

Testování vzorků kalů z čištění komunálních odpadních vod odebraných v rámci Doškolovacího semináře Manažerů vzorkování odpadů 19. 6. 2024 v ČOV Blansko společnosti Vodárenská akciová společnost a.s.

Úvod

Společnost Forsapi, s.r.o. zajišťuje vzdělávání pracovníků laboratoří a konzultačních společností zabývajících se odběrem a vyhodnocením zkoušek vzorků odpadů. Jednotlivé vzdělávací semináře jsou věnovány vzorkování a zkoušení vybraných druhů odpadů. V průběhu seminářů jsou testovány rozličné postupy vzorkování odpadů a v návaznosti na ně i praxe laboratoří s cílem postupné optimalizace a sjednocování metodiky (postupů) vzorkování a laboratorních prací tak, aby se zvyšovala spolehlivost informací o vlastnostech odpadů pro konečné uživatele.

Ve spolupráci se společností Vodárenská akciová společnost a.s. byl dne 19. 6. 2024 uspořádán doškolovací seminář zaměřený na problematiku nakládání s kaly z čištění komunálních odpadních vod, zejména při použití kalů na zemědělské půdě.

Cílem semináře bylo seznámit účastníky s novinkami v legislativních předpisech v odpadovém hospodářství a problematikou nakládání s kaly z čištění odpadních vod. Přednášky uskutečněné při úvodní části semináře byly věnovány *stanovení mikrobiologických ukazatelů v kalech z ČOV a ověřování účinnosti technologie úpravy čistírenských kalů* (Ing. Ladislava Matějů – Státní zdravotní ústav se sídlem v Praze), *zkušenostem ÚKZÚZ s vyhláškou č. 273/2021 Sb.* (Ing. Jakub Kovářik, ÚKZÚZ Praha), *změnám předpisů v odpadovém hospodářství* (Mgr. Štěpán Jakl – Ministerstvo životního prostředí ČR), *novinkám v legislativních předpisech* (Ing. Renata Nováková, ProfiOdpady s.r.o.), a *kritickým parametrům v sušině a ve vyluzích vzorků odpadů pro využití odpadů zasypávaním* (Ing. Bláha – EMPLA AG spol. s r.o., Ing. Petr Jankovský – Monitoring s.r.o., Ing. Pavel Branský – ALS CR s.r.o.) a. Při praktické části semináře měli účastníci možnost seznámit se provozem zařízení ČOV Blansko společnosti Vodárenská akciová společnost a.s..

Součástí praktické části semináře bylo mezilaboratorní porovnání zkoušek mikrobiologických ukazatelů v upraveném kalu zaměřené na ověření srovnatelnosti výsledků stanovení mikrobiologických ukazatelů podle požadavků Vyhlášky č.273/2021 Sb. (o podrobnostech nakládání s odpady) mezi zúčastněnými akreditovanými laboratořemi.

Účast na praktickém testování laboratoří přijalo 7 laboratoří, které poskytují akreditované zkoušky uvedených ukazatelů. Velice těmto laboratořím děkujeme za jejich spolupráci a zejména za jejich velmi vstřícný přístup, který svědčí o snaze těchto laboratoří po trvalém zlepšování jejich služeb.

Postup praktického testování

Rozsah testování

Obsahem testování stanovení mikrobiologických ukazatelů v kalech byly následující úkoly:

- odběr prostých terénních vzorků a příprava laboratorních vzorků odpadu: *kaly z čištění komunálních odpadních vod (kat.č.19 08 05)* vzorkovací skupinou participující laboratoře a

následným stanovením mikrobiologických ukazatelů (enterokoky, *Escherichia coli* a *Salmonella sp.*) v těchto vzorcích participujícími laboratořemi,

- mikrobiologické stanovení ukazatelů (v rozsahu enterokoky, *Escherichia coli* a *Salmonella sp.*) v uměle připravených vzorcích (připravených Státním zdravotním ústavem se sídlem v Praze, Laboratoř hygieny půdy a odpadů) participujícími laboratořemi.

Postup odběru vzorků

Pro účely testování laboratoří pro stanovení mikrobiologických ukazatelů připravili spoluorganizátoři ze společnosti VAS, a.s. deponii odvodněného kalu z čištění komunálních odpadních vod (vzorkovaný soubor), představující přibližný objem 7,5 m³. Deponie kalu byla připravena krátce před vzorkováním a reprezentovala identickou šarži materiálu. Technologie čištění odpadních vod na zařízení je prakticky neměnná a nedochází k jejím častým změnám, podobně mají vstupní odpadní vody stálý charakter, a proto lze předpokládat, že vznikající odpad je víceméně homogenní. V případě výskytu mikroorganismů, ale nemusí být složení kalů zcela homogenní, neboť se mikroorganismy drží se ve shlucích a na různých částech toho kalu.



Obrázek 1: Vzorkovaný soubor upraveného kalu z čištění komunálních odpadních vod

V polovině tělesa kužele bylo po celém obvodu na deponii označeno 5 míst, určených pro odběr jednotlivých prostých vzorků. V označeném bodě byl do hloubky 25 cm proveden odkop, ze kterého každá vzorkovací skupina zúčastněných laboratoří odebrala 1 prostý vzorek podle standardních operačních postupů svých laboratoří. Vzorky byly označeny: VZOREK č. 1 až VZOREK č. 5.

