PT#V/4/2018
Stanovení mikroskopického obrazu v pitné a surové vodě

(obrazová dokumentace a prezentace ze semináře vyhodnocení kola)

Petr Pumann

Státní zdravotní ústav

Seminář k vyhodnocení PT#V/4/2018

14. 6. 2018

upraveno k prezentaci na internetu

IDENTITA

Program zkoušení způsobilosti

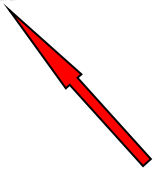
Název	Stanovení mikroskopického obrazu v pitné a surové (povrchové) vodě
Označení	PT#V/4/2014
Vydáno dne	19.5.2014

Poskytovatel

Adresa	Státní zdravotní ústav Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti Šrobárova 48 Praha 10
PSČ	100 42
IČ	75010330
Kontakt	Mgr. Petr Pumann
Pozice	koordinátor programu
Telefon	267082220
Fax	267082271
E-mail	ppumann@szu.cz
Internet	http://www.szu.cz/pzz-voda

Účastník

Adresa	[redacted]
PSČ	[redacted]
IČ	[redacted]
Kontakt	[redacted]
Telefon	[redacted]
E-mail	[redacted]
Kód	**999**



kód účastníka, pod kterým je veden v celé zprávě

Akce

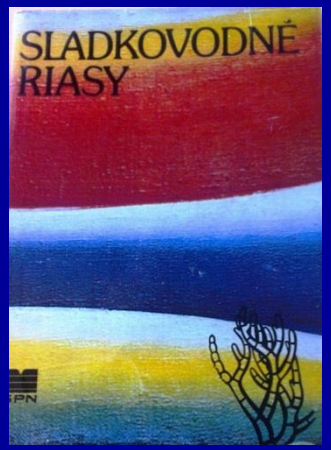
- **Pracovní konference České algologické společnosti**
  - Olomouc (Přírodovědecká fakulta)
  - 17. - 20. září 2018
- **Kurzy na SZÚ**
  - termíny podle zájmu a domluvy
    - základy mikroskopického rozboru vody
    - mikroskopické stanovení sinic
  - cena – 1,5 dne (2000 Kč + DPH)
  - počet účastníků 4

Každoroční determinační kurzy

- příští kurz červen 2019
- v plánu je Vranovská přehrada (Bítov)

Chystaná zajímavá publikace

- **Nový česky psaný atlas sinic a řas**
  - inspirace Sladkovodné riasy od prof. Hindáka – „Sladkovodné riasy po 40 letech"
- kolektiv autorů pod vedením pracovníků Jihočeské univerzity
- předpokládané vydání 2019



Vzorky - zajištění homogenity

- promícháno v 5 litrovém barelu se spodním výpustním kohoutem nebo v jiných větších nádobách nebo menších plastových lahvích
- rovnoměrné rozložení
- SZÚ – vždy tři vzorky

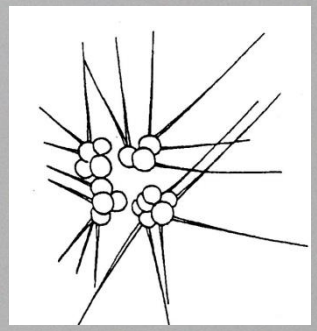
číslo vzorku	**1**	**2**	**3A**	**3B**	**4**	**5**
vzorkovnice	150ml	150ml	ependorf	ependorf	150ml	150ml
počet vzorkovnic	20	20	18	18	20	14
pořadí vzorkovnic pro kontrolu homogenity	1, 10, 20	1, 10, 20	x	x	1, 10, 20	1, 8, 14

Vzorek 1

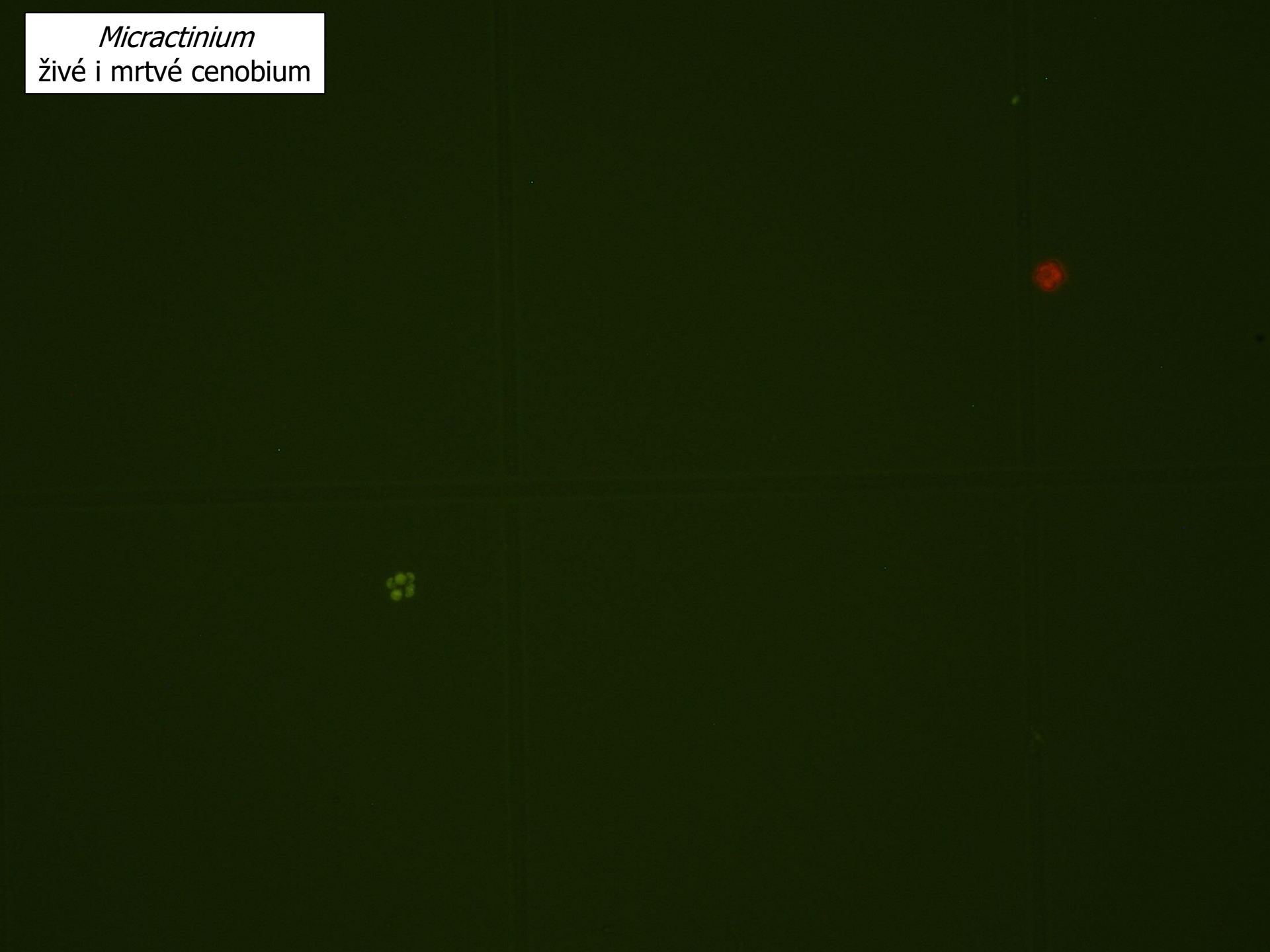
Vzorek 1 - příprava

- pražská vodovodní vody odebraná v SZÚ
- voda z rybníka ve Vochově u Plzně odebraná ve dnech 8. 4. 2018
  - v části vzorku byly organismy usmrceny vysokou dávkou dichlorisochlorkyanurátu sodného, po cca 30 min dechlorace
  - filtrace obou vzorků přes síť 100 µm

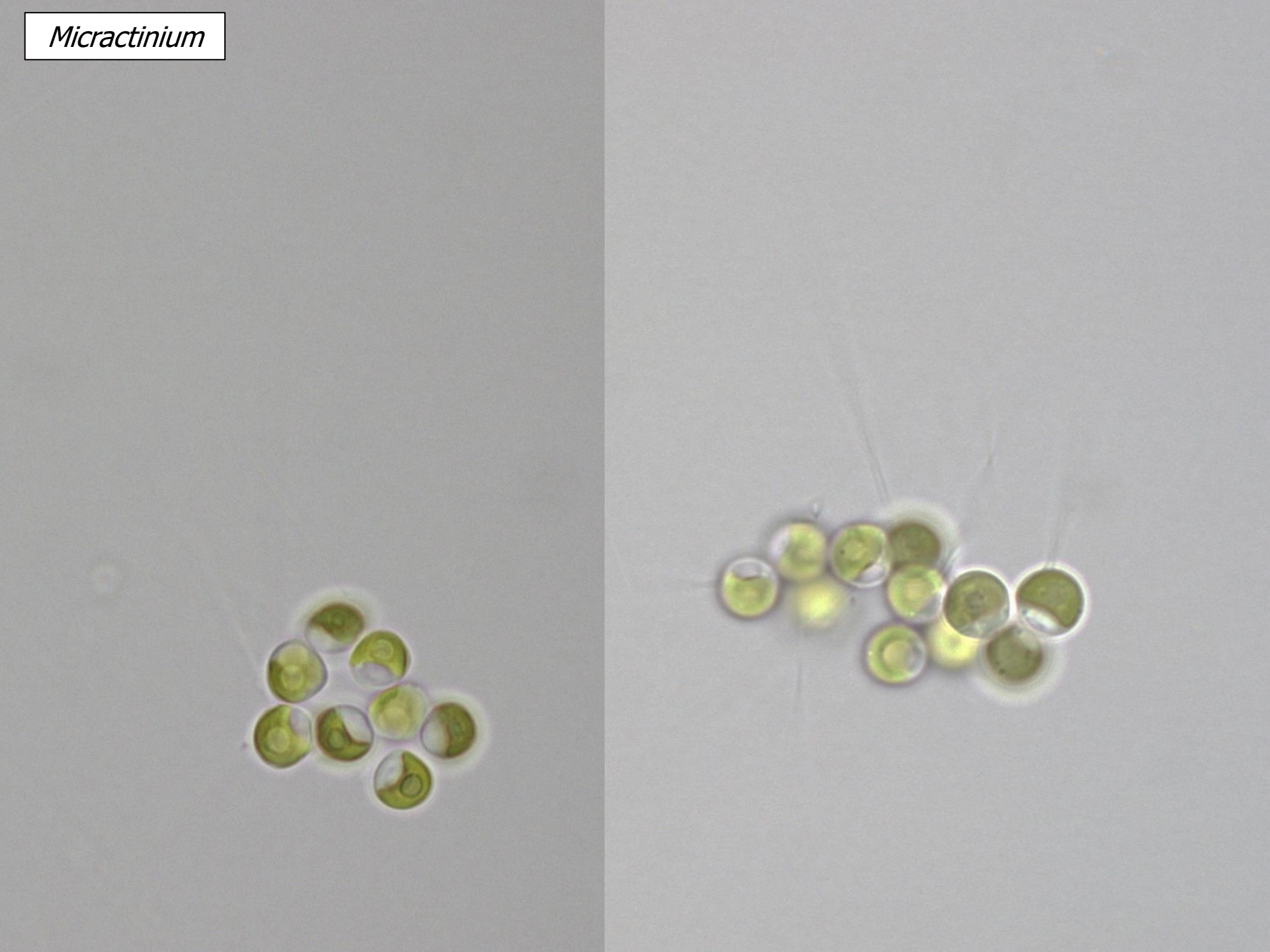
Micractinium



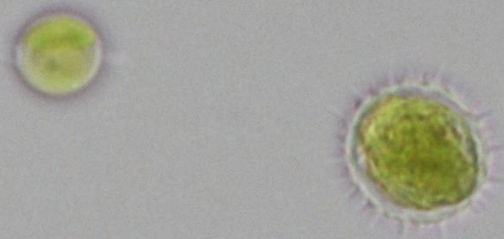
Micractinium
živé i mrtvé cenobium



Micractinium

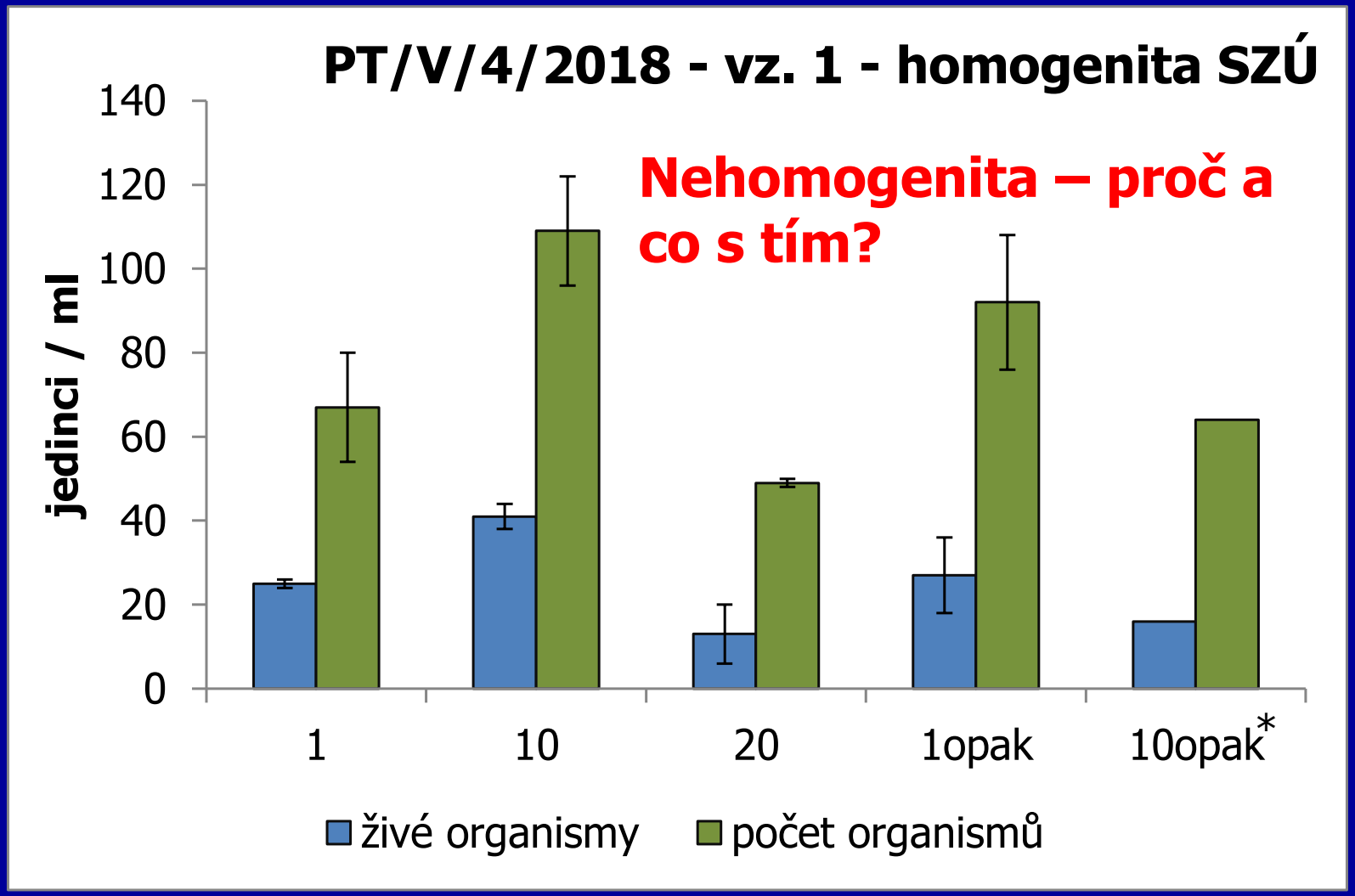


Desmodesmus



Kód	Nález	Úspěšnost
36	Ve vzorku dominovaly zelené řasy (nejvíce zastoupeno bylo Micractinium)	+
161	Ve vzorku se vyskytovaly zelené kokální řasy (Coelastrum cf., Chlorococales cf., Desmodesmus cf.), centrické rozsivky. Ojedinělý výskyt krásnoočka. Poznámka SZÚ: Neuveden dominantní taxon zelených řas Micractinium	+?
165	Miractinium sp., Scenedesmus sp., kokální řasa, ojediněle zelený bičíkovec (Chlamydomonas sp.), ojediněle centrická rozsivka	+
172	Micractinium sp.,Desmodesmus sp, Coelastrum sp., drobné chlorokokální řasy	+
183	Přítomny zelené řasy rodu Micractinium, Desmodesmus a dále drobné chlorokokální řasy.	+
586	Ve vzorku, u živých i mrtvých organismů, dominuje zelená kokální řasa Micractinium pusillum (Chlorophyceae). Dále byly zjištěny další druhy zelených kokálních a zelené bičíkaté řasy (Volvoccales) rodu Chlamydomonas. Zaznamenány byly i mrtvé centrické rozsivky (Bacillariophyceae).	+
588	- Cyanophceae, Chroococcales, Chroococcus spp. - Chlorophyta, Chlorococcales, Coelastrum spp. - Chlorophyta, Chlorococcales, Ankistrodesmus spp. Poznámka SZÚ: Neuveden dominantní taxon zelených řas Micractinium	+?
591	Dominují zelené kokální řasy. Zřejmě Micractinium sp., Coelastrum sp.	+
826	Dominantní zelené kokální řasy: Micractinium sp., Coleastrum sp., méně zelená bičíkatá řasa	+
975	Dominují Chlorophyta - zelené řasy (Micractinium sp., Scenedesmus sp., Chlamydomonas sp., drobné kokální řasy), ojediněle Bacillariophyceae - rozsivky (centrické)	+
1048	Převažují drobné chlorokokální řasy Micractinium pusillum; další početně více zastoupený taxon - Chlamydomonas sp. div. (+ zelení bičíkovci Volvocales g.sp.). Méně četné / ojedinělé nálezy byly zaznamenány u těchto druhů (skupin organismů): - Chrysophyceae g.sp.; drobné centrické rozsivky - Chlorococcales g.sp., Desmodesmus communis, Tetrastrum staurogeniaeforme, Tetrastrum sp., Pteromonas angulosa - Chytridiomycota g.sp., heterotrofní bičíkovci	+
1075	Ve vzorku se nacházejí živé buňky zelených řas - Micractinium pusillum, drobní zelení bičíkovci, Pasherina tetras, Acutodesmus a rod Trachelomonas.	+
1109	Kvalitativní rozbor: Dominují chlorokokální zelené řasy jednobuněčné nebo vícebuněčná coenobia (Micractinium sp., ojediněle Desmodesmus sp.), z volvokálních zelených řas zaznamenán rod Chlamydomonas. Dále zaznamenán výskyt centrických rozsivek. Také se vyskytují železité bakterie, které se nezahrnují do celkového počtu organismů (přibližně 40 jedinců/ml).	+
1110	Drobné chlorokokální řasy (Micractinium sp. ?)	+
1699	zelené chlorokokální řasy: Chlorophyta/ Chlorococcales: Micractinium pusillum (dominantní), Scenedesmus sp.	+

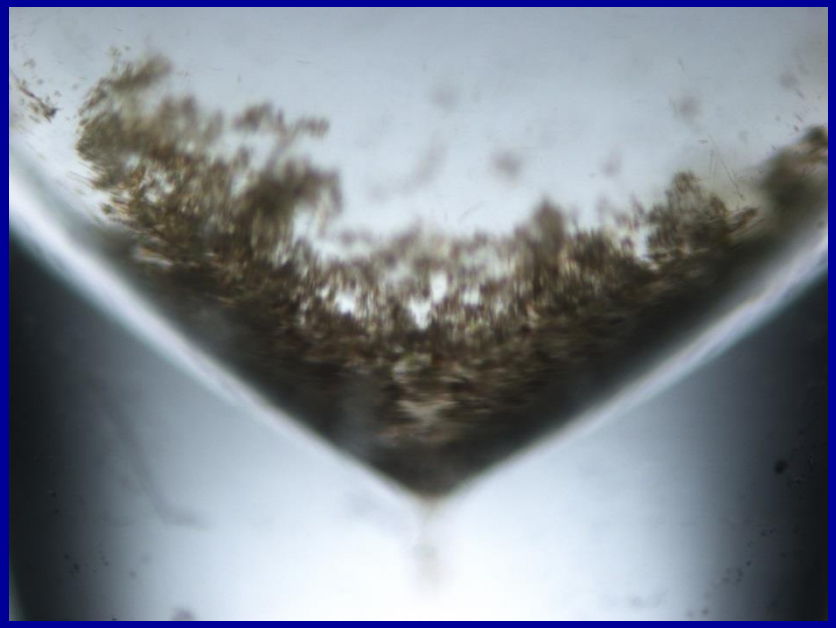
Vzorek 1 – homogenita (SZÚ)

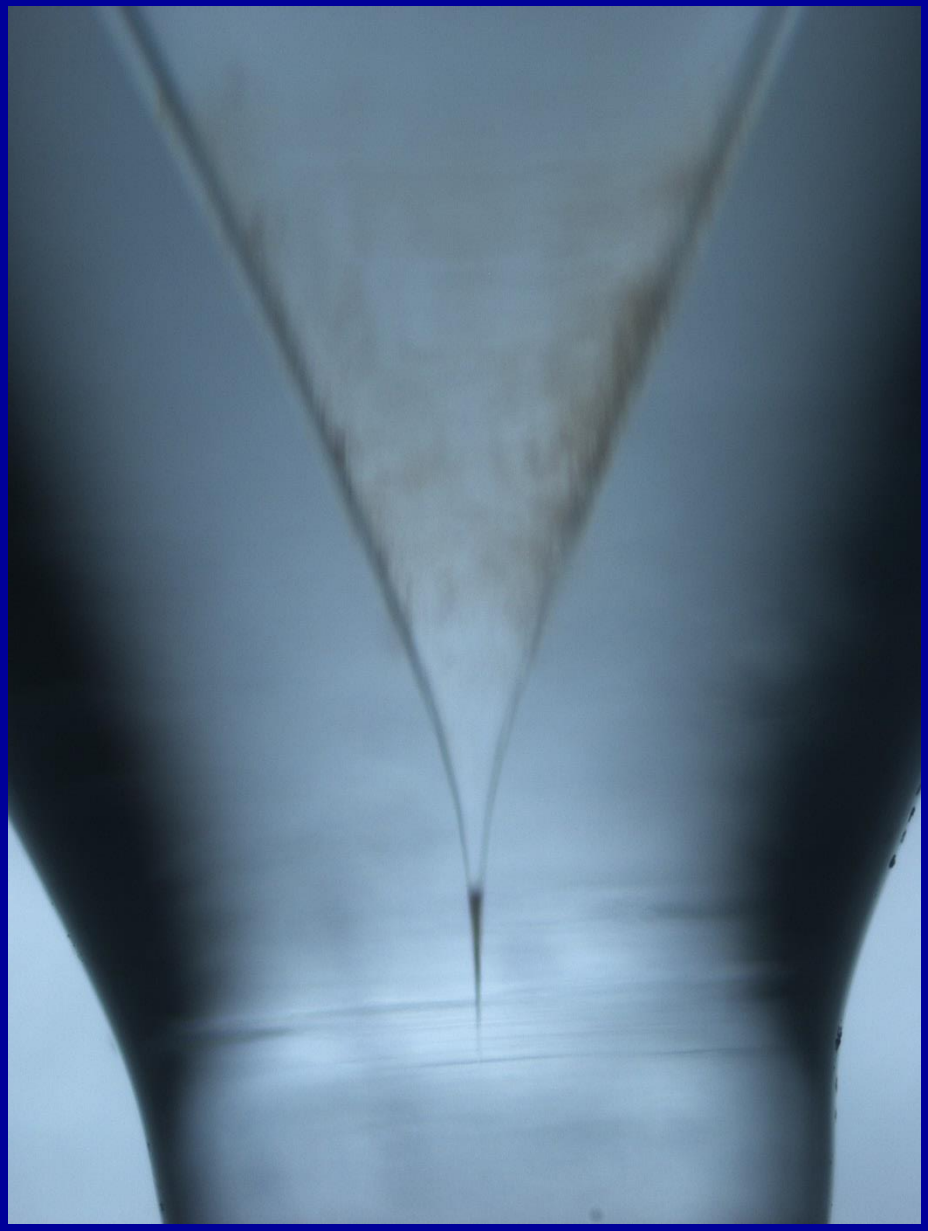


* 10opak - jen jedno měření

Problém v s homogenitou v laboratoři SZÚ

- nové zkumavky – promíchání zahuštěného v nových zkumavkách s výrazně užší špičkou (vpravo) se musí provádět s větší intenzitou než u původních zkumavek (vlevo)
- zjištěno až s několikadenním zpožděním, proto nemohly být analýzy zopakovány

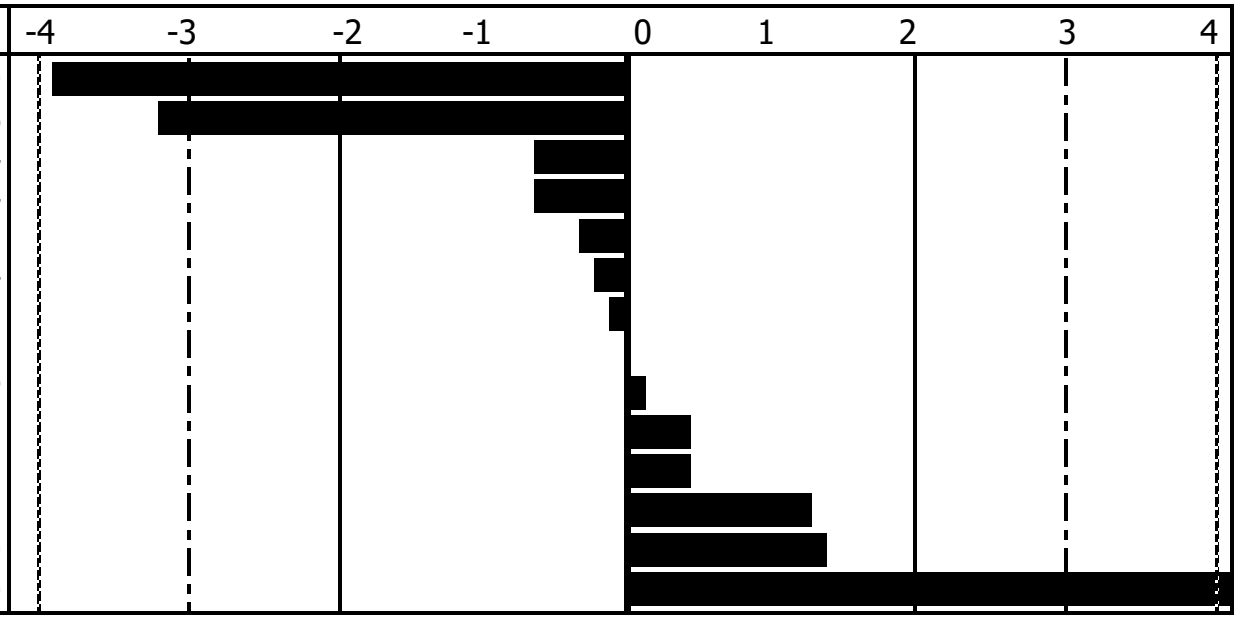




Vzorek 1 – Pitná voda - počet organismů

terčové lab.= účastníci

V	lab	výsledek (jedinci/ml)	z-score
!	1075	29,0	-3,89
!	1699	38,0	-3,16
X	165	69,0	-0,64
X	183	69,0	-0,64
X	588	73,0	-0,32
X	975	74,0	-0,24
X	161	75,5	-0,11
X	172	77,0	0,01
X	1110	79,0	0,17
X	586	82,0	0,41
X	826	82,0	0,41
X	591	92,0	1,23
X	1048	94,0	1,39
!	1109	147,0	5,70



