

HYGIENICKÝ VÝZNAM UKAZATELE POČTY KOLONIÍ A ZMĚNA V JEHO HODNOCENÍ

Mgr. Petr Pumann, MUDr. František Kožíšek, CSc., RNDr. Jaroslav Šašek

Státní zdravotní ústav, Šrobárova 48, 10042 Praha 10, e-mail: voda@szu.cz

Úvod

V prvním pololetí roku 2014 by měla být vydána novela vyhlášky č. 252/2004 Sb., která mimo jiné přinese změnu ve způsobu hodnocení ukazatelů počty kolonií při 22 a 36°C. O úpravě hodnocení obou ukazatelů v naší legislativě pro pitnou vodu se uvažovalo poměrně dlouho - například příspěvek na toto téma jsme na konferenci *Pitná voda* prezentovali již v roce 2006 [1]. V tomto roce však proběhla také poslední novelizace vyhlášky č. 252/2004 Sb., tak nebyla k realizaci zamýšlených úprav příležitost. Samotná změna u těchto dvou ukazatelů nebyla považována za tak důležitou, aby se jen kvůli ní zahájil proces novelizace.

Tabulka 1. Ukazatele počty kolonií při 22 a 36°C v příloze 1 z návrhu novely vyhlášky č. 252/2004 Sb.

Č.	Ukazatel	Jednotka	Limit	Typ limitu	Vysvětlivky
8	počty kolonií při 22°C	KTJ/ml	Bez abnormálních změn	MH	6
		KTJ/ml	200	DH	7
9	počty kolonií při 36°C	KTJ/ml	Bez abnormálních změn	MH	8
		KTJ/ml	40	DH	9

MH = mezní hodnota; DH = doporučená hodnota

Vysvětlivky:

6. Pokud u zásobované oblasti nelze pro malý počet vzorků určit, zda se jedná o abnormální změnu, platí jako mezní hodnota 200 KTJ/ml.
7. Pro náhradní zásobování, pro vodu dodávanou ve vzdušných, vodních a pozemních dopravních prostředcích a pro vodu z malých nedezinfikovaných zdrojů, produkuje méně než 5 m³ za den, platí doporučená hodnota ≤ 500 KTJ/ml.
8. Pokud u zásobované oblasti nelze pro malý počet vzorků určit, zda se jedná o abnormální změnu, platí jako mezní hodnota 40 KTJ/ml.
9. Pro náhradní zásobování, pro vodu dodávanou ve vzdušných, vodních a pozemních dopravních prostředcích a pro vodu z malých nedezinfikovaných zdrojů, produkuje méně než 5 m³ za den, platí doporučená hodnota ≤ 100 KTJ/ml.

Jak je patrné z tabulky 1, bude novela vyhlášky klást hlavní důraz na posouzení, došlo-li k abnormální změně oproti obvyklým hodnotám či nikoliv, a naopak bude potlačovat význam absolutní zjištěné hodnoty počtů kolonií. Díky této změně se v praxi nepochybně objeví problémy s výkladem termínu „bez abnormálních změn“. Ten sice vyhláška č. 252/2004 Sb. obsahuje již od roku 2004, v přítomnosti numerického limitu byl však jeho praktický dopad velmi malý. Po vstupu nové vyhlášky v platnost se situace zásadně změní. K vyhodnocení obou ukazatelů bude nezbytné, aby všichni provozovatelé veřejných vodovodů termín abnormální změna pro své systémy definovali. K tomu by jim mělo pomoci metodické doporučení NRC pro pitnou vodu, jehož návrh chceme v tomto příspěvku ve stručnosti představit. Text doporučení bude po vydání novely vyhlášky č. 252/2011 Sb. k dispozici na stránkách Státního

zdravotního ústavu (<http://www.szu.cz/tema/zivotni-prostredi/pk2014>). Nejdůležitější informace v něm obsažené tvoří hlavní část tohoto příspěvku.

