



Státní zdravotní ústav
Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti
Poskytovatel zkoušení způsobilosti č. 7001 akreditovaný ČIA
podle ČSN EN ISO/IEC 17043:2010
Šrobárova 49/48, 100 00 Praha 10 – Vinohrady



Závěrečná zpráva

Program zkoušení způsobilosti laboratoří

PT # V / 3 / 2023

Mikrobiologický rozbor vody

Praha, červen 2023

Obsah

1. Úvod	3
2. Vzorky a jejich příprava	3
2.1. Kontrola homogenity a stability	5
3. Způsob hodnocení ukazatelů	6
3.1. Zásady hodnocení ukazatelů obecně	6
3.3. Výsledky jednotlivých ukazatelů	7
Komentáře k jednotlivým ukazatelům	8
Tabulka 3: Z-score pro počty kolonií při 22 °C	11
Tabulka 4: Z-score pro počty kolonií při 36 °C	11
Tabulka 5: Z-score pro koliformní bakterie podle ČSN 757837	11
Tabulka 6: Z-score pro koliformní bakterie podle ČSN EN ISO 9308-1	12
Tabulka 8: Z-score pro <i>Escherichia coli</i> podle ČSN EN ISO 9308-1	12
Tabulka 9 : Z-score pro intestinální enterokoky	13
Tabulka 10: Z-score pro <i>Clostridium perfringens</i> podle ČSN EN ISO 14189	13
Tabulka 11: Z-score pro <i>Clostridium perfringens</i> podle příl. 6(1) vyhl. MZd. č. 252/2004 Sb.	13
Tabulka 12: Z-score pro <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14
Tabulka 13: Z-score pro <i>Staphylococcus aureus</i>	14
Tabulka 14: Soupis úspěšnosti účastníků	15

Program zkoušení způsobilosti PT#V/3/2023 byl zaměřen na mikrobiologický rozbor vody podle standardizovaných postupů, uvedených v českých právních předpisech (především ve vyhláškách č. 252/2004 Sb., 238/2011 Sb. a 428/2001 Sb. v platném znění). Program je vhodný pro všechny typy hydroanalytických laboratoří, které provádějí mikrobiologický rozbor vody dle platné legislativy.

Realizace tohoto PT byla prováděna podle standardního operačního postupu SOP V/3 – Mikrobiologický rozbor vody. Vzorky byly připraveny a vyhodnoceny pracovníky Expertní skupiny pro zkoušení způsobilosti Státního zdravotního ústavu, což je poskytovatel zkoušení způsobilosti č. 7001 akreditovaný podle ČSN EN ISO /IEC 17043:2010.

S veškerými informacemi dodanými účastníky je zacházeno jako s důvěrnými a nejsou bez souhlasu účastníka poskytovány třetím stranám.

Zprávu vypracovali: RNDr. Dana Baudišová Ph.D., RNDr. Šárka Bobková, Ph.D. a Mgr. Petr Pumann

Zprávu schválil koordinátor programu: RNDr. Dana Baudišová, Ph.D.

Datum vydání zprávy: 14.6.2023

Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT#V/3/2023

Název: Mikrobiologický rozbor vody
Organizátor: Státní zdravotní ústav, Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti, Šrobárova 49/48, Praha 10, 100 00, tel.: + 420 267082575
Vedoucí ESPT: Ing. Věra Vrbíková
Koordinátor: RNDr. Dana Baudišová, Ph.D.
Charakteristika materiálu: Přirozeně kontaminované i uměle připravené vzorky vody (Vzorek A teplá voda, Vzorky B a C povrchová voda, vzorek D uměle připravený, Vzorek E teplá voda). Podrobněji v kapitole 2.
Způsob přípravy: Po homogenizaci odebraných vybraných vzorků vody a umělého vzorku byly vzorky sterilně a za stálého míchání rozplněny do jednotlivých vzorkovnic pro účastníky PT.
Množství připravovaného test. materiálu: Počet vzorkovnic byl připraven na základě počtu přihlášených laboratoří, včetně nezbytné rezervy a vzorkovnic pro stanovení homogenity a stability. Podrobněji v kapitole 2.
Označení vzorkovnic: PT#V/3/2023 A, B, C, D, E dle typu vzorku
Zabezpečení kvality vzorku: Vzorky byly připraveny podle standardního operačního postupu (SOP V/3) z předem prověřených, přirozeně kontaminovaných zdrojů vody. Pro přípravu umělého vzorku byl použit fyziologický roztok, vyrobený z odstáté pitné vody (s kontrolou pH) a kmeny cílových mikroorganismů (<i>Pseudomonas aeruginosa</i> a <i>Staphylococcus aureus</i>) izolované z vodního prostředí a ověřené metodou MALDI-TOF.
Termín testu homogenity a stability: Pro všechny vzorky byl použit ověřený způsob přípravy, který zajišťuje dostatečnou homogenitu. Stabilita a homogenita vzorků byla testována v samotných zkušebních vzorcích odebíraných v pravidelných intervalech během plnění vzorkovnic (začátek, střed a konec). Vzorky byly zpracovány v laboratoři SZÚ ve stejný (předepsaný) čas s ostatními účastníky. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 1.
Podmínky distribuce a uchování vzorků: Do doby výdeje byly zkušební vzorky uchovávány v chladničce v rozmezí teplot (5±3) °C, dále již byly uchovávány plně v kompetenci účastníků. Vzorky na testování homogenity a stability byly uchovávány v chladničce v rozmezí teplot (5±3) °C až do jejich zpracování. Teplota byla kontinuálně kontrolována pomocí teploměru TESTO.
Počet účastníků: 19
Způsob distribuce: 20.3.2023 Osobní převzetí vzorku jednotlivými účastníky spolu s pokyny k provedení PT/V#3/2023 – Mikrobiologický rozbor vody. Formulář pro zápis výsledků v elektronické podobě byl volně k dispozici na webových stránkách SZÚ.
Předání výsledků: Elektronicky na předepsaných formulářích do 11.4. 2023
Způsob vyhodnocení výsledků: Za vyhovující jsou považovány hodnoty z- score ležící v intervalu $z \leq /2/$. Účastníci obdrží Osvědčení o účasti s přílohou uvádějící výčet ukazatelů s dosaženou požadovanou úrovní výsledků.
Určení vztažné hodnoty: Vypočtena jako robustní průměr z údajů všech laboratoří.
Určení vztažné odchylky: Vypočtena jako robustní směrodatná odchylka z údajů všech účastníků. V případě nízkých počtů (méně než 10 KTJ) bylo k hodnocení použito POISSONOVO rozdělení a odchylka v tomto případě není stanovena
Termín předání zprávy účastníkům: červen 2023
Termín semináře: 14.6.2023

