

VYUŽITIE ONLINE MERANIA BAKTÉRIE *ESCHERICHIA COLI* NA OBJEKTOCH BVS, a.s.

Ing. Marián Studenič, RNDr. Martin Libovič

BVS a.s., Prešovská ul. č.48, 826 46 Bratislava
marian.studenic@bvsas.sk, martin.libovic@bvsas.sk

S povinným zavedením plánov bezpečnosti pitnej vody v spoločnostiach dodávajúcich pitnú vodu sa uvažuje aj v rámci pripravovanej novelizácie Smernice 98/83/EC o vode určenej pre ľudskú spotrebu. Plán bezpečnosti pitnej vody vychádza z preventívnej metódy manažmentu rizík – HACCP (hazard analysis and critical control points). Podľa plánu bezpečnosti pitnej vody, sa okrem iného bude hodnotiť riziko celého vodovodného systému a klásť dôraz na prevenciu, resp. systémy včasného varovania.

V súčasnom období sa kontrola kvality vody zo zdrojov vody a z distribučnej siete vykonáva diskontinuálne, v určitých časových intervaloch. Aj keď kontrola kvality vody je relatívne častá (vykonáva sa v zmysle platnej legislatívy), skontrolovaný je len nepatrný zlomok z celkového objemu distribuovanej vody. Preto je dôležité vykonávať kontinuálnu kontrolu kvality vody už u zdroja vody, resp. aj v distribučnej sieti a v prípade zistenia zhoršenej kvality vody, včas nápravnými opatreniami zabrániť dodávke takto znehodnotenej vody do distribučnej siete.

BVS, a.s. v súčasnosti používa na štyroch miestach v Bratislave spektrometrické sondy Spectro::lyser, ktoré online sledujú ukazovatele kvality vody: absorbanca pri 254 nm, dusičnany, celkový organický uhlík a sondy na sledovanie elektrolytickej vodivosti Condu::lyser. Pri sondách Spectro::lyser sú sledované aj tzv. alarmové ukazovatele a to na skupiny látok so spektrom podobným k benzénu, vybranému pesticídu a k spektru biologickej toxickéj látky.

Oddelenie kvality pitných a odpadových vôd BVS, a.s. sa v roku 2010 rozhodlo rozšíriť tento systém o prístroj na sledovanie mikrobiologických ukazovateľov. Na trhu sme objavili, prístroj „Coliguard“, vyrábaný firmou mbOnline, GmbH, Krems, Rakúsko, ktorý sa používa na online sledovanie prípadného znečistenia pitnej vody baktériami *Escherichia coli*.

Baktérie *Escherichia coli* sú indikátorom fekálneho znečistenia vody. Podľa NV SR č. 354/2006 Z.z. limit (najvyššia medzná hodnota) pre ukazovateľ *Escherichia coli* je 0 KTJ/100 ml, pre hromadné zásobovanie pitnou vodou. Na stanovenie baktérií *Escherichia coli* sa v laboratóriu BVS, a.s. používa štandardná skúška, založená na membránovej filtrácii, následnej kultivácii na diferenciačnom agarovom médiu a na výpočte počtu organizmov vo vzorke (výsledok do 48 hodín) a testovacia súprava Colilert-18 (výsledok do 18 hodín).

Zastúpenie firmy mbOnline na Slovensku má firma ECM ECO Monitoring Bratislava. Po dohode so zástupcom uvedenej firmy sme navštívili výrobcu prístroja, aby sme zistili podrobnosti o možnostiach využitia uvedeného prístroja.

