

---

---

**Качество воды. Выявление и оценка  
количества *Escherichia coli* и  
колиподобных бактерий.**

Часть 1.

**Метод мембранной фильтрации**

*Water quality — Detection and enumeration of Escherichia coli and coliform  
bacteria —*

*Part 1:  
Membrane filtration method*

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/85f34bda-4155-460c-b693-b067ed521274/iso-9308-1-2000>

Ответственность за подготовку русской версии несёт GOST R  
(Российская Федерация) в соответствии со статьёй 18.1 Устава ISO



Ссылочный номер  
ISO 9308-1:2000(R)

**Отказ от ответственности при работе в PDF**

Настоящий файл PDF может содержать интегрированные шрифты. В соответствии с условиями лицензирования, принятыми фирмой Adobe, этот файл можно распечатать или смотреть на экране, но его нельзя изменить, пока не будет получена лицензия на установку интегрированных шрифтов в компьютере, на котором ведется редактирование. В случае загрузки настоящего файла заинтересованные стороны принимают на себя ответственность за соблюдение лицензионных условий фирмы Adobe. Центральный секретариат ISO не несет никакой ответственности в этом отношении.

Adobe - торговый знак фирмы Adobe Systems Incorporated.

Подробности, относящиеся к программным продуктам, использованным для создания настоящего файла PDF, можно найти в рубрике General Info файла; параметры создания PDF были оптимизированы для печати. Были приняты во внимание все меры предосторожности с тем, чтобы обеспечить пригодность настоящего файла для использования комитетами-членами ISO. В редких случаях возникновения проблемы, связанной со сказанным выше, просьба проинформировать Центральный секретариат по адресу, приведенному ниже.

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 9308-1:2000

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/85f34bda-4155-460c-b693-b067ed521274/iso-9308-1-2000>



**ДОКУМЕНТ ЗАЩИЩЕН АВТОРСКИМ ПРАВОМ**

© ISO 2006

Все права сохраняются. Если не указано иное, никакую часть настоящей публикации нельзя копировать или использовать в какой-либо форме или каким-либо электронным или механическим способом, включая фотокопии и микрофильмы, без предварительного письменного согласия ISO, которое должно быть получено после запроса о разрешении, направленного по адресу, приведенному ниже, или в комитет-член ISO в стране запрашивающей стороны.

ISO copyright office  
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20  
Tel. + 41 22 749 01 11  
Fax + 41 22 749 09 47  
E-mail [copyright@iso.org](mailto:copyright@iso.org)  
Web [www.iso.org](http://www.iso.org)

Опубликовано в Швейцарии

## Содержание

Страница

Предисловие.....	iv
Введение .....	v
1 Область применения.....	1
2 Нормативные ссылки .....	1
3 Термины и определения .....	2
4 Принцип метода .....	2
5 Приборы и стеклянная посуда.....	3
6 Питательные среды и реактивы.....	4
7 Отбор проб.....	4
8 Методика.....	4
9 Представление результатов.....	6
10 Протокол испытания.....	6
11 Обеспечение качества .....	7
Приложение А (информативное) Дополнительная микробиологическая информация о колиподобных бактериях.....	8
Приложение В (нормативное) Питательные среды и реактивы.....	9
Библиография .....	12

## Предисловие

Международная организация по стандартизации (ISO) является всемирной федерацией национальных организаций по стандартизации (комитетов-членов ISO). Разработка международных стандартов обычно осуществляется техническими комитетами ISO. Каждый комитет-член, заинтересованный в деятельности, для которой был создан технический комитет, имеет право быть представленным в этом комитете. Международные правительственные и неправительственные организации, имеющие связи с ISO, также принимают участие в работах. ISO работает в тесном сотрудничестве с Международной электротехнической комиссией (IEC) по всем вопросам стандартизации в области электротехники.

Международные стандарты разрабатываются в соответствии с правилами, установленными в Директивах ISO/IEC, Часть 2.

Основная задача технических комитетов состоит в подготовке международных стандартов. Проекты международных стандартов, одобренные техническими комитетами, рассылаются комитетам-членам на голосование. Их опубликование в качестве международных стандартов требует одобрения, по меньшей мере, 75 % комитетов-членов, принимающих участие в голосовании.

Следует иметь в виду, что некоторые элементы этого документа могут быть объектом патентных прав. ISO не должен нести ответственность за идентификацию какого-либо одного или всех патентных прав.

