

Validace metody Colilert-18 pro testování kompostů a podobných matric na přítomnost *Escherichia coli*

RNDr. Zdislava Boštíková

Ing. Ladislava Matějů

Martina Štěpánková

Ochrana zdraví a životního prostředí v související legislativě



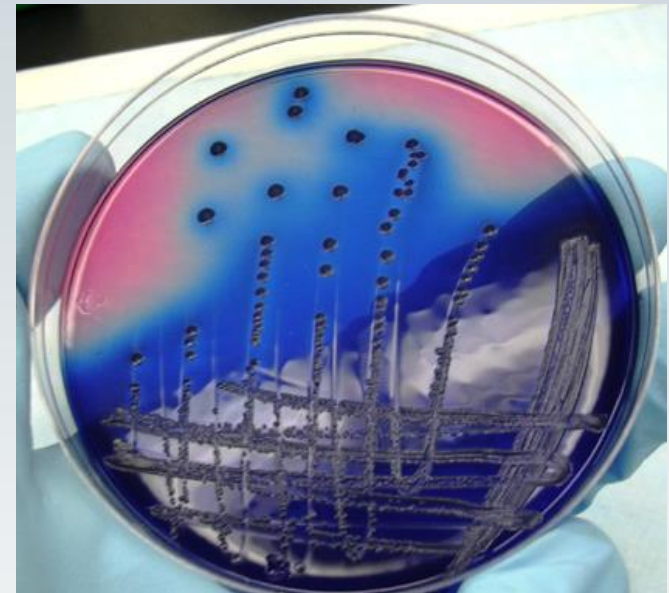
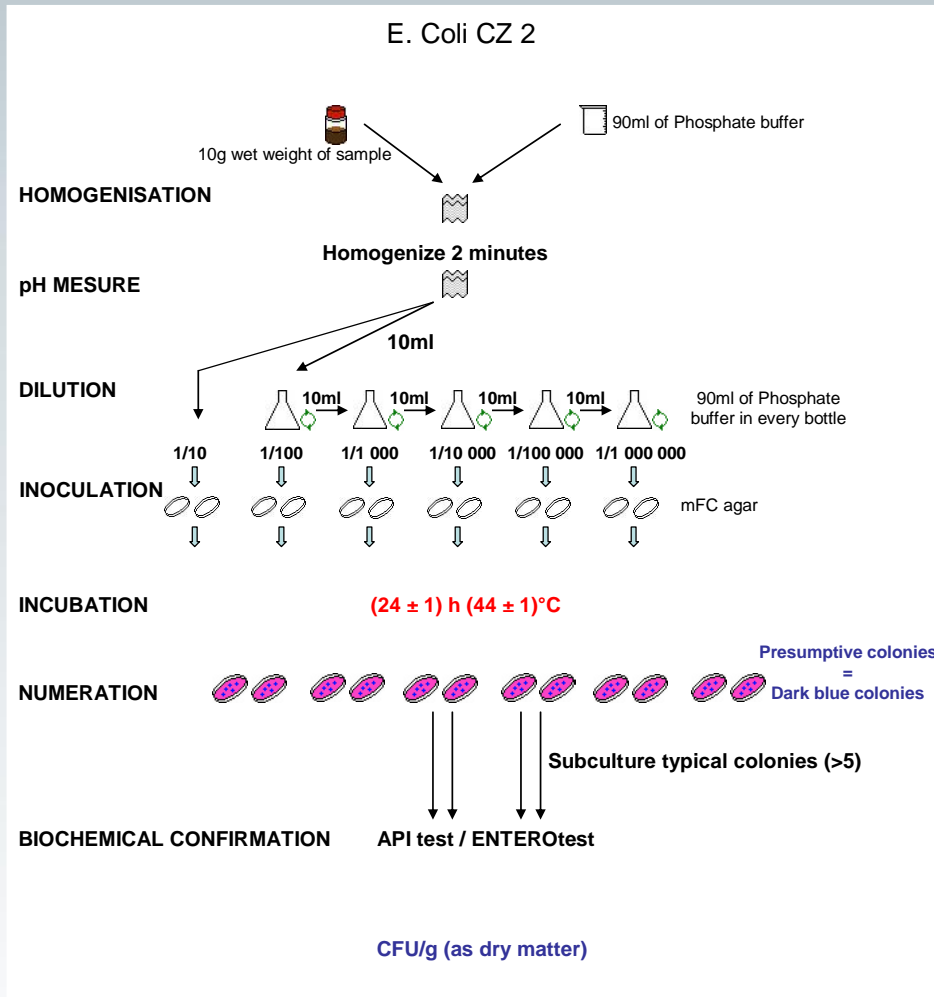
- **Zákon č. 156/1998 Sb.**, o hnojivech, pomocných půdních látkách, pomocných rostlinných přípravcích a substrátech a o agrochemickém zkoušení zemědělských půd (zákon o hnojivech)
 - **Vyhláška č. 341/2008 Sb.**, o podrobnostech nakládání s biologicky rozložitelnými odpady
 - **Vyhláška č. 437/2016 Sb.** o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě a změně vyhlášky č. 383/2001 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady a změně vyhlášky 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)
- **Povinnost provádět mikrobiologické rozbory před použitím kompostu či upraveného kalu na zemědělskou půdu**



