

356.33:614.777-078

VOYŠETŘOVÁNÍ VOJENSKÝCH MÍSTNÍCH ZDROJŮ PITNÉ VODY BIOLOGICKOU (MIKROSKOPICKOU) ANALÝZOU

Prom. biolog Jaromír VEGER

Vojenský ústav hygieny, epidemiologie a mikrobiologie, Praha

Získání co největšího počtu kritérií pro posuzování vhodnosti vody jako pitné předpokládá vyšetření vzorků vody všemi dnes známými způsoby, pokud jsou běžné laboratoři dostupné (15). Komplexní vyšetření usnadňuje co nejpřesnější ohodnocení zdravotní nezávadnosti vyšetřované vody a současně určení hygienického stavu zdroje, ze kterého vzorek pochází. Mezi metody paralelního vyšetřování patří také biologická analýza, která svou časovou citlivostí stojí mezi bakteriologickým a chemickým vyšetřením.

Význam biologické analýzy v míru a za války

Opodstatnění této analýzy vychází z faktu, že téměř každá voda v přírodě je oživena a tudíž schopna být biologicky vyšetřována (3), a z poznatku, že biocenóza — životní společenstvo vodních organismů — je výslednicí životního prostředí. Při této analýze využíváme tedy ekologického zákona jednoty organismu a prostředí.

Se změnou životního prostředí (u pozemních vod jde hlavně o změnu chemického složení vody v důsledku proniknutí povrchové nebo odpadní vody do zdroje) dochází podle podmínek dříve či později i k změně biocenózy. Změna vyžaduje určitý čas. Naopak vyžaduje delší čas, i když vlivy podmiňující změnu pominuly, než nastanou podmínky pro návrat k původnímu stavu. V tomto časovém rozpětí je velká výhoda biologické analýzy, neboť nám usnadňuje celkovou představu o hygienickém stavu vody a vodního zdroje v delším časovém intervalu než např. bakteriologické vyšetření, které nás informuje spíše o momentálním stavu. Tímto způsobem je možno zjistit i občasné znečišťování, které při jednorázovém vyšetření bakteriologicky nemusíme vůbec zachytit. Současně nám výsledek analýzy může nepřímo napovědět, zda je jeho technické vybavení dostatečné (13,15) — a o to se při prevenci zásadně zajímáme. Při pátrání po původu znečištění, zvl. je-li příčinou povrchová voda, může být biologický rozbor jedinou možnou cestou zjištění (9). Předpokladem pro použitelnost této analýzy je, že voda nebyla dezinfikována. Ovšem i v tomto případě není bezcenná. Může např. potvrdit nedostatečný dezinfekční efekt. Kromě toho se biologická analýza uplatňuje jinak, zvl. při vodárenském provozu. Často vysvětlí fyzikální závady způsobené mikroorganismy (sediment, zákal, zápach, pachůť). Je rozhodujícím činitelem při řešení některých důležitých technických otázek vodního zásobování (např. záměna dvojitých vodovodů, kontrola práce čisticích zařízení vodárenského provozu, ocenění hygienického a technického stavu rezervoárů, potrubí, určení místa a příčiny vzniku

biokorozivních jevů apod. (6, 12, 15)). Taková zjištění je možno využít i u místního zásobování u kombinací studna—vodovod, při používání malých filtrů apod.

Přednostmi jsou rychlost analýzy, nenáročnost technického zpracování, potřeba malého množství vody, analýza je laciná a použitelná celoročně.

Z hlediska armádních potřeb je důležitá ještě jedna okolnost. Zatímco v době mírové je biologická analýza pomocnou součástí celkového vyšetření, v době mimořádných událostí může být zapracování v této analýze, zkušenosti a získání hlubších znalostí o vodních organismech značně výhodné, neboť se uvažuje na základě teoretických předpokladů a experimentálních prací o použití biologických objektů při detekci otravných látek a radioaktivního zamoření ve vodě.

U vodních mikroorganismů probíhají základní životní pochody až 20 000× rychleji než u člověka (4,15). Z toho vyplývá větší citlivost k toxickým faktorům oproti vyšším organismům. Při nález jakéhokoli živého organismu ve vodě můžeme tedy okamžitě usuzovat na netoxičnost vody a naopak, nález uhynulých nebo totální nepřítomnost organismů naznačují možnost nějakého zásahu do vodního prostředí (3).