Zúčastněné laboratoře

Testování se účastnilo 7 zkušebních laboratoří akreditovaných ČIA.

V tabulce 1 je uveden přehled zúčastněných laboratoří (v této tabulce jsou laboratoře seřazeny v abecedním pořadí).

Tabulka 1: Přehled zúčastněných laboratoří (seřazených abecedně)

Název laboratoře	Adresa laboratoře
ABITEC, s.r.o.	Radiová 1182/7, 102 31 Praha 10
ALS Czech Republic s.r.o.	Na Harfě 336/9, 190 00 Praha 9
EMPLA AG spol. s r.o.	Za Škodovkou 305/5, 503 11 Hradec Králové
Laboratoř Morava s.r.o.	Oderská 456, 742 13 Studénka
Monitoring s.r.o.	Radiová 1122/1, 102 00 Praha 15 - Hostivař
Vodárenská akciová společnost, a.s.	Soběšická 820/156, Lesná, 638 00 Brno
Státní zdravotní ústav	Šrobárova 49/48, 100 00 Praha 10 - Vinohrady

Odběr vzorků a manipulace se vzorkem

Odběr vzorků provedli pracovníci zúčastněných laboratoří. Informace o uchování vzorků v průběhu transportu a časy předání vzorků ke zpracování do laboratoře jsou uvedeny v tabulce 2.

Laboratoře jsou v následujících tabulkách označeny čísly v náhodném pořadí. Ve všech tabulkách v dalším textu má konkrétní laboratoř stejné označení.

Tabulka 2: Použité vzorkovnice a podmínky transportu vzorků

Položky	Označení laboratoře						
	1	2	3	4	5	6	7
Použité vzorkovnice (materiál, objem)	5xvzorkovnice bílá plast na kaly	5x sterilní PE sáčky, cca 500g / vzorek	MIBI sáčky	5x 250 ml sklo	5 x plastová vzorkovnice na mikrobiologii	PE sáček s nízkou denzitou	PE sáček
Teplota při přepravě vzorku - jak byla sledována	Autolednička v autě – teplota nastavena na 5°C (kontrola datalogerem).	9,5-17,4°C	aktivní chlazení + chladicí vložky (neuveďeno, zda teplota nesledována datalogerem)	teplota neuvedena, teplota sledována datalogerem	teplota sledována datalogerem, pasivní chlazení 1 - 8°C	termobox s namraženou vložkou, teplota nesledována datalogerem	termobox s ledem a namraženými chladicími vložkami. (neuveďeno, zda teplota sledována datalogerem)
Datum a čas doručení vzorků do laboratoře	19.6. večerní hodina doručeno do laboratoře. 20.06.2024 10:30 – přijetí vzorku na MIBI.	19.6.2024, 17:00	19.6.2024 cca 17 hod.	20.6.2024 8:00 hod.	19.6.2024 v 15:44	19.6.2024 v 17:00 h. vzorek uložen do lednice v laboratoři	19.6.2024 v 17:20 h. vzorek uložen do lednice v laboratoři
Uchování vzorku do analytické zkoušky	Pro mikrobiologické stanovení do 5°C, pro kovy při pokojové teplotě.	lednice, 5-10,6°C	MIBI lab. Lednice	v lednici	uchováno v lednici při 4°C	v lednici	v lednici

Laboratorní analýzy

Každá z laboratoří stanovovala vybrané mikrobiologické organismy (stanovení enterokoků, *Escherichia coli* a *Salmonella sp.* podle požadavků vyhlášky č. 273/2021 Sb. o podrobnostech nakládání s odpady) v prostých vzorcích (VZOREK č.1 až VZOREK č.5).

Účastníci rovněž obdrželi dvojici uměle připravených vzorků pro kontrolu kvality mikrobiologických stanovení.

Vzorky byly odebrány dne 19. 6 .2024, po vzájemné dohodě účastníků byly zkoušky zahájeny 20. 6. 2024 v 9 hodin.

Stanovení mikrobiologických ukazatelů v uměle připraveném vzorku

Kontrolní vzorky pro mikrobiologická stanovení byly tvořeny 10 g vzorku vysterilizovaného čistírenského kalu naspikovaného 1 ml inokula o definovaném obsahu mikroorganismů. Při přípravě kontrolních vzorků pro stanovení enterokoků byl do 10 g naočkován 1 ml *Enterococcus faecium* v množství $2,4 \cdot 10^4$ KTJ a pro stanovení Escherichia coli bylo množství bakterií E.c. v 10 g $2,1 \cdot 10^4$ KTJ. Při stanovení mikroorganismu salmonela byly naočovány v kontrolním vzorku: *Salmonella Enterica* (v množství 33 000 KTJ do 50 g), resp. *Salmonella Senftenberg* (v množství 29 000 KTJ na 50 g).

