

POKYNY A INFORMÁCIE PRE ÚČASTNÍKOV MPS-MBR-10/2023

1. Náplň medzilaboratórnych porovnávacích skúšok

Stanovenie ukazovateľov pre zistenie mikrobiologickej kvality prírodných a obohatených prírodných vôd. 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 STN EN ISO 9308-1: 2003 STN 75 7841: 2007 STN EN ISO 9308-2: 2014	metóda membránová filtrácia metóda membránová filtrácia metóda najviac pravdepodobného počtu
<i>Escherichia coli</i>	STN EN ISO 9308-1: 2015 STN EN ISO 9308-1: 2003 STN 75 7841: 2007 STN EN ISO 9308-2: 2014	metóda membránová filtrácia metóda membránová filtrácia 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>Clostridium perfringens</i>	STN EN ISO 14189: 2017	metóda membránová filtrácia
<i>Legionella</i> spp.	STN EN ISO 11731:2018	metóda membránová filtrácia s následným vymývaním a priamy výsev na médium

2. Podmienky uchovávanía a transportu vzoriek

Vzorky počas transportu a pred spracovaním je nutné udržiavať pri teplote (5 ± 3) °C.

3. 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 a ochrany zdravia pri práci. Koncentrácia stanovovaných baktérií je maximálne na úrovni povrchovej vody. Vzorka F môže obsahovať baktérie rodu *Legionella*. Inhalácia mikroorganizmu spôsobuje infekciu a preto sa odporúča posúdiť všetky použité techniky, aby sa minimalizoval vznik aerosólov.

Vzorka A (vzorkovnica 100 ml/sklo):

Stanovenie kultivovateľných mikroorganizmov pri 36 °C a 22 °C

Pri stanovení kultivovateľných baktérií inokulujte vzorku bez riedenia (0. riedenie), prvé riedenie (1. riedenie) a druhé riedenie (2. riedenie). Pre oba ukazovatele urobte po dve paralelné stanovenia pre každé riedenie. V rozborovom liste máte predpripravené riadky pre všetky riedenia (0. riedenie, 1. riedenie, 2. riedenie), ktoré je potrebné použiť pri spracovaní vzorky. Do rozborového listu zapíšte len tie počty KTJ, ktoré sú v rámci pracovných limitov na Petriho miske podľa STN EN ISO 8199 a výslednú hodnotu KTJ prepočítajte na 1 ml vzorky.

Vzorka B (vzorkovnica 1000 ml/sklo):

Stanovenie koliformných baktérií, *Escherichia coli* a črevných enterokokov

Tieto skupiny stanovujte membránovou filtráciou s použitím objemov 100 ml, 10 ml, 1 ml a pre stanovenie koliformných baktérií a *Escherichia coli* aj prvé riedenie (1. riedenie) vzorky. Pre jednotlivé ukazovatele urobte po dve paralelné stanovenia pre každý objem. V rozborovom liste uveďte použitý

Výskumný ústav vodného hospodárstva, Nábr. arm. gen L. Svobodu 5, 812 49 Bratislava.
Laboratórium je akreditované SNAS na skúšanie, osvedčenie o akreditácii č. S-100.
Organizátor PSS je akreditovaný SNAS, osvedčenie o akreditácii č. T-005.

www.vuvh.sk

objem vzorky, prípadne použité riedenie, z ktorého ste získali platné výsledky a počty KTJ na jednotlivých membránových filtroch, ktoré sú v rámci pracovných limitov na membránovom filtri podľa STN EN ISO 8199. Výslednú hodnotu KTJ prepočítajte na objem 100 ml.

Vzorka C (vzorkovnica 500 ml/sklo):

Stanovenie termotolerantných koliformných baktérií a stanovenie koliformných baktérií a *Escherichia coli* metódou Colilert

Pri stanovení termotolerantných koliformných baktérií použite membránovú filtráciu a objemy 100 ml, 10 ml a 1 ml. Urobte po dve paralelné stanovenia pre každý objem. V rozborovom liste uveďte použitý objem vzorky, z ktorého ste získali platné výsledky a počty KTJ na jednotlivých membránových filtroch, ktoré sú v rámci pracovných limitov na membránovom filtri podľa STN EN ISO 8199. Výslednú hodnotu KTJ prepočítajte na objem 100 ml. Pri stanovovaní koliformných baktérií a *E. coli* metódou Colilert/Quanti-Tray použite na inokuláciu 100 ml, 10 ml a 1 ml vzorky. Z jednotlivých objemov urobte jedno stanovenie. Výslednú hodnotu MPN prepočítajte na objem 100 ml.

Vzorka D (vzorkovnica 500ml/sklo):

Stanovenie *Pseudomonas aeruginosa*

Pri stanovení *Pseudomonas aeruginosa* použite membránovú filtráciu a objemy 100 ml, 10 ml a 1 ml vzorky a urobte po dve paralelné stanovenia pre každý objem. Odčítanie urobte podľa normy po 24 h a konečné hodnotenie po predĺženej 44 h kultivácii. V rozborovom liste uveďte použitý objem vzorky, z ktorého ste získali platné výsledky a počty KTJ na jednotlivých membránových filtroch, ktoré sú v rámci pracovných limitov na membránovom filtri podľa STN EN ISO 8199. Výslednú hodnotu KTJ prepočítajte na objem 100 ml.

Vzorka E (vzorkovnica 500 ml/sklo):

Stanovenie *Clostridium perfringens*

Pri stanovení *Clostridium perfringens* postupujte podľa platnej STN s použitím pasterizácie. Na filtráciu použite objemy 10 ml, 20 ml, 50 ml a 100 ml vzorky, urobte po dve paralelné stanovenia pre každý objem. Na potvrdenie suspektných kolónií *Clostridium perfringens* 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 h až 48 h. V rozborovom liste uveďte použitý objem vzorky, z ktorého ste získali platné výsledky a počty KTJ na jednotlivých membránových filtroch, ktoré sú v rámci pracovných limitov na membránovom filtri podľa STN EN ISO 8199. Výslednú hodnotu KTJ prepočítajte na objem 100 ml.

