

T A
Č R

VÚV
TGM

Dana Baudišová

Mikrobiologický rozbor podle novely vyhlášky o pitné vodě

Nová vyhláška o pitné vodě



Na podzim 2015 vyšla nová směrnice o pitné vodě (2015/1787), do 2 let nutná implementace v České republice, tudíž se připravuje nová vyhláška)

Hlavní změny (pro mikrobiology):

- Nová metoda stanovení koliformních bakterií a *E. coli* dle ČSN EN ISO 9308-1
- Metoda dle ČSN EN ISO 9308-2 (Colilert) plnohodnotná alternativní metoda
- Nová metoda stanovení *Clostridium perfringens*

Mikrobiologický ukazatel

1. Koliformní bakterie
2. *E. coli*
3. Intestinální enterokoky
4. *Clostridium perfringens*
5. Počty kolonií při 22 a 36°C



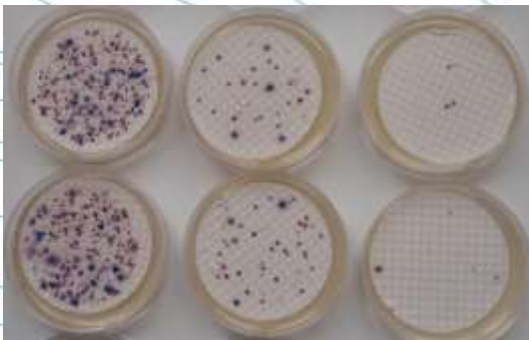
Úloha v rizikové analýze (příklady)

1. Operační monitoring, čistota a integrita distribučního systému, technologické závady (tvorba biofilmů, sekundární kontaminace apod.)
2. Závažné fekální znečištění, dobrá korelace s ostatními střevními patogeny
3. Nedostatečná desinfekce chlórem
4. Indikátor účinnosti čistících procesů a desinfekce pro viry
5. Monitoring účinnosti filtrace a desinfekce vody (včetně validace a verifikace těchto procesů úpravy), monitoring stavu podmínek a změn distribuční sítě včetně domovních rozvodů

Zůstává systém hodnocení „bez abnormálních změn“ podle metodického doporučení SZÚ

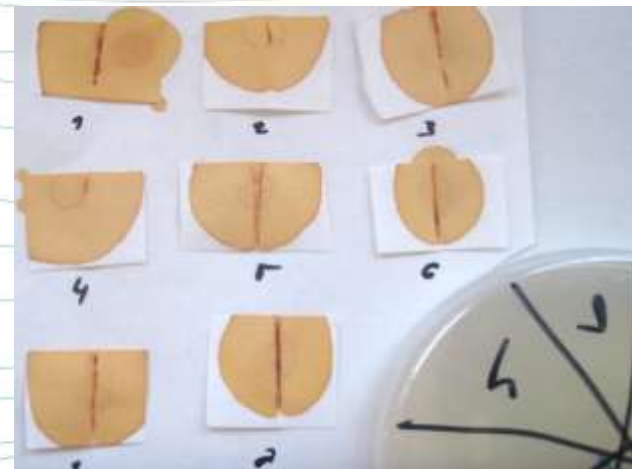
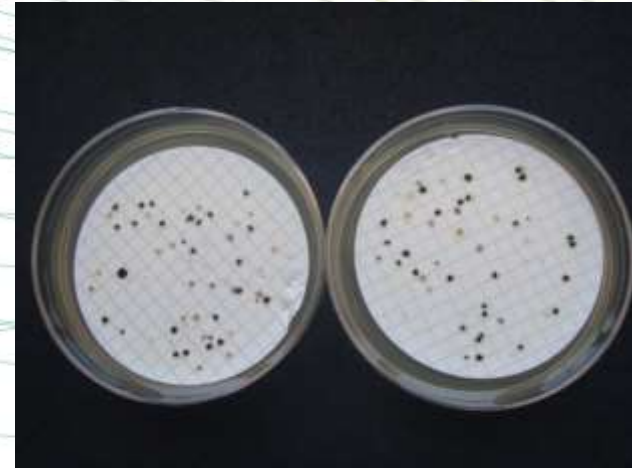
ČSN EN ISO 9308-1 ČSN EN ISO 9308-2