1. Úvod

Cílem zkoušení způsobilosti v roce 2023 (PT#V/3/2023 - Mikrobiologický rozbor vody) bylo stanovení mikrobiologických ukazatelů standardizovanými metodami na koncentrační úrovni vhodné pro většinu matric z oblasti kontroly jakosti vody (pitná, teplá, povrchová voda včetně vod surových a koupacích). Bylo možno zvolit následující mikrobiologické ukazatele a v některých případech bylo možné provést stanovení různými metodami (uvedené pořadí viz protokol výsledků):

1. Počet kolonií při 22°C dle ČSN EN ISO 6222
2. Počet kolonií při 36°C dle ČSN EN ISO 6222
3. Koliformní bakterie dle ČSN 75 7837
4. Koliformní bakterie dle ČSN EN ISO 9308-1
5. Koliformní bakterie dle ČSN EN ISO 9308-2
6. Termotolerantní koliformní bakterie dle ČSN 75 7835
7. *E. coli* dle ČSN EN ISO 9308-1
8. *E. coli* dle ČSN EN ISO 9308-2
9. *E. coli* dle ČSN 75 7835
10. Intestinální enterokoky dle ČSN EN ISO 7899-2
11. *Clostridium perfringens* dle ČSN EN ISO 14189
12. *Clostridium perfringens* dle přílohy č. 6 (1?) vyhl. 252/2004 Sb.
13. Siřičitany redukující anaeroby (klostridia) dle ČSN EN 26461-2
14. Stanovení *Legionella* spp. dle ČSN EN ISO 11731
15. Stanovení *Pseudomonas aeruginosa* dle ČSN EN ISO 16266
16. Stanovení *Staphylococcus aureus* dle ČSN EN ISO 6888-1

Vzorky ke zkoušení způsobilosti v letošním roce odebralo celkem 19 laboratoří. Všechny laboratoře dodaly výsledky. Každý účastník obdržel objednaný počet vzorkovnic s příslušným vzorkem vody, označený štítkem s názvem programu zkoušení způsobilosti a dále s označením příslušného vzorku (A, B, C, D, E) dle spektra ukazatelů, jež bylo možno z dané vzorkovnice stanovit. Dále účastníci obdrželi „Pokyny k provedení PT#V/3/2023 – mikrobiologický rozbor vody, obsahující instrukce k provedení rozboru.

I když má program již celkem stabilizovanou podobu, budeme vděčni za jakoukoli zpětnou vazbu například vyplněním krátkého hodnotícího dotazníku na <http://www.szu.cz/espt>. Vaše připomínky a náměty na zlepšení nám také můžete sdělit e-mailem nebo telefonicky dana.baudisova@szu.cz; tel.: 267082575).

2. Vzorky a jejich příprava

Vzorek A Základní rozbor: počty kolonií při 22°C a 36°C

Začátkem března byl pracovníky SZÚ proveden poslední průzkum mikrobiologické kvality potenciálních zdrojů vody pro účely PT#V/3/2023 a jako nejvhodnější byl nakonec vybrán pramen Jezerka (Praha 4 – Nusle), který vykazoval relativně vhodné počty kolonií při obou testovaných teplotách (u stanovení počtu kolonií při 22°C se předpokládá desetinasobné ředění) – mírně naředěný odstátou vodovodní vodou (SZÚ, místnost 111, budova 5).

Vzorek byl 19.3. 2023 odebrán do sterilní 10 litrové nádoby a ihned převezen do SZÚ. Zde byl vzorek vytvořen smícháním v poměru 3 (Jezerka) : 1 (vodovodní voda) a při dodržení sterilních podmínek a za stálého míchání ihned rozplněn do 20 ks předem připravených sterilních vzorkovnic o objemu 0,25 l. Pro kontrolní analýzy v SZÚ byly ze souboru náhodně vybrány 3 vzorky (čísla vzorků 1-3 označují pořadí plnění vzorků). Vzorky byly do okamžiku

předání uloženy v chladničkách v uzamčených prostorách mikrobiologické laboratoře, účastníkům PT#V/3/2023 byly dne 20.3.2023 předány v náhodném pořadí.

Vzorek B Základní rozbor: koliformní bakterie, *Escherichia coli*, termotolerantní (fekální) koliformní bakterie

V polovině března byl pracovníky SZÚ proveden poslední průzkum mikrobiologické kvality potenciálních zdrojů vody pro účely PT#V/3/2023 a jako nejvhodnější byl nakonec vybrán profil Vltava – Sedlec (dlouhodobě sledovaný zdroj), mírně naředený odstátou vodovodní vodou (SZÚ, místnost 111, budova 5).

