

Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická

Akademický rok	2022/2023
Disertační práce (název)	Problematika analytické a mikrobiologické kvality odpadních vod
Jméno studenta	Ing. Nikola Roulová
Jméno oponenta	Doc. MVDr. Renáta Karpíšková, Ph.D.
Pracoviště oponenta	Ústav veřejného zdraví, LF MU

Předložená disertační práce Ing. Nikoly Roulové se zabývá aktuálním tématem analytické a mikrobiologické kvality odpadních vod. Práce je rozdělena do tří tematických okruhů, zabývá se metodami detekce a výskytu vybraných bakteriálních agens a jejich rezistencí k antibiotikům, hodnocením příjmu léčiv efavirentu a kyseliny flufenamové z kontaminované vody u hydroponicky pěstovaných rostlin a hodnocením změn akutní toxicity roztoků vybraných herbicidů pomocí zkoušky inhibice růstu zelené řasy *Chlorella kessleri*.

V teoretické části autorka prezentuje obecné informace o čištění odpadních vod, platné legislativě, biologickém a toxikologickém riziku spojeném s odpadními vodami zejména ze zdravotnických zařízení. Několik kapitol je věnováno také metodám (kultivačním a molekulárně biologickým) používaným při mikrobiologické analýze vody. V této části bych přivítala, kdyby disertantka vedle molekulárně-biologické metody PCR uvedla i další metody např. metagenomické, které jsou v současnosti hojně využívány ve výzkumu, protože přináší ucelený pohled na mikrobiální společenství v odpadních vodách.

Práce je sepsána v českém jazyce, klasickou formou, jen s ojedinělými překlepy. Je citováno 275 relevantních zejména zahraničních literárních zdrojů. Součástí práce jsou tři publikace v zahraničních časopisech s IF, z toho třikrát je disertantka prvoautorkou. Lze konstatovat, že autorka umí nejen pracovat s vědeckou literaturou, ale také připravit rukopis uveřejnitelný v kvalitním zahraničním časopise (Q1-Q2).

Praktická část disertační práce je členěna do tří tematických okruhů, které spolu však souvisí jen vzdáleně. Jejich zpracování není proporcionální a domnívám se, že detailnější rozpracování jen jednoho z témat by bylo přínosnější.

Cíle jsou stanoveny velmi obecně. Přehlednosti disertační práce by prospělo věnovat cílům a hypotézám větší pozornost. Lze však konstatovat, že obecné cíle práce byly naplněny.

K prvnímu tématu autorka uvádí, že hlavním cílem bylo stanovit optimální kultivační protokoly pro izolaci bakterií *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Yersinia enterocolitica* a *Salmonella* spp. v odpadních vodách. Z práce však nevyplývá, proč se autorka zaměřila právě na tyto bakteriální druhy/rody, zda pro některé z uvedených cílových bakterií již

existují metody jejich detekce ve vodách/kalech, nebo zda lze vycházet z metod příbuzných např. pro potraviny a krmiva. V této části práce postrádám informaci o způsobu odběru a předúpravě vzorků odpadních vod. Autorka popisuje odebírané typy odpadních vod a dále uvádí, že vzorky byly odebírány v průběhu celého roku, ve výsledcích jsem však nenašla žádné informace o tom, zda se abundance sledovaných bakterií mění v závislosti na klimatických podmínkách (sezonalita). Pokud chceme porovnávat výtěžnost různých metod (způsob zakoncentrování/pomnožení, teplotní podmínky kultivace, média), měli bychom si jednu metodu zvolit jako referenční např. metodu k detekci původců ve vodách nebo potravinách. Celkově není počet zpracovaných vzorků dostatečně vysoký (56) k provedení statistického vyhodnocení výsledků. Při mikrobiologické analýze vody se jako základní krok zakoncentrování bakterií používá zejména metoda filtrace, v menší míře i centrifugace. Objemy analyzovaných vzorků se tak mohou pohybovat ve stovkách mililitrů a citlivost metody se tím zvyšuje. Filtry se mohou klást buď přímo na vysoce selektivní agarová média nebo lze provést neselektivní či selektivní pomnožení vzorků a vyočkování na vysoce selektivní/chromogenní média. Pokud má práce sloužit jako informace pro terénní laboratoře, bylo by vhodné zvolit shodný analytický přístup včetně zpracovávaného objemu vzorků. V současnosti existují vysoce selektivní média k detekci sledovaných bakterií, autorka je však až na výjimky ve své práci nepoužila. Pro zrychlení a zefektivnění mikrobiologické analýzy odpadních vod je možné kombinovat kultivační a molekulárně biologické metody, autorka však setrvává výhradně u modifikací stávajících metod řady EN ISO.

V případě pozitivních nálezů cílových bakterií disertantka správně odebírala z agarových médií více suspektních kolonií ke confirmaci a následně u nich stanovovala rezistenci k antibiotikům diskovou difuzní metodou. Výsledky stanovení rezistence pak uvádí jako celkovou sumu citlivých nebo rezistentních bakterií, což neumožňuje výsledky správně interpretovat. Kolonie jednoho druhu s identickou rezistencí detekované v jednom vzorku by měly být k vyjádření procent započítány jen jednou. Může studentka doplnit informaci o výskytu různých vzorců rezistence u sledovaných bakterií na jednotlivé vzorky? Např. u salmonel se určité typy rezistence vyskytují u specifických sérotypů. Bez této základní charakteristiky mají výsledky stanovení rezistence minimální hodnotu. Z vědeckého pohledu by bylo zajímavé, kdyby byly alespoň některé z izolátů cílových bakterií blíže charakterizovány. V textu disertační práce autorka uvádí, že serotypizaci bakterií *Yersinia enterocolitica* neprováděla, ve zveřejněném rukopise však serotypy uvedeny jsou.

Ve druhé části práce se disertantka zaměřuje na přirozenou schopnost absorpce léčiv modelovými rostlinami pěstovanými hydroponicky. Provádí se běžně detekce léčiv v pitných vodách? Mohly by hydroponicky pěstované rostliny představovat nějaké zdravotní riziko pro spotřebitele?

Autorka se v další části práce zaměřila na hodnocení akutní toxicity při fotokatalytické degradaci herbicidů obsažených v odpadních vodách. Při praktickém využití by však tato technologie mohla představovat ekologické riziko pro vodní recipient. Pro jaké účely je tedy tato metoda určena?

K práci mám několik praktických otázek:

- Jak si vysvětluje vyšší záchyty bakterií *Staphylococcus aureus* ve vzorcích surových městských a přečištěných odpadních vod v porovnání s vodami nemocničními?
- Proč jste pro průkaz kmenů MRSA nepoužili přímo selektivní kultivační médium s cefoxitinem?
- Proč byly u stanovení pseudomonád pomnožené kultury ředěny desítkovým ředěním a následně byl objem 100 ul rozetřen na povrch agaru hokejkou?
- Jak si vysvětlujete negativní výsledky detekce salmonel ve vzorcích vod pomnožených v médiích PPV a RVS při 37 °C?

Závěrem konstatuji, že disertační práci Ing. Nikoly Roulové i přes výše uvedené připomínky **doporučuji k obhajobě**. Práce splňuje podmínky § 47 VŠ zákona č. 111/98 Sb.

V Brně dne 19. 5. 2023