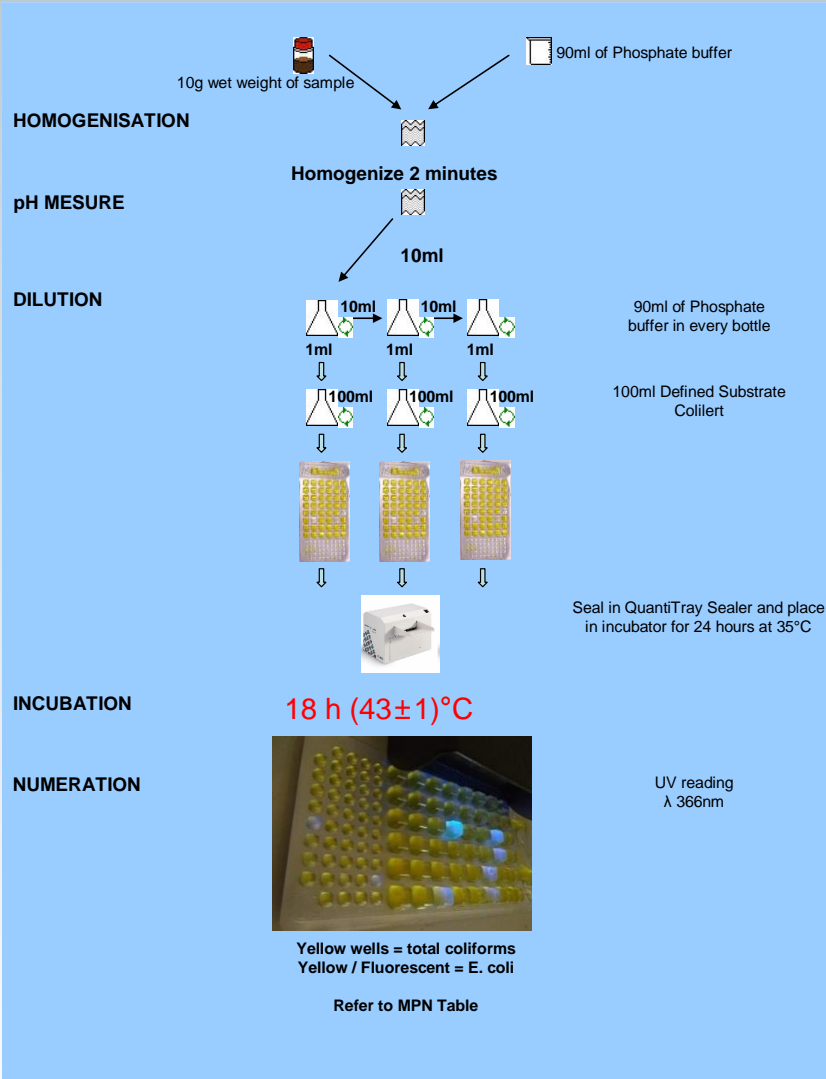
Ověření metody

- Porovnání metody Colilert-18 a přímého výsevu na mFC agar
- Validace => možnost použití metody Colilert-18 pro stanovení *E. coli*
- Různé matrice (zelený kompost, kompost obsahující čistírenské kaly, digestát)
- Spolupráce s devíti laboratořemi z celé ČR
- Stanovení šestkrát v pěti řaděních

Přímý výsev na mFC agar



Colilert[®]-18



Colilert[®]-18

Výhody:

- Rychlejší metoda (mFC 48 hod/ Colilert 18 hod)
- Snadnější manipulace
- Méně kroků při manipulaci v laboratoři

Nevýhody:

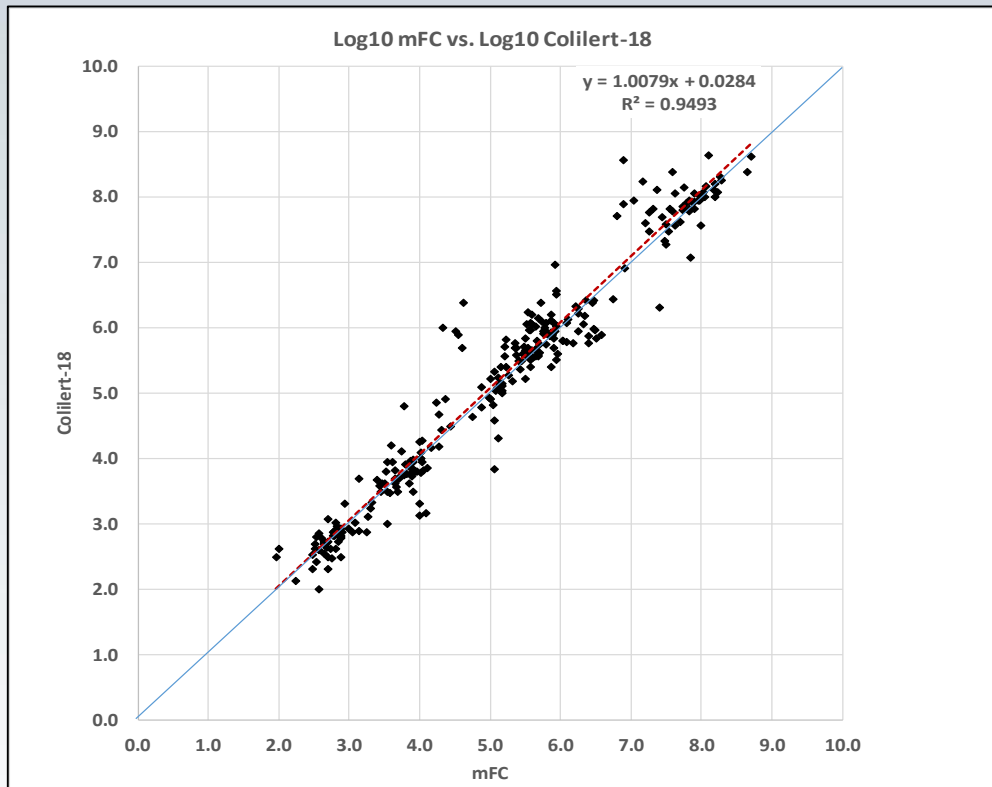
- Vyšší cena
- Vyšší spotřeba materiálu při neznámé koncentraci vzorku

Postup porovnávací studie

- Sterilizace materiálu
- Inokulace *E. coli*
- Ověření koncentrace vnesených bakterií
- Zabalení vzorků a rozeslání do laboratoří
- Stanovení *E. coli* oběma metodami
- Zaslání výsledků stanovení
- Statistická analýza

Předběžná analýza dat

Porovnání výkonnosti metody Colilert-18 a
přímého výsevu na mFC agar

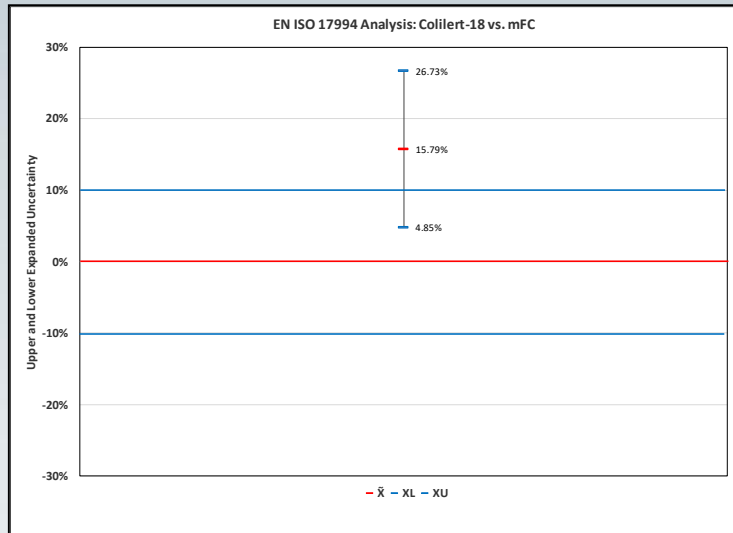


Studentův t-test (data statisticky
významná při $P < 0,05$):

