

Dana Baudišová

Novinky v mikrobiologii vody 2016

Nová Směrnice EU o „pitné vodě“

Vyšla na podzim 2015, do 2 let nutná implementace v České republice (tzn. bude nová vyhláška)

Hlavní změny (pro mikrobiology):

Nová metoda stanovení koliformních bakterií a *E. coli* dle ČSN EN ISO 9308-1

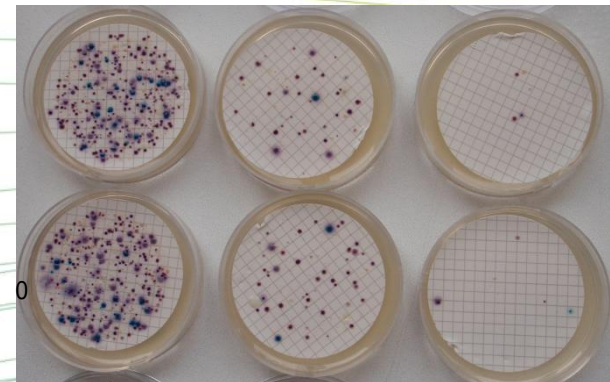
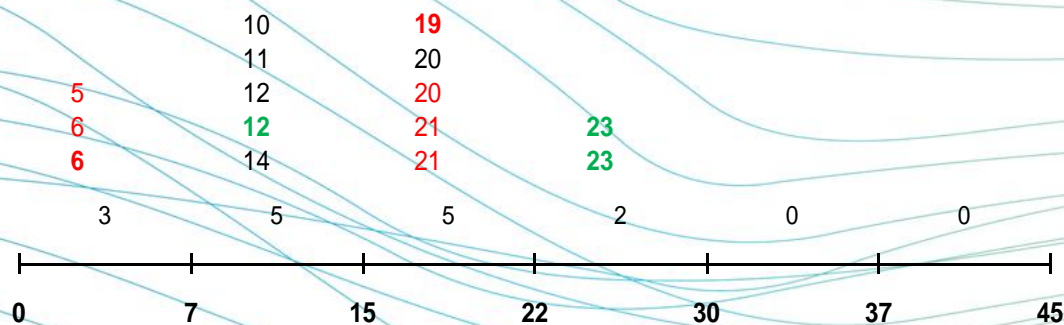
Metoda dle ČSN EN ISO 9308-2 (Colilert)
plnohodnotná alternativní metoda

Nová metoda stanovení *Clostridium perfringens*

ČSN EN ISO 9308-1

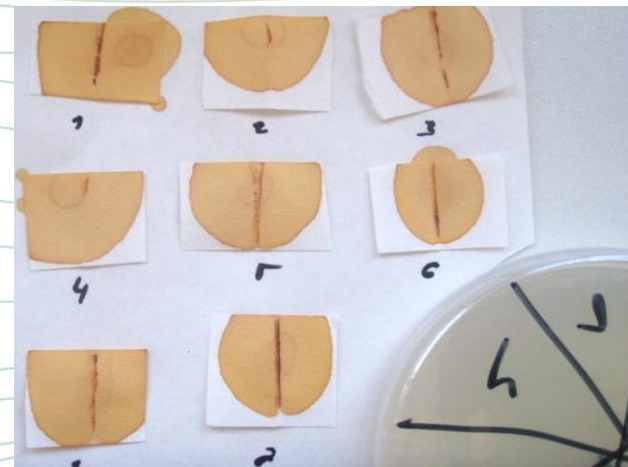
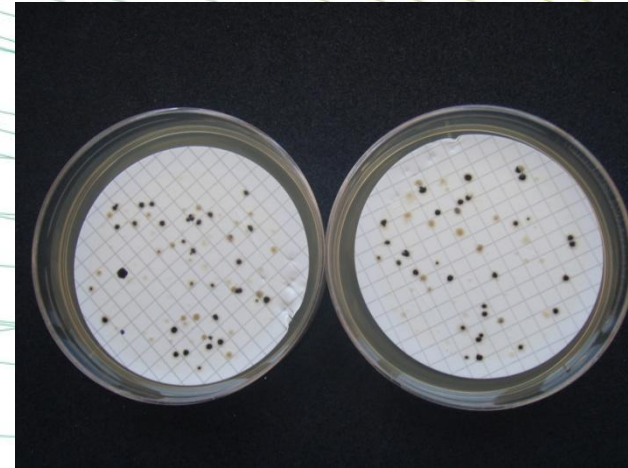
- Postupně se zavedlo do praxe laboratoří
- Dobré výsledky v ZZ
- Zatím není ohlas z IS PiVO (potenciální zhoršení kvality pitné vody v ukazateli koliformní bakterie?)
- Bohužel nevhodné pro malé nedesinfikované studny ☹
- ISO 9308-4?
- Jednotliví výrobci se hůře hodnotili (málo informací) u *E. coli* stejné

