

Testování vzorků podzemní vody z pramenů na mikrobiologická stanovení

Doškolovací seminář Manažerů vzorkování podzemních vod 15. 6. 2022 - Český ráj

Úvod

Společnost Forsapi, s.r.o. zajišťuje vzdělávání pracovníků laboratoří a konzultačních společností zabývajících se odběrem a vyhodnocením výsledků zkoušek vzorků podzemních vod. Smyslem doškolovacích seminářů je zvyšovat odborné a praktické znalosti účastníků v oblastech souvisejících se zkoušením kvality podzemní vody pro různé účely. Jednotlivé semináře jsou vždy věnovány vybraným problematickým okruhům v testování podzemní vody. V jejich průběhu jsou mimo jiné ověřovány rozličné postupy vzorkování a testovány postupy laboratoří s cílem zlepšovat informovanost uchazečů o nejistotách zkoušení pro potřeby interpretace výsledků a rovněž usilovat o sjednocování metodik vzorkování a laboratorních prací vedoucí k vyšší spolehlivosti výsledků zkoušení při testování kvality podzemní vody.

Dne 15. 6. 2022 byl uspořádán doškolovací seminář v Radvánovicích u Turnova zaměřený na problematiku vzorkování pramenů, zabezpečení pramenů využívaných jako vodní zdroje a dále na problematiku mikrobiologických stanovení v pitné a v podzemní vodě.

V teoretické části semináře byla přednesena prezentace Ing. Martina Zrzaveckého (ČHMÚ) zaměřená na správu a údržbu pramenů zařazených do pozorovací sítě Českého hydrometeorologického ústavu, RNDr. Svatopluka Šedy (FinGeo s.r.o.) věnovaná konstrukci a založení jímacích objektů, jejich údržbě a ochraně. Problematice mikrobiologických testování pitných vod a odběrům vzorků pro mikrobiologická stanovení byla věnována přednáška RNDr. Dany Baudišové Ph.D. (SZÚ Praha).

Součástí semináře byla praktická část soustředěná na procvičování účastníků v odeírání vzorků pro potřeby mikrobiologických stanovení, která probíhala na vybraných pramenech v Radvánovicích a v Sedmihorkách v Českém ráji.

Cílem praktické části semináře bylo rovněž ověřit srovnatelnost výsledků zúčastněných laboratoří pro stanovení mikrobiologických ukazatelů v podzemní vodě odebrané z pramenů. Mikrobiologické zkoušky na pramenech nejsou až tak neobvyklou službou. Někteří objednatelé (zejména v turisticky zajímavých lokalitách, nebo u oblíbených pramenů) si zadávají analýzy podzemní vody z pramenů, aby následně občany prostřednictvím zveřejnění protokolů o zkoušce informovali, zda je voda z pramene pitná.

Účast na praktickém testování laboratoří přijaly 4 laboratoře, které poskytují odběry a analýzy pitných vod klientům v České republice. Velice těmto laboratořím děkujeme za jejich účast, která svědčí o snaze těchto laboratoří po trvalém zlepšování jejich služeb, a zejména za jejich velmi vstřícný přístup.

Zkušební laboratoře jsou akreditované ČIA. V tabulce 1 je uveden přehled zúčastněných laboratoří.

Tabulka 1: Přehled zúčastněných laboratoří (seřazených abecedně)

Název laboratoře	Adresa laboratoře
ALS Czech Republic s.r.o.	Na Harfě 336/9, 190 00 Praha 9
Aquatest a.s.	Geologická 4, 152 00 Praha 5
BIOANALYTIKA CZ, s.r.o.	Píšťovy čp. 820, 537 01 Chrudim III
Laboratoř MORAVA s.r.o.	Oderská 456, 742 13 Studénka

Postup praktického testování

Předmětem testování vzorků podzemní vody z pramenů bylo:

- odběr vzorků podzemní vody z pramenů pracovníky laboratoří, zabezpečení a transport vzorků do laboratoře,
- mikrobiologická stanovení v rozsahu přílohy č. 1 k vyhlášce č.252/2004 Sb. pro podzemní vodu, tzn. stanovení vybraných organismů – Escherichia coli, intestinální enterokoky, koliformní bakterie, počty kolonií při 22°C, počty kolonií při 36°C a mikroskopický obraz.

