

**Mikroskopické stanovení
fytoplanktonu/drobného
biosestonu v rutinních rozborech
podle legislativních předpisů**

Petr Pummann, Emil Janeček

Vodárenská biologie 2008
Praha, 29.-30.1.2008

Ročník 2004



SBÍRKA ZÁKONŮ

ČESKÁ REPUBLIKA

Částka 43

Rozeslána dne 30. března 2004

Cena Kč 35,-

OBSAH:

- 134. Vyhláška, kterou se mění vyhláška č. 35/2004 Sb., kterou se stanoví náležitosti, forma elektronické podoby a datové rozhraní protokolu o kontrole jakosti pitné vody a vody koupacích
- 135. Vyhláška, kterou se stanoví hygienické požadavky na koupaliště, sauny a hygienické limity plávu v pitkovitých venkovních hracích ploch

Předpis s požadavky na kvalitu vody obsahuje:

Je metoda vhodná pro zamýšlený cíl (požadavek předpisu)?

jak provést stanovení (většinou odkaz na metodickou normu)

Jsou vůbec požadavky na kvalitu smysluplně nastaveny?

Částka 43
Vyhláška č. 24 vyhláška č. 159/2004 Sb.

Limurní metody pro koupaliště ve volné přírodě se zvýšeným rizikem vzniku bakteriálního znečištění

| Ukazatel | Jednotka | II. stupeň | Četnost | Vysvětlivky |
|--|--------------------|-----------------------|----------|-------------|
| silnice | buřky/ml | - | 14 denní | 1 |
| | mm ³ /l | 2-10 | 14 denní | 1 |
| chlorofyl-a | µg/l | 16-50 | 14 denní | 1 |
| vizuální hodnocení mikrobiologický obraz | | obsl. květ přilíhnutí | 14 denní | 2 |
| | | | 14 denní | 3 |

Použití zkratk:
mm³/l - buřky

Vysvětlivky:
1. Stačí vyjádřit zahuštění 7717.
2. Hodnocení
3. Ukazatel péčovosti

jak hodnotit výsledky

Tvůrce předpisu (metodické normy, vyhlášky s požadavky na kvalitu vody)

Uživatel informuje tvůrce předpisu o zkušenostech (především negativních)

Předpis by měl umožnit uživateli přizpůsobit se aktuálním potřebám, aby nedocházelo k absurdním situacím

Uživatel předpisu

Uživatel metodického předpisu
= producent dat o kvalitě vody

Měl by poskytnout dostatek informací důležitých ke správnému hodnocení.

Při hodnocení by si měl být vědom úskalí, která provázejí mikroskopické rozbory.

Zadává práci a měl by si určit, co přesně chce.

Uživatel předpisu, který určuje požadavky na kvalitu vody = konzument dat o kvalitě vody

I.

**Analytické metody pro
stanovení fytoplanktonu /
drobného biosestonu**

Metodické normy

- ČSN EN 15204 (75 7718) – Jakost vod – Návod pro počítání fytoplanktonu za použití inverzní mikroskopie (metoda podle Utermöhla) - *duben 2007*
- ČSN 75 7712 Jakost vod – Biologický rozbor – Stanovení biosestonu - *květen 2005*
- TNV 75 7717 Jakost vod – Stanovení planktonních sinic - *duben 2004 (aktuálně revidováno a vyjde v 1.polovině 2008 jako ČSN)*

Metodické normy

- ČSN EN 15204 (75 7718) – Jakost vod – Návod pro počítání fytoplanktonu za použití inverzní mikroskopie (metoda podle Utermöhla) - *duben 2007*
 - ⇒ ČSN 75 7712 Jakost vod – Biologický rozbor – Stanovení biosestonu - *květen 2005*
 - ⇒ TNV 75 7717 Jakost vod – Stanovení planktonních sinic - *duben 2004 (aktuálně revidováno a vyjde v 1.polovině 2008 jako ČSN)*

Metodické problémy (1)