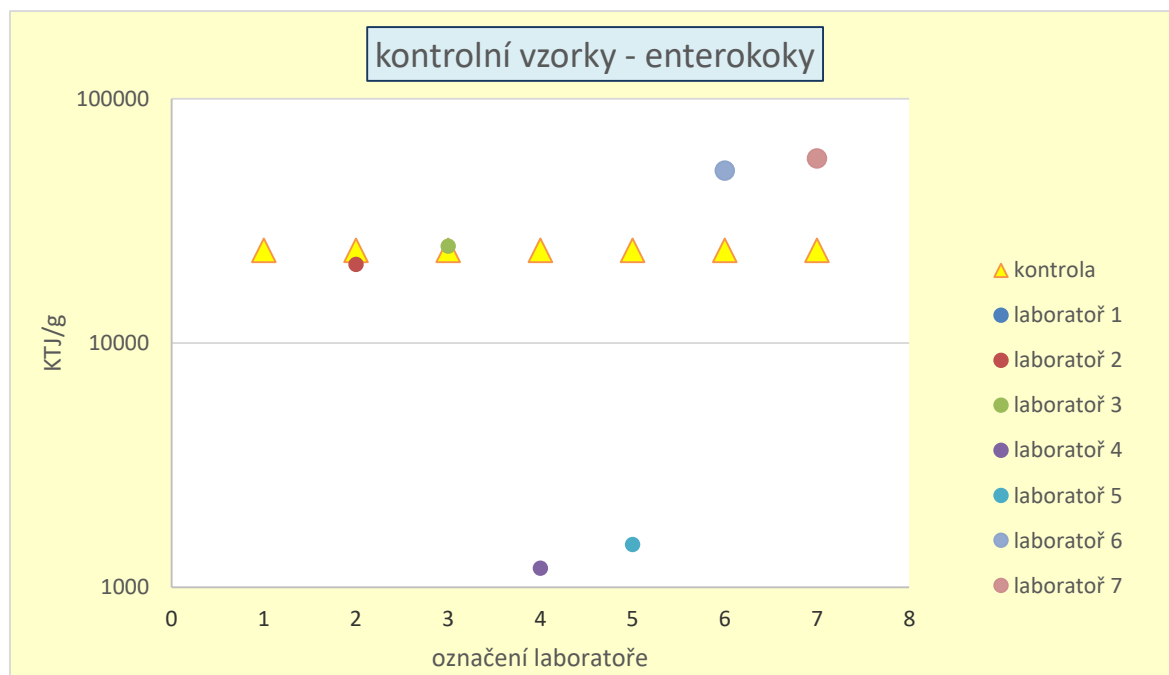
Ke každému stanovení byl připraven také slepý vzorek. Účastníci obdržely bez ohledu na různé značení identické vzorky – jeden spikovaný a jeden slepý.

Přehled výsledků stanovení připravených vzorků je uveden v tabulce 3.

Posouzení odlehlosti od vztahné hodnoty

Enterokoky a Escherichia coli

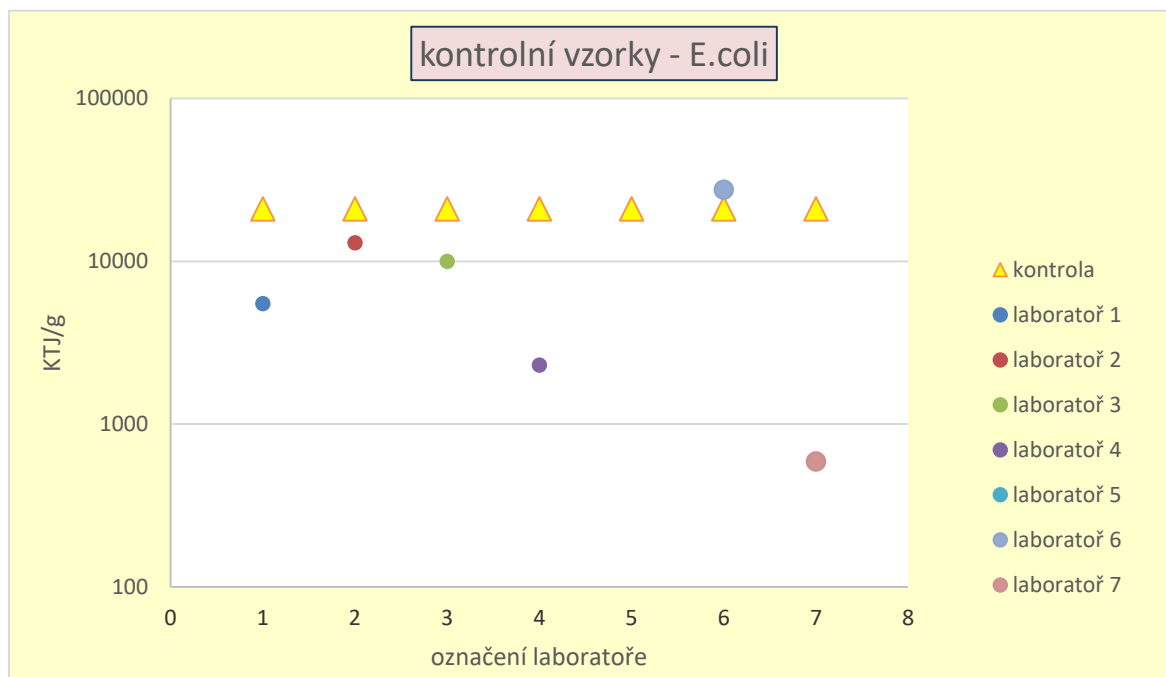
Grafické znázornění výsledků jednotlivých laboratoří od kontrolních vzorků pro stanovení enterokoků a *Escherichia coli* je uvedeno na obrázcích 2 a 3. Laboratoř č. 1 stanovení enterokoků v kontrolní vzorcích nerealizovala z důvodu poškození dodaného vzorku.



