

# SCI CELL

**ODBORNÝ MAGAZÍN**  
WWW.SCICELL.ORG

# 2026

ISSN 2585-9137  
Vydavateľstvo SciCell





## Gény rezistencie v odpadových vodách

Publikované 2. mája 2022

Obrázok od [Aviavlad](#) z [Pixabay](#)

Lukáš Hleba, Miroslava Hlebová

SPU v Nitre, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Katedra mikrobiológie  
Univerzita Svätého Cyrila a Metoda v Trnave, Fakulta prírodných vied

### Antibiotická rezistencia

Antibiotická rezistencia je schopnosť baktérií odolávať inhibičným alebo letálnym účinkom antibiotík. V dnešnom období je otázka antibiotickej rezistencie u baktérií, ktoré sa spájajú s bakteriálnymi ochoreniami veľmi dôležitá. Niektorí vedci sa domnievajú, že pri súčasnom trende výskytu antibiotickej rezistencie v prostredí sa môžeme dostať do bodu, kedy už antibiotiká nebudú voči bakteriálnym infekciám vôbec účinkovať. Rovnako tak farmaceutické spoločnosti už nevyvíjajú nové antibiotiká, pretože sa ich vývoj ekonomicky neoplatí. Nositeľmi antibiotickej rezistencie sú baktérie, ktoré sú voľným okom nepozorovateľné organizmy a preto dokážu veľmi ľahko a nepovšimnuté preniknúť do akejkoľvek sféry nášho života. Ako vlastníci rezistentných génov a samotnej rezistencie voči antibiotikám sa rezistentné druhy vyskytujú všade tam, kde je prítomnosť antibiotík, a kde je prítomnosť antibiotík je prítomný aj človek. Čiže výskyt rezistentných baktérií je viazaný hlavne na človeka a jeho činnosti. Rezervoárov rezistentných baktérií je viacero, no jedným z najzávažnejších sú práve odpadové vody.

### Odpadová voda ako miesto stretu rôznych antibiotík a rôznych baktérií

Obava z rozšírenia rezistencie na antibiotiká existuje celosvetovo a tento problém nie je obmedzený len na klinickú sféru. Väčšina antibiotík, ktoré sú podávané ľuďom sa bežne vyskytujú aj v domácnostiach a tie nakoniec skončia v odpadových vodách. Práve preto sú čističky odpadových vôd (ČOV) jedným z hlavných zdrojov rezistentných baktérií a molekúl antibiotík, ktoré sa odtiaľ šíria do životného prostredia. ČOV prijímajú vodu z rôznych prostredí a lokalít, čo umožňuje baktériám výmenu génov rezistencie v horizontálnom prenose génov konjugáciou, transformáciou alebo transdukciou. Jasný dôkaz o vývoji a šírení rezistencie z ČOV však ešte stále nie sú úplné. V ČOV však dochádza k stretu baktérií, antibiotík, biocídov, liečiv a ťažkých kovov, čo môže podporiť prenos

rezistentných génov. Najviac antibiotík pochádza práve z nemocníc a ľudských domácností. Tie vytvárajú v ČOV na baktérie selekčný tlak, ktorý selektuje práve rezistentné druhy s génmi rezistencie. Deje sa tak preto, lebo v ČOV sú koncentrácie antibiotík oveľa nižšie ako je tomu v klinických podmienkach. Ukázalo sa, že aj pod-limitné hodnoty antibiotík majú na baktérie selektívny efekt a baktérie volia fenotypy rezistencie. ČOV je pre baktérie jedinečné prostredie, ktoré obsahuje zmes rôznych látok a preto môže predstavovať vážnu hrozbu v súvislosti so šírením antibiotickej rezistencie. Je preto potrebné ďalej skúmať tento fenomén.

