



Státní zdravotní ústav
Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti
POSKYTOVATEL ZKOUŠENÍ ZPŮSOBILOSTI Č. 7001 AKREDITOVANÝ ČIA
PODLE ČSN EN ISO/IEC 17043:2010
Šrobárova 48/49, 100 00 Praha 10 – Vinohrady



Závěrečná zpráva

Program zkoušení způsobilosti laboratoří

PT # V / 3 / 2024

Mikrobiologický rozbor vody

Praha, červen 2024

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
3.2.	Nejistoty stanovení	6
3.3.	Výsledky jednotlivých ukazatelů	7
	Komentáře k jednotlivým ukazatelům.....	7
	Tabulka 3: Z-score pro počty kolonií při 22 °C.....	10
	Tabulka 4: Z-score pro počty kolonií při 36 °C.....	10
	Tabulka 5: Z-score pro koliformní bakterie podle ČSN 757837	11
	Tabulka 6: Z-score pro koliformní bakterie podle ČSN EN ISO 9308-1	11
	Tabulka 7: Z-score pro koliformní bakterie podle ČSN EN ISO 9308-2.....	12
	Tabulka 8: Z-score pro <i>Escherichia coli</i> podle ČSN EN ISO 9308-1	12
	Tabulka 9: Z-score pro <i>Escherichia coli</i> podle ČSN EN ISO 9308-2	12
	Tabulka 10: Z-score pro <i>Escherichia coli</i> podle ČSN 757835	12
	Tabulka 11: Z-score pro termotolerantní koliformní bakterie.....	14
	Tabulka 12 : Z-score pro intestinální enterokoky	13
	Tabulka 13: Z-score pro <i>Clostridium perfringens</i> podle ČSN EN ISO 14189	14
	Tabulka 14: Z-score pro <i>Clostridium perfringens</i> podle příl. 6(1) vyhl. MZd. č. 252/2004 Sb. (v původním znění)	14
	Tabulka 15: Z-score pro siřičitany redukující anaeroby	14
	Tabulka 16: Z-score pro <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15
	Tabulka 17: Z-score pro <i>Staphylococcus aureus</i>	15
	Tabulka 18: Z-score pro <i>Legionella</i> spp.	16
	Tabulka 19: Soupis úspěšnosti účastníků	16

Program zkoušení způsobilosti PT#V/3/2024 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., Mgr. Petra Klusoňová, Ph.D a Mgr. Petr Pumann

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

Datum vydání zprávy: 13.6.2024

Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT#V/3/2024

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 podzemní 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/3/2024 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.
Počet účastníků: 24; pouze 23 dodali výsledky
Způsob distribuce: 15.4.2024 Osobní převzetí vzorku jednotlivými účastníky spolu s pokyny k provedení PT/V#3/2024 – 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 2.5.2024
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.
Termín předání zprávy účastníkům: červen 2024
Termín semináře: 14.6.2024

1. Úvod

Cílem zkoušení způsobilosti v roce 2024 (PT#V/3/2024 - Mikrobiologický rozbor vody) bylo stanovení mikrobiologických ukazatelů standardizovanými metodami na koncentrační úrovni vhodné pro většinu matric z oblasti kontroly jakosti vody (pitná, podzemní, 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. v původním znění
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, případně ČSN EN ISO 16266-2
16. Stanovení *Staphylococcus aureus* dle ČSN EN ISO 6888-1

Vzorky ke zkoušení způsobilosti v letošním roce odebralo celkem 24 laboratoří. Výsledky dodaly pouze 23 laboratoře. 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/3/2024 – 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

V půlce března a byl pracovníky SZÚ proveden poslední průzkum mikrobiologické kvality potenciálních zdrojů vody pro účely PT#V/3/2024 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 bylo doporučeno i desetinásobné ředění).

Vzorek byl 14.4.2024 odebrán odtočením do sterilní 10 litrové nádoby a ihned převezen do SZÚ. Zde byl a za stálého míchání ihned rozplněn do 30 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/3/2024 byly dne 15.4.2024 předány v náhodném pořadí.

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

V březnu a začátkem dubna byl pracovníky SZÚ proveden poslední průzkum mikrobiologické kvality potenciálních zdrojů vody pro účely PT#V/3/2024 a jako nejvhodnější byl nakonec vybrán profil Vltava – Sedlec (dlouhodobě sledovaný zdroj).

