

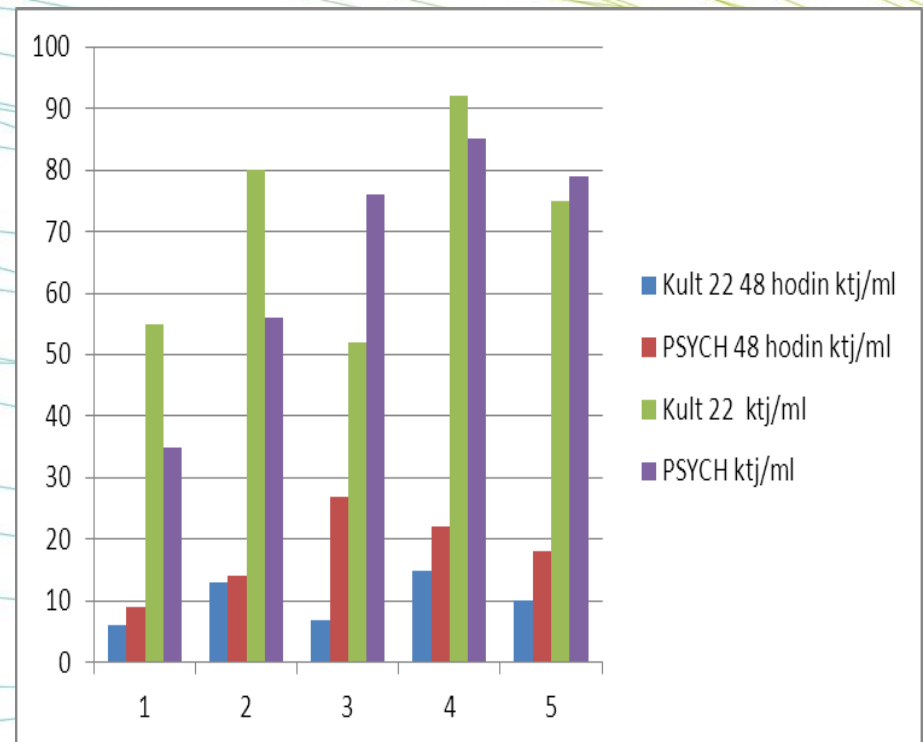
Dana Baudišová

# Novinky v mikrobiologii vody 2013

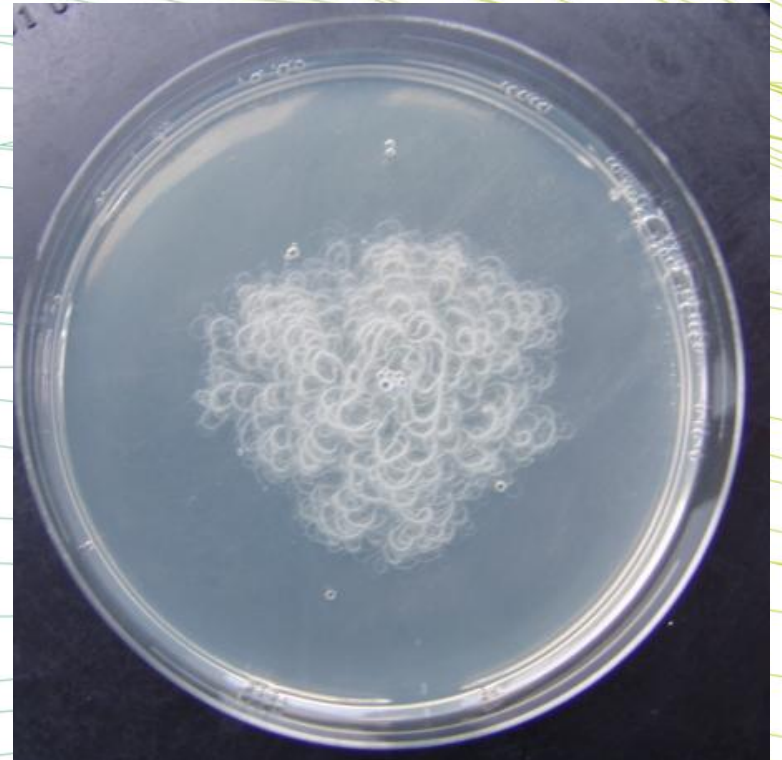


# Kultivovatelné mikroorganismy

- Mezofilní a psychofilní bakterie jsou již víceméně speciální stanovení
- Kultivovatelné mikroorganismy jsou velmi citlivé na manipulaci (teplota skladování vzorku, teplota zalévání, doba kultivace)
- Problém přerůstání misek (Bacillus/Aktinomycety, mikromycety)