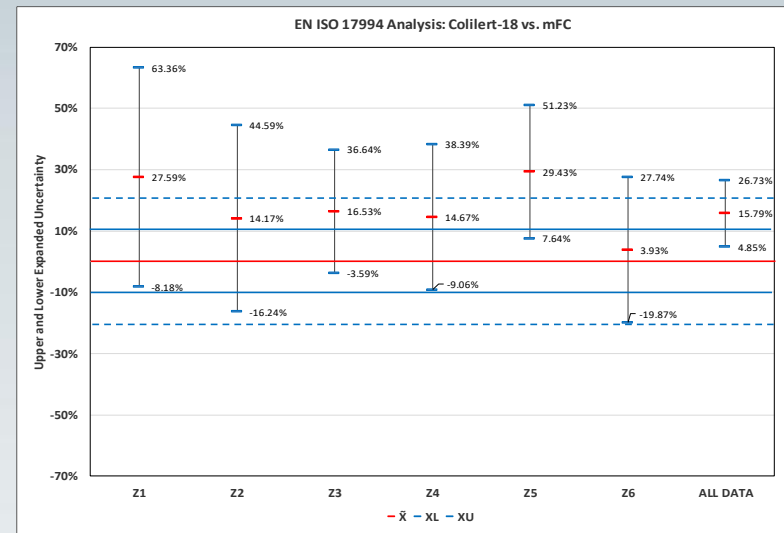
P jednostranná 0,027

P oboustranná 0,054

Statistická analýza podle EN ISO 17994



Analýza kombinovaných dat podle
EN ISO 17994:2014



Grafické znázornění analýzy
podle ISO 17994 pro data
generovaná pro jednotlivé matrice

ČSN EN ISO 17994 (2014) – Kvalita vod – Požadavky na porovnání relativní
výtěžnosti mikroorganismů stanovených dvěma kvantitativními metodami

Statistická analýza podle EN ISO 17994

Matrice	ISO 17994 - 2L = 10 %		ISO 17994 - 2L = 20 %	
	Oboustranná	Jednostranná	Oboustranná	Jednostranná
Z1	NEPRŮKAZNÉ	BEZ ROZDÍLU	NEPRŮKAZNÉ	BEZ ROZDÍLU
Z2	NEPRŮKAZNÉ	NEPRŮKAZNÉ	NEPRŮKAZNÉ	BEZ ROZDÍLU
Z3	NEPRŮKAZNÉ	BEZ ROZDÍLU	NEPRŮKAZNÉ	BEZ ROZDÍLU
Z4	NEPRŮKAZNÉ	BEZ ROZDÍLU	NEPRŮKAZNÉ	BEZ ROZDÍLU
Z5	RŮZNÉ	ALT' VYŠŠÍ	RŮZNÉ	ALT' VYŠŠÍ
Z6	NEPRŮKAZNÉ	NEPRŮKAZNÉ	NEPRŮKAZNÉ	BEZ ROZDÍLU
Z1+Z4	NEPRŮKAZNÉ	BEZ ROZDÍLU	NEPRŮKAZNÉ	BEZ ROZDÍLU
Z2+Z5+Z6	NEPRŮKAZNÉ	BEZ ROZDÍLU	NEPRŮKAZNÉ	BEZ ROZDÍLU
VŠECHNA DATA	RŮZNÉ	ALT' VYŠŠÍ	RŮZNÉ	ALT' VYŠŠÍ

Výstupy ISO 17994 pro data generovaná podle typu matrice. Byly zváženy maximální intervaly spolehlivosti 10 % i 20 %.

Matrice	ISO 17994 - 2L = 10 %		ISO 17994 - 2L = 20 %	
	Oboustranná	Jednostranná	Oboustranná	Jednostranná
A	NEPRŮKAZNÉ	NEPRŮKAZNÉ	NEPRŮKAZNÉ	NEPRŮKAZNÉ
B	NEPRŮKAZNÉ	NEPRŮKAZNÉ	BEZ ROZDÍLU	BEZ ROZDÍLU
C	NEPRŮKAZNÉ	NEPRŮKAZNÉ	NEPRŮKAZNÉ	NEPRŮKAZNÉ
D	RŮZNÉ	ALT' VYŠŠÍ	RŮZNÉ	ALT' VYŠŠÍ
E	NEPRŮKAZNÉ	BEZ ROZDÍLU	NEPRŮKAZNÉ	BEZ ROZDÍLU
VŠECHNA DATA	RŮZNÉ	ALT' VYŠŠÍ	RŮZNÉ	ALT' VYŠŠÍ

Výstupy ISO 17994 pro data generovaná podle typu ředění. Byly zváženy maximální intervaly spolehlivosti 10 % i 20 %.

Shrnutí

- Vzorčky digestátu, kompostu z čistírenského kalu i kompostu ze zeleného bioodpadu byly testovány na přítomnost *Escherichia coli* dvěma metodami
- Získaná data byla porovnána pomocí různých statistických metod
- Analýza jednotlivých souborů dat vykazuje určité odchylky, přesto platí, že metoda Colilert-18 je citlivější
- Data naznačují, že **Colilert-18 je vhodnou alternativou** k metodě přímého výsevu na mFC agar pro analýzu kompostu a podobných matric

Děkuji za pozornost!



Zúčastněné laboratoře: Zdravotní ústav v Ostravě (Ostrava), Zdravotní ústav v Ostravě (Olomouc), EMPLA AG, s.r.o., Laboratoř Morava, EKO-LAB Žamberk spol. s r.o., Ekologická laboratoř PEAL, Aquatest, a.s., Abitec, s.r.o. a Výzkumný ústav vodohospodářský T. G. Masaryka v Praze