Vzorek byl 14.4.2024 za dodržení platných pravidel pro vzorkování do sterilní 10 litrové nádoby (Sedlec) 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 30 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/3/2024 byly dne 15.4.2024 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/3/2024 a jako nejvhodnější byl nakonec vybrán profil Vltava – Sedlec (dlouhodobě sledovaný zdroj).

Vzorek byl 14.4.2024 za dodržení platných pravidel pro vzor při dodržení sterilních podmínek a za stálého míchání ihned rozplněn do 30 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/3/2024 byly dne 15.4.2024 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 biokoupališť a identifikované metodou MALDI-TOF) byly 24 hodin při (36 ±2)°C kultivovány 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 aseptických podmínek a za stálého míchání ihned rozplněn do 15 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/3/2024 byly dne 15.4.2024 předány v náhodném pořadí.

Vzorek E Speciální rozbor II: *Legionella* spp.

Během předjaří 2024 bylo pracovníky SZÚ provedeno opakované ověření potenciálních zdrojů vody pro účely PT#V/3/2024, což je teplá užitková voda (SZÚ, místnost 111 a panelákový dům na Praze 10). Jedná se o dlouhodobě sledované zdroje.

Vzorek byl odebrán jak v místnosti 111 v SZÚ, tak z kuchyňské bakterie z panelového domu v Praze 10 (8. patro) po minutovém odtočení do sterilních 3 litrových nádob. Po zchlazení na laboratorní teplotu byla ověřena absence volného chloru a vzorky byly smíchány a při dodržení sterilních a za stálého míchání ihned rozplněny do 15 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/3/2024 byly dne 15.4.2024 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	1183	7 %
Počty kolonií při 36 °C dle ČSN EN ISO 6222	KTJ/ml	70	5 %
Koliformní bakterie dle ČSN 757837	KTJ/10 ml	290	9 %
Koliformní bakterie dle ČSN EN ISO 9308-1	KTJ/10 ml	358	11 %
Koliformní bakterie dle ČSN EN ISO 9308-2	MPN/10 ml	355	15 %
<i>Escherichia coli</i> dle ČSN EN ISO 9308-1	KTJ/10 ml	62	8 %
<i>Escherichia coli</i> dle ČSN EN ISO 9308-2	MPN /10 ml	44	10 %
<i>Escherichia coli</i> dle ČSN 757835	KTJ/10 ml	36	15 %
Termotolerantní koliformní bakterie dle ČSN 757835	KTJ/10 ml	49	13 %
Intestinální enterokoky dle ČSN EN ISO 7899-2	KTJ/10 ml	11	36 %
<i>Clostridium perfringens</i> dle ČSN EN ISO 14189	KTJ/10 ml	33	5 %
<i>Clostridium perfringens</i> dle příl. 6(1), vyhl. MZd. č. 252/2004 Sb.	KTJ/10 ml	16	0 %
Siřičitany redukující anaeroby (klostridia) dle ČSN EN 26461-2	KTJ/10 ml	300	7 %
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> dle ČSN EN ISO 16266	KTJ/10 ml	32	40 %
<i>Staphylococcus aureus</i> dle ČSN EN ISO 6888-1	KTJ/10 ml	30	40 %
<i>Legionella</i> spp. dle ČSN EN ISO 11713	KTJ/10 ml	257	16 %

Vzhledem k tomu, že mikrobiologický vzorek je svojí podstatou (charakterem) nestabilní, kontrolní analýzy v SZÚ byly zahájeny v souladu s instrukcemi pro účastníky dne 16.4.2024 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. 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.

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 20 účastníků tj. 87 %. Je také nutno připustit, že na protokolu nebylo uvedeno hodnocení výsledku resp. porovnání s limitem. V letošním roce se ale také prakticky nevyskytovaly výsledky pod mezí stanovitelnosti. Všechny laboratoře uváděly alespoň ve většině ukazatelů relativní nejistotu (v %), i když v některých případech znak % chyběl, bylo to patrné. Kombinaci obou uvedly tři laboratoře. Rozmezí všech uvedených relativních nejistot bylo 15 – 67 %. Ale nutno konstatovat, že nejistoty v mikrobiologii vody pod 20 % jsou nerealistické a neodpovídají rozložení mikroorganismů (částic) ve vzorku. V jenom případě byla uvedena i nejistota stanovení 150 %, ale to bylo vztaženo k hodnotě 2 KTJ, tudíž zcela na místě.

