



## POKYNY A INFORMÁCIE PRE ÚČASTNÍKOV MPS-MBR-10/2019

### 1. Náplň medzilaboratórných porovnávacích skúšok

Stanovenie ukazovateľov pre zistenie mikrobiologickej kvality vody. Stanovované ukazovatele a metódy stanovenia sú uvedené v tabuľke.

| Ukazovateľ                             | Norma   | Metóda   |
|--|---|--|
| koliformné baktérie                    | STN EN ISO 9308-1: 2015<br>STN EN ISO 9308-1: 2003<br>STN 75 7841: 2007, STN ISO 9308-2: 2013 | metóda membránová filtrácia<br><br>metóda najviac pravdepodobného počtu    |
| <i>Escherichia coli</i>                | STN EN ISO 9308-1: 2015<br>STN EN ISO 9308-1: 2003<br>STN 75 7841: 2007, STN ISO 9308-2: 2013 | metóda membránová filtrácia<br><br>metóda najviac pravdepodobného počtu    |
| termotolerantné koliformné baktérie    | STN 75 7840: 2005   | metóda membránová filtrácia  |
| črevné enterokoky                      | STN EN ISO 7899-2: 2003   | metóda membránová filtrácia  |
| <i>Clostridium perfringens</i>         | STN ISO 14189: 2015   | metóda membránová filtrácia  |
| klostrídiá                             | STN EN 26461-2: 1998  | metóda membránová filtrácia  |
| kultivovateľné mikroorganizmy pri 36°C | STN EN ISO 6222: 2001   | metóda výsev do média  |
| kultivovateľné mikroorganizmy pri 22°C | STN EN ISO 6222: 2001   | metóda výsev do média  |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>          | STN EN 16266: 2008  | metóda membránová filtrácia  |
| <i>Legionella</i> spp.                 | STN EN ISO 11731: 2018  | metóda membránová filtrácia s následným vymývaním a priamy výsev na médium |

### 3. Podmienky uchovávaní a transportu vzoriek

Vzorky počas transportu a pred spracovaním je nutné udržiavať pri teplote  $(5 \pm 3) ^\circ\text{C}$ .

### 4. Spracovanie vzoriek

Pri spracovaní vzoriek MPS postupujte podľa požiadaviek uvedených v STN EN ISO 8199:2019, rovnakým spôsobom, ako pri bežných vzorkách analyzovaných vo vašom laboratóriu, pokiaľ to nie je inak uvedené v pokynoch. Pracujte v súlade so správnymi laboratórnymi postupmi, vrátane požiadaviek na bezpečnosť. Koncentrácia stanovovaných baktérií je maximálne na úrovni povrchovej vody. Vzorka G obsahuje baktérie rodu *Legionella*. Inhalácia organizmu spôsobuje infekciu a preto sa odporúča posúdiť všetky techniky, či sa pri ich používaní netvorí aerosóly. V prípade takej možnosti spracovať vzorku v bezpečnostnom boxe.

#### Vzorka A (vzorkovnica 100 ml): Stanovenie kultivovateľných mikroorganizmov pri 36°C a 22°C.

Pri stanovení kultivovateľných baktérií použite riedenia do  $10^{-2}$ . Pre oba ukazovatele urobte po dve paralelné stanovenia pre každé riedenie. **Ukazovateľ kultivovateľné mikroorganizmy pri 22°C odčítajte až v pondelok ráno, aj keď nebude dodržaný čas kultivácie podľa normy!** V protokole uveďte patričné riedenia vzoriek (vo forme  $10^0$ ,  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ), z ktorých ste získali platné výsledky, počty kolónií na jednotlivých miskách a výslednú hodnotu KTJ prepočítanú na 1 ml vzorky.

Pozn. Do editovateľnej formy rozborového listu nie je možné vpísať horný index, preto stačí, keď uvediete 10, medzera a 0, desať, medzera a -1, (10 0, 10 -1) alebo uvediete len 0, -1, -2, alebo 0. ried., 1. ried., 2. ried.

#### Vzorka B (vzorkovnica 1000 ml): Stanovenie koliformných baktérií, *Escherichia coli*, termotolerantných koliformných baktérií a črevných enterokokov.