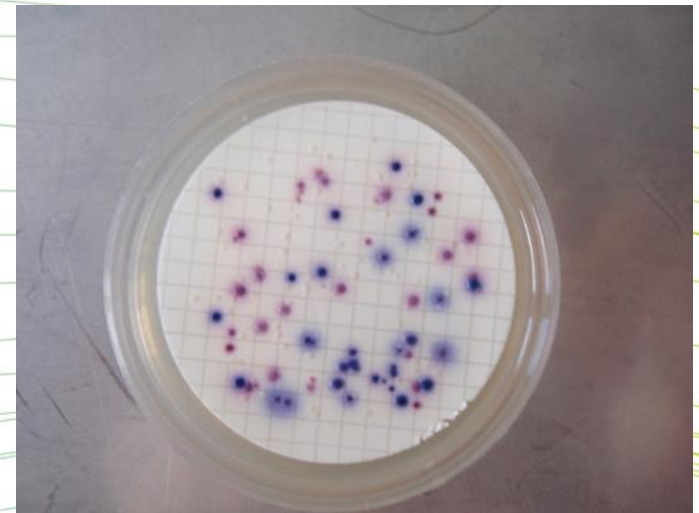
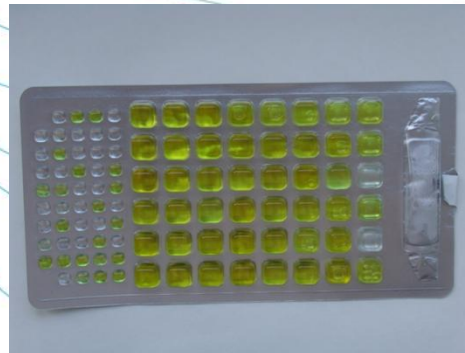
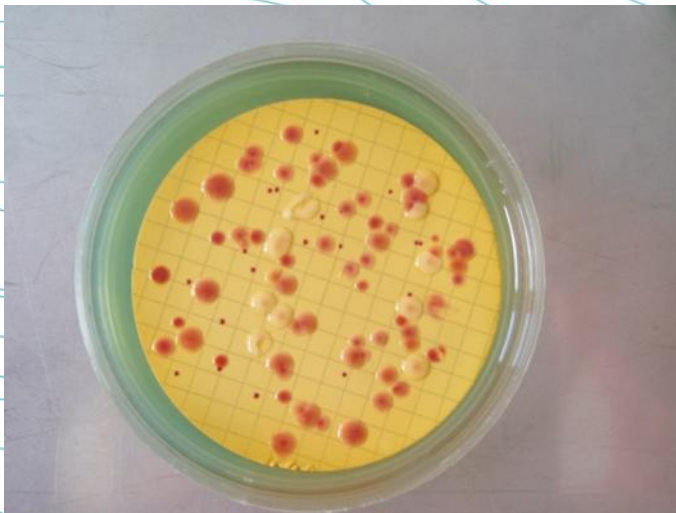






# Koliformní bakterie a *E. coli*

- **Koliformní bakterie** postupně mizí z právních předpisů týkajících se jakékoliv povrchové vody (pouze pitné)
- **Fekální (termotolerantní) koliformní bakterie** jsou doposud používány, svým způsobem je to česká specialita, ČSN 757835 výborně funguje, je hodně selektivní, ale málo citlivá
- ***E. coli*** je hlavní indikátor fekálního znečištění – ale v současné době je používána řada nesrovnatelných metod





# Metody

ČSN 75 7835 mFC, 44 C, GLR, není mezinárodní, díky vysoké teplotě kultivace jsou podhodnocené výsledky

ČSN EN ISO 9308-1 Tergitol, 36 C, IND nebo GLR (dnes i Rapid 2 E. coli agar a další, např. Biokar) Boj mezi firmami

ISO 9308-2 Colilert, GLR, 36 C, tekuté (již platí, bude EN a pak ČSN EN)

ČSN EN ISO 9308-3 Mikrotitrační destičky , GLR 44 C, tekuté, vysoká mez detekce



# *E. coli* různými metodami

	<b>E. coli</b> cfu/ 100 ml
ČSN 75 7835	64
ČSN EN ISO 9308 -1 IND	<b>134</b>
ČSN EN ISO 9308-1 GLR	62
Colilert 18 / Quanti-Tray	59