Obrázek 2: Grafické znázornění výsledků ke vztahné hodnotě - enterokoky

Tabulka 3: Přehled výsledků mikrobiologických stanovení v uměle připravených vzorcích

parametr	typ vzorku	Kontrolní vzorek - SZU													
	označení laboratoře	1	2	3	4	5	6	7							
enterokoky															
naměřená hodnota	KTJ/g	*	*	<50	21000	25000	<10	1200	0	1500	0	50909	<10	<9	57000
kontrolní vzorek	KTJ/g	0	24000	0	24000	24000	0	24000	0	24000	0	24000	0	0	24000
označení kontrolního vzorku		12	13	8	11	13	6	5	10	9	4	1	2	2	7
Escherichia coli															
naměřená hodnota	KTJ/g	0	5500	<50	13000	10000	<10	2300	0	N	N	27500	<10	<9	590
kontrolní vzorek	KTJ/g	0	21000	0	21000	21000	0	21000	0			21000	0	0	21000
označení kontrolního vzorku		12	13	8	11	13	6	5	10			1	2	2	7
Salmonella															
naměřená hodnota		pozitivní	pozitivní	negativní	pozitivní	pozitivní	negativní	pozitivní	negativní	negativní	pozitivní	pozitivní	negativní	negativní	pozitivní
kontrolní vzorek		negativní	pozitivní	negativní	pozitivní	pozitivní	negativní	pozitivní	negativní	negativní	pozitivní	pozitivní	negativní	negativní	pozitivní
označení kontrolního vzorku		12	13	22	25	17	16	21	26	25	21	3	4	20	27
Vysvětlivky:	N - stanovení laboratoř neprováděla														
	* - došlo ke znehodnocení spiků														



Obrázek 3: Grafické znázornění výsledků ke vztažné hodnotě – Escherichia coli

Naměřené výsledky kontrolního vzorku každé laboratoře a hodnoty spiku byly dekadicky logaritmovány a byla stanovena jejich vzájemná odchylka, vztažená k hodnotě spiku. Tabulkové zpracování odchylek jednotlivých měření od vztažných hodnot kontrolních vzorků je uvedeno v tabulce 4. V tabulce je uvedeno pořadí laboratoří podle odchylky výsledků.

Tabulka 4: Odlehlost výsledků mikrobiologických stanovení od vztažné hodnoty

parametr	typ vzorku	Kontrolní vzorek - SZU						
	označení laboratoře	1	2	3	4	5	6	7
enterokoky								
naměřená hodnota	KTJ/g	N	21000	25000	1200	1500	50909	57000
kontrolní vzorek	KTJ/g		24000	24000	24000	24000	24000	24000
relativní chyba od vztažné hodnoty	%	N	-1,32%	0,40%	-29,70%	-27,49%	7,46%	8,58%
průměrné pořadí dle odchylky			2	1	4	3	5	6
Escherichia coli								
naměřená hodnota	KTJ/g	5500	13000	10000	2300	N	27500	590
kontrolní vzorek	KTJ/g	21000	21000	21000	21000		21000	21000
relativní chyba od vztažné hodnoty	%	-13,46%	-4,82%	-7,45%	-22,22%	N	2,71%	-35,89%
průměrné pořadí dle odchylky		4	2	3	5		1	6
Vysvětlivky:	N - stanovení laboratoř neprováděla							

Pro stanovení enterokoků se průměrná relativní odchylka od vztažné hodnoty pohybovala od 0,4% (laboratoř 3) až k 29,7% (laboratoř 4). Laboratoře 6 a 7 a laboratoře 4 a 5 dosahovaly obdobné výsledky (odchylky 7,5 – 8,6%, resp. 27,5 – 29,7%).

Pro výsledky stanovení *Escherichia coli* se velikosti relativních odchylek od vztažné hodnoty lišily mezi 2,7% (laboratoř 6) až 35,9% (laboratoř 7).

Identifikace mikroorganismů *Salmonella sp.*

S výjimkou 1 stanovení u laboratoře č. 1 všechny zúčastněné laboratoře shodně v připravených vzorcích prokázaly, resp. vyloučily pozitivní nález mikroorganismu salmonela.

Stanovení mikrobiologických ukazatelů v odebraných vzorcích kalu

Výsledky mikrobiologických stanovení ve vzorcích odebraných jednotlivými laboratořemi z deponie upraveného kalu v ČOV Blansko (společnosti VAS a.s.) byly posuzovány z hlediska shody zařízení odpadu podle požadavků legislativních předpisů a z pohledu shody vlastních mikrobiologických stanovení.

Výsledky mikrobiologických stanovení jsou uvedeny pro stanovení enterokoků v tabulce 5, pro stanovení *Escherichia coli* v tabulce 6 a pro stanovení salmonel v tabulce 7.

