



Státní zdravotní ústav
Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti
POSKYTOVATEL ZKOUŠENÍ ZPŮSOBILOSTI AKREDITOVANÝ ČIA
PODLE ČSN EN ISO/IEC 17043 , REG. Č. 7001
Šrobárova 48, 100 42 Praha 10 – Vinohrady



Závěrečná zpráva

Program zkoušení způsobilosti laboratoří

PT # V / 3 / 2019

Mikrobiologický rozbor vody

Praha, červen 2019

Obsah

1. Úvod	3
2. Vzorky a jejich příprava	3
2.1. Kontrola homogenity a zajištění stability	5
3. Způsob hodnocení ukazatelů	6
3.1. Zásady hodnocení ukazatelů obecně	6
3.2. Nejistoty stanovení	6
3.3. Výsledky jednotlivých ukazatelů	7
Komentáře k jednotlivým ukazatelům	7
Tabulka 3: Z-score pro počty kolonií při 22 °C	10
Tabulka 4: Z-score pro počty kolonií při 36 °C	10
Tabulka 5: Z-score pro koliformní bakterie podle ČSN 757837	11
Tabulka 6: Z-score pro koliformní bakterie podle ČSN EN ISO 9308-1	11
Tabulka 7: Z-score pro koliformní bakterie podle ČSN EN ISO 9308-2	11
Tabulka 8: Z-score pro termotolerantní koliformní bakterie	12
Tabulka 9: Z-score pro <i>Escherichia coli</i> podle ČSN EN ISO 9308-1	12
Tabulka 10: Z-score pro <i>Escherichia coli</i> podle ČSN EN ISO 9308-2	12
Tabulka 11: Z-score pro intestinální enterokoky	13
Tabulka 12: Z-score pro <i>Clostridium perfringens</i> metodou podle ČSN 14189	13
Tabulka 13: Z-score pro <i>Clostridium perfringens</i> dle přílohy č.6 (1) vyhl. č. 252/2004 Sb.	13
Tabulka 14: Z-score pro sřičitany redukující anaeroby (klostridia)	13
Tabulka 15: Z-score pro <i>Legionella</i> spp.	14
Tabulka 16: Z-score pro <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14
Tabulka 17: Z score pro <i>Staphylococcus aureus</i>	15
Tabulka 18: Soupis úspěšnosti účastníků	16

Program zkoušení způsobilosti PT#V/3/2019 byl zaměřen na mikrobiologický rozbor vody podle standardizovaných postupů, uvedených v českých právních předpisech (především ve vyhláškách č. 252/2004 Sb., 238/2011 Sb. a 428/2001 Sb. v platném znění). Program je vhodný pro všechny typy hydroanalytických laboratoří, provádějících mikrobiologický rozbor vody dle platné legislativy.

Realizace tohoto PT byla prováděna podle standardního operačního postupu SOP V/3 – Mikrobiologický rozbor vody. Vzorky byly připraveny a vyhodnoceny na pracovišti Expertní skupiny pro zkoušení způsobilosti Státního zdravotního ústavu. Toto pracoviště je akreditováno Českým institutem pro akreditaci, o.p.s. jako poskytovatel programů způsobilosti č. 7001.

S veškerými informacemi dodanými účastníky je zacházeno jako s důvěrnými a nejsou bez souhlasu účastníka poskytovány třetím stranám.

Zprávu vypracovali: RNDr. Dana Baudišová Ph.D., Mgr. Petr Pummann, RNDr. Jaroslav Šašek a Ing. Milana Kuklíková, CSc.

Zprávu schválil koordinátor programu: RNDr. Dana Baudišová, Ph.D.

Datum vydání zprávy: 14. 6. 2019

Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT # V/3/2019

Název: Mikrobiologický rozbor vody
Organizátor: Státní zdravotní ústav, Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti, Šrobárova 48, Praha 10, 100 42, tel.: + 420 267082235, fax.: + 420 267082271
Vedoucí ESPT: Ing. Věra Vrbíková
Koordinátor: RNDr. Dana Baudišová, Ph.D.
Charakteristika materiálu: Přirozeně kontaminované i uměle připravené vzorky vody (Vzorky A a E teplá voda, Vzorky B a C povrchová voda, vzorek D uměle připravený).
Způsob přípravy: Po homogenizaci odebraných vybraných vzorků vody a umělého vzorku byly vzorky sterilně a za stálého míchání rozplněny do jednotlivých vzorkovnic pro účastníky PT.
Množství připravovaného test. materiálu: Počet vzorkovnic byl připraven na základě počtu přihlášených laboratoří, včetně nezbytné rezervy a vzorkovnic pro stanovení homogenity a stability.
Označení vzorkovnic: PT#V/3/2019 A+E, B, C, D dle typu vzorku
Zabezpečení jakosti vzorku: Vzorky byly připraveny podle standardního operačního postupu (SOP V/3) z předem prověřených, přirozeně kontaminovaných zdrojů vody. Pro přípravu umělého vzorku byla použita odstátá pitná voda a referenční kmeny cílových mikroorganismů (<i>Pseudomonas aeruginosa</i> a <i>Staphylococcus aureus</i>).
Termín testu homogenity a stability: Pro všechny vzorky byl použit ověřený způsob přípravy, který zajišťuje dostatečnou homogenitu. Stabilita a homogenita vzorků byla testována v samotných zkušebních vzorcích odebíraných v pravidelných intervalech během plnění vzorkovnic (začátek, střed a konec). Vzorky byly zpracovány v laboratoři SZÚ ve stejný (předepsaný) čas s ostatními účastníky.
Podmínky distribuce a uchování vzorků: Do doby výdeje byly zkušební vzorky uchovávány v chladničce v rozmezí teplot (5±3)°C, dále již byly uchovávány plně v kompetenci účastníků. Vzorky na testování homogenity a stability byly uchovávány v chladničce v rozmezí teplot (5±3)°C až do zpracování.
Počet účastníků: 20
Způsob distribuce: 8. 4. 2019 osobní převzetí vzorku jednotlivými účastníky. Příloha: Pokyny k provedení PT/ V # 3 / 2019 – mikrobiologický rozbor vody. Formulář pro zápis výsledků v elektronické podobě volně k dispozici na webových stránkách SZÚ.
Předání výsledků: Poštou nebo elektronicky na předepsaných formulářích do 27. 4. 2019
Způsob vyhodnocení výsledků: za vyhovující jsou považovány hodnoty z- score ležící v intervalu $z \leq /2/$ Osvědčení o účasti s přílohou uvádějící výčet ukazatelů s dosaženou požadovanou úrovní výsledků;
Určení vztažné hodnoty: vypočtena jako robustní průměr z údajů všech laboratoří
Určení směrodatné odchylky: vypočtena jako robustní směrodatná odchylka z údajů všech účastníků.
Termín předání zprávy účastníkům: červen 2019
Termín semináře: 20.6.2019