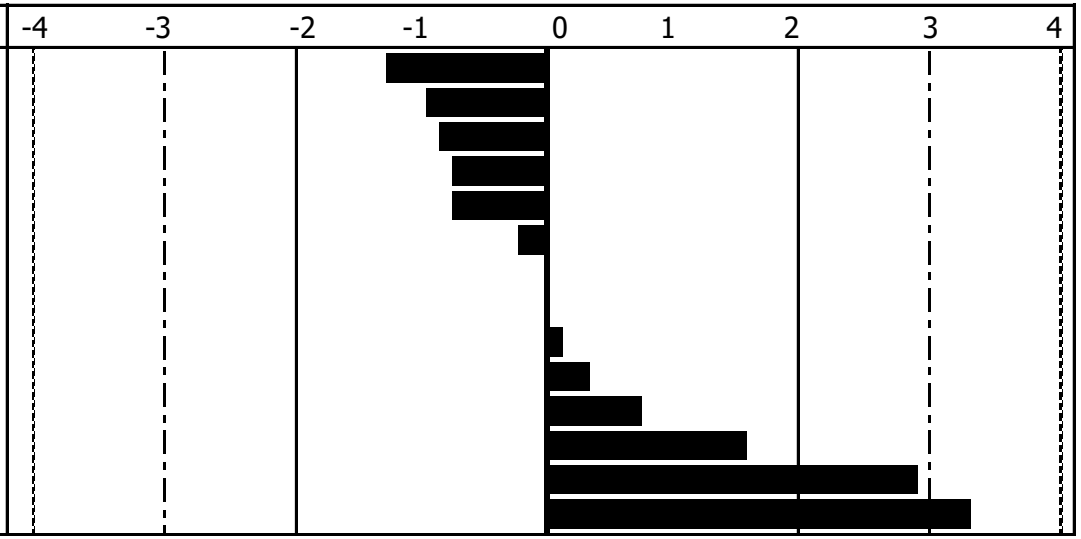
počet laboratoří: 14
z toho vyhovuje: 11
z toho nevyhovuje: 3

vztažná hodnota: 76,9 jedinci/ml
vztažná odchylka: ±32%
interval správných hodnot: 52,3 - 101,5 jedinci/ml

Vzorek 1 – Pitná voda - počet živých organismů

účastníci

V	lab	výsledek (jedinci/ml)	z-score
X	1699	17,0	-1,20
X	1075	19,5	-0,97
X	172	21,0	-0,83
X	183	22,0	-0,74
X	586	22,0	-0,74
X	1110	27,0	-0,28
X	161	31,0	0,09
X	591	31,0	0,09
X	826	32,0	0,19
X	165	34,0	0,37
X	1048	38,0	0,74
X	975	47,0	1,57
?	1109	60,5	2,82
!	588	65,0	3,24

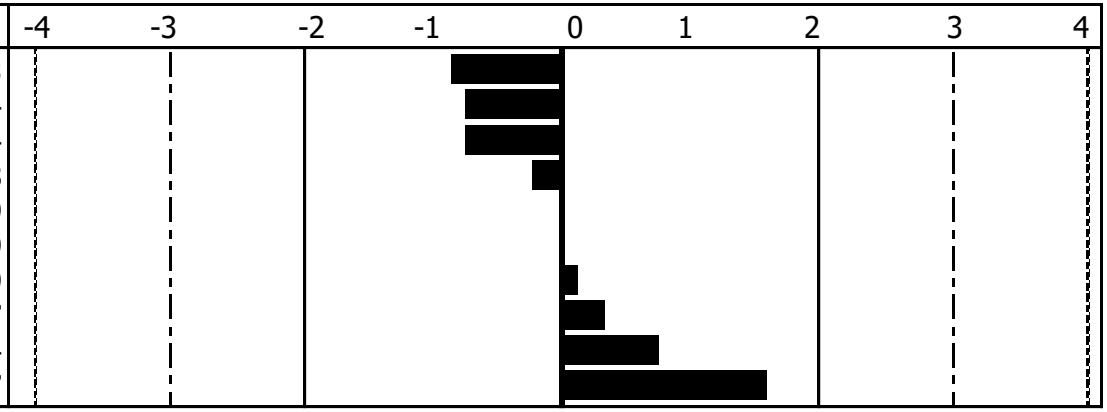


počet laboratoří: 14
z toho vyhovuje: 12
z toho nevyhovuje: 2

vztažná hodnota: 30 jedinci/ml
vztažná odchylka: ±72%
interval správných hodnot: 8,4 - 51,6 jedinci/ml

terčové lab.

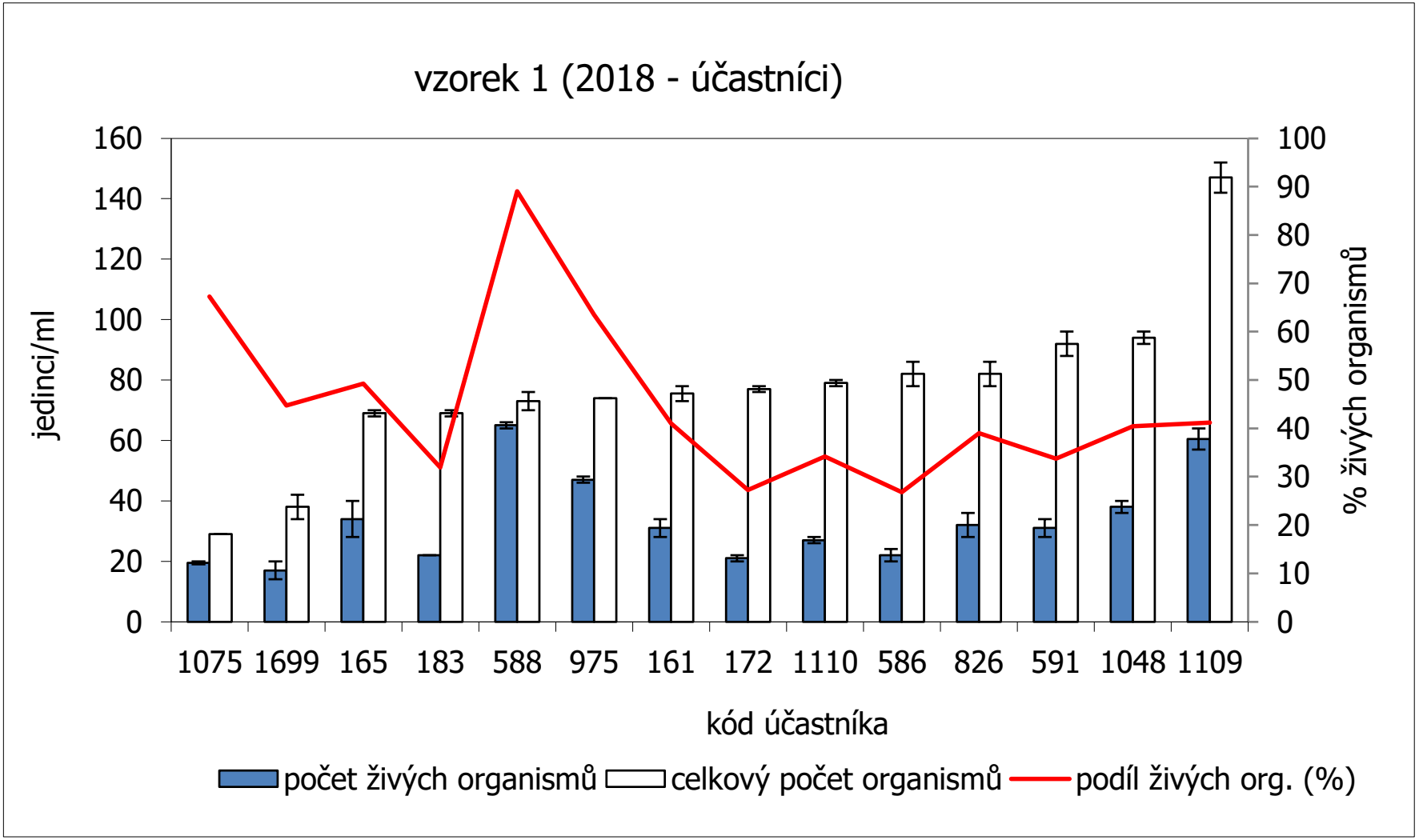
V	lab	výsledek (jedinci/ml)	z-score
X	172	21,0	-0,83
X	183	22,0	-0,74
X	586	22,0	-0,74
X	1110	27,0	-0,28
X	161	31,0	0,09
X	591	31,0	0,09
X	826	32,0	0,19
X	165	34,0	0,37
X	1048	38,0	0,74
X	975	47,0	1,57



počet laboratoří: 10
z toho vyhovuje: 10
z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 30 jedinci/ml
vztažná odchylka: ±72%
interval správných hodnot: 8,4 - 51,6 jedinci/ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje


vzorek 1 (2018 - účastníci)
jedinci/ml
% živých organismů
0
20
40
60
80
100
120
140
160
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
1075
1699
165
183
588
975
161
172
1110
586
826
591
1048
1109
kód účastníka
počet živých organismů
celkový počet organismů
podíl živých org. (%)

Souhrnné vyhodnocení živých organismů ve vzorku 1

kód	počet organismů (jedinci/ml)	počet živých organismů (jedinci/ml)	podíl živých organismů (%)	Z-score počet živých organismů	Z-score podíl živých organismů (%)	úspěšnost v ukazateli
161	75,5	31	41	0,09	-0,05	+
165	69	34	49	0,37	0,55	+
172	77	21	27	-0,83	-1,05	+
183	69	22	32	-0,74	-0,71	+
586	82	22	27	-0,74	-1,08	+
588	73	65	89	3,24	3,44	-
591	92	31	34	0,09	-0,58	+
826	82	32	39	0,19	-0,19	+
975	74	47	64	1,57	1,59	+
1048	94	38	40	0,74	-0,09	+
1075	29	19,5	67	-0,97	1,86	+
1109	147	60,5	41	2,82	-0,04	+
1110	79	27	34	-0,28	-0,55	+
1699	38	17	45	-1,2	0,22	+

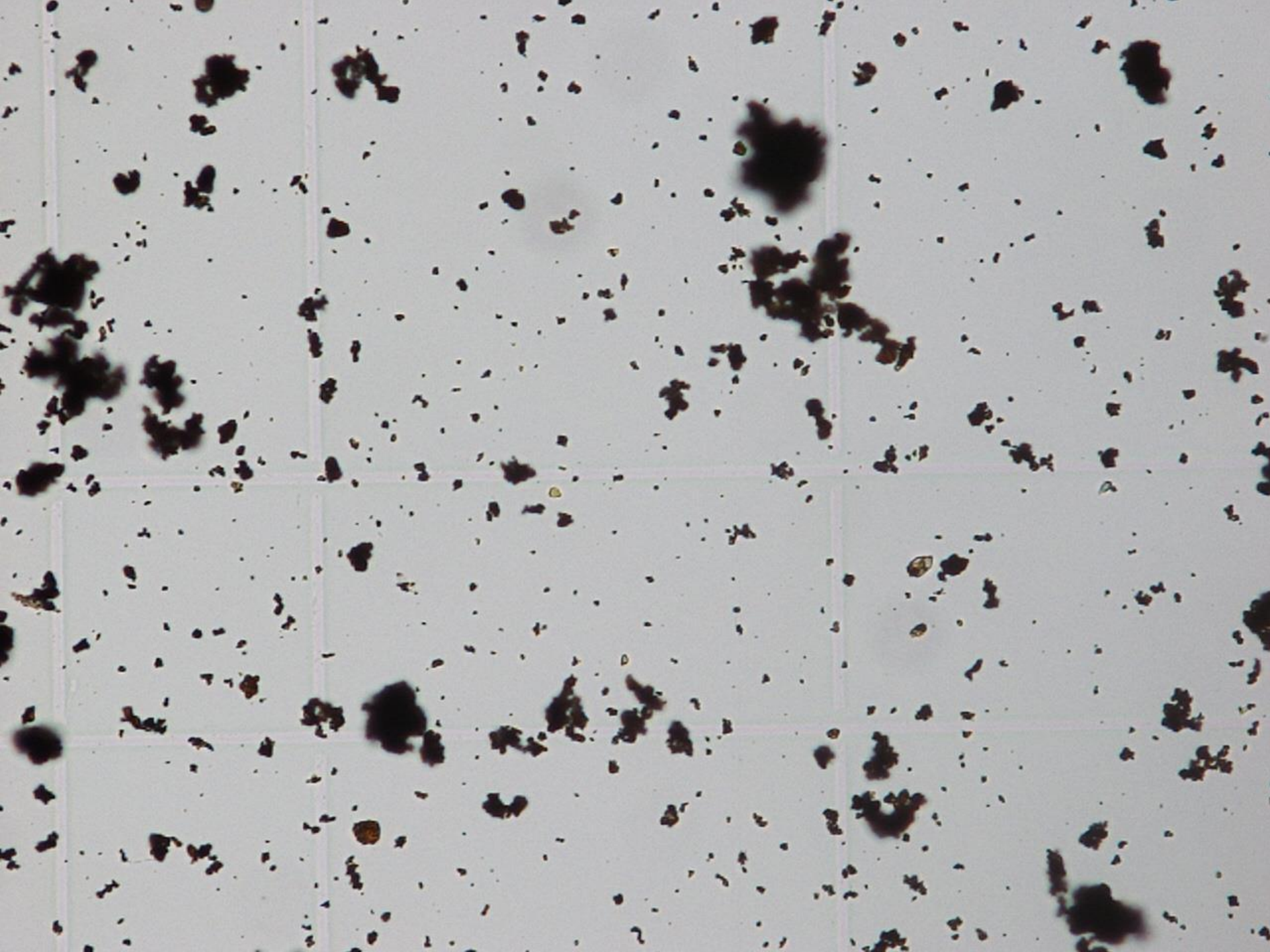
Vzorek 2
(abioseston)

Příprava

- usazeniny z kalníku ze sklepa budovy č. 5 SZÚ.
- rozmíchány v malém objemu vody
- výsledná suspenze byla naředěna do 4 litrů pražské vodovodní vody
- kvůli odstranění velkých částic filtrována přes gázu

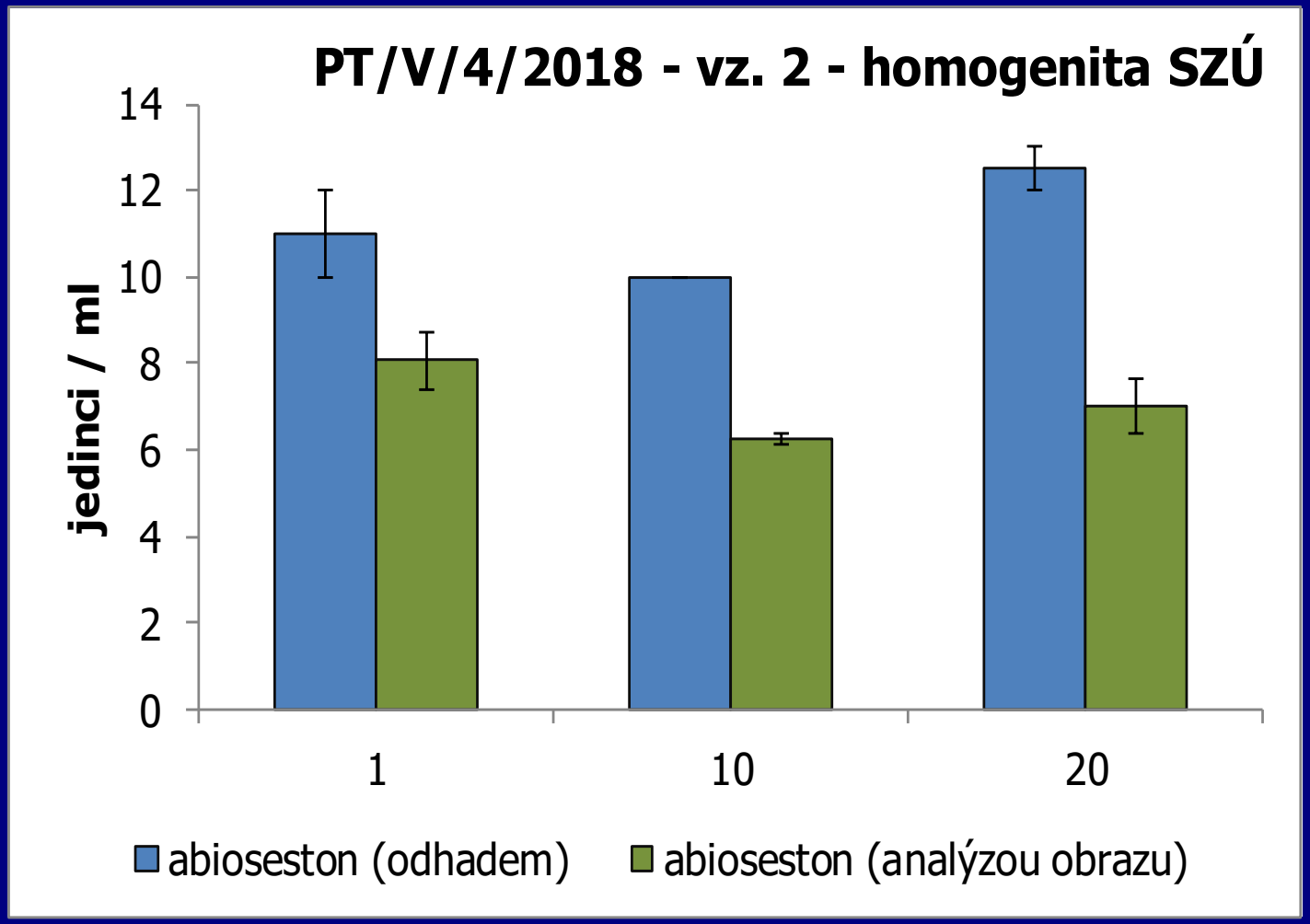
Komentáře

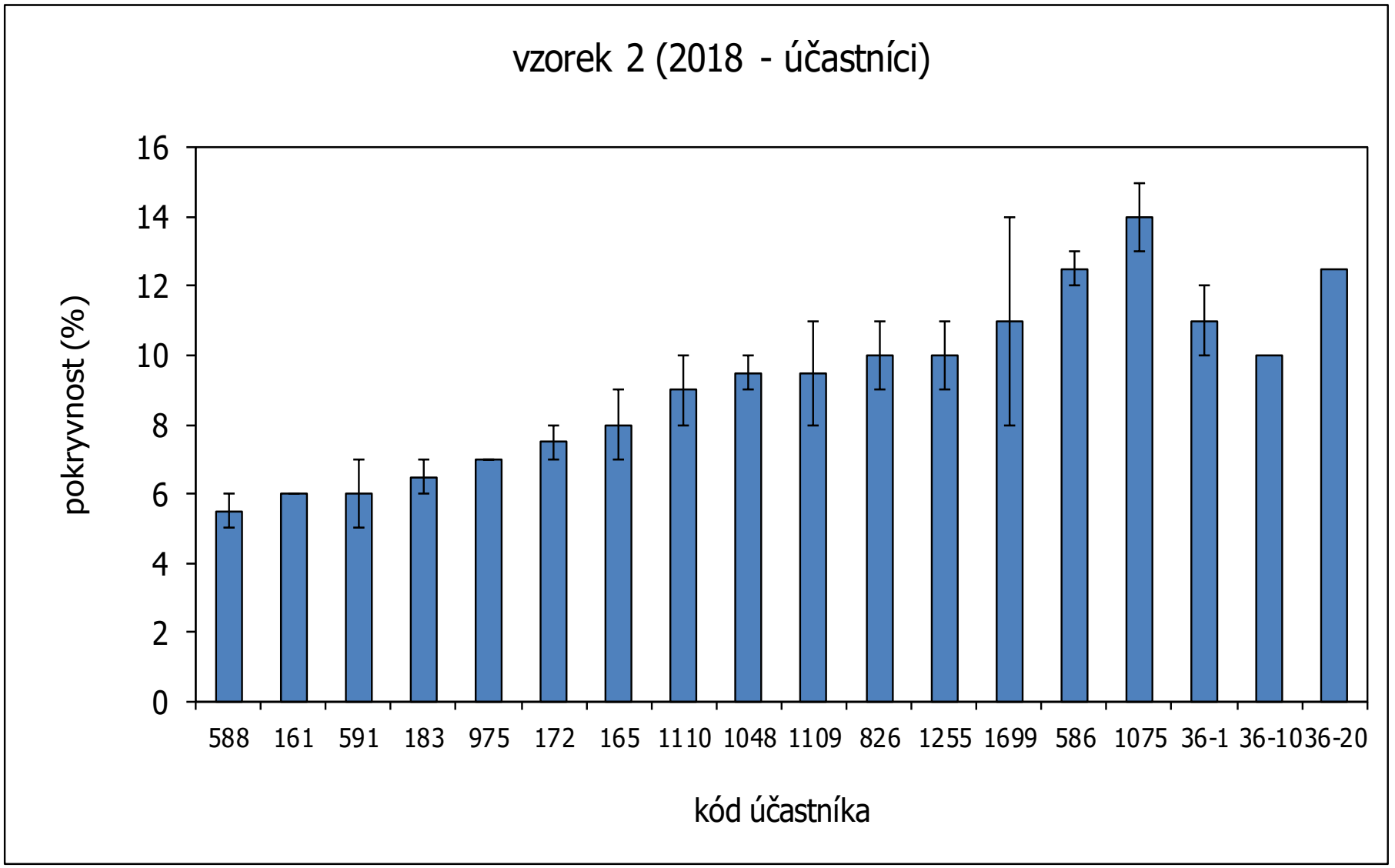
1109	Vzorek č. 2: rozložení částic na Cyrusově komůrce bylo značně heterogenní, proto bylo prováděno opakované zahuštění a příprava do Cyrusovy komůrky. Hodnoty analýzy obrazu se pohybovaly od 7,7 % do 10,7 %.
1255	Poznámka ke zpracování vzorku č. 2: Po centrifugaci ulpěla viditelná část pevného materiálu na stěně centrifugační zkumavky a ani intenzivním promícháváním pipetou se nepodařilo dostat všechen materiál do suspenze. Je proto pravděpodobné, že výsledek stanovení je mírně podhodnocen.



Kód	Nález	Úspěšnost
36	Ve vzorku převládaly železité sraženiny, produkty koroze	+
161	Ve vzorku dominovaly sloučeniny železa, dále se zde vyskytovaly drobné úlomky anorganických sloučenin.	+
165	produkty železitých bakterií Poznámka SZÚ: Spíše než produkty bakteriálního původu (i když ty ve vzorku byly také) se jednalo o korozní produkty	+?
172		-
183	Sraženiny železa a minerální částice.	+
586	Abioseston je skoro téměř výhradně tvořen manganovými a železitými sraženinami s největší pravděpodobností bakteriálního původu Poznámka SZÚ: Spíše než produkty bakteriálního původu (i když ty ve vzorku byly také) se jednalo o korozní produkty	+?
588	Sraženiny hydroxidu železitého Fe(OH)3	+
591	Sraženiny Fe a Mn, ojediněle železité bakterie	+
826	sraženiny Fe ,Mn; železité bakterie velmi ojediněle	+
975	sraženiny železa	+
1048	Dominantní složka: rez - sraženiny Fe Další výskyt (ojediněle): anorg. krystalky a detritus, produkty/schránky železitých bakterií Leptothrix ochracea, úlomky skla	+
1075	Ve vzorku se vyskytují velmi hojně černé sraženiny manganu a ojediněle rezavé sraženiny železa. Poznámka SZÚ: Sice jsme neprováděli prvkovou analýzu sraženiny, ale předpokládáme, že zastoupení železa bylo vyšší než manganu.	+?
1109	Dominují sraženiny železa a zřejmě manganu. Dále se vyskytují produkty metabolismu či pochvy železitých bakterií.	+
1110	Minerální úlomky, sloučeniny železa, ojediněle bakteriální vlákna	+
1255	Abioseston tvoří převážně anorganické sraženiny železa a manganu. Ojediněle lze nalézt zrnka písku.	+
1699	anorganické sraženiny železa a produkty koroze	+

Vzorek 2 – homogenita (SZÚ)

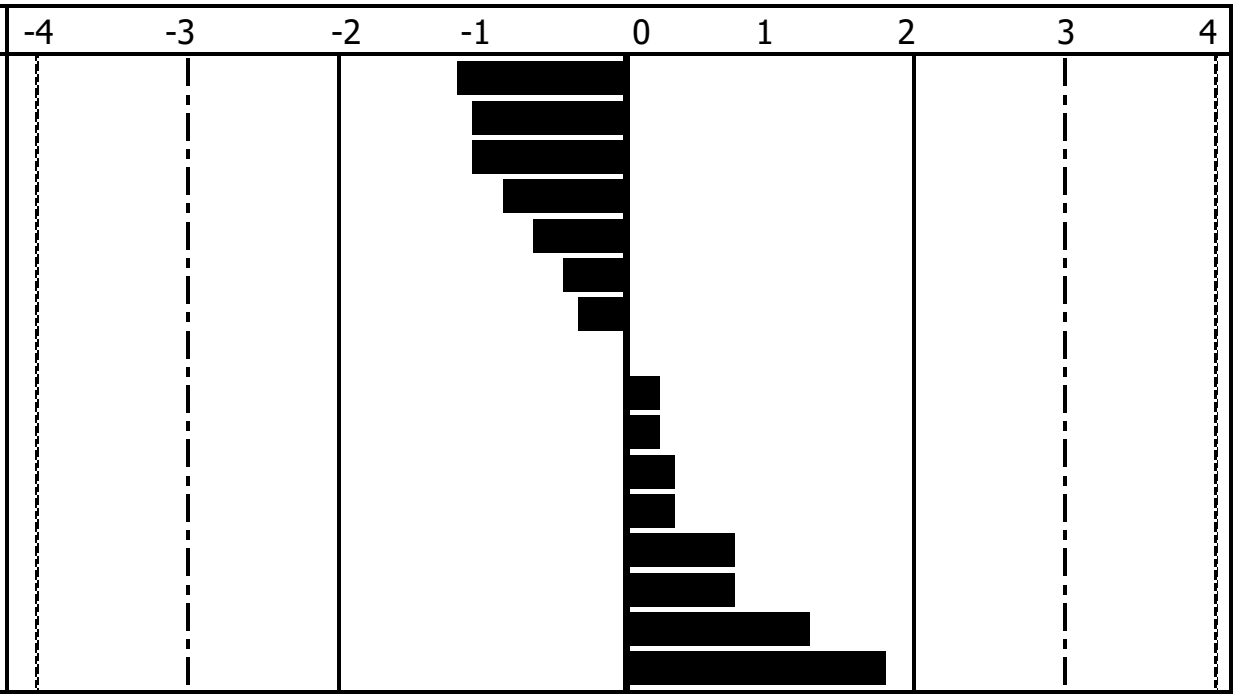



vzorek 2 (2018 - účastníci)
pokryvnost (%)
0
2
4
6
8
10
12
14
16
588
161
591
183
975
172
165
1110
1048
1109
826
1255
1699
586
1075
36-1
36-10
36-20
kód účastníka