Odběr a úprava vzorků

V průběhu praktické části semináře byly provedeny odběry vzorků z 3 pramenů (pramen Hurtík v Radvánovicích u Turnova, pramen Josef a pramen Antonín v Sedmihorkách v Českém ráji). Z každého pramene byla každou laboratoří odebrána dvojice vzorků. Postup byl volen tak, že si každá posádka odebrala nejprve 1. vzorek z daného objektu a poté, kdy poslední ze zúčastněných svůj první odběr ukončil, byl proveden odběr 2. vzorku z daného pramene. Celková doba odběru dvojic vzorků u daného pramene byla cca 10 minut. Podobně byly realizovány odběry dvojic vzorků na dvou dalších pramenech.

Odběry zajišťovaly posádky jednotlivých laboratoří podle standardního operačního postupu své laboratoře. Vzorky si vzorkaři v souladu se SOP zabezpečili a doručili do své laboratoře.

Laboratoře byly o uvedeném postupu předem informovány.

Odběry vzorků byly dokumentovány na protokolech (záznamech) o odběru vzorků, tak jak je jednotlivé laboratoře používají. Shrnutí hlavních informací z protokolů je uvedeno v tabulce 2. Označení laboratoří číslicí je v tabulce uvedeno v náhodném pořadí, stejné označení je používáno ve všech dalších tabulkách.

Tabulka 2: Přehled hlavních informací o odběru a transportu vzorků

Označení laboratoře	1	2	3	4
Postupy	odběr a transport vzorků			
vzorkovnice	PET, vyrobeno z potravinářského plastu, sterilní	v protokolu o odběru neuvedeno	v protokolu o odběru neuvedeno	plast, sterilní
měření fyzikálních parametrů v terénu	teplota vody	teplota vody	teplota vody	-
chlazení vzorku při transportu (dle údajů datalogeru)	chladič box, dataloger: teplota 5,5 až 14,4°C nad 8°C (v době od 13:50 do 18:10 hod.)	chladič box, dataloger: teplota 2,9 až 18,8°C nad 8°C (v době od 13:50 do 14:55 hod.)	chladič box, dataloger: teplota 4 až 7,5°C (Hurtík) teplota 7 až 8°C (Josef) teplota 2 až 10,5°C (Antonín)	chladič box, dataloger: teplota 2,9 až 4,9°C
předání vzorku do laboratoře	16.6.2022 - 6:00 hodin	15.6.2022 - 16:45 hodin	15.6.2022 - 16:00 hodin	15.6.2022 - 15:55 hodin

Obecné požadavky na odběr vzorků pro mikrobiologická stanovení jsou uvedeny v normě ČSN EN ISO 19458 Jakost vod – Odběr vzorků pro mikrobiologickou analýzu. Norma uvádí doporučené a přijatelné maximální doby pro uchování vzorku včetně dopravy. Pro počty kolonií (22°C a 36°C) je doporučena doba 8 hodin, přijatelná doba je 12 hodin. Pro stanovení koliformních bakterií a stanovení E.coli je doporučena doba 12 hodin, přijatelná doba ještě je 18 hodin. Výsledky získané po době uchování delší, než je doporučeno, by dle normy měly být uvedeny jako výsledky získané po *n* hodinách. *(S ohledem na různou vzdálenost laboratoří od místa odběru a jejich pracovní dobu bylo zahájení mikrobiologických stanovení dohodnuto na 8. hodinu následující den po odběru – tj. cca 18 hodin po odběru).*

Norma dále uvádí zásadní požadavek pro teplotu uchování vzorku při dopravě a při uchování před analýzou - 5±3°C. Všechny laboratoře používaly při transportu vzorků dataloger pro pravidelné sledování teploty uchování vzorku, proto bylo možné ověřit splnění požadavků normy na dodržení teploty (tabulka 2). Laboratoře 1, 2, 4 monitorovaly teplotu vzorků pomocí jednoho datalogeru (vzorkovnice měly umístěny v jednom chladicím boxu), laboratoř 3 použila pro každý vzorek samostatný chladicí box a snímač teploty. Požadavky normy na uchování teploty vzorku po dobu transportu vzorku byly dle záznamů splněny laboratoří 4 (mezi odběrem a předáním vzorků do laboratoře se teplota v boxu pohybovala mezi 2,9 až 4,9°C). Laboratoř 3 splnila požadavky na teplotu při transportu u vzorků pramen Hurtík a pramen Josef, vzorek z pramene Antonín byl přepravován při teplotě 9,5 až 10,5°C. Teplota v chladicím boxu laboratoře 1 se pohybovala mezi 5,5 až 14,4°C (nad 8°C byl vzorek v době od 13:50 do 18:10 hodin). Podle záznamu datalogeru se rozpětí teplot v transportním boxu laboratoře 2 měnilo mezi 2,9°C až 18,8°C (nad teplotou 8°C byla teplota zastižena mezi 13:50 a 14:55 hodinou – tj. čas odběru a krátce po něm). Laboratoře 2, 3 a 4 stihly vzorky do laboratoře předat do 17. hodiny, vzorek laboratoře 1 byl předán v 6 hodin následující den po odběru.

