
**Качество воды. Отбор проб для
микробиологического анализа**

Water quality — Sampling for microbiological analysis

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.itech.ai)

ISO 19458:2006

<https://standards.itech.ai/catalog/standards/sist/4ada84a7-687c-45c6-90e5-ea5837c66fb3/iso-19458-2006>

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



Ссылочный номер
ISO 19458:2006(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 Adobe Systems Incorporated.

Подробности, относящиеся к программным продуктам, использованным для создания настоящего файла PDF, можно найти в рубрике General Info файла; параметры создания PDF 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, просим информировать Центральный секретариат по адресу, приведенному ниже.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 19458:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4ada84a7-687c-45c6-90e5-ea5837c66fb3/iso-19458-2006>



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 по адресу ниже или членом ISO в стране регистрации пребывания.

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
Web www.iso.org

Опубликовано в Швейцарии

Содержание

Страница

Предисловие	iv
Введение	v
1 Область применения	1
2 Нормативные ссылки	1
3 Точка отбора проб	1
4 Техника отбора проб	2
5 Транспортирование и хранение	12
Приложение А (информативное) Априорное определение числа проб для анализа, чтобы установить среднюю концентрацию микробов в воде с заданной доверительностью, для количественного определения по культивации микроорганизмов.....	15
Приложение В (информативное) Рекомендованное (R) и приемлемое (A) значения максимального срока хранения проб, включая время и температуры транспортирования, если в конкретных стандартах нет иных указаний	18
Библиография	19

(standards.iteh.ai)

ISO 19458:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4ada84a7-687c-45c6-90e5-ea5837c66fb3/iso-19458-2006>

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 организации, правительственные и неправительственные, имеющие связи с ISO, также принимают участие в работах. Что касается стандартизации в области электротехники, то ISO работает в тесном сотрудничестве с Международной электротехнической комиссией (IEC).

Проекты международных стандартов разрабатываются в соответствии с правилами Директив ISO/IEC, Часть 2.

Основной задачей технических комитетов является разработка международных стандартов. Проекты международных стандартов, принятые техническими комитетами, рассылаются комитетам-членам на голосование. Для опубликования их в качестве международного стандарта требуется одобрение не менее 75 % комитетов-членов, принимающих участие в голосовании.

Следует иметь в виду, что некоторые элементы настоящего международного стандарта могут быть объектом патентных прав. Международная организация по стандартизации не может нести ответственность за идентификацию какого-либо одного или всех патентных прав.

ISO 19458 был разработан Техническим комитетом ISO/TC 147, *Качество воды*, Подкомитетом SC 4, *Микробиологические методы*.

[ISO 19458:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4ada84a7-687c-45c6-90e5-ea5837c66fb3/iso-19458-2006)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4ada84a7-687c-45c6-90e5-ea5837c66fb3/iso-19458-2006>

Введение

Чтобы обеспечить получение репрезентативных проб для лаборатории, ответственной за испытания, важно применить подходящий метод отбора проб. Особенности отбора проб зависят от цели получения пробы, а также от природы пробы. Микроорганизмы являются живыми существами. Кроме того, когда они попадают в воду, они образуют не настоящий раствор, а суспензию с присущей степенью изменчивости.

Цели отбора проб могут быть разными. Эти цели описаны в серии стандартов ISO 5667 (ISO 5667-1, ISO 5667-2 и ISO 5667-3), в т.ч.:

- a) определение соответствия воды качеству, требуемому регламентом;
- b) характеристика загрязнения, уровень загрязнения (средний) и его варианты:
 - 1) что такое случайное изменение?
 - 2) является ли это тенденцией?
 - 3) существуют ли циклы?
- c) идентификация источников загрязнения.

Относительно количества или частоты выборки она будет меняться в зависимости от цели отбора проб.

Минимальное число проб будет меньше, если средняя концентрация значительно отличается от технических условий (гораздо ниже или гораздо выше), минимальное число проб будет выше, если средняя концентрация и технические требования близки по значению. Аналогично, в случае b), при рассмотрении тенденции: чем менее очевидна тенденция, тем выше частота отбора проб (см. также Приложение А).

Качество воды. Отбор проб для микробиологического анализа

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ — Пользователи должны быть знакомы с обычной лабораторной практикой. Настоящий стандарт не ставит цели рассмотреть все проблемы, связанные с безопасностью (если таковые имеются) и возникающие при его применении. Пользователь несет ответственность за установление соответствующей техники безопасности и охраны здоровья и обеспечение соответствия условиям национальных регламентов.

ВНИМАНИЕ — Необходимо, чтобы испытания в соответствии с данным стандартом проводил исключительно подготовленный персонал.

1 Область применения

Настоящий международный стандарт обеспечивает руководство по планированию проведения отбора проб воды, по методам отбора проб для микробиологического анализа, по транспортированию проб, обращению с ними и хранению до начала анализа. Основным предметом является отбор проб для микробиологических исследований.