Z-score pro abioseston (odhadem) – pitná voda

terčové lab. = účastníci

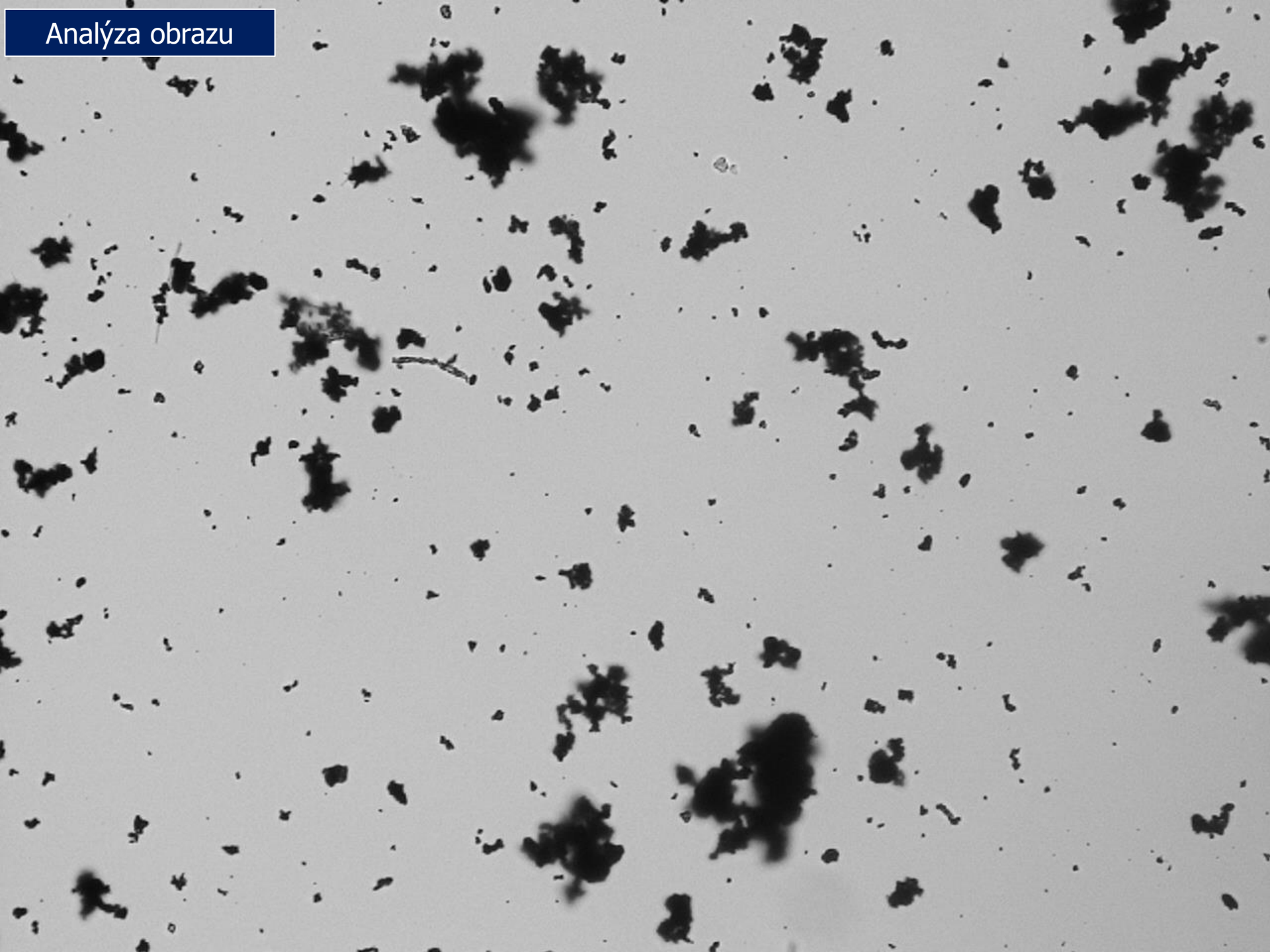
V	lab	výsledek (%)	z-score
X	588	5.5	-1.19
X	161	6.0	-1.02
X	591	6.0	-1.02
X	183	6.5	-0.84
X	975	7.0	-0.67
X	172	7.5	-0.49
X	165	8.0	-0.32
X	1110	9.0	0.04
X	1048	9.5	0.21
X	1109	9.5	0.21
X	826	10.0	0.39
X	1255	10.0	0.39
X	1699	11.0	0.74
X	36	11.0	0.74
X	586	12.5	1.26
X	1075	14.0	1.79



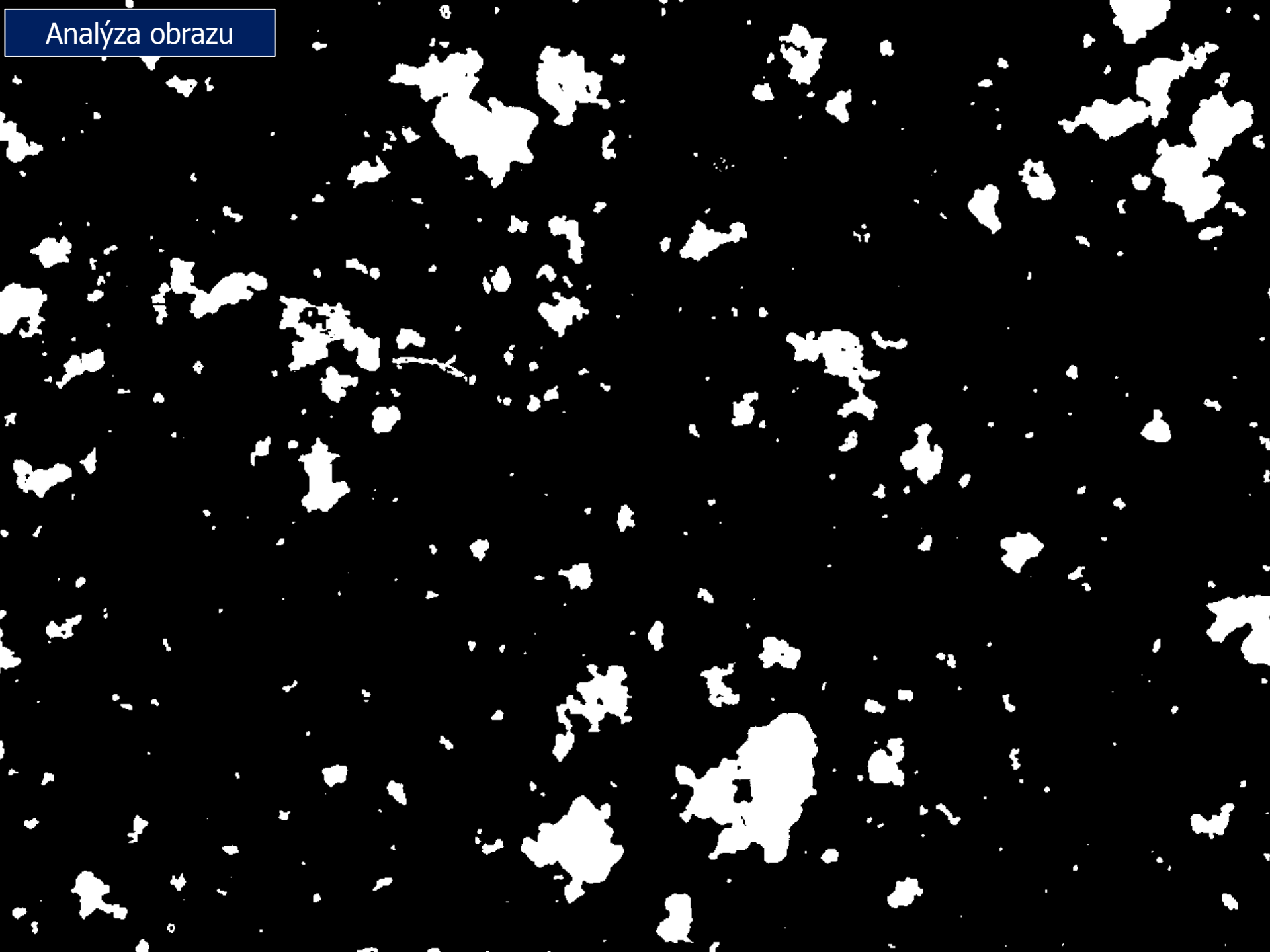
počet laboratoří: 16
z toho vyhovuje: 16
z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 8,9 %
vztažná odchylka: ±64%
interval správných hodnot: 3,3 - 14,5 %

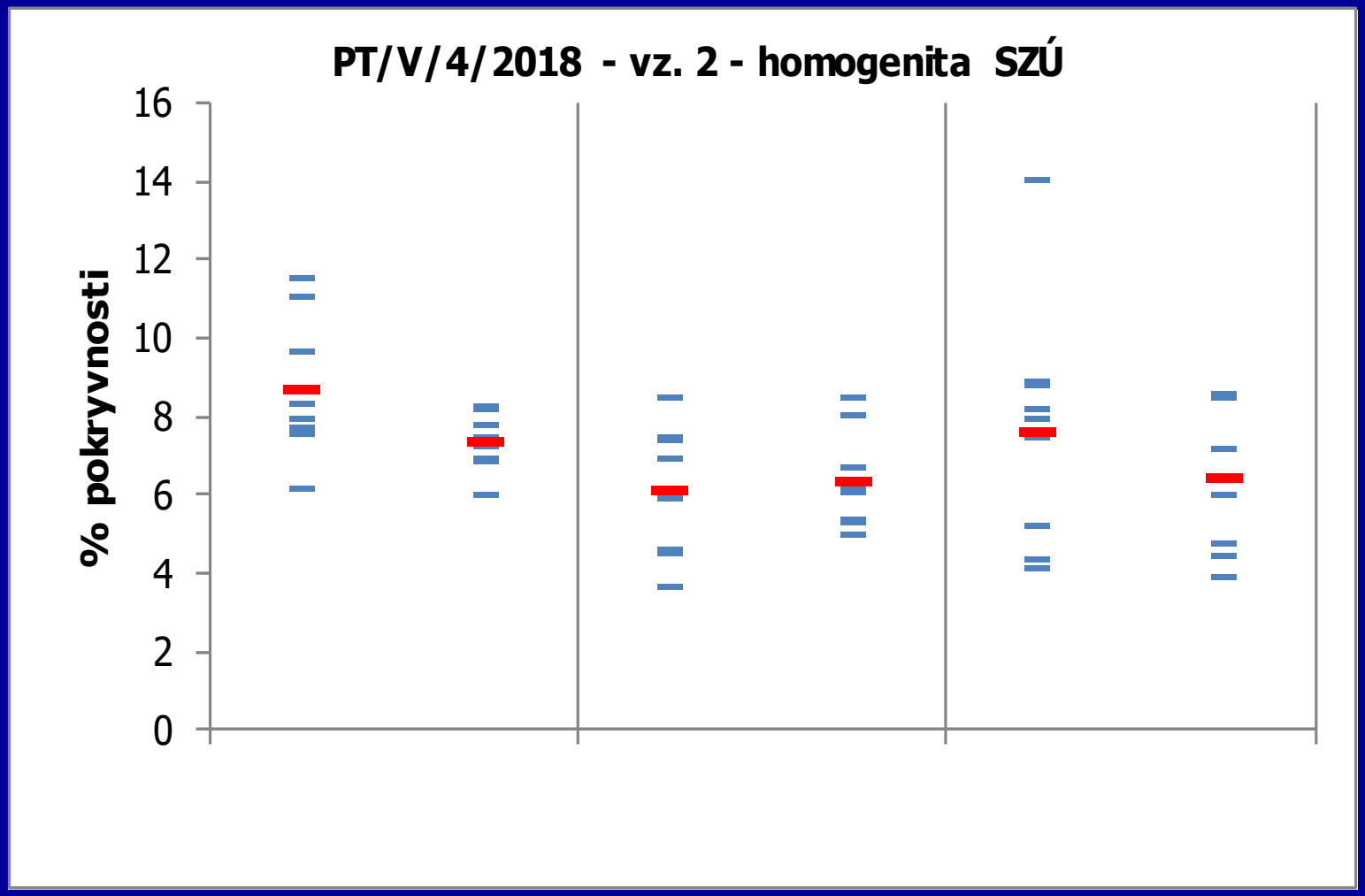
Analýza obrazu



Analýza obrazu



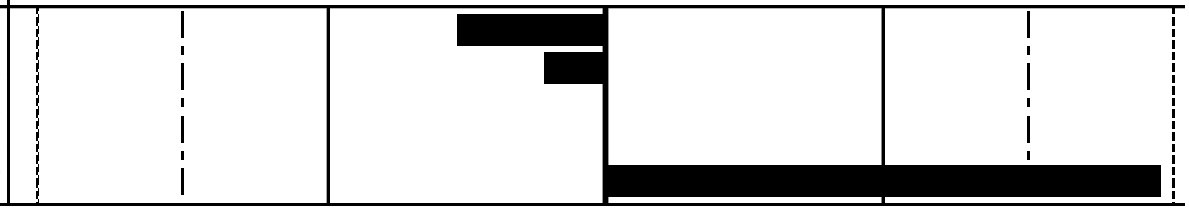
Analýza obrazu - homogenita SZÚ



Metodiky – Analýza obrazu

586	provedeno nafocení 10 snímků, které byly zpracovány programem LUCIA (metodika dle Pumanna).
1048	Odstředění 10 ml vzorku, zahuštění na 0,2 ml, stanoveno v počítací komůrce CYRUS I při celkovém zvětšení 100×, kontrolováno při celkovém zvětšení 200× (prahování v SW Lucia G - LIM): - Zvětšení 100×, procházející světlo, prahováno ručně i makrem; konečný výsledek je z prahování makrem, průměr z 10 hodnot - 10 zorných polí náhodně vybraných pro každé paralelní stanovení u vzorku (vzorek zpracován ve 2 paralelních stanoveních). Složitější prahování vzhledem k problematické homogenizaci vzorku v počítací komůrce (viz další kontrolní analýzy). - Zvětšení 200 ×, prahováno makrem, průměr ze 7 zorných polí: 14,67 % (rozpětí 1,82 % - 38,30 %). - Zvětšení 200 ×, prahováno ručně, výběr 5 zorných polí: rozpětí 1,60 % - 33,70 %. - Zvětšení 100 ×, prahováno makrem, výběr 20 zorných polí: rozpětí 2,00 % - 16,07 %.
1075	Analýza obrazu: 10 fotografií bylo pořízeno náhodně ze vzorku pomocí snímací kamery Infinity 1. Dále byly fotografie zpracovány pomocí SW ImageJ. Snímky se nejprve převedly na 8bit hloubku obrazu. Dále se dle funkce Treshold nastavil práh, dle kterého byl abioseston odlišen od pozadí na smínku (porovnáváno s originálními fotografiemi). Následovalo převedení snímku na snímek binární. Nakonec byla dle funkce "Analyze particles" (při zaškrutnutí "Display results" a "Analyze") určena pokryvnost tmavých ploch. Z deseti hodnot byl proveden průměr, stanovení se provedlo duplicitně.
1109	Zhotoveny digitální fotografie (Canon EOS 600 D). Pomocí volně stažitelného programu UTHSCSA Image Tool provedena analýza obrazu: 1. Převedení do šedé škály (Processing - Colour to Grayscale) 2. Manuální prahování (Processing - Treshold - Manual) 3. Analýza (Analysis - Count Black/White Pixels)

Z-score pro abioseston (analýzou obrazu) – pitná voda

V	lab	výsledek (%)	z-score	-4 -3 -2 -1 0 1 2 3 4
X	36	7.1	-1.03	
X	1048	8.1	-0.48	
X	1075	9.0	0.08	
X	1109	9.0	0.08	
!	586	15.4	3.87	

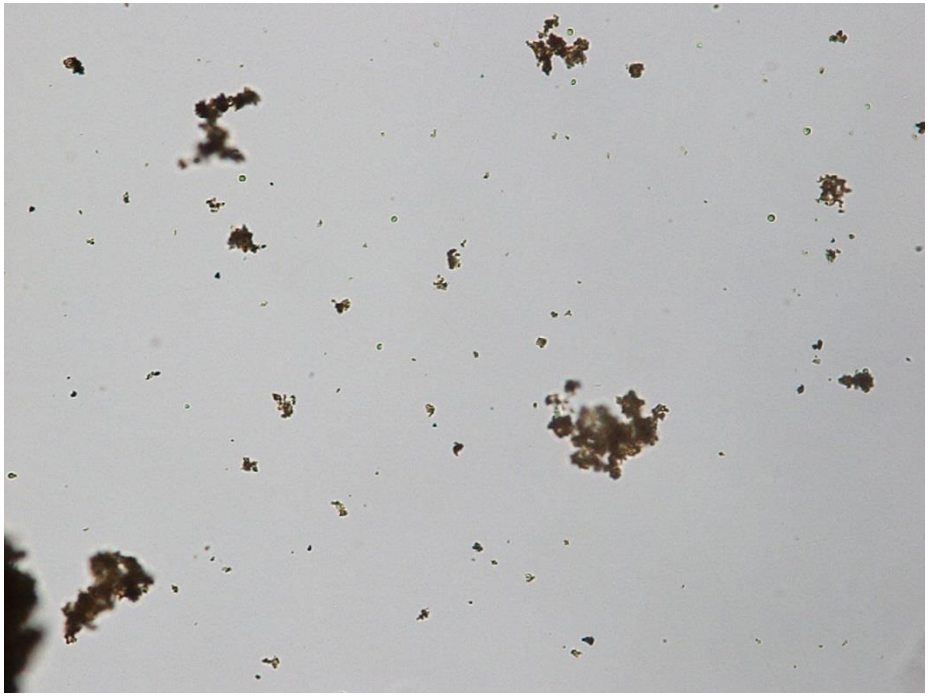
počet laboratoří: 5
z toho vyhovuje: 4
z toho nevyhovuje: 1

vztažná hodnota: 8,86 %
vztažná odchylka: 1,69 %
interval správných hodnot: 5,48 - 12,24 %

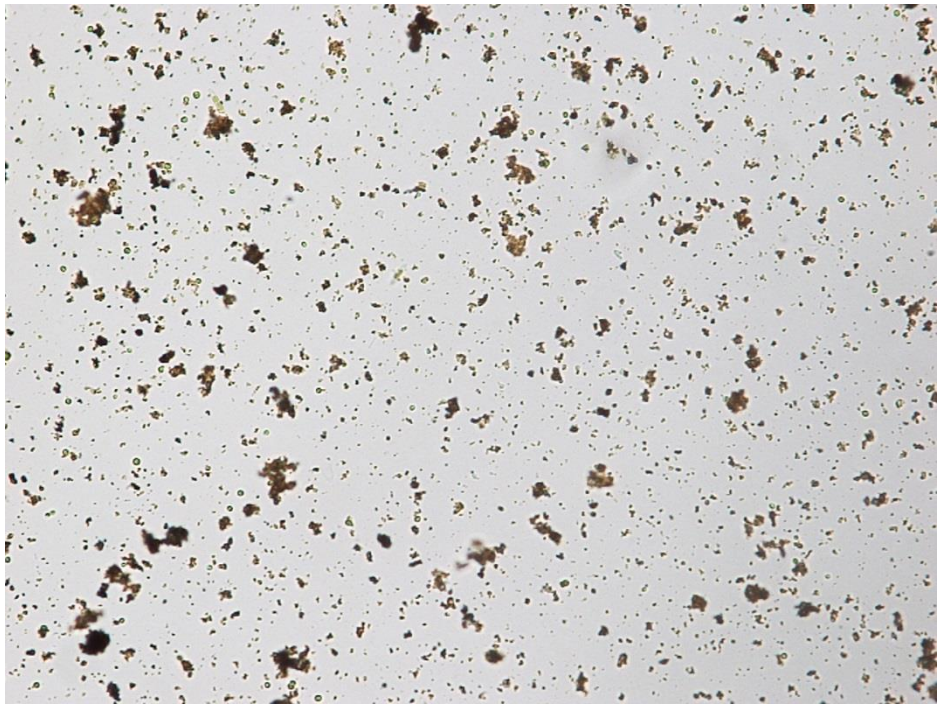
X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Abioseston (analýzou obrazu) – vzorek + 2 jednotné fotografie

2018foto1



2018foto2



Kód	Vzorek 2	2018foto1	2018foto2
36	7,12	3,06	6,5
586	15,4	3,67	10,26
1048	8,05	3,37	9,77
1075	9,0	3,1	8,2
1109	9,0	3,62	10,83
Aritmetický průměr	**9,71**	**3,36**	**9,11**
Medián	**9,0**	**3,37**	**9,77**
Směrodatná odchylka	**2,93**	**0,25**	**1,57**
Relativní směrodatná odchylka (%)	**30,1**	**7,54**	**17,3**

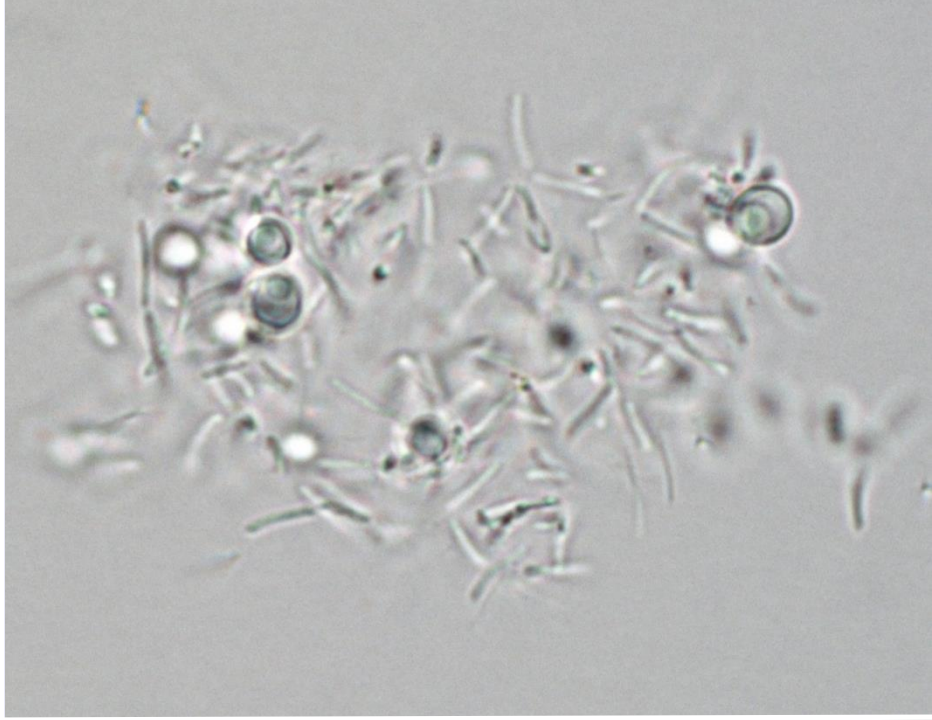
Vzorek 3A

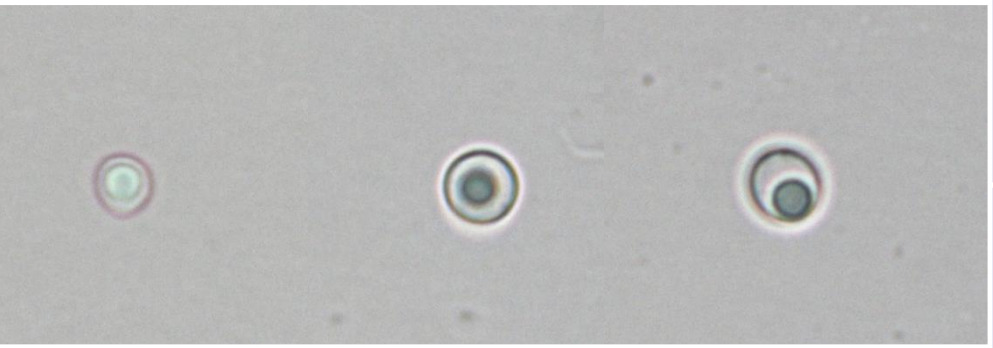
Příprava

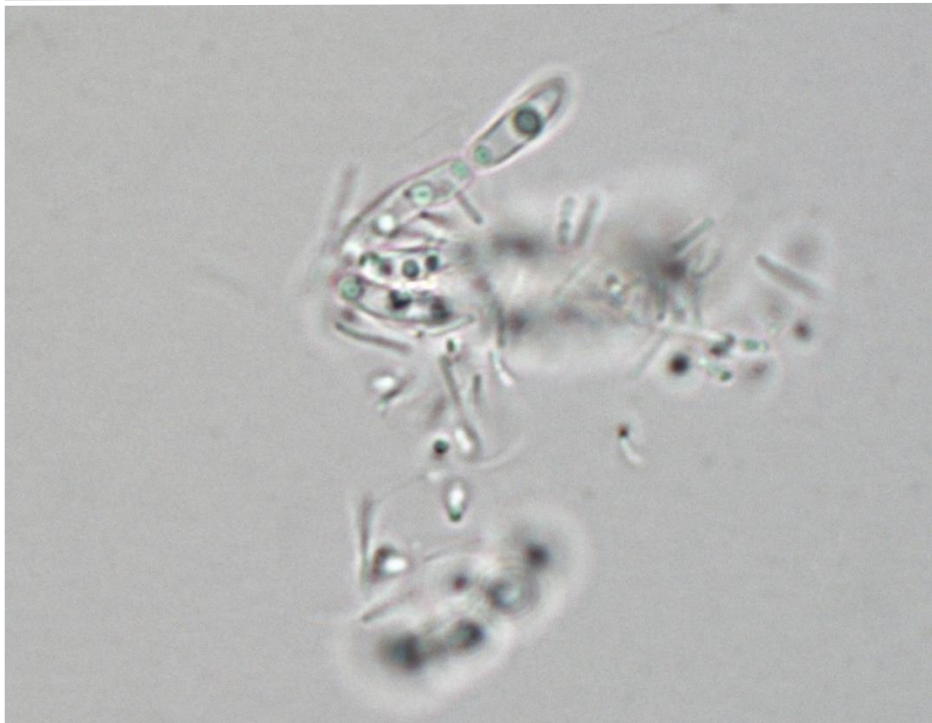
- připraven ze slazeného dětského nápoje, ve kterém se samovolně pomnožily kvasinky
- týden před vydáváním vzorků byly 2 ml původní kultury smíchány s cca 80 ml vody se sacharózou, aby došlo k jejich dalšímu pomnožení

