



## **Pokyny pro účastníky PT#V/4/2021 Stanovení mikroskopického obrazu v pitné a surové (povrchové) vodě**

Stejně jako v předchozích kolech tohoto programu jsme pro vás připravili různé vzorky pro stanovení jednotlivých ukazatelů v pitné vodě. Ve **vzorku 1** se stanovují kvantitativní ukazatele počet organismů a počet živých organismů, ve **vzorku 2** ukazatel abioseston. Ve vzorku 1 abioseston nestanovujete, stejně tak si nevšímejte případných organismů (pokud nepatří k abiosestonu) ve vzorku 2. U **obou vzorků** se provádí také kvalitativní rozbor. **Vzorky 3A a 3B** o objemu 1 - 2 ml slouží výhradně k určení dominantních organismů nebo částic abiosestonu. Výsledky vzorků 3 budou zahrnuty ke kvalitativnímu rozboru. Jako nepovinnou součást programu jsme zařadili **vzorek 4**, který je sice určen rovněž ke kvantifikaci organismů, složením se však výrazně liší od vzorku 1. Hodnocení vzorku 4 bude provedeno jen ve zprávě, ale nebude součástí přílohy certifikátu. Přesto doporučujeme všem účastníkům, aby vzorek zpracovali a výsledky nám zaslali. Již tradiční doprovodnou součástí je také stanovení abiosestonu analýzou obrazu ve vzorku 2, které v tomto kole bude opět doplněno o zpracování jednotných fotografií.

Samostatnou část programu tvoří stanovení mikroskopického obrazu v surové vodě, pro kterou je určen **vzorek 5**. Zatímco **vzorky 1 - 4** jsou speciálně připravovány, aby prověřily schopnosti účastníků dobře stanovit jednotlivé ukazatele, vzorek 5 je povrchová voda, kterou jsme před plněním do vzorkovnic jen minimálně upravovali. Ke stanovení abiosestonu v surové i pitné vodě slouží výhradně **vzorek 2**.

### **Přeprava a uchování vzorků**

1. Až do zpracování přechovávejte vzorky v chladu (chladicí brašna, chladnička).
2. Vzorky zpracujte v úterý 12. 4. 2021.

### **Zpracování vzorků 1 – 4 (pitná voda)**

3. **Vzorky 1 a 4** zpracujte postupem podle ČSN 75 7712 Kvalita vod - Biologický rozbor - Stanovení biosestonu z března 2013. Doporučujeme při počítání v komůrce použít nejméně 200 násobného zvětšení.
4. Do ukazatele „počet organismů“ počítejte přítomné mikroskopické organismy (bez ohledu na to, zda jsou živé či mrtvé): řasy, sinice, prvoky, mikromycety, vířníky a další konzumenty. Do celkového počtu naopak nezahrnujte železité bakterie (ani další viditelné bakterie kromě sinic) ani prázdné schránky organismů. Výsledky vyjádřete v jedincích/ml.
5. Ve shodě s ČSN 75 7712 se za jedince považuje samostatná buňka (nezáleží na její velikosti), dále cenobium nebo kolonie do velikosti 100 µm a vlákna do délky 100 µm. Cenobia, kolonie a vlákna překračující uvedené rozměry se vyjadřují jako jejich násobky. Držte se výjimek z tohoto pravidla a dalších doporučení uvedených v Příloze B z ČSN 75 7712. U koloniálních nálevníků, vířníků a drobných mnohobuněčných živočichů se počítá každý jedinec zvlášť.
6. Za živý organismus se považuje ve shodě s ČSN 75 7712 autotrofní organismus, který po excitaci modrým světlem září červeně a heterotrofní organismus, u kterého lze usuzovat, že je živý, podle jiných znaků (např. pohyb). Pokud nelze určit, zda je organismus živý, zařadte ho pouze do kategorie „počet organismů“. Výsledky vyjádřete v jedincích/ml.
7. **Vzorek 2** zpracujte podle ČSN 75 7713 Jakost vod - Biologický rozbor - Stanovení abiosestonu z listopadu 2015. Za abioseston považujte všechny anorganické částice, textilní vlákna, škrobová a pylová zrna, zbytky rostlinných pletiv, produkty železitých bakterií, saze, popílek apod. Rovněž zcela prázdné schránky rozsivek, jiných řas a bičíkovců, zbytky pancířů obrněnek, vířníků, perloček apod. (beze zbytků protoplazmy<sup>1</sup> a chlorofylu) přičítejte k abiosestonu a zahrnujte do pokryvnosti. Výsledky vyjádřete v procentech pokryvnosti zorného pole a запиšte do kolonky na protokolu nazvané „*abioseston (odhadem)*“.