Hygienický význam ukazatelů počet kolonií při 22°C a 36°C

I ve velmi čisté podzemní vodě žijí různé bakterie, které jsou pro člověka většinou naprosto neškodné. Jediné, co na tomto stavu může být někdy nepříjemné, je pomnožení těchto bakterií do velmi vysokých počtů, ke kterému může někdy na některých místech distribuční sítě, popř. výjimečně i ve zdroji vody, dojít. Pokud pohlédneme na tyto bakterie z hlediska hygieny vody, máme na mysli obvykle skupinu tzv. heterotrofních (či nověji organotrofních) bakterií, které pro svůj růst získávají zdroj uhlíku z organických látek. Kultivovatelné heterotrofní bakterie sice představují jen nepatrnou frakci (asi 0,01 %) všech vodních mikroorganismů, ale díky historickému vývoji se jako první vodní bakterie staly předmětem hygienického zájmu, který – byť v pozmeněné podobě – trvá až dodnes.

Význam pro posouzení přímých zdravotních rizik je u obou ukazatelů díky nespecifickému stanovení zanedbatelný. Jedná se o všudypřítomné bakterie, kterých člověk denně např. s potravou přijímá do organismu o několik řádů vyšší počty, než může být maximální příjem z pitné vody, a tato expozice nevede k žádným nepříznivým zdravotním účinkům. Pro některé druhy těchto bakterií byla díky pokusům na zvířatech i lidských dobrovolnících stanovena orální infekční dávka, kterou však nelze prakticky dosáhnout při konzumaci pitné vody.

Zdravotní riziko může být spojeno s některými specifickými druhy těchto bakterií, které řadíme k tzv. oportunním (či podmíněným) patogenům. Jedná se např. o následující druhy a rody: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *Aeromonas* spp., *Klebsiella* spp., atypická mykobakteria, *Legionella* spp. a další. Rizikový přítom není vstup těchto bakterií do zažívacího traktu, ale buď do traktu dýchacího nebo přímý vstup do tkání otevřenými ranami či zavedenými katetry (u pacientů) apod. Podmínkou rozvinutí infekce je oslabená imunita jedince, proto jsou oportunní patogeny předmětem zájmu především tam, kde jsou soustředěni tito lidé (příslušná oddělení nemocnic) a kde je zapotřebí přijímat specifická opatření k prevenci těchto (i jiných) infekcí. Pokud jsou některé oportunně patogenní mikroorganismy považovány za nutný předmět kontroly ve vodě (např. pseudomonády, legionely, aeromonády nebo atypická mykobakteria), stanovují se přímo a specificky a rozhodně se na jejich přítomnost neusuzuje ze stanovení počtů kolonií, které je v řadě případů nezachytí ani nespecificky (např. mykobakteria rostou velmi pomalu a nelze je vykultivovat během dvou či tří dnů jako se kultivují počty kolonií).

Pomnožování heterotrofních bakterií ve vodě a v distribuční síti ovlivňuje řada faktorů: počet těchto bakterií ve vodě ve zdroji nebo na výtoky z úpravny vody, doba zdržení vody v síti a s ní související faktory jako teplota vody (teplota nad 15 - 20°C podporuje růst většiny ve vodě přítomných heterotrofních bakterií), rychlost proudění vody či zbytková koncentrace a druh dezinfekčního prostředku, přítomnost biofilmu či korozních produktů na stěnách potrubí a sedimentu na dně potrubí, kvalita materiálu rozvodné sítě a především tzv. stabilita vody (= přítomnost živin bakteriemi využitelných) měřená např. pomocí ukazatelů jako asimilovatelný organický uhlík (AOC) či biodegradabilní organický uhlík (BDOC).