kvasinky

kvasinky





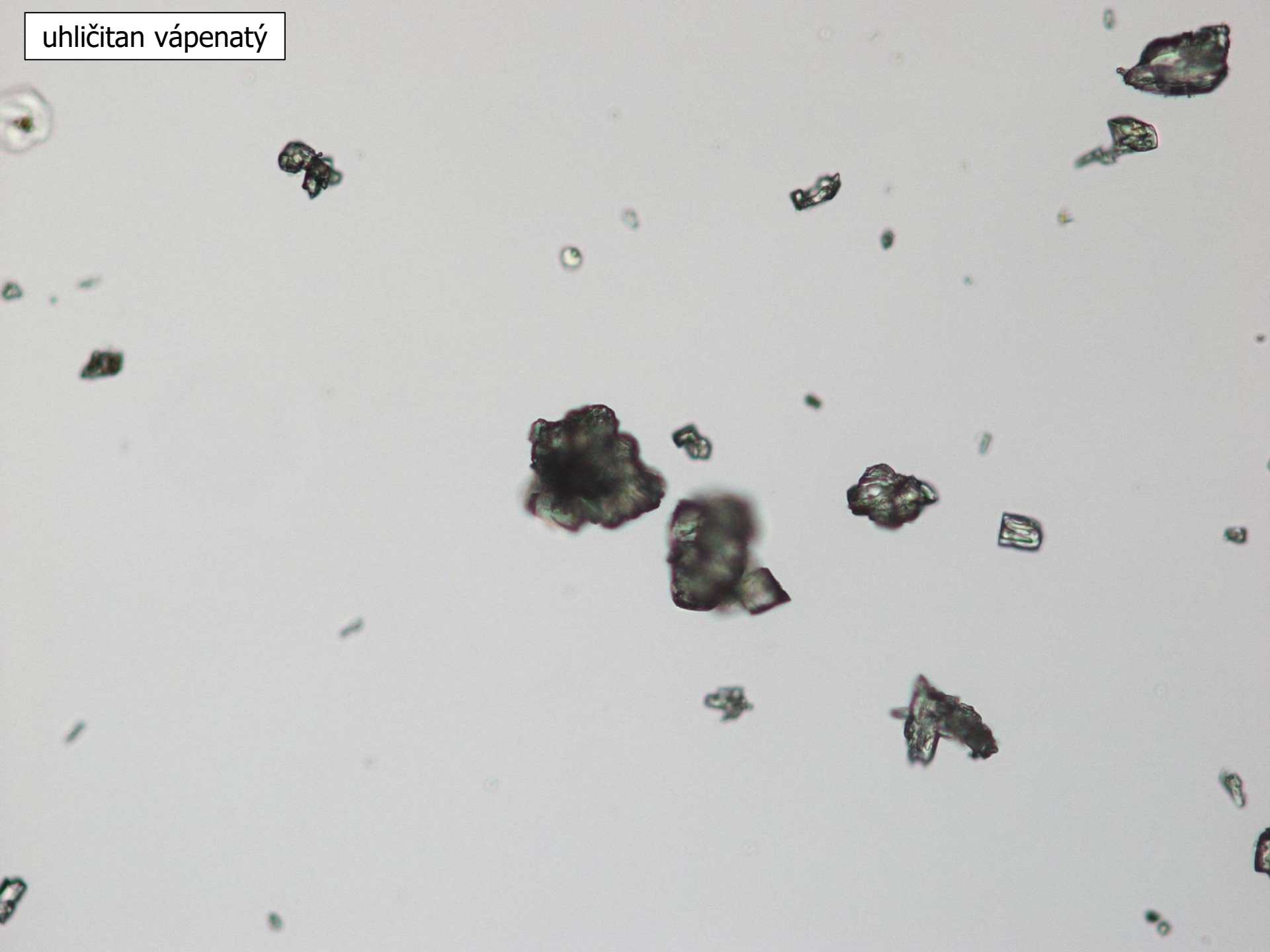


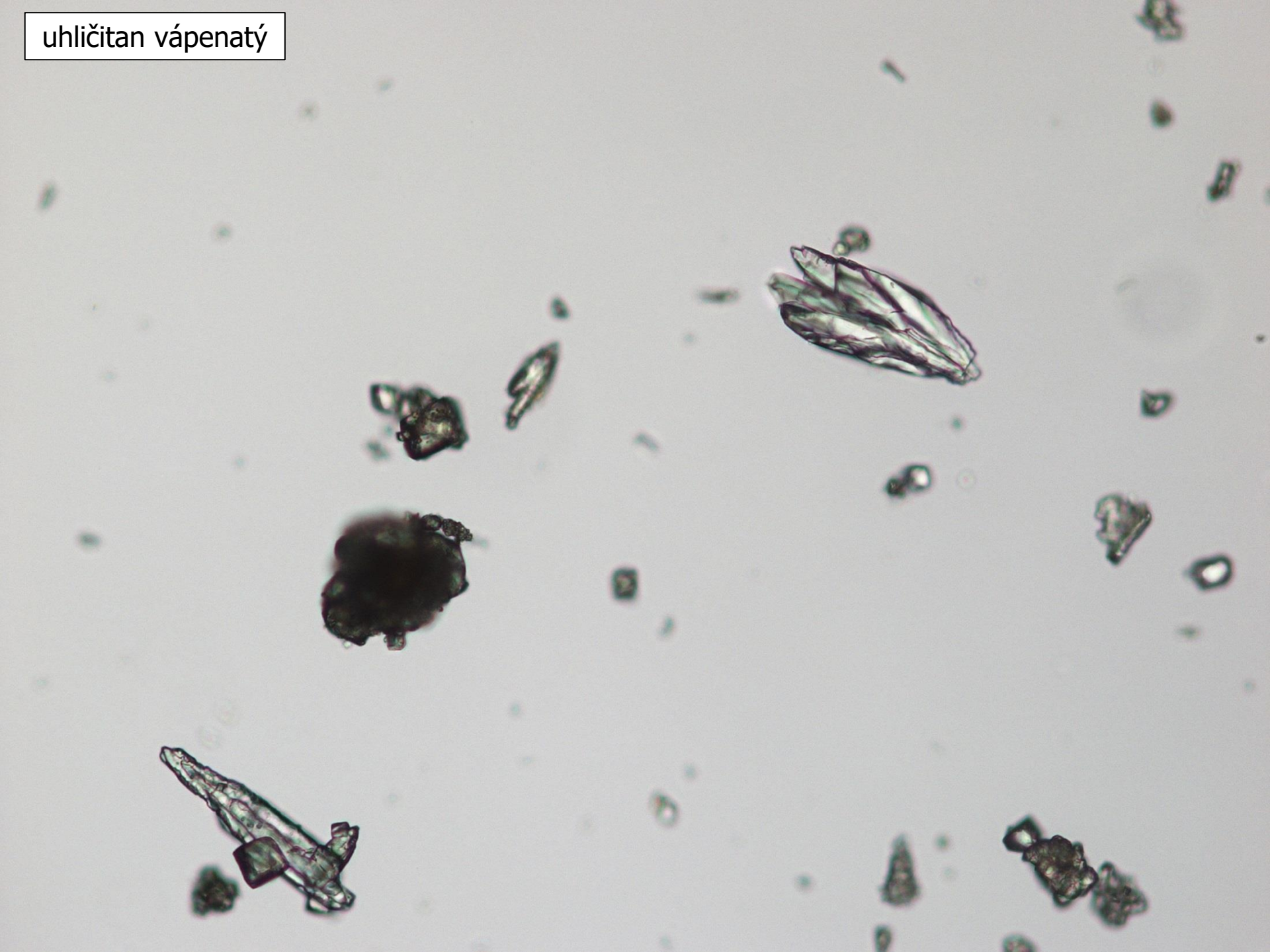
Kód	Nález	Úspěšnost
36	dominovaly kvasinky, přítomny i bakterie	+
161	Ve vzorku dominovaly kvasinky, dále se vyskytovaly zbytky chitinu, ptačího peří. Ojediněle motýlí šupiny a vlněná vlákna.	+
165	kvasinky, ojediněle krátká vlákna	+
172	Kvasinky, zbytky ptačího peří	+
183	Dominantně přítomny buňky kvasinek. Ojediněle nalezeny zbytky ptačího peří.	+
586	vzhledem k charakteru buněk, jednoduchý nestrukturovaný obal s obsahem zásobní látky, jedná se pravděpodobně o spory hub	+
588	2% - neidentifikovatelné kokovité útvary	+?
591	Kokální sinice	-
826	sinice - buňky (Chlorococcsles - nanoplanktonní druh)	-
975	kvasinky	+
1048	Ve vzorku byl zjištěn dominantní výskyt kulovitých buněk / sporangií mikromycet (pravděpodobně buněk / sporangií kvasinek), dále byly zaznamenány krátké sterilní hyfy mikromycet. - Další výskyt: heterotrofní bakterie - pohyblivá vibria, volné tyčinkovité bakterie i vláknité bakterie	+
1075	Abiosestonu malé množství, zbytek rostliny, bavlněné vlákno, minoritně pyl a hojněji částice o průměru 4-5 mikrometrů, zřejmě spory hub	+
1109	Dominují spory mikromycet. Četné bakterie.	+
1110	Kvasinkovité mikroorganismy (ne řasy)	+
1699	Odhadoval bych to na plísně (byly pozorovatelné hyfy).	+

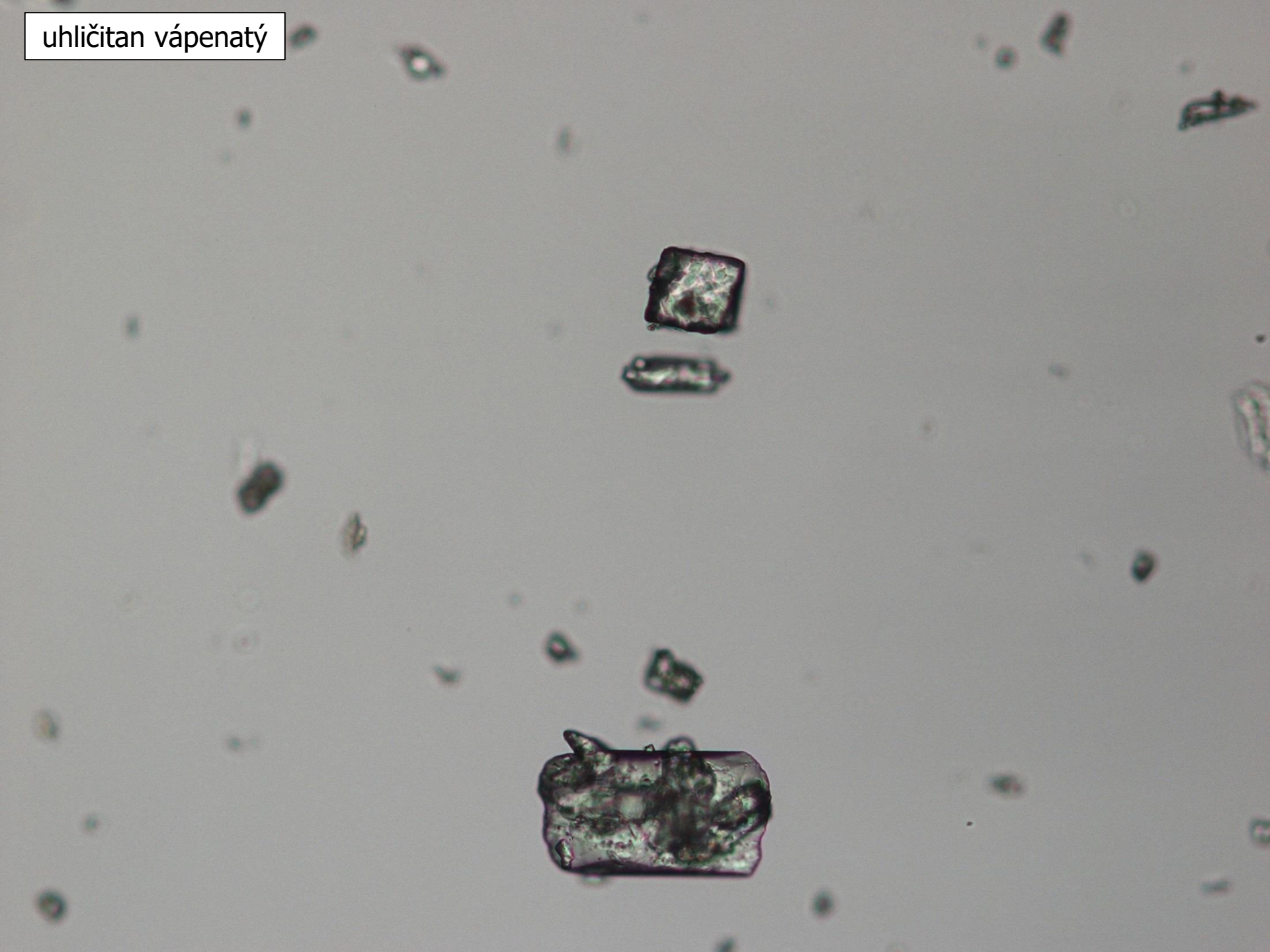
Vzorek 3B

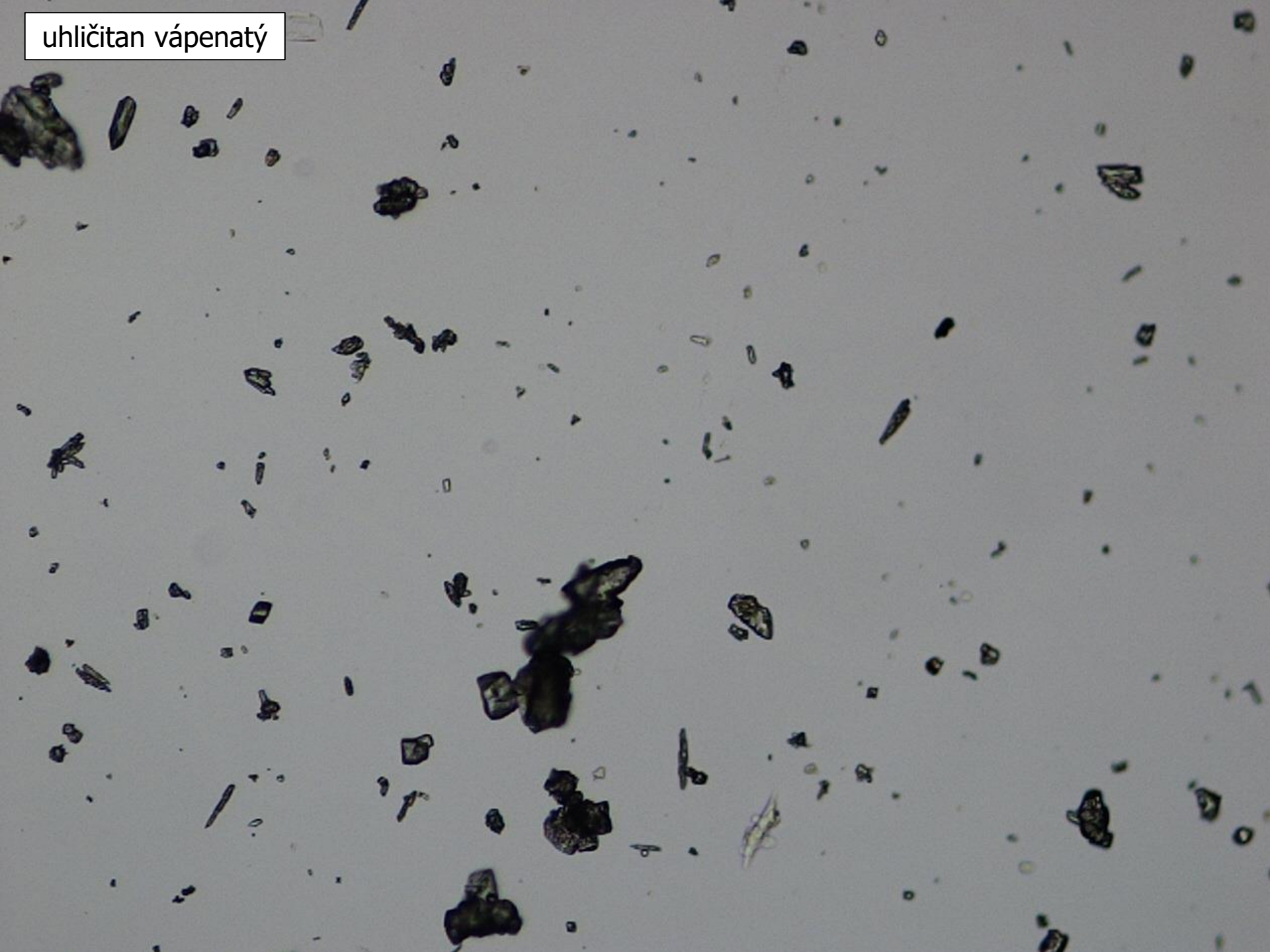
Příprava

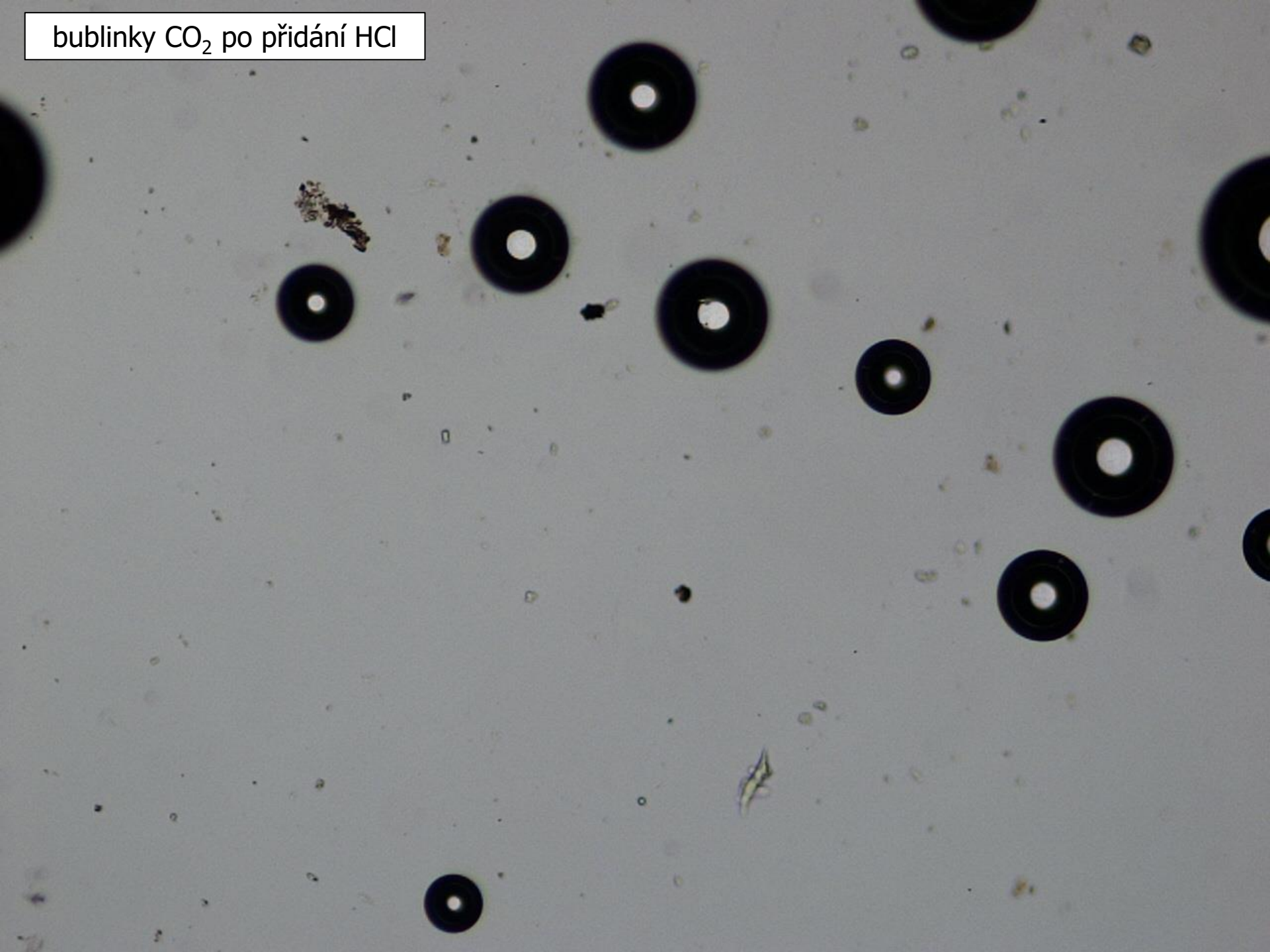
- sypké usazeniny ze dna starého bojleru rozmíchané ve vodovodní vodě.
- vzniklá suspenze byla filtrována přes síto s velikostí ok 100 µm.


uhličitan vápenatý


uhličitan vápenatý


uhličitan vápenatý


uhličitan vápenatý


bublinky CO_2 po přidání HCl

Kód	Nález	Úspěšnost
36	Ve vzorku dominovaly krystaly uhličitanu vápenatého	+
161	Ve vzorku dominoval uhličitan vápenatý, ojediněle krystaly minerálních látek (cf. hořčík)	+
165	krystalky uhličitanu vápenatého, ojediněle železité sraženiny	+
172	Minerální krystaly (uhličitan vápenatý)	+
183	Vzorek obsahoval minerální látky, převážně uhličitan vápenatý.	+
586	anorganické částice minerálního původu, zřejmě CaCO3	+
588	Odštěpky křemičité horniny 3%	+?
591	Zrnka křemičitého písku	+?
826	písek, odštěpky křemičité horniny (křemičitý písek)	+?
975	dominují krystalky uhličitanu vápenatého, méně železité sloučeniny, rostlinná pletiva	+
1048	Dominantní objekty (abioseston): - anorganické krystalky (pravděpodobně vysrážený uhličitan), dále méně četný výskyt pískových zrn; ojediněle blíže neurčitelný detritus a rez.	+
1075	Hojně minerální anorganické částice - písek.	+?
1109	Dominují anorganické krystaly, zřejmě krystaly uhličitanu vápenatého. (Po přidání HCl dochází k typické reakci).	+
1110	Drobné kystalky minerálů (vápenec ?)	+
1699	vysrážené anorganické krystaly	+

Vzorek 4
(Heterotrofní organismy)

Příprava

- z vláknitých mikromycet, které se samovolně vyvinuly v lahvi s ledovým čajem
- vlákna byla promyta vodovodní vodou a následně dezintegrována třepáním, stříháním a ultrazvukem
- vzorek filtrován přes síť s průměrem ok 300 µm a naředěn vodovodní vodou.

vláknité mikromycety

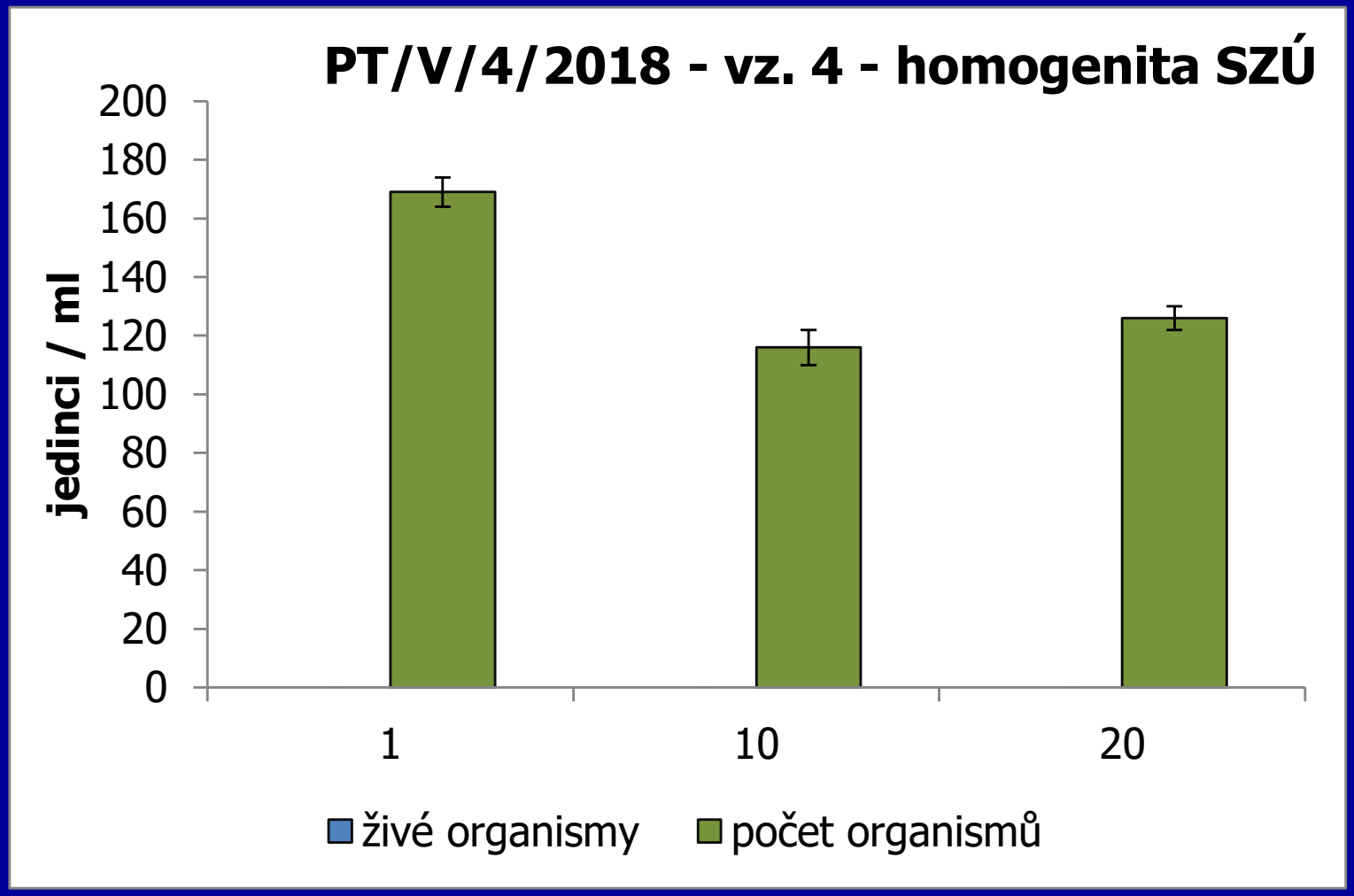
vláknité mikromycety

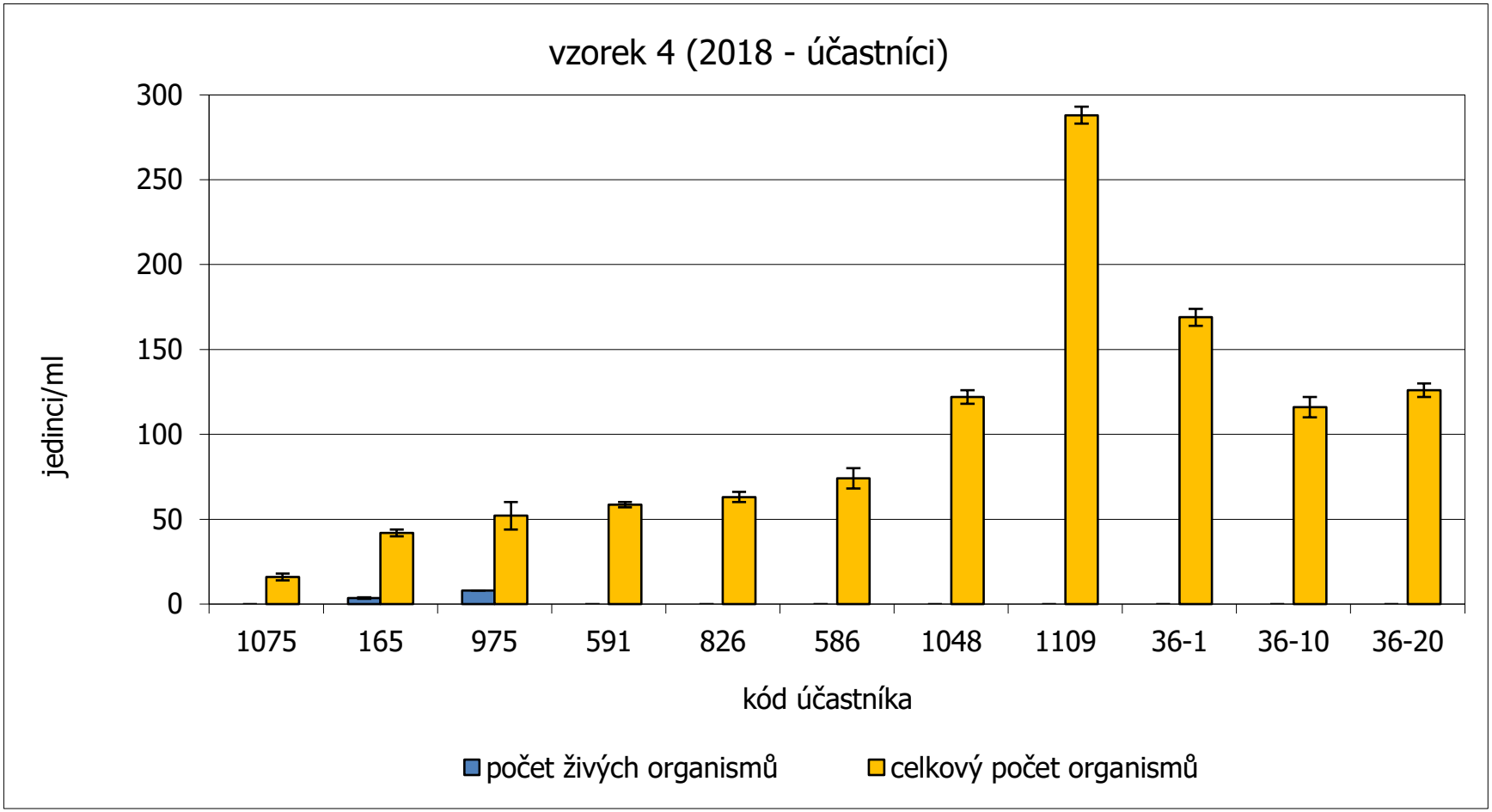
vláknité mikromycety

kvasinky ?