Tieto skupiny stanovujete membránovou filtráciou s použitím objemov 100 ml, 10 ml, 1 ml a pre stanovenie koliformných baktérií aj riedenie  $10^{-1}$  vzorky. Pre jednotlivé ukazovatele urobte po dve paralelné stanovenia pre každý objem. V protokole uveďte použitý objem vzorky, v prípade riedenia uvádzajte použité riedenie, z ktorého ste získali platné výsledky a počty kolónií na jednotlivých membránových filtroch. Výslednú hodnotu prepočítajte na objem, ktorý ste použili pri odčítaní výsledkov v tvare KTJ/...ml. Ak pri odčítaní musíte použiť riedenie, výsledok prepočítajte na 1 ml.

Do protokolu udávajte iba výsledky získané podľa platných noriem, neudávajte aj výsledky získané iným postupom.

Pozn. Pre laboratóriá, ktoré si potrebujú skontrolovať používanie laktózového TTC agaru s Tergitolom 7 pre analýzy povrchových vôd, je možné poslať výsledky získané aj touto metódou (STN EN ISO 9308-1/AC, 2003. referenčná metóda uvedená v norme (štandardná skúška). Túto skutočnosť uveďte na rozborovom liste v poznámke.



### **Vzorka C (lyofilizovaný disk): Stanovenie *Clostridium perfringens*.**

Pripravte si 100 ml sterilného riediaceho roztoku. Do pripraveného roztoku preneste disk z vialky (môže sa vysypať prevrátaním vialky). Nechajte vzorku stáť minimálne 10 minút a nádobku prevrátaním premiešajte do úplného rozpustenia disku. Po premiešaní nechajte 5 minút postáť, vzorku si rozdeľte na polovice po 50 ml a spracujte podľa postupu v norme s použitím membránovej filtrácie. Pre stanovenie *C. perfringens* postupujte podľa platnej STN, bez pasterizácie. Filter preložte na kultivačné médium bez prídavného preliatia médium a dajte kultivovať v anaeróbnom prostredí. Výslednú hodnotu po potvrdení cieľovej baktérie a prepočítaní, vyjadrite na objem 100 ml.

### **Vzorka D (vzorkovnica 500 ml): Stanovenie spór anaeróbov redukujúcich siričitany (klostridiá).**

Pri stanovení klostridií, postupujte podľa platnej STN s použitím pasterizácie a na filtráciu použite objemy 200 ml a 20 ml vzorky. Urobte po dve paralelné stanovenia pre každý objem. V protokole uveďte použitý objem vzorky, z ktorého ste získali platné výsledky a počty kolónií na jednotlivých miskách. Výslednú hodnotu prepočítajte na objem 100 ml.

### **Vzorka E (vzorkovnica 500 ml): Stanovenie koliformných baktérií, *Escherichia coli* metódou Colilert**

Pri stanovovaní koliformných baktérií a *E. coli* metódou Colilert/Quanti-Tray použite na inokuláciu 100 ml, 10 ml, 1 ml vzorky a riedenie  $10^{-1}$ . Z jednotlivých objemov urobte jedno stanovenie. Výslednú hodnotu prepočítajte na objem, ktorý ste použili pri odčítaní výsledkov v tvare KTJ/....ml (alebo MPN/...ml). Ak pri odčítaní musíte použiť riedenie, výsledok prepočítajte na 1 ml.

### **Vzorka F (vzorkovnica 500ml): Stanovenie *Pseudomonas aeruginosa***

Pri stanovení *Pseudomonas aeruginosa*, postupujte podľa platnej STN a na filtráciu použite objemy 100 ml, 10 ml, 1 ml a riedenie  $10^{-1}$  vzorky, dve paralelné stanovenia pre každý objem. Odčítanie urobte podľa normy po 24 h a konečné hodnotenie urobte po predĺženej 44 hodinovej kultivácii. Výslednú hodnotu prepočítajte na objem, ktorý ste použili pri odčítaní výsledkov z membránových filtrov a uveďte v tvare KTJ/....ml. Ak pri odčítaní musíte použiť riedenie, výsledok prepočítajte na 1 ml.

### **Vzorka G (vzorkovnica 1000 ml): Stanovenie *Legionella* spp.**

Pri stanovení *Legionella* spp. analyzujte metódou na stanovenie *Legionella* spp. podľa normy STN EN ISO 11731, membránová filtrácia s následným vymývaním baktérií z filtra, prefiltrujte 100 ml, použite tepelné a kyslé opracovanie vzorky a očkovanie bez opracovania. Okrem toho spracujte vzorku aj bez membránovej filtrácie a urobte priamu inokuláciu na BCYE a GVPC, prípadne MWY médium bez riedenia a prvé riedenie. Výslednú hodnotu zo stanovenia prepočítajte na 1000 ml vzorky.