1. Úvod

Cílem zkoušení způsobilosti v roce 2019 (PT#V/3/2019 - Mikrobiologický rozbor vody) bylo stanovení mikrobiologických ukazatelů standardizovanými metodami na koncentrační úrovni vhodné pro většinu matric z oblasti kontroly jakosti vody (pitná, teplá, povrchová voda včetně vod surových a koupacích). Bylo možno zvolit následující mikrobiologické ukazatele a v některých případech bylo možné provést stanovení různými metodami (uvedené pořadí viz protokol výsledků):

1. Počet kolonií při 22°C dle ČSN EN ISO 6222
2. Počet kolonií při 36°C dle ČSN EN ISO 6222
3. Koliformní bakterie dle ČSN 75 7837
4. Koliformní bakterie dle ČSN EN ISO 9308-1:2015 (Chromogenic Coliform agar-CCA)
5. Koliformní bakterie dle ČSN EN ISO 9308-2:2014 (Colilert® 18 / Quanti Tray®)
6. Termotolerantní koliformní bakterie dle ČSN 75 7835
7. *E. coli* dle ČSN EN ISO 9308-1:2015 (Chromocult coliform agar-CCA)
8. *E. coli* dle ČSN EN ISO 9308-2: 2014 (Colilert® 18/Quanti Tray®)
9. Intestinální enterokoky dle ČSN EN ISO 7899-2
10. *Clostridium perfringens* dle ČSN EN ISO 14189
11. *Clostridium perfringens* dle přílohy č. 6 (1) vyhl. 252/2004 Sb.
12. Siřičitany redukující anaeroby (klostridia) dle ČSN EN 26461-2
13. Stanovení legionel dle ČSN EN ISO 11731
14. Stanovení *Pseudomonas aeruginosa* dle ČSN EN ISO 16266
15. Stanovení *Staphylococcus aureus* dle ČSN EN ISO 6888-1

Vzorky ke zkoušení způsobilosti v letošním roce odebralo celkem 20 laboratoří. Všechny laboratoře dodaly výsledky. Každý účastník obdržel objednaný počet vzorkovnic s příslušným vzorkem vody, označený štítkem s názvem programu zkoušení způsobilosti (PT#V/3/2019) a dále s označením příslušného vzorku (A, B, C, D, E) dle spektra ukazatelů, jež bylo možno z dané vzorkovnice stanovit. Dále účastníci obdrželi „Pokyny k provedení PT#V/3/2019“ – mikrobiologický rozbor vody, obsahující instrukce k provedení rozboru.

2. Vzorky a jejich příprava

Vzorek A: Základní rozbor: počty kolonií při 22°C a 36°C

V březnu 2019 byl pracovníky SZÚ proveden průzkum mikrobiologické kvality potenciálních zdrojů vody pro účely PT#V/3/2019 a jako nejvhodnější byl nakonec vybrán zdroj teplé užitkové vody (SZÚ, místnost 111), který opakovaně vykazoval vhodné počty kolonií při obou testovaných teplotách.

Vzorek byl 8.4.2019 odebrán po dvouminutovém odtočení do sterilní 10 litrové nádoby. Po zchlazení na laboratorní teplotu byla ověřena absence volného chlóru a vzorek byl při dodržení sterilních podmínek a za stálého míchání ihned rozplněn do 25 ks předem připravených sterilních vzorkovnic o objemu 0,25 l. Pro kontrolní analýzy v SZÚ byly ze souboru náhodně vybrány 3 vzorky (čísla vzorků 1-3 označují pořadí plnění vzorků). Kontrolní analýzy v SZÚ byly zahájeny v souladu s instrukcemi dne 9.4.2019 od 9.00 hod.