Vzorka F (vzorkovnica 1000 ml/sklo):

Stanovenie *Legionella* spp.

Pri stanovení *Legionella* spp. postupujte podľa platnej normy, spracujte vzorku s použitím dvoch postupov - bez membránovej filtrácie a s použitím membránovej filtrácie. V postupe bez membránovej filtrácie urobte priamu inokuláciu na BCYE a GVPC, prípadne MWY médium bez riedenia a prvé riedenie. Do protokolu uveďte inokulovaný objem alebo riedenie vzorky 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 a membránový filter vymývajte v 10 ml riediaceho roztoku, použite tepelné a kyslé opracovanie vzorky a očkovanie bez opracovania. Do protokolu uveďte inokulovaný objem koncentráту vzorky alebo riedenia koncentráту vzorky a použité médium (napr. 0,5 ml/GVPC). V rozborovom liste máte pripravené kolónky pre dve použité médiá (1. médium, 2. médium). Výslednú hodnotu KTJ prepočítajte na 1000 ml vzorky. Ak máte možnosť, stanovte sérotyp detegovaného izolátu.

Výskumný ústav vodného hospodárstva, Nábr. arm. gen L. Svobodu 5, 812 49 Bratislava.
Laboratórium je akreditované SNAS na skúšanie, osvedčenie o akreditácii č. S-100.
Organizátor PSS je akreditovaný SNAS, osvedčenie o akreditácii č. T-005.

www.vuvh.sk

4. Začiatok analýzy

Vzorky do začiatku analýzy uchovajte v tme pri $(5 \pm 3) ^\circ\text{C}$ a analyzujte dňa **25.10.2023, v čase od 9.00 h do 13.00 h**. V prípade stanovenia *Legionella* spp. je možné vzorku analyzovať do **26.10.2023 do 11.00 h**.

5. Vyhodnotenie kultivácie

Do rozborového listu udávajte iba výsledky získané podľa platných noriem, neudávajte aj výsledky získané iným postupom. Po dobe kultivácie podľa špecifických noriem, urobte vyhodnotenie jednotlivých skupín stanovovaných mikroorganizmov. Pri kvantitatívnom hodnotení postupujte podľa platnej normy STN EN ISO 8199. Pri počítaní vyrastených kolónií na agarových médiách 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 kolónií do 300 kolónií a na membránovom filtri s priemerom 47 mm počet od 10 kolónií do 80 kolónií, pričom berte do úvahy prislúchajúce intervaly spoľahlivosti pre tieto počty. Do rozborového listu uvádzajte počty KTJ, 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 výsledkov v prípade nízkych počtov do 10 kolónií, uveďte konkrétne číslo, ktoré ste odčítali na Petriho miske alebo na membránovom filtri.

6. Zasielanie výsledkov

Výsledky zašlite do 10. 11. 2023. POZOR ZMENA!

Excelovský dokument Rozborový list (zverejnený na webe VÚVH - <https://www.vuvh.sk/?lid=3>) si uložte do svojho počítača pod názvom: RL_MBR_2310_xx.xx, pričom posledné štvorčíslenie je evidenčné číslo Vášho laboratória. **Rozborový list zasielajte len elektronickou poštou na mail marianna.cichova@vuvh.sk do stanoveného termínu a to v dvoch formátoch:**

(1) **jeden v „pdf“ formáte** - po vyplnení vytlačený rozborový list autorizovaný s pečiatkou a podpisom a čitateľne naskenovaný,

(2) **druhý v excelovskom formáte „xlsx“** - vyplnený dokument Rozborového listu v programe Microsoft Excel.

Dôvodom tejto zmeny je testovanie systému elektronického spracovania údajov MPS. Vopred ďakujeme za akceptovanie našich požiadaviek.

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 17025:2018, kap. 7.5.2, 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.

7. V zmysle normy STN 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.

8. V zmysle normy STN EN ISO/IEC 17043:2010 kap. 4.10.2 je možné vzdať sa dobrovoľne dôvernosti, napr. za účelom diskusie a vzájomnej pomoci.

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

10. **Osvedčenie a záverečná správa** Vám budú zaslané mailom do **8.1.2024, len po uhradení faktúry!**

Výskumný ústav vodného hospodárstva, Nábr. arm. gen L. Svobodu 5, 812 49 Bratislava.
Laboratórium je akreditované SNAS na skúšanie, osvedčenie o akreditácii č. S-100.
Organizátor PSS je akreditovaný SNAS, osvedčenie o akreditácii č. T-005.

www.vuvh.sk

11. Vyhodnotenie MPS

Všetky výsledky a relevantné informácie budú uvedené v záverečnej správe z tejto MPS. Účastníci MPS majú vždy možnosť individuálnej konzultácie ohľadom MPS mailom, telefonicky alebo osobne po dohode s príslušnými zodpovednými pracovníkmi. Všetky aktuálne informácie ohľadom MPS budú včas uvedené na internetovej stránke VÚVH – www.vuvh.sk.

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

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

Prehľad termínov MPS-MBR-10/2023:

Odoslanie prihlášky	22. 9. 2023
Prevzatie vzoriek	24. 10. 2023
Analýza vzoriek	25. 10. 2023 o 9:00 h
Zaslanie výsledkov	do 10. 11. 2023
Zverejnenia referenčných hodnôt	15. 12. 2023
Odoslanie záverečnej správy	do 8. 1. 2024