Analytik

- znalosti
- schopnosti



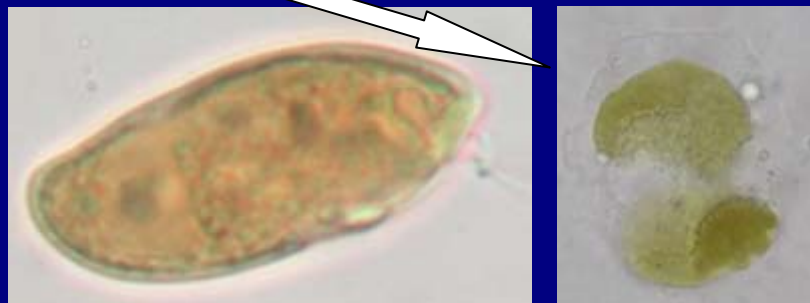
Detektor

Důsledek – značné rozdíly ve výsledcích (kvalitativních i kvantitativních) podle znalostí a schopností analytika

Metodické problémy (2)

Konzervace

- bez konzervace - poškození nebo rozpad citlivých organismů

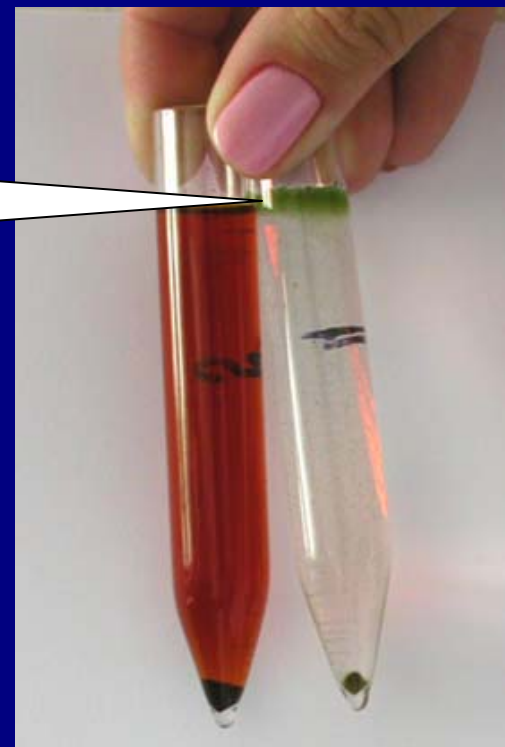


Důsledek – v mnoha případech bude zastoupení citlivých organismů podhodnoceno (v případě použití ČSN 75 7712)

Metodické problémy (3)

Zahuštění

- ztráty
- chyby při odměřování objemu

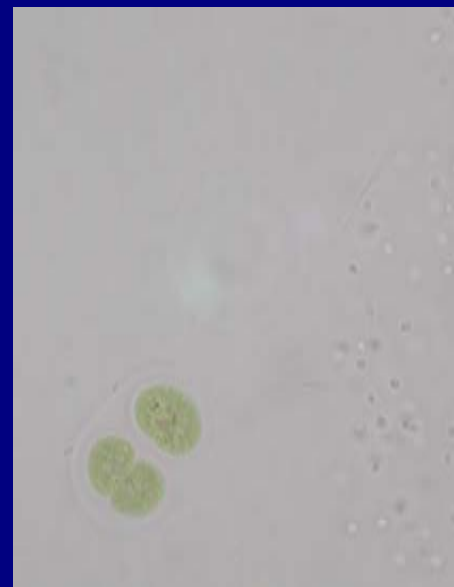
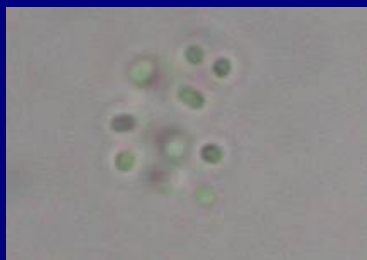


Důsledek – pokud se zahušťuje, budou výsledky méně přesné a v některých případech podhodnocené

Metodické problémy (4)