Prístroj „ColiGuard“ vykonáva semikontinuálnu, automatickú a vysoko citlivú analýzu baktérií *Escherichia coli* v surovej resp. v pitnej vode. Prístroj je možno použiť ako

mobilnú jednotku. Hmotnosť prístroja je cca 44 kg. Na inštaláciu je potrebný zdroj el. energie, napojenie na potrubie s kontrolovanou vodou, odvod do kanalizácie na odpad pri automatickom čistení a signál mobilného operátora. Údržba je vykonávaná prevádzkovateľom prístroja, spotrebný materiál tvoria hlavne reagencie (tlmivý roztok, reagenčný roztok a čistiaci roztok) a filtre. Všetky dáta z prístroja sú prenášané mobilnou sieťou na server výrobcu a užívateľ má prístup na tento server cez internet. Vyhodnocovanie získaných dát, monitoring a nastavovanie môže byť vykonávané priamo v prístroji, alebo diaľkovo na počítači. Užívateľ má k dispozícii softvér mboClient na ovládanie prístroja. Objem vzorky, dávkaný do prístroja, môže byť od 20 ml do 3 000 ml, my v súčasnosti máme nastavených 1 000 ml. Prístroj umožňuje niekoľko meraní za deň (pri malom znečistení vody sú to 4 merania), teda zabezpečuje lepší monitoring kvality vody v ukazovateli *E. coli*. Každé zariadenie „ColiGuard“ disponuje interným harmonogramom, ktorý určuje, kedy a aké meranie sa vykoná. Ďalej je možné v prístroji nastaviť e-mailový alarm. E-maily sú následne posielané na zadané adresy, napr. pri prekročení nastavenej limitnej hodnoty aktivity, resp. pri spotrebovaní používaných roztokov.

Nie je teda potrebné vycestovať za odberom vzorky. Stanovenie *E. coli* týmto prístrojom nenahradzuje stanovenie v akreditovanom laboratóriu, ale má tú výhodu, že je možné relatívne rýchlo prijať nápravné opatrenia. Prístroj je možné upgradovať aj na meranie Koliformných baktérií.

Základom testu, ktorý používa v modifikovanej forme aj uvedený prístroj, je schopnosť väčšiny kmeňov *E. coli* produkovať enzým β -D-glukuronidázu, ktorý rozkladá substrát MUG (4-metylbumbelliferyl- β -D-glukoronid). Produktom tejto reakcie je 4-metylbumbelliferon, so schopnosťou svetlo modrej fluorescence v dlhovlnnom UV žiarení.

Vo všeobecnosti všetky namerané hodnoty predstavujú enzymatickú aktivitu. Tieto výsledky predstavujú priemerné množstvo fluorescenčnej látky generovanej za minútu počas inkubačnej fázy. Objem vzorky sa používa na výpočet špecifickej aktivity vzorky v pMol/min/100 ml. Zatiaľ čo tieto hodnoty aktivity sú merané veľmi presne, nie je možné presne vypočítať zodpovedajúci počet baktérií na 100 ml, pretože špecifická enzymatická aktivita na baktériu sa mení v dôsledku mnohých ovplyvňujúcich faktorov, ako sú vek, pôvod a mnohé ďalšie parametre meraných baktérií. Je však možné spraviť dobrý odhad počtu baktérií, so správne zvolenými výpočtovými parametrami v praxi. Tento model pre výpočtové parametre je možné aplikovať na základe skúseností, resp. je možné použiť prednastavené hodnoty.

Z firmou ECM ECO Monitoring, Bratislava sme sa najprv dohodli na zapožičanie prístroja „ColiGuard“, aby sme si ho sami mohli otestovať. Prístroj bol umiestnený na jeden z koncových Bratislavských vodojemov, kde zaznamenával niekoľko dní nulovú líniu. Potom sme namiesto vody z vodovodnej siete dali prístroju nasávať najprv vodu z prameňa (o ktorom vieme, že býva mikrobiologicky oživený) a následne aj povrchovú vodu z potoka. Paralelne boli stanovované v uvedených vzorkách baktérie *E. coli* aj v laboratóriu BVS, a.s. Výsledky sú uvedené v tabuľke 1.

Tabuľka 1.