Kód	Nález	Úspěšnost
36	Dominovala vlákna mikromycet a spory mikromycet (či kvasinky)	+
165	dominuje vláknitá řasa, ojediněle Pseudanabaena sp., ojediněle centrické rozsivky r.Aulacoseira, ojediněle chlorokokální řasy	-
586	Ve vzorku zcela dominují fragmenty vláken hub (Mycophyta), u nichž nelze jednoznačně rozhodnout zda jsou živé, jejich stav poukazuje na výrazně sníženou vitalitu a proto je lze považovat za mrtvé. Přesto se jedná o velkou závadu, protože slouží jako živný substrát pro bakterie a k oživení a následnému růstu organismu může dojít i z malých částí vlákna.	+
591	Tenké vláknité sinice, vláknité zelené řasy	-
826	vláknité zelené řasy, vláknité sinice	-
975	Dominují zelené vláknité řasy, ojediněle rozsivky (Navicula sp.).	-
1048	Jako dominantní skupina byly zjištěny sterilní hyfy mikromycet, ve vzorku nebylo možné rozlišit fyziologický stav vláken. Ve vzorku byly dále zjištěny kulovité buňky/sporangia mikromycet (započítány do celkového počtu organismů) a shluky volných tyčinkovitých bakterií (nález heterotrofních bakterií je součástí komentáře - slovního popisu ke vzorku; nezapočítány do celkového počtu organismů).	+
1075	Ve vzorku se vyskytují v malém počtu vlákna, zřejmě houbového původu, živé autotrofní organizmy nebyly nalezeny.	+
1109	Dominují spory a vlákna (hyfy) mikromycet. Dle ČSN 757712 nelze jednoznačně rozlišit fyziologický stav mikroorganismů, spory obvykle řadíme k mrtvým organismům, přestože jsou jen klidovým stadiem a mohou za vhodných podmínek vyklíčit a přejít do vitálního stádia.	+
1699	nějaké drobné kuličky a vlákna, ale ani náhodou to nedokážu určit. Viz přiložené foto. Možná opět hyfy???	+?

Vzorek 4 – homogenita (SZÚ)




vzorek 4 (2018 - účastníci)
300
250
200
150
100
50
0
jedinci/ml
1075
165
975
591
826
586
1048
1109
36-1
36-10
36-20
kód účastníka
počet živých organismů
celkový počet organismů

Kvalitativní rozbor pitná voda - souhrnně

Kód	Pitná voda					
	Vzorek					Celkem
	1	2	3A	3B	4*	
161	+?	+	+	+	x	**+**
165	+	+?	+	+	-	**+**
172	+	-	+	+	x	**+**
183	+	+	+	+	x	**+**
586	+	+?	+	+	+	**+**
588	+?	+	+?	+?	x	**+?**
591	+	+	-	+?	-	**+?**
826	+	+	-	+?	-	**+?**
975	+	+	+	+	-	**+**
1048	+	+	+	+	+	**+**
1075	+	+?	+	+?	+	**+?**
1109	+	+	+	+	+	**+**
1110	+	+	+	+	x	**+**
1255	S	+	S	S	S	**S**
1699	+	+	+	+	+	**+**

Státní zdravotní ústav

* Výsledky vzorku 4 jsou zde uvedeny pouze pro informaci a nebylo k nim přihlíženo v celkovém hodnocení ukazatele

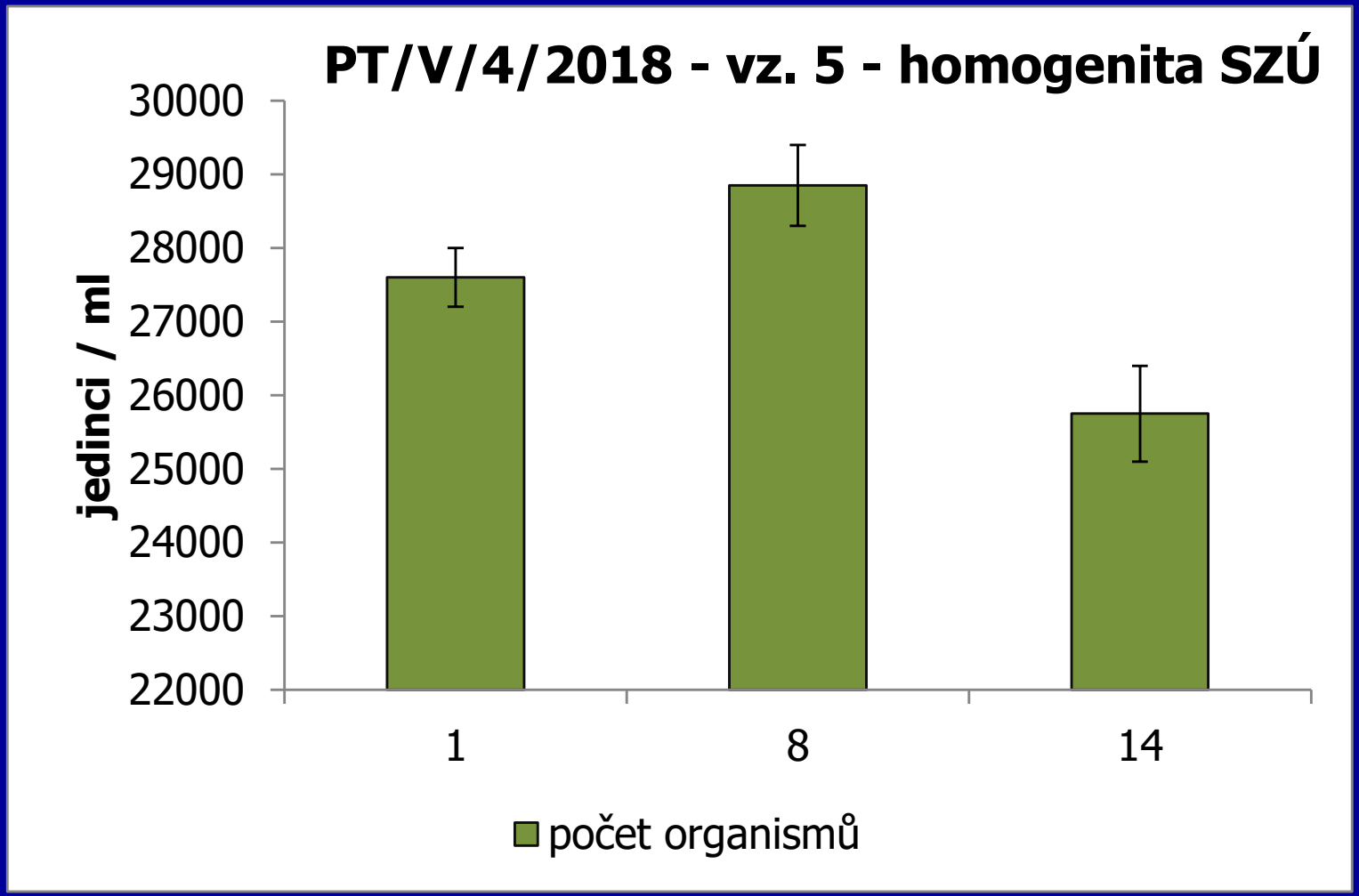
+ vyhovuje; ?+ sporné; - nevyhovuje; x výsledek nedodán

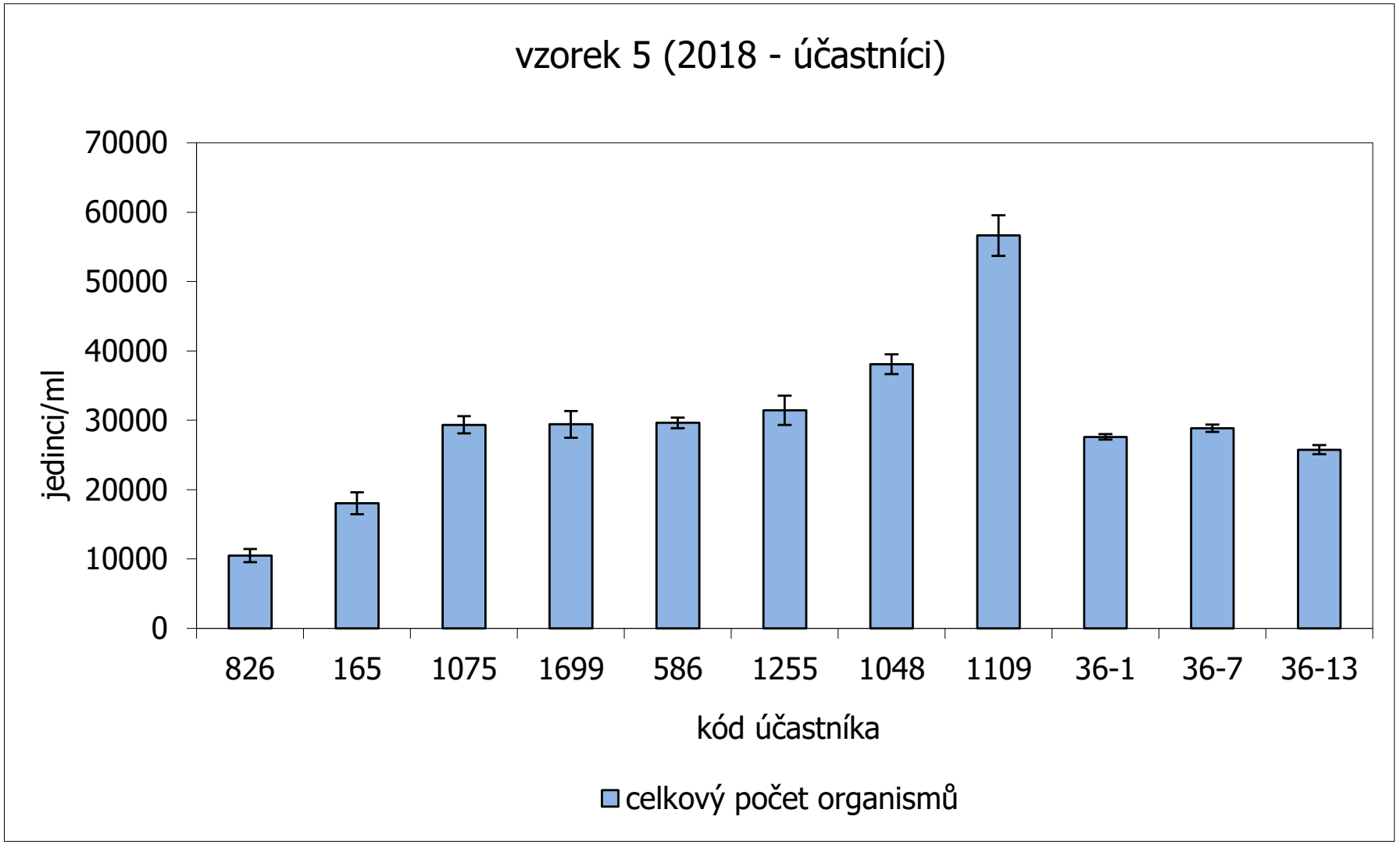
Vzorek 5
Surová voda

Vzorek 5 - příprava

- 8. 4. 2018 z Huťského rybníka u Dobříše.
- odstranění většího zooplanktonu byl vzorek v laboratoři filtrován přes síto o velikosti 300 µm
- takto upravená voda (2,5 litru) byla naředěna odstátou vodovodní vodou (1,5 litru).

Vzorek 5 – homogenita (SZÚ)

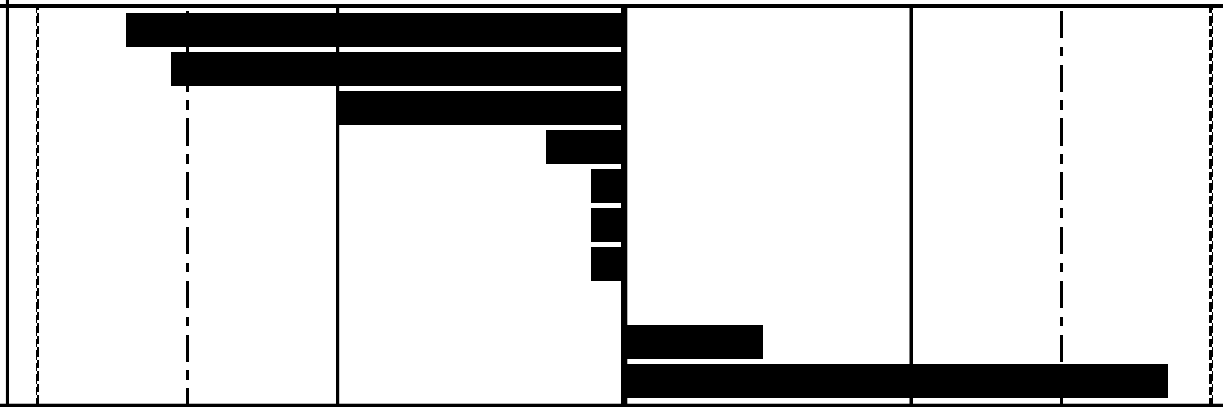



vzorek 5 (2018 - účastníci)
70000
60000
50000
40000
30000
20000
10000
0
jedinci/ml
826
165
1075
1699
586
1255
1048
1109
36-1
36-7
36-13
kód účastníka
celkový počet organismů

Vzorek 5 – Surová voda - počet organismů

účastníci

V	lab	výsledek (jedinci/ml)	z-score
!	591	8550.0	-3.31
!	826	10493.0	-3.03
X	165	18035.0	-1.93
X	36	27400.0	-0.58
X	1075	29350.0	-0.30
X	1699	29410.0	-0.29
X	586	29618.0	-0.26
X	1255	31410.0	0.00
X	1048	38080.0	0.97
!	1109	56638.5	3.66

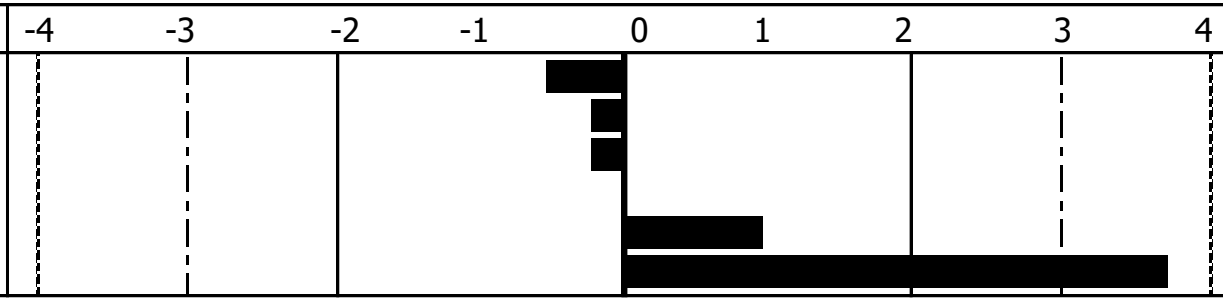


počet laboratoří: 10
z toho vyhovuje: 7
z toho nevyhovuje: 3

vztažná hodnota: 31387,1 jedinci/ml
vztažná odchylka: ±44%
interval správných hodnot: 17576,8 - 45197,4 jedinci/ml

terčové lab.

V	lab	výsledek (jedinci/ml)	z-score
X	36	27400.0	-0.58
X	1075	29350.0	-0.30
X	586	29618.0	-0.26
X	1255	31410.0	0.00
X	1048	38080.0	0.97
!	1109	56638.5	3.66



počet laboratoří: 6
z toho vyhovuje: 5
z toho nevyhovuje: 1

vztažná hodnota: 31387,1 jedinci/ml
vztažná odchylka: ±44%
interval správných hodnot: 17576,8 - 45197,4 jedinci/ml

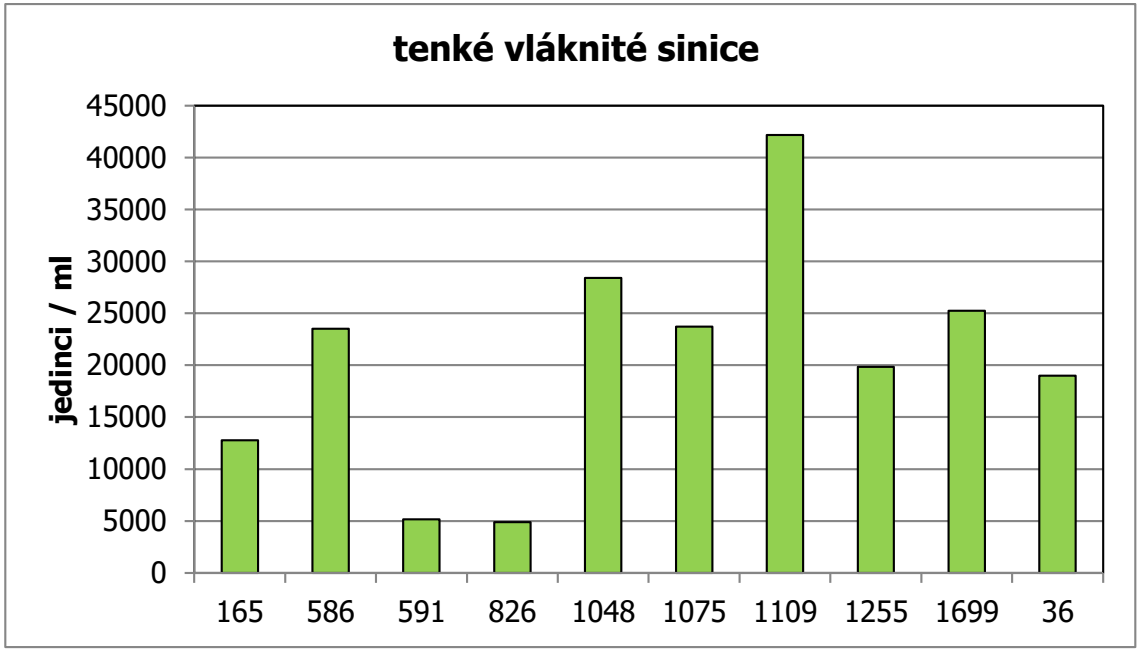
X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Detaily metody u jednotlivých účastníků

kód	zahuštění	propočítaná plocha	konzervace	zvětšení
165	0,2	4 pásy dominantní / jinak celá	ne	200x
586	0,4	celá	ne	200x
591	0,2	4 pásy	ne	200x
826	0,2	8 pásů	ne	200x
1048	0,2	1 pás	Použití Lugol.roztoku pro kontrolu počtů drobných/rozpadavých buněk (zejm. zlativek a skrytěnek), sinic i heterotrofních bičíkovců; konečné počty stanoveny z konzervovaného vzorku (1.paralelka) i nativního vzorku (2.paralelka).	200 × (kontrola počtů při 100 × - 400 ×)
1075	0,2	1 - 4 pásy	živý vzorek, bičíkovci po konzervaci kyselým lugolovým roztokem	200x a 400x
1109	bez	celá	lugol	400 x
1109	1	2 pásy	lugol	400 x
1255	0,2	1 pás	vzorek byl počítán po konzervaci Lugolovým roztokem	400x
1699	0,2	8 pásů	Lugolův roztok dle ČSN 75 7712; V lugolu byly počítány jen sinice a to při zahuštění na 1 ml.	200x
36	1	4 pásy	ne	200 x

1. Tenké vláknité sinice

Taxon	Kód									
	165	**586**	**591**	**826**	**1048**	**1075**	**1109**	**1255**	**1699**	**36**
1) tenké vláknité sinice - celkem	12770	23520	5170	4876	28400	23720	42184	19840	25250	19000
Limnothrix redekei					200	240	400	19840		19000
Pseudanabaena limnetica						23480				
Pseudanabaena sp.		23520			28200		41784		25250	
cf. Planctolyngbya limnetica	12770									
tenké vláknité sinice			5170	4876						
tenké vláknité sinice - splněno	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+



Limnothrix

Limnothrix

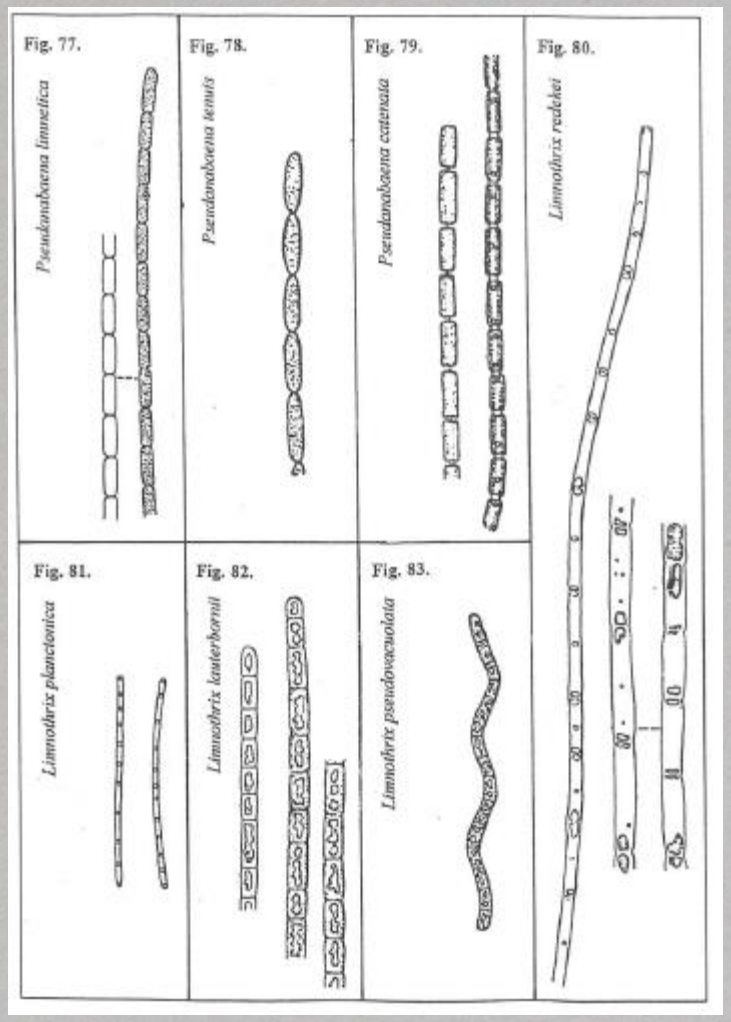
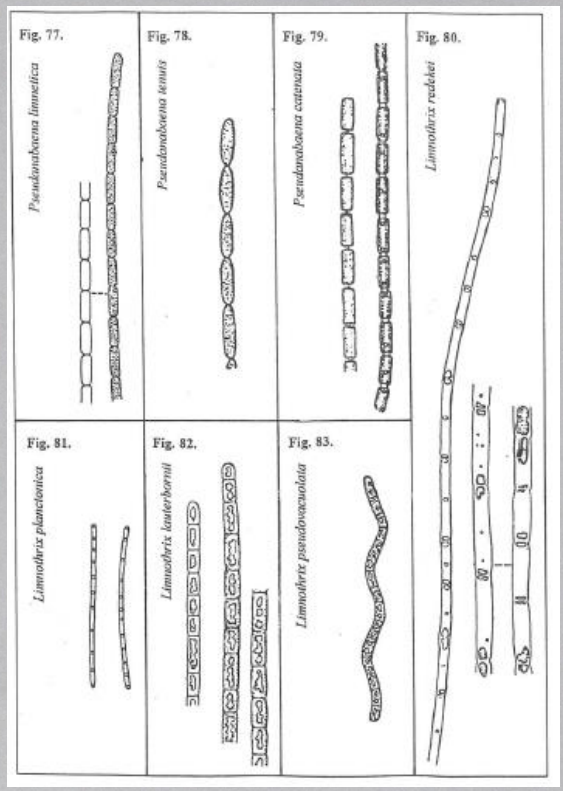
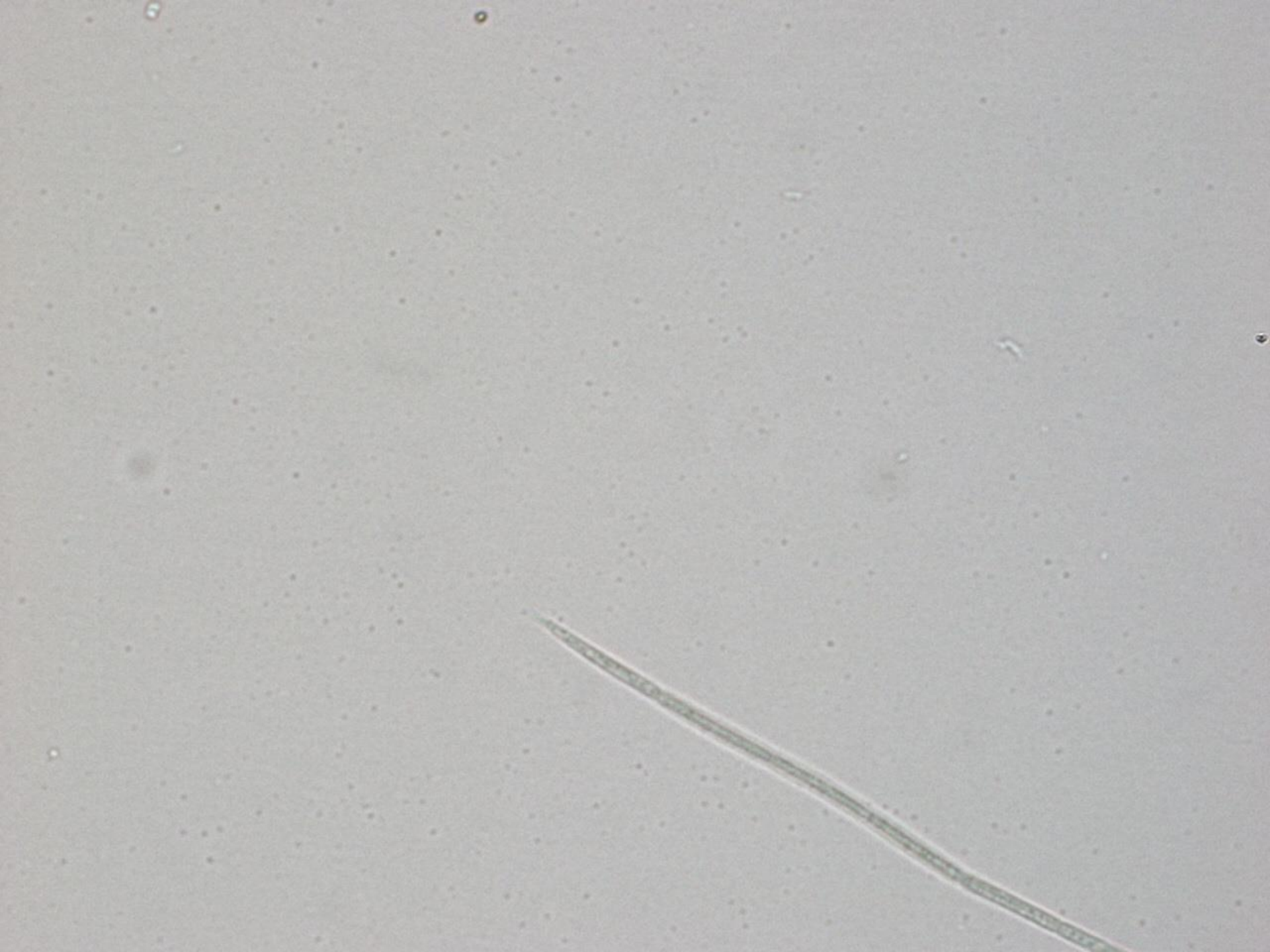


Fig. 77.
Pseudanabaena limnetica
Fig. 78.
Pseudanabaena tenuis
Fig. 79.
Pseudanabaena catenata
Fig. 80.
Limnothrix redekei
Fig. 81.
Limnothrix planctonica
Fig. 82.
Limnothrix kauterbornii
Fig. 83.
Limnothrix pseudovacuolata

Pseudanabaena či *Limnothrix*
s destruovanými aerotopy ?