Международный стандарт ISO 9308-1 подготовлен Техническим Комитетом ISO/TC 147, *Качество воды*, Подкомитетом SC 4, *Микробиологические методы*.

Настоящее второе издание отменяет и заменяет первое издание (ISO 9308-1:1990), подвергнутое техническому пересмотру.

Международный стандарт ISO 9308, имеющий общее название *Качество воды. Выявление и оценка Escherichia coli и колиподобных бактерий*, состоит из следующих частей:

- *Часть 1. Метод мембранной фильтрации*
- *Часть 2. Метод обогащения жидкости*
- *Часть 3. Миниатюризированный метод выявления и оценки E. coli в поверхностных и сточных водах (Метод наиболее вероятного количества (МНБК)).*

Приложение В представляет нормативные сведения в данной части ISO 9308. Приложение А является исключительно информационным.

## Введение

Определение присутствия и степени фекального загрязнения является важным элементом оценки качества водоема и риска для здоровья человека, связанного с инфекционными заболеваниями. Показателем такого загрязнения является наличие в пробах воды кишечной палочки (*Escherichia coli*), которая обычно присутствует в кишечнике человека и теплокровных животных. Результаты анализа на колиподобные бактерии труднее поддаются интерпретации, поскольку некоторые бактерии данной группы живут в почве и пресных поверхностных водах, и не все эти бактерии имеют кишечное происхождение. Тем не менее, присутствие колиподобных бактерий, хотя и не является доказательством фекального загрязнения, может указывать на нарушения очистки и распределения. Определение штаммов выделенных бактерий в некоторых случаях помогает установить их происхождение.

iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

ISO 9308-1:2000

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/85f34bda-4155-460c-b693-b067ed521274/iso-9308-1-2000>



# Качество воды. Выявление и оценка количества *Escherichia coli* и колиподобных бактерий.

## Часть 1.

### Метод мембранной фильтрации

#### 1 Область применения

В данной части международного стандарта ISO 9308 описан эталонный метод (стандартный анализ) выявления и оценки количества *Escherichia coli* и колиподобных бактерий в воде, потребляемой человеком. Стандартный анализ основан на мембранной фильтрации, последующем культивировании бактерий на различных агаровых средах и расчете количества оцениваемых организмов в пробе.

Стандартный анализ имеет низкую избирательность, позволяющую обнаруживать поврежденные бактерии. В связи с низкой избирательностью анализа надежной оценке количества колиподобных бактерий и *E. coli* может препятствовать фоновый рост бактерий, в частности, в некоторых водах, используемых для питья, например, в воде мелких недезинфицированных колодцев, характеризующейся высоким фоновым ростом бактерий. Таким образом, данная часть ISO 9308 в наибольшей степени применима к дезинфицированной воде и другим водам, используемым для питья с низким количеством бактерий.

В данной части ISO 9308 представлен экспресс-метод (экспресс-анализ), предназначенный для обнаружения *E. coli* в воде, потребляемой человеком, только в течение 24 ч, и который может быть использован в особых случаях, когда требуется быстрое получение информации. Экспресс-анализ основан на мембранной фильтрации, последующем культивировании в избирательных условиях и расчете количества *E. coli* в пробе.

Стандартный анализ и экспресс-анализ, описанные в данной части ISO 9308, применимы и к другим видам воды при условии отсутствия нарушения фильтрации, культивирования и подсчета под влиянием взвешенных частиц или фоновой микрофлоры.

#### 2 Нормативные ссылки

Следующие нормативные документы содержат положения, которые, в связи со ссылками на них в этом тексте, составляют положения данной части ISO 9308. Для жестких ссылок любые последующие публикации изменений или пересмотров не применяются. Однако сторонам-участницам соглашений на основании данной части ISO 9308 рекомендуется выяснить возможность применения самых последних изданий нормативных документов, указанных ниже. Для плавающих ссылок необходимо использовать самое последнее издание нормативного ссылочного документа. Страны-члены ISO и IEC ведут указатели действующих международных стандартов.