### **Metódy používané pri analýze antibioticky rezistentných baktérií**

Metódy detekcie rezistencie u baktérií sa vyvíjajú už 70 rokov a objavili sa vo vedeckej sfére s objavom antibiotík, pretože sme po objavení antibiotík prišli na to, že existujú aj baktérie, ktoré antibiotikám odolávajú. Spočiatku bolo pri testovaní antibiotickej rezistencie možné skúmať iba rezistenciu u kultivovateľných baktérií, kde procesu testovania predchádzala kultivácia a čistenie bakteriálnych kultúr. Testovanie antibiotickej rezistencie je plne používané v klinickej mikrobiológii, kde je potrebné pri pacientoch s bakteriálnym ochorením testovať, na aký druh antibiotika je baktéria citlivá, aby ju bolo možné zlikvidovať. Pre určenie rezistencie sa používajú tzv. referenčné tabuľky, kde sa popisujú medzné hodnoty rezistencie. Jednou zo spoločností, ktorá sa venuje príprave a aktualizácii referenčných hodnôt rezistencie je EUCAST, ktorý platí pre Európu a CLSI známy v Amerike. Pre odpadové vody však medzné hodnoty EUCASTu neplatia. Možno však použiť hodnoty ECOFF, ktoré stanovil EUCAST ako spoločné epidemiologické hodnoty. Ich nevýhodou však je monitoring veľkého množstva nezávislých izolátov. Izolácia s kultiváciou baktérií z prostredia má však svoje obmedzenia, pretože len veľmi málo baktérií je v dnešnej dobe kultivovateľných. Preto je potrebné spájať kultivačné techniky s molekulárno-genetickými metódami, ktoré dokážu odhaľovať gény skryté v nekultivovateľných baktériách a sú zodpovedné za rezistenciu voči antibiotikám. Genetické metódy dokážu zachytávať mutácie v genóme, horizontálny prenos génov, mapovať celé genómy sekvenovaním a poskytovať tak informácie a prehľad o genetickom prostredí antibioticky rezistentných baktérií. Z genetických metód sa využíva napríklad kvantitatívna PCR, ktorá nepotrebuje predchádzajúcu kultiváciu. Je citlivou metódou pre zachytenie rezistentných génov, no vyžaduje poznanie genetického kódu a súčasne je naviazaná na tvorbu primérov, ktoré sú v PCR reakcii nevyhnutné na vyznačenie sledovaného genetického úseku. Za pomoci qPCR je možné kvantifikovať množstvo génov zodpovedných za rezistenciu voči antibiotikám. Ďalšou z genetických analýz používaných pri detekcii rezistencie je metagenomika. Metagenomika je sekvenovanie DNA celej komunity baktérií, pri ktorej nie je potrebná znalosť génov rezistencie. Metagenomika nemá svoje obmedzenia na prostredie, nemá obmedzenie na gény rezistencie, pretože sekvenuje časti genómov a dokáže zachytiť celý rezistóm. Je však závislá na poznaní sekvencie rezistentných génov, ktoré sú uložené v genetických databázach. Väčšina metagenomických štúdií je zameraná len na krátke úseky DNA a preto neobsahujú celú informáciu o sekvenovaných génoch. Novšou metódou je funkčná metagenomika, kde sa klonovanie a expresia environmentálnej DNA uskutočňuje v hostiteľovi ako je napríklad *Escherichia coli*. DNA sa klonuje v *E. coli* a sleduje sa fenotypový prejav hostiteľa. Jednou z nevýhod funkčnej metagenomiky je jej náročnosť v klonovaní a expresii génov v hostiteľovi. Najnovšie metódy sa zameriavajú na vysoko-rýchlostné sekvenovanie a metódy bez kultivácie. Existuje široká škála testovania antibiotickej rezistencie vo vzťahu k odpadovým vodám, a je len na výskumníkoch akú metódu zvolia, aby dokázali odpovedať na zvolené otázky.