# Problémy enterokoků

Poměrně citlivé stanovení na kvalitu média

Firma Biorad už zase dodává SB s TTC uvnitř  
(OK servis)

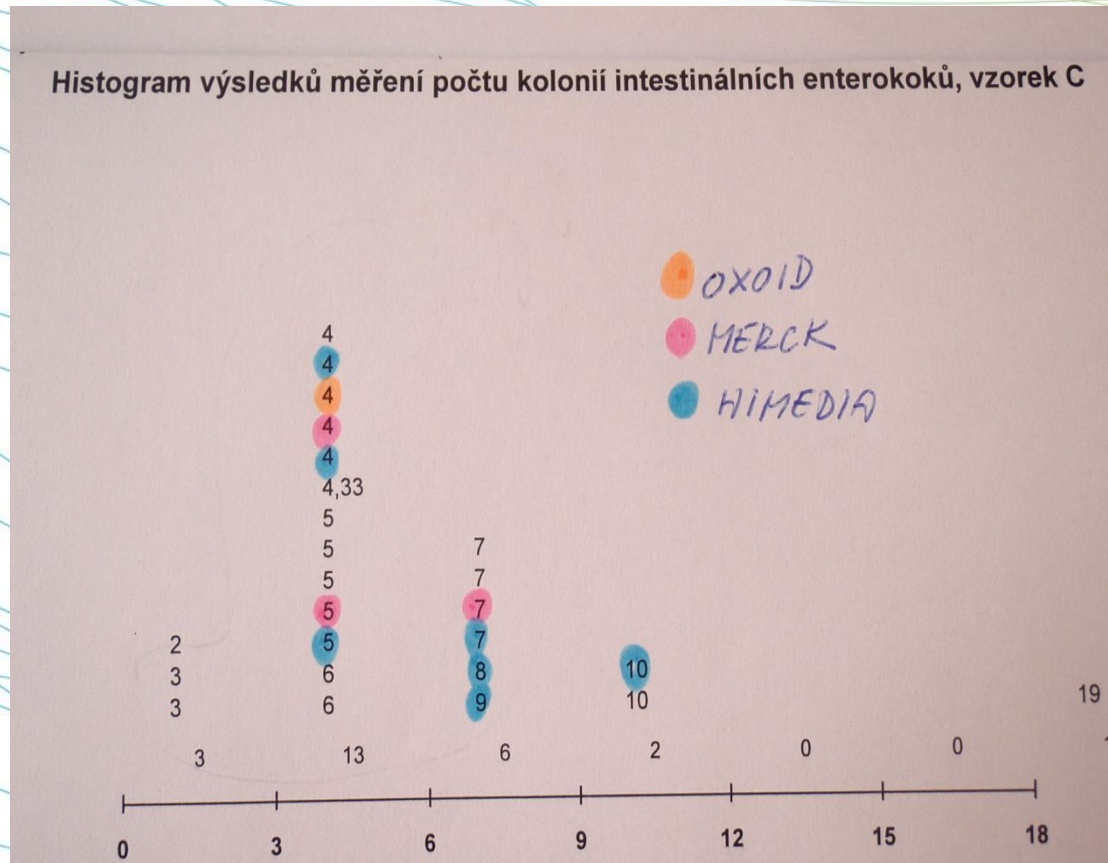
Enterolert nedosahuje výsledků jako Colilert (a je  
více typů o různé formuli)

Firmy dodávající hotové půdy (na miskách) ne  
vždy uvádějí původ ingrediencí.



