

NOVINKY V MIKROBIOLOGII ODPADŮ



Imateju@szu.cz

**Státní zdravotní ústav
Šrobárova 47, Praha 10**



Mikrobiologické ukazatele

Zákon 185/2001 Sb. o odpadech, ve znění posledních platných předpisů

376/2001 Sb. o hodnocení nebezpečných vlastností odpadů – infekčnost (nejen odpady ze zdravotnictví)

382/2001 Sb. o nakládání s upravenými čistírenskými kaly na zemědělskou půdu.- Příloha č. 4

294/2005 Sb., o podmínkách ukládání odpadů na skládky a jejich využívání na povrchu terénu a změně vyhlášky č. 383/2001 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady.

341/2008 Sb. o podrobnostech nakládání s biologicky rozložitelnými odpady



Mikrobiologické ukazatele

Zákon č. 156/1998 Sb., o hnojivech, pomocných půdních látkách, pomocných rostlinných přípravcích a substrátech a o agrochemickém zkoušení zemědělských půd (Zákon o hnojivech č. 153/2000 Sb.)

– odkazuje stanovení mikrobiologické kontaminace v kalech, které se registrují dle zákona č. 153/2000 Sb. parametry uvedené ve vyhlášce č.382/2001 Sb. o použití upravených kalů na zemědělské půdě, příloha č.4

Vyhláška 271/2009 Sb. - Vyhláška, kterou se mění Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 474/2000 Sb., o stanovení požadavků na hnojiva, ve znění pozdějších předpisů (účinnost od: 1. září 2009)

Vyhláška č.257/2009 Sb., o používání sedimentů na zemědělské půdě



Mikrobiologické ukazatele

NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 1069/2009 ze dne 21. října 2009 o hygienických pravidlech pro vedlejší produkty živočišného původu a získané produkty, které nejsou určeny k lidské spotřebě, a o zrušení nařízení (ES) č. 1774/2002 (nařízení o vedlejších produktech živočišného původu) (dále taky Nařízení 1069/2009).

Nařízení Komise (EU) č. 142/2011 ze dne 25. února 2011, kterým se provádí nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1069/2009 o hygienických pravidlech pro vedlejší produkty živočišného původu a získané produkty, které nejsou určeny k lidské spotřebě, a provádí směrnice Rady 97/78/ES, pokud jde o určité vzorky a předměty osvobozené od veterinárních kontrol na hranici podle uvedené směrnice (dále také Nařízení č. 142/2011)



Hodnocení účinností hygienizace

Nařízení Komise (EU) č. 142/2011 ze dne 25. února 2011, kterým se provádí nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1069/2009 o hygienických pravidlech pro vedlejší produkty živočišného původu a získané produkty, které nejsou určeny k lidské spotřebě, a provádí směrnice Rady 97/78/ES, pokud jde o určité vzorky a předměty osvobozené od veterinárních kontrol na hranici podle uvedené směrnice (dále také Nařízení č. 142/2011)

Vyhláška č.341/2008 Sb., o podrobnostech nakládání s biologicky rozložitelnými odpady a o změně vyhlášky č.294/2005 Sb., o podmínkách ukládání odpadů na skládky a jejich využívání na povrchu terénu a změně vyhlášky č. 383/2001 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady (vyhláška o podrobnostech nakládání s biologicky rozložitelnými odpady) - (viz tabulka č. 2)

2 způsoby – vnesené indikátory
vstup - výstup



Hodnocení účinností hygienizace

Při sledování účinnosti vnesených indikátorových organismů podle vyhlášky 341/2008 Sb. o podrobnostech nakládání s biologicky rozložitelnými odpady a o změně vyhlášky č.294/2005 Sb., o podmínkách ukládání odpadů na skládky a jejich využívání na povrchu terénu a změně vyhlášky č. 383/2001 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady (vyhláška o podrobnostech nakládání s biologicky rozložitelnými odpady se požaduje

snížení o šest řádů počtu mikroorganismů *Escherichia coli*

Při sledování účinnosti metodou vstup – výstup dle vyhlášky č.341/2008 Sb.,

požaduje **snížení o šest řádů** sledovaného mikroorganismu

mezi vstupní a výstupní hodnotou při odběru **deseti vzorků** z jedné šarže.



