

JAKÉ JSOU MOŽNÉ DOPADY VZORKOVÁNÍ PITNÉ VODY DLE NOVÉ LEGISLATIVY NA NÁLEZY ORGANOTROFNÍCH BAKTERIÍ?

Dana Baudišová, Petr Pumann, Jaroslav Šašek, Alena Dvořáková, Milana Kuklíková
Státní zdravotní ústav, Šrobárova 48, 100 43 Praha 10, e-mail: dana.baudisova@szu.cz

Souhrn

Předmětem příspěvku je zhodnotit vliv procesu vzorkování pitných vod na počet bakterií (celkový počet bakterií stanovených metodou průtokové cytometrie a počet kolonií při 22 °C a 36 °C) v odebraných vzorcích. Počty bakterií, včetně kultivovatelných mikroorganismů byly nejvyšší v „prvním podílu“ odtáčené vody, tudíž se jednalo o jejich pomnožení především během stagnace ve vodovodní baterii. Po odtočení dvou litrů byly již bakteriální počty nižší a po odtočení 4 a více litrů se počet bakterií ustálil. Možný vliv dezinfekčního činidla na vzorek vody závisí především na technice provádění dezinfekce kohoutku, která však není v technických normách specifikována. V řadě odběrových míst se zdá být výrazně větší nebezpečí ovlivnění vzorku, odebraného pouze po krátkém proplachu teplotou, než dezinfekčním činidlem.

Klíčová slova: pitná voda; vzorkování; bakterie; průtoková cytometrie; dezinfekce

Summary

The aim of this study was the evaluation of sampling to the bacterial counts (total counts of bacteria detected by means of flow cytometry and colony counts at 22°C and 36°C) in tap water samples. The highest bacterial counts were detected in the „first portion“ (no run off) because of its multiplication in water battery during stagnation. After run 2 liters off the bacterial counts were lower and after run 4 liters off the bacterial counts were stabilized. The possible influence of disinfection depends mainly on the concrete technique of sampling, which is not specified in technical standard. In the most of sampling points, the bigger negative influence of water temperature than the influence of disinfection is expected.

Keywords: drinking water; sampling; bacteria; flow cytometry; disinfection

Úvod

Novelizace legislativy ČR pro pitnou vodu z let 2017 a 2018, která byla vynucena povinností transponovat změny v evropské směrnici 98/83 ES z roku 2015, zahrnuje kromě klíčové změny povinného zavádění analýzy (posouzení) rizik i několik dalších drobnějších úprav. Jedna z nich upřesňuje provedení odběru. V novele vyhlášky č. 252/2004 Sb. z dubna 2018 přibyl k odstavci 1, ve kterém se konstatovalo, že odběr má být proveden podle metod obsažených v českých technických normách (v poznámce se odkazuje na ČSN EN ISO 19458, ČSN ISO 5667-5 a ČSN EN ISO 5667-3), nově odstavec 2:

„Odběr vzorků pitné vody pro stanovení mikrobiologických ukazatelů se provádí podle tabulky 1 ČSN EN ISO 19458 (757801) Jakost vod – Odběr vzorků pro mikrobiologickou analýzu, a to podle účelu vzorkování „b“ – z kohoutku, jedná-li se o odběr vzorků u spotřebitele, nebo podle účelu vzorkování „a“ – z rozvodného potrubí, jedná-li se o odběr na výstupu z úpravny nebo v rámci distribuční sítě zejména z vodojemů a v odůvodněném případě z hydrantů. Oba odběry zahrnují odstranění všech připojených zařízení a dezinfekci kohoutku nebo výtokového ventilu, účel vzorkování „a“ navíc zahrnuje propláchnutí kohoutku před odběrem.“

Vzhledem k tomu, že i na kohoutku převládal doposud odběr s odtočením do konstantní teploty (tedy spíše postupem „a“ podle ČSN EN ISO 19458), **může mít toto zdánlivě drobné upřesnění poměrně významný dopad na výsledky některých ukazatelů**, a tím pádem také na počet odběrů, které bude nutné z důvodu překročení limitních hodnot zopakovat. K problematice vydal dne 17. 10. 2018 své stanovisko také SOVAK ČR. Ve stanovisku je konstatováno, že požadavky norem ČSN ISO 5667-5 a ČSN EN ISO 19458 nejsou v rozporu. Při odběru vzorku pro mikrobiologickou analýzu se v praxi běžně

provádí dezinfekce kohoutku ostřikem dezinfekčním roztokem většinou na bázi lihu, a tedy je nutné provést „krátkodobý proplach“ vzorku za účelem odstranění vlivu dezinfekčního činidla v souladu s požadavkem ČSN EN ISO 19458 (kap. 4.4.1.4.). Dále SOVAK konstatuje, že každá laboratoř, případně odběrová skupina si musí verifikovat časový interval, za který se odstraní používané dezinfekční činidlo. Podle dosud získaných výsledků je konstatováno, že k odstranění dezinfekčního roztoku (DESPREJ) dochází po 2 až 3 minutách odtočení.

Rovněž my se nedomníváme, že jsou požadavky norem ČSN ISO 5667-5 a ČSN EN ISO 19458 v rozporu. ČSN ISO 5667-5 v kapitole 9.4 uvádí, že „*pořadí, v němž jsou vzorky odebírány, závisí na účelu odběru*“. Dále je se pro rutinní odběr navrženo pořadí, v němž je odběr vzorků pro stanovení mikrobiologických rozborů zařazen jako poslední, o několik řádků níže je uvedeno, že „*pro jiné účely může být požadováno jiné pořadí odběru vzorků*“. Na což lze vztáhnout právě požadavky novelizované legislativy a odběr postupem „b“, tedy voda jak je dodávána ke kohoutku spotřebitele podle ČSN EN ISO 19458. Bohužel, tento odběr je v ČSN EN ISO 19458 popsán dost nekonzistentně. V tabulce 1 (na kterou je ve vyhlášce přímo odkazováno) je uvedeno, že proplach má být minimální s poznámkou „*propláchnout krátkodobě, pouze tak, aby se odstranil vliv dezinfekčního činidla*“, dále je však v kapitole 4.4.1.4 upřesněno, že po dezinfekci kohoutku „*se voda nechá odtékat dostatečně dlouho, aby vzorek nebyl ovlivněn teplotou nebo dezinfekčním činidlem (residual thermal or disinfectant effect)*“, což už se blíží spíše postupu „a“ (voda v rozvodné síti). Tím, že jsou obě ustanovení v ČSN EN ISO 19458 poměrně vágní, nelze tvrdit, že jsou v přímém rozporu. Co však tvrdit lze, že v tomto případě mezinárodní normotvůrci neodvedli příliš dobrou práci.

Na základě výše uvedených skutečností jsme se rozhodli provést testování vlivu vzorkování na mikrobiální společenstva (celkový počet bakterií stanovených průtokovou cytometrií a počet kolonií vyrostlých v kultivačním médiu) a ověřit také vliv dezinfekčních roztoků (DESPREJ, 70% ethanol) na koncentrace TOC v odebírané vodě, abychom získali data, ze kterých bychom si mohli udělat lepší představu o této problematice a případně je využili při přípravě vlastního metodického dokumentu.

Metodika

V období 29. 11. – 11. 12. 2018 bylo provedeno celkem 11 sérií odběrů pitné vody v různých typech budov („veřejné instituce“, panelové domy, rodinný dům). Všechny objekty se nacházejí na území hl. m. Prahy, tj. jsou zásobované vodou dodávanou podnikem PVK a.s. Dále byly testovány různé způsoby dezinfekce (bez dezinfekce, využití často používaného přípravku DESPREJ, ponoření kohoutku do 70% ethylalkoholu). Termínem „veřejné instituce“ se myslí budovy, které slouží jako úřady či laboratoře, a lze u nich očekávat nižší spotřebu a jiný režim odtáčení, než u budov sloužících k obytným účelům.

V každém z 11 sérií odběrů bylo odebráno 5 vzorků (tj. celkem 55 vzorků) podle předem naplánovaného schématu, který vždy zahrnoval první podíl (tj. bez jakéhokoli odtočení), dále 2. a 3. podíl po 2 a 4 litrech odtáčení, 4. podíl po 6 až 10 litrech odtáčení (cca 2 minuty) a po dosažení stabilní teploty odtáčené vody (15 až 60 litrech). Během odběrů byl zaznamenáván odtáčený objem, teplota vody a čas. Pokud byla do odběru zařazena dezinfekce, byla provedena po odtočení „prvního podílu“. Po dezinfekci následovala pauza 30 s (dle návodu výrobce) a dále se pokračovalo v odběrech. .

Stanoveny byly ukazatele volných chlór (Sigrist Color nebo Hach), zákal (Hach), celkový organický uhlík (Liqui TOC Elementar), počty kolonií při 22 °C a 36 °C dle ČSN EN ISO 6222 a celkový počet bakterií. Celkový počet bakterií byl stanoven pomocí automatického průtokového cytometru SIGRIST BactoSense TCC, který v České republice distribuuje firma Technoprocure CZ. Bakterie jsou nabarveny fluorescenčním barvivem SYBR®Green I, které proniká do buněk a váže se na dvouřetězcovou DNA. Fluorescence je analyzována při dvou vlnových délkách (525 – 545 nm a 670 – 715 nm). Získané výsledky jsou uvedeny v jednotkách TCC (Total Cell Count), což představuje celkový počet buněk na 1 ml.

Výsledky a diskuse

V odebraných vzorcích bylo zjištěno jen málo volného chlóru, v převážné většině se jednalo o pouhé stopy, nebo o hodnoty do 0,1 mg/l. V řadě případů nebyl volný chlór zachycen. Nejvyšší hodnota 0,16 mg/l byla zachycena v odtočeném vzorku vody v jednom z testovaných panelových domů.

Souhrnné výsledky analýz jsou uvedeny v tabulce 1. Jsou uvedeny hodnoty celkového počtu bakterií stanovené metodou průtokové cytometrie, počty kolonií při 22 °C a 36 °C, obsah celkového organického uhlíku a teplota. Výsledky jednotlivých sérií odběrů se většinou významně neliší ve svém průběhu, pouze v absolutních hodnotách počtů bakterií. Nejvyšší hodnoty počtu bakterií, a to jak celkového počtu, tak počtu kolonií, se podle očekávání nacházely v prvním podílu, tj. v neodtočeném vzorku. Po dvou litrech odtažení se již hodnoty významně snížily, byly však ještě mírně zvýšené. Od 4 litrů odtočené vody se již počty bakterií významně nelišily, resp. lišily se v rozsahu opakovatelnosti (pro stanovení celkového počtu bakterií průtokovou cytometrií byla experimentálně stanovena na 20 %). Přestože obě skupiny bakterií (celkové počty vs. kultivovatelné bakterie) vykazovaly stejné trendy, statisticky významná korelace nebyla zaznamenána. Nebyly zjištěny ani významné rozdíly při různém způsobu dezinfekce (bez dezinfekce, DESPREJ, ponoření kohoutku do 70% ethylalkoholu). Hodnoty zákalu byly též nejvyšší v prvních, případně druhých odebraných podílech.

Pokud jde o celkový organický uhlík, tak k významnějšímu zvýšení jeho obsahu došlo pouze v několika případech a to jen ve druhém odebraném podílu (odtočení 2 litrů). V dalších odebraných vzorcích již zvýšené hodnoty celkového organického uhlíku byly neprůkazné.

Z výsledků vyplývá, že se celkové počty bakterií v jednotlivých odběrových lokalitách liší. Pomnožení bakterií ve vodovodní baterii může záviset na době stagnace, obsahu živin, či teplotě.

Teplotní režim se výrazně lišil v různých odběrových lokalitách. Nejnižší teploty vody (odběry byly prováděny v prosinci 2018) byly zjištěny jak v cihlovém domě (první podíl 14,2 °C do ustálení teploty 11,4 °C bylo nutné odtočit 15 litrů), nebo v rodinném domku (první podíl 11,6 °C do ustálení teploty 8,5 °C bylo nutné odtočit 16 litrů). Naopak ve veřejných institucích se teploty v prvních podílech pohybovaly okolo 25 °C, a do ustálení teploty bylo nutné odtočit cca 40 litrů vody. U panelových domů zásadně ovlivnilo, byla-li vzorkovaná stoupačka napojena na WC (s velkou spotřebou vody) či nikoliv. V každém případě se však ukazuje, že nebezpečí „ovlivnění teplotou“ u nedostatečně odtočeného vzorku je významnější, než ovlivnění zbytkem dezinfekčního činidla. Čím je míněno „ovlivnění vzorku teplotou“, to není v normě ČSN EN ISO 19458 specifikováno. Podle našeho názoru by vyšší teplota vzorku mohla ovlivnit změny počtu mikroorganismů během transportu.

Vliv zbytků dezinfekčního činidla byl testován pomocí změn obsahu celkového organického uhlíku. K dezinfekci byl použit sprej DESPREJ (v České republice jeden z nejpoužívanějších komerčních sprejů, založený na ethylalkoholové bázi), pro srovnání byla též použita technika ponoření kohoutku do 70% ethylalkoholu. Zvýšený obsah celkového organického uhlíku byl zjištěn pouze v některých odběrech. Toto ovlivnění zřejmě závisí především na technice provádění dezinfekce kohoutku (intenzita, razance a prostorová aplikace), to však není v technických normách specifikováno. Po ponoření kohoutku do 70% ethylalkoholu žádné změny v obsahu TOC nenastaly.

V evropských zemích se k odběrům vzorků pitných vod přistupuje různým způsobem. Na jednání skupiny ENDWARE (ENDWARE 2018) se zástupci 11 zemí vyjádřili k preferovanému místu odběru. V 7 zemích preferují veřejné budovy, v jedné zemi (Belgie - Vlámsko) preferují soukromé budovy. Zástupci sedmi zemí se vyjádřili k preferovanému způsobu dezinfekce a 5 z nich preferuje opalování (tato odpověď byla většinou ve vztahu k odběru vzorků z veřejných budov, případně ze speciálních kohoutků pro vodárny).

Tabulka 1: Výsledky celkového počtu bakterií (TCC) v n/ml, kultivovatelných bakterií v KTJ/ml (počty kolonií při 36 °C a 22 °C PK 36, PK 22), celkového organického uhlíku (TOC) v mg/l a teploty v °C

Odběr	Charakteristika/dezinfekce	Ukazatel	1. podíl	2. podíl	3. podíl	4. podíl	5. podíl
1	Veřejná instituce 1, 1. patro. Bez dezinfekce	TCC	73 951	45 802	10 966	9 044	8 168
		PK36	756	56	3	0	0
		PK22	221	79	3	4	0
		TOC	1,70	1,73	1,90	1,97	1,7
		teplota	ND	24,2	20,0	16,6	14,9
2	Veřejná instituce 1, 1. patro. Ponoření kohoutku do 70% etylalkoholu	TCC	24 333	18 385	11 277	9 142	9 120
		PK36	932	10	3	5	0
		PK22	968	0	2	6	10
		TOC	1,83	1,85	1,91	1,60	1,88
		teplota	23,7	23,7	24,0	21,1	14,5
3	Veřejná instituce 1, 1. patro. DESPREJ	TCC	87 431	22 867	13 747	8 611	10 766
		PK36	620	26	6	2	4
		PK22	171	38	19	5	5
		TOC	2,16	1,93	1,70	1,37	1,66
		teplota	ND	23,6	23,5	19,0	14,5
4	Veřejná instituce 2, 1. patro. DESPREJ	TCC	362 273	136 544	32 743	21 521	12 545
		PK36	690	101	0	0	0
		PK22	91	8	0	1	3
		TOC	1,66	1,72	1,6	1,79	ND
		teplota	24,9	27,9	25,9	22,4	14,5
5	Veřejná instituce 3, 1. patro DESPREJ	TCC	143 232	104 882	53 408	51 820	57 015
		PK36	417	113	68	13	159
		PK22	434	99	59	8	82
		TOC	2,40	2,06	2,10	2,02	2,03
		teplota	ND	ND	ND	ND	14,5
6	Veřejná instituce 4, 3. patro DESPREJ, perlátor nebylo možné odstranit	TCC	218 696	175 886	156 337	138 548	129 849
		PK36	142	39	24	24	35
		PK22	204	12	1	1	0
		TOC	2,61	2,93	2,61	2,66	2,69
		teplota	26,6	25,2	18,8	16,3	14,9
7	Panelový dům 1, byt 8. patro, stoupačka napojena na WC DESPREJ, perlátor nebylo možné odstranit	TCC	120 742	76 220	72 829	71 164	99 066
		PK36	156	1	0	3	0
		PK22	110	8	5	3	6
		TOC	2,99	6,04	3,73	3,58	3,21
		teplota	24,6	16,1	13,2	13,0	11,0
8	Panelový dům 2, byt 7. patro, stoupačka není napojena na WC DESPREJ	TCC	450 076	167 059	152 555	121 310	119 019
		PK36	296	284	4	2	2
		PK22	795	165	17	196	147
		TOC	2,49	3,20	2,65	2,77	2,85
		teplota	24,5	24,4	21,7	15,0	10,1
9	Panelový dům 3, byt 3. patro, stoupačka napojena na WC DESPREJ	TCC	10 273 809	161 800	98 952	98 020	98 372
		PK36	219	324	23	50	37
		PK22	333	135	9	22	18
		TOC	2,61	3,03	2,94	2,86	3
		teplota	20,5	16,4	13,3	9,8	9,4
10	Cihlový dům – byt 2. patro DESPREJ	TCC	38 922	14 978	12 092	11 522	8 333
		PK36	376	43	48	20	1
		PK22	800	1	1	20	0
		TOC	2,25	3,82	3,40	2,18	2,01
		teplota	14,2	12,8	12,1	11,6	11,4
11	Rodinný dům DESPREJ	TCC	96 311	89 934	60 434	102 446	94 561
		PK36	1	1	3	5	3
		PK22	19	6	15	12	10
		TOC	2,76	5,15	2,94	3,11	2,73
		teplota	11,6	9,2	8,6	8,5	8,5

Závěry

Významné zvýšení počtu bakterií (celkového počtu bakterií stanoveného průtokovou cytometrií i kultivovatelných mikroorganismů) bylo zaznamenáno především v „prvním podílu“ odtáčené vody, tudíž se jednalo o jejich pomnožení především během stagnace ve vodovodní baterii. Po odtočení dvou litru byly již bakteriální počty nižší a po odtočení 4 a více litrů se již počet bakterií ustálil.

Možný vliv dezinfekčního činidla na vzorek vody závisí především na technice provádění dezinfekce kohoutku (intenzita, razance a prostorové dispozice), která však není v technických normách specifikována.

V řadě odběrových míst se zdá být výrazně větší nebezpečí ovlivnění vzorku, odebraného pouze po krátkém proplachu teplotou, než dezinfekčním činidlem.

Poděkování: *Vznik příspěvku byl podpořen v rámci MZ ČR - RVO (Státní zdravotní ústav - SZÚ, IČ 75010330).*

Literatura

ČSN EN ISO 6222 (75 7821): Jakost vod – Stanovení kultivovatelných mikroorganismů – Stanovení počtu kolonií očkovaním do živného agarového kultivačního média.

ČSN EN ISO 19458 (75 7801): Jakost vod – Odběr vzorků pro mikrobiologickou analýzu.

ČSN ISO 5667-5 (757051): Jakost vod. Odběr vzorků. Část 5: Pokyny pro odběr vzorků pitné vody a vody užívané při výrobě potravin a nápojů.

ENDWARE (European Network of Drinking Water Regulators) 44. zasedání, Brugge, Belgie (21.10. -24.10.2018. Cestovní zpráva Dr. Kožíška.

SIGRIST BactoSense TCC, firemní materiály a prezentace firmy Technoprocur CZ

SOVAK (2018). Stanovisko SOVAK ČR k problematice odběru vzorků pitné vody pro stanovení mikrobiologických parametrů. Available from <https://www.sovak.cz/cs/clanek/stanovisko-sovak-cr-k-problematice-odberu-vzorku-pitne-vody-pro-stanoveni-mikrobiologickych> (accessed in 27. 12. 2018)