Vzorek byl 19.3.2023 odebrán za dodržení platných pravidel pro vzorkování do sterilní 10 litrové nádoby a ihned převezen do SZÚ. Zde byl vzorek vytvořen smícháním v poměru 3 (Sedlec) : 1 (vodovodní voda) a při dodržení sterilních podmínek a za stálého míchání ihned rozplněn do 20 ks předem připravených sterilních vzorkovnic o objemu 0,25 l. Pro kontrolní analýzy v SZÚ byly ze souboru náhodně vybrány 3 vzorky (čísla vzorků 1-3 označují pořadí plnění vzorků).

Vzorky byly do okamžiku předání uloženy v chladničkách v uzamčených prostorách mikrobiologické laboratoře. Účastníkům PT#V/3/2023 byly dne 20.3. 2023 předány v náhodném pořadí.

Vzorek C Základní rozbor: intestinální enterokoky, *Clostridium perfringens*, siřičitany redukující anaeroby (klostridia)

Počátkem dubna byl pracovníky SZÚ proveden poslední průzkum mikrobiologické kvality potenciálních zdrojů vody pro účely PT#V/3/2023 a jako nejvhodnější byl nakonec vybrán profil Vltava – Sedlec (dlouhodobě sledovaný zdroj).

Vzorek byl 19.3.2023 odebrán za dodržení platných pravidel pro vzorkování do sterilní 10 litrové nádoby a ihned převezen do SZÚ, kde byl při dodržení sterilních podmínek a za stálého míchání ihned rozplněn do 24 ks předem připravených sterilních vzorkovnic o objemu 0,25 l. Pro kontrolní analýzy v SZÚ byly ze souboru náhodně vybrány 3 vzorky (čísla vzorků 1-3 označují pořadí plnění vzorků).

Vzorky byly do okamžiku předání uloženy v chladničkách v uzamčených prostorách mikrobiologické laboratoře, účastníkům PT#V/3/2023 byly dne 20.3.2023 předány v náhodném pořadí.

Vzorek D Speciální rozbor I: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*

Bakteriální kmeny (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* – jednalo se o divoké kmeny izolované z umělého systému upravené vodovodní vody a městských vodních prvků a identifikované metodou MALDI-TOF) byly kultivovány 24 hodin při $(36 \pm 2)^\circ\text{C}$ na neselektivním médiu (Columbia agar). Poté byla na základě opakovaného testování připravena suspenze o vhodné denzitě. Příslušný objem této suspenze byl dále přidán do 3 litrů fyziologického roztoku, vyrobeného z odstáté pitné vody (s kontrolou pH) a vše bylo důkladně zhomogenizováno. Dále byl vzorek při dodržení sterilních podmínek a za stálého míchání ihned rozplněn do 10 ks předem připravených sterilních vzorkovnic o objemu 0,25 l. Pro kontrolní analýzy v SZÚ byly ze souboru náhodně vybrány 3 vzorky (čísla vzorků 1-3 označují pořadí plnění vzorků).

Vzorky byly do okamžiku předání uloženy v chladničkách v uzamčených prostorách mikrobiologické laboratoře, účastníkům PT#V/3/2023 byly dne 20.3.2023 předány v náhodném pořadí.

Vzorek E Speciální rozbor II: *Legionella* spp.

Během předjaří 2023 bylo pracovníky SZÚ provedeno opakované ověření potenciálních zdrojů vody pro účely PT#V/3/2023, což je teplá užitková voda (SZÚ, místnost 111 a další dva zdroje). Jedná se o dlouhodobě sledované zdroje. Jako nejvhodnější byl vybrána TUV v SZÚ (viz dále).

Vzorek byl 19.3.2023 odebrán z místnosti 111 v SZÚ po minutovém odtočení do sterilní 3 litrové nádoby. Po zchlazení na laboratorní teplotu byla ověřena absence volného chloru a vzorek byl při dodržení sterilních podmínek a za stálého míchání ihned rozplněn do 10 ks předem připravených sterilních vzorkovnic o objemu 0,25 l. Pro kontrolní analýzy v SZÚ byly ze souboru náhodně vybrány 3 vzorky (čísla vzorků 1-3 označují pořadí plnění vzorků).

Vzorky byly do okamžiku předání uloženy v chladničkách v uzamčených prostorách mikrobiologické laboratoře, účastníkům PT#V/3/2023 byly dne 20.3.2023 předány v náhodném pořadí.

2.1. Kontrola homogenity a stability

Homogenita připravovaných vzorků byla ověřována tak, že byly odděleny vzorky z různé fáze rozplňování, které byly zpracovány v kontrolní laboratoři SZÚ. Pro kontrolní analýzy byly ze souboru náhodně vybrány 3 vzorky (označené čísla 1-3 podle pořadí při rozplňování, vzorek č. 1 byl odebrán z rané fáze, vzorek č. 3 z konečné fáze).

Tabulka 1. Výsledky analýz homogenity připravených vzorků (uveden je průměr výsledků 3 vzorků v předepsaném objemu a variační koeficient).