# Výsledky z OR-MB-1/13

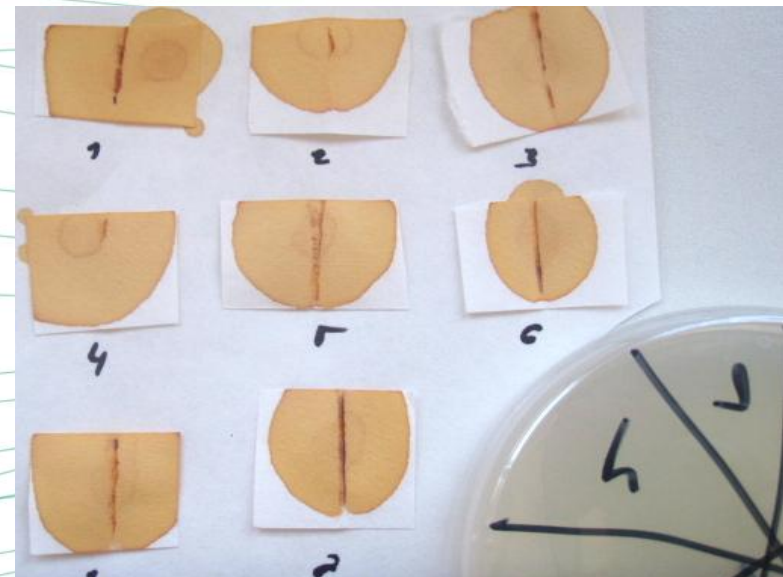
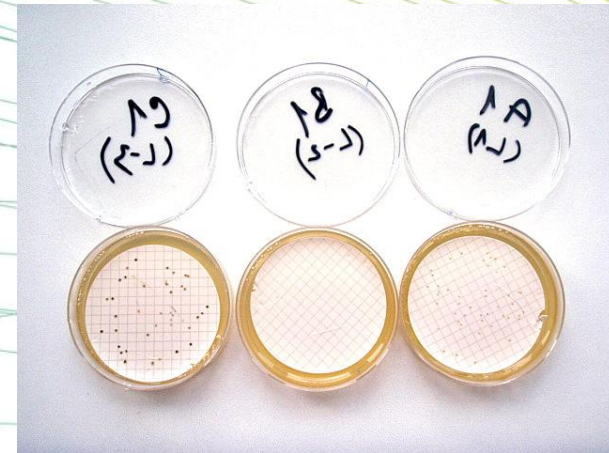
- Pouze 44 % laboratoří uvedlo firmu (1\* Oxoid, 3\* Merck, 7\* Himedia)





# Clostridium perfringens

- Připravuje se nová norma, použití TSC média s konfirmací na kyselou fosfatázu **dosud ve stádiu příprav**
- Drahé (zejména činidlo na kyselou fosfatázu), je nutné ověřovat všechny vyrostlé kolonie, médium je nestálé (pak kolonie dostatečně nečernají)
- Validace organizována z Vídně, výsledky zatím neznáme

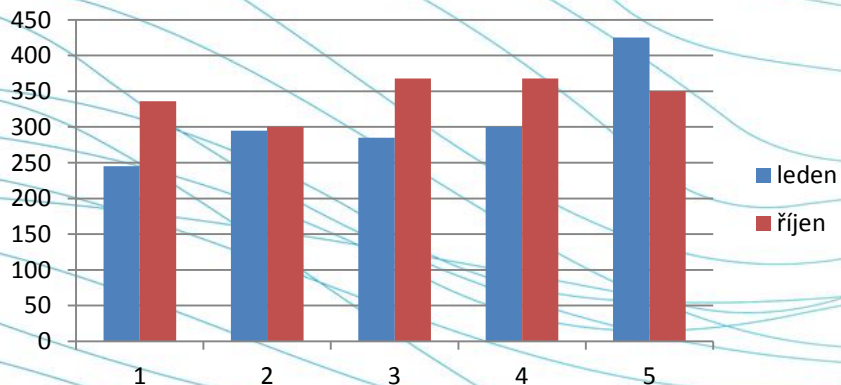




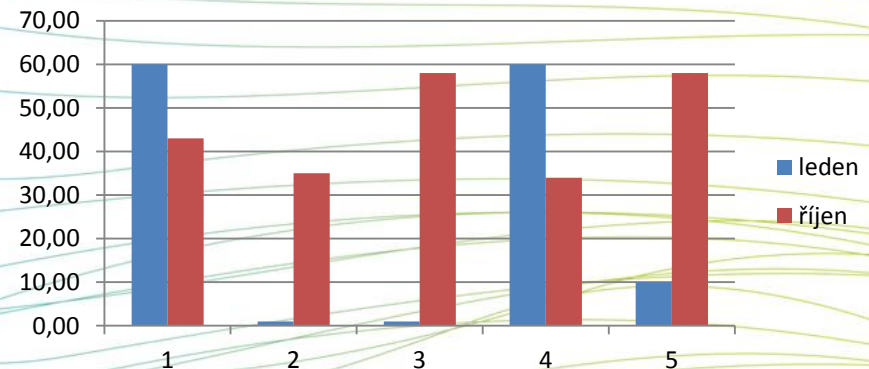
# Novinky v mikrobiologii vody

**Česká sbírka mikroorganismů – Kontrolní kmeny ve formě želatinových disků s definovanou hodnotou cfu (1 lahvička, 10 disků, expirace 1 rok) . Pro vodu *E. faecalis*, *E. coli*, *S. aureus*). Nutné skladovat při -20 C!!! Stabilitu 1 rok jsme prokázali.**