Vzorky byly do okamžiku předání uloženy v chladničkách v uzamčených prostorách mikrobiologické laboratoře, účastníkům PT#V/3/2019 byly dne 8.4.2019 předány v náhodném pořadí.

Vzorek B: Základní rozbor: koliformní bakterie, *Escherichia coli*, termotolerantní (fekální) koliformní bakterie

Počátkem dubna byl pracovníky SZÚ proveden průzkum mikrobiologické kvality potenciálních zdrojů vody pro účely PT#V/3/2019 a jako nejvhodnější byl nakonec vybrán profil Vltava – Podbaba (dlouhodobě sledovaný zdroj).

Vzorek byl 7.4. 2019 za dodržení platných pravidel pro vzorkování do sterilní 10 litrové nádoby a ihned převezen do SZÚ a uložen v chladničce při předepsané teplotě (5±3)°C, která byla průběžně monitorována. Dne 8.4. 2019 byl vzorek při dodržení sterilních podmínek a za stálého míchání ihned rozplněn do 25 ks předem připravených sterilních vzorkovnic o objemu 0,25 l. Pro kontrolní analýzy v SZÚ byly ze souboru náhodně vybrány 3 vzorky (čísla vzorků 1-3 označují pořadí plnění vzorků). Kontrolní analýzy v SZÚ byly zahájeny v souladu s instrukcemi dne 9.4.2019 od 9.00 hod.

Vzorky byly do okamžiku předání uloženy v chladničkách v uzamčených prostorách mikrobiologické laboratoře, účastníkům PT#V/3/2019 byly dne 8.4.2019 předány v náhodném pořadí.

Vzorek C: Základní rozbor: intestinální enterokoky, *Clostridium perfringens*, siřičitany redukující anaeroby (klostridia)

Počátkem dubna byl pracovníky SZÚ proveden průzkum mikrobiologické kvality potenciálních zdrojů vody pro účely PT#V/3/2019 a jako nejvhodnější byl nakonec vybrán profil Vltava – Sedlec.

Vzorek byl 7.4.2019 za dodržení platných pravidel pro vzorkování do sterilní 10 litrové nádoby a ihned převezen do SZÚ. Zde byl při dodržení sterilních podmínek a za stálého míchání ihned rozplněn do 25 ks předem připravených sterilních vzorkovnic o objemu 0,25 l. Pro kontrolní analýzy v SZÚ byly ze souboru náhodně vybrány 3 vzorky (čísla vzorků 1-3 označují pořadí plnění vzorků). Kontrolní analýzy v SZÚ byly zahájeny v souladu s instrukcemi dne 9.4.2019 od 9.00 hod.

Vzorky byly do okamžiku předání uloženy v chladničkách v uzamčených prostorách mikrobiologické laboratoře, účastníkům PT#V/3/2019 byly dne 8.4.2019 předány v náhodném pořadí.

Vzorek D: Speciální rozbor I: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*

Bakteriální kmeny (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*) byly 24 hodin při (36 ±2)°C kultivovány na neselektivním médiu (tryptózový agar s kvasničným extraktem). Poté byla na základě opakovaného testování připravena suspenze o vhodné hustotě. Příslušný objem této suspenze byl dále přidán do 5 litrů odstáté pitné vody (předem otestované na obsah volného chlóru a počet kolonií při 22°C a 36°C) ve sterilní nádobě a vše bylo důkladně zhomogenizováno. Dále byl vzorek při dodržení sterilních podmínek a za stálého míchání ihned rozplněn do 15 ks předem připravených sterilních vzorkovnic o objemu 0,25 l. Pro kontrolní analýzy v SZÚ byly ze souboru náhodně vybrány 3 vzorky (čísla vzorků 1-3 označují pořadí plnění vzorků). Kontrolní analýzy v SZÚ byly zahájeny v souladu s instrukcemi dne 9.4.2019 od 9.00 hod.

Vzorky byly do okamžiku předání uloženy v chladničkách v uzamčených prostorách mikrobiologické laboratoře, účastníkům PT#V/3/2019 byly dne 8.4.2019 předány v náhodném pořadí.

Vzorek E: Speciální rozbor II: *Legionella* spp.

V březnu 2019 bylo pracovníky SZÚ provedeno o ověření potenciálního zdroje vody pro účely PT#V/3/2019, což je teplá užitková voda (SZÚ, místnost 111). Jedná se o dlouhodobě sledovaný zdroj.

Vzorek byl 8.4.2019 odebrán po dvouminutovém odtočení do sterilní 10 litrové nádoby. Po zchlazení na laboratorní teplotu byla ověřena absence volného chlóru a vzorek byl při dodržení sterilních podmínek a za stálého míchání ihned rozplněn do 25 ks předem

připravených sterilních vzorkovnic o objemu 0,25 l. Pro kontrolní analýzy v SZÚ byly ze souboru náhodně vybrány 3 vzorky (čísla vzorků 1-3 označují pořadí plnění vzorků). Kontrolní analýzy v SZÚ byly zahájeny v souladu s instrukcemi dne 9.4.2019 od 9.00 hod.

Vzorky byly do okamžiku předání uloženy v chladničkách v uzamčených prostorách mikrobiologické laboratoře, účastníkům PT#V/3/2019 byly dne 8.4.2019 předány v náhodném pořadí.