Laboratorní analýzy

Každá ze zúčastněných laboratoří zpracovala 6 vzorků (tři dvojice replicitních vzorků) odebraných vlastními vzorkaři. Testování se zúčastnily 4 zkušební laboratoře akreditované ČIA.

Přehled použitých metod pro mikrobiologická stanovení, parametry stanovení, včetně doby zahájení zkoušek uvádí tabulka 3 (uvedeny jsou pouze informace zapsané laboratořemi v listu pro záznam testu).

Tabulka 3: Přehled použitých metody pro mikrobiologická stanovení, základní parametry stanovení

Označení laboratoře	1	2	3	4
Postupy	E.coli/100 ml			
pracovní postup	neuveдено	neuveдено	ČSN EN ISO 9308-1:2015	ČSN EN ISO 9308-1
kultivační médium	půda: CCA	půda: CCA	půda: CCA - Chromogenic Coliform Agar	půda: CCA
podmínky kultivace	kultivační teplota 37°C - 24 hodin	teplota 36°C, doba 24 hodin	teplota 36+/-2°C, doba 21+/-3 hodiny	kultivační teplota 37°C - 24 hodin
ředění použité pro platné výsledky	membránový filtr postupně 100 ml, 10ml a 1ml	filtrace 1 ml, 10ml a 100 ml	membránový filtr (0,45μm)	neuveдено
zahájení stanovení (datum, čas)	16.9.2022 - 8:00 hodin	16.9.2022 - 8:00 hodin	16.9.2022 - 8:00 hodin	16.9.2022 - 9:00 hodin

Tabulka 3: Přehled použitých metody pro mikrobiologická stanovení, základní parametry stanovení - pokračování

Označení laboratoře	1	2	3	4
Postupy	Intestinální enterokoky/100 ml			
pracovní postup	neuveдено	neuveдено	ČSN EN ISO 7899-2:2001	ČSN EN ISO 7899-1
kultivační médium	půda: Slanetz-Bartley	půda: SB, filtr s presumptivními enterokoky předán na půdu ŽE	půda: Slanetz-Bartley, filtr s presumptivními enterokoky předán na půdu ŽE	půda: CCA
podmínky kultivace	kultivační telota 37°C - 48 hodin	teplota 36°C, doba 48 hodin, na půdě ŽE 44°C 2 - 4hodiny	teplota 36+/-2°C, doba 44+/-4 hodiny, na půdě ŽE teplota 44+/-0,5°C po dobu 2 hodin	kultivační telota 37°C - 48 hodin
ředění použité pro platné výsledky	membránový filtr postupně 100 ml, 10ml a 1ml	filtrace 1 ml, 10ml a 100 ml	membránový filtr (0,45µm)	neuveдено
zahájení stanovení (datum, čas)	16.9.2022 - 8:00 hodin	16.9.2022 - 8:00 hodin	16.9.2022 - 8:00 hodin	16.9.2022 - 9:00 hodin
Postupy	koliformní mikr./100 ml			
pracovní postup	neuveдено	neuveдено	ČSN EN ISO 9308-1:2015	ČSN EN ISO 9308-1
kultivační médium	půda: CCA	půda: CCA	půda: CCA - Chromogenic Coliform Agar	půda: CCA
podmínky kultivace	kultivační telota 37°C - 24 hodin	teplota 36°C, doba 24 hodin	teplota 36+/-2°C, doba 21+/-3 hodiny	kultivační telota 37°C - 24 hodin
ředění použité pro platné výsledky	membránový filtr postupně 100 ml, 10ml a 1ml	filtrace 1 ml, 10ml a 100 ml	membránový filtr (0,45µm)	neuveдено
zahájení stanovení (datum, čas)	16.9.2022 - 9:00 hodin	16.9.2022 - 8:00 hodin	16.9.2022 - 8:00 hodin	16.9.2022 - 9:00 hodin
Postupy	KTJ při 22°C/1 ml			
pracovní postup	neuveдено	neuveдено	ČSN EN ISO 6222:2000	ČSN EN ISO 6222
kultivační médium	půda: PCA bez dextrózy	Trypton agar s kvasničním extraktem) (HIMEDIA)	půda - agar s kvasničním extraktem	TKA (půda s kvasničním extraktem)
podmínky kultivace	22°C - 72 hodin	22°C - 72 hodin	22± 2°C 68±4h	teplota 22°C, doba 72 hodiny
ředění použité pro platné výsledky	1 ml vzorku	neředěný a ředěný 1:10	1 ml vzorku	neuveдено
zahájení stanovení (datum, čas)	16.9.2022 - 8:00 hodin	16.9.2022 - 8:00 hodin	16.9.2022 - 8:00 hodin	16.9.2022 - 9:00 hodin
Postupy	KTJ při 36°C/1 ml			
pracovní postup	neuveдено	neuveдено	ČSN EN ISO 6222:2000	ČSN EN ISO 6222
kultivační médium	půda: PCA bez dextrózy	Trypton agar s kvasničním extraktem) (HIMEDIA)	půda - agar s kvasničním extraktem	TKA (půda s kvasničním extraktem)
podmínky kultivace	37°C - 48 hodin	36°C - 48 hodin	36± 2°C 44±4h	teplota 36°C, doba 48 hodiny
ředění použité pro platné výsledky	1 ml vzorku	neředěný a ředěný 1:10, 1 ml	1 ml vzorku	neuveдено
zahájení stanovení (datum, čas)	16.9.2022 - 8:00 hodin	16.9.2022 - 8:00 hodin	16.9.2022 - 8:00 hodin	16.9.2022 - 9:00 hodin