- Postupně se nová metoda zavedla do praxe laboratoří, od ledna 2017 povinná
- Dobré výsledky v ZZ
- Zatím není ohlas z IS PiVO (potenciální zhoršení kvality pitné vody v ukazateli koliformní bakterie?)
- Bohužel nevhodné pro malé nedesinfikované studny ☹️
- Zavedlo se do některých laboratoří již dříve, relativně drahé, využívají laboratoře, co dělají koliformní bakterie a *E. coli* v pitné vodě málo
- Koliformní bakterie poskytují nadhodnocené výsledky (neprovádí se oxidázový test), opět pozor na studny!
- Bude ČSN EN ISO 9308-4?



Clostridium perfringens

- ČSN EN ISO 14189 Kvalita vod. Stanovení *Clostridium perfringens*. Vyjde v březnu/dubnu t.r.
- Je povinné v nové Směrnici o pitné vodě a s největší pravděpodobností bude i v nové vyhlášce. Měla by nahradit stanovení *Clostridium perfringens* na mCP agaru



Princip metody

- Membránová filtrace vzorků (porozita 0,45 μm !) anaerobní kultivace na **TSC agaru při 44°C** (TSC agar je nestálý tj. cílové kolonie dostatečně nečernají; vydrží 5 dní v anaerobních podmínkách) TSC agar je TS agar s cykloserinem (selektivní supplement)
- Presumptivní kolonie se přeočkují na neselektivní agar a po další anaerobní kultivaci se testují na kyselou fosfatázu. Podle normy je nutné ověřovat všechny vyrostlé kolonie, i ty s nahnědlým zbarvením
- Činidlo na kyselou fosfatázu je relativně drahé (vydrží minimálně, a jedna složka je vysoce kancerogenní), firma HIMEDIA (Ing. Čaderský) připravila na toto stanovení cenově dostupnější sety.

Naše zkušenosti 1

Růst kmenů:



Příprava činidla:



Konfirmační testy:

Je vždy nutné mít negativní kontrolu



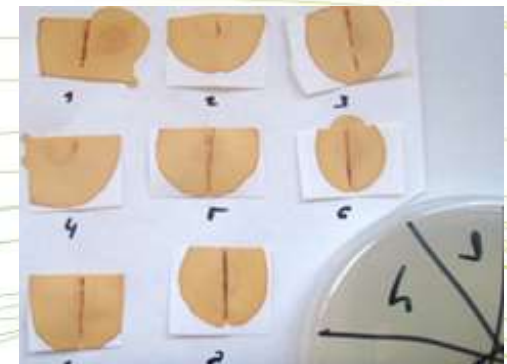


Naše zkušenosti 2

- Je opravdu nutné přeočkovat všechny kolonie s předepsaným zabarvením, *Clostridium perfringens* může růst i jako relativně světlá kolonie, jako žlutohnědé kolonie na TSC agaru rostla i *E. coli*
- Doporučuji (není v normě) udělat i paralelní subkultivaci na neselektivním médiu v aerobních podmínkách
- Shoda s aktivitou kyselé fosfatázy na MCP médiu (zrůžovění) byla v 86 %
- Identifikací na MALDI (20 kmenů) bylo zjištěno *C. perfringens*, *E. coli*, *Clostridium glykolicum* a *C. bifermentans* (konfirmační testy odpovídaly identifikaci)

Naše zkušenosti 3

- Dvakrát jsme dělali *C. perfringens* touto metodou při ZZ (ASLAB, OR-MB-16-1,2) a v obou případech se hodnota vešla do mezí správných hodnot
- Problém produktivity: Je nutné použít neselektivní médium s dostatečným obsahem živit (není vhodný TYE agar)
- Při porovnání růstu rostlo na mCP médiu 50-80 % počtů vyrostlých na TSC
- Počet paralelních stanovení na mCP médiu a TSC nemáme dostatek k průkaznému závěru
- V letošním roce bude praktické školení



T A
Č R

VÚV
TGM

Poděkování

Příspěvek byl zpracován v rámci projektu Technologické agentury ČR TD03000155 „Podmínky úspěšné transpozice a implementace systému rizikové analýzy při zásobování pitnou vodou v České republice“ v Programu na podporu aplikovaného společenskovedního výzkumu a experimentálního vývoje OMEGA.