Ukazatel	Jednotka	Průměr	Variační koeficient
Počty kolonií při 22 °C dle ČSN EN ISO 6222	KTJ/ml	26	14 %
Počty kolonií při 36 °C dle ČSN EN ISO 6222	KTJ/ml	9	24 %
Koliformní bakterie dle ČSN 757837	KTJ/10 ml	10	23 %
Koliformní bakterie dle ČSN EN ISO 9308-1	KTJ/10 ml	44 ^{x)}	9 %
Koliformní bakterie dle ČSN EN ISO 9308-2	MPN/10 ml	4	21 %
Termotolerantní koliformní bakterie dle ČSN 757835	KTJ/10 ml	0 (0,33)	- (141 %)
<i>Escherichia coli</i> dle ČSN EN ISO 9308-1	KTJ/10 ml	1 (0,66)	- (71 %)
<i>Escherichia coli</i> dle ČSN EN ISO 9308-2	MPN /10 ml	1 (0,81)	- (82 %)
<i>Escherichia coli</i> dle ČSN 757835	KTJ/10 ml	0 (0,33)	- (141 %)
Intestinální enterokoky dle ČSN EN ISO 7899-2	KTJ/10 ml	5	16 %
<i>Clostridium perfringens</i> dle ČSN EN ISO 14189	KTJ/10 ml	32	22 %
<i>Clostridium perfringens</i> dle příl. 6(1), vyhl. MZd. č. 252/2004 Sb.	KTJ/10 ml	6	32 %
Siřičitany redukující anaeroby (klostridia) dle ČSN EN 26461-2	KTJ/10 ml	106	10 %
<i>Legionella</i> spp. dle ČSN EN ISO 11713	KTJ/10 ml	0	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> dle ČSN EN ISO 16266	KTJ/10 ml	780	13 %
<i>Staphylococcus aureus</i> dle ČSN EN ISO 6888-1	KTJ/10 ml	767	11 %

x) Toto je počet kolonií v 10 ml, splňujících definici pro koliformní bakterie (po 24 hodinách β -D-galaktozidáza pozitivní, oxidáza negativní). Po ponechání vzorku v lednici na další analýzy po dobu jednoho týdne zůstalo „červených“, tj. D-galaktozidáza pozitivních pouze 14 kolonií.

Vzhledem k tomu, že mikrobiologický vzorek je svojí podstatou (charakterem) nestabilní, kontrolní analýzy v SZÚ byly zahájeny v souladu s instrukcemi pro účastníky dne 21.3.2023 od 9.00 hod. Do té doby byly kontrolní vzorky skladovány v předepsaných podmínkách (při teplotě (5 ± 3) °C). U všech referenčních vzorků byla stanovena směrodatná odchylka a její relativní vyjádření v procentech (variační koeficient), což posloužilo k posouzení variability referenčních vzorků a tím i jejich homogenity. Zároveň se sleduje, zda není zaznamenán trend výsledků v průběhu rozplňování vzorků. Připravené vzorky lze hodnotit jako homogenní, neboť žádný trend ve výsledcích SZÚ nebyl zaznamenán. Výsledky jsou uvedeny v předchozí tabulce (tabulka 1).

3. Způsob hodnocení ukazatelů

3.1. Zásady hodnocení ukazatelů obecně

Pro stanovení vztažných hodnot byly použity výsledky všech zúčastněných laboratoří (s výjimkou ukazatele stanovení koliformních bakterií dle ČSN 757837, viz kap. 3.3.). Vztažná hodnota byla vypočítána jako robustní průměr.

Hodnota cílové směrodatné (vztažné) odchylky (σ) byla stanovena jako robustní směrodatná odchylka souboru výsledků všech účastníků, která mohla být při zohlednění dalších faktorů rozšířena.

V případech, kdy byla vztažná hodnota velmi nízká, rovna nebo menší než 10, bylo pro meze pro správné hodnoty použito Poissonovo rozdělení (99% hladina významnosti). Pro výpočet byla využita funkce POISSON z programu MS Excel. Vztažná odchylka pak byla vypočítána jako polovina rozdílu mezi vztažnou hodnotou a spodní, resp. horní hranicí intervalu. V případě extrémně nízkých počtů (vztažná hodnota menší než 2) byl k hodnocení použit konfidenční interval pro stanovení nízkých počtů podle tab. B4 normy ČSN EN ISO 8199 (2019).

Informace o výpočtu robustního průměru a robustní směrodatné odchylky lze najít např. v ČSN ISO 5725-5 (2018).

Následně pak každému výsledku laboratoře (X) bylo přiřazeno z-score vypočtené podle vztahu:

$$z = (X - x) / \sigma,$$

kde je x vztažná hodnota a σ cílová směrodatná odchylka. Z-score je interpretováno následujícím způsobem: $|z| \leq 2$ jako uspokojivé, $2 < |z| \leq 3$ jako sporné a $|z| > 3$ jako neuspokojivé. Z-score charakterizuje přesnost dat produkovaných laboratoří a je definováno jako systematická chyba laboratoře vztažená na cílovou hodnotu směrodatné (vztažné) odchylky.

3.2. Nejistoty stanovení

Pro stanovení vztažné hodnoty a intervalu správných hodnot nebyly nejistoty stanovení brány v úvahu.

Celkem uvedlo údaje o nejistotách 11 účastníků tj. pouze 58 %. Je však nutno připustit, že na protokolu nebylo uvedeno hodnocení výsledku resp. porovnání s limitem. Většina laboratoří (73 %) uváděla relativní nejistotu (v %), nejistotu měření, jako rozmezí správných hodnot uvedla 1 laboratoř (u všech ukazatelů). Kombinaci obou uvedly tři laboratoře (většinou z důvodů některých výsledků pod mezí stanovitelnosti – což je správně). Nejistotu v případě nízkých hodnot (pod mezí stanovitelnosti) zohlednily laboratoře (36 %). Rozmezí všech uvedených relativních nejistot bylo 15 – 150 %; nutno konstatovat, že nejistoty v mikrobiologii vody pod 20 % jsou nerealistické a neodpovídají rozložení mikroorganismů (částic) ve vzorku.

