



POKYNY A INFORMÁCIE PRE ÚČASTNÍKOV MPS-MBR-10/2021

1. Náplň medzilaboratórných porovnávacích skúšok

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

Ukazovateľ	Norma	Metóda
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
koliformné baktérie	STN EN ISO 9308-1: 2015	metóda membránová filtrácia
	STN EN ISO 9308-1: 2003	metóda membránová filtrácia
	STN 75 7841: 2007, STN ISO 9308-2: 2013	metóda najviac pravdepodobného počtu
<i>Escherichia coli</i>	STN EN ISO 9308-1: 2015	metóda membránová filtrácia
	STN EN ISO 9308-1: 2003	metóda membránová filtrácia
	STN 75 7841: 2007, STN ISO 9308-2: 2013	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>Pseudomonas aeruginosa</i>	STN EN ISO 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
<i>Clostridium perfringens</i>	STN EN ISO 14189: 2017	metóda membránová filtrácia
klostridiá	STN EN 26461-2: 1998	metóda membránová filtrácia

3. Podmienky uchovávaní a transportu vzoriek

Vzorky počas transportu a pred spracovaním je nutné udržiavať pri teplote (5 ± 3) °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 E môže obsahovať baktérie rodu *Legionella*. Inhalácia organizmu spôsobuje infekciu a preto sa odporúča posúdiť všetky techniky, či sa pri ich používaní netvoria 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. V protokole uveďte patričné riedenia vzoriek (vo forme 10⁰, 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*, 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 laboratória, 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 (vzorkovnica 500 ml): Stanovenie termotolerantných koliformných baktérií a stanovenie koliformných baktérií a *Escherichia coli* metódou Colilert

Na stanovenie termotolerantných koliformných baktérií použite membránovú filtráciu a objemy 100 ml, 10 ml, 1 ml. 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 membránových filtroch. Výslednú hodnotu prepočítajte na objem, ktorý ste použili pri odčítaní výsledkov v tvare KTJ/....ml. Pri stanovovaní koliformných baktérií a *E. coli* metódou Colilert/Quanti-Tray použite na inokuláciu 100 ml, 10 ml, 1 ml vzorky. Z jednotlivých objemov urobte jedno stanovenie. Výslednú hodnotu prepočítajte na objem, ktorý ste použili pri odčítaní výsledkov v tvare KTJ/....ml (alebo MPN/....ml).

Vzorka D (vzorkovnica 500ml): Stanovenie *Pseudomonas aeruginosa*

Pri stanovení *P. aeruginosa* 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 E (vzorkovnica 1000 ml): Stanovenie *Legionella* spp.

Pri stanovení *Legionella* spp. postupujte podľa platnej normy, spracujte vzorku aj bez membránovej filtrácie a urobte **priamu inokuláciu** na BCYE a GVPC, prípadne MWY médium bez riedenia a prvé riedenie. Do protokolu uveďte inokulovaný objem alebo riedenie aj s použitým médiom (napr. 0,5 ml/GVPC). V rozborovom liste máte pripravené kolónky pre dve použité médiá (1. médium, 2. médium). Ďalej použite **membránovú filtráciu s následným vymývaním baktérií z filtra**, prefiltrujte 200 ml, použite tepelné a kyslé opracovanie vzorky a očkovanie bez opracovania. Do protokolu uveďte inokulovaný objem koncentráta a použité médium (napr. 0,5 ml/GVPC). V rozborovom liste máte pripravené kolónky pre dve použité médiá (1. médium, 2. médium). Výslednú hodnotu zo stanovenia prepočítajte na 1000 ml vzorky. Ak máte možnosť, stanovte sérotyp detegovaného izolátu.

Vzorka F (vzorkovnica 500 ml): Stanovenie spór anaeróbov redukujúcich siričitany (klostrídiá) a *Clostridium perfringens*.

Pri stanovení klostrídií a *C. perfringens* postupujte podľa platných STN s použitím pasterizácie pre oba ukazovatele. Na filtráciu použite objemy 10, 20 a 50 ml vzorky, urobte po dve paralelné stanovenia pre každý objem. V prípade stanovenia *C. perfringens* na potvrdenie suspektných kolónií použite dostatočnú masu kultúry do reakcie na kyslú fosfatázu. Nechajte rásť na neselektívnom agare bohatom na živiny (krvný Columbia agar, základ pre Columbia agar alebo tryptón sójový agar), najdlhší možný čas, ideálne 32 – 48 h.

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.

5. Začiatok analýzy

Vzorky do začiatku analýzy uchovajte v tme pri $(5 \pm 3) ^\circ\text{C}$ a analyzujte **27.10.2021, 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 do 10 kolónií, uveďte konkrétne číslo, ktoré ste odčítali na membránovom filtri.

7. Výsledky zašlite do 12. 11. 2021. 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 vzorkovníc.** 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 preškrtnie 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. 4.10.2 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 e-mailom do **20. 12. 2021, len po uhradení faktúry!**

12. Pri problémoch alebo nejasnostiach týkajúcich sa MPS neváhajte a zavolajte na t.č.: 02/59343486; 02/59343401; 0918360169 prípadne píšete na mail: angelika.kassai@vuvh.sk alebo miloslava.proksova@vuvh.sk.

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

Prehľad termínov MPS-MBR-10/2021:	
Odoslanie prihlášky	10. 09. 2021
Prevzatie vzoriek	26. 10. 2021
Analýza vzoriek	27. 10. 2021 o 9:00
Zaslanie výsledkov	do 12. 11. 2021
Zverejnenia referenčných hodnôt	10. 12. 2021
Odoslanie záverečnej správy	do 20. 12. 2021