

Odběr vzorků pro mikrobiologickou analýzu

ČSN EN ISO 19458 : 2007

RNDr. Jaroslav Šašek
SZÚ Praha

Obecná část

Odkazy na normativní dokumenty

Jakost vod – Odběry vzorků

ČSN EN 25667 – 1: Pokyny pro návrh programu odběru vzorků

ČSN EN 25667 - 2: Pokyny pro způsob odběru vzorků

ČSN EN ISO 5667- 3: Návod pro konzervaci vzorků a manipulaci s nimi

ČSN EN 25667 - 2: Pokyny pro způsob odběru vzorků

6.3. Vzorkovače pro fyzikální a chemický odběr

6.3.2.2. Zařízení pro odběr z různých hloubek

6.5. Vzorkovače k odběru pro mikrobiologický rozbor odkaz na bod 6.3.2.2.

*přístroje včetně čerpadel a příslušenství musí být **čisté a sterilní** a nesmí být zdrojem sekundární kontaminace*

nár. pozn.: proplach provést účinným dez. prostř. a následně odebíranou vodou do vymizení tox. účinků

ČSN EN ISO 5667- 3: Návod pro konzervaci vzorků a manipulaci s nimi

Týká se fyzikálních, chemických, biologických,
radiologických ukazatelů

ne mikrobiologických !!

4.2. vzorkovnice

k odběru vzorku při ponoření do čisté vody

- sterilní uvnitř i vně

(chráněné na př. balícím papírem, hliníkovou folii, plastový obal)

– obal slouží pro dodržení maximálního stupně asepse (držení) před umístěním vzorkovnice na odběrovou tyč či jiné zařízení

Vnější povrch vzorkovnice lze dezinfikovat před ponořením vhodným prostředkem, např. isopropanol 70% (nevhodné pro sporulující bakterie!!!)

Aseptická práce

Je soubor opatření,

zabraňující kontaminaci pracovního prostředí, zařízení
či biologického materiálu nežádoucí mikroflorou

Cíl: ovlivnit co nejméně výsledky mikrobiologických
rozborů

Aseptická práce - úzce souvisí s bezpečnostními předpisy,
dodržování pracovní kázně, vyžaduje i
pozornost, zručnost,

4.2.3. Inaktivace dezinfekčních činidel

- Tato povinnost byla již dříve
- Se zrušením kapitoly konzervace pro mikrobiologii při revizi ČSN ISO 5667-3 ???

věnovat pozornost ochraně bakterií před těžkými kovy (Cu, Zn, Ag) – aplikace EDTA, NTA nebo sulfid sodný pro inaktivaci Ag

Legionely jsou citlivé na ionty Na (nahradit K), ale není nutno při běžných konc. chloru [*thiosíran sodný*]

4.2.4. kontrola kvality vzorkovnic

- Zkoušení sterility
- Zkoušení přítomnosti inaktivačních činidel
- Zkoušení reziduální toxicity (*odkaz na EPA*)

Häusler, 1994 – Mikrobiologické kultivační metody kontroly jakosti vod, Díl I., bod 4.2.

ČSN ISO 9998 : 1995 – Kontrola a hodnocení mikrobiol. kultiv. Médií....

Mělo by se promítnout v Qa/Qc systému laboratoře a PJ

5. Doprava a uchovávání vzorků

doba mezi odběrem a analýzou vzorku co nejkratší !!

ideálně v den odběru vyšetřit vzorky

doprava:

- chránit před přímými slunečními paprsky
- vzorky nesmí zmrznout (kromě virů)
- pokud není dalšími normami určeno jinak uchovávat v chladu $5 \pm 3 \text{ }^{\circ}\text{C}$

(množení i rozklad mikroflory ovlivňuje teplota $Q_{10} = 2$)

- při dopravě delší než 8 h měřit a registrovat teplotu
- počet, objem a umístění sáčků s ledem nutno upravit dle počtu, hmotnosti a počáteční teplotě vzorků
- teplé a chladné vzorky dopravovat odděleně

Doporučené a přijatelné () hodnoty pro maximální čas skladování včetně transportu – pokud není ve specifikovaných normách uvedeno jinak

<u>Ukazatel:</u>	<u>max čas (hod):</u>		<u>Teplota vody (°C):</u>	
Počty při 22°C a 36°C	8	(12)	5±3	
E.coli, enterokoky	12	(18)	5±3	
C. perfingens, SRK	24	(72)	5±3	
Viry, fágy	48	(72)	5±3	
Salmonely, Enterobacteriaceae	12	(18)	5±3	
P. aeruginosa	8	(12)	Lab	(5±3)
Legionella sp.	24		5±3	Lab
„		48	5±3	
Sinice	48	(72)	5±3	
Prvoci (Giardia cysty, améby)	24	(96)	5±3	
Cryptosporidium oocysty	24	(96)	5±3	Lab
Campylobacter	24		3±2	

Dodržování teplot při dopravě:
je nutno uchovávat v chladu 5 ± 3 °C

Dodržování maximální doby uchovávání
vzorků včetně doby dopravy:

příloha B, ČSN EN ISO 19458 -
doporučení, nutnost dodržování specifických
norem

Legionella

- ČSN ISO 11731:2002 –

8.3. Transport vzorků = **< 18 °C a > 6°C**

Ochrana před teplem, slunečním světlem;

Dodány co nejrychleji, přednostně během 1. dne, max. do
2 dnů

- ČSN ISO 11731-2 –

8.3. „ „ „ „

Pitná voda

4.4. Způsoby provádění odběrů

4.4.1. Pitná voda z vodovodního kohoutku

Účel:

- a) Jakost v rozvodném potrubí (*distributor*)
odběr ze speciálních kohoutů, nebo z kohoutů sítě blízko hlavního řadu
- b) Jak je dodávána ke kohoutku (*vliv sítě v budově*)
- c) Jakost vody při spotřebě – z kohoutku (*znečištění dáno i kohoutkem*)
provádí se ve speciálních případech – epidemie, a j.