Uvedené nejistoty stanovení lze využít především při hodnocení úspěšných či neúspěšných výsledků jednotlivých účastníků.

3.3. Výsledky jednotlivých ukazatelů

Výsledky jednotlivých ukazatelů (vztažné hodnoty, odchylky a intervaly správných hodnot) jsou uvedeny v tabulce č. 2. Komentáře k jednotlivým ukazatelům jsou uvedeny pod tabulkou.

Tabulka 2: Výsledky jednotlivých ukazatelů (zaokrouhloeno na celá čísla)

Ukazatel	Jednotky	Vztažná hodnota	Vztažná odchylka	Interval správných hodnot
Počty kolonií při 22 °C dle ČSN EN ISO 6222	KTJ/ml	48	42 %	28-68
Počty kolonií při 36 °C dle ČSN EN ISO 6222	KTJ/ml	11	98 %	0-23
Koliformní bakterie dle ČSN 757837	KTJ/10 ml	7	POISSON	2-11
Koliformní bakterie dle ČSN EN ISO 9308-1	KTJ/10 ml	18	215 %	Nehodnoceno
Koliformní bakterie dle ČSN EN ISO 9308-2	MPN/10 ml	7	POISSON	2-12
Termotolerantní koliformní bakterie dle ČSN 757835	KTJ/10 ml	0 (průměr 0,3)	POISSON	0-6
<i>Escherichia coli</i> dle ČSN EN ISO 9308-1	KTJ/10 ml	1 (1,4)	POISSON	0-6
<i>Escherichia coli</i> dle ČSN EN ISO 9308-2	MPN/10 ml	1	POISSON	0-6
<i>Escherichia coli</i> dle ČSN 757835	KTJ/10 ml	0 (průměr 0,1)	POISSON	0-6
Intestinální enterokoky dle ČSN EN ISO 7899-2	KTJ/10 ml	8,9	POISSON	4-14
<i>Clostridium perfringens</i> ČSN EN ISO 14189	KTJ/10 ml	27	61 %	11-43
<i>Clostridium perfringens</i> dle příl. 6(1) vyhl. MZd. č. 252/2004 Sb.	KTJ/10 ml	12	POISSON	6-19
Siřičitany redukující anaeroby (klostridia) dle ČSN EN 26461-2	KTJ/10 ml	-	-	Nehodnoceno
<i>Legionella</i> spp. dle ČSN EN ISO 11713	KTJ/10 ml	0 (průměr 0,25)	POISSON	0-6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> dle ČSN EN ISO 16266	KTJ/10 ml	707	89 %	78- 1337
<i>Staphylococcus aureus</i> dle ČSN EN ISO 6888-1	KTJ/10 ml	704	25 %	528-881

Komentáře k jednotlivým ukazatelům

Počet kolonií při 22 °C

Ukazatel stanovovalo 14 účastníků, všichni účastníci uspěli. Vztažná hodnota byla vypočtena jako robustní průměr z údajů všech účastníků.

Počet kolonií při 36 °C

Ukazatel stanovovalo 14 účastníků, všichni účastníci uspěli. Vyšší hodnota vztažné odchylky byla způsobena nižším počtem mikroorganismů, počet byl na hranici použití Poissonova rozdělení, ke kterému jsme se nakonec nepřiklonili. Výsledky na hladině pravděpodobnosti 99% by byly shodné (všichni účastníci uspěli), rozmezí správných hodnot by bylo 4-20.

Koliformní bakterie dle ČSN 75 7837

Ukazatel stanovovalo 6 účastníků, všichni účastníci uspěli. Vztažná hodnota byla vypočtena jako robustní průměr z údajů všech účastníků. K hodnocení výsledků bylo použito Poissonovo rozdělení, které lépe vystihovalo charakter souboru.

Koliformní bakterie dle ČSN EN ISO 9308-1

Jedná se o stanovení koliformních bakterií na Chromogenic Coliform agaru (dále CCA). Ukazatel stanovovalo 11 účastníků. Tato metoda je v praxi vhodná výhradně pro stanovení koliformních bakterií a *E. coli* ve vzorcích vody s nízkým obsahem doprovodné mikroflóry (např. pitná dezinfikovaná voda). V letošním roce došlo dle našich (následných) informací k neočekávaným událostem a to k manipulaci s průtoky ve Vltavě (mezinárodní akce Povodí Vltavy s.p.) v období těsně před odběrem vody na tento PT a to až po posledních našich kontrolních odběrech. Z tohoto důvodu došlo ve Vltavě ke změnám mikrobiálních společenstev – snížení počtů *E. coli* a termotolerantních koliformních bakterií (viz dále), ale i ke snížení počtů koliformních bakterií a k vyplavení zřejmě půdních, sporulujících bakterií rodu *Bacillus*, které jsou též oxidáza negativní a slabě β -D-galaktozidáza pozitivní. Výsledky zaslané laboratořemi dosahovaly velké výkyvy. Pokud by se spočítaly po 24 hodinách všechny kolonie splňující definici pro koliformní bakterie byly by počty vyšší. Při dalším zkoumání (stačilo by ponechání vzorku v lednici několik dnů, nebo porovnání výsledků s dalšími metodami na stanovení koliformních bakterií) bylo zřejmé, že jde o něco netypického. *Bacillus* se dá poznat i mikroskopicky – rychle sporuluje. Proto nebylo možné tento ukazatel spravedlivě vyhodnotit, nicméně ať je poučením, že i takovéto kolonie (*Bacillus* připomínající koliformní bakterii) se mohou ve vzorku (podle našich informací dokonce i v pitné vodě) vyskytnout. Zaslané hodnoty a graf samozřejmě uvádíme pro možnost interního hodnocení výsledků a diskusi s vašimi manažery kvality.