Jestliže stanovení počtů kolonií při teplotách 22 a 36°C přestalo být považováno za zdravotní indikátor, jaký je jeho význam pro vodárenství dnes? Experti Světové zdravotnické organizace se shodují na následujících možnostech [2]:

- monitorování účinnosti filtrace a dezinfekce vody (včetně validace a verifikace těchto procesů úpravy); za filtraci se zde považuje nejen písková či membránová filtrace na úpravně, ale i různé druhy „filtračních zařízení“ použitých v místě spotřeby,
- monitorování (celkového) stavu, podmínek a změn distribuční sítě (viz výše faktory, které ovlivňují růst těchto bakterií) včetně domovních rozvodů vody,
- vyšetřování příčin zhoršené organoleptické kvality vody, protože nárůst počtů kolonií může indikovat růst biofilmu a tvorbu produktů ovlivňujících sensoriku vody,
- verifikace účinnosti čištění různých zařízení ve styku s vodou (např. nápojové automaty, různé lékařské prostředky apod.).

K dalším negativům vysokých počtů kolonií patří např.

- vyšší riziko kažení potravin vyráběných (připravovaných) z vody o vysokém počtu kolonií;
- zkreslení výsledků mikrobiologického rozboru závažnějších ukazatelů – vysoké počty kolonií mohou být příčinou falešně negativních výsledků koliformních bakterií a *E. coli*, pokud jsou stanovovány plotnovou metodou.

V praxi bývají hlavní příčinou zvýšených hodnot počtů kolonií, nepočítáme-li vnášení bakterií zvenčí např. v důsledku prasklých potrubí, netěsností vodojemů nebo jiných poruch v distribuční síti, změny provozních podmínek, např.:

- poškození biofilmu např. v důsledku nestálého (kolísavého) obsahu dezinfekčního prostředku, nárazové dezinfekce nebo v důsledku výrazných změn v hydraulických poměrech v síti;
- tvorba nutrientů (živin využitelných bakteriemi) jako následek dezinfekce;
- mobilizace usazenin (sedimentu, kalu) v potrubí;
- stagnace vody v nově provozovaných potrubích (v novém potrubí není zpočátku vytvořen stabilní biofilm, proto se při stagnaci vody mohou vyskytnout vysoké počty kolonií, jak vyplývá z německého výzkumu).

Přitom se má za to, že pro kontrolu běžného provozu zásobování pitnou vodou nejsou ani tak důležité absolutně momentálně zjištěné počty těchto bakterií (kolonií) samy o sobě, ale zda se vyskytují nějaké významné a nečekané výchyly v obvykle měřených počtech nebo zda existuje nějaký dlouhodobý trend. Pro zjištění těchto změn je tedy v prvé řadě potřeba znát „normální“ hodnoty obvykle se vyskytující v daném systému zásobování a nový výsledek porovnávat v kontextu obvyklého stavu. Proto je potřeba průběžné, pravidelné a dlouhodobé hodnocení zjištěných počtů kolonií (v rámci časových řad), jak je uvedeno dále.

Hodnocení „abnormální změny“

Uvedený názor na význam výsledků se odrazil i při tvorbě evropské směrnice 98/83/ES o jakosti vody určené pro lidskou spotřebu, ze které legislativa ČR vychází. Směrnice pro pitnou vodu (kromě balené pitné vody) vyžaduje pouze stanovení počtů kolonií při 22°C a neudává pro tento ukazatel žádný numerický limit, pouze požaduje „bez anormálních změn“, ale blíže již nedefinuje, co to „abnormální změna“ znamená. Jak členské země EU naplňují tento požadavek?