### **Prenos génov rezistencie**

Vysoká hustota baktérií v ČOV môže byť optimálnym prostredím pre horizontálny prenos génov medzi baktériami prostredia a ľudských patogénov. Mobilné genetické elementy ako sú transpozóny (skácuce gény) boli najčastejšie identifikované v indikátorových baktériách ako sú *Enterococcus* a koliformné baktérie, kde patrí aj *E. coli*. Umiestnenie rezistentných mobilných genetických elementov sú najčastejšie na plazmidoch, transpozónoch alebo integrónoch. Práve tieto elementy

umožňujú ľahký prenos rezistencie medzi baktériami rovnakého druhu, rodu ale aj medzidruhovo a medzirodovo. Prenos génov v ČOV už bol dokázaný u *E. faecalis* v Nemecku. Rýchlosť prenosu bola však 10-krát nižšia ako v laboratórnych podmienkach, no prenos nastal. Nedávne štúdie dokázali, že horizontálny prenos génov je podporovaný aj pod-limitnými množstvami antibiotík. Metodiky na detekciu prenosu génov v ČOV sú zatiaľ nedostatočné, takže tu existuje priestor na ich zlepšenie ale rovnako aj medzera v chápaní tohto procesu.

### Selekčný tlak v odpadových vodách

Selekčný tlak hraje kľúčovú úlohu pri šírení rezistentných baktérií v odpadových vodách. V súčasnosti je známe, že aj nízke koncentrácie antibiotík môžu viesť k selekcii rezistentných druhov baktérií. V odpadovej vode to potom sťažuje určiť bezpečnú koncentráciu. Práve kvôli neznalosti presných procesov selekčného tlaku v reálnych podmienkach sa nám sťažuje vyhodnotenie potenciálnych rizík. Mobilné elementy nesúce gény rezistencie častokrát obsahujú gény rezistencie voči viacerým antibiotikám súčasne, alebo aj gény pre rezistenciu voči dezinfekčným prostriedkom alebo ťažkým kovom, čo vedie ešte ku komplikovanejšiemu vyhodnoteniu.

### Čistenie odpadových vôd a rezistencia

Akonáhle sa rezistentné baktérie dostanú do ČOV, môžu v nej šíriť svoje mobilné genetické elementy rezistencie medzi ostatnými druhmi a nepozorovane uniknúť do vonkajšieho prostredia. Existujú štúdie, kde sa popisujú situácie, že sa rezistentné baktérie vyskytujú v ČOV a rovnako aj v ich dopadových vodách, čo naznačuje, že sa rezistentné gény dostali do vonkajšieho prostredia. Celkové hladiny boli znížené 10 - 100 násobne, no neboli úplne eliminované. Sledované profily rezistencie baktérií zahŕňali všetky typy rezistencie voči dnes komerčne používaným antibiotikám. Zistilo sa, že nemocničné vody prispievajú rezistentnými baktériami do ČOV iba 1 % a zvyšných 99 % pripadá na komunálne odpadové vody z domácností. Najčastejšie analyzované druhy baktérií z ČOV patria k spoločným ukazovateľom fekálnej kontaminácie: *E. coli*, všetky koliformné baktérie a enterokoky. Okrem iného sa v ČOV vyskytovali známe a klinicky významné druhy baktérií: metilín rezistentný *Staphylococcus aureus*, vankomycín rezistentný *Enterococcus* spp., ostatné enterobaktérie, *Pseudomonas* a *Acinetobacter*. Izolované boli aj baktérie rezistentné voči chynolónom, karbapenémom a baktérie produkujúce beta-laktamázy s rozšíreným spektrom účinku (ESBL). Dokázalo sa, že proces čistenia odpadových vôd je priamo-úmerný s počtom baktérií vyskytujúcich sa v jednotlivých krokoch čistenia. Zaujímavá práca autora Guo a kolektív hovorí o poklese baktérií rezistentných na erytromycín, cefalexín, gentamicín a ciprofloxacín a zvýšení počtu baktérií rezistentných na sulfadiazín, vankomycín, rifampicín a tetracyklín po ošetrení UV žiarením v ČOV. V niektorých štúdiách sa popisuje aj jav, kde antibioticky rezistentné baktérie ostali v rovnakých počtoch aj v dezinfikovaných vodách. Z toho vyplýva, že prostredie ČOV je vhodným prostredím pre selekciiu rezistentných druhov, ktoré môžu svoje genetické mobilné elementy odovzdávať ďalej.