Límitní hodnoty pro mikrobiologické parametry

| Kategorie kalů | Příloha č. 4 k vyhlášce č.382/2001 Sb Přípustné množství mikroorganismů(KTJ*)v 1g sušiny aplikovaných kalů | | |
|----------------|---|---------------------------|-----------------------------------|
| | termotolerantní koliformní bakterie KTJ* v 1 gramu | enterokoky KTJ* v 1 gramu | <i>Salmonella sp.</i> nález v 50g |
| I | $< 10^3$ | $< 10^3$ | negativní nález |
| II | $10^3 - 10^6$ | $10^3 - 10^6$ | nestanovuje se |

| Indikátorový mikroorganismus | Výstup dle Nařízení 1069/2009 Limit nález | | Výstup dle 341/2008 Sb. Limit nález | |
|--|--|------------------|--|-----------|
| | <i>Salmonella spp.</i> nález v 50g | negativní | | negativní |
| <i>Escherichia coli</i> /TKB KTJ* v 1 gramu | 1 | $< 5 \cdot 10^3$ | 1 | $< 10^3$ |
| | 4 | $< 10^3$ | 4 | < 50 |
| Enterokoky KTJ* v 1 gramu | 1 | $< 5 \cdot 10^3$ | 1 | $< 10^3$ |
| | 4 | $< 10^3$ | 4 | < 50 |



Terminologie

Výstupem - zbytek po anaerobním rozkladu
zbytek rozkladu
digestát,
fugát a separát
kal

hemoragická *E. coli* (EHEC)



| Zpracovatelská zařízení | Označení výstupu | Označení po zahuštění | | Právní předpis pro využití výstupu |
|---|---------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|---|
| | | Označení zahuštěné frakce | Označení tekuté frakce | |
| ČOV – zpracovávající odpadní vody | kal | kal | kalová voda | Zákon č. 185/2001 Sb. o odpadech: Vyhl.č.382/2001 Sb., Vyhl.č.341/2008 Sb., Vyhl č.294/2005 Sb. Zákon o hnojivech č. 156/1998 Sb.: Vyhl.474/2000 Sb. |
| ČOV – zpracovávající odpadní vody a vžp | zbytek po rozkladu* | zahuštěný* zbytek po rozkladu | | Nariadení EU_č.1069/2009): Nariadení EU č. 142/2011 |
| BS – zpracovávající odpady a vžp | zbytek po rozkladu* | v právním předpise není označení* | v právním předpise není označení* | Nariadení EU č. 1069/2009): Nariadení EU č. 142/2011 |
| BS – zpracovávající statková hnojiva a zbytky zemědělské výroby | zbytek po rozkladu* | v právním předpise není označení* | v právním předpise není označení* | Nariadení EU č. 1069/2009): Nariadení EU č. 142/2011 |
| BS - zpracovávající zbytky zemědělské výroby | digestát | separát | fugát | Zákon o hnojivech č. 156/1998 Sb.: Vyhl.474/2000 Sb. |

Metody stanovení

V České republice jsou jednotné metody dány v právních předpisech odpadového hospodářství a jsou uvedeny v

Acta Hygienica, Epidemiologica et Microbiologica 7/2001 a 1/2008

Od roku 2004 byly Evropskou unií jednotné metody řešeny v rámci projektu Horizontál - SSPI-CT-2004- 513660.

Projekt končil v roce 2006 vydáním návrhů metod pro stanovení *E.coli*, enterokoků, salmonel, klostridií, bakteriofágů a helmintů.

V evropských laboratořích byly mezilaboratorními testy ověřeny

3 metody pro salmonely,

2 metody pro *E. coli*

2 metody pro enterokoky

Metody pro ostatní indikátorové organismy (klostridia, bakteriofágy a helminty) byly vypracovány pouze jako návrhy metod bez ověření.



Metody stanovení

Listopad 2007

CEN BT/TF 151 – WP 3- Methods for the validation of biotechnological, thermal and chemical processes for the treatment of animal by-products, sewage sludge and biowastes in order to determine the hygienic safety of the resulting fertilizers or comparable products by exposition of test organisms or test viruses –

This standard is divided into five parts:

- part 1 describes a validation procedure with vegetative test bacteria*
- part 2 describes a validation procedure with test-viruses*
- part 3 describes a validation procedure with parasites eggs*
- part 4 describes a validation procedure with bacterial test spores*
- part 5 describes a validation procedure with prions*

CEN BT/TF 151 – prEN15215-1

Methods for the validation of biotechnological, thermal and chemical processes for the treatment of animal by-products, sewage sludges and biowastes in order to determine the hygienic safety of the resulting fertilizers or comparable products by determination of the count of selected endogenous organisms in the substrate before and after processing and calculation of the reduction rate (Input-Output- Analysis)

Metody stanovení

Pro využití výsledků projektu Horizontál do norem byla vytvořena nová technická komise TC 400, která nahradila BT/151.