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 (zaokrouhleno na celá čísla)

Ukazatel	Jednotky	Vztažná hodnota	Vztažná odchylka	Interval správných hodnot
Počty kolonií při 22 °C dle ČSN EN ISO 6222	KTJ/ml	824	192	440-1208
Počty kolonií při 36 °C dle ČSN EN ISO 6222	KTJ/ml	75	77 %	17 - 132
Koliformní bakterie dle ČSN 757837	KTJ/10 ml	259	73	113 - 404
Koliformní bakterie dle ČSN EN ISO 9308-1	KTJ/10 ml	278	45 %	153-403
Koliformní bakterie dle ČSN EN ISO 9308-2	MPN/10 ml	326	30 %	228-423
<i>Escherichia coli</i> dle ČSN EN ISO 9308-1	KTJ/10 ml	40	6,9	27-54
<i>Escherichia coli</i> dle ČSN EN ISO 9308-2	MPN/10 ml	48	9,9	28-68
<i>Escherichia coli</i> dle ČSN 757835	KTJ/10 ml	32	10	11-52
Termotolerantní koliformní bakterie dle ČSN 757835	KTJ/10 ml	64	25	15-114
Intestinální enterokoky dle ČSN EN ISO 7899-2	KTJ/10 ml	12	1,8	8-15
<i>Clostridium perfringens</i> ČSN EN ISO 14189	KTJ/10 ml	24	50 %	12-36
<i>Clostridium perfringens</i> dle příl. 6(1) vyhl. MZd. č. 252/2004 Sb. v původním znění	KTJ/10 ml	15	6	3-28
Sířičitany redukující anaeroby (klostridia) dle ČSN EN 26461-2	KTJ/10 ml	55	98,4	<i>Nehodnoceno</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> dle ČSN EN ISO 16266	KTJ/10 ml	76	40 %	46-106
<i>Staphylococcus aureus</i> dle ČSN EN ISO 6888-1	KTJ/10 ml	39	14	12 - 66
<i>Legionella</i> spp. dle ČSN EN ISO 11713	KTJ/10 ml	231	35 %	150-312

Komentáře k jednotlivým ukazatelům

Počet kolonií při 22 °C

Ukazatel stanovovalo 20 účastníků, 16 účastníků uspělo. Vztažná hodnota byla vypočtena jako robustní průměr z údajů všech účastníků. Jeden účastník (1281) své výsledky stanovení počtů kolonií při 22°C stáhl, protože ve vzorku našel zbytek sterilního papírku, který byl při plnění nevhodně odebrán, a který mohl dle jejich názoru výsledky stanovení ovlivnit. To bohužel nelze potvrdit, ale ani zcela vyvrátit.

Počet kolonií při 36 °C

Ukazatel stanovovalo 20 účastníků, 19 účastníků uspělo. Vztažná hodnota byla vypočtena jako robustní průměr z údajů všech účastníků. Jeden účastník (1281) své výsledky stanovení počtů kolonií při 22°C stáhl, protože ve vzorku našel zbytek sterilního papírku, který byl při plnění nevhodně odebrán, a který mohl dle jejich názoru výsledky stanovení ovlivnit.

Koliformní bakterie dle ČSN 75 7837

Ukazatel stanovovalo 9 účastníků, všichni účastníci uspěli. Vztažná hodnota byla vypočtena jako robustní průměr z údajů všech účastníků.

Koliformní bakterie dle ČSN EN ISO 9308-1

Ukazatel stanovovalo 18 účastníků, 17 účastníků uspělo. Vztažná hodnota byla vypočtena jako robustní průměr z údajů všech účastníků.

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 7 účastníků, všichni účastníci uspěli. Vztažná hodnota byla vypočtena jako robustní průměr z údajů všech účastníků. Tři laboratoře (1255, 1305 a 1350) uvedly výsledky získané metodou Colikat Rapid (Xebios), jejíž médium má stejné složení jako uváděný Colilert 18. Výsledky získané ani s jedním činidlem významně nevybočovaly a byly tak zpracovány dohromady (obě činidla totiž splňují požadavky normy ČSN EN ISO 9308-2).