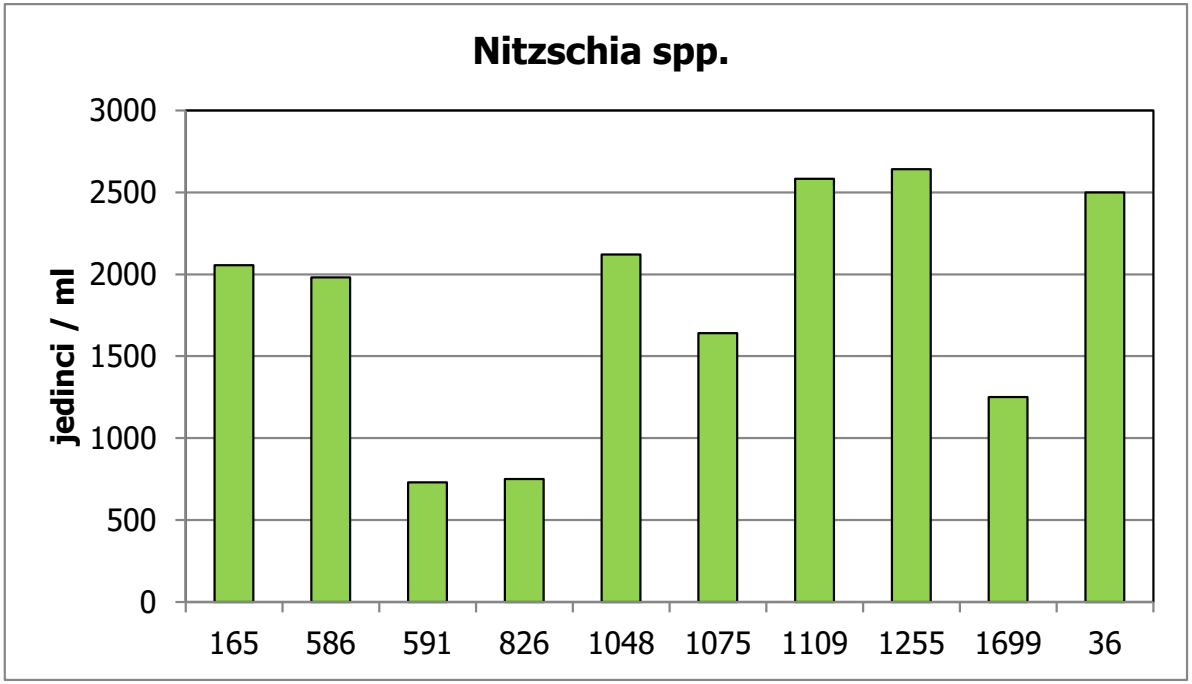


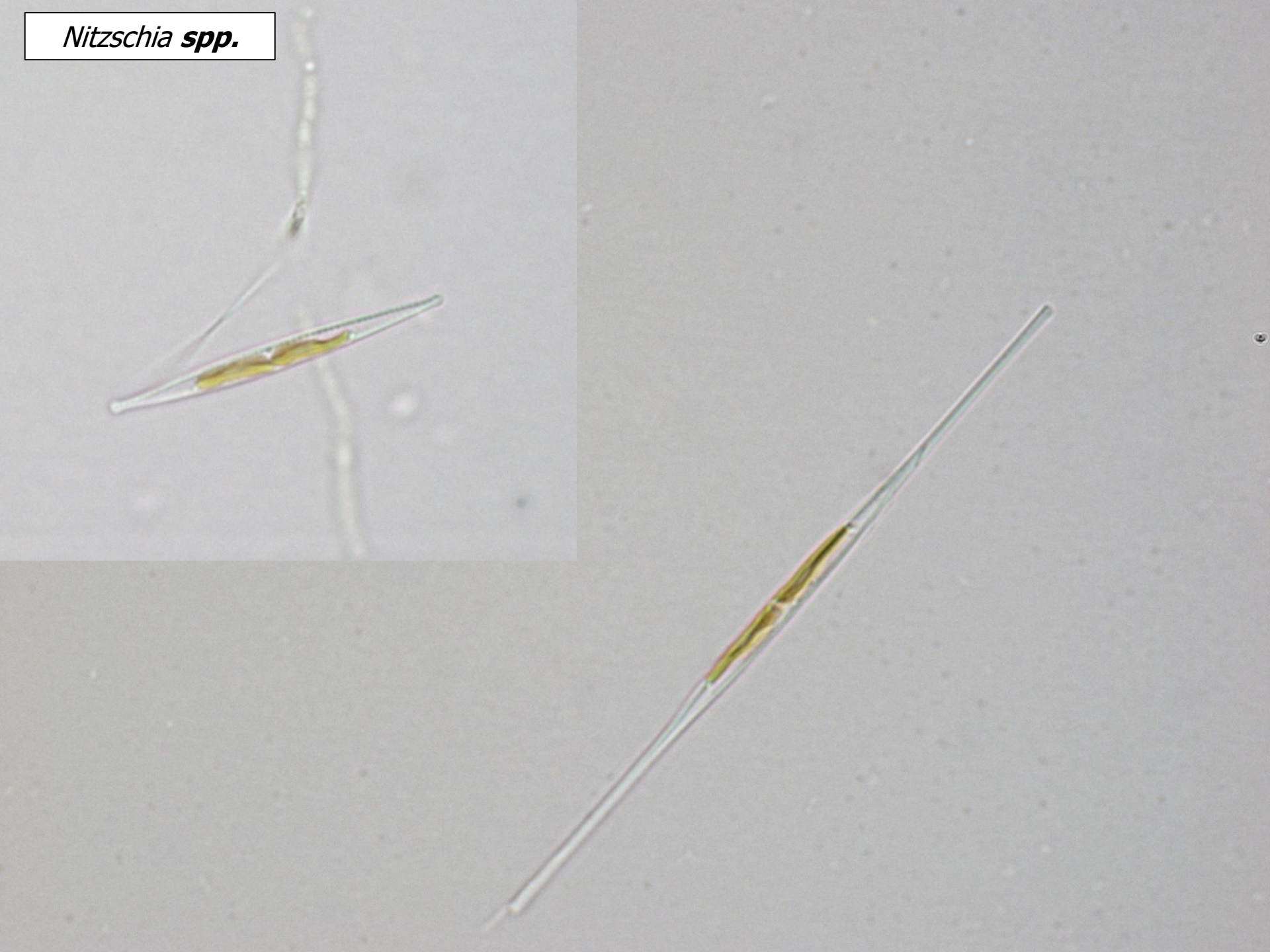
Aphanizomenon



2. *Nitzschia* spp.

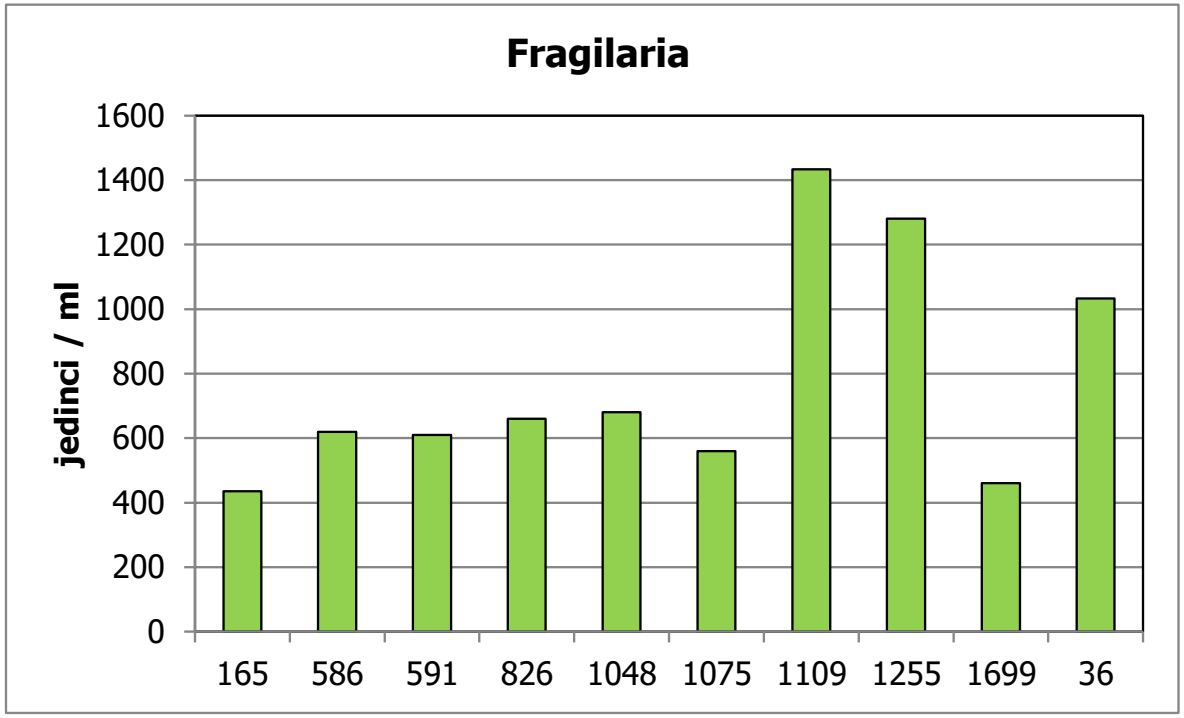
Taxon	Kód									
	165	**586**	**591**	**826**	**1048**	**1075**	**1109**	**1255**	**1699**	**36**
2) Nitzschia spp. - celkem	2055	1980	730	750	2120	1640	2584	2640	1250	2500
Nitzschia acicularis		1620			2120	1640	1684	2640	1250	2183
Nitzschia gracilis		360								
Nitzschia sp.			730	750			900			317
Nitzschia spp.	2055									
Chrysochromulina parva									513	
Nitzschia spp. - splněné	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+



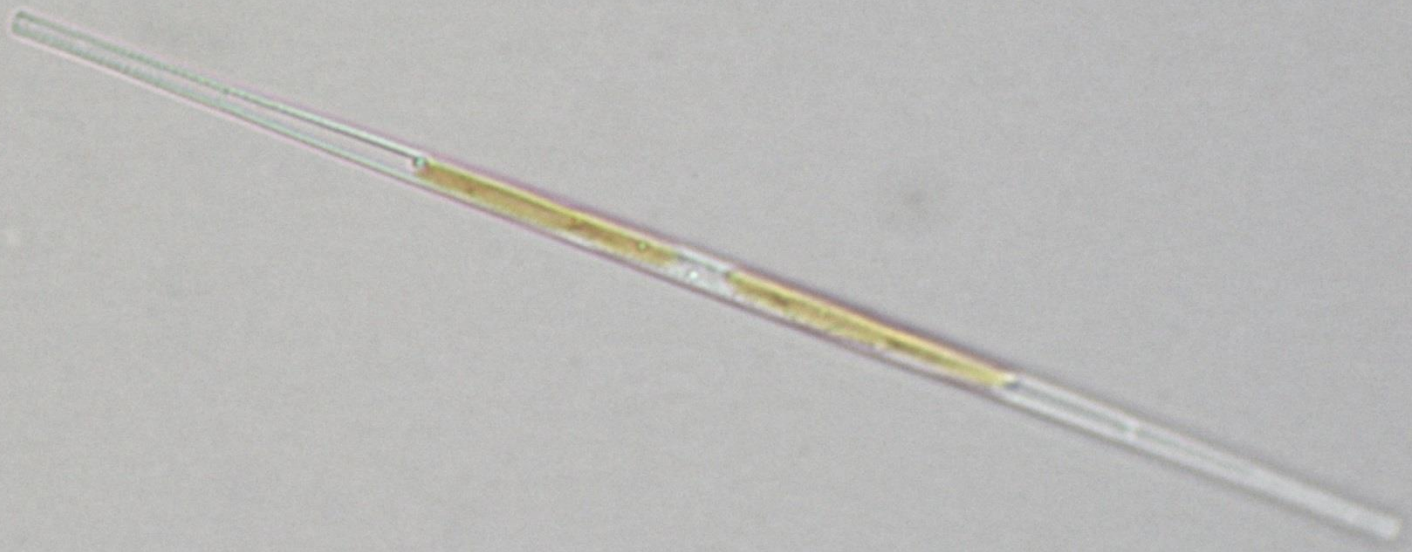

Nitzschia ***spp.***

3. *Fragilaria*

Taxon	Kód									
	165	**586**	**591**	**826**	**1048**	**1075**	**1109**	**1255**	**1699**	**36**
3) Fragilaria - celkem	435	620	610	660	680	560	1434	1280	460	1033
Fragilaria sp.			610	660		560	1434	280	460	
Fragilaria (cf.) acus / Ulnaria acus	435	620						1000		
Fragilaria tenera (+ Synedra sp., Fragilaria ulna)					680					
Fragilaria spp.										1033
Fragilaria - splněno	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+



Fragilaria

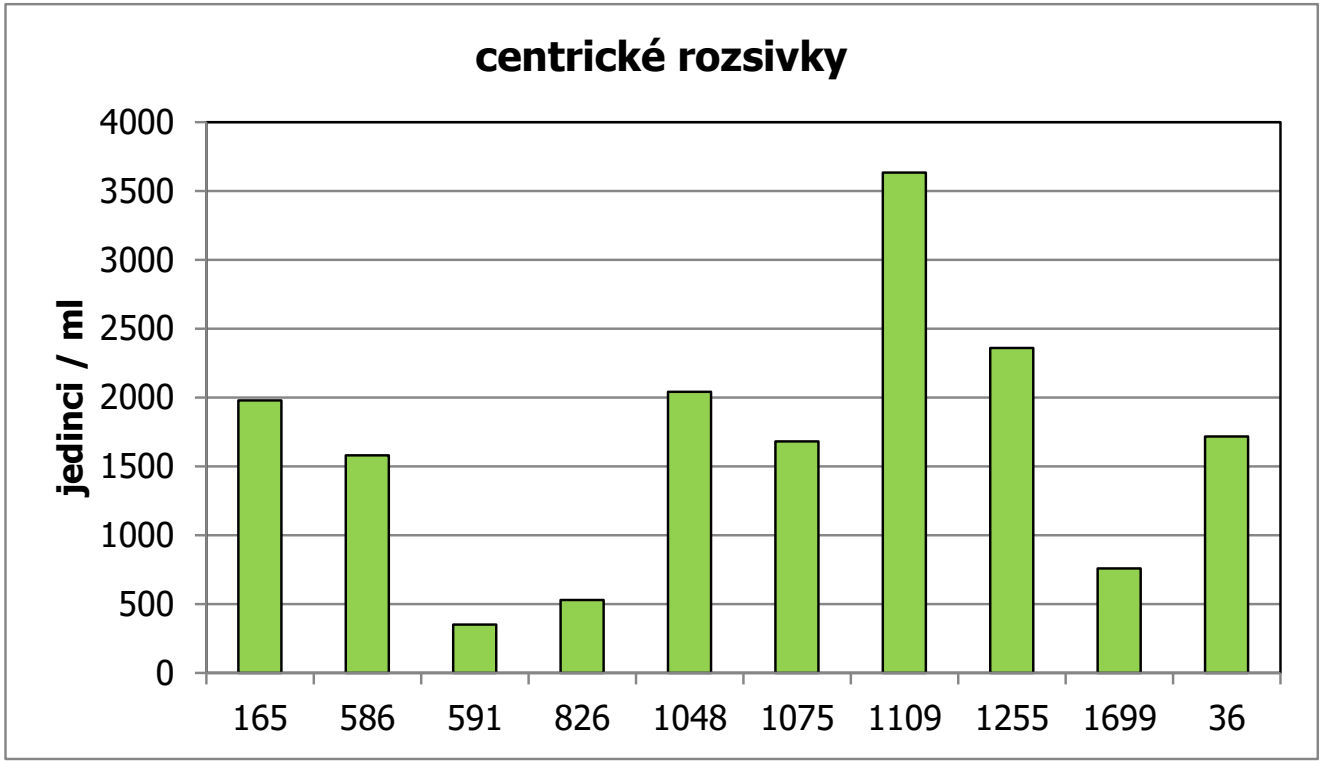


Fragilaria

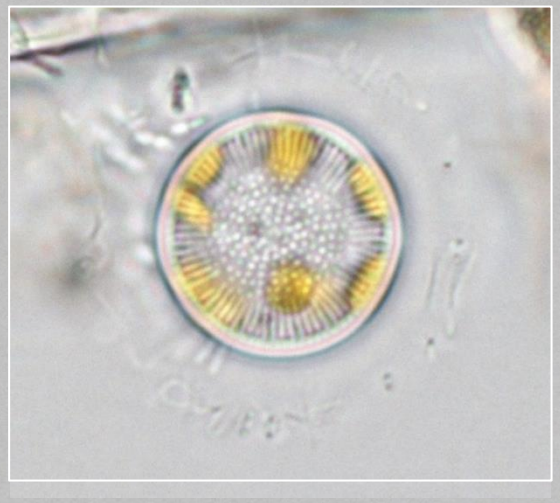
Fragilaria
Nitzschia

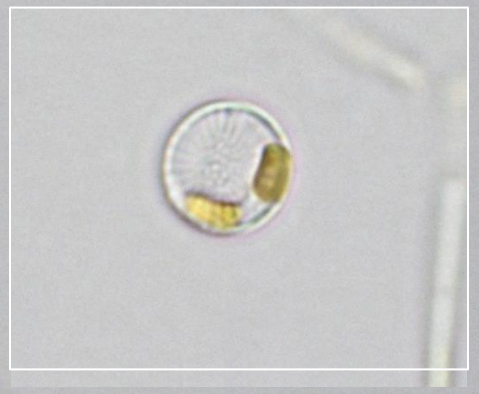
4. centrické rozsivky

Taxon	Kód									
	165	**586**	**591**	**826**	**1048**	**1075**	**1109**	**1255**	**1699**	**36**
4) centrické rozsivky - celkem	1980	1580	350	530	2040	1680	3634	2360	760	1717
centrické rozsivky	1980	1580	350	530		1680	3634	2360		1717
drobné centrické rozsivky o velikosti 5 - 20 µm (zejména Stephanodiscus sp.)					2040					
Cyclotella sp; Stephanodiscus. sp.									760	
centrické rozsivky - splněno	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+



centrické rozsivky

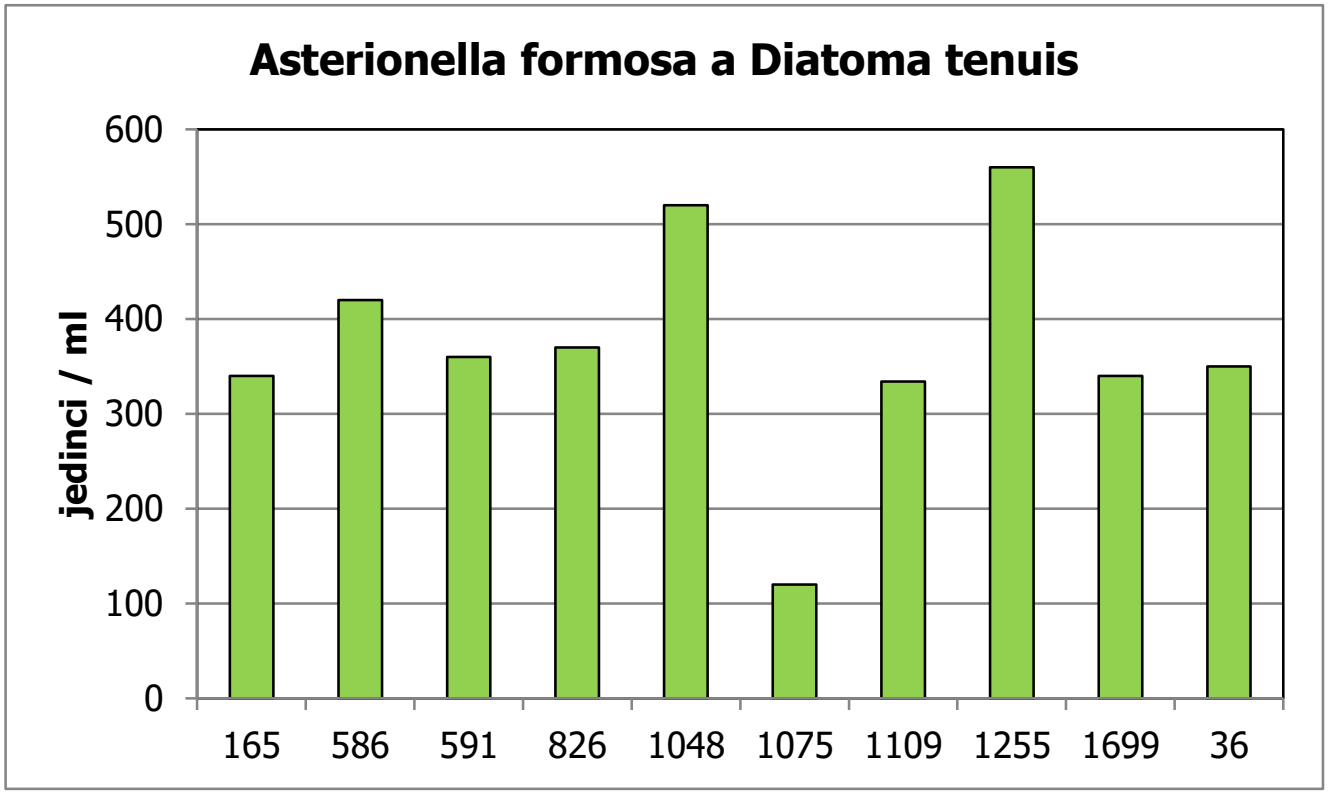




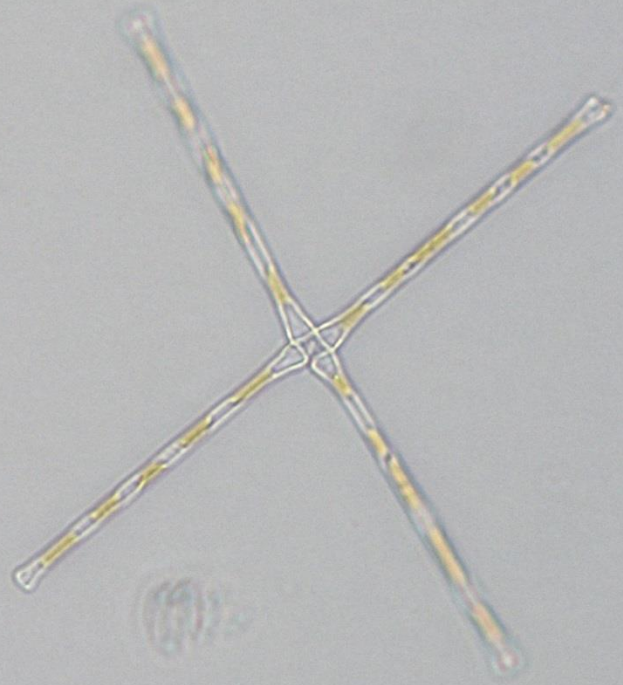
centrické rozsivky (trvalý preparát)

5. *Asterionella*

Taxon	Kód									
	165	**586**	**591**	**826**	**1048**	**1075**	**1109**	**1255**	**1699**	**36**
5) Asterionella formosa a Diatoma tenuis	340	420	360	370	520	120	334	560	340	350
Asterionella formosa	340	340			520	120	334	560	340	250
Asterionella sp.			360	370						
Diatoma tenuis		80								100
Asterionella formosa a Diatoma tenuis - splněno	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+



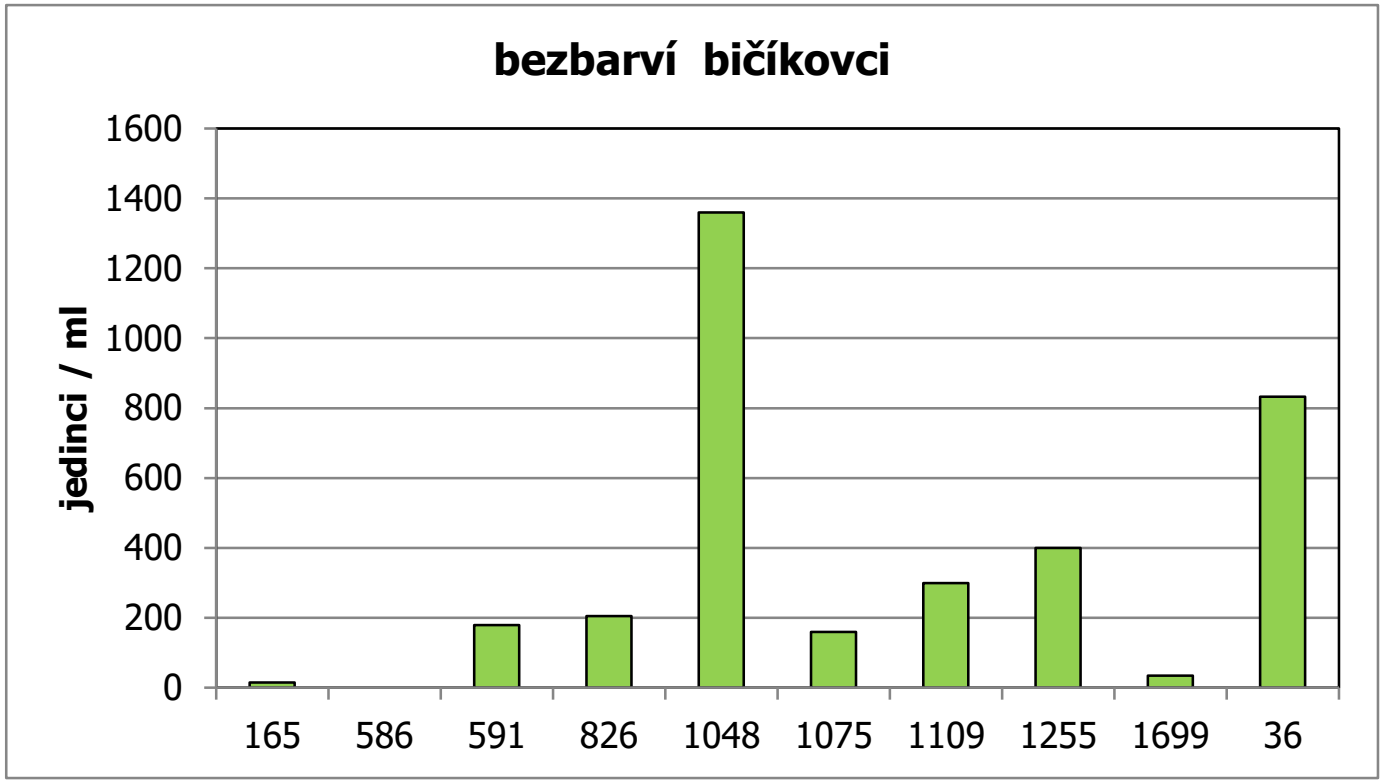
Asterionella

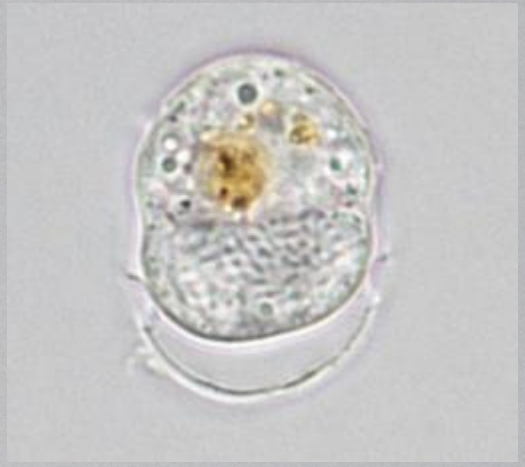


Asterionella

6. bezbarví bičíkovci

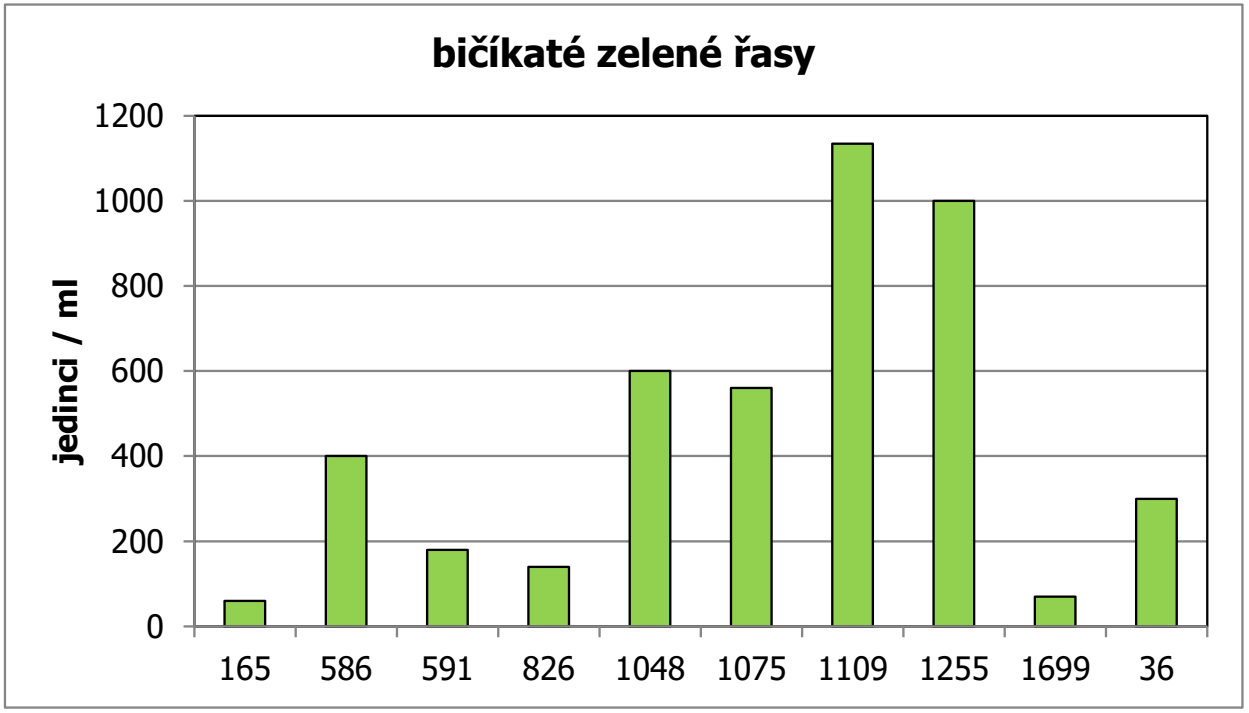
Taxon	Kód									
	165	**586**	**591**	**826**	**1048**	**1075**	**1109**	**1255**	**1699**	**36**
6) bezbarví bičíkovci - celkem	15	0	180	205	1360	160	300	400	35	833
bezbarví bičíkovci / Flagellata apochromatica	15		180	205	1360	160	300	400	35	833
Antophysa vegetans	+									
bezbarví bičíkovci - splněno	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+