<sup>1</sup> Náš názor, co už považovat za zcela prázdné schránky (a tím pádem za abioseston) a co ještě ne (na příkladu rozsivek), lze najít v obrazové dokumentaci z roku 2009, která je umístěna na internetových stránkách tohoto programu (dále v textu).

8. **U vzorků 1, 2 a 4** proveďte kvalitativní rozbor. Výsledky na protokolu uveďte formou stručného textu, kde popíšete bližší zařazení nalezených organismů a složení abiosestonu. Tento doprovodný text formulujte tak, aby zhruba odpovídal smyslu poznámky 3 k příloze 1 z vyhlášky č. 252/2004 Sb.<sup>2</sup> Vzhledem k tomu, že vzorky jsou přizpůsobeny potřebám mezilaboratorního porovnávání (a nepředstavují tudíž reálný vzorek pitné vody), není vhodné uvádět „možný původ organismů“. Hodnocení bude zaměřeno pouze na dominantní složky. Při určování není vždy nutné zařadit přítomné organismy ke druhu či rodu. Tam, kde je přesnější určení v počítačích komůrce obtížně proveditelné, stačí zařazení do vyšších skupin (např. rozlišení do rodů u většiny centrických rozsivek není nutné ani snadno proveditelné). Samozřejmě, tam kde je rozlišení snadné, zkuste přítomné organismy (především ty dominantní) zařadit alespoň do rodu. Hodnocení z předchozích kol mohou noví účastníci najít na <http://www.szu.cz/stanoveni-mikroskopickeho-obrazu-v-pitne-a-surove-vode>.
- Poznámka ke vzorku 3A: Jednalo se o vzorek z podzemního zdroje s okem viditelnými černými částicemi, které byly pro účely programu zkoušení způsobilosti dezintegrovány na mikroskopické rozměry.*
9. U kvantitativních stanovení ve vzorcích 1, 2 a 4 proveďte paralelní stanovení, uveďte obě hodnoty do protokolu. Za hodnocený výsledek pak bude považován aritmetický průměr z obou hodnot.
10. Vzorkovnici u **vzorků 3A a 3B** nejprve důkladně protřepejte v ruce a pak přeneste kapku vzorku na podložní sklíčko a přikryjte krycím sklíčkem. V mikroskopu pak určete dominantní organismy nebo částice abiosestonu (jeden či několik taxonů / typů). Požadavky na určení jsou stejné jako u vzorků 1, 2 a 4 (viz bod 8).
11. Způsob hodnocení ukazatelů bude stejný jako v předchozích kolech. U ukazatele kvalitativní rozbor je nutné dostatečné určení dominantní složky/složek ve vzorcích 1, 2, 3A a 3B. Ukazatele stanovené ve vzorku 4 budou vyhodnoceny pouze ve zprávě a nebudou součástí přílohy certifikátu.
12. DOPROVODNÁ ČÁST PROGRAMU: Účastníci, kteří mohou použít ke stanovení abiosestonu také analýzu obrazu a mají zájem si porovnat své výsledky s ostatními účastníky, uvedou své výsledky ze vzorku 2 do patřičné kolonky na protokolu. Prosíme o specifikaci použitého postupu. Analýzou obrazu dále stanovte procento pokryvnosti abiosestonem na dvou fotografiích, které jsou umístěné na výše uvedené internetové adrese, a uveďte ho do protokolu.

### **Zpracování vzorku 5 (surová voda)**

13. Pro zpracování **vzorku 5** platí pravidla uvedená v bodech 3 – 5 a 9.
14. Před samotným počítáním v komůrce doporučujeme provést rozbor na běžném podložním skle, na které lze použít větší zvětšení.
15. Do protokolu uveďte počty v 1 ml pro 7 – 16 nejvíce zastoupených taxonů a jejich přiřazení do skupin (z těchto výsledků bude hodnocen ukazatel kvalitativní rozbor v surové vodě) a celkový počet organismů. Není tedy nutné vypisovat do protokolu všechny zastoupené taxony, ale jen ty nejčastěji zastoupené. Ukazatel celkový počet organismů zahrnuje **všechny počítané organismy**, tedy nejen počty 7 – 16 nejvíce zastoupených (a na protokolu jmenovitě uvedených) taxonů.
16. Určení nejvíce zastoupených taxonů se snažte provést do úrovně druhu nebo alespoň rodu. Jsme si vědomi, že to může být u některých organismů obtížné. V těchto případech může být dostatečná i nižší úroveň určení. Např. nepovažujeme za nutné rozlišovat jednotlivé druhy a rody pro většinu „nevláknitých“ centrických rozsivek. Příklad vyplněného protokolu bude k dispozici na výše uvedených internetových stránkách.