Termotolerantní koliformní bakterie

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

***E. coli* dle ČSN EN ISO 9308-1**

Ukazatel stanovovalo 18 účastníků, 17 účastníků uspělo. Vztažná hodnota byla vypočtena jako robustní průměr z údajů všech účastníků.

***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 7 účastníků, všichni účastníci uspěli. Tři laboratoře (1255, 1305 a 1350) uvedly výsledky získané metodou Colikat Rapid (Xebios), jejíž médium má stejné složení jako uváděný Colilert 18. Výsledky získané ani s jedním činidlem se významně nelišily a byly tak zpracovány dohromady (obě činidla totiž splňují požadavky normy ČSN EN ISO 9308-2).

***E. coli* dle ČSN 757835**

Jedná se o málo citlivou, zato vysoce selektivní metodu stanovení *E. coli* „mezi termotolerantními koliformními bakteriemi“. Ukazatel stanovovalo 13 účastníků, 11 účastníků uspělo. Vztažná hodnota byla vypočtena jako robustní průměr z údajů všech účastníků.

Intestinální enterokoky

Ukazatel stanovovalo 22 účastníků, 21 účastníků uspělo. Vztažná hodnota byla vypočtena jako robustní průměr z údajů všech účastníků.

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

Ukazatel stanovovalo pouze 5 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. v původním znění**

Ukazatel stanovovalo 7 účastníků, všichni účastníci uspěli. Vztažná hodnota byla vypočtena jako robustní průměr z údajů všech účastníků. Tato metoda již není vodě nadále součástí české legislativy, a i ve zkouškách způsobilosti brzy zmizí.

Siřičitany redukující anaeroby (klostridia)

Ukazatel stanovovaly pouze 3 účastníci a vzhledem k neúměrně vysokému rozptylu výsledků (variační koeficient 32 %) a širokému rozmezí „správných hodnot“ (-141,8 – 251,8 KTJ/10 ml), nelze výsledky tohoto ukazatele zodpovědně hodnotit a vydat na „správné výsledky“ certifikát. Výsledky jsou graficky znázorněny v tabulce 15. Na základě výsledků homogenity (viz tabulka 1) a skutečnosti, že vztažná hodnota *C. perfringens* dle ČSN EN ISO 14189 (shodný základ média s přidavkem cykloserinu, inkubace při vyšší teplotě 44°C) je 24 KTJ/10 ml, lze z odborného hlediska dvě nižší hodnoty považovat za přinejmenším podezřelé. Laboratoře by si určitě měly ověřit schopnost redukce siřičitanů u podezřelých (velmi slabě reagujících) kolonií.

***Legionella* spp.**

Ukazatel stanovovalo 7 účastníků, všichni účastníci uspěli. Vztažná hodnota byla vypočtena jako robustní průměr z údajů všech účastníků.

Pseudomonas aeruginosa

Ukazatel stanovovalo 10 účastníků, 8 účastníků uspělo. Vztažná hodnota byla vypočtena jako robustní průměr z údajů všech účastníků. Stanovení *P. aeruginosa* alternativní metodou dle ČSN EN ISO 16266-2 (Pseudalert, IDEXX) neprovedl žádný účastník. Průměr našich získaných hodnot byl 49 MPN/100 ml (n=3).

Staphylococcus aureus

Ukazatel stanovovalo 8 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/ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
?	1255	250.0	-2.99									
X	855	585.0	-1.24									
X	340	610.0	-1.11									
X	641	650.0	-0.91									
X	810	650.0	-0.91									
X	526	720.0	-0.54									
X	1173	730.0	-0.49									
X	716	739.0	-0.44									
X	960	795.0	-0.15									
X	502	834.0	0.05									
X	1337	845.0	0.11									
X	967	850.0	0.14									
X	936	860.0	0.19									
X	741	880.0	0.29									
X	1305	920.0	0.50									
X	1071	960.0	0.71									
X	1326	960.0	0.71									
!	1350	1590.0	3.99									
!	889	1810.0	5.13									
!	992	3283.0	12.79									

počet laboratoří: 20

z toho vyhovuje: 16

z toho nevyhovuje: 4

vztažná hodnota: 824 KTJ/ml

vztažná odchylka: 192,2 KTJ/ml

interval správných hodnot: 439,6 - 1208,4 KTJ/ml

nejistota vztažné hodnoty: 53,72 KTJ/ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