Laboratoře 1, 2 a 3 zahájily mikrobiologická stanovení podle domluvy v 8 hodin následující den, laboratoř 4 zahájila zkoušky o hodinu později (v 9 hodin).

Výsledky mikrobiologických stanovení

Celkový počet účastníků byl pro možnost statistického vyhodnocení výsledků nedostatečný. Pouze pro orientační hodnocení byl použit Hornův postup pro malé soubory k určení výsledků, které lze považovat za odlehle (tj. ležící vně 95% intervalu spolehlivosti pro střední hodnotu).

Stanovení *Escherichia coli*

Přehled výsledků mikrobiologických stanovení – *E. coli*, vztažených k hygienickým limitům dle přílohy č.1 k Vyhlášce č.252/2004 Sb. je pro odebrané vzorky uveden v tabulce 4a.

V tabulce 4b jsou výsledky statisticky zpracovány, v tabulce jsou pro jednotlivé laboratoře uvedeny průměrné hodnoty a variační koeficient obou výsledků a pro každý pramen pak hodnota intervalu spolehlivosti na hladině významnosti 95% s použitím Hornova postupu pro malé soubory s vyznačením výsledku nacházejícího se mimo daný interval spolehlivosti.

Tabulka 4a: Přehled výsledků mikrobiologických stanovení v podzemní vodě – *Escherichia coli*

Označení laboratoře	1	2	3	4
název vzorku	E.coli/100 ml			
1. Pramen Hurtík	7	0	0	5
	7	0	0	4
2. Pramen Josef	0	0	0	1
	0	0	0	2
3. Pramen Antonín	2	1	1	5
	4	0	2	2
Pitná voda (Vyhláška č.254/2005)	0			

Tabulka 4b: Statistické zpracování výsledků – *Escherichia coli*

Označení laboratoře		1	2	3	4
název vzorku		E.coli/100 ml			
1. Pramen Hurtík	průměr	7	0	0	5
	variační koeficient	0%	N	N	19,69%
	Interval spolehlivosti IS	0 až 7			
	výsledek vně IS				
2. Pramen Josef	průměr	0	0	0	2
	variační koeficient	N	N	N	59%
	Interval spolehlivosti IS	0 až 1			
	výsledek vně IS				2
3. Pramen Antonín	průměr	3	1	2	4
	variační koeficient	59%	177%	59%	76%
	Interval spolehlivosti IS	1 až 4			
	výsledek vně IS				5
Vysvětlivky:	N	nelze určit			