2.1. Kontrola homogenity a stability

Homogenita připravovaných vzorků byla ověřována tak, že byly odděleny vzorky z různé fáze rozplňování, které byly zpracovány v kontrolní laboratoři SZÚ. Pro kontrolní analýzy byly ze souboru náhodně vybrány 3 vzorky (označené čísla 1-3 podle pořadí při rozplňování, vzorek č. 1 byl odebrán z rané fáze, vzorek č. 3 z konečné fáze). Vzhledem k tomu, že mikrobiologický vzorek je svojí podstatou (charakterem) nestabilní, kontrolní analýzy v SZÚ byly zahájeny v souladu s instrukcemi pro účastníky dne 9.4. 2019 od 9.00 hod. Do té doby byly kontrolní vzorky skladovány v předepsaných podmínkách ((5±3)°C). U všech referenčních vzorků byla stanovena směrodatná odchylka a její relativní vyjádření v procentech (variační koeficient), což posloužilo k posouzení variability referenčních vzorků a tím i jejich homogenity. Zároveň se sleduje, zda není zaznamenán trend výsledků v průběhu rozplňování vzorků. Připravené vzorky lze hodnotit jako homogenní, neboť žádný trend nebyl zaznamenán. Výsledky jsou uvedeny v následující tabulce (tabulka 1).

Tabulka 1. Výsledky analýz homogenity připravených vzorků (uveden je průměr výsledků v předepsaném objemu a variační koeficient).

Ukazatel	Jednotka	Průměr	Variační koeficient
Počty kolonií při 22 °C dle ČSN EN ISO 6222	KTJ/ml	14	9 %
Počty kolonií při 36 °C dle ČSN EN ISO 6222	KTJ/ml	18	28 %
Koliformní bakterie dle ČSN 757837	KTJ/10 ml	247	12 %
Koliformní bakterie dle ČSN EN ISO 9308-1	KTJ/10 ml	287	15 %
Koliformní bakterie dle ČSN EN ISO 9308-2	MPN/10 ml	218	7 %
Termotolerantní koliformní bakterie dle ČSN 757835	KTJ/10 ml	7,7	6 %
<i>Escherichia coli</i> dle ČSN EN ISO 9308-1	KTJ/10 ml	18,3	13 %
<i>Escherichia coli</i> dle ČSN EN ISO 9308-2	MPN /10 ml	7	20 %
Intestinální enterokoky dle ČSN EN ISO 7899-2	KTJ/10 ml	9,3	13 %
<i>Clostridium perfringens</i> dle ČSN EN ISO 14189	KTJ/10 ml	32	10 %
<i>Clostridium perfringens</i> dle příl. 6(1), vyhl. MZd. č. 252/2004 Sb.	KTJ/10 ml	29	13 %
Šiřičitany redukující anaeroby (klostridia) dle ČSN EN 26461-2	KTJ/10 ml	93	7 %
<i>Legionella</i> spp. dle ČSN EN ISO 11713	KTJ/10 ml	61	9 %
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> dle ČSN EN ISO 16266	KTJ/10 ml	3445	3 %
<i>Staphylococcus aureus</i> dle ČSN EN ISO 6888-1	KTJ/10 ml	1670	3 %

3. Způsob hodnocení ukazatelů

3.1. Zásady hodnocení ukazatelů obecně

Pro stanovení vztažných hodnot byly použity výsledky všech zúčastněných laboratoří. Vztažná hodnota byla vypočítána jako robustní průměr.

Hodnota cílové směrodatné odchylky (σ) byla stanovena jako robustní směrodatná odchylka souboru výsledků všech účastníků, která mohla být při zohlednění dalších faktorů rozšířena.

Informace o výpočtu robustního průměru a robustní směrodatné odchylky lze najít např. v ČSN ISO 5725-5.

Následně pak každému výsledku laboratoře (X) bylo přiřazeno z-score vypočtené podle vztahu:

$$z = (X - x) / \sigma,$$

kde je x vztažná hodnota a σ cílová směrodatná odchylka. Z-score je interpretováno následujícím způsobem: $|z| \leq 2$ jako uspokojivé, $2 < |z| \leq 3$ jako sporné a $|z| > 3$ jako neuspokojivé. Z-score charakterizuje přesnost dat produkovaných laboratoří a je definováno jako systematická chyba laboratoře vztažená na cílovou hodnotu směrodatné odchylky.

3.2. Nejistoty stanovení

Pro stanovení vztažné hodnoty a intervalu správných hodnot nebyly nejistoty stanovení brány v úvahu.

Celkem uvedlo údaje o nejistotách 14 účastníků tj (70 %). Naprostá většina uváděla relativní nejistotu (v %). Nejistotu v případě nízkých hodnot (pod mezí stanovitelnosti) zohlednilo (např. neuvedlo, nebo uvedlo jako širší rozmezí hodnot) 55 % účastníků. Většina nejistot (93 %) u hodnot nad mezí stanovitelnosti byla uvedena jako relativní nejistota (tj. v procentech). Rozmezí uvedené relativní nejistoty bylo 20 - 61 %; průměrná relativní nejistota byla 34 %. Uvedené nejistoty stanovení lze využít především při hodnocení úspěšných či neúspěšných výsledků jednotlivými účastníky.