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

V	lab	výsledek (KTJ/ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
?	641	12.0	-2.18									
X	889	30.0	-1.56									
X	526	52.0	-0.79									
X	741	52.0	-0.79									
X	1255	53.0	-0.76									
X	936	55.0	-0.69									
X	716	60.0	-0.51									
X	502	62.0	-0.44									
X	1305	62.0	-0.44									
X	1326	70.0	-0.17									
X	960	78.0	0.11									
X	1350	88.0	0.46									
X	810	90.0	0.53									
X	340	95.0	0.70									
X	855	94.0	0.67									
X	1337	94.0	0.67									
X	992	97.0	0.77									
X	1173	102.0	0.94									
X	967	110.0	1.22									
X	1071	132.0	1.99									

počet laboratoří: 20

z toho vyhovuje: 19

z toho nevyhovuje: 1

vztažná hodnota: 74,8 KTJ/ml

vztažná odchylka: ±77%

interval správných hodnot: 17,3 - 132,3 KTJ/ml

nejistota vztažné hodnoty: 7,97 KTJ/ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

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

V	lab	výsledek (KTJ/10 ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	855	162.0	-1.33									
X	502	190.0	-0.94									
X	960	204.0	-0.75									
X	1337	230.0	-0.39									
X	340	280.0	0.30									
X	992	280.0	0.30									
X	1305	300.0	0.57									
X	1326	310.0	0.71									
X	1350	364.0	1.45									

počet laboratoří: 9

z toho vyhovuje: 9

z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 258,5 KTJ/10 ml

vztažná odchylka: 72,8 KTJ/10 ml

interval správných hodnot: 112,9 - 404,1 KTJ/10 ml

nejistota vztažné hodnoty: 30,33 KTJ/10 ml

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	855	200.0	-1.25									
X	960	218.0	-0.96									
X	526	230.0	-0.77									
X	716	230.0	-0.77									
X	502	242.0	-0.58									
X	936	243.0	-0.56									
X	741	245.0	-0.53									
X	889	250.0	-0.45									
X	1337	260.0	-0.29									
X	810	280.0	0.03									
X	1173	280.0	0.03									
X	1326	280.0	0.03									
X	340	310.0	0.51									
X	967	310.0	0.51									
X	1071	350.0	1.15									
X	992	367.0	1.42									
X	641	399.0	1.93									
!	1350	470.0	3.07									

počet laboratoří: 18

z toho vyhovuje: 17

z toho nevyhovuje: 1

vztažná hodnota: 278,1 KTJ/10ml

vztažná odchylka: ±45%

interval správných hodnot: 153 - 403,2 KTJ/10ml

nejistota vztažné hodnoty: 17,35 KTJ/10ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

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

V	lab	výsledek (MPN/10 ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	1337	240.0	-1.76									
X	1281	291.0	-0.71									
X	1350	311.0	-0.30									
X	1255	320.0	-0.12									
X	1326	326.9	0.02									
X	992	345.0	0.39									
X	1305	410.6	1.73									

počet laboratoří: 7

z toho vyhovuje: 7

z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 325,86 MPN/10 ml

vztažná odchylka: ±30%

interval správných hodnot: 228,11 - 423,61 MPN/10 ml

nejistota vztažné hodnoty: 14,39 MPN/10 ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

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

V	lab	výsledek (KTJ/10 ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
?	641	20.0	-2.94									
X	855	32.0	-1.20									
X	992	32.0	-1.20									
X	1337	33.0	-1.06									
X	889	36.0	-0.62									
X	502	37.0	-0.48									
X	1173	37.0	-0.48									
X	1326	37.0	-0.48									
X	810	40.0	-0.04									
X	967	42.0	0.25									
X	936	43.0	0.39									
X	960	44.0	0.54									
X	741	45.0	0.68									
X	1071	45.0	0.68									
X	526	46.0	0.83									
X	716	46.0	0.83									
X	1350	49.0	1.26									
X	340	50.0	1.41									

počet laboratoří: 18

z toho vyhovuje: 17

z toho nevyhovuje: 1

vztažná hodnota: 40,3 KTJ/10 ml

vztažná odchylka: 6,9 KTJ/10 ml

interval správných hodnot: 26,5 - 54,1 KTJ/10 ml

nejistota vztažné hodnoty: 2,03 KTJ/10 ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka 9: Z-score pro *Escherichia coli* podle ČSN EN ISO 9308-2