Tabulka 5: Přehled výsledků stanovení enterokoků ve vzorcích kalu

parametr	označení vzorku	Enterokoky						
	označení laboratoře	1	2	3	4	5	6	7
vzorek č.1	KTJ/g	1,40E+05	2,70E+05	1,70E+05	4,90E+04	2,50E+04	5,45E+05	7,70E+04
vzorek č.2	KTJ/g	1,30E+05	4,80E+05	6,80E+04	1,10E+05	4,20E+04	3,00E+05	2,70E+04
vzorek č.3	KTJ/g	1,60E+05	2,60E+05	9,00E+04	4,40E+04	3,60E+04	1,27E+05	1,40E+05
vzorek č.4	KTJ/g	1,40E+05	3,00E+05	1,20E+05	3,70E+04	2,40E+04	3,09E+04	7,70E+04
vzorek č.5	KTJ/g	1,00E+05	3,80E+05	1,30E+05	4,30E+04	2,40E+04	5,00E+04	5,90E+04

Tabulka 6: Přehled výsledků stanovení Escherichia ve vzorcích kalu

parametr	označení vzorku	E.coli						
	označení laboratoře	1	2	3	4	5	6	7
vzorek č.1	KTJ/g	3,60E+06	3,50E+06	1,50E+06	3,00E+05	N	2,40E+06	5,90E+03
vzorek č.2	KTJ/g	3,20E+06	3,70E+06	1,20E+06	2,30E+05	N	9,60E+06	3,80E+05
vzorek č.3	KTJ/g	3,00E+06	2,60E+06	5,10E+05	1,90E+05	N	1,72E+06	1,90E+05
vzorek č.4	KTJ/g	2,60E+06	4,10E+06	2,20E+06	2,90E+05	N	3,32E+04	2,00E+05
vzorek č.5	KTJ/g	2,40E+06	3,30E+06	1,80E+06	2,10E+05	N	3,59E+05	6,40E+03
Vysvětlivky:	N - stanovení laboratoř neprováděla							

Tabulka 7: Přehled výsledků nálezů salmonel ve vzorcích kalu

parametr	označení vzorku	<i>Salmonella sp.</i>						
	označení laboratoře	1	2	3	4	5	6	7
vzorek č.1	/50 g	pozitivní	negativní	negativní	negativní	pozitivní	pozitivní	negativní
vzorek č.2	/50 g	pozitivní	negativní	negativní	negativní	negativní	pozitivní	negativní
vzorek č.3	/50 g	pozitivní	negativní	negativní	negativní	negativní	pozitivní	negativní
vzorek č.4	/50 g	pozitivní	negativní	negativní	negativní	negativní	pozitivní	negativní
vzorek č.5	/50 g	pozitivní	negativní	negativní	negativní	negativní	pozitivní	negativní

Zhodnocení homogenity testovaného souboru upraveného kalu

Každá vzorkovací skupina zúčastněné laboratoře odebrala 5 prostých vzorků z prakticky stejných bodů vzorkovaného objektu (deponie 7,5 m³).

Posouzení homogenity kalu z hlediska rozložení mikroorganismů bylo ověřeno na základě relativní směrodatné odchylky naměřených výsledků stanovení enterokoků (tabulka 8). Naměřené výsledky 5 vzorků každé laboratoře byly dekadicky zlogaritmovány, z nich byl stanoven aritmetický průměr (geometrický průměr souboru 5 výsledků) a stanovena směrodatná odchylka zlogaritmovaných hodnot měření.

Tabulka 8: Zhodnocení homogenity vzorkovaného souboru podle výsledků stanovení enterokoků

parametr	ukazatel	Enterokoky						
	označení laboratoře	1	2	3	4	5	6	7
průměr logaritmů naměřených hodnot	KTJ/g	5,12	5,52	5,04	4,72	4,47	5,10	4,82
výběrová směrodatná odchylka logaritmů naměřených hodnot	KTJ/g	0,08	0,11	0,15	0,19	0,11	0,52	0,26
relativní směrodatná odchylka logaritmů naměřených hodnot	KTJ/g	1,5%	2,0%	3,0%	4,0%	2,6%	10,2%	5,4%

Z pohledu výsledků stanovení enterokoků laboratoří byl vzorkovaný kal velmi homogenní. Relativní směrodatná odchylka výsledků stanovení enterokoků se pohybovala mezi 1,5% až 5,4%. Pouze u laboratoře č. 6 byla relativní směrodatná odchylka mírně vyšší (10,2%).

V tabulce 9 je zhodnocení vzorkovaného souboru uvedeno pro stanovení Escherichia coli.

Tabulka 9: Zhodnocení homogenity vzorkovaného souboru podle výsledků stanovení Escherichia coli

parametr	ukazatel	E.coli						
	označení laboratoře	1	2	3	4	5	6	7
průměr logaritmů naměřených hodnot	KTJ/g	6,467	6,531708	6,112	5,380	N	5,934849	4,747
výběrová směrodatná odchylka logaritmů naměřených hodnot	KTJ/g	0,070	0,073924	0,246155	0,086811	N	0,939234	0,883
relativní směrodatná odchylka logaritmů naměřených hodnot	KTJ/g	1,1%	1,1%	4,0%	1,6%	N	15,8%	18,6%
Vysvětlivky:	N	laboratoř ukazatel nestanovila						

V odebraných vzorcích laboratoří č. 1 až 4 bylo rozložení populace Escheriachia coli velmi homogenní (relativní směrodatná odchylka výsledků vzorků č.1 až č.5 se pohybovala mezi 1,1 až 4,0%). Vzorky (případně stanovení) u laboratoří č.6 a č.7 dosahovaly vyšší heterogenitu (15,8 až 18,6%).