K zjištění toxických faktorů není vyloučeno ani použití biologického testu pomocí čistých kultur organismů. Biologický test by bylo možno použít i jako kontrolu odmoření vody v polních úpravárnách. Zde je důležitý také fakt, že toxické látky se mohou vzájemně v účinku podporovat, nebo i rušit. Konečný toxický účinek nemůže zjistit nejpodrobnější chemický rozbor, ale biologický test ano (1). Navíc nutno brát v úvahu, že chemický rozbor je orientován na otravné látky známé, ale mohou se vyskytnout i látky dosud neznámé, které používané chemické metody nemusí vůbec zjistit. Rovněž tento nedostatek je u biologického testu vyloučen.

Nutno konstatovat, že takovýto způsob prověření vody zůstává opomíjen a teprve čeká na praktické vyzkoušení a uplatnění. Přinejmenším může biologická analýza, event. test, co nejrychleji (během 10 min.) a nejjednodušším způsobem orientačně napovědět, zda voda z určitého zdroje je ve smyslu přítomnosti otravných látek podezřelá, či nikoliv (3, 15).

Rovněž při detekci radioaktivně zamořené vody možno uvažovat o použití biologických objektů (10). Vodní organismy mají schopnost koncentrovat v sobě rozmanité radioizotopy jednak adsorpcí na svém povrchu, jednak ve svých tkáních v důsledku minerálního metabolismu. Např. velice rychle hromadí v sobě vodní rostli-

Tab. 1

Výskyt zástupců jednotlivých systematických skupin autotrofních a heterotrofních organismů v analyzovaných vzorcích vod (údaje v procentech vzorků).

V = spádové území VÚHEM (430 vzorků)

G = archívni údaje ÚH — Dr. Gabriel, oblast Čech (245 vzorků)

PS = okresy Písek a Strakonice (325 vzorků)

	V	G	PS
I. Schizomycetes	.	.	.
II. Cyanophyta	—	—	0,3
III. Chrysophyta	—	—	0,3
IV. Pyrrophyta	—	—	—
V. Euglenophyta	—	0,8	3,0
VI. Chlorophyta	0,2	0,8	2,7
VII. Diatomeae	1,4	5,4	4,6
VIII. Flagellata bezbarvá	44,6	71,2	72,0
IX. Amoebina	—	2,9	0,3
X. Heliozoa	—	1,2	0,3
XI. Ciliata	12,3	25,4	19,3
XII. Rotatoria	0,2	0,4	0,3
XIII. Crustacea	—	0,4	0,6
XIV. Varia	0,2	0,4	0,3
Amorfní hmoty	.	.	.

ny stroncium. Za 2 hodiny je jeho množství v rostlinách 6× větší než v okolní vodě. Ještě více se může sytit radioaktivními prvky plankton, kde jejich množství může převyšovat radioaktivitu vody až o 4 řády. Vodní organismy mohou ukázat kvantitativní i kvalitativní poměry znečištění, a to nejen v době přímého styku s radioaktivní vodou, ale i několik týdnů poté, kdy zkoušená voda sama může být již radionegativní. I v tomto směru by se tedy biologická analýza event. mohla uplatnit.

Standardní metoda

Počet druhů a přirozené množství organismů je v podzemních vodách podstatně menší než v jiných druzích vod. Je proto nutné si uvědomit, že standardně zavedená metoda (2) 10 ml centrifugátu nemůže v plné šíři postihnout oživení ve zdroji. Vyšetřovaný objem vody je příliš malý a analyzuje se pouze volná voda, nikoli případné nárosty na plášti studny a potrubí, nebo ze dna (7, 13). Zavedený způsob se však s příslušným přizpůsobeným hodnocením ukázal být pro hygienické účely dostačující. Porovnáním výsledků biologické analýzy s chemickými a bakteriologickými rozbory u mnoha tisíců vzorků vody se ukázalo, že v nezávadné pitné vodě mohou být přítomny v menším počtu jen Schizomycetes a bezbarvá Flagellata a ojediněle obligatorní obyvatelé podzemních vod. Větší množství a přítomnost jiných organismů je pak ukazatelem určitého znečištění (4, 15). Podrobnější rozbor je pro rutinu stejně nemyslitelný (velká kvanta vody, speciální pomůcky, časové zatížení, značné znalosti, vynaložená práce není ekvivalentní upotřebitelným výsledkům pro daný účel). I tak jsou správná analýza a zhodnocení