3.3. Výsledky jednotlivých ukazatelů

Výsledky jednotlivých ukazatelů (vztažné hodnoty, odchylky a intervaly správných hodnot) jsou uvedeny v tabulce č. 2. Komentáře k jednotlivým ukazatelům jsou uvedeny pod tabulkou.

Tabulka 2: Výsledky jednotlivých ukazatelů

Ukazatel	Jednotky	Vztažná hodnota	vztažná odchylka	interval správných hodnot
Počty kolonií při 22 °C dle ČSN EN ISO 6222	KTJ/ml	20	± 65 %	7-33
Počty kolonií při 36 °C dle ČSN EN ISO 6222	KTJ/ml	33,6	±75 %	8,4-58,8
Koliformní bakterie dle ČSN 757837	KTJ/10 ml	254	±42 %	147,4-360,6
Koliformní bakterie dle ČSN EN ISO 9308-1	KTJ/10 ml	186,6	±65 %	65,4-307,8
Koliformní bakterie dle ČSN EN ISO 9308-2	MPN/10 ml	254,57	±39 %	155,29-353,85
Termotolerantní koliformní bakterie dle ČSN 757835	KTJ/10 ml	13,8	±70 %	4,2-23,4
<i>Escherichia coli</i> dle ČSN EN ISO 9308-1	KTJ/10 ml	9,3	±50 %	4,7-13,9
<i>Escherichia coli</i> dle ČSN EN ISO 9308-2	MPN/10 ml	7,67	±67 %	2,54-12,8
Intestinální enterokoky dle ČSN EN ISO 7899-2	KTJ/10 ml	10,7	±54 %	5-16,4
<i>Clostridium perfringens</i> ČSN EN ISO 14189	KTJ/10 ml	33,4	5,6	22,2-44,6
<i>Clostridium perfringens</i> dle příl. 6(1) vyhl. MZd. č. 252/2004 Sb.	KTJ/10 ml	21,6	±85 %	3,3-39,9
Siřičitany redukující anaeroby (klostridia) dle ČSN EN 26461-2	KTJ/10 ml	88,5	±51 %	43,4-133,6
<i>Legionella</i> spp. dle ČSN EN ISO 11713	KTJ/10 ml	73,2	±57 %	31,5-114,9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> dle ČSN EN ISO 16266	KTJ/10 ml	3768,9	±56 %	1658,4-5879,4
<i>Staphylococcus aureus</i> dle ČSN EN ISO 6888-1	KTJ/10 ml	1513,8	±12 %	1332,2-1695,4

Komentáře k jednotlivým ukazatelům:

Počet kolonií při 22 °C

Ukazatel stanovovalo 16 účastníků, 15 účastníků uspělo, 1 účastník neuspěl. Vztažná hodnota (tab. 2) byla vypočtena jako robustní průměr z údajů všech účastníků. Narostlé kolonie byly drobné a bylo nutné je počítat pod lupou s bočním osvětlením. V případě pochyb, zda-li se opravdu jedná o kolonii bakterií, je vhodné ověření pod mikroskopem. Vzhledem k tomu, že se jednalo o vzorek teplé vody, byly počty kolonií při 22°C nižší než počty kolonií při 36°C.

Počet kolonií při 36 °C

Ukazatel stanovovalo 17 účastníků, 13 účastníků uspělo, 4 účastníci neuspěli. Vztažná hodnota (tab. 2) byla vypočtena jako robustní průměr z údajů všech účastníků. V případě pochyb, zda-li se opravdu jedná o kolonii bakterií, je vhodné ověření pod mikroskopem. Vzhledem k tomu, že se jednalo o vzorek teplé vody, byly počty kolonií při 36°C vyšší než počty kolonií při 22°C.

Koliformní bakterie dle ČSN 75 7837

Jedná se o stanovení koliformních bakterií na Endo agaru. Tato metoda je určena výhradně pro stanovení koliformních bakterií v nedezinfikovaných vodách a je vhodná především pro matrici povrchové vody. Ukazatel stanovovalo 7 účastníků, 5 účastníků uspělo. Vztažná hodnota (tab. 2) byla vypočtena jako robustní průměr z údajů účastníků, kteří pracovali s vhodným ředěním (tj. doporučeným rozmezím počtů kolonií na detektoru (v tomto případě membránový filtr) dle ČSN EN ISO 8199 roku 2008, 8.2.5.1. NP). Zejména membránový filtr s vysokým obsahem doprovodné mikroflóry výsledky stanovení koliformních bakterií významně podhodnocuje.

Koliformní bakterie dle ČSN EN ISO 9308-1

Jedná se o stanovení koliformních bakterií na Chromocult Coliformen agaru (dále CCA). Ukazatel stanovovalo 13 účastníků, všichni účastníci uspěli. Vztažná hodnota (tab. 2) byla vypočtena jako robustní průměr z údajů všech účastníků. Typ CCA (výrobce apod.) nebyl při hodnocení zohledňován zejména proto, že ne všichni účastníci tento údaj uvedli.