Velikost počítaných organismů

- drobné organismy bývají přehlíženy nebo významně podhodnoceny

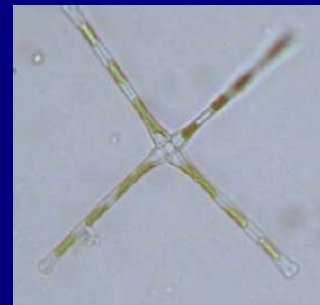
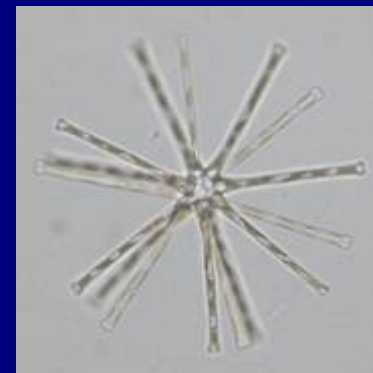


Důsledek – v případě výskytu drobných organismů budou výsledky podhodnocené

Metodické problémy (5)

Vyjadřování výsledků

- jednotky
 - jedinec („přirozený“)
 - jedinec (ve smyslu ČSN 75 7712)
 - buňka
 - objemová biomasa



Důsledek – v případech použití nevhodných jednotek bude výsledek nepoužitelný

Nejvhodnější metoda?

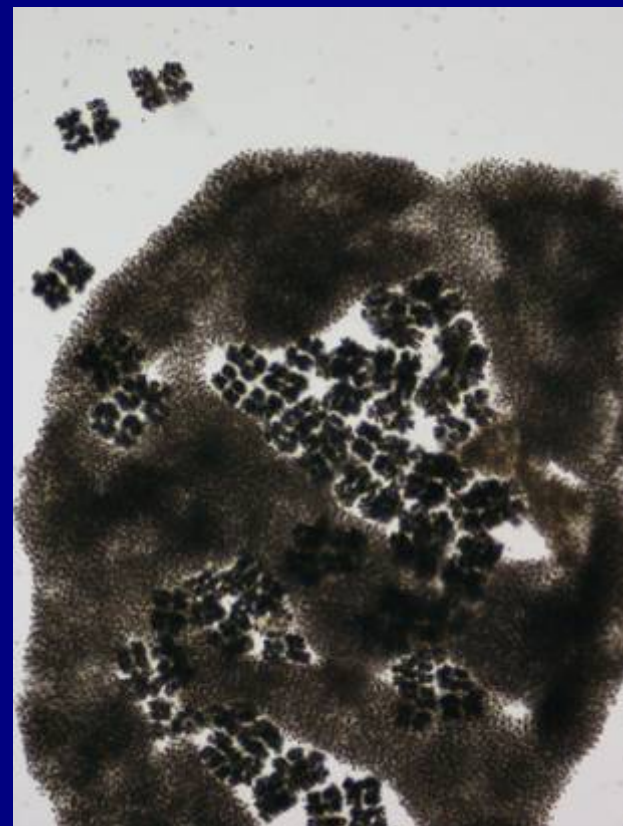
- co nejlevnější (nejméně náročná), ale
 - stále dostatečně **rychlá** pro požadovaný účel
 - stále dostatečně **přesná** pro požadovaný účel

II.

Stanovení fytoplanktonu / drobného biosestonu v předpisech pro hodnocení kvality vody

Přírodní koupací vody (1)

- pro posouzení rizik
z látek produkovaných
sinicemi
- zdroj informací o oživení
dalšími organismy
- původ případného zákalu
apod.



Přírodní koupací vody (2)

- vyhláška č. 135/2004 Sb.
- pro stanovení předepsána TNV 75 7717
- vyjadřování výsledků v buňkách nebo v objemové biomase (limity)

| taxon | rozměry buňky | buněk/ml | mm ³ /l |
|---------------------------------|------------------|----------|--------------------|
| <i>Microcystis aeruginosa</i> | Ø 5,76 µm | 100 000 | 10,0 |
| <i>Planktothrix agardhii</i> | d 5µm / š 4 µm | 100 000 | 6,3 |
| <i>Microcystis ichthyoblabe</i> | Ø 3,10 µm | 100 000 | 1,6 |
| <i>Pseudanabeana limnetica</i> | d 5µm / š 1,5 µm | 100 000 | 0,9 |