Z tabulek 4 vyplývá:

- Pramen Hurtík podle výsledků laboratoře č. 1 a laboratoře č. 4 nesplňuje požadavky na pitnou vodu, laboratoře č. 2 a č. 3 mohou dle obsahu *E. coli* pramen prohlásit za pitnou vodu (podle požadavků na pitnou vodu dle Vyhlášky č.252/2004 Sb.).
- Pramen Josef podle výsledků laboratoře č. 4 požadavky Vyhlášky č. 252/2004 Sb. nesplňuje, ale podle výsledků laboratoří č. 1 až 3 požadavkům na pitnou vodu vyhovuje.
- Pramen Antonín je dle výsledků všech laboratoří hodnocen jako nevyhovující
- Vzájemnou shodu laboratoří ve stanovení *E. coli* lze považovat za velmi dobrou, i když neumožňují hodnotit prameny z hlediska vyhovění požadavkům na pitnou vodu identicky. Za odlehle výsledky podle Hornova postupu lze hodnotit vždy jeden z výsledků laboratoře č. 4 ve vzorku pramene Josef a pramene Antonín. Celkově vyšší počty *E. coli* byly ve srovnání pozorovány u laboratoří č. 1 a č. 4 na všech hodnocených pramenech.

Stanovení intestinálních enterokoků

Přehled výsledků mikrobiologických stanovení – intestinální enterokoky, vztažených k hygienickým limitům dle přílohy č. 1 k Vyhlášce č.252/2004 Sb. je pro odebrané vzorky uveden v tabulce 5a.

V tabulce 5b jsou pro jednotlivé laboratoře uvedeny průměrné hodnoty a variační koeficient obou výsledků a pro každý pramen pak hodnota intervalu spolehlivosti na hladině významnosti 95% s použitím Hornova postupu pro malé soubory s vyznačením výsledku nacházejícího se mimo daný interval spolehlivosti.

Tabulka 5a: Přehled výsledků mikrobiologických stanovení v podzemní vodě – enterokoky

Označení laboratoře	1	2	3	4
název vzorku	Intestinální enterokoky/100 ml			
1. Pramen Hurtík	0	0	0	0
	0	0	0	0
2. Pramen Josef	0	0	0	0
	0	0	0	0
3. Pramen Antonín	4	6	4	4
	6	4	5	4
Pitná voda (Vyhláška č.254/2005)	0			

Tabulka 5b: Statistické zpracování výsledků – enterokoky

Označení laboratoře		1	2	3	4
název vzorku		Intestinální enterokoky/100 ml			
1. Pramen Hurtík	průměr	0	0	0	0
	variační koeficient	N	N	N	N
	Interval spolehlivosti IS	0 až 0			
	výsledek vně IS				
2. Pramen Josef	průměr	0	0	0	0
	variační koeficient	N	N	N	N
	Interval spolehlivosti IS	0 až 0			
	výsledek vně IS				
3. Pramen Antonín	průměr	5	5	5	4
	variační koeficient	35%	35%	20%	0%
	Interval spolehlivosti IS	4 až 6			
	výsledek vně IS				
Vysvětlivky:	N	nelze určit			

Z tabulek 5 vyplývá:

- Na základě výsledků všech zúčastněných laboratoří lze kontrolované prameny hodnotit z hlediska využití pro pitné účely identicky. Pramen Hurtík a pramen Josef podle výsledků laboratoří splňují požadavky na pitnou vodu, pramen Antonín požadavkům na pitnou vodu dle Vyhlášky č.252/2004 Sb. nevyhovuje.
- Všechny naměřené výsledky se nacházely v intervalu spolehlivosti okolo střední hodnoty při hladině významnosti 95% podle vyhodnocení Hornovým postupem pro malé soubory.
- Vzájemnou shodu laboratoří ve stanovení intestinálních enterokoků lze považovat za výbornou.

Stanovení koliformních bakterií

Přehled výsledků stanovení koliformních bakterií, vztažených k hygienickým limitům dle přílohy č. 1 k Vyhlášce č.252/2004 Sb., je pro odebrané vzorky uveden v tabulce 6a.

V tabulce 6b jsou uvedeny průměrné hodnoty a variační koeficient obou výsledků a pro každý pramen hodnota intervalu spolehlivosti pro hladinu významnosti 95% s použitím Hornova postupu pro malé soubory s vyznačením výsledku nacházejícího se mimo daný interval spolehlivosti.

