsledky celkových hodnot ze všech lokalit pro stanovované mikrobiologické ukazatele.

Dále uvedené tabulky se nacházejí v příloze.

Tabulka 2. Kompletní výsledky mikrobiologických ukazatelů, průtoku a teplot na lokalitě HK Labe – Náplavka.

Tabulka 3. Kompletní výsledky mikrobiologických ukazatelů, průtoku a teplot na lokalitě Opatovice – břeh Vysoká nad Labem.

Tabulka 4. Kompletní výsledky mikrobiologických ukazatelů a teplot na lokalitě výtok ČOV HK.

Tabulka 5. Kompletní výsledky mikrobiologických ukazatelů, průtoku a teplot na lokalitě Orlice Nepasice.

Seznam grafů

Graf 1. Teplota vody naměřená během sledovaného období na všech odběrových lokalitách.

Graf 2. Průměrné počty kolonií *E. coli* KTJ/ml na všech sledovaných lokalitách.

Graf 3. Vliv teploty a průtoku na počet koliformních bakterií v lokalitě HK Labe – Náplavka.

Graf 4. Vliv teploty a průtoku na počet koliformních bakterií v lokalitě Opatovice – břeh Vysoká nad Labem.

Graf 5. Vliv teploty na počet koliformních bakterií v lokalitě výtok ČOV HK.

Graf 6. Vliv teploty a průtoku na počet koliformních bakterií v lokalitě Orlice – Nepasice.

Graf 7. Historická data znázorňující počet kol. bakt. v letech 2004 – 2022 (září – listopad) na lokalitě Hradec Králové.

Graf 8. Historická data znázorňující počet kol. bakt. v letech 2004 – 2022 (září – listopad) na lokalitě Opatovice.

Graf 9. Historická data znázorňující počet kol. bakt. v letech 2004 – 2022 (září – listopad) na lokalitě Nepasice.

Přílohy

Tabulka 2. Kompletní výsledky mikrobiologických ukazatelů, průtoku a teplot na lokalitě HK Labe – Náplavka.

datum	teplota vody (°C)	čas odběru	průtok Hučák (m ³ /s)	E-coli ¹ (KTJ/ml)	koli CTO ² (KTJ/ml)	KOLI celkem ³ (KTJ/ml)
11.09.2023	19,5	7:10	10,0	18,33	10,33	28,7
13.09.2023	19,8	7:00	8,3	13,67	8,33	22,0
18.09.2023	19,2	6:40	8,4	9,33	7,00	16,3
25.09.2023	18	7:00	7,5	23,00	4,67	27,7
02.10.2023	18,5	7:05	8,4	29,67	4,00	33,7
09.10.2023	15,7	7:05	6,3	12,33	7,33	19,7
16.10.2023	14,5	7:00	5,4	8,00	3,67	11,7
23.10.2023	12,3	7:05	7,4	263,33	136,67	400,0
30.10.2023	12,5	7:10	10,2	23,67	10,33	34,0
06.11.2023	10,7	7:15	25,4	108,33	18,00	126,3
13.11.2023	7,2	7:10	17,9	22,33	12,33	34,7
20.11.2023	6,7	7:20	38,0	62,67	13,00	75,7

¹ průměrný počet KTJ *E. coli*; ² průměrný počet KTJ koliformních bakterií s negativním CTO testem;

³ celkový průměrný počet KTJ *E. coli* + koliformních bakterií.