Jinolické rybníky – srpen 2007

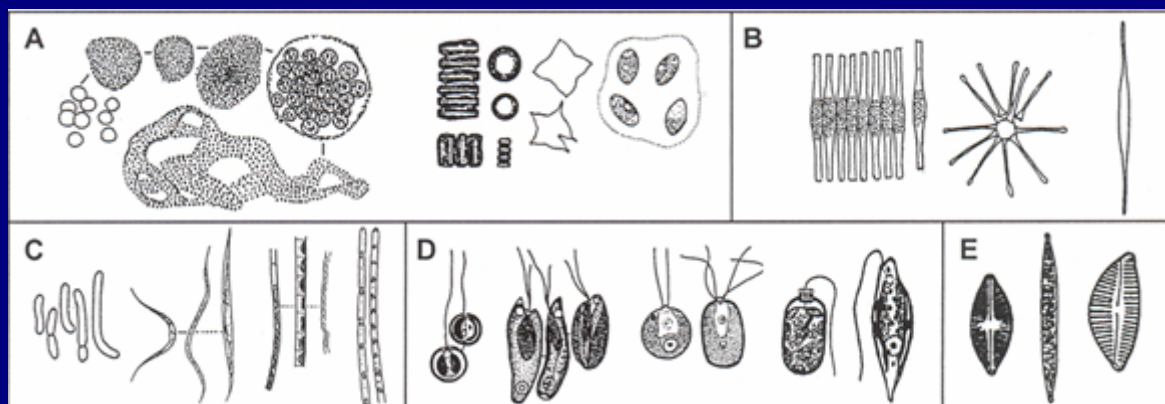
- přes 4 miliony buněk sinic/ml (40x vyšší než limit)
- přes 90% tvořila tenká vláknitá sinice rodu *Planktolyngbya*
- biomasa „pouze“ 20 mm³/l (2x vyšší než limit)

Analytik by se měl operativně přizpůsobit a provést v případě výskytu sinic s drobnými buňkami i stanovení objemové biomasy!



Surová voda (1)

- oživení vody (především obtížně odstranitelné organismy)
- organismy představující ohrožení lidského zdraví (tj. sinic)
- kategorizace zdroje



Surová voda (2)

- vyhláška č. 428/2001 Sb. (pro stanovení ČSN 75 7712)
- podle vyhlášky výsledky se vyjadřují v jedincích/ml
 - může docházet k absurdním situacím
 - většinu mikroskopicky počítatelných organismů tvoří fytoplankton
 - citace z ČSN 75 7712: „... Pokud to vyžaduje účel rozboru, počítají se jednotlivé buňky (hodnocení technologických procesů, podklad pro stanovení objemové biomasy apod.).„

Možná řešení – zavést do vyhlášky i možnost vyjádření výsledků v jiných jednotkách; - doplnit výsledky rozboru v případech organismů, u kterých je vyjádření v jedincích problematické, výsledkem v jiných jednotkách.

Surová voda (3)

- vyhláška č. 428/2001 Sb. (v platném znění) a vyhl. č. 252/2004 Sb. - poznámka k ukazateli microcystin-LR)
- stanovení sinic
- u surové vody jsou limity řádově nižší (ve srovnání s přírodními koupališti) – nutno zahušťovat – bude docházet k podhodnocení (zvláště při výskytu *Microcystis*)

Možná řešení – důsledná kontrola výtěžnosti stanovení v případě zahušťování
- využití jiných metod (fluorescenční sondy)

Pitná voda

- informace o přítomných organismech a částicích (spíše kvalitativního charakteru)
- vyhláška č. 252/2004 Sb. - metoda podle ČSN 75 7712
- problém jednotek (jen jedinci) není tak významný jako v případě surové vody
- problém bakterií:
 - citace z poznámky k ukazateli počet organismů: „... Mikroskopický nález masového výskytu organotrofních bakterií (více než 100 bakterií/ml) je třeba považovat za překročení mezní hodnoty ukazatelů počet organismů, popř. počet živých organismů.“
 - problém jak velké bakterie počítat a jaké přehlížet (vyhláška ani metodická to však neřeší)

Možná řešení – úprava předpisu více vysvětlit nebo vypustit

Závěry

- Pro tvůrce předpisů
 - nastavit předpis tak, aby ho bylo možno rozumně aplikovat i v méně běžných situacích
 - naslouchat uživatelům
- Pro zadavatele rozboru
 - zadávat do laboratoři požadavky, tak aby v případě výskytu problémových vzorků byly výsledky vyjádřeny co nejlepším způsobem pro hodnocení
 - informovat tvůrce předpisů o problémech při jejich používání
- Pro analytiku u mikroskopu
 - použít nejlepší způsob stanovení pro daný vzorek
 - doplnit rozbor všemi informacemi důležitými ke správnému hodnocení
 - informovat tvůrce předpisů o problémech při jejich používání