Koliformní bakterie dle ČSN EN ISO 9308-2

Jedná se o stanovení koliformních bakterií metodou Colilert® 18 - Quanti Tray (IDEXX). Výsledek se udává jako „nejpravděpodobnější počet“ koliformních bakterií (MPN). Ukazatel stanovovalo 10 účastníků, všichni účastníci uspěli. Vztažná hodnota (tab. 2) byla vypočtena jako robustní průměr z údajů účastníků, kteří dodali kvantitativní výsledek. Výsledek $\geq 200,5$ byl uznán jako správný, neboť v Pokynech k provedení PT/ V # 3 / 2019 – mikrobiologický rozbor vody bylo doporučováno pouze jedno ředění (10 ml). Je však nutno upozornit na fakt, že pro Quanti-Tray (51 komůrek) platí rozsah koncentrací pouze 1 až 200 organismů ve 100 ml, zatímco pro Quanti-Tray/2000 (96 komůrek) je rozsah koncentrací pouze od 1 do 2 419 organismů ve 100 ml vzorku. Toto je třeba při volbách ředění u především neznámých vzorků zohledňovat.

Termotolerantní koliformní bakterie

Ukazatel stanovovalo 12 účastníků, 9 účastníků uspělo, 3 účastníci neuspěli. Vztažná hodnota (tab. 2) byla vypočtena jako robustní průměr z údajů všech účastníků.

***E. coli* dle ČSN EN ISO 9308-1**

Jedná se o stanovení koliformních bakterií na Chromocult Coliformen agaru (dále CCA). Ukazatel stanovovalo 14 účastníků, 13 účastníků uspělo, 1 neuspěl. Vztažná hodnota (tab. 2) byla vypočtena jako robustní průměr z údajů všech účastníků, typ CCA nebyl při hodnocení zohledňován zejména proto, že ne všichni účastníci tento typ (a výrobce) uvedli.

***E. coli* dle ČSN EN ISO 9308-2**

Jedná se o stanovení koliformních bakterií metodou Colilert® 18 - Quanti Tray (IDEXX). Výsledek se udává jako „nejpravděpodobnější počet“ koliformních bakterií (MPN). Ukazatel stanovovalo 10 účastníků, všichni účastníci uspěli. Vztažná hodnota (tab. 2) byla vypočtena jako robustní průměr z údajů účastníků.

Intestinální enterokoky

Ukazatel stanovovalo 15 účastníků, 14 účastníků uspělo, 1 účastník neuspěl. Vztažná hodnota (tab. 2)) byla vypočtena jako robustní průměr z údajů všech účastníků.

***Clostridium perfringens* dle ČSN EN ISO 14189**

Ukazatel stanovovalo 5 účastníků, 4 účastníci uspěli, 1 účastník neuspěl. Vztažná hodnota (tab. 2) byla vypočtena jako robustní průměr z údajů všech účastníků.

***Clostridium perfringens* dle příl. 6 (1) vyhl. MZd. č. 252/2004 Sb.**

Ukazatel stanovovalo 9 účastníků, všichni účastníci uspěli. Vztažná hodnota (tab. 2) byla vypočtena jako robustní průměr z údajů všech účastníků.

Siřičitany redukující anaeroby (klostridia)

Ukazatel stanovovalo 6 účastníků, 5 účastníků uspělo, 1 účastník neuspěl. Vztažná hodnota (tab. 2) byla vypočtena jako robustní průměr z údajů všech účastníků.

***Legionella* spp.**

Ukazatel stanovovalo 9 účastníků, 8 účastníků uspělo, 1 účastník neuspěl. Vztažná hodnota (tab. 2) byla vypočtena jako robustní průměr z údajů všech účastníků.

Pseudomonas aeruginosa

Ukazatel stanovovalo 8 účastníků, všichni účastníci uspěli. Vztažná hodnota (tab. 2) byla vypočtena jako robustní průměr z údajů všech účastníků.

Staphylococcus aureus

Ukazatel stanovovalo 8 účastníků, uspělo, 7 účastníků uspělo, 1 účastník neuspěl. Vztažná hodnota (tab. 2)) byla vypočtena jako robustní průměr z údajů všech účastníků.

Tabulka 3: Z-score pro počty kolonií při 22 °C

V	lab	výsledek (KTJ/ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	992	11	-1.38									
X	333	14	-0.92									
X	1275	15	-0.77									
X	330	15	-0.77									
X	1251	16	-0.62									
X	859	16	-0.62									
X	392	17	-0.46									
X	1071	19	-0.15									
X	1255	20	0,00									
X	741	22	0,31									
X	1281	23	0,46									
X	1305	24	0,62									
X	442	24	0,62									
X	967	25	0,77									
X	936	29	1,38									
?	1326	36	2,46									

počet laboratoří: 16

z toho vyhovuje: 15

z toho nevyhovuje: 1

vztažná hodnota: 20 KTJ/ml

vztažná odchylka: ±65%

interval správných hodnot: 7 - 33 KTJ/ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka 4: Z-score pro počty kolonií při 36 °C

V	lab	výsledek (KTJ/ ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
?	1251	8	-2.03									
?	333	8	-2.03									
X	392	22	-0.92									
X	859	26	-0.60									
X	1305	27	-0.52									
X	1147	29	-0.37									
X	1275	30	-0.29									
X	1281	30	-0.29									
X	330	30	-0.29									
X	936	37	0,27									
X	741	38	0,35									
X	1071	43	0,75									
X	1255	43	0,75									
X	1326	43	0,75									
X	967	49	1,22									
?	992	60	2,10									
?	442	68	2,73									

počet laboratoří: 17

z toho vyhovuje: 13

z toho nevyhovuje: 4

vztažná hodnota: 33,6 KTJ/ ml

vztažná odchylka: ±75%

interval správných hodnot: 8,4 - 58,8 KTJ/ ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka 5: Z-score pro koliformní bakterie podle ČSN 757837

