

# OBSAH

1 ÚVOD .....	7
2 KULTIVAČNÍ STANOVENÍ .....	9
2.1 Obecné zásady a principy .....	9
2.1.1 Zásady aseptické práce ve sterilním prostředí .....	9
2.1.2 Kultivační média .....	10
2.1.3 Techniky očkování a kultivace .....	11
2.1.4 Odběr a úprava vzorku .....	12
2.1.5 Vyjadřování výsledků mikrobiologických stanovení .....	13
2.2 Stanovení kultivovatelných mikroorganismů .....	14
2.3 Stanovení mikromycet .....	15
2.3.1 Přehled častých taxonů mikromycet .....	16
2.4 Stanovení koliformních bakterií .....	19
2.5 Stanovení termotolerantních koliformních bakterií a <i>Escherichia coli</i> .....	19
2.6 Stanovení koliformních bakterií a <i>Escherichia coli</i> .....	20
2.7 Stanovení intestinálních enterokoků .....	21
2.8 Stanovení anaerobních bakterií rodu <i>Clostridium</i> .....	22
2.9 Stanovení koagulázopozitivních stafylokoků .....	23
2.10 Stanovení bakterií rodu <i>Pseudomonas</i> .....	24
2.11 Další patogenní a hygienicky významné mikroorganismy .....	28
2.11.1 Bakterie z čeledi <i>Enterobacteriaceae</i> .....	28
2.11.2 Bakterie rodu <i>Campylobacter</i> .....	32
2.11.3 Bakterie rodu <i>Mycobacterium</i> .....	32
2.11.4 Bakterie rodu <i>Legionella</i> .....	33
2.11.5 Parazitičtí prvoci .....	35
2.12 Stanovení fyziologických skupin mikroorganismů .....	36
3 BIOCHEMICKÉ METODY .....	39
3.1 Metody IDEXX .....	39
3.2 Testy biochemické aktivity .....	41
3.2.1 MIKRO-la testy .....	41
3.3 Test citlivosti na antibiotika .....	44
3.4 Stanovení koncentrace chlorofylu- <i>a</i> .....	45
4 MIKROSKOPICKÁ STANOVENÍ .....	47
4.1 Stanovení biosestonu .....	48
4.1.1 Popis a specifikace mikroskopicky pozorovatelného biosestonu .....	49
4.1.1.1 Sinice a řasy .....	49
4.1.1.2 Prvoci a mnohobuněční .....	57
4.2 Stanovení abiosestonu .....	63
4.3 Stanovení objemové biomasy .....	65
4.4 Stanovení saprobního indexu .....	67
4.5 Stanovení nárostů .....	69

4.6	Stanovení fytoplanktonu za použití inverzní mikroskopie .....	71
4.7	Využití fytoplanktonu pro hodnocení stavu biotopu .....	72
4.8	Mikroskopické metody s fluorescenčním značením .....	76
<b>5</b>	<b>METODY MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE .....</b>	<b>78</b>
5.1	Fluorescenční <i>in situ</i> hybridizace (FISH) .....	79
5.1.1	Oligonukleotidové sondy .....	80
5.1.2	Fixace a hybridizace .....	80
5.1.3	Vyhodnocení metody FISH .....	81
5.1.4	Kvantifikace .....	82
5.1.5	Limitace metody a její modifikace .....	83
5.1.6	Využití FISH v technologii vody .....	84
5.2	Izolace nukleových kyselin .....	84
5.2.1	Měření koncentrace a čistoty nukleových kyselin .....	86
5.2.2	DNA nebo RNA? .....	86
5.3	Polymerázová řetězová reakce (PCR) .....	87
5.3.1	Oligonukleotidové primery .....	89
5.3.2	Inhibice PCR .....	89
5.3.3	Limitace metody a její modifikace .....	89
5.3.4	Kvantitativní PCR .....	90
5.4	Gelová elektroforéza .....	92
5.4.1	Agarózová gelová elektroforéza .....	92
5.4.2	Polyakrylamidová gelová elektroforéza .....	92
5.4.3	Obecný postup gelové elektroforézy .....	93
5.4.4	Denaturační gradientová gelová elektroforéza .....	95
5.5	Klonování .....	97
5.6	Sekvenování a analýza dat .....	98
5.6.1	Sangerovo sekvenování .....	98
5.6.2	Sekvenování nové generace .....	98
5.6.3	Veřejně dostupné databáze nukleotidových sekvencí .....	99
5.7	Průtoková cytometrie .....	100
5.8	MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie .....	101
5.9	Porovnání diskutovaných metod .....	102
<b>6</b>	<b>TOXIKOLOGICKÉ ZKOUŠKY .....</b>	<b>105</b>
6.1	Charakteristika toxicity a účinků .....	105
6.2	Významné toxikanty v životním prostředí .....	107
6.3	Procesy bioakumulace, biosorpce a biokoncentrace .....	111
6.4	Oxidativní stres .....	112
6.5	Přehled zkoušek toxicity .....	112
6.5.1	Testy první generace .....	114
6.5.2	Testy druhé generace .....	116
6.5.3	Testy třetí generace .....	118
6.5.4	Testy čtvrté generace .....	119
6.5.5	Jednoduché a vícedruhové testy .....	119

<b>6.6 Akvatické biotesty .....</b>	<b>120</b>
6.6.1 Obecné zásady a principy .....	121
6.6.2 Testy s producenty .....	121
6.6.2.1 Inhibice růstu chlorokokálních řas .....	122
6.6.2.2 Inhibice růstu jednoděložných rostlin .....	123
6.6.3 Testy s konzumenty .....	124
6.6.3.1 Zkouška inhibice pohyblivosti perlooček .....	124
6.6.3.2 Stanovení akutní toxicity žábřonožek .....	125
6.6.3.3 Stanovení akutní toxicity vířníků .....	126
6.6.3.4 Test chronické toxicity na perloočkách .....	127
6.6.3.5 Testy chronické toxicity na vířnících .....	128
6.6.3.6 Stanovení akutní toxicity pro sladkovodní ryby .....	129
6.6.4 Testy s destruenty .....	130
<b>6.7 Terestrické testy .....</b>	<b>131</b>
<b>6.8 Testy genotoxicity .....</b>	<b>132</b>
<b>7 APLIKACE BIOLOGICKÝCH METOD V AUDITECH SYSTÉMŮ .....</b>	<b>133</b>
<b>7.1 Biologický audit ve vodárenství .....</b>	<b>133</b>
7.1.1 Zdroje surové vody .....	134
7.1.2 Technologie úpravy vody .....	136
7.1.3 Distribuce a akumulace pitné vody .....	137
7.1.4 Interpretace výsledků biologického rozboru .....	138
<b>7.2 Biologický audit v čistírenství .....</b>	<b>140</b>
7.2.1 Biologické hodnocení odpadních vod a odtoků z čistíren .....	140
7.2.2 Mikroskopické posouzení aktivačního procesu .....	142
7.2.3 Využití bioindikace při kontrole čistírenského procesu .....	144
<b>7.3 Biologický audit chladicích okruhů .....</b>	<b>144</b>
<b>8 LITERATURA .....</b>	<b>147</b>