Dátum	Odborné miesto	Coliguard [EC/100ml]	STN EN ISO 9308-1 [KTJ/100ml]
17.1.2011	prameň	9,2 (6,1; 5,6)	7
18.1.2011	potok	8,0 (8,2; 6,9)	12
2.2.2011	potok	10,9 (5,8; 4,7)	9
3.2.2011	prameň	2,1 (1,9; 1,4)	7

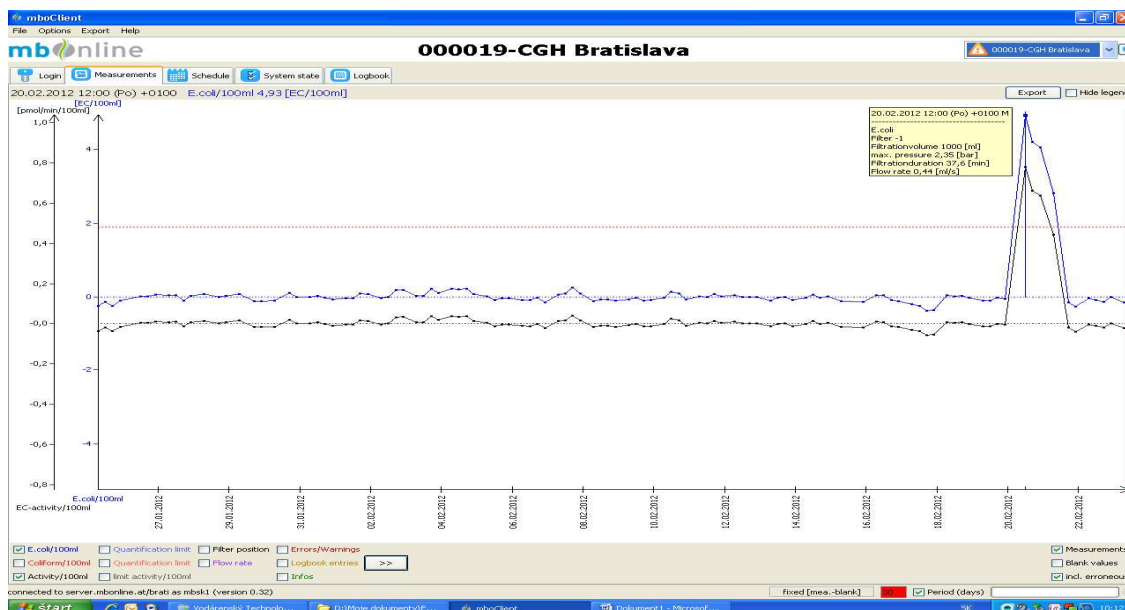
Prístroj sme následne premiestnili do vodojemu, kde priteká surová voda z 31 studní. Tu chceme prístroj ponechať jeden rok, aby sme zmonitorovali kvalitu vody aj počas záplavových období.

Poslednú verifikáciu prístroja sme vykonali 22.2. 2012 a to tak, že sme odpojili prístroj od zdroja surovej vody a napojili prístroj na kanister s vodou z potoka. Tú istú vodu z potoka sme dali na spracovanie aj do laboratória BVS, a.s. V tabuľke 2. sú uvedené dosiahnuté výsledky.

Tabuľka 2.

Coliguard [EC/100ml]	COLILERT-18 [KTJ/100ml]	STN EN ISO 9308-1 [KTJ/100ml]
4,9 (4,2; 4,1; 2,8)	8	11

Pri použití iného ponúkaného prepočtu z aktivity na počet baktérií by sme dostali hodnoty 6,8; 5,6; 5,4 a 3,5. Na obrázku 1 je vidieť líniu výsledkov z merania surovej vody z podzemných zdrojov (spodná – aktivita, horná – počet baktérii) a v pravej časti obrázku sú namerané hodnoty pri testovaní vody z potoka.



Obrázok 1.