Tab. 2

Mikroskopický obraz vzorků vod z vojenských zdrojů v porovnání se zdroji civilními

	Mikroskopický obraz				Počet vzorků			
	Flagellata bezbarvá	Ciliata	Ostatní fauna	Autotrofní organismy	V	G	PS	
v normě	○	○			115	78	113	
	○	○			4	3	—	
	○	○			35	15	5	
	Celkem %				35,8	39,2	36,3	
nad normu	+				26	30	43	
	+	+			—	—	—	
	+	+			—	8	20	
	+	+			7	15	4	
	+	+			4	6	17	
		Celkem %				8,6	24	25,8
	+	○	+		—	1	—	
	+	○	+		1	—	—	
	+	○	+		—	1	—	
	+	○	+		—	3	—	
+	○	+		—	2	—		
+	○	+		—	2	—		
+	○	+		—	—	2		
+	○	+		—	—	1		
+	○	+		—	—	2		
+	○	+		—	—	3		
+	○	+		—	3	8		
	Celkem %				1,8	4,9	8,9	
+	+	+	+		—	2	1	
	Celkem %				0	0,8	0,3	
	POZITIVNÍ CELKEM %				46,5	72,6	72,3	
	NEGATIVNÍ CELKEM %				53,5	27,4	27,7	
	POČET VZORKŮ				430	245	325	

V = spádové území VÚHEM
G = archívni údaje ÚH - Dr. Gabriel, oblast Čech
PS = okresy Písek a Strakonice

○ = <100 Flagellata;
<10 Ciliata
+ = >100 Flagellata;
>10 Ciliata
+ = pozitivní nález bez určení počtu

biologického obrazu značně náročné na znalosti a zkušenosti vyšetřujícího (9). V tom je zjevná nevýhoda této analýzy a může být příčinou určité bezradnosti laboratorních pracovníků, odrazující od používání této metody.

Tab. 3

Vztah mezi vyšetřením mikroskopickým a vyšetřením na *E.coli* a chemické indikátory ječálního znečištění (údaje v procentech)

Mikroskopický obraz	Bakt. a chem. vyšetření	
	v normě	nad normu
negativní	22,3	13,4
v normě	15,8	20,2
nad normu	3,6	24,7

Vyšetřováním vzorků vod z vojenských zdrojů a porovnáním získaných výsledků s výsledky analýz ze zdrojů civilních jsme dospěli k názoru, že zvl. pro účely vojenských laboratoří je možno dosud užívanou metodu zjednodušit ve smyslu systematického zařazování zjištěných organismů a tím umožnit většímu okruhu pracovníků (např. v HEČ) v dostatečné míře provádět biologickou analýzu a využít výsledky k hodnocení vzorků vod. Možnost zjednodušení vychází jednak ze skutečnosti, že dosavadní způsob systematického určování organismů je pro daný účel zbytečně podrobný, a z poznatků, že vojenské zdroje jsou z hygienického hlediska v relativně lepším stavu, než zdroje civilní, z čehož vyplývá, že také druhová rozličnost a abundance organismů je menší.

Zdůvodnění zjednodušeného systematického hodnocení biologického obrazu

V tab. 1 je uveden procentní výskyt mikroorganismů v 1000 mikroskopicky analyzovaných vzorcích vod. Rozdělení organismů v tabulce odpovídá jednotným analytickým metodám (2). 43 % vzorků je z vojenských místních zdrojů pitné vody ze spádového území VÚHEM, ostatní vzorky jsou z civilních místních zdrojů z různých míst v Čechách. Na první pohled je patrné, že oživení v pitných vodách z vojenských zdrojů je značně nižší než u civilních.