Podle průzkumu provedeného v roce 2006 v 16 členských zemích EU (Belgie, ČR, Dánsko, Francie, Irsko, Kypr, Litva, Německo, Nizozemí, Portugalsko, Řecko, Slovensko, Slovinsko, Španělsko, Švédsko, Velká Británie) si více než polovina (10) zachovala ukazatel počet kolonií při 36°C i pro „nebalenou“ vodu a 7 zemí má pro počty kolonií při obou teplotách numerické limitní hodnoty. Také Španělsko má pro počet kolonií při 22°C numerický limit, ale jen pro vodu vystupující z úpravny vody. Většina zemí, které má numerické limity, má vedle toho rovněž požadavek „bez abnormální změny“, ale jen jediná má abnormální změnu definovanou v legislativě: ve Francii nesmí být změna větší než 10-ti násobek obvyklých hodnot. V Řecku se za abnormální změnu považuje hodnota lišící se od obvyklých hodnot o jeden až dva řády a ve Španělsku se za abnormální změnu považuje více než dvojnásobek v porovnání s tříletou střední hodnotou; v obou případech je to ale nezávazný úzus. V dalších zemích si abnormální změnu definují sami výrobci či distributoři vody na základě vlastních hodnot a zkušeností. Používají při tom různé přístupy a nástroje, například:

- provozovatel si zvolí svůj interní numerický limit (např. 10, 20, 50, 100, 200, 300 KTJ/ml) a teprve při jeho překročení se začne zabývat otázkou, zda se jedná či nejedná o abnormální změnu podle předem dohodnutého kritéria (viz dále); příklad: jestliže si provozovatel zvolí limit např. 50 KTJ/ml (počty kolonií při 22°C) a 10 KTJ/ml (počty kolonií při 36°C), pak se při jeho dodržení nemusí zabývat otázkou, zda došlo k abnormální změně;
- provozovatel si na základě znalosti předchozích výsledků zvolí určité pravidlo, např. jeden a půl násobek nebo až deseti- či dvacetinásobek (při nízkých hodnotách) průměru za předchozí období a překročení této hranice považuje za abnormální změnu; časová řada, ze které se vychází (počítá průměr), může být různě dlouhá v závislosti na počtu prováděných analýz a sezónní přirozené variability výsledků (např. vlivem teploty vody ve zdroji) – může se jednat o časovou řadu výsledků zahrnující posledních několik týdnů nebo několik let, často se bere klouzavý průměr hodnot za poslední rok (měsíc); pro statistické zpracování dat je však třeba řada nejméně 7 výsledků;
- provozovatel si zvolí nějakou statistickou metodu zpracování dat a nastaví si kritérium hodnocení změny, např. nález větší než 98. percentil ročního klouzavého průměru je považován za abnormální změnu; často je také využíván nástroj standardně používaný v akreditovaných laboratořích pro zajištění kvality práce (QA/QC) – regulační diagram (Shewhartův diagram), kde např. horní regulační mez ve výši dvou směrodatných odchylek představuje varovný limit (při překročení se provádí šetření příčiny) a mez ve výši tří směrodatných odchylek představuje akční limit (při překročení se provádí opatření).

Důležitá není jen abnormální náhlá změna mimo obvykle se vyskytující rozmezí hodnot počtů kolonií, ale také setrvalý rostoucí trend. I to by mělo být považováno za rizikový a potenciálně nepřijatelný stav, který si vyžaduje vyšetření příčin, popř. též přijetí opatření, pokud příčina nadále působí.

Do skupiny výsledků, používaných k výpočtu průměru či jiné charakteristiky rozmezí obvyklých hodnot, by se neměly započítávat výsledky z havarijních situací, protože tyto necharakterizují normální provozní podmínky.

Výsledek počtů kolonií může být významně ovlivněn kvalitou vzorkovacího místa (konkrétní odběrové armatury) a proto je třeba jeho výběru i ošetření před odběrem věnovat náležitou pozornost.

Vzhledem k tomu, že postup pro určení toho, co je abnormální změna, není vyhláškou předepsán, je na provozovateli, kterou z výše navržených nebo vlastních metod

použije. Kritérium abnormální změny by však mělo být uvedeno v provozním řádu (i když pro to neexistuje zákonná povinnost) nebo v jiném relevantním dokumentu provozovatele veřejného zásobování. Každopádně by měl provozovatel o zvoleném postupu informovat orgán ochrany veřejného zdraví (krajskou hygienickou stanici).