Koliformní bakterie dle ČSN EN ISO 9308-2

Jedná se o stanovení koliformních bakterií metodou nepravděpodobnějšího počtu, podle původního, dnes již prošlého patentu Colilert® 18 - Quanti Tray (IDEXX). Výsledek se udává jako „nejpravděpodobnější počet“ koliformních bakterií (MPN). Ukazatel stanovovalo 5 účastníků, všichni účastníci uspěli. Vztažná hodnota byla vypočtena jako robustní průměr z údajů všech účastníků. K hodnocení výsledků bylo použito Poissonovo rozdělení, které lépe vystihovalo charakter souboru.

Termotolerantní koliformní bakterie

Ukazatel stanovovalo 10 účastníků, všichni účastníci uspěli. Sedm účastníků dosáhlo nulový výsledek v 10 ml, tři účastníci detekovali 1 KTJ/10 ml, což je v souladu s výsledky našich kontrolních vyšetření. Dle tab. B4 normy ČSN EN ISO 8199 (2019) je konfidenční interval (95 %) pro stanovení nízkých počtů (1?) 1 až 6, chyba vyjádřená pro tuto mez je – 97 % až 457 %.

***E. coli* dle ČSN EN ISO 9308-1**

Jedná se o stanovení *E. coli* na Chromogenic Coliform agaru (dále CCA). Ukazatel stanovovalo 11 účastníků, 10 účastníků uspělo. K hodnocení výsledků bylo použito Poissonovo rozdělení, které lépe vystihovalo charakter souboru, konfidenční meze byly stanoveny v souladu s tab. B4 normy ČSN EN ISO 8199 (2019) na 0-6 KTJ/10 ml. I pro tento ukazatel (stejně jako pro koliformní bakterie stanovené touto metodou platí, že se jedná o problematické stanovení, v nedezinfikovaných vodách významně ovlivněné doprovodnou mikroflórou). V letošním netypickém vzorku (viz kapitola koliformní bakterie dle ČSN EN ISO 9308-1) rostly na filtrech i ne zcela typické světle modré kolonie, které však *E. coli* nejsou (jedná se sice o β -D-glukuronidáza pozitivní, ale β -D-galaktozidáza negativní kmeny různých rodů).

***E. coli* dle ČSN EN ISO 9308-2**

Jedná se o stanovení *E. coli* metodou nepravděpodobnějšího počtu, podle původního, dnes již prošlého patentu Colilert® 18 - Quanti Tray (IDEXX). Výsledek se udává jako „nejpravděpodobnější počet“ *E. coli* bakterií (MPN). Ukazatel stanovovalo 5 účastníků, všichni účastníci uspěli. Všech 5 účastníků dosáhlo výsledek 1 MPN v 10 ml, což je v souladu s výsledky našich kontrolních vyšetření. Dle tab. B4 normy ČSN EN ISO 8199 (2019) je konfidenční interval (95 %) pro stanovení nízkých počtů (1) 1 až 6, chyba vyjádřená pro tuto mez je – 97 % až 457 %.

***E. coli* dle ČSN 757835**

Jedná se o málo citlivou, zato vysoce selektivní metodu stanovení *E. coli* „mezi termotolerantními koliformními bakteriemi“. Ukazatel stanovovalo 9 účastníků, všichni účastníci uspěli. Osm účastníků dosáhlo nulový výsledek v 10 ml, jeden účastník detekoval 1 KTJ/10 ml, což je v souladu s výsledky našich kontrolních vyšetření. Dle tab. B4 normy ČSN EN ISO 8199 (2019) je konfidenční interval (95 %) pro stanovení nízkých počtů (1) 1 až 6, chyba vyjádřená pro tuto mez je 97 % až 457 %.

Intestinální enterokoky

Ukazatel stanovovalo 18 účastníků, všichni účastníci uspěli. Vztažná hodnota byla vypočtena jako robustní průměr z údajů všech účastníků. K hodnocení výsledků bylo použito Poissonovo rozdělení, které lépe vystihovalo charakter souboru. Typ média Slanetze Bartleyové (SB) (výrobce apod.) nebyl při hodnocení zohledňován zejména proto, že ne všichni účastníci tento údaj uvedli.

***Clostridium perfringens* dle ČSN EN ISO 14189**

Ukazatel stanovovalo 8 účastníků, všichni účastníci uspěli. Vztažná hodnota byla vypočtena jako robustní průměr z údajů všech účastníků.

***Clostridium perfringens* dle příl. 6 (1) vyhl. MZd. č. 252/2004 Sb.**

Ukazatel stanovovalo 5 účastníků, 4 účastníci uspěli. Vztažná hodnota byla vypočtena jako robustní průměr z údajů všech účastníků. K hodnocení výsledků bylo použito Poissonovo rozdělení, které lépe vystihovalo charakter souboru.

Neočekává se, že by tato metoda byla vzhledem k revizi Směrnice o pitné vodě nadále součástí české legislativy, a i ve zkouškách způsobilosti brzy zmizí.

Siřičitany redukující anaeroby (klostridia)

V letošním roce došlo k mimořádné situaci, protože tento ukazatel stanovil pouze 1 účastník, nebylo tedy možné stanovit vztažnou hodnotu a interval správných hodnot. Pro možnost interního hodnocení výsledků a diskusi s vašimi manažery kvality je možné využít výsledky laboratoře SZÚ uvedené v tabulce 1.

Legionella spp.