Dále z tabulky vyplývá, že kromě rozsivek je poměrné zastoupení ostatních řasových kmenů (skupina II—VI) u všech vzorků velmi malé (<7 %, u vojenských zdrojů <1 %). Bylo by tedy vhodné všechny asimilující mikroorganismy počítat do jediné skupiny autotrofů. Přesnější taxonomické zařazení zjištěných řas nespécialistou je stejně značně nevěrohodné a koneckonců zbytečné, protože každá zjištěná řasa prvotně signalizuje stejnou závalu: buď průnik povrchové vody (3, 15), nebo expozici vody ve zdroji vůči světlu (špatné krytí) a nezáleží přitom na botanickém zařazení. Podobně lze uvažovat i u heterotrofních organismů. Kromě bezbarvých bičíkovců a nálevníků (14) je ostatní fauna zastoupená velmi zřídka (<5 %), u vojenských zdrojů výjimečně (<1 %). Bylo by tedy vhodné ze stejných důvodů analogicky stáhnout skupiny IX—X a XII—XIV do skupiny jediné.

Na základě těchto úvah jsme provedli toto zjednodušené rozdělení biologického obrazu:

1. Schizomycetes (s výhradou: jen železité a manganové bakterie).
2. Flagellata achromatica (heterotrofní bezbarví bičíkovci).
3. Ciliata (nálevníci).
4. Ostatní fauna.
5. Autotrofní organismy (řasy a sinice).
6. Detritus (částičky neživé hmoty).

Toto hodnocení biologického obrazu při původním standardním technickém zpracování (2, 15) umožňuje i neškolenému pracovníku s normální pozorovací schopností, znalostí mikroskopie a základními znalostmi nižšího organického světa provést se značnou zárukou přesnosti a hodnotitelné přehlednosti biologickou analýzu, neboť pro účely hygienické služby, tj. hlavně pro zjištění, zda je zdroj zajištěn před možným znečištěním, není třeba znát organismy druhově a ekologicky (3, 9). Podobně jako i u jiných druhů rozborů i zde však je nutné, aby se začátečník seznámil s metodou prakticky v některé laboratoři, kde se provádí.

Protože v běžných hygienických příručkách nejsou jednotlivé skupiny organismů popsány, uvádíme dále stručnou charakteristiku jednotlivých kategorií podle našeho dělení a význam zástupců.

1. Schizomycetes

Podle oficiální metody není jasné, co do této skupiny patří (9). Běžné bakterie se vyskytují téměř vždy (2) a většinu z nich prokazujeme při bakteriologickém rozboru zjišťováním saprofytů. Zjišťovat a počítat vložky organických látek, které jsou nositeli celých shluků mikrobů, je nereálné. Morfologicky větší druhy bakterií (např. sírné bakterie, spirily apod.) se vyskytují jen výjimečně. Z této skupiny tedy jako jediné zůstávají železité a manganové bakterie, jejichž nálezy může mít v určitých případech značný význam. Tyto bakterie se mikroskopicky jeví většinou jako nitkovité útvary různého tvaru a délky, opatřené různě silným společným žlutým až tmavě hnědým obalem ze sloučenin železa nebo manganu. Malá množství těchto prvků v protékající vodě stačí, aby se stala na místech vhodných pro rozmnožování mikrobů stálým zdrojem energie (5). Zjišťujeme je mnohdy u kombinací zdroj+vodovod, kde jejich větší rozvoj může způsobit zhoršení fyzikální kvality vody nebo i technické závady. Po odumření mikrobů se mohou inkrustované obaly hromadit a způsobit tak zúžení profilu potrubí, event. i ucpání.

2. Flagellata achromatica

Jednobuněčné bezbarvé organismy s jedním i více pohybovými bičíky. Buňky rozličného tvaru, o velikosti většinou pod 25 μ , jednotlivě i v koloních. V zorném poli mikroskopu je vidíme jako drobné bezbarvé buňky, rotující nebo křižující značnou rychlostí zorné pole. Bičíky při

používaném zvětšení většinou nelze pozorovat. Upozorňujeme na možnou záměnu s neživými částicemi u neustálených preparátů nebo v důsledku Brownova pohybu — pohyb částic je v tomto řípádě plynulý k jedné straně nebo pomalý. Rozšíření této skupiny organismů v podzemních vodách je veliké. Malá množství bičíkovců se vyskytují téměř vždy (2, 13), i když je nemusíme zachytit v malém kvantu zpracovávané vody. Vyskytují se i ve vrtech a i velmi dobré spodní vody jich mohou obsahovat do 100/ml (2, 15). Při silném oživení těmito organismy posuzujeme vodu opatrně, zvláště vyskytují-li se i zástupci vyšších organismů, hlavně Ciliata. Nutno počítat s tím, že stojí-li vzorky delší dobu na světle před zpracováním, může dojít k pomnožení bičíkovců (13).