Postup při zjištění abnormální změny (překročení limitu)

Každé překročení mezních hodnot nebo abnormální změna počtů kolonií naznačují, že rozvodná vodovodní síť nebo vnitřní vodovod nejsou zcela v pořádku. Taková indicie by se neměla přehlížet a zvýšené hodnoty trvale tolerovat.

V první fázi po obdržení takové informace je třeba ověřit, zda je výsledek hodnověrný a může-li znamenat akutní zdravotní riziko:

- kontaktovat laboratoř, zda nedošlo k chybě při přepisu výsledků a jak vypadalo odběrové místo,
- přezkoumat výsledky ostatních ukazatelů v provedeném rozboru, zda podporují vysoký nález počtu kolonií a nasvědčují např. fekálnímu znečištění (pokud ano, je potřeba činit okamžitá opatření – např. vodu účinněji dezinfikovat nebo vyhlásit povinnost převařování vody spotřebiteli); pokud jsou výsledky všech ostatních ukazatelů v pořádku, není třeba očekávat, že by došlo akutně k poškození zdraví,
- pokusit se odhadnout, v jak velkém prostoru se tato kontaminace mohla v zásobované oblasti rozšířit.

Následně je potřeba prověřit možné příčiny zjištěné situace:

- příčiny v povodí resp. ve zdroji vody (např. průsaky do studny/vrtu nebo splavování nečistot do povrchového zdroje při tání sněhu nebo silných deštích nebo v důsledku jiných povětrnostních podmínek; poškození zhlaví studny/vrtu apod.),
- příčiny při úpravě vody (technické poruchy),
- příčiny během distribuce vody (prasklá potrubí, práce na síti, nové úseky potrubí apod.),
- příčiny v domovních rozvodech pitné vody (např. provozní nedostatky, nedostatečná údržba, prasklá potrubí, propojení s rozvodem jiné vody, nevhodné plastové materiály potrubí podporující růst biofilmů, ohřívání vody v potrubí, nedostatečná očista odběrové armatury).

Případná potřebná opatření se odvozují z konkrétní situace a zjištěných příčin. Může jít například o odkalení, proplach potrubí, někdy i zvýšení koncentrace dezinfekčního prostředku (které může dočasně pomoci, ale v dlouhodobějším horizontu je nárazová dezinfekce spíše kontraproduktivní, protože způsobí nestabilitu poměrů v síti).

Někdy je potřeba pro odhalení příčiny odběr opakovat, případně je třeba provést detailní šetření v domovních rozvodech na pitnou vodu, pokud jde o přítomnost mikroorganismů *Pseudomonas aeruginosa* a za určitých okolností legionel.

Závěr

Představený návrh metodického doporučení neobsahuje jednotné instrukce, jak se s problematikou nenumerického limitu u ukazatelů počet kolonií při 22 a 36°C v praxi vypořádat. Předpokládáme, že se během implementace novely tohoto bodu vyhlášky č. 252/2004 Sb. posbírá řada cenných zkušeností, podle kterých bude možné metodické doporučení časem aktualizovat. Za jakoukoli zpětnou vazbu budeme vděční.

Literatura

1. Kožíšek F., Pumann P. (2006). Mikrobiální nezávadnost pitné vody a dezinfekce: potřebujeme změnu legislativy? In: Sborník z VIII. ročníku konference PITNÁ VODA 2006, konané v Táboře 5.6.-8.6.2006; str. 19-24. Vydal W&ET Team, České Budějovice; ISBN 80-239-7113-1.
2. Bartram J., Cotruvo J., Exner M., Fricker C., Glasmacher A. (eds.) (2003). Heterotrophic Plate Counts and Drinking-water Safety. The Significance of HPCs for Water Quality and Human Health. WHO + IWA, London 2003, 256 str.