A hlavně se při práci
nebát přemýšlet

(i když to může vypadat,
jako že zahálíte)

Hygieně vody Státního zdravotního ústavu je 75 let

(první vzpomínka – biologická)

Motto: „Kdo nemá minulost, nemá ani budoucnost...“

Státní zdravotní ústav v Praze byl založen na prvním roku 1925 /1/. Stalo se tak po vzoru obdobných zahraničních ústavů a díky významnému daru Karla a Jeany Rockefellerovy nadace. Zřizovací zákon uváděl, že „úlohou ústavu jest vykonávati pro veřejnost správu odborně-vědecké práce a zkoumání, kterých jest třeba k účinným zdravotním opatřením, podporovati výchovu v preventivní medicíně, jakož i pečovati o praktickou odbornou přípravu zdravotního personálu“.

Ústav byl založen „na zelené louce“, což znamená, že nebyl postaven na volném pozemku vedle vinohradské nemocnice, ale na místě, kde bylo všechno potřebné vybavení, ale především kvalifikovaný personál. Ústav byl založen v roce 1925 a jeho první ředitel se osvědčil vysílat nadějně mladé vědce na zahraniční stáže. Ústav byl založen v duchu postupného budování plánovaných pracovišť.

Prvním pracovníkem, který se ve Státním zdravotním ústavu zabýval otázkou hygieny vody, byl RNDr. Emanuel Purkyně (1895 – 1929), biolog a bratr Jana Evangelisty Purkyně. Prošel dvouletým odborným studiem na univerzitách v USA, ale jeho nadějnou kariéru ukončila tragická doprava. Zřejmě i to, že samostatné „hydrobiologické oddělení“ (dnes bychom řekli „laborator“) zřízeno a alespoň samostatné pracoviště v rámci jiného centra bylo zřízeno až se

Složitě období pod vedením soudruhů se promítlo i do činnosti SZÚ a to jak v povinné východní orientaci, tak například i ve změně názvu ústavu. V roce 1952 byl SZÚ rozdělen do několika menších ústavů (hygienu vody pracovala nadále v rámci „Ústavu hygieny“), které se opět spojily až v roce 1971 pod novým názvem „Institut hygieny a epidemiologie“. Zpět ke svému tradičnímu názvu se SZÚ mohl vrátit až v roce 1992.



Shrnutím. Na snímku vlevo práce s automatickým přístrojem „Hydra“ pro odběr síťového planktonu (převzato ze publikace /17/). Na snímku uprostřed vlevo při odběru ze zamrzlé nádrže stojí M.Štěpánek a R.Cervenka. Na snímku vpravo odběr prováděný M.Štěpánkem.

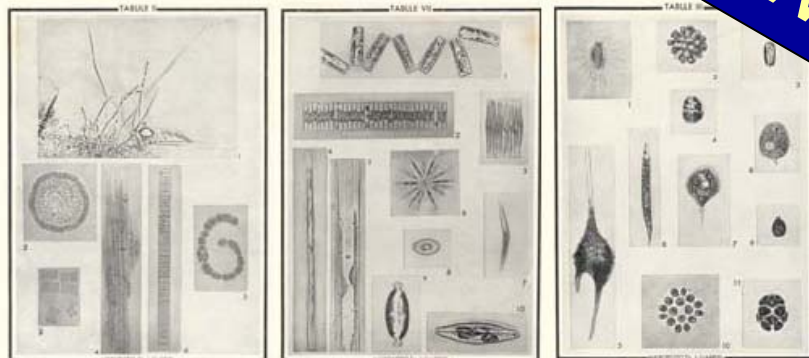
výzkumně činnosti oddělení hygieny vody stovky publikací v zahraniční i domácí literatuře. Mezi ně zde alespoň několik ukázek průkopnických článků v oblasti mikrobiologie, které již před půlstoletím zabývaly tématy i dnes aktuálními jako jsou „O vlivu teploty na životní činnost bakterií“ /8, 9/. Z pera pracovníků SZÚ vzešla též řada uznávaných monografií, například publikace *Hygienický význam životních dějů ve vodách* /10/, na kterou spolupracovali MUDr. J. Bernátová, R.Cervenka, RNDr. L.Mašínová, RNDr. J.Pokorný a MUDr. J.Štěpánek, MUDr. J.Zarážilek, MUDr. V.Jiřík (tehdejší vedoucí odborníků v této oblasti odborné skupiny v 80.-90. letech), nebo monografie RNDr. F.Kožíšek *Wasserflora von Mitteleuropa* /11/.