Ukazatel stanovovaly 4 účastníci, všichni účastníci uspěli. Tři účastníci dosáhli nulový výsledek v 10 ml, jeden účastník detekoval 1 KTJ/10 ml, což je v souladu s výsledky našich kontrolních vyšetření. Dle tab. B4 normy ČSN EN ISO 8199 (2019) je konfidenční interval (95 %) pro stanovení nízkých počtů (1) 1 až 6, chyba vyjádřená pro tuto mez – 97 % až 457 %. Počty legionel v teplé vodě mohou kolísat i mezi jednotlivými odběry, což se tentokrát stalo (v kontrolních odběrech týden před tímto PT byly dosaženy v tomto odběrovém místě hodnoty *Legionella pneumophila* 300 KTJ v 10 ml, nicméně v období před PT začala příprava na přechod „vypínání“ teplé vody o víkendech, a tak mohlo dojít k nějakému provoznímu zásahu).

Pseudomonas aeruginosa

Ukazatel stanovovalo 6 účastníků, všichni účastníci uspěli. Vztažná hodnota byla vypočtena jako robustní průměr z údajů všech účastníků.

Staphylococcus aureus

Ukazatel stanovovalo 5 účastníků, všichni účastníci uspěli. Vztažná hodnota byla vypočtena jako robustní průměr z údajů všech účastníků.

Poznámka:

Podrobné hodnocení metod stanovení všech ukazatelů bude součástí prezentace na semináři k vyhodnocení toho PT.

Tabulka 3: Z-score pro počty kolonií při 22 °C

V	lab	výsledek (KTJ/10ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	1281	39.0	-0.88					█				
X	741	40.0	-0.78				█					
X	936	40.0	-0.78				█					
X	768	41.0	-0.68				█					
X	960	42.0	-0.58				█					
X	442	44.0	-0.38				█					
X	502	47.0	-0.08				█					
X	967	48.0	0.02					█				
X	1255	48.0	0.02					█				
X	1305	48.0	0.02					█				
X	1071	50.0	0.22					█				
X	641	60.0	1.22					█	█			
X	526	62.0	1.41					█	█	█		
X	1326	65.0	1.71					█	█	█	█	

počet laboratoří: 14
z toho vyhovuje: 14
z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 47,8 KTJ/10ml
vztažná odchylka: ±42%
interval správných hodnot: 27,8 - 67,8 KTJ/10ml

nejistota vztažné hodnoty: 2,94 KTJ/10ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka 4: Z-score pro počty kolonií při 36 °C

V	lab	výsledek (KTJ/10ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	502	4.0	-1.32				█					
X	1305	5.0	-1.15				█					
X	1255	7.0	-0.79				█					
X	936	8.0	-0.61				█					
X	741	10.0	-0.25				█					
X	1281	10.0	-0.25				█					
X	960	11.0	-0.07				█					
X	442	12.0	0.11					█				
X	1071	12.0	0.11					█				
X	768	13.0	0.29					█				
X	641	15.0	0.64					█	█			
X	1326	16.0	0.82					█	█			
X	526	17.0	1.00					█	█	█		
X	967	19.0	1.36					█	█	█	█	

počet laboratoří: 14
z toho vyhovuje: 14
z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 11,4 KTJ/10ml
vztažná odchylka: ±98%
interval správných hodnot: 0,3 - 22,5 KTJ/10ml

nejistota vztažné hodnoty: 1,67 KTJ/10ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka 5: Z-score pro koliformní bakterie podle ČSN 757837

V	lab	výsledek (KTJ/10ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	442	3.0	-1.56				█					
X	526	3.0	-1.56				█					
X	502	6.0	-0.22				█					
X	960	8.0	0.67					█				
X	1326	9.0	1.11					█	█			
X	1305	10.0	1.56					█	█	█		

počet laboratoří: 6
z toho vyhovuje: 6
z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 6,5 KTJ/10ml
vztažná odchylka: POISSON
interval správných hodnot: 2 - 11 KTJ/10ml

nejistota vztažné hodnoty: - KTJ/10ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka 6: Z-score pro koliformní bakterie podle ČSN EN ISO 9308-1

V	lab	výsledek (KTJ/10ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	502	3.0	-0.78									
X	442	5.0	-0.68									
X	641	5.0	-0.68									
X	1326	5.0	-0.68									
X	936	9.0	-0.48									
X	741	15.0	-0.17									
X	526	24.0	0.28									
X	1071	30.0	0.59									
X	967	32.0	0.69									
X	768	37.0	0.94									
?	960	65.0	2.36									

vztažná hodnota: 18,4 KTJ/10ml
vztažná odchylka: $\pm 215\%$

Tabulka 7: Z-score pro koliformní bakterie podle ČSN EN ISO 9308-2

V	lab	výsledek (KTJ/10ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	1255	4.2	-1.12									
X	1281	5,2	-0,72									
X	442	7,0	0,00									
X	1326	7,5	0,06									
X	1305	11,0	0,47									

počet laboratoří: 5
z toho vyhovuje: 5
z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 7 KTJ/10ml
vztažná odchylka: POISSON
interval správných hodnot: 2 - 12 KTJ/10ml

nejistota vztažné hodnoty: - KTJ/10ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka 8: Z-score pro *Escherichia coli* podle ČSN EN ISO 9308-1

V	lab	výsledek (KTJ/10ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	641	0.0	-2.00									
X	741	0.0	-2.00									
X	936	0.0	-2.00									
X	442	1.0	-0.57									
X	502	1.0	-0.57									
X	768	1.0	-0.57									
X	1326	1.0	-0.57									
X	1071	2.0	0.26									
X	526	4.0	1.13									
X	967	4.0	1.13									
!	960	9.0	5.85									

počet laboratoří: 11
z toho vyhovuje: 10
z toho nevyhovuje: 1

vztažná hodnota: 1,4 KTJ/10ml
vztažná odchylka: POISSON KTJ/10ml
interval správných hodnot: 0 - 6 KTJ/10ml

nejistota vztažné hodnoty: - KTJ/10ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka 9 : Z-score pro intestinální enterokoky