Tabulka 6a: Přehled výsledků mikrobiologických stanovení v podzemní vodě – koliformní bakterie

Označení laboratoře	1	2	3	4
název vzorku	koliformní mikr./100 ml			
1. Pramen Hurtík	240	110	4	130
	180	120	4	53
2. Pramen Josef	43	17	5	123
	52	13	6	46
3. Pramen Antonín	190	28	28	167
	160	21	32	152
Pitná voda (Vyhláška č.254/2005)	0			

Tabulka 6b: Statistické zpracování výsledků – koliformní bakterie

Označení laboratoře		1	2	3	4
název vzorku		koliformní mikr./100 ml			
1. Pramen Hurtík	průměr	210	115	4	92
	variační koeficient	25%	8%	0%	75%
	Interval spolehlivosti IS	-7 až 192			
	výsledek vně IS	240			
2. Pramen Josef	průměr	48	15	6	85
	variační koeficient	17%	24%	16%	81%
	Interval spolehlivosti IS	3 až 55			
	výsledek vně IS				123
3. Pramen Antonín	průměr	175	25	30	160
	variační koeficient	15%	25%	12%	8%
	Interval spolehlivosti IS	19 až 176			
	výsledek vně IS	190			

Z tabulek 6 vyplývá:

- Na základě výsledků všech zúčastněných laboratoří lze kontrolované prameny hodnotit z hlediska využití pro pitné účely identicky. Žádný z pramenů nesplňuje požadavky na pitnou vodu dle Vyhlášky č.252/2004 Sb.
- Průměrné hodnoty stanovení jednotlivých laboratoří se pohybují ve velmi širokém rozpětí (u jednotlivých pramenů), přitom variační koeficienty dvojic stanovení dané laboratoře u konkrétního pramene (vypovídající o heterogenitě testovaných pramenů) dosahují prvních desítek procent (s výjimkou laboratoře č. 4, kde je pozorována vyšší heterogenita výsledků u pramene Hurtík a pramene Josef).
- Za odlehle výsledky podle Hornova postupu lze hodnotit vždy jeden z výsledků laboratoře č. 1 u vzorku z pramene Hurtík a z pramene Antonín a jeden z výsledků laboratoře č. 4 stanovený na prameni Josef. Nejnižší hodnoty stanovení koliformních bakterií byly dosahovány laboratoří č. 3 (zejména na pramenech Hurtík a Josef, kde stanovené počty koliformních bakterií měly ostatní laboratoře řádově vyšší).
- Je nutné konstatovat, že metoda stanovení koliformních bakterií dle vyhlášky 252/2004 Sb. je určena především pro vody dezinfikované a pro vody s vyšším obsahem doprovodné mikroflóry příliš vhodná není. To může být jednou z příčin vyššího rozptylu výsledků

Stanovení počtu kolonií při 22°C

Přehled výsledků stanovení počtu kolonií při 22°C, vztažených k hygienickým limitům dle přílohy č. 1 k Vyhlášce č.252/2004 Sb., je pro odebrané vzorky uveden v tabulce 7a a statistické zpracování je v tabulce 7b.

Tabulka 7a: Přehled výsledků mikrobiologických stanovení v podzemní vodě – počty kolonií při 22°C

Označení laboratoře	1	2	3	4
název vzorku	KTJ při 22°C/1 ml			
1. Pramen Hurtík	29	26	2	5
	20	24	3	4
2. Pramen Josef	185	50	119	90
	138	60	103	92
3. Pramen Antonín	127	27	67	57
	166	25	45	87
Pitná voda (Vyhláška č.254/2005)	200			

Tabulka 7b: Statistické zpracování výsledků – počty kolonií při 22°C

Označení laboratoře		1	2	3	4
název vzorku		KTJ při 22°C/1 ml			
1. Pramen Hurtík	průměr	25	25	3	5
	variační koeficient	33%	7%	35%	20%
	Interval spolehlivosti IS	2 až 27			
	výsledek vně IS	29			
2. Pramen Josef	průměr	162	55	111	91
	variační koeficient	26%	16%	13%	2%
	Interval spolehlivosti IS	55 až 143			
	výsledek vně IS	185	50		
3. Pramen Antonín	průměr	147	26	56	72
	variační koeficient	24%	7%	35%	37%
	Interval spolehlivosti IS	20 až 133			
	výsledek vně IS	166			
Vysvětlivky:	N	nelze určit			