ISO/IEC Guide 2, *Стандартизация и связанные с ней виды деятельности. Общая терминология.*

ISO 3696:1987, *Вода, предназначенная для использования в аналитических лабораторных целях. Спецификация и методы анализа.*

ISO 5667-1:1980, *Качество воды. Отбор проб. Часть 1. Руководство по разработке программ отбора проб.*

ISO 5667-2:1991, *Качество воды. Отбор проб. Часть 2. Руководство по методикам отбора проб.*

ISO 5667-3:1994, *Качество воды. Отбор проб. Часть 3. Руководство по сохранению образцов и обращению с ними.*

ISO 6887-1:1999, *Микробиология пищи и кормов для животных. Приготовление опытных образцов, исходной суспензии и десятичных разведений для микробиологического исследования. Часть 1. Общие правила приготовления исходной суспензии и десятичных разведений.*

ISO 8199:1988, *Качество воды. Общее руководство по количественной оценке микроорганизмов с помощью культивирования.*

### 3 Термины и определения

В данной части стандарта ISO 9308 применяются термины и определения, приведенные в Руководстве ISO/IEC Guide 2, а также указанные ниже.

#### 3.1

##### **лактозоположительные бактерии** **lactose-positive bacteria**

бактерии (стандартный анализ), способные формировать колонии аэробно при  $(36 \pm 3) ^\circ\text{C}$  на избирательной и дифференциальной лактозной питательной среде с образованием кислоты в течение  $(21 \pm 3)$  ч инкубации

#### 3.2

##### **колиподобные бактерии** **coliform bacteria**

лактозоположительные бактерии (стандартный анализ), согласно определению, представленному в 3.1, которые являются оксидазоотрицательными

#### 3.3

##### ***Escherichia coli***

колиподобные бактерии (стандартный анализ), согласно определению, представленному в 3.2, которые также образуют индол из триптофана при  $(44,0 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$  в течение  $(21 \pm 3)$  ч инкубации

#### 3.4

##### ***Escherichia coli***

бактерии (экспресс анализ) стойкие к воздействию желчи, которые также образуют индол из триптофана при  $(44,0 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$  в течение  $(21 \pm 3)$  ч инкубации

### 4 Принцип метода

#### 4.1 Общее описание метода

Метод основан на мембранной фильтрации и состоит из двух частей – эталонного стандартного анализа и необязательного экспресс-анализа, который может быть выполнен параллельно в соответствии с представленным ниже описанием. Стандартный анализ включает в себя инкубацию мембраны на избирательной среде с последующей дополнительной биохимической идентификацией типичных лактозоположительных колоний, обеспечивающей возможность выявления и оценки количества колиподобных бактерий и *E. coli* в течение от 2 до 3 дней. Экспресс анализ состоит из двух этапов инкубации, позволяющих выявить и оценить количество *E. coli* с течение  $(21 \pm 3)$  ч. В случае параллельного использования обоих анализов, стандартного анализа и экспресс-анализа, окончательным результатом считается большее из выявленных значений *E. coli*.



## 4.2 Фильтрация и инкубация

Исследуемые порции пробы фильтруют через мембраны, задерживающие бактерии. Одну мембрану (стандартный анализ) помещают на избирательную лактозную агаровую питательную среду, которую инкубируют при  $(36 \pm 2)^\circ\text{C}$  в течение  $(21 \pm 3)$  ч; а другую мембрану (экспресс-анализ) сначала помещают на агаровую среду, содержащую казеин (ферментированный трипсином), и инкубируют при  $(36 \pm 2)^\circ\text{C}$  в течение 4-5 часов, а затем на агаровую питательную среду, содержащую казеин (ферментированный трипсином) и соли желчных кислот, и инкубируют при  $(44,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$  в течение 19 - 20 ч.

## 4.3 Оценка и подтверждение, стандартный анализ

Обнаруживаемые на мембране характерные колонии подсчитывают как лактозоположительные бактерии. Проводят подтверждающий тест на колиподобные бактерии и *E. coli*, ( по образованию оксидазы и индола) путем субкультивирования случайно отобранных характерных колоний. Рассчитывают вероятные количества лактозоположительных колиподобных бактерий и *E. coli*, присутствующие в 100 мл пробы.

## 4.4 Оценка и подтверждение, экспресс-анализ

Имеющиеся на мембране колонии, способные вырабатывать индол из триптофана, присутствующего в агаровой питательной среде, подсчитывают как *E. coli*. Рассчитывают количество *E. coli*, вероятно присутствующее в 100 мл пробы.