V	lab	výsledek (MPN/10 ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	992	36.0	-1.20									
X	1326	41.5	-0.65									
X	1350	44.0	-0.39									
X	1337	47.0	-0.09									
X	1255	48.3	0.04									
X	1281	63.7	1.60									
X	1305	65.0	1.73									

počet laboratoří: 7

z toho vyhovuje: 7

z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 47,9 MPN/10 ml

vztažná odchylka: 9,89 MPN/10 ml

interval správných hodnot: 28,12 - 67,68 MPN/10 ml

nejistota vztažné hodnoty: 4,67 MPN/10 ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka 10: Z-score pro *Escherichia coli* podle ČSN 757835

V	lab	výsledek (KTJ/10ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
?	340	2.0	-2.92									
?	526	2.0	-2.92									
X	960	23.0	-0.84									
X	1326	29.0	-0.25									
X	855	31.0	-0.05									
X	1255	31.0	-0.05									
X	889	32.0	0.05									
X	1337	32.0	0.05									
X	992	33.0	0.15									
X	1350	39.0	0.74									
X	502	41.0	0.94									
X	1305	42.0	1.04									
X	1281	44.0	1.24									

počet laboratoří: 13

z toho vyhovuje: 11

z toho nevyhovuje: 2

vztažná hodnota: 31,5 KTJ/10ml

vztažná odchylka: 10,1 KTJ/10ml

interval správných hodnot: 11,3 - 51,7 KTJ/10ml

nejistota vztažné hodnoty: 3,5 KTJ/10ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka 11 : Z-score pro termotolerantní koliformní bakterie

V	lab	výsledek (KTJ/10 ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	526	33.0	-1.25									
X	960	36.0	-1.13									
X	1337	41.0	-0.93									
X	889	43.0	-0.85									
X	741	44.0	-0.81									
X	340	57.0	-0.28									
X	1255	65.0	0.04									
X	1350	71.0	0.29									
X	502	74.0	0.41									
X	1281	77.0	0.53									
X	997	80.0	0.65									
X	1305	83.0	0.77									
X	1326	90.0	1.06									
X	855	107.0	1.74									

počet laboratoří: 14 vztažná hodnota: 63,9 KTJ/10 ml nejistota vztažné hodnoty: 8,25 KTJ/10 ml
z toho vyhovuje: 14 vztažná odchylka: 24,7 KTJ/10 ml
z toho nevyhovuje: 0 interval správných hodnot: 14,5 - 113,3 KTJ/10 ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka 12 : Z-score pro intestinální enterokoky

V	lab	výsledek (KTJ/10 ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	992	8.0	-2.00									
X	340	9.0	-1.44									
X	1281	11.0	-0.33									
X	1326	11.0	-0.33									
X	641	12.0	0.22									
X	716	12.0	0.22									
X	810	12.0	0.22									
X	855	12.0	0.22									
X	936	12.0	0.22									
X	1071	12.0	0.22									
X	1173	12.0	0.22									
X	1255	12.0	0.22									
X	1305	12.0	0.22									
X	1337	12.0	0.22									
X	442	13.0	0.78									
X	741	13.0	0.78									
X	889	13.0	0.78									
X	967	13.0	0.78									
X	526	14.0	1.33									
X	1350	14.0	1.33									
X	502	15.0	1.89									
!	960	17.0	3.00									

počet laboratoří: 22 vztažná hodnota: 11,6 KTJ/10 ml nejistota vztažné hodnoty: 0,48 KTJ/10 ml
z toho vyhovuje: 21 vztažná odchylka: 1,8 KTJ/10 ml
z toho nevyhovuje: 1 interval správných hodnot: 8 - 15,2 KTJ/10 ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka 13: 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	14.0	-1.67									
X	1337	17.0	-1.17									
X	442	32.0	1.33									
X	936	32.0	1.33									
X	992	32.0	1.33									

počet laboratoří: 5

vztažná hodnota: 24 KTJ/10ml

nejistota vztažné hodnoty: 5,59 KTJ/10ml

z toho vyhovuje: 5

vztažná odchylka: ±50%

z toho nevyhovuje: 0

interval správných hodnot: 12 - 36 KTJ/10ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka 14: Z-score pro *Clostridium perfringens* podle příl. 6 (1) vyhl. MZd. č. 252/2004 Sb. (v původním znění)