Zařazení upraveného kalu podle požadavků vyhlášky č. 273/2021 Sb. pro použití na zemědělské půdě

V tabulkách 10 až 12 jsou uvedeny výsledky mikrobiologických ukazatelů zjištěných jednotlivými laboratořemi v laboratorních vzorcích kalů porovnané s mikrobiologickými kritérii pro použití kalů na zemědělské půdě dle přílohy č. 28 k vyhlášce č. 273/2021 Sb. o podrobnostech nakládání s odpady.

Tabulka 10: Přehled výsledků stanovení enterokoků ve vzorcích kalu porovnaných s požadavky přílohy č.28 k vyhlášce č. 273/2021 Sb.

parametr	ukazatel	Enterokoky							Vyhláška 273/2021 Sb. příloha č.28		
	označení laboratoře	1	2	3	4	5	6	7	minimálně 4 vzorky	maximálně 1 vzorek	nevyhovující
vzorek č.1	KTJ/g	1,40E+05	2,70E+05	1,70E+05	4,90E+04	2,50E+04	5,45E+05	7,70E+04	<10 ³	<5.10 ³	>5.10 ³
vzorek č.2	KTJ/g	1,30E+05	4,80E+05	6,80E+04	1,10E+05	4,20E+04	3,00E+05	2,70E+04			
vzorek č.3	KTJ/g	1,60E+05	2,60E+05	9,00E+04	4,40E+04	3,60E+04	1,27E+05	1,40E+05			
vzorek č.4	KTJ/g	1,40E+05	3,00E+05	1,20E+05	3,70E+04	2,40E+04	3,09E+04	7,70E+04			
vzorek č.5	KTJ/g	1,00E+05	3,80E+05	1,30E+05	4,30E+04	2,40E+04	5,00E+04	5,90E+04			
hodnocený upravený kal									vyhovující	nevyhovující	

Tabulka 11: Přehled výsledků stanovení Escherichia coli ve vzorcích kalu porovnaných s požadavky přílohy č.28 k vyhlášce č. 273/2021 Sb.

parametr	ukazatel	E.coli							Vyhláška 273/2021 Sb. příloha č.28		
	označení laboratoře	1	2	3	4	5	6	7	minimálně 4 vzorky	maximálně 1 vzorek	nevyhovující
vzorek č.1	KTJ/g	3,60E+06	3,50E+06	1,50E+06	3,00E+05	N	2,40E+06	5,90E+03	<10 ³	<5.10 ³	>5.10 ³
vzorek č.2	KTJ/g	3,20E+06	3,70E+06	1,20E+06	2,30E+05	N	9,60E+06	3,80E+05			
vzorek č.3	KTJ/g	3,00E+06	2,60E+06	5,10E+05	1,90E+05	N	1,72E+06	1,90E+05			
vzorek č.4	KTJ/g	2,60E+06	4,10E+06	2,20E+06	2,90E+05	N	3,32E+04	2,00E+05			
vzorek č.5	KTJ/g	2,40E+06	3,30E+06	1,80E+06	2,10E+05	N	3,59E+05	6,40E+03			
hodnocený upravený kal									vyhovující	nevyhovující	

Tabulka 12: Přehled výsledků stanovení salmonel ve vzorcích kalu porovnaných s požadavky přílohy č.28 k vyhlášce č. 273/2021 Sb.

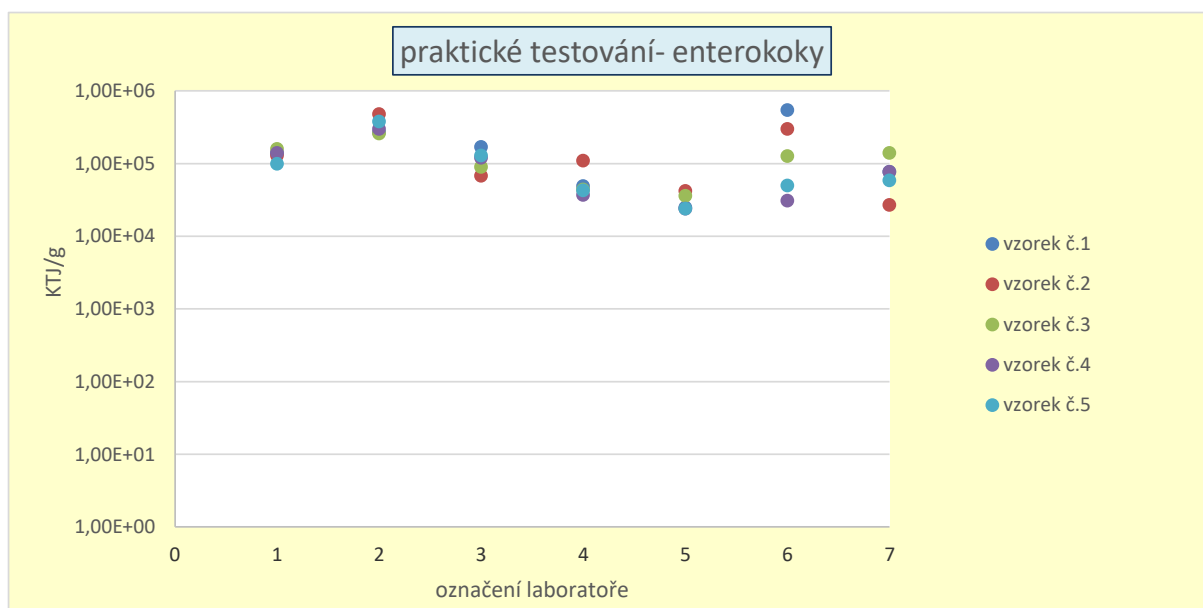
parametr	ukazatel	Salmonella sp.							Vyhláška 273/2021 Sb. příloha č.28	
	označení laboratoře	1	2	3	4	5	6	7	negativní	pozitivní
vzorek č.1	/50 g	pozitivní	negativní	negativní	negativní	pozitivní	pozitivní	negativní		
vzorek č.2	/50 g	pozitivní	negativní	negativní	negativní	negativní	pozitivní	negativní		
vzorek č.3	/50 g	pozitivní	negativní	negativní	negativní	negativní	pozitivní	negativní		
vzorek č.4	/50 g	pozitivní	negativní	negativní	negativní	negativní	pozitivní	negativní		
vzorek č.5	/50 g	pozitivní	negativní	negativní	negativní	negativní	pozitivní	negativní		
hodnocený upravený kal									vyhovující	nevyhovující