Histogram výsledků měření
počtu kolonií koliformních bakterií podle ČSN EN ISO 9308-1 (2015)



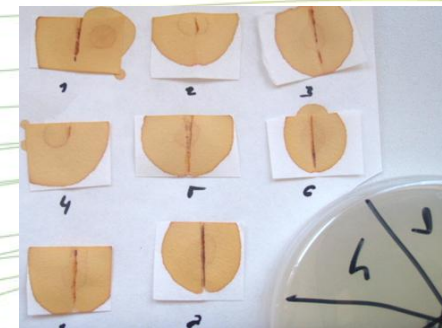
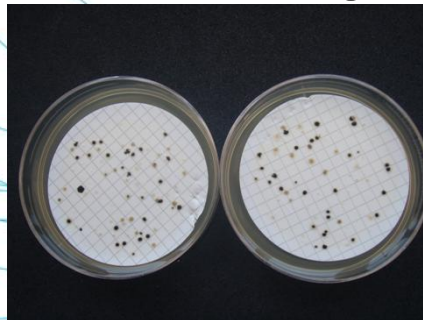
Clostridium perfringens

- ISO 14189: 2013 Jakost vod. Stanovení *Clostridium perfringens*. Schvaluje se EN ISO, do konce roku bude ČSN EN ISO a též bude v nové Směrnici o pitné vodě (povinné)
- My jsme dělali paralelně i v rámci tohoto OR , náš průměr (z 5 vzorků) 19,4 KTJ/10 ml, vztažná hodnota 20 KTJ/10 ml.



Princip metody

- Membránová filtrace vzorků (porozita 0,45 μm !) a anaerobní kultivace na **TSC agaru** (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 drahé (vydrží minimálně, a jedna složka je vysoce kancerogenní);



Norma ČSN EN ISO 11133

„Mikrobiologie potravin, krmiv a vody – Příprava, výroba, uchovávání a zkoušení výkonnosti kultivačních půd“

- Týká se kontroly kultivačních médií referenčními kmeny
- Novela zahrnuje i média na analýzy vod
- Konkrétní médiu/konkrétní referenční kmen, většinou kvalitativní testy, zohledňuje se i v nabídce České sbírky mikroorganismů
- ***Přestože platí od prosince 2014 , je často bez povšimnutí !!***
- **Tč. povinné pro ČSN EN ISO 9308-1 (2015) bude povinné pro ČSN EN ISO 14189 a po revizi ČSN EN ISO 8199 bude povinné pro všechny zkoušky!**