Výnosem Ministerstva zdravotnictví z roku 1953 získala odborná skupina hygieny vody statut národního referenčního centra pro „Referenční laboratoř pro chemické a mikrobiologické vyšetřování pitných vod“ (dále jen „Referenční laboratoř pro chemické a mikrobiologické vyšetřování pitných vod“). Úkoly tohoto referenčního centra byly definovány takto:

- vypracovat a ověřovat analytické metody a metody jejich hygienického hodnocení,
- zpracovávat prognózy jakosti pitné vody, opatření k ochraně a úpravě pitných vod a opatření k posuzování projekce a výstavby vodárenských zařízení,
- posuzovat a navrhnout přístrojové vybavení pro uvedenou činnost,
- shromažďovat informace, zejména normativní, v uvedené oblasti,
- zajišťovat konsultační a metodickou pomoc pro hygienickou službu, včetně expertisní činnosti pro jiné organizace v uvedené oblasti.

Vedoucím byl jmenován RNDr. J.Čuťka, ale již od 1.1.1974 převzal tuto funkci MUDr. V. Jiřík, od roku 1982 pak MUDr. J.Janeček a od roku 1994 (to byl již název změněn na Národní referenční centrum pro pitnou vodu) MUDr. F.Kožíšek.

Po přerozdělení kompetencí mezi jednotlivými resorty se počátkem 90 let částečně omezil zájem skupiny hygieny vody o problematiku vodárenských zdrojů, jejich povodí a vodárenské úpravy. V současnosti se zabývá především kvalitou pitné vody a vod balených a všech typů vod koupacích. Důležitou činností skupiny je příprava podkladů, které slouží Ministerstvu zdravotnictví ČR k tvorbě vyhlášek a dalších dokumentů



Mikrografie J.Gabriela. Vybrané tabule s pěknými černobílými fotografiemi mikroskopických organismů z publikace *Vyšetřovací metody v hygieně* z roku 1984 /18/.

Okolo roku 1930 se činnost ústavu zformovala do 8 oddělení („center“). V rámci IV. oddělení – pro bakteriologickou a sérologickou diagnostiku – pak začala pracovat i laboratoř planktonologie a hydrologie, která se zabývala zkoumáním vod. K prvním doloženým aktivitám patří vyšetřování vody ze studní na přítomnost původce tyfu nebo sledování účinnosti čistírny odpadních vod na Barandově (1931), systematické sledování čistoty Vltavy nad Českými Budějovicemi pro posouzení vlivu papíren (1932) či pravidelné vyšetřování kvality pitné vody z Prahy – Podolí, v Příbrami a Físku (1933). Tehdejší dosud četné tyfové epidemie daly podnět k výzkumu vztahu mezi tyfovými bacily a dalšími vodními mikroorganismy, z čehož pak vzešla první známá odborná publikace SZÚ v oblasti vody /2/.

V roce 1933 byla v rámci IV. oddělení zřízena samostatná hydrobiologická laboratoř. K tomuto datu lze tedy vztahovat počátek dnešní Odborné skupiny hygieny vody SZÚ. Kao tehdy stál v čele samostatné laboratoře, s jistotou nevíme. Mohl to být sám vedoucí celého IV. oddělení, i v zahraničí uznávaný mikrobiolog doc. MUDr. Jaroslav Drbohlav (1893-1946), ale pravděpodobněji to byl RNDr. Gabriel, který již tehdy v laboratoři pracoval a který později působil v čele odborné skupiny hygieny vody SZÚ.