Enterokoky, SB Merck, ktj/disk



E.coli Rapid 2 E. coli agar, ktj/disk





# Naše zkušenosti

- Nutno skladovat při -20 C ( je to jiné než u ostatních CCM, je to tam uvedeno)
- *E. coli* je méně stabilní než *E. faecalis*
- Dobrá manipulace s disky
- Lépe ponechat kultivaci 48 hodin než 24 hodin (nárůst na mFC a SB, dobarvení na Endo)



# Nejistoty

- LEDEN 2013
- ČSN ISO 29201: Variabilita výsledků zkoušek  
nejistota měření u mikrobiologických zkoušek (757014)
- 14 stran textu, 14 příloh (A až N)
- Nedává jednoznačný návod jak stanovit nejistotu, ale dílo je to rozumné.
- NUTNO PROSTUDOVAT a ROZHODNOUT (výpočty až později)
- Jsou uvedeny i další odkazy na literaturu. Vhodná je spolupráce mikrobiologa a statistika.



# Nejistota měření

- Je definována jako „parametr spojený s výsledkem měření, jenž charakterizuje rozptýlení hodnot , které může být přisouzeno měřené veličině“.
- Parametr se vyjadřuje jako standardní nejistota, nebo relativní standardní nejistota.



# Dva možné postupy – nutno se správně rozhodnout

## Nejistota složka po složce

- Matrice a odběr podvzorků (není uvedena homogenizace)
- Zředění
- Zkoušený objem
- Inkubace
- Počítání

*Podle mě vhodnější, i když pracnější způsob*

## Globální postup stanovení operační nejistoty

Odkaz na ISO/TS 19036

Používají potravináři, pro vodu se zatím příliš neosvědčila.

### Vnitrolaboratorní reprodukovatelnost:

Stejný vzorek jiná osoba ve stejné laboratoři s použitím jiného zařízení, jiných šarží materiálu, jiných analytických podmínek a podmínek inkubace

Zřejmě proto pro vodu podhodnocené



# Co je to správně nastavená nejistota?

- Realistická pro analyzované vzorky v laboratoři (nízké hodnoty vers. „normální hodnoty“ tj. ktj/misce více než 10)
- Vejdou se do mezí výsledky duplicitních stanovení
- Umí se správně obhájit/ vysvětlit

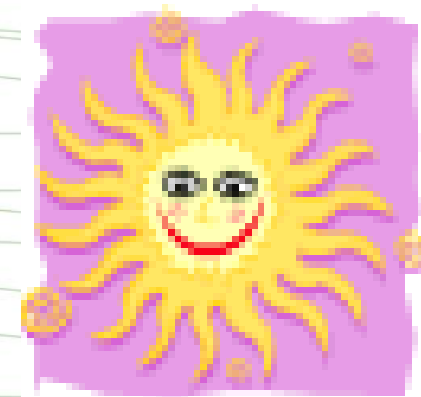


# Závěrečné poznámky

**Nikdy nebude** univerzální postup  
**vhodný** pro všechno a pro všechny a  
**tak je to správně**

Nikdo to za vás nemůže udělat

Dnes je to při všech povinných  
předpisech v podstatě jediná tvůrčí  
činnost v provozních laboratořích 😊





# Praktické školení v metodách mikrobiologie vody

Bude vypsáno s největší pravděpodobností na konec ledna 2014, pokud budou zájemci

2\* půldenní odpoledne+ dopoledne, max 6 frekventantů na kurz, možnost noclehu ve VÚV T.G.M., v.v.i.

Účastníci MPZ organizovanými ASLAB v letošním roce budou mít významné slevy.



**Prezentace bude do konce června k dispozici ke stažení**

**WWW.VUV.CZ**

**HEIS**

Databáze

Projekty

Metody mikrobiologického rozboru vod, jejich unifikace a  
uplatnění v hydroanalytických laboratořích  
Plánované akce, pořádané oddělením mikrobiologie vody

**Na této adrese jsou stále prezentace i z let minulých**



Dana Baudišová

# Novinky v mikrobiologii vody 2013