## **5. Začiatok analýzy**

Vzorky do začiatku analýzy uchovajte v tme pri  $5 \pm 3$  °C a analyzujte **23.10.2019, v čase 9.00 - 12.00 h**

## **6. Vyhodnotenie kultivácie**

Po dobe kultivácie podľa špecifických noriem, urobte vyhodnotenie jednotlivých skupín stanovovaných mikroorganizmov. Pri kvantitatívnom hodnotení postupujte podľa platnej STN EN ISO 8199. Pri počítaní vyrastených kolónií na agarových pôdach v Petriho miskách a na membránových filtroch je potrebné dbať na prijateľné maximálne počty, čo je na Petriho miske s priemerom 90 mm počet od 10 do 300 kolónií a na membránovom filtri s priemerom 47 mm počet od 10 do 80 kolónií, pričom berte do úvahy prislúchajúce intervaly spoľahlivosti pre tieto počty. Do rozborového listu uvádzajte počty, ktoré ste odčítali na jednotlivých Petriho miskách a membránových filtroch! Prípadné odchýlky od týchto počtov popíšte v pripomienke v rozborovom liste. Pri jasnom nedodržaní týchto pravidiel nebudú výsledky akceptované. Pri uvádzaní konečných počtov, tieto nemusíte zaokrúhľovať ako je to uvedené v norme. Pri uvádzaní výsledkov v prípade nízkych počtov na najnižšom riedení uveďte konkrétne číslo, ktoré ste odčítali na membránovom filtri.

**7. Výsledky zašlite do 5. 11. 2019.** Pre vystavenie osvedčenia a archiváciu materiálov z MPS je potrebné poslať originál rozborového listu. Originál pošlite poštou (pečiatka pošty), alebo sken podpísaného rozborového listu mailom na adresu miloslava.proksova@vuvh.sk. **Žiadame o dodržanie termínov spracovania vzoriek a zaslania výsledkov!!! Vždy uvádzajte evidenčné číslo laboratória. Do rozborového listu napíšte čísla vzorkovnic.** Zmena/oprava záznamu (v zápise výsledkov) v rozborovom liste musí vyhovovať požiadavkám uvedených v STN EN ISO/IEC 17043:2010, kap. 5.13.2.3, a STN EN ISO/IEC 17025:2005, kap. 4.3.3.3 t.j. zmeny sa musia jasne vyznačiť, parafovať a datovať. Korektná zmena/oprava záznamu (výsledku) znamená, že pôvodný záznam sa neprepisuje ani nebieli, ale preškrtné a vedľa sa napíše nový záznam. Ten musí byť označený dátumom, kedy bola zmena urobená a čitateľným podpisom osoby, ktorá zmenu vykonala. Bez týchto náležitostí opravený výsledok nebude akceptovaný.

**8.** V zmysle normy EN ISO/IEC 17043:2010 kap. 4.10.4 môže regulačný orgán vo výnimočných prípadoch požadovať priame poskytnutie výsledkov od organizátora PSS. Zainteresovaní účastníci musia byť o tejto skutočnosti oboznámení písomne.



9. V zmysle normy EN ISO/IEC 17043:2010 kap. 4.10.4 je možné vzdať sa dobrovoľne dôvernosti, napr. za účelom diskusie a vzájomnej pomoci.

10. **Náklady** za objednané vzorky Vám budú fakturované podľa cenníka po prevzatí vzoriek, **aj v prípade, že ich laboratórium neprevezme z akéhokoľvek dôvodu.**

11. **Osvedčenie a záverečná správa** Vám budú zaslané poštou do **20. 12. 2019, len po uhradení faktúry!**

12. **Pri problémoch alebo nejasnostiach týkajúcich sa MPS neváhajte a zavolajte na t.č.: 02/59343485; 02/59343401; 0918360169 prípadne píšete na mail: angelika.kassai@vuvh.sk alebo miloslava.proksova@vuvh.sk.**

13. **Výsledky zaslané oneskorene nebudú zaradené do vyhodnotenia!!!**

|  |                             |                     |
|--|-----------------------------|---------------------|
| <b>Prehľad termínov MPS-MBR-10/2019:</b> | Odoslanie prihlášky         | 13. 9. 2019         |
|  | Prevzatie vzoriek           | 22. 10. 2019        |
|  | Analýza vzoriek             | 23. 10. 2019 o 9:00 |
|  | Zaslanie výsledkov          | do 5. 11. 2019      |
|  | Odoslanie záverečnej správy | do 20. 12. 2019     |