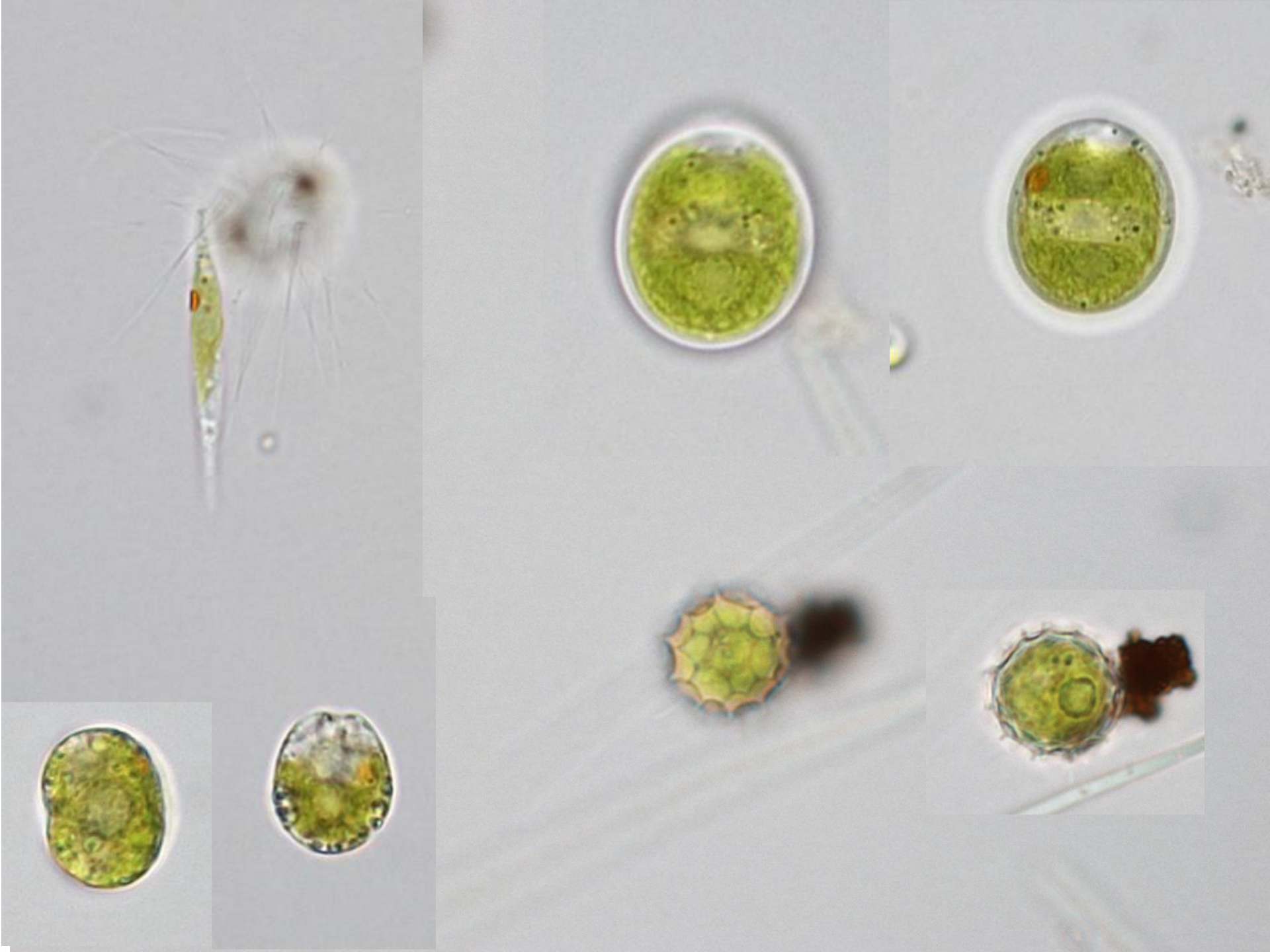




7. bičíkaté zelené řasy .

Taxon	Kód									
	165	**586**	**591**	**826**	**1048**	**1075**	**1109**	**1255**	**1699**	**36**
7) bičíkaté zelené řasy - celkem	60	400	180	140	600	560	1134	1000	70	300
bičíkaté zelené řasy / Volvocales		400	180	140			1134	800	70	300
drobní zelení bičíkovci						320				
Chlamydomonas sp.						160				
cf. Chlamydomonas, cf.Pandorina	60									
Chlamydomonas sp. div. (+ Volvocales g.sp.)					600					
Carteria sp.						80		200		
bičíkaté zelené řasy - splněno	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+





Celková úspěšnost kvalitativního rozboru v surové vodě

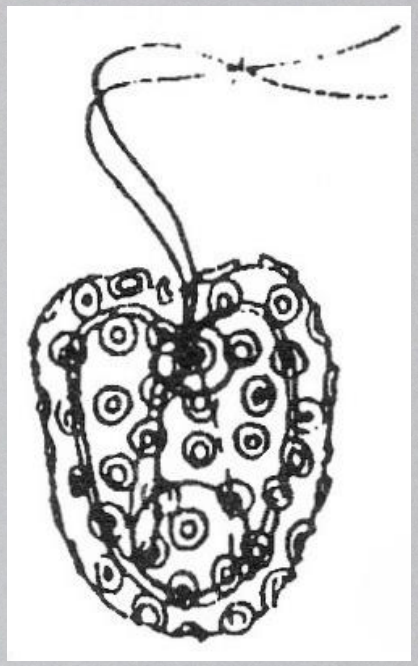
Taxon	Kód									
	165	**586**	**591**	**826**	**1048**	**1075**	**1109**	**1255**	**1699**	**36**
tenké vláknité sinice	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nitzschia spp.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fragilaria	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
centrické rozsivky	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Asterionella formosa a Diatoma tenuis	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
bezbarví bičíkovci	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
bičíkaté zelené řasy	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Počet dostatečně určených taxonů	**7**	**6**	**7**	**7**	**7**	**7**	**7**	**7**	**7**	**7**
Celková úspěšnost	**ANO**	**ANO**	**ANO**	**ANO**	**ANO**	**ANO**	**ANO**	**ANO**	**ANO**	

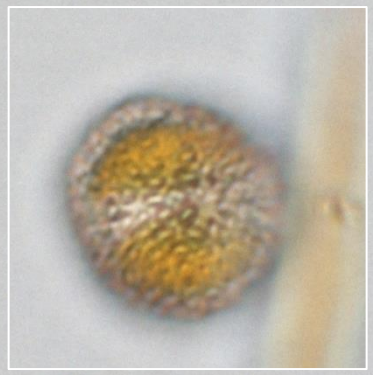
*pro celkovou úspěšnost bylo nutné dosáhnout 5 a více bodů

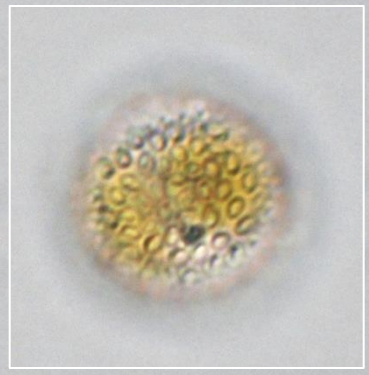
Další nálezy ve vzorku 5

kokální zelené řasy

Hymenomonas ze skupiny Prymnesiophyceae (Coccolithophoridales) – šupiny z uhličitanu vápenatého

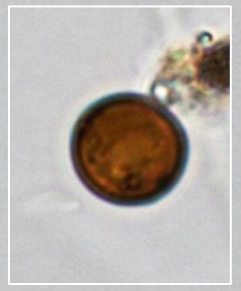






Trachelomonas spp.

zlativky

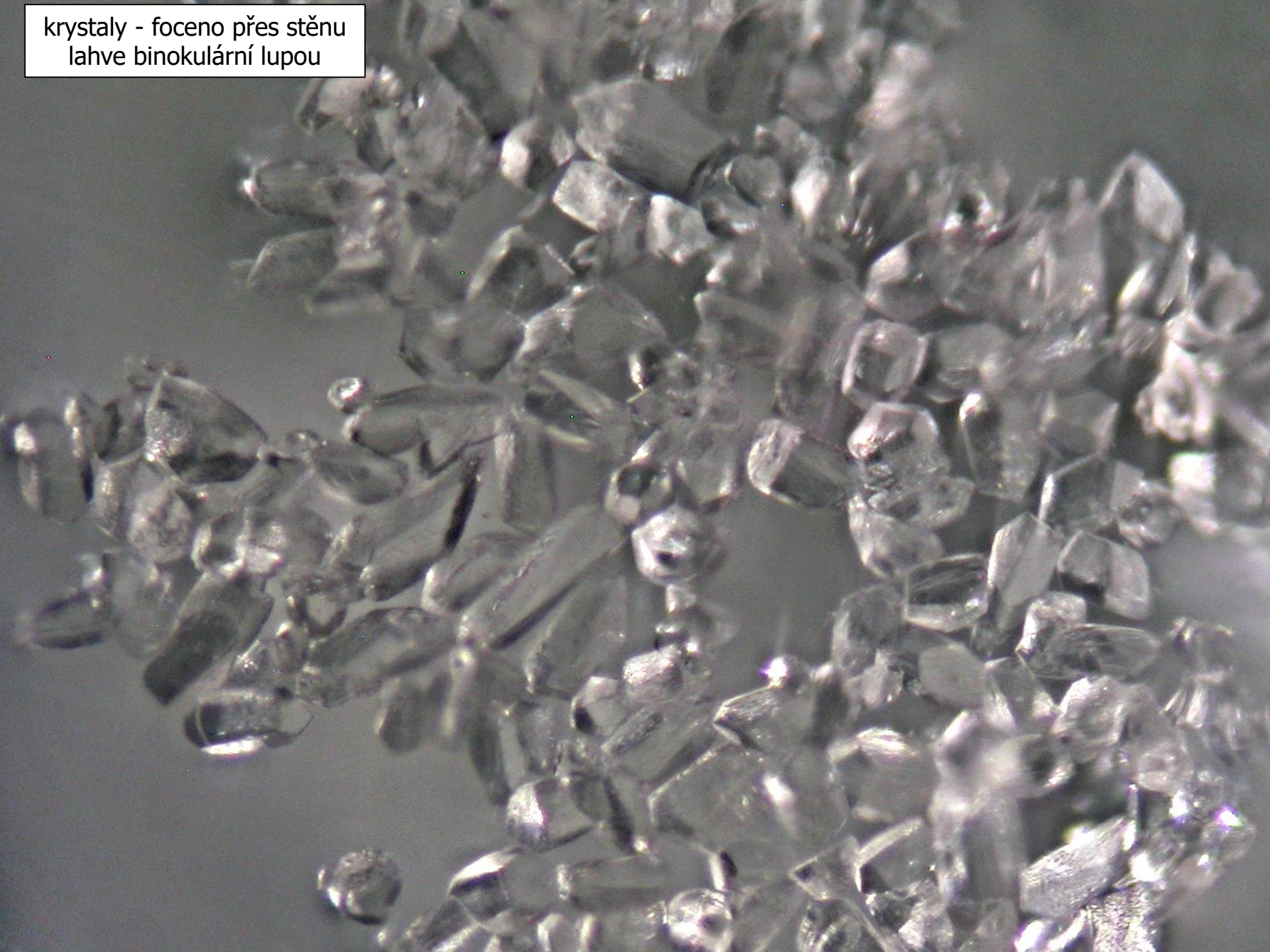


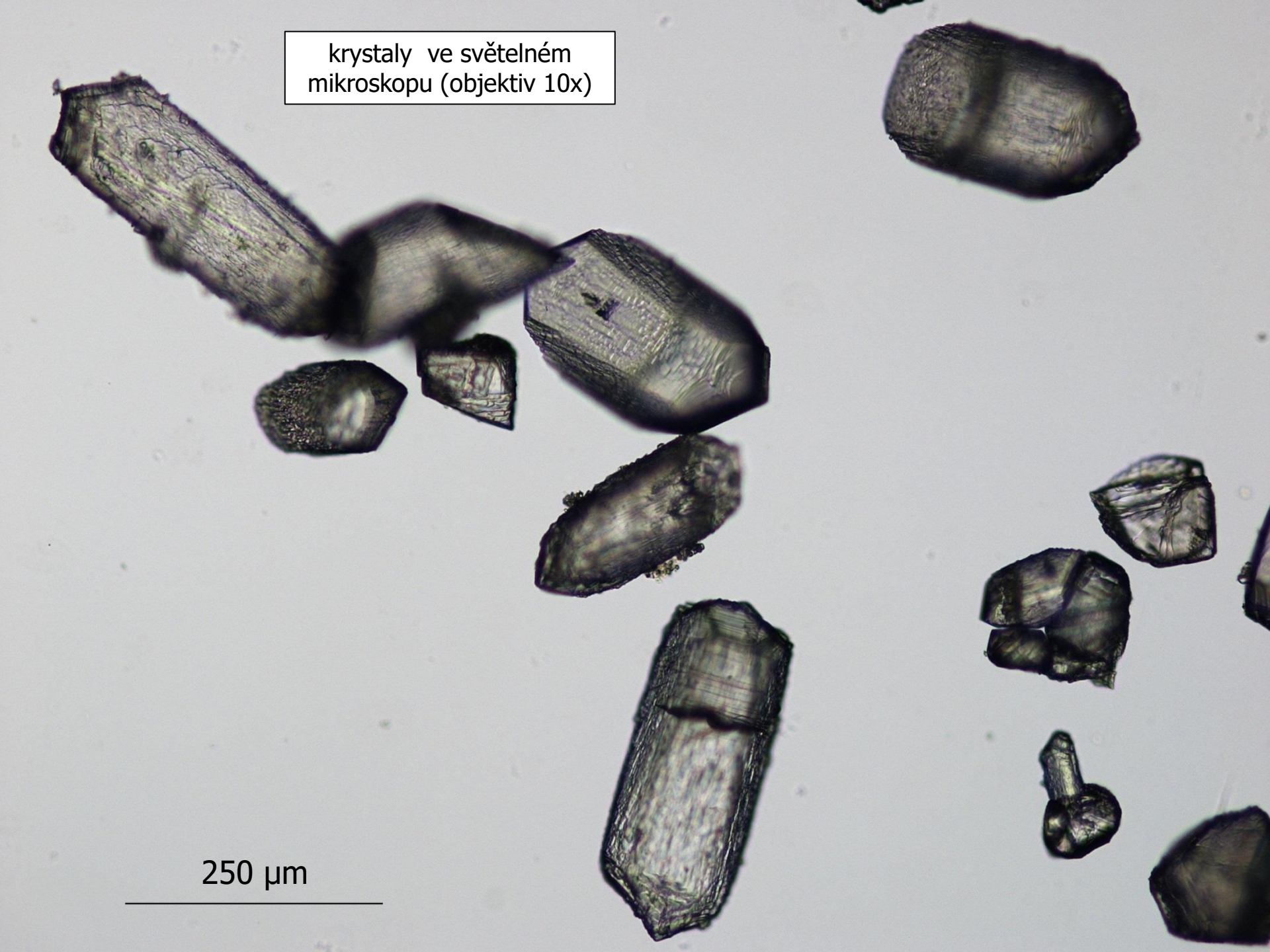
Různé doplňky

Legislativa

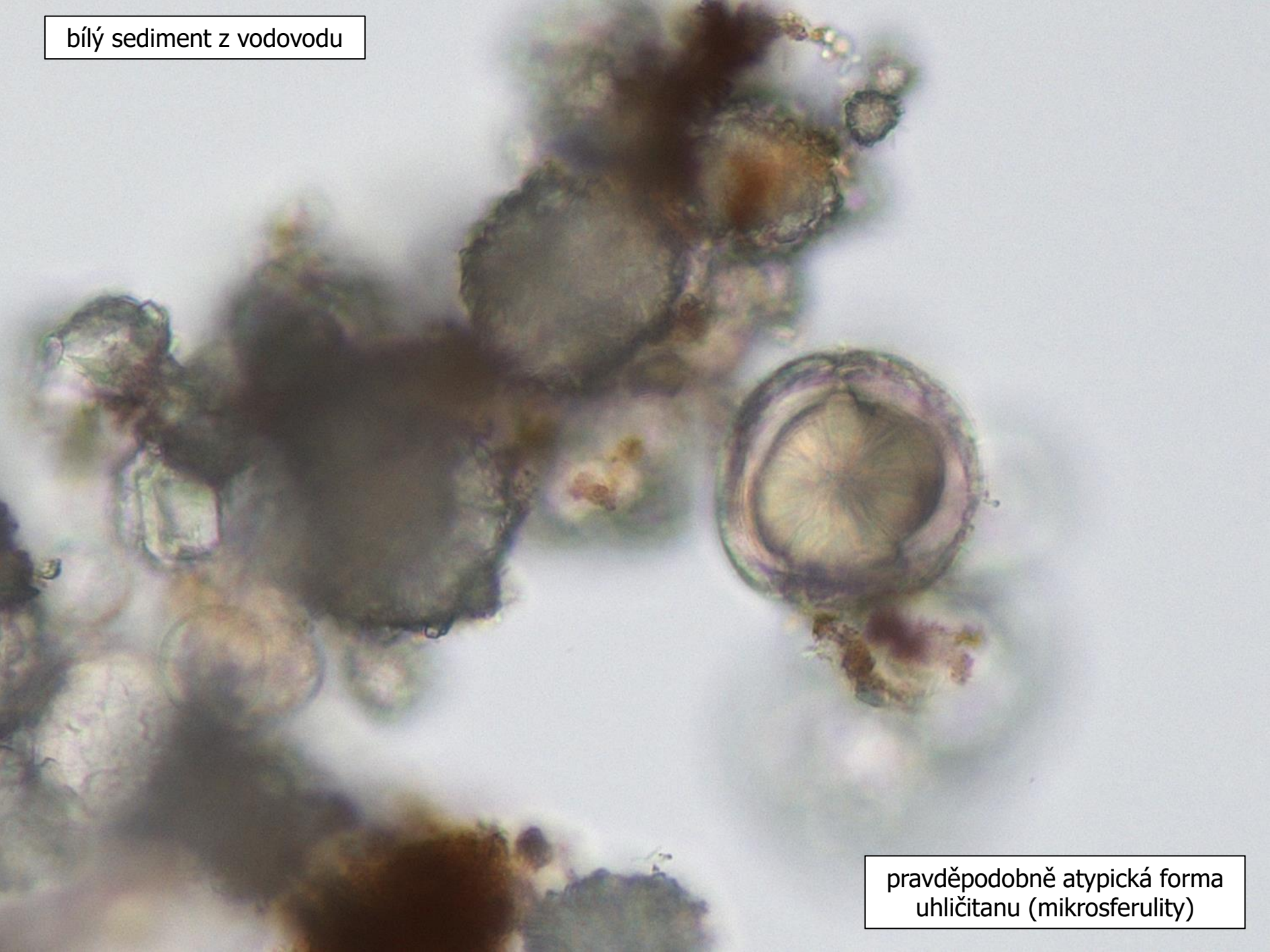
- novela vyhlášky č. 252/2004 Sb. č. 70/2018 Sb.)
- nový limit pro abioseston – 5 %

kalcit

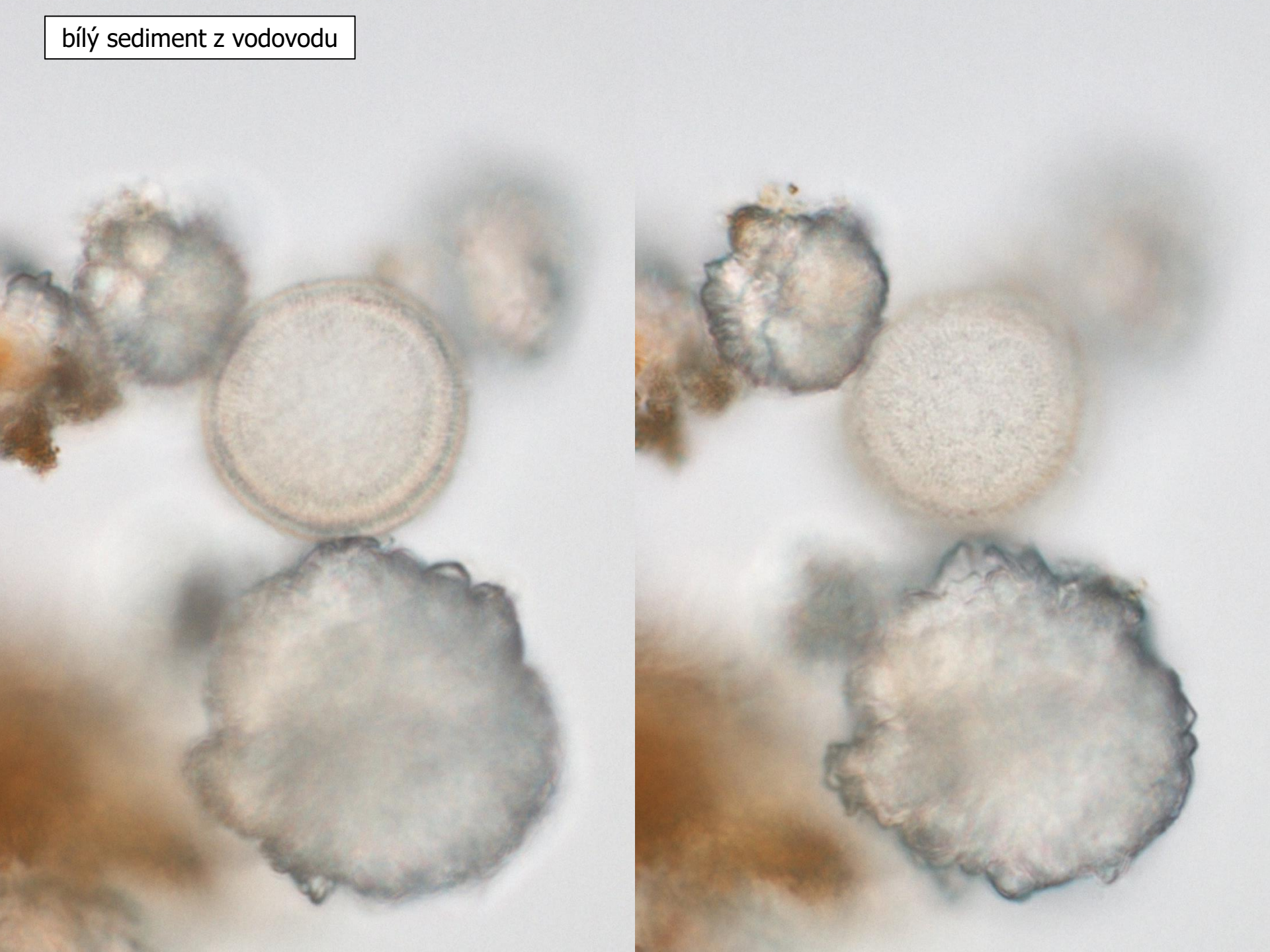

krystaly - foceno přes stěnu
lahve binokulární lupou

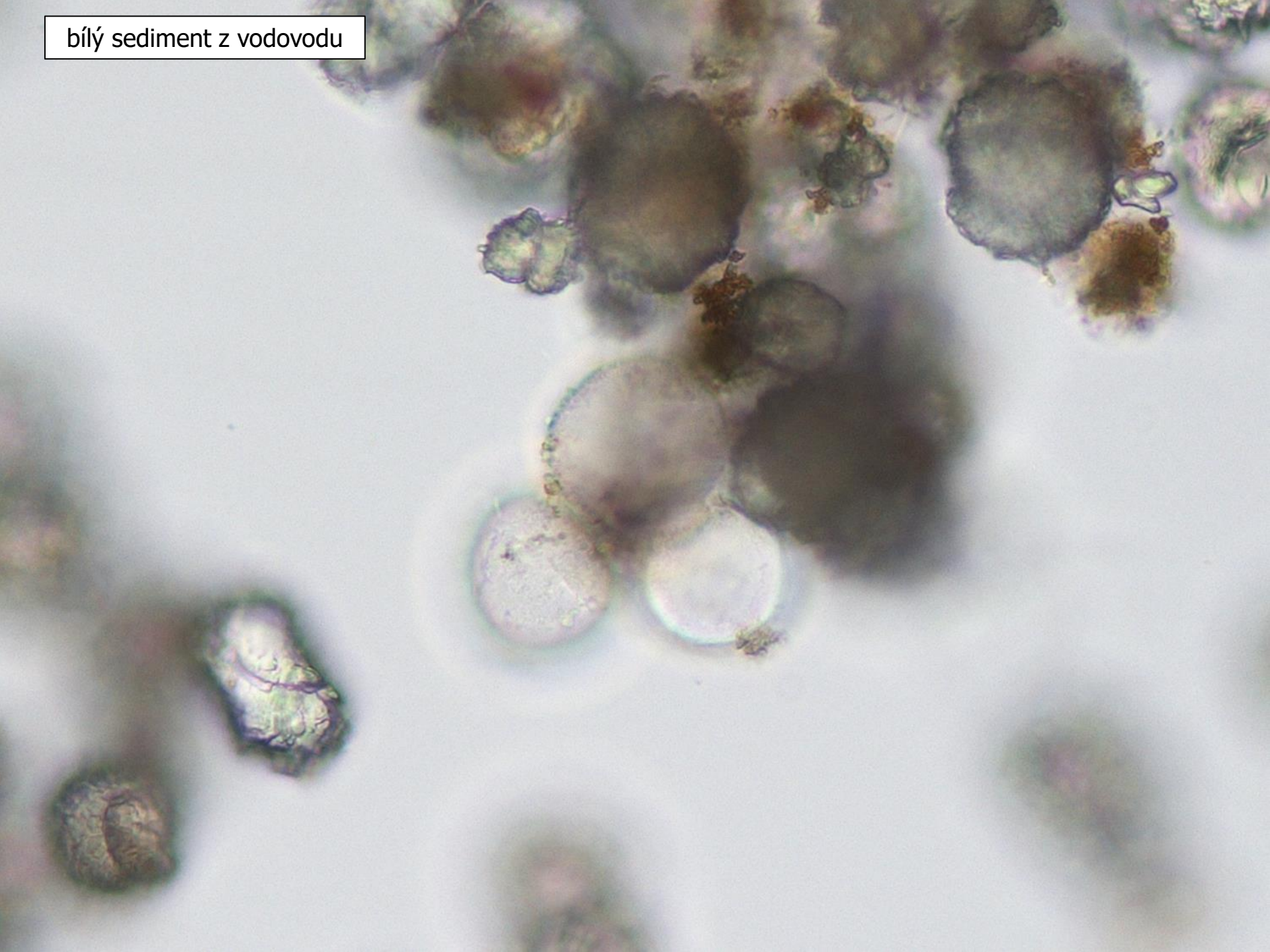

krystaly ve světelném mikroskopu (objektiv 10x)
250 µm

krystaly ve světelném mikroskopu (objektiv 20x)
100 µm


bílý sediment z vodovodu
pravděpodobně atypická forma uhličitanu (mikrosferulity)

bílý sediment z vodovodu




bílý sediment z vodovodu

Využití mikroskopického rozboru při objasnění epidemie z pitné vody

- 28.6.2017 – do SZÚ ve sklenici na víno donesen jedním obyvatelem Nové Vsi vzorek zelené vody z 22.6.
- průjmové onemocnění (hospitalizované dítě a cca 20 nemocných)
- 19.6. netekla voda
- provozovatel (Technické služby Nová Ves) provedl odkalení