Práce na návrhu metod pro *E. coli*, jako FprCEN 16193 byly provedeny se souhlasem výboru projektu Horizontal Hygiene mandátem M 330 a nakonec bylo rozhodnuto na setkání komise CEN/ TC 400/ WG 2 14. ledna 2010, že všechny tři navrhované metody budou zpracovány jako technická zpráva TR.

říjen 2011 - společné zasedání výboru projektu Horizontal Hygiene, odborníků technických komisí CEN / TC 308/WG 1/TG5 a CEN/TC 400/WG2, návrh metody bylo doporučeno přepracovat jako návrhy technických zpráv. návrhy pro TR pro salmonely i *E. coli* je třeba dopracovat budou dokončeny práce na ostatních metodách do konce června 2012, nové zasedání komise CEN/ TC 400/ WG 2 - září 2012

neustále trvá požadavek, aby metody pro *E. coli* a metody pro salmonelu presence – absence byly vydány jako dokument EN

Metody stanovení

26.3.2012 zasedání v Londýně

- CEN/TC 308/WG 1, CEN/TC 400, CEN/TC292/WG 5
- CEN/TC 308/WG1/TG5 Microbiology of Sludges

CEN/TC 308/WG 1/TG5

- znovu otevřena otázka mandátu M330, nepřehledná situace, Simon Cole pověřen zpracovat do 25.10.2012 souhrn a požadavek na objasnění mandátu **neuskutečnilo se**
- nové indikátorové organismy pro stanovení v čistírenských kalech
 - E. coli* nebo enterokoky 1000 KTJ na g sušiny
 - Cl. perfringens* 3000 KTJ na g sušiny
- nové indikátorové organismy pro validaci procesu zařízení zpracovávající kal nebo kal z vžp
 - pokročilé způsoby úpravy kalů** – snížení salmonel o 4 řády a zničení životaschopných vajíček
 - konvenční způsoby úpravy kalů** – snížení *E. coli* o 2 řády, omezené využití kalů

Metody stanovení

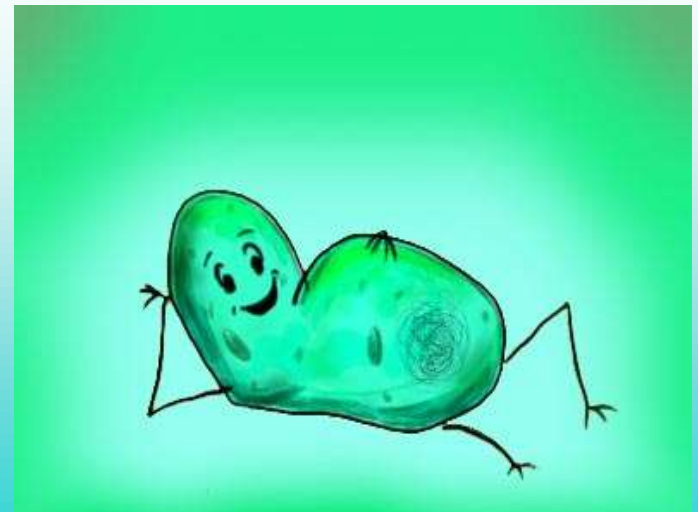
| | |
|---|---|
| Enterococci pWI 00308081 pWI 00308097 | Soils, sludges and treated bio-wastes — Isolation and enumeration of intestinal enterococci – Part 1: Membrane filtration method onto selective agar - |
| Enterococci pWI 00308082 pWI 00308098 | Soils, sludges and treated bio-wastes — Detection and enumeration of intestinal enterococci – Part 2: Miniaturised method (Most Probable Number) by inoculation in liquid medium |
| <i>Clostridium Perfringens</i> pWI 00308079 | Soils, sludges and treated bio-wastes — Isolation and enumeration of <i>Clostridium perfringens</i> – Part 1: Membrane filtration method onto selective agar |
| <i>Clostridium Perfringens</i> pWI 00308080 | Soils, sludges and treated bio-wastes — Detection of <i>Clostridium perfringens</i> – Part 2: Macromethod (Most Probable Number) by inoculation into selective liquid medium |
| Bacteriophages pWI 00308099 | Sludges — Extraction of bacteriophages from sludge |

Metody navržené k novému projednání

Metody stanovení

| | |
|---|--|
| <i>helminth ova</i> pWI 00308083 | Detection and enumeration of viable helminth ova in sludges — Part 1: Method by flotation using $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, sp.gr. 1.35 Viable helminth ova P1. |
| <i>Helminth ova</i> pWI 00308084 | Detection and enumeration of viable helminth ova in sludges — Part 2: Method by flotation using NaNO_3 , sp.gr. 1.35 Viable helminth ova P2. |
| <i>Helminth ova</i> pWI 00308085 | Detection and enumeration of viable helminth ova in sludges — Part 3: Method by flotation using ZnSO_4 , sp.gr. 1.35 Viable helminth ova P3. |