<sup>2</sup> **Text poznámky č. 3 k příloze č. 1 z vyhlášky č. 252/2004 Sb.:** „Nedílnou součástí výsledku zkoušky jsou i další informace získané při mikroskopickém rozboru, které mohou přispět k interpretaci výsledků a které se uvádějí ve formě slovního popisu. Tento slovní popis obsahuje zejména složení přítomného abiosestonu (případně jeho možný původ), bližší zařazení přítomných organismů a jejich možný původ (surová voda, pomnožení v síti), jejich příslušnost k obtížně odstranitelným skupinám. V případě výskytu živých organismů u vod zabezpečených dezinfekcí je vždy nutné udat, o jaké organismy se jednalo. U podzemních vod se zaznamenává především přítomnost organismů vázaných na povrchové vody a organismů indikujících zhoršenou jakost vody...“



17. Abioseston se ve vzorku 5 nestanovuje. Laboratoře, které mají přihlášenou jen surovou vodu, obdrží rovněž vzorek 2, ve kterém provedou **pouze kvantitativní stanovení abiosestonu** (odhadem, případně analýzou obrazu – body 7, 9 a 12).
18. Hodnocení ukazatele počet organismů u vzorku surové vody bude založeno na obdobných principech jako u vody pitné (tedy na výsledcích vybraných terčovách laboratořích). U kvalitativního rozboru bude založeno na výsledcích koordinátora s přihlédnutím k výsledkům účastníků (především terčovách laboratořích). Důraz bude kladen jen na několik taxonů, které se ve vzorku vyskytovaly s větší četností (viz zprávy s předchozích kol programu).

#### **Zápis a odeslání výsledků**

19. Pro zápis výsledků použijte formulář ve formátu MS Excel, který je dostupný na výše uvedené internetové adrese. Vyplňují se pouze žlutě zbarvená pole. Pokud budete při zápisu ukazatele kvalitativní rozbor chtít pokračovat v určeném poli na novém řádku, použijte kombinaci kláves Alt+Enter. Po vyplnění uložte a odešlete **ve formátu MS Excel (xls neboxlsx)** na adresu [petr.pumann@szu.cz](mailto:petr.pumann@szu.cz). Pokud budete zasílat i tištěnou verzi protokolu (není to však nutné), učiňte tak na adresu: Mgr. Petr Pumann, Státní zdravotní ústav, Šrobárova 49/48, Praha 10, 100 00. Výsledky analýz nám prosím zašlete nejpozději 30. 4. 2021. Pokud se účastníte i programu Mikrobiologický rozbor vody a budete posílat výsledky v tištěné podobě, je možné poslat vše v jedné obálce.
20. K vyhodnocení tohoto kola budeme pořádat seminář, který proběhne ve čtvrtek **24. 6. 2021 (pozor změna oproti avizovanému termínu)** od 10<sup>00</sup> hodin v Konferenčním sále v budově č. 1 (ředitelství) SZÚ společně se seminářem k PT#V/3/2021 Mikroskopický rozbor vody. Obsahem semináře nebude pouze vyhodnocení výsledků tohoto kola PZZ, ale i související informace (metodické poznámky, informace o revidovaných normách, nová literatura, zajímavosti z oboru apod.). **V případě že to z epidemiologického hlediska nebude možné, seminář se bude konat pouze on – line.** V případě Vaší neúčasti na semináři nebo při zrušení jeho prezenční formy Vám tyto dokumenty zašleme poštou. Prezenci včetně fotografické dokumentace zveřejníme na internetových stránkách programu <http://www.szu.cz/stanoveni-mikroskopickeho-obrazu-v-pitne-a-surove-vode>.

**V případě jakýchkoli dotazů se neváhejte na nás obrátit (na tel.: 267082220 nebo na v textu uvedený e-mail).**

Na spolupráci se těší

Mgr. Petr Pumann  
koordinátor programu