3. Ciliata

Jednobuněční nebarevní živočichové, nejrůznějších tvarů. Od bezbarvých bičíkovců se liší: a) větší velikostí — výjimečně pod 25 m μ , b) tělo obrveno celé nebo částečně. Pohybové brvy lze zpravidla dobře pozorovat na konturách živočicha, někdy lépe v pohybu, jindy v klidu. V zorném poli se pohybují různou rychlostí, mnozí se často zastavují, nebo se protahují ve shlucích neživotných částic. Ciliata reagují poměrně rychle na znečištění rychlostí svého pomnožování, zvl. druhy bakteriovorní. U zdrojů místního zásobování je možno tolerovat výskyt do 10/ml (2) v řípádě, že ostatní vyšetření jsou negativní.

4. Ostatní fauna

Existuje určitý počet obligatorních organismů podzemních vod, nacházejících v tomto biotopu příznivé životní podmínky (8, 11). Hygienicky jsou bezvýznamní. Mimo tyto organismy se v podzemní vodě mohou vyskytnout i druhy se širší ekologickou valencí, popřípadě druhy žijící výhradně v povrchových vodách. Jejich nálezy je závažný, ovšem nespécialista je nerozezná od organismů přirozeně se vyskytujících v podzemních vodách. V tomto řípádě jediným vodítkem je zpravidla současný výskyt většího množství bičíkovců a nálevníků (viz tab. 2).

5. Autotrofní organismy

Jednobuněčné i vícebuněčné zelené řasy, vyskytující se jednotlivě, v koloniích nebo vlákních. Tvarově i velikostí velmi rozmanité. Některé se pohybují, jiné jsou bez pohybu. Rozhodujícím poznávacím znakem je barevnost buněk. Převládá zelená barva, často s různými přechody, např. do zelenomodré. Často žlutozelené až hnědé. Některé druhy mají krunýř a zdají se být nebarevné. Důležité jsou relativně často se vyskytující rozsivky — žlutohnědé, někdy zdánlivě nebarevné. Možno je však poznat podle charakteristických geometrických struktur skořápek.

Všechny tyto organismy potřebují ke svému životu světlo. Jejich nálezy v pitné vodě ze řádně zakrytého zdroje je závažný a téměř vždy znamená přímé znečištění zdroje povrchovou vodou. Bez světla vydrží 1—3 týdny (3). Do té doby počítáno zpět muselo nastat znečištění. Jedině u vod z nekrytých studánek a prameništ' nebeme tyto organismy v úvahu, jsou-li ostatní vyšetření negativní.

6. Detritus

Pod tímto pojmem rozumíme všechny neživé anorganické a organické částice ve vodě allochtonního nebo autochtonního původu (výstižnější pojem detritus (9) = amorfním hmotám v tab. 1). Jeho větší výskyt je určitou závadou. Množství vyjadřujeme Braunovou-Blanquetovou stupnicí četnosti 1 — 5. Mnohdy je možno zjistit původ detritu (tkáně listí, částičky jílu, Fe(OH)₃) a podle toho nálezy posuzovat. Často se tak vysvětlí fyzikální závady (3, 15).

Frekvence výskytu organismů ve vzorcích vod

Podle našich zkušeností není třeba (např. v časové tísní) provádět biologickou analýzu bezpodmínečně u každého vzorku. Pozornost v tomto směru soustřeďujeme na zdroje vody, u kterých podle charakteristiky (záznam o zdroji vody) předpokládáme pozitivní biologický obraz.

V reprezentativním výběru vzorků z vojenských místních zdrojů jsme zjistili pozitivní biologický obraz ve smyslu závadnosti pouze v 10 % řípádů (tab. 2) oproti zdrojům civilním, kde závadnost podle biologického rozboru byla zjištěna u třetiny vzorků. Naopak zcela negativní nálezy danou metodikou byl u vojenských zdrojů zjištěn v polovině vzorků, u civilních v necelé třetině.

Z údajů v tab. 2 současně vysvítá, že větší výskyt nálevníků je zpravidla doprovázen výskytem bezbarvých bičíkovců, stejně tak výskyt ostatní fauny nebo autotrofních řas je ve valně většině řípádů doprovázen přítomností nálevníků a bezbarvých bičíkovců.