V	lab	výsledek (KTJ/10 ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
!	741	64	-3,56									
X	992	180	-1,39									
X	859	190	-1,20									
X	1326	270	0,30									
X	1275	280	0,49									
X	442	296	0,79									
!	1305	1000	13,99									

počet laboratoří: 7
z toho vyhovuje: 5
z toho nevyhovuje: 2

vztažná hodnota: 254 KTJ/10 ml
vztažná odchylka: ±42%
interval správných hodnot: 147,4 - 360,6 KTJ/10 ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka 6: Z-score pro koliformní bakterie podle ČSN EN ISO 9308-1

V	lab	výsledek (KTJ/10 ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	333	100	-1,43									
X	936	107	-1,31									
X	741	132	-0,90									
X	1071	135	-0,85									
X	967	140	-0,77									
X	1251	155	-0,52									
X	1326	185	-0,03									
X	1275	210	0,39									
X	859	220	0,55									
X	392	220	0,55									
X	330	235	0,80									
X	992	290	1,71									
X	442	306	1,97									

počet laboratoří: 13
z toho vyhovuje: 13
z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 186,6 KTJ/10 ml
vztažná odchylka: ±65%
interval správných hodnot: 65,4 - 307,8 KTJ/10 ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka 7: Z-score pro koliformní bakterie podle ČSN EN ISO 9308-2

V	lab	výsledek (MPN/10ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	1275	228,2	-0,53									
X	392	235,9	-0,38									
X	859	238,0	-0,33									
X	992	240,0	-0,29									
X	330	248,9	-0,11									
X	1281	276,0	0,43									
X	1305	285,1	0,62									
X	1326	307,0	1,06									
X	442	307,0	1,06									
X	1255	>200,5	?									

počet laboratoří: 10
z toho vyhovuje: 10
z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 254,57 MPN/10ml
vztažná odchylka: ±39%
interval správných hodnot: 155,29 - 353,85 MPN/10ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka 8: Z-score pro termotolerantní (fekální) koliformní bakterie

V	lab	výsledek (KTJ/10ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	992	7	-1.41									
X	333	10	-0.79									
X	442	11	-0.58									
X	392	12	-0.37									
X	1305	13	-0.17									
X	859	13	-0.17									
X	330	13	-0.17									
X	741	14	0.04									
X	1275	16	0.46									
!	1326	32	3.77									
!	1255	34	4.18									
!	1281	35	4.39									

počet laboratoří: 12

z toho vyhovuje: 9

z toho nevyhovuje: 3

vztažná hodnota: 13,8 KTJ/10ml

vztažná odchylka: ±70%

interval správných hodnot: 4,2 - 23,4 KTJ/10ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka 9: Z-score pro *Escherichia coli* podle ČSN EN ISO 9308-1

V	lab	výsledek (KTJ/10ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	1326	5	-1.85									
X	741	6	-1.42									
X	936	7	-0.99									
X	859	8	-0.56									
X	992	8	-0.56									
X	392	9	-0.13									
X	442	9	-0.13									
X	1071	10	0.30									
X	1255	10	0.30									
X	1275	10	0.30									
X	330	10	0.30									
X	967	10	0.30									
X	333	12	1.16									
?	1251	15	2.45									

počet laboratoří: 14

z toho vyhovuje: 13

z toho nevyhovuje: 1

vztažná hodnota: 9,3 KTJ/10ml

vztažná odchylka: ±50%

interval správných hodnot: 4,7 - 13,9 KTJ/10ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka 10: Z-score pro *Escherichia coli* podle ČSN EN ISO 9308-2

V	lab	výsledek (MPN/10ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	1255	5	-0.92									
X	1326	6	-0.65									
X	1281	6	-0.53									
X	1305	6	-0.53									
X	992	7	-0.26									
X	859	8	0.13									
X	392	9	0.36									
X	330	10	0.71									
X	1275	10	0.79									
X	442	10	0.91									

počet laboratoří: 10

z toho vyhovuje: 10

z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 7,67 MPN/10ml

vztažná odchylka: ±67%

interval správných hodnot: 2,54 - 12,8 MPN/10ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka 11: Z-score pro intestinální enterokoky

V	lab	výsledek (KTJ/10ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	333	6	-1,63									
X	936	7	-1,28									
X	741	8	-0,93									
X	1071	9	-0,59									
X	992	10	-0,24									
X	967	10	-0,24									
X	859	10	-0,24									
X	330	10	-0,24									
X	1326	11	0,10									
X	1305	12	0,45									
X	1281	13	0,80									
X	1275	13	0,80									
X	392	13	0,80									
X	1255	13	0,80									
!	1251	21	3,57									

počet laboratoří: 15

z toho vyhovuje: 14

z toho nevyhovuje: 1

vztažná hodnota: 10,7 KTJ/10ml

vztažná odchylka: ±54%

interval správných hodnot: 5 - 16,4 KTJ/10ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka 12: Z-score pro *Clostridium perfringens* podle ČSN EN ISO 14189

V	lab	výsledek (KTJ/10 ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
?	333	20	-2,39									
X	1275	32	-0,25									
X	859	33	-0,07									
X	330	36	0,46									
X	392	40	1,18									

počet laboratoří: 5

z toho vyhovuje: 4

z toho nevyhovuje: 1

vztažná hodnota: 33,4 KTJ/10 ml

vztažná odchylka: 5,6 KTJ/10 ml

interval správných hodnot: 22,2 - 44,6 KTJ/10 ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka 13: Z-score pro *Clostridium perfringens* podle příl. 6(1) vyhl. MZd. č. 252/2004 Sb.