Ze srovnání výsledků s požadavky stanovenými v příloze č.28 k vyhlášce č.273/2021 Sb. vyplývá:

- stanovení enterokoků: podle výsledků stanovení všech zúčastněných laboratoří **vzorkovaný kal nevyhovuje** požadavkům pro použití na zemědělskou půdu (všechny výsledky stanovení enterokoků byly nad limitní hodnotou 10^3 KTJ/1g).
- stanovení *Escherichia coli*: vzorkovaný kal je možné na základě výsledků zkoušek **všech laboratoří** zařadit rovněž shodně – **upravený kal není možné použít na zemědělskou půdu**.
- stanovení salmonel: **laboratoře č.2 až č.4** v žádném odebraném vzorku **neidentifikovaly pozitivní nález salmonel** – na základě těchto výsledků by upravený kal vyhověl požadavkům pro použití na zemědělskou půdu. **Laboratoř č.5** našla **pozitivní nález salmonely ve VZORKU č.1**, v ostatních vzorcích nález nezjistila. **Laboratoře č. 1 a č. 6** identifikovaly **pozitivní nález salmonel ve všech odebraných vzorcích**. Zkoušený upravený kal by na základě stanovení laboratoří č.1, č.5 a č.6 **nevyhověl požadavkům pro použití na zemědělskou půdu**.

Posouzení shody mikrobiologických stanovení v upraveném kalu mezi zúčastněnými laboratořemi

Rozložení výsledků stanovení enterokoků je graficky znázorněno na obrázku 4.



Obrázek 4: Rozložení výsledků v upraveném kalu - enterokoky

Pro výsledky stanovení mikrobiologických ukazatelů enterokoky uvedené v tabulce 5 a *Escherichia coli* (tabulka 6) byl pro každou zúčastněnou laboratoř stanoven geometrický průměr stanovení, dále byl pro celý soubor výsledků (výsledky stanovení enterokoků všech zúčastněných laboratoří) vypočten geometrický průměr. Zhodnocení shody výsledků bylo provedeno pomocí parametru Z-skóre:

$$Z\text{-skóre}_i = (\logaritmus\ geometrického\ průměru\ koncentrací_i - \logaritmus\ geometrického\ průměru\ všech\ stanovení) / \logaritmem\ celkové\ směrodatné\ odchylky\ souboru\ všech\ dat$$

kde i – je označení laboratoře.

(geometrický průměr je využíván pro stanovení průměrného oživení upravených kalů ve vyhlášce č. 273/2021 Sb.).

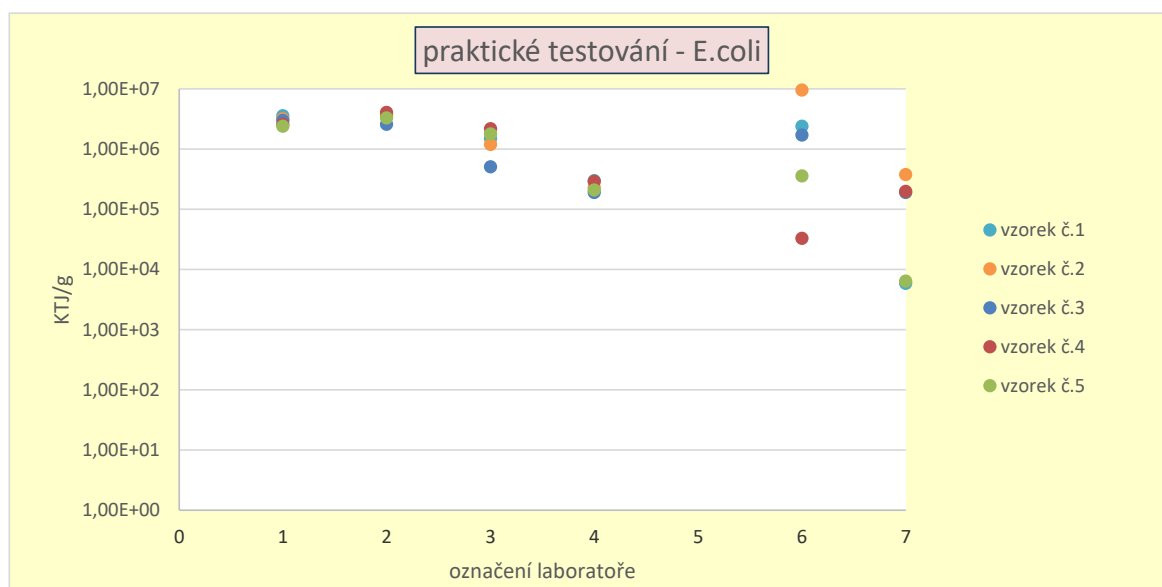
Přehled geometrických průměrů dosažených jednotlivými laboratořemi, geometrický průměr všech výsledků a hodnoty Z-skóre pro stanovení enterokoků uvádí tabulka 13 a pro data stanovení *Escherichia coli* tabulka 14.