Vztah k bakteriologickému a chemickému rozboru

Případy, kdy různé způsoby rozboru vody jsou ve výsledcích jednoznačné (mimo vysloveně nezávadné vody), nejsou časté. Rozdílné závěry z jednotlivých vyšetření jsou důsledkem rozdílných příčin hygienické závadnosti, nebo časově různých hodnot prováděných analýz (15). Proto je třeba vzorky vyšetřovat pokud možno více způsoby a rovněž hodnotit na základě co největšího počtu jednotlivých vyšetření. Také při mikroskopické analýze můžeme zjistit biologický obraz negativní nebo v normě a současně prokázat hygienickou závadnost vody v důsledku pozitivních nálezů ostatních způsobů vyšetření nebo opačně. Ovšem porovnáním výsledků vyšetře-

ní většího počtu vzorků zjistíme patrnou pravděpodobnostní korelaci.

Z ilustrativních údajů v tab. 3 vyplývá vztah výsledků biologické analýzy k ostatním základním vyšetřením — k indikátorům fekálního znečištění (*E. coli*, amoniak, dusitany, dusičnany, fosforečnany, chloridy, oxidovatelnost) u 1000 vzorků z vojenských a civilních zdrojů. Se zvyšujícím se oživením klesá procento vzorků, které jsou podle těchto vyšetření v normě nezávadnosti, a opačně.

Souhrn

V práci je uveden význam biologické (mikroskopické) analýzy pro rutinní hygienické vyšetřování vzorků pitné vody z vojenských místních zdrojů a poukázáno na možnost využití této analýzy při detekci otravných látek a radioaktivního zamoření ve válce. Současně je uvedena zjednodušená metodika systematického zařazování organismů zjištěných ve vodě a hodnocení nálezu.

Literatura

1. Bulva, V.: Biologický test při kontrole průmyslových odpadních vod. *Voda*, 37, 1958, 7: 311.
2. Jednotné analytické metody č. 2 — voda. Praha, Min. potrav. prům., 1953, 130 s.
3. Gabriel, J.: O potřebě biologických rozborů vod pitných. *Čas. lék. čes.*, 82, 1943, 12: 976—983.
4. Gabriel, J.: Principy biologického hodnocení vody. *Ibid.*, 85, 1946, 12: 1425—1431.
5. Gabriel, J.: Bakteriologie povrchových a odpadních vod, sborník: Péče o čistotu vod. Praha, STN, 1950, s. 58—76.
6. Gilcres, F., Olson, T.: Water-biological examination, in: *Standart methods of chemical analysis*, Vol. II B., 6. edith., N. York, 1963, s. 2519—2541.
7. Kolkwitz, R.: Biologie der Sickerwasserhöhlen, Quellen und Brunnen. *J. f. Gasbeleuchtung*, 50, 1907, 10: 850—854.
8. Liebmann, H.: *Handbuch der Frischwasser- und Abwasserbiologie*, Bd. 2., Jena, 1960, s. 214—358.
9. Lhotský, O.: Hydrobiologické rozborů ve vodárenské praxi. *Voda*, 35, 1956, 11: 366—368.
10. Marej, A. N.: Vodnyje organismy kak sanitarnyj pokazatel zagrjaznenija vodoemov radioaktivnymi vješčestvami. *Gig. i sanit.*, 8, 1955, 1: 3—9.
11. Muehlberger, C.: Neue Wege der biologischen Grundwasserforschung. *Wasserwirtschaft-Wassertechnik*, 6, 1956, 2: 45—47.
12. Razumov, A.: Problems of the biological control of the quality of drinking water. *J. of hyg., epid., microbiol. and immunol.*, 1, 1957, 1: 2—9.
13. Řeháčková, V.: Organismy studničních vod pražských, Praha, ČSAV, 1963, s. 1—35 — *Rozpravy čs. akademie věd, řada MPV*, sešit 5.
14. Stanislawska, J.: Znaczenie pierwotniakow w biologicznej analizie wody. *Gaz, woda i techn. sanit.*, 29, 1955, 12: 417—419.
15. Symon, K.: *Vyšetřovací metody v hygieně*, Praha, SZdN, 1954, 222 s.