Z tabulek 7 vyplývá:

- Na základě výsledků všech zúčastněných laboratoří lze kontrolované prameny z hlediska využití pro pitné účely hodnotit identicky. Všechny prameny splňují požadavky na pitnou vodu dle Vyhlášky č.252/2004 Sb.
- Rozptyl výsledků průměrných hodnot stanovení počtu kolonií při 22°C je poměrně vysoký (viz. tabulka 7b). Za odlehle výsledky podle Hornova postupu lze hodnotit vždy jeden z výsledků laboratoře č. 1 u vzorku z pramene Hurtík, z pramene Josef a z pramene Antonín a jeden z výsledků laboratoře č. 2 stanovený na prameni Josef.

Stanovení počtu kolonií při 36°C

Přehled výsledků stanovení počtu kolonií při 36°C, vztažených k hygienickým limitům dle přílohy č. 1 k Vyhlášce č.252/2004 Sb., je pro odebrané vzorky uveden v tabulce 8a a statistické zpracování je shrnuto v tabulce 8b.

Tabulka 8a: Přehled výsledků mikrobiologických stanovení v podzemní vodě – počty kolonií při 36°C

Označení laboratoře	1	2	3	4
název vzorku	KTJ při 36°C/1 ml			
1. Pramen Hurtík	10	15	3	12
	13	16	2	11
2. Pramen Josef	9	11	0	20
	6	12	0	23
3. Pramen Antonín	5	14	6	12
	3	11	8	13
Pitná voda (Vyhláška č.254/2005)	40			

Tabulka 8b: Statistické zpracování výsledků – počty kolonií při 36°C

Označení laboratoře		1	2	3	4
název vzorku		KTJ při 36°C/1 ml			
1. Pramen Hurtík	průměr	12	16	3	12
	variační koeficient	23%	6%	35%	8%
	Interval spolehlivosti IS	2 až 15			
	výsledek vně IS		16	2	
2. Pramen Josef	průměr	8	12	0	22
	variační koeficient	35%	8%	N	12%
	Interval spolehlivosti IS	-1 až 21			
	výsledek vně IS				23
3. Pramen Antonín	průměr	4	13	7	13
	variační koeficient	44%	21%	25%	7%
	Interval spolehlivosti IS	4 až 13			
	výsledek vně IS	3	14		
Vysvětlivky:	N	nelze určit			

Z tabulek 8 vyplývá:

- Na základě výsledků všech zúčastněných laboratoří lze kontrolované prameny z hlediska využití pro pitné účely hodnotit identicky. Všechny prameny splňují požadavky na pitnou vodu dle Vyhlášky č.252/2004 Sb.
- Za odlehlé výsledky podle Hornova postupu lze hodnotit vždy jeden z výsledků laboratoře č. 1 u vzorku z pramene Antonín, jeden z výsledků laboratoře č. 2 stanovený na prameni Hurtík a prameni Antonín, jeden z výsledků laboratoře č. 3 na prameni Hurtík a jeden z výsledků laboratoře č. 4 na prameni Josef.

Mikroskopický obraz

Laboratoře č. 1 až 3 se účastnily na porovnání výsledků mikroskopického obrazu vzorků z kontrolovaných pramenů. Laboratoř č. 4 se tohoto porovnání neúčastnila. Přehled výsledků je uveden v tabulkách 9, výsledky jsou vztažené k hygienickým limitům dle přílohy č. 1 k Vyhlášce č.252/2004 Sb.

Tabulka 9: Přehled výsledků z mikroskopického obrazu vzorků

název vzorku	Mikroskopický obraz - abioseston (%)			
1. Pramen Hurtík	0	0	<1	laboratoř se neúčastnila
	0			
2. Pramen Josef	0	0	1	laboratoř se neúčastnila
	0			
3. Pramen Antonín	0	0	1	laboratoř se neúčastnila
	0			
Pitná voda (Vyhláška č.254/2005)	5			
název vzorku	Mikroskopický obraz - počet organismů (jedinci/ml)			
1. Pramen Hurtík	0	1	0	laboratoř se neúčastnila
	0			
2. Pramen Josef	0	1	0	laboratoř se neúčastnila
	0			
3. Pramen Antonín	0	1	2	laboratoř se neúčastnila
	0			
Pitná voda (Vyhláška č.254/2005)	50			
název vzorku	Mikroskopický obraz - živé organismy (jedinci/ml)			
1. Pramen Hurtík	3	0	0	laboratoř se neúčastnila
	4			
2. Pramen Josef	2	0	0	laboratoř se neúčastnila
	2			
3. Pramen Antonín	5	0	2	laboratoř se neúčastnila
	5			
Pitná voda (Vyhláška č.254/2005)	0			