Minimální povinnosti

- Pokud nebude mít dodavatel půd certifikát v souladu s ČSN EN ISO 11133, musí si laboratoř dle této normy testovat půdy sama.
- Mikrotesty na destičkách a test Colilert je nutné považovat za diagnostické sety a pracovat s nimi dle návodu výrobce.
- **Hotová média**, k nimž je přidán suplement, a mají-li doložen správný certifikát, nutno testovat jedenkrát ročně. U půd, které jsou méně selektivní, použít kmeny, jimiž se demonstruje funkce indikátorů a selektivita.
- Půdy, které splňují požadavky ČSN EN ISO 11133, je potřeba kvalitativně přezkoumat jedenkrát ročně.
- **U komerčně dostupných dehydratovaných půd** je nutné provádět kontroly dle ČSN EN ISO 11133 tab. E 1, F 1 při otevření nové šarže (dle vlastního postupu SOP). Nutno vyloučit všechny vlivy na kvalitu půdy (např. teplotu při rozechřívání, příp. autoklávování apod.)
- U činidel se laboratoře musí vždy řídit pokyny výrobce. Činidla nutno kontrolovat při otevření šarže a dále nejméně jedenkrát ročně.
- Při výběru kontrolních kmenů je nutné věnovat pozornost Národní příloze. Ta upozorňuje na skutečnost, že ČSN EN ISO 11133 zavádí nový systém označování kontrolních kmenů WDCM, které je nutné použít jako minimum pro zkoušení výkonnosti kultivačních půd, odlišný od dosavadního postupu. **CCM má na www stránkách „záložku“ se seznamem odpovídajících kmenů**

Příklad ČSN EN ISO 9308-1

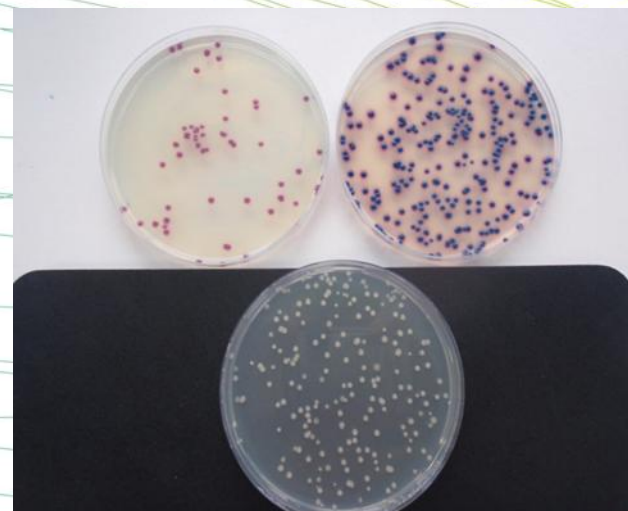
- Kap. 11.2. Zkoušení výkonnosti média CCA (odkaz na normu ČSN EN ISO 9308-1)
- Výsledky jsou uvedeny v tabulce 1:

Produktivita (kvantitativní), selektivita (kvalitativní),
specifita (kvalitativní)

- Doporučené kmeny: CCM dodává ve formě ŽD *E. coli* CCM 3954 = CCM 00013 , *Enterobacter aerogenes* CCM 7797 = WDCM 00175, *Enterococcus faecalis*, CCM 7000 = WDCM 00009 (u tohoto kmenu bohužel nikoliv ŽD) a *Pseudomonas aeruginosa* CCM 1960 = WDCM 00024.

Stanovení produktivity

- Udělat suspenzi ze ŽD doporučených referenčních kmenů v ředícím roztoku
- Udělat příslušné ředění, (případně vyzkoušet .. Je to okolo 10^{-5} , ale liší se podle stáří disku, bakteriálního kmene apod.)
- Naočkovat selektivní a neselektivní médium (Petriho misky o průměru 90 mm)
- Inkubovat předepsanou dobu
- Spočítat výsledky a vyhodnotit produktivitu (poměr nárůstu na selektivním a neselektivním médiu)



Praktické školení v metodách mikrobiologie vody

Bude vypsáno když se seženou 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.

Školení (s praktickými ukázkami) na *Clostridium perfringens* bude po schválení příslušné ČSN, nejpozději v únoru 2017 (nutno zavést do konce roku 2017)

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

<http://www.heisvuv.cz/data/spusteni/projekty/mikrobiologie/default.asp>

Kapitola plánované akce

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

Dana Baudišová

Novinky v mikrobiologii vody 2016