Tabulka 3. Kompletní výsledky mikrobiologických ukazatelů, průtoku a teplot na lokalitě Opatovice – břeh Vysoká nad Labem.

datum	teplota vody (°C)	čas odběru	průtok Němčice (m ³ /s)	E-coli ¹ (KTJ/ml)	koli CTO ² (KTJ/ml)	KOLI celkem ³ (KTJ/ml)
11.09.2023	19,9	7:30	16,5	12,00	4,33	16,3
13.09.2023	21	7:55	14,6	8,67	9,33	18,0
18.09.2023	20,3	7:45	14,5	5,00	5,33	10,3
25.09.2023	18,5	7:55	12,5	9,67	7,33	17,0
02.10.2023	19	8:05	12,4	6,00	4,00	10,0
09.10.2023	16,7	7:50	10,8	3,33	4,00	7,3
16.10.2023	15	7:45	11	4,00	1,67	5,7
23.10.2023	12,5	7:50	12,6	8,00	6,33	14,3
30.10.2023	13,3	7:45	15,3	19,00	6,33	25,3
06.11.2023	11,2	7:55	39,3	122,33	19,33	141,7
13.11.2023	7,5	7:50	31,6	44,67	13,00	57,7
20.11.2023	7,3	8:00	65,2	110,67	17,67	128,3

¹ průměrný počet KTJ *E. coli*; ² průměrný počet KTJ koliformních bakterií s negativním CTO testem;

³ celkový průměrný počet KTJ *E. coli* + koliformních bakterií.

Tabulka 4. Kompletní výsledky mikrobiologických ukazatelů a teplot na lokalitě výtok ČOV HK.

datum	teplota vody (°C)	čas odběru	E-coli ¹ (KTJ/ml)	koli CTO ² (KTJ/ml)	KOLI celkem ³ (KTJ/ml)
11.09.2023	21,7	8:05	43,00	12,67	55,7
13.09.2023	22	7:35	66,33	15,67	82,0
18.09.2023	21,5	7:20	48,67	11,33	60,0
25.09.2023	20,7	7:40	29,67	9,33	39,0
02.10.2023	21,5	7:45	40,33	9,67	50,0
09.10.2023	20	7:35	69,00	10,33	79,3
16.10.2023	19,8	7:35	47,33	16,33	63,7
23.10.2023	19,4	7:40	36,00	12,00	48,0
30.10.2023	18,8	7:35	42,00	16,33	58,3
06.11.2023	16,8	7:40	406,67	176,67	583,3
13.11.2023	14,2	7:40	306,67	83,33	390,0
20.11.2023	14,3	7:50	533,33	163,33	696,7

¹ průměrný počet KTJ *E. coli*; ² průměrný počet KTJ koliformních bakterií s negativním CTO testem;

³ celkový průměrný počet KTJ *E. coli* + koliformních bakterií.

Tabulka 5. Kompletní výsledky mikrobiologických ukazatelů, průtoku a teplot na lokalitě Orlice Nepasice.

datum	teplota vody (°C)	čas odběru	průtok Týniště nad Orlicí (m ³ /s)	E-coli ¹ (KTJ/ml)	koli CTO ² (KTJ/ml)	KOLI celkem ³ (KTJ/ml)
11.09.2023	19,2	9:10	5,7	13,00	2,33	15,3
13.09.2023	20,1	8:30	5,5	7,33	3,33	10,7
18.09.2023	19,4	8:15	5,0	8,33	5,00	13,3
25.09.2023	17,3	8:30	4,4	25,00	6,33	31,3
02.10.2023	18	8:35	4,1	28,33	8,00	36,3
09.10.2023	14,5	8:20	4,6	34,33	11,33	45,7
16.10.2023	13,9	8:20	5,2	18,00	6,67	24,7
23.10.2023	13,3	8:20		33,67	12,67	46,3
30.10.2023	12,7	8:20	5,9	13,00	6,67	19,7
06.11.2023	11,2	8:25	10,5	109,67	26,67	136,3
13.11.2023	7,6	8:25	11,0	31,00	12,67	43,7
20.11.2023	6,8	8:40	36,1	96,33	17,33	113,7

¹ průměrný počet KTJ *E. coli*; ² průměrný počet KTJ koliformních bakterií s negativním CTO testem;

³ celkový průměrný počet KTJ *E. coli* + koliformních bakterií.