V	lab	výsledek (KTJ/10ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	526	6.0	-1.18				█					
X	768	6.0	-1.18				█					
X	333	8.0	-0.37				█					
X	442	8.0	-0.37				█					
X	936	8.0	-0.37				█					
X	967	8.0	-0.37				█					
X	1071	8.0	-0.37				█					
X	1305	8.0	-0.37				█					
X	1326	8.0	-0.37				█					
X	641	9.0	0.04					█				
X	1281	9.0	0.04					█				
X	314	10.0	0.43					█				
X	502	10.0	0.43					█				
X	741	10.0	0.43					█				
X	975	11.0	0.82					█				
X	1255	11.0	0.82					█				
X	960	12.0	1.22					█				
X	313	13.0	1.61					█				

počet laboratoří: 18

z toho vyhovuje: 18

z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 8,9 KTJ/10ml

vztažná odchylka: POISSON

interval správných hodnot: 4 - 14 KTJ/10ml

nejistota vztažné hodnoty: - KTJ/10ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka 10: Z-score pro *Clostridium perfringens* podle ČSN EN ISO 14189

V	lab	výsledek (KTJ/10ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	1326	19.0	-0.95				█					
X	936	21.0	-0.71				█					
X	442	22.0	-0.59				█					
X	333	28.0	0.15					█				
X	768	29.0	0.27					█				
X	975	30.0	0.39					█				
X	313	32.0	0.64					█				
X	314	32.0	0.64					█				

počet laboratoří: 8

z toho vyhovuje: 8

z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 26,8 KTJ/10ml

vztažná odchylka: ±61%

interval správných hodnot: 10,5 - 43,1 KTJ/10ml

nejistota vztažné hodnoty: 2,43 KTJ/10ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka 11: Z-score pro *Clostridium perfringens* podle příl. 6(1) vyhl. MZd. č. 252/2004 Sb.

V	lab	výsledek (KTJ/10ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
?	502	5.0	-2.32			█						
X	960	9.0	-1.05			█						
X	442	13.0	0.21				█					
X	936	13.0	0.21				█					
X	741	14.0	0.51					█				

počet laboratoří: 5

z toho vyhovuje: 4

z toho nevyhovuje: 1

vztažná hodnota: 12,3 KTJ/10ml

vztažná odchylka: POISSON

interval správných hodnot: 6 - 19 KTJ/10ml

nejistota vztažné hodnoty: - KTJ/10ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka 12: Z-score pro *Pseudomonas aeruginosa*

V	lab	výsledek (KTJ/10ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	960	89.0	-1.96									
X	641	100.0	-1.93									
X	526	700.0	-0.02									
X	936	800.0	0.29									
X	741	800.0	0.29									
X	716	910.0	0.64									

počet laboratoří: 6

z toho vyhovuje: 6

z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 707,2 KTJ/10ml

vztažná odchylka: ±89%

interval správných hodnot: 77,8 - 1336,6 KTJ/10ml

nejistota vztažné hodnoty: 93,69 KTJ/10ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka 13: Z-score pro *Staphylococcus aureus*

V	lab	výsledek (KTJ/10ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	741	650.0	-0.62									
X	960	682.0	-0.25									
X	936	700.0	-0.05									
X	716	740.0	0.40									
X	526	750.0	0.52									

počet laboratoří: 5

z toho vyhovuje: 5

z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 704,4 KTJ/10ml

vztažná odchylka: ±25%

interval správných hodnot: 528,3 - 880,5 KTJ/10ml

nejistota vztažné hodnoty: 26,22 KTJ/10ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka 14: Soupis úspěšnosti účastníků

ukazatel	313	314	333	442	502	526	641	716	741	768	936	960	967	975	1071	1255	1281	1305	1326
počty kolonií při 22°C	X	X	X					X						X					
počty kolonií při 36°C	X	X	X					X						X					
koliformní bakterie podle ČSN 757837	X	X	X				X	X	X	X	X		X	X	X	X	X		
koliformní bakterie podle ČSN EN ISO 9308-1	nehodnoceno																		
koliformní bakterie podle ČSN EN ISO 9308-2	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X				
termotolerantní koliformní bakterie	X	X	X				X	X			X		X	X	X				
<i>Escherichia coli</i> podle ČSN EN ISO 9308-1	X	X	X					X						X		X	X	X	
<i>Escherichia coli</i> podle ČSN EN ISO 9308-2	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X				
<i>Escherichia coli</i> podle ČSN 757835	X	X	X				X	X	X		X		X	X	X				
intestinální enterokoky								X											
<i>Clostridium perfringens</i> podle ČSN EN ISO 14189					X	X	X	X	X			X	X		X	X	X	X	
<i>Clostridium perfringens</i> podle vyhl. č. 252/2004 Sb.	X	X	X			X	X	X		X			X	X	X	X	X	X	X
siřičitany redukující anaeroby (klostridia)	nehodnoceno																		
<i>Legionella</i> spp.	X	X	X	X	X		X	X		X			X	X	X	X	X	X	X
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	X	X	X	X	X					X				X	X	X	X	X	X
<i>Staphylococcus aureus</i>	X	X	X	X	X		X			X			X	X	X	X	X	X	X
Legenda																			
	z-score $ z \leq 2$																		
	z-score $2 < z \leq 3$																		
	z-score $ z > 3$																		
	+																		
	-																		
	X																		
	neúčast / výsledek nedodán																		

KONEC ZPRÁVY