Okrem metód založených na kultivácii sa v prostredí ČOV použili aj genetické metódy na detekciu rezistentných génov a zistilo, že ČOV obsahuje všetky doposiaľ známe gény rezistencie. Aktivovaný kal môže byť teda silným zdrojom rezistentných génov a môže cez ČOV presť bez obmedzenia. Je preto považovaný za zdroj rezistentných génov a zdroj baktérií obsahujúce gény rezistencie.

### Aktivovaný kal

Proces aktivácie kalu je bežnou metódou na odstraňovanie živín v odpadovej vode. V tomto procese mikroorganizmy žijúce v aeróbných podmienkach oxidujú uhľikaté zlúčeniny a dusíkaté látky, zhlukujú sa a vytvárajú kal, ktorý sa oddeľuje od kvapalnej fázy. Časť kalu sa recykluje a zvyšná časť sa odstraňuje ako kal prebytočný alebo splaškový. Prebytočný kal prechádza anaeróbnou digesciou a kompostovaním, predtým než sa môže zapracovať napríklad do pôdy. V porovnaní s kalom sa ukázalo, že splašková voda obsahuje rôzne baktérie a antibiotiká a preto by sa práve

splašková voda mala skúmať vo vzťahu k rezistencii a vplyvu na životné prostredie. Rovnako bolo zistené, že aj kal po kompostovaní obsahuje genetické mobilné elementy nesúce rezistenciu a môžu po pridaní do pôdy obohatiť pôdnu bakteriocenózu o rezistentné gény a zvýšiť tak mieru rezistencie u baktérii žijúcich v pôde. Odtiaľ sa gény rezistencie môžu opäť dostať k človeku prostredníctvom poľnohospodárskych produktov.

### Výtok z ČOV

Výskyt rezistentných druhov a mobilných rezistentných genetických elementov sa zvyšuje po prúde do ČOV. V jednej zo štúdií, ktorá sa vykonala v Nemecku sa po prúde do ČOV zistilo až 123 klinicky relevantných génov rezistencie, vrátane aminoglykozidových, beta-laktámových, tetracyklínových, rifampicínových, trimetoprimových, makrolidových a sulfónamidových génov rezistencie. Taktiež sa našli gény kódujúce viac-liekové efluxné pumpy schopné poskytnúť hostiteľovi rezistenciu voči širokej škále zlúčenín.

V štúdií z Číny sa ukázala ČOV ako rezervoár génov voči tetracyklínovým, sulfónamidovým, makrolidovým a iným antibiotikám.

### Pokročilé technológie spracovania

Pokročilé technológie sú zamerané na odstránenie vznikajúcich kontaminantov, kde patria liečivá, výrobky osobnej hygieny a starostlivosti, zlúčeniny narúšajúce endokrinný systém, povrchovo aktívne látky, pesticídy a látky spomaľujúce horenie. Medzi pokročilé technológie čistenia odpadových vôd, ktoré sa ukázali ako efektívne patria fotokatalýza, membránová filtrácia, adsorbce aktívnym uhlím a pokročilé oxidačné procesy. Gény rezistencie však nedokáže odstrániť ani jedna z týchto pokročilých metód spracovania. Okrem toho, niektoré z týchto pokročilých metód indukujú u baktérií tzv. SOS odpoveď (všeobecná odpoveď bunky baktérie na poškodenie DNA), to zvyšuje rýchlosť mutácii v bakteriálnych bunkách a zvyšuje expresiu DNA-polymeráz, čo môže viesť ku genetickej necitlivosti voči antibiotikám. Preto je potrebné pred prípadným zavedením týchto pokročilých metód do praxe, najprv poriadne preskúmať ich dopad aj na tento problém.