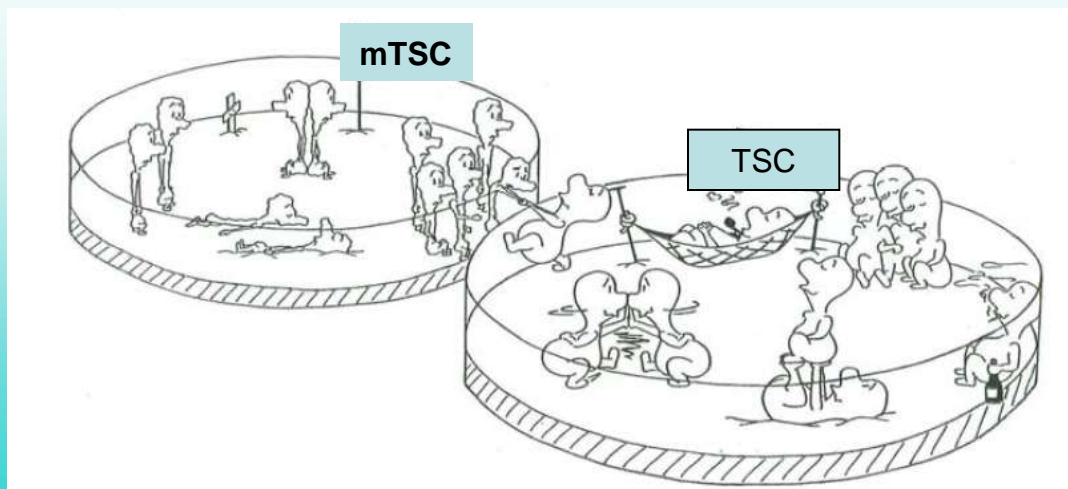
Metody navržené ke stažení



Metody pro stanovení indikátorových organismů

Další jednání - Milano 25 a 26. října 2012
(TG6,TG5,TG3,WG1)

Acta Hygienica, Epidemiologica et Microbiologica 7/2001
a 1/2008





Čas vypršel

Děkuji za pozornost

Doporučené metody

Pro salmonely:

Stanovení salmonel v kalech a bioodpadech (AHEM, ČR) – **CZ 1**

CEN/TR 15215-3 Detection and enumeration of *Salmonella spp.* in sludges, soils, soil improvers, growing media and biowastes – Part 3: Presence/absence method by liquid enrichment in peptone-novobiocin medium followed by Rapport-Vassiliadis – **EU 1**

CEN/TR 15215-1 Detection and enumeration of *Salmonella spp.* in sludges, soils, soil improvers, growing media and bio-wastes - Part 1: Membrane filtration method for quantitative resuscitation of sub-lethally stressed bacteria (to confirm efficacy of log drop treatment procedures) - **EU 9.**

Pro *Escherichii coli*:

Stanovení termotolerantních koliformních bakterií a *E.coli* (AHEM 7/2001)- **CZ 2**

CEN/TR 15214-1 Detection and enumeration of *Escherichia coli* in sludges, - Part 1: Membrane filtration method for quantification - **EU 2**

Stanovení *E.coli* metodou Colilert - **CL.**

Porovnání sledovaných metod pro *E. coli*

Pro enterokoky a *Enterococcus faecalis*:

Stanovení enterokoků dle AHEM 7/2001 – CZ 3

Soils, sludges and treated bio-wastes — Isolation and enumeration of intestinal enterococci in sludges, soils and treated bio-wastes –

Part 1: Membrane filtration method onto selective agar –EU 5

Pro bakterie *Clostridium perfringens*:

Soils, sludges and treated bio-wastes — Isolation and enumeration of *Clostridium perfringens* in sludges, soils and treated bio-wastes –

Part 1: Membrane filtration method onto selective agar – EU 7

Soils, sludges and treated bio-wastes — Detection of *Clostridium perfringens* in sludges, soils and treated bio-wastes – Part 2: Macromethod (Most Probable Number) by inoculation into selective liquid medium – EU 8.

Pro listerie

Modifikovaná ČSN EN ISO 11290-2/A1 (1999/2005): Mikrobiologie potravin a krmiv Horizontální metoda průkazu a stanovení počtu

Listeria monocytogenes - Část 2: Metoda stanovení počtu – EL 2.

Otázky ?

Děkují za pozornost