V	lab	výsledek (KTJ/10ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	340	8.0	-1.18									
X	716	10.0	-0.85									
X	992	14.0	-0.18									
X	1337	14.0	-0.18									
X	1173	17.0	0.32									
X	960	20.0	0.82									
X	442	23.0	1.32									

počet laboratoří: 7

vztažná hodnota: 15,1 KTJ/10ml

nejistota vztažné hodnoty: 2,83 KTJ/10ml

z toho vyhovuje: 7

vztažná odchylka: 6 KTJ/10ml

z toho nevyhovuje: 0

interval správných hodnot: 3,1 - 27,1 KTJ/10ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka 15: Z-score pro siřičitany redukující anaeroby

V	lab	výsledek (KTJ/10 ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
0	716	10.0	-0.46									
0	992	27.0	-0.28									
0	1337	155.0	1.02									

vztažná hodnota: 55 KTJ/10 ml

vztažná odchylka: 98,4 KTJ/10ml

Tabulka 16: Z-score pro *Pseudomonas aeruginosa*

V	lab	výsledek (KTJ/10 ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
!	992	30.0	-3.03									
?	562	33.0	-2.83									
X	960	55.0	-1.38									
X	741	71.0	-0.33									
X	889	75.0	-0.07									
X	442	81.0	0.33									
X	526	81.0	0.33									
X	716	81.0	0.33									
X	936	81.0	0.33									
X	641	100.0	1.58									

počet laboratoří: 10
z toho vyhovuje: 8
z toho nevyhovuje: 2

vztažná hodnota: 76 KTJ/10 ml nejistota vztažné hodnoty: 3,48 KTJ/10 ml
vztažná odchylka: ±40%
interval správných hodnot: 45,6 - 106,4 KTJ/10 ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka 17: Z-score pro *Staphylococcus aureus*

V	lab	výsledek (KTJ/10ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	992	13.0	-1.91									
X	562	25.0	-1.02									
X	716	35.0	-0.28									
X	889	35.0	-0.28									
X	526	45.0	0.46									
X	741	47.0	0.61									
X	936	51.0	0.90									
X	442	52.0	0.98									

počet laboratoří: 8
z toho vyhovuje: 8
z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 38,8 KTJ/10ml nejistota vztažné hodnoty: 5,97 KTJ/10ml
vztažná odchylka: 13,5 KTJ/10ml
interval správných hodnot: 11,8 - 65,8 KTJ/10ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka 18: Z-score pro *Legionella* spp.

V	lab	výsledek (KTJ/10ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	562	155.0	-1.88									
X	442	192.0	-0.97									
X	992	207.0	-0.60									
X	741	238.0	0.17									
X	526	240.0	0.21									
X	936	240.0	0.21									
X	960	247.0	0.39									

počet laboratoří: 7
z toho vyhovuje: 7
z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 231,3 KTJ/10ml nejistota vztažné hodnoty: 6,8 KTJ/10ml
vztažná odchylka: ±35%
interval správných hodnot: 150,4 - 312,2 KTJ/10ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka 19: Soupis úspěšnosti účastníků

ukazatel	340	442	502	526	562	641	716	741	810	855	889	936	960	967	992	1071	1173	1255	1281	1305	1326	1337	1350	
počty kolonií při 22°C		X			X														X					
počty kolonií při 36°C		X			X														X					
koliformní bakterie podle ČSN 757837		X		X	X	X	X	X	X		X	X		X		X	X	X	X					
koliformní bakterie podle ČSN EN ISO 9308-1		X			X													X	X	X				
koliformní bakterie podle ČSN EN ISO 9308-2	X	X	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				
<i>Escherichia coli</i> podle ČSN EN ISO 9308-2	X	X	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	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	X			X
siřičitany redukující anaeroby (klostridia)		nelze hodnotit																						
<i>Legionella</i> spp.	X		X			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	X	X
<i>Staphylococcus aureus</i>	X		X			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$
+	vyhovuje
-	nevyhovuje
X	neúčast / výsledek nedodán

KONEC ZPRÁVY