Tabulka 13: Odlehlost výsledků stanovení enterokoků od průměrné hodnoty

parametr	ukazatel	Enterokoky						
	označení laboratoře	1	2	3	4	5	6	7
geometrický průměr	KTJ/g	1,32E+05	3,29E+05	1,10E+05	5,19E+04	2,93E+04	1,26E+05	6,67E+04
geometrický průměr všech stanovení	KTJ/g	9,33E+04						
z-skore		0,39	1,41	0,19	-0,66	-1,29	0,34	-0,38
pořadí laboratoří dle odchylky		4	7	1	5	6	2	3

Při stanovení enterokoků byly nejbližší geometrickému průměru celého souboru naměřených výsledků výsledky stanovené **laboratoří č. 3**, následované **laboratořemi č.6, č.7 a č.1**. **Nejodlehlejší** od průměrné hodnoty byl geometrický průměr výsledků stanovených **laboratoří č. 2**.

Rozložení výsledků stanovení *Escherichia coli* je graficky znázorněno na obrázku 5.



Obrázek 5: Rozložení výsledků v upraveném kalu – *Escherichia coli*

Tabulka 14: Odlehlost výsledků stanovení *Escherichia coli* od průměrné hodnoty

parametr	ukazatel	E.coli						
	označení laboratoře	1	2	3	4	5	6	7
geometrický průměr	KTJ/g	2,93E+06	3,40E+06	1,29E+06	2,40E+05	N	8,61E+05	5,59E+04
geometrický průměr všech stanovení	KTJ/g	7,28E+05						
z-skore		0,75	0,83	0,31	-0,60		0,09	-1,39
pořadí laboratoří dle odchylky		5	4	2	3		1	6
Vysvětlivky:	N	laboratoř ukazatel nestanovila						

Při stanovení *Escherichia coli* byly nejbližše geometrickému průměru celého souboru naměřených výsledků výsledky stanovené **laboratoří č. 6**, následované **laboratořemi č. 3**. **Nejodlehlejší** od geometrického průměru byly výsledky geometrického průměru stanoveného **laboratoří č. 7**.

Pro stanovení mikroorganismu salmonel **nebyla dosažena shoda** v hodnocení upraveného kalu mezi zúčastněnými laboratořemi – laboratoře č.2 až č.4 nenašly v odebraných vzorcích žádný pozitivní nález, laboratoř č.5 zachytila 1 pozitivní nález salmonely a laboratořemi č.1 a č.6 zachytily pozitivní nálezy salmonel ve všech odebraných vzorcích. Vzhledem k mikrobiologické nehomogenitě čistírenských kalů nelze ani jeden výsledek považovat za nepřijatelný. U vzorků, které vykazují nálezy pro termotolerantní bakterie, a tím i pro *E.coli* vyšší než 10^5 KTJ na 1g vzorku kalu, je pravděpodobnost záchytu salmonel nízká, v některých případech až pouhé 4%.

Závěr

Praktická část doškolovacího semináře manažerů vzorkování odpadů se konala dne 19. 6. 2024 v ČOV Blansko v zařízení společnosti Vodárenská akciová společnost a.s. a byla mimo prohlídku technologie vlastního zařízení zaměřena na ověřování postupů odběru vzorků a laboratorních stanovení mikrobiologických ukazatelů v kalech z čištění komunálních odpadních vod.

V rámci doškolovacího semináře se uskutečnilo testování 7 zúčastněných laboratoří, které prováděly odběr vzorků, jejich uchování při dopravě a před vlastním stanovením, přípravu a vlastní stanovení vybraných mikrobiologických ukazatelů ve vzorcích upraveného kalu a ve dvojici uměle připravených vzorků. Výsledky porovnání jsou uvedeny v předchozí části vyhodnocení.

Při odběrech vzorků čistírenských kalů pracovníci laboratoří postupovali ve shodě se svými pracovními postupy a protokoly o odběrech měly všechny požadované údaje a náležitosti.

Na základě výsledků stanovení a stanoveného z-skóre lze konstatovat, že všechny zúčastněné laboratoře dosáhly vyhovujících výsledků (z-skóre +2 až -2).

Závěrem chceme poděkovat pracovníkům společnosti Vodárenská akciová společnost, a.s. za umožnění realizace doškolovacího semináře na jejich pracovišti, za pomoc při organizaci a zejména za vytvoření výborných pracovních podmínek v průběhu celého semináře a také všem participujícím laboratořím za účast a za jejich přínos při trvalém zvyšování kvality analytických výsledků.

Zároveň mi dovoluete se omluvit za velké zdržení vyhodnocení výsledků mezilaboratorního testu.

Zpracoval dne 13.2.2025

Petr Kohout