V	lab	výsledek (KTJ/10ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	936	15	-0,72							#		
X	741	15	-0,72							#		
X	992	17	-0,50							#		
X	1326	20	-0,17							#		
X	442	21	-0,07							#		
X	1275	22	0,04							#		
X	330	25	0,37							#		
X	859	31	1,02							#		
X	392	38	1,79							#		

počet laboratoří: 9

z toho vyhovuje: 9

z toho nevyhovuje: 0

vztažná hodnota: 21,6 KTJ/10ml

vztažná odchylka: ±85%

interval správných hodnot: 3,3 - 39,9 KTJ/10ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka 14: Z-score pro siřičitany redukující anaeroby (klostridia)

V	lab	výsledek (KTJ/10 ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	992	51	-1,66									
X	1275	80	-0,38									
X	859	88	-0,02									
X	392	90	0,07									
X	330	95	0,29									
?	333	140	2,28									

počet laboratoří: 6

vztažná hodnota: 88,5 KTJ/10 ml

z toho vyhovuje: 5

vztažná odchylka: ±51%

z toho nevyhovuje: 1

interval správných hodnot: 43,4 - 133,6 KTJ/10 ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka 15: Z-score pro *Legionella* spp.

V	lab	výsledek (KTJ/10 ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
?	705	21	-2,50									
X	960	60	-0,63									
X	392	69	-0,20									
X	1147	70	-0,15									
X	330	72	-0,06									
X	859	73	-0,01									
X	936	86	0,61									
X	741	88	0,71									
X	1275	90	0,81									

počet laboratoří: 9

vztažná hodnota: 73,2 KTJ/10 ml

z toho vyhovuje: 8

vztažná odchylka: ±57%

z toho nevyhovuje: 1

interval správných hodnot: 31,5 - 114,9 KTJ/10 ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka 16: Z-score pro *Pseudomonas aeruginosa*

V	lab	výsledek (KTJ/10 ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	1275	3000	-0,73									
X	330	3200	-0,54									
X	859	3400	-0,35									
X	877	3500	-0,25									
X	392	3600	-0,16									
X	741	4400	0,60									
X	705	4500	0,69									
X	936	5000	1,17									

počet laboratoří: 8

vztažná hodnota: 3768,9 KTJ/10 ml

z toho vyhovuje: 8

vztažná odchylka: ±56%

z toho nevyhovuje: 0

interval správných hodnot: 1658,4 - 5879,4 KTJ/10 ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka 17: Z-score pro *Staphylococcus aureus*

V	lab	výsledek (KTJ/10ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
!	877	1100	-4.56									
X	705	1480	-0.37									
X	936	1500	-0.15									
X	741	1500	-0.15									
X	392	1500	-0.15									
X	1275	1550	0.40									
X	859	1600	0.95									
X	330	1693	1,97									

počet laboratoří: 8

z toho vyhovuje: 7

z toho nevyhovuje: 1

vztažná hodnota: 1513,8 KTJ/10ml

vztažná odchylka: ±12%

interval správných hodnot: 1332,2 - 1695,4 KTJ/10ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka 18: Soupis úspěšnosti účastníků

ukazatel	330	333	392	442	705	741	859	877	936	960	967	992	1071	1147	1251	1255	1275	1281	1305	1326	
Počty kolonií při 22°C					X			X		X				X							
Počty kolonií při 36°C					X			X		X											
Koliformní bakterie podle ČSN 757837	X	X	X		X			X	X	X	X		X	X	X	X		X			
Koliformní bakterie podle ČSN EN ISO 9308-1					X			X		X				X		X		X	X		
Koliformní bakterie podle ČSN EN ISO 9308-2		X			X	X		X	X	X	X		X	X	X						
Termotolerantní koliformní bakterie					X			X	X	X	X		X	X	X						
<i>Escherichia coli</i> podle ČSN EN ISO 9308-1					X			X		X				X				X	X		
<i>Escherichia coli</i> podle ČSN EN ISO 9308-2		X			X	X		X	X	X	X		X	X	X						
Intestinální enterokoky				X	X			X		X				X							
<i>Clostridium perfringens</i> podle ČSN EN ISO 14189				X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X	
<i>Clostridium perfringens</i> podle vyhl. č. 252/2004 Sb.		X			X			X		X	X		X	X	X	X		X	X		
Sířičitany redukující anaeroby (klostridia)				X	X	X		X	X	X	X		X	X	X	X		X	X	X	
<i>Legionella</i> spp.		X		X				X			X	X	X		X	X		X	X	X	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		X		X						X	X	X	X	X	X	X		X	X	X	
<i>Staphylococcus aureus</i>		X		X						X	X	X	X	X	X	X		X	X	X	
Legenda																					
	z-score $ z \leq 2$																				
	z-score $2 < z \leq 3$																				
	z-score $ z > 3$																				
X	neúčast / výsledek nedodán																				