## 5 Приборы и стеклянная посуда

Обычное оборудование микробиологических лабораторий, в частности:

### 5.1 Аппарат для стерилизации паром (автоклав).

Приборы и стеклянная посуда, поставляемые в нестерильном состоянии, должны стерилизоваться в соответствии с инструкциями, приведенными в ISO 8199.

### 5.2 Водная баня и/или инкубатор, с термостатическим регулированием на уровне $(36 \pm 2)^\circ\text{C}$ .

### 5.3 Водная баня и/или инкубатор, с термостатическим регулированием на уровне $(44,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ .

ПРИМЕЧАНИЕ При проведении экспресс-анализа вместо инкубаторов, указанных в 5.2 and 5.3, может использоваться программируемый инкубатор с двойной настройкой, установленной на  $(36 \pm 2)^\circ\text{C}$  и  $(44,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ .

### 5.4 pH-метр (измеритель кислотности), с точностью измерения $\pm 0,1$ .

### 5.5 Оборудование для мембранной фильтрации в соответствии с ISO 8199.

### 5.6 Мембранные фильтры, изготовленные из эфиров целлюлозы, обычно имеющие диаметр 47 мм или 50 мм, с характеристиками фильтрации эквивалентными номинальному диаметру пор, равному 0,45 мкм, и желательны с сетками.

Фильтры должны быть лишены каких-либо свойств, подавляющих или усиливающих рост микроорганизмов; присутствующая на сетке печатная краска не должна оказывать воздействие на рост бактерий. Фильтры, получаемые нестерильными, должны стерилизоваться в соответствии с инструкциями изготовителя. Каждая партия мембран должна подвергаться испытаниям на пригодность к данному анализу, в соответствии с ISO 7704, учитывая в частности то, что при использовании разных марок фильтров может отмечаться неодинаковое окрашивание.

**ПРИМЕЧАНИЕ** Для лучшего выявления окрашивания при поведении экспресс-анализа рекомендуется использование зеленых мембранных фильтров.

**5.7 Пинцет с закругленными концами** для работы с мембранами.

**5.8 Ультрафиолетовая лампа** с длиной волны 254 нм (ртутная лампа низкого давления).

**ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ** — Ультрафиолетовый свет вызывает раздражение глаз и кожи. Используйте защитные очки и перчатки.

**5.9 Подкладки для фильтров** диаметром не менее 47 мм.

## 6 Питательные среды и реактивы

Для приготовления питательных сред и реактивов используйте ингредиенты однородного качества и химические вещества аналитического сорта (см. примечание); соблюдайте инструкции, приведенные в Приложении В. В качестве альтернативы используйте коммерчески доступные питательные среды и реактивы, которые соответствуют составам, приведенным в Приложении В, и строго следуйте инструкциям изготовителя.

**ПРИМЕЧАНИЕ** Возможно применение химических веществ другого сорта, при условии демонстрации равных рабочих характеристик при выполнении данного анализа.

Для приготовления питательной среды используйте воду, дистиллированную в условиях контакта со стеклом, или деминерализованную воду, не содержащую веществ, способных подавлять рост бактерий при проведении анализа, и соответствующую ISO 3696.

Если не установлено иначе, приготовленные питательные среды должны сохранять свои свойства (быть стабильными) в течение не менее одного месяца, при условиях их хранения в темноте при температуре  $(5 \pm 3)^\circ\text{C}$  и защиты от испарения.

## 7 Отбор проб

Отбор проб и доставка их в лабораторию должны осуществляться в соответствии с ISO 5667-1, ISO 5667-2 и ISO 5667-3.

## 8 Методика

### 8.1 Подготовка пробы

При подготовке пробы, фильтрации и посеве на выделяющую среду следуйте инструкциям, приведенным в ISO 8199 и ISO 6887-1. Исследование лучше начинать сразу после отбора пробы. Если пробы хранятся при температурах окружающей среды (не более  $25^\circ\text{C}$ , в темноте), то исследование должно начинаться в ближайшие 6 ч после отбора пробы. В исключительных случаях пробы можно хранить перед исследованием в течение не более 24 ч при  $(5 \pm 3)^\circ\text{C}$ .

### 8.2 Фильтрация

Фильтруют 100 мл анализируемой пробы (или большие объемы, например, 250 мл для бутилированной воды), используя мембранный фильтр (5.6.). Помещают фильтр на соответствующую агаровую среду, (8.3 и 8.4), убедившись в том, что воздух не проник снизу.