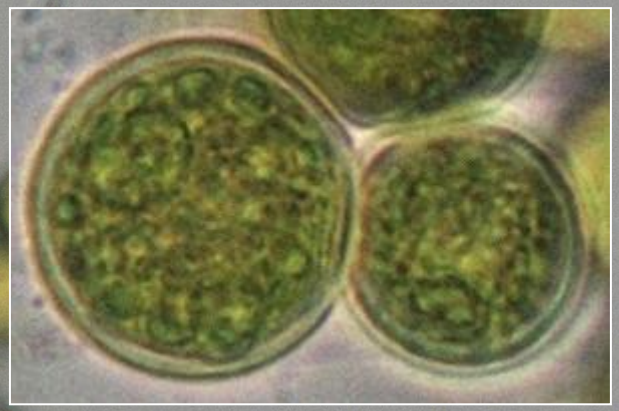
fotografie: pan M z Nové Vsi

Eudorina

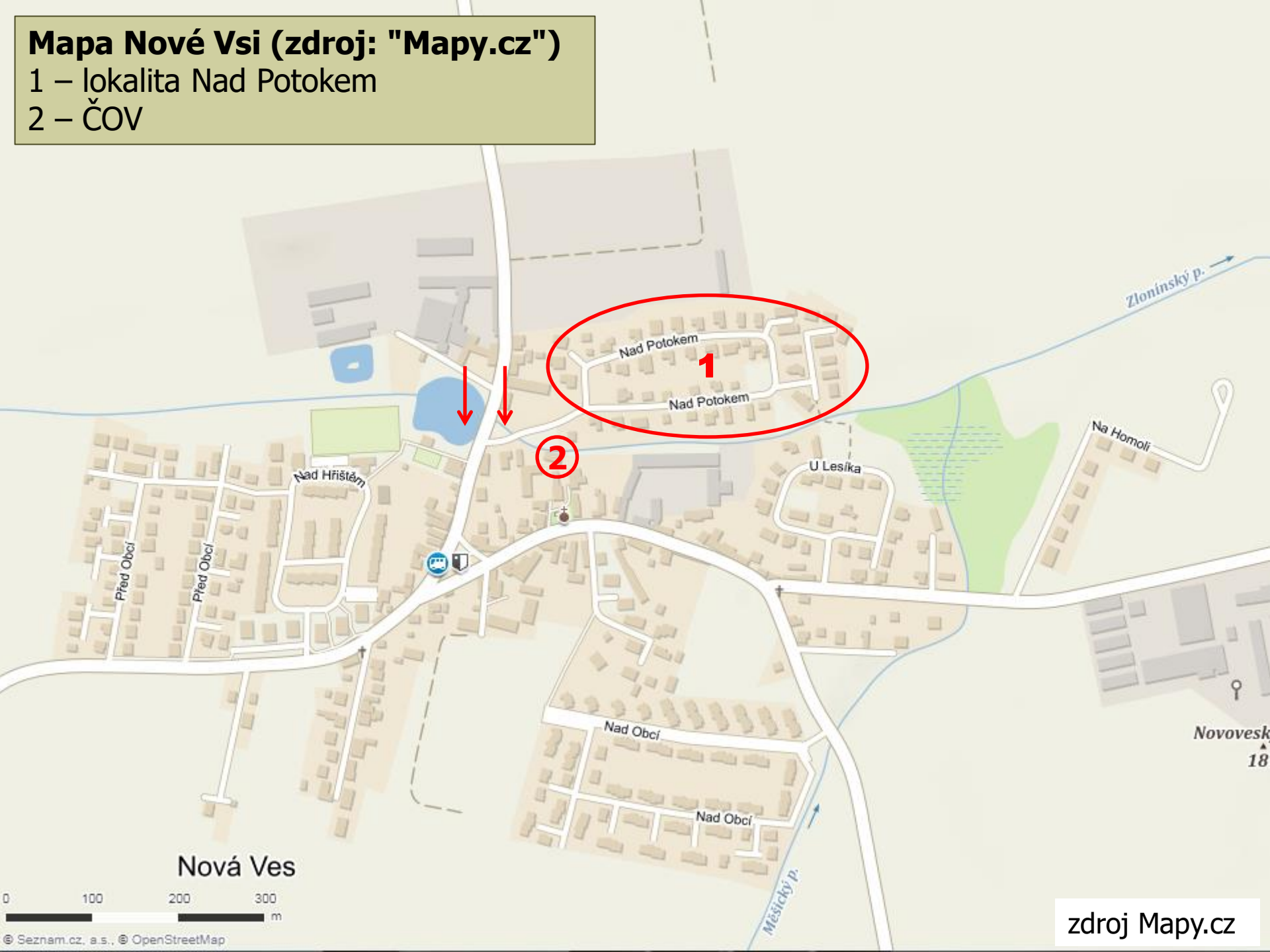
Micractinium

přítomen také *Desmodesmus*

nárostová zelená řasa



Mapa Nové Vsi (zdroj: "Mapy.cz")
1 – lokalita Nad Potokem
2 – ČOV



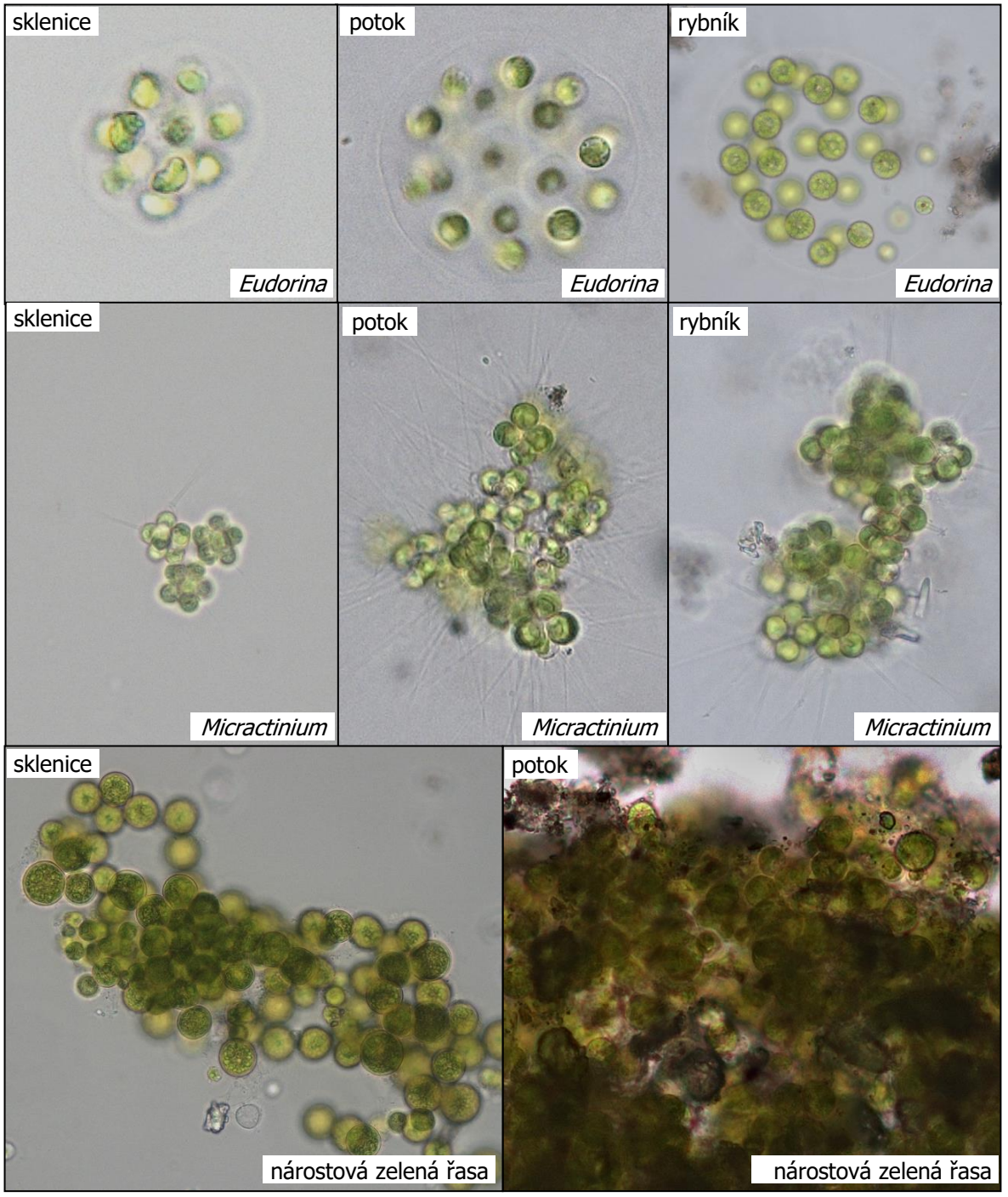
zdroj Mapy.cz

vzorek z 29.6. rybník i potok

- dominance *Cryptomonas*
- méně rozsivky
- ale v malé míře také
  - *Eudorina*
  - *Micractinium*
  - v potoce také nárostová kulatá zelená řasa

Závěr SZÚ (odesláno 4.7.): „...kontaminace místní povrchovou vodou se jeví celkem reálně ...“

pravděpodobně díky poklesu tlaku vnikla prasklinou v potrubí

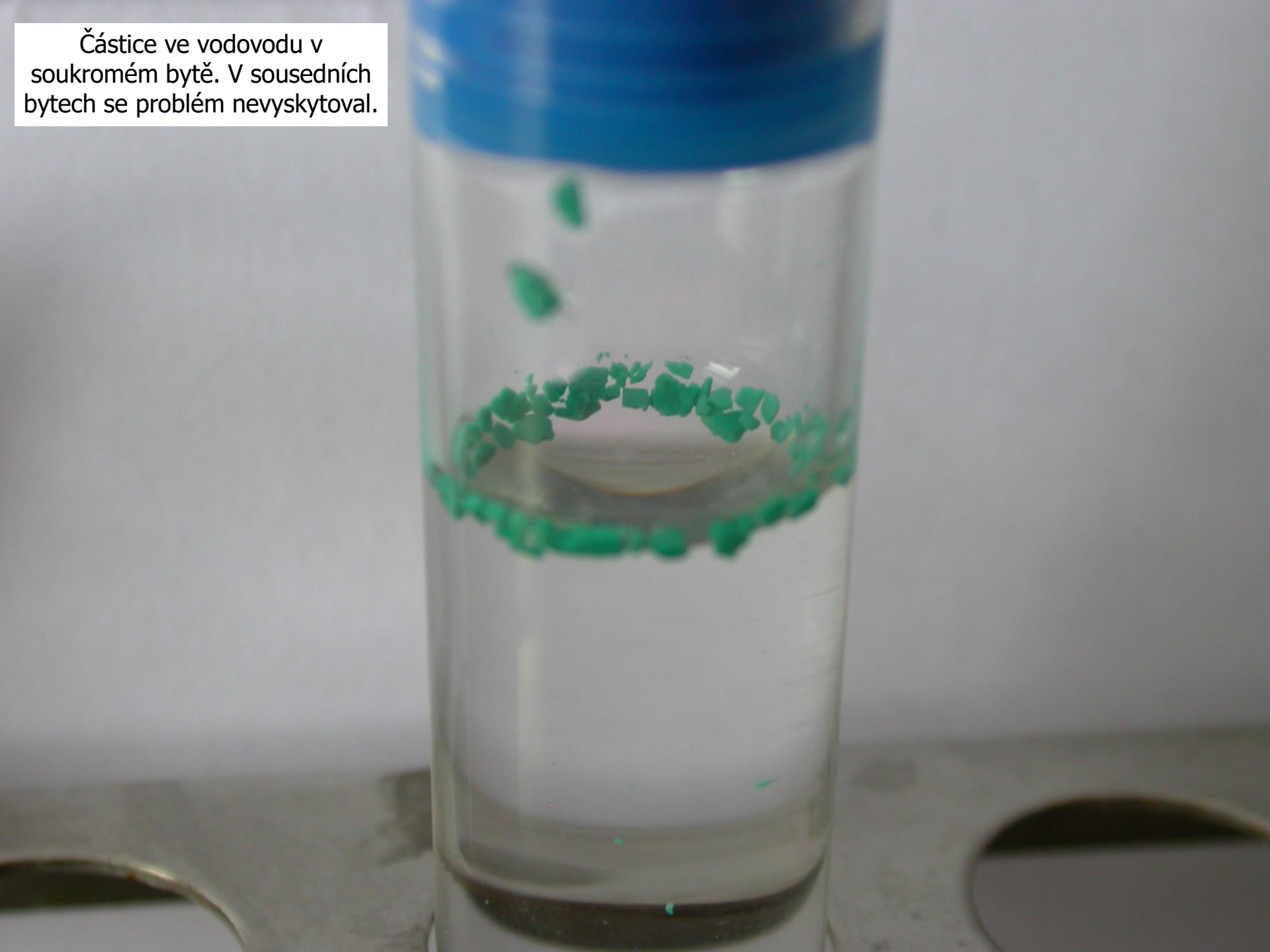


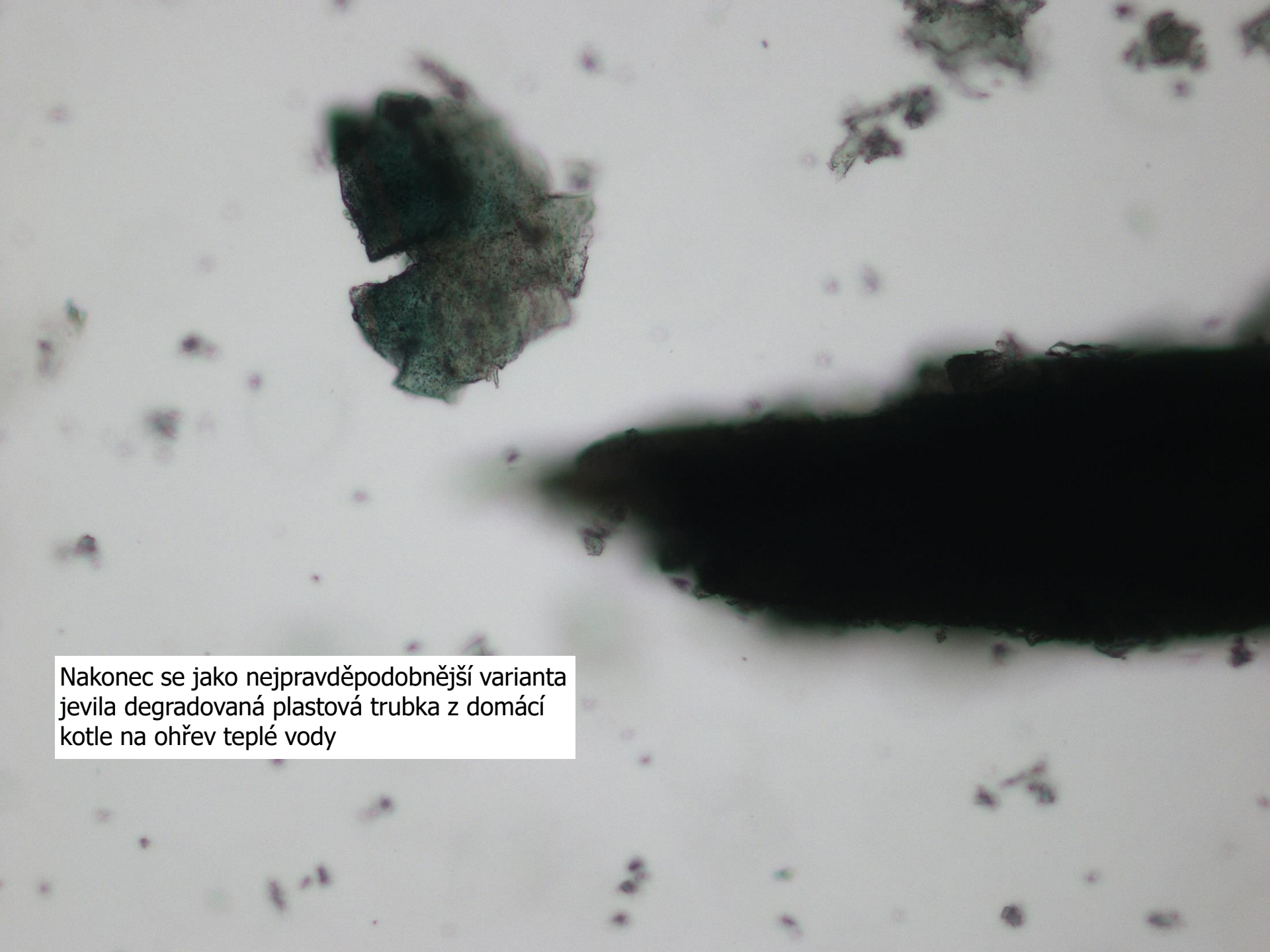
Pravděpodobná příčina

- pozitivní nálezy po dezinfekci systému
- pozitivní nálezy v suchých dnech – provozovatel přichází s nápadem, že by příčinou mohl být zavlažovací systém propojený s vodovodem
- odpojení ze systému – konec problémů – 7.8.2017 odvolán zákaz

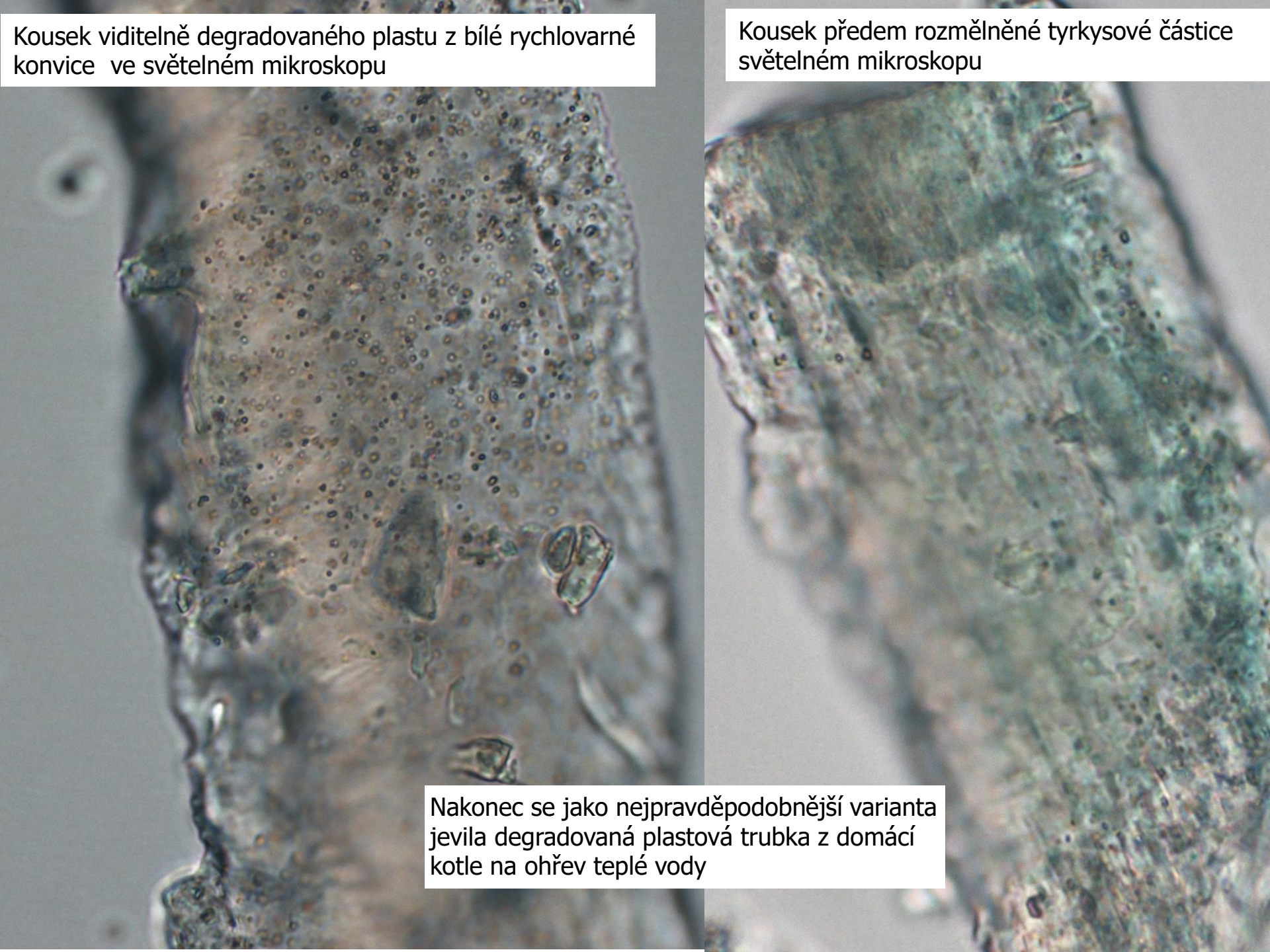
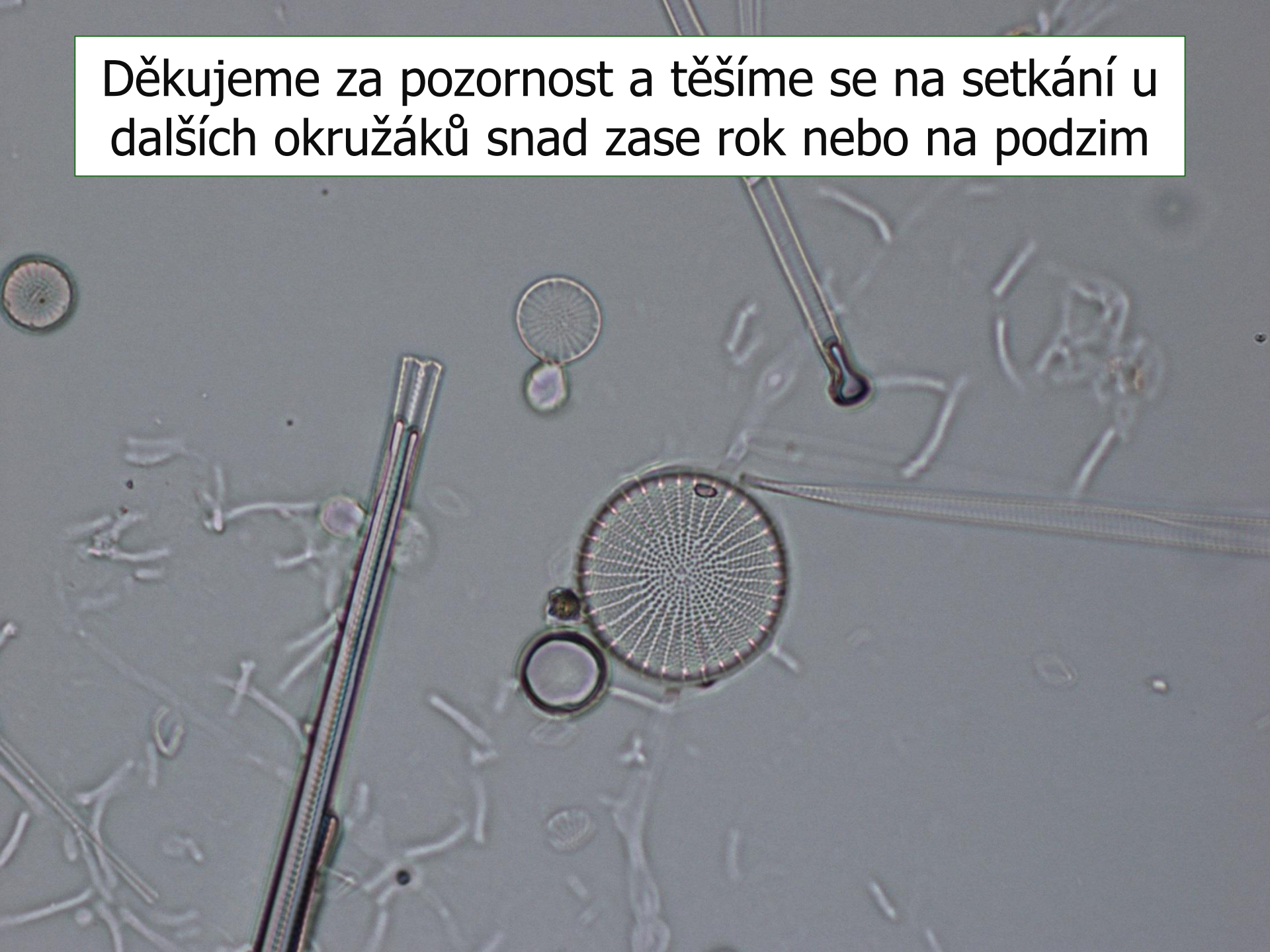
fotografie převzaty z prezentace dr. Polanské z KHS Středočeského kraje

Využití mikroskopického rozboru při objasnění původu tyrkysových částic na kohoutku spotřebitele


Částice ve vodovodu v soukromém bytě. V sousedních bytech se problém nevyskytoval.



Nakonec se jako nejpravděpodobnější varianta jevila degradovaná plastová trubka z domácí kotle na ohřev teplé vody


Kousek viditelně degradovaného plastu z bílé rychlovarné konvice ve světelném mikroskopu
Kousek předem rozmělněné tyrkysové částice světelném mikroskopu
Nakonec se jako nejpravděpodobnější varianta jevila degradovaná plastová trubka z domácí kotle na ohřev teplé vody

Děkujeme za pozornost a těšíme se na setkání u dalších okružáků snad zase rok nebo na podzim