Общая информация по отбору проб из отдельных водных объектов (водоемов) приведена в соответствующих частях ISO 5667.

2 Нормативные ссылки

Нижеследующие документы являются обязательными для применения настоящего стандарта. В отношении датированных ссылок действительно только приведенное издание. В отношении недатированных ссылок применимо последнее издание ссылаемого документа, включая любые к нему изменения.

ISO 5667-1, *Качество воды. Отбор проб. Часть 1. Руководство по составлению программ и методик отбора проб*

ISO 5667-2, *Качество воды. Отбор проб. Часть 2. Руководство по технике отбора проб*

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

3 Точка отбора проб

Место отбора проб должно обеспечивать репрезентативные характеристики и учитывать изменчивость по вертикали, по горизонтали и по времени, а также должно быть точно идентифицировано в соответствии с общими рекомендациями, приведенными в ISO 5667-1 и ISO 5667-2, принимая во внимание дополнительные аспекты, специфические для микробиологии.

Следует избегать точек отбора проб, в которых условия нестабильны, при этом необходимо учитывать гетерогенность водной системы. При изучении эффективности обеззараживания точку отбора проб необходимо выбирать так, чтобы обеспечить завершение реакции.

ПРИМЕР Примерами того, как гетерогенность системы может повлиять на результаты, показаны ниже.

- Не будет равноценным отбор поверхностной и подповерхностной пробы, или подповерхностной пробы, “загрязненной” при извлечении через поверхностную пленку. В некоторых случаях (например, озера, плавательные бассейны), концентрация в поверхностной пленке может быть в 1 000 раз выше, чем под поверхностью.
- Все точки водной системы будут не равноценны, поскольку могут иметься участки стоячей воды и участки, где течение незначительно, особенно если рассматриваемая система питается из двух источников.
- Качество на выходе из хорошо перемешиваемого резервуара обычно такое же, как в самом водном объекте, но может значительно отличаться от качества на входе.

4 Техника отбора проб

4.1 Персонал

Для всего персонала, занятого отбором проб должно быть описано в деталях официальное обучение, отчеты об обучении и определение компетенции должно быть описано для всех тех, кто производит отбор проб, эта информация должна быть подтверждена документально.

4.2 Контейнеры для проб

4.2.1 Общие положения

Для повседневных проб (например, отбор проб из водопровода, водоемов в зонах отдыха, плавательных бассейнов), используют чистые, стерильные бутылки. Объем бутылей должны быть адекватным для анализа по всем требуемым параметрам.

Для отбора проб путем погружения в чистую воду, используют бутылки, которые являются стерильными внутри и снаружи и защищены, например, крафт-бумагой (чтобы оставались сухими после обработки в автоклаве), алюминиевой фольгой или наружными пластиковыми пакетами.

Без обработки в автоклаве, можно использовать стерилизацию гамма-лучами или этиленоксидом. Пакет можно открывать непосредственно перед отбором проб, он также может служить в качестве перчатки, чтобы держать бутылку, обеспечивая максимальную асептику перед помещением в стойку-штатив или другое оборудование, в котором можно стерилизовать бутылки.

Альтернативно, с наружной стороны бутылки для проб можно обеззараживать непосредственно перед погружением с помощью специального дезинфицирующего средства, например, изопропанола (4.3.1.1) и дать остыть перед применением. Это не подходит для анализа бактерий, образующих споры.

В большинстве случаев достаточно использовать, бутылки вместимостью 500 мл, поскольку испытывают не более 5 видов микроорганизмов, причем в каждом исследовании инокулируют максимум 100 мл материала.

В некоторых случаях, потребуются большие объемы, например:

- для анализа бутилированной воды (250 мл на измерение каждого параметра);

- для *Legionella* spp. или *Salmonella* spp. (до 1 л);
- для вирусов, *Giardia* цист, *Cryptosporidium* оцист, амёб в чистой воде, исследуют от 10 до нескольких сотен литров или больше. Обычно, этап концентрирования выполняют на месте, используя патронный фильтр, который затем транспортируют в лабораторию.

Бутыли можно изготавливать из стекла или различных пластмасс (полипропилена, полистирола, полиэтилена, поликарбоната). Стекло обычно предпочтительно для повторного использования, полиэтилен используется один раз.

Прилипание к поверхностям может ухудшить обнаружение микроорганизмов, также необходимо учитывать критическое тангенциальное поверхностное натяжение γ , если используется нестандартный материал^[13].

Пробки для стеклянных бутылей должны быть либо притертыми, либо пластиковыми, для пластиковых бутылей и канистр используют пластиковые плотно надеваемые крышки, или пластиковые или металлические навинчивающиеся крышки для других сосудов. Отверстия бутылей, закрытые пластиковой или