

Naše čís. jednací:

**Věc: Informace SZÚ – Národního referenčního centra pro pitnou vodu k možnostem rychlé detekce bakteriální kontaminace pitné vody**
**Úvod**

V praxi, zejména při různých krizových (např. povodně) a havarijních situacích, vzniká potřeba co nejrychlejšího ověření nezávadnosti pitné vody. Proto vydává NRC pro pitnou vodu aktualizovanou informaci o dostupných možnostech rychlého ověření mikrobiologické nezávadnosti pitné vody. Informace je určena laboratořím, provádějícím rozborů pitné vody, hygienickým orgánům a výrobcům pitné vody. V tabulce je uveden přehled „standardních“ metod a rychlometod pro mikrobiologické vyšetření pitné vody a doba, za kterou je možno danou metodou získat první informaci. Je uveden také vztah k platné legislativě. Ovšem skutečnost, že některá metoda není uvedena v závazném právním předpisu pro jakost a kontrolu pitné vody<sup>1</sup>, zde neznamená žádné omezení jejího použití. Pro účely ověření zdravotní nezávadnosti vody v havarijních a jinak ztížených podmínkách je možné a nutné použít jakoukoli dostupnou metodu, která poskytne rychlé a spolehlivé nebo alespoň orientační výsledky.

Metody sledující mikrobiologickou nezávadnost pitné vody jsou založeny na systému detekce indikátorů fekálního znečištění. Jako indikátor jsou vybrány různé druhy bakterií. V případě, že je voda dezinfikována, je nutné mít na paměti, že vypovídací schopnost bakteriálních indikátorových organismů vůči případné virové či parazitární kontaminaci vody může být omezená, podle toho, jaká je celková technologie úpravy vody.

**Přehled metod a dostupných rychlometod stanovení fekální kontaminace vody:**

Ukazatel:	Metoda	Informaci poskytne za dobu (v hod.)	Poznámka
<i>E. coli</i>	ČSN EN ISO 9308-1, rychlá zkouška dle 8.4.	24	1
	Colilert®- 18/Quanti-Tray® (ISO 9308-2)	18	1
	chromogenní médium <sup>+</sup> (CCA- Chromocult Coliform agar, Merck); ISO/WD 9308-1 (pracovní návrh)	21±3	
	chromogenní médium Rapid EC2, Bio-Rad; validace AFNOR (k EN ISO 9308-1)	24 (18)	3
koliformní bakterie	Colilert®- 18/Quanti-Tray® (ISO 9308-2)	18	1
termotolerantní koliformní bakterie	ASM 1992; Médium M-7h-FC agar (viz dále v textu)	7(9)	2
intestinální enterokoky	ČSN EN ISO 7899-2	44±4 (24)	1, 4
	Enterolert <sup>TM</sup> -E/Quanti-Tray®	24	
<i>Clostridium perfringens</i>	Příloha č. 6 k vyhlášce č.252/2004 Sb.	21±3	1

**Poznámka 1:** Metoda je uvedená ve vyhlášce č. 252/2004 Sb.

<sup>1</sup> Vyhláška MZ č. 252/2004 Sb., kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody.

**Poznámka 2:** Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (18 th. Ed.). American Public Health Association, Washington, D.C. 1992 [9211 Rapid detection methods, 9211 B Seven-Hour fecal Coliform Test].

**Poznámka 3:** Při silné a střední kontaminaci jsou výsledky odečitatelné již po 18 hodinách.

**Poznámka 4:** Při silné kontaminaci jsou výsledky odečitatelné již po 24 hodinách.

#### Rychlá metoda s použitím M-7h-FC agaru:

Praktické zkušenosti s tímto médiem byly získány za povodní v r. 1997 – bližší popis viz<sup>2</sup>. Za příznivých podmínek je čas detekce 7 hodin, jak uvádí výrobce. Příznivými podmínkami se zde rozumí vysoká denzita termotolerantních bakterií nebo nízká denzita doprovodné mikroflóry při nižší denzitě termotolerantních bakterií. Při méně příznivých podmínkách je doba stanovení termotolerantních koliformních bakterií (co by indikátoru fekální kontaminace) asi 9 hodin (viz dále). Médium komerčně vyrábí firma HiMedia, lze si ho též připravit ze složek.

Metoda je založena na selektivně-diagnostické půdě, což je modifikace klasického m-FC agaru pro stanovení termotolerantních koliformních bakterií. Modifikovány jsou kultivační podmínky, snížila se kultivační teplota ze 44,5 °C na 41,5 °C.

Rychlá metoda s M-7h-FC agarem umožňuje též nárůst stresovaných kolonií, které na klasických médiích nerostou (např. m-FC agaru). Typické kolonie vykazují žlutou barvu, při jejich verifikaci bylo potvrzeno 97,3% žlutých kolonií, patřících do skupiny termotolerantních. Značné procento netypických, nežlutých kolonií (67%) je verifikováno jako termotolerantní koliformní bakterie. Ponecháme-li tyto netypické kolonie 12-24 hodin při laboratorní teplotě, získají částečně nebo plně žlutou barvu (za cenu ztráty času pro získání informace).

Postup stanovení při této rychlé metodě (s použitím M-7h-FC agaru) je stejný jako při stanovení koliformních bakterií a *E. coli* současnými normalizovanými postupy. Filtruje se dle očekávané kontaminace 10 nebo 100 ml vzorku vody membránovou filtrací (ø 0,45 µm), nebo lze očkovat 1 ml přímo na médium. Plotny s filtry nebo plotny přímo očkované se inkubují při 41,5 °C v termostatu minimálně 7 hodin, s dalším odečtem po 8 a 9 hodinách. Tato doba postačí k nárůstu kolonií a tím i předběžné informaci o případné fekální kontaminaci vzorku vody. Ponechání ploten za laboratorní teploty 12-24 hodin umožní vybarvení netypických kolonií a získání další informace o znečištění.

Metoda je orientační, její hlavní výhodou je minimální čas k poskytnutí první informace o případné kontaminaci – za příznivých podmínek již za 7 hodin, jinak za 9 hodin.

#### Upozornění:

Bakterie nemusí být jediným biologickým rizikem při povodních nebo jiných havarijních / krizových situacích. Zatímco virová problematika je co do možných nápravných opatření podobná té bakteriální, odlišná je situace u prvků. Zde odkazujeme na naše metodické doporučení<sup>3</sup>, které lze rovněž najít na webových stránkách Státního zdravotního ústavu.

Mgr. Petr Pumann  
vedoucí NRC pro pitnou vodu

Připravil: RNDr. Jaroslav Šašek, tel. 267082465, e-mail: sasek@szu.cz

<sup>2</sup> Šašek, J.: Rychlá detekce kontaminace vody hygienicky významných znečištěním. In: Povodně 1997 – zkušenosti hygienické služby. AHEM (Acta hygienica, epidemiologica et microbiologica), zvláštní číslo 1999; str. 100-107.