Z tabulek 9 vyplývá:

- Na základě výsledků mikroskopického obrazu – abioseston a počet organismů posuzují všechny zúčastněné laboratoře kontrolované prameny identicky (z hlediska využití pro pitné účely).
- Rozdílné hodnocení je pozorováno při srovnání výsledků mikroskopického obrazu – živé organismy. Podle laboratoře č. 1 jsou všechny prameny nevyhovující, naopak podle laboratoře č. 2 jsou všechny prameny v souladu s požadavky na pitnou vodu dle Vyhlášky č.252/2004 Sb. Podle výsledků laboratoře č. 3 splňují požadavky na pitnou vodu prameny Hurtík a Josef, ale pramen Antonín je nevyhovující.
- Poněkud překvapivé jsou výsledky mikroskopického obrazu – živé organismy získané laboratoří č. 1, která má ve všech pramenech pozitivní nálezy živých organismů, zatímco počty organismů jsou negativní.

Výsledky mikrobiologických stanovení v roce 2022 a 2016

Všechny laboratoře, které se účastnily testování v roce 2022, se participovaly také při obdobném zkoušení mikrobiologických ukazatelů v roce 2016. Protože 2 prameny (pramen Josef a pramen Hurtík) nebyly v roce 2016 testovány (místo nich byly ověřovány prameny Barbora a Boží pramen), jsou pouze pro zajímavost v tabulce 10 uvedeny výsledky z obou testování na prameni Antonín.

Tabulka 10: Přehled výsledků mikrobiologických stanovení v roce 2022 a 2016 na prameni Antonín

2022	1	2	3	4	2016	1	2	3	4
název vzorku	E.coli/100 ml				název vzorku	E.coli/100 ml			
3. Pramen Antonín	2	1	1	5	2. Pramen Antonín	0	0	1	8
	4	0	2	2		0	0	1	7
Pitná voda (Vyhláška č.254/2005)	0				Pitná voda (Vyhláška č.254/2005)	0			
název vzorku	koliformní mikr./100 ml				název vzorku	koliformní mikr./100 ml			
3. Pramen Antonín	190	28	28	167	2. Pramen Antonín	36	75	220	150
	160	21	32	152		34	74	240	33
Pitná voda (Vyhláška č.254/2005)	0				Pitná voda (Vyhláška č.254/2005)	0			
název vzorku	KTJ při 22°C/1 ml				název vzorku	KTJ při 22°C/1 ml			
3. Pramen Antonín	127	27	67	57	2. Pramen Antonín	>300	210	510	260
	166	25	45	87		>300	255	600	240
Pitná voda (Vyhláška č.254/2005)	200				Pitná voda (Vyhláška č.254/2005)	200			
název vzorku	KTJ při 36°C/1 ml				název vzorku	KTJ při 36°C/1 ml			
3. Pramen Antonín	5	14	6	12	2. Pramen Antonín	90	35	27	24
	3	11	8	13		80	39	27	17
Pitná voda (Vyhláška č.254/2005)	40				Pitná voda (Vyhláška č.254/2005)	40			

Výsledky obou zkoušení deklarují konzistentnost práce zúčastněných laboratoří i relativní stabilitu mikrobiologických vlastností pramenného vývěru pramene Antonín.

Závěr

Součástí praktické části doškolovacího semináře v Radvánovicích u Turnova dne 15. 6. 2022 bylo ověřování srovnatelnosti výsledků 4 zúčastněných laboratoří pro stanovení mikrobiologických ukazatelů v podzemní vodě odebrané z pramenů.

Za organizátora vzdělávání vzorkařů chci poděkovat všem zúčastněným laboratořím za spolupráci a vstřícný přístup při testování a přednášejícím za velmi zajímavé přednášky, které vedly k získání řady nových poznatků v dané problematice.

Vypracoval: RNDr. Petr Kohout (12.9.2022)