### Záver

Čističky odpadových vôd sú všeobecne uznávaný rezervoár rezistentných génov a sú považované za vhodné prostredie pre prenos rezistentných génov. Gény rezistencie sa naozaj vyskytujú vo všetkých typoch odpadových vôd, či už sa jedná o komunálne, nemocničné alebo priemyselné odpadové vody. V súčasnosti je však veľmi ťažké posúdiť, či je rozdiel v množstve génov rezistencie v konkrétnom prostredí relevantný. Z výsledkov rôznych autorov vyplýva, že rôzne ČOV prinášajú rôzne výsledky pri odstraňovaní génov rezistencie, no zatiaľ sa presne nevie aké faktory na to vplývajú. Porovnávaníu jednotlivých ČOV bráni nedostatočná legislatíva a všeobecne prijatých metód a protokolov. Preto tu existujú obavy, že pokročilejšie stupne ošetrovania odpadových vôd môže vyústiť do zvyšovania a podpory rezistencie smerom do prostredia. Preto je nutné vyriešiť tento problém, čo najrýchlejšie, ešte pred zavedením progresívnejších metód do čistenia odpadových vôd. Analýzy rizík sa musí rozvíjať skôr ako vyvodíme závery aby sme našli skutočne efektívne riešenie viacerých problémov súčasne.

### Použitá literatúra

Frieri, M., Kumar, K., & Boutin, A. (2017). Antibiotic resistance. *Journal of infection and public health*, 10(4), 369-378. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2016.08.007>

Larsson, D. J. (2014). Antibiotics in the environment. *Uppsala journal of medical sciences*, 119(2), 108-112. <https://doi.org/10.3109/03009734.2014.896438>

- Karkman, A., Do, T. T., Walsh, F., & Virta, M. P. (2018). Antibiotic-resistance genes in waste water. *Trends in microbiology*, 26(3), 220-228. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.09.005>
- Al-Riyami, I. M., Ahmed, M., Al-Busaidi, A., & Choudri, B. S. (2018). Antibiotics in wastewaters: a review with focus on Oman. *Applied Water Science*, 8(7), 1-10. <https://doi.org/10.1007/s13201-018-0846-z>
- Leclercq, R., Cantón, R., Brown, D. F., Giske, C. G., Heisig, P., MacGowan, A. P., ... & Kahlmeter, G. (2013). EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing. *Clinical Microbiology and Infection*, 19(2), 141-160. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03703.x>
- Brown, D. F., Wootton, M., & Howe, R. A. (2016). Antimicrobial susceptibility testing breakpoints and methods from BSAC to EUCAST. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71(1), 3-5. <https://doi.org/10.1093/jac/dkv287>
- Dzidic, S., & Bedeković, V. (2003). Horizontal gene transfer-emerging multidrug resistance in hospital bacteria. *Acta Pharmacologica Sinica*, 24(6), 519-526.
- Barlow, M. (2009). What antimicrobial resistance has taught us about horizontal gene transfer. *Horizontal Gene Transfer*, 397-411. [https://doi.org/10.1007/978-1-60327-853-9\\_23](https://doi.org/10.1007/978-1-60327-853-9_23)
- Tello, A., Austin, B., & Telfer, T. C. (2012). Selective pressure of antibiotic pollution on bacteria of importance to public health. *Environmental health perspectives*, 120(8), 1100-1106. <https://doi.org/10.1289/ehp.1104650>
- Jury, K. L., Khan, S. J., Vancov, T., Stuetz, R. M., & Ashbolt, N. J. (2011). Are sewage treatment plants promoting antibiotic resistance?. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 41(3), 243-270. <https://doi.org/10.1080/10643380902772589>
- Karkman, A., Do, T. T., Walsh, F., & Virta, M. P. (2018). Antibiotic-resistance genes in waste water. *Trends in microbiology*, 26(3), 220-228. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.09.005>
- Xu, J., Xu, Y., Wang, H., Guo, C., Qiu, H., He, Y., ... & Meng, W. (2015). Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in a sewage treatment plant and its effluent-receiving river. *Chemosphere*, 119, 1379-1385. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.02.040>
- Naquin, A., Shrestha, A., Sherpa, M., Nathaniel, R., & Boopathy, R. (2015). Presence of antibiotic resistance genes in a sewage treatment plant in Thibodaux, Louisiana, USA. *Bioresource technology*, 188, 79-83. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.01.052>
- Dold, P. L., & Ekama, G. A. (1981). A general model for the activated sludge process. In *water pollution research and development* (pp. 47-77). Pergamon. <https://doi.org/10.1016/b978-1-4832-8438-5.50010-8>
- Eckenfelder, W. (1998). *Activated sludge: process design and control*. CRC Press.