Odběr vzorků z kohoutku pro různé účely

Účel: druh vody: odstranit dezinfekce: proplach:
připojená zařízení

a)	rozvodné potrubí	ano	ano	ano
b)	z kohoutku	ano	ano	Ne* (min)
c)	při spotřebě	ne	ne	ne

- pokračování

Odběr z akumulčních nádrží:

- z kohoutku na výtoku; nebo pod hladinou z nádrže

4.4.1. pitná voda - vodovodní kohoutek

Způsoby provádění odběrů

Před odběrem je nutno zajistit:

- asepticky čisté ruce nebo sterilní rukavice
- ve vzorkovnici ponechat malou bublinu
(ne již 4/5)

4.4.1. Dezinfekce kohoutku

- opálením (plamenem)

opálení zajišťuje dezinfekci, pokud v ústí kohoutku je teplota 80°C a vyšší

(ne, když je v něm voda)

- letovací lampa – ne zapalovač

- chemicky
 - chlornan 1g/l
 - etanol 70%
 - izopropanol 70%

Doba kontaktu = 2 – 3 min

Způsob – ponořit do kádinky s roztokem, chomáč vaty nasáklý roztokem, rozprašovač

4.4.2. voda z pramenů a studní

Účel odběru – volí se různé druhy odběrů

Rozlišení: studny s čerpadly stále zapojenými a bez stálého zapojení

Studny se stálým odčerpáváním:

<u>Účel:</u>	<u>odčerpávání:</u>	<u>dezinfekce kohoutku:</u>
Podzemní voda	Ano (rozsáhlé)	Ano
Studniční voda	Ne (min.)	Ano
Při spotřebě	Ne	Ne

4.4.2.

Studny

Rozsáhlé odčerpávání:

- dosažení konstantní teploty a konduktivity vody
nebo
- Minimálně 3 násobná výměna vody ve studni

Minimální odčerpávání:

Účelem je odstranit prostředek po dezinfekci kohoutku

B A Z É N Y

4.4.3. Plavecké bazény

odběr přítoku do bazénu – v určité vzdálenosti od místa chlorace (*kde jsou rezidua stabilní*)

- **obvykle** se vzorek vody z bazénu odebírá jako **podpovrchový vzorek** (- 10 cm až - 30 cm)

pomocí odběrové tyče s hrdlem vzorkovnice proti přítoku
při odběru vzorkovnice orientována vodorovně
pak svisle (odplavování thiosíranu) dokud se
neodebere požadovaný objem vody

4.4.3. Plavecké bazény

- rekapitulace

Odběr vzorku z bazénu:

- jako **podpovrchový** vzorek =

plyne = vyhnout hladině vhodnou technikou odběru
(*akumulace mikroorganismů a znečištění*)

Odběr vzorku z bazénu

V obecné části normy je stanoveno :

- použití vzorkovnice **sterilní** uvnitř **i vně** při odběru ponořením do čisté vody
- dodržení **max. stupně asepsy** při upevnění vzorkovnice (obal vzorkovnice)
- 4.4.1. pro odběr pitné vody = **asepticky čisté ruce či sterilní rukavice**
- **vzorkovače ?** = odkaz na ČSN EN 25667 - 2:

Pokyny pro způsob odběru vzorků
(*asepticky čisté ruce, sterilní rukavice, čisté, sterilní vzorkovače*)

KOUPALIŠTĚ

4.4.4. Povrchové vody

Vody z koupališť (jezera, řeky, moře)

- místa odběrů přesně definována,
- reprezentativní pro místa, užívaná většinou osob, nebo tam, kde je předpoklad vyššího znečištění

4.4.4.1. koupaliště

Způsob odběru:

- podpovrchové vzorky (- 20 cm až - 30 cm)
v místech s hloubkou 1 m - 1,5 m
- mělká pobřeží (pláže) < 1 m hloubky se odebírá v
místě s menší hloubkou (*poznámka v protokolu –
možný vliv resuspendace bakterií*)
- vzorkovnice se ponoří do dané hloubky hrdlem dolů,
pak se natočením na bok a nahoru naplní, aby se
zabránilo kontaminaci
- kde je proud, drží se hrdlem proti proudu

Koupaliště - pokračování

- vzorkovnice (požadavek sterility vně - Ne)
- požadavek na asepsi při manipulaci se vzorkovnicí není specifikován
- vzorkovače = odkaz na ČSN EN 25667 – 2
čisté, sterilní ?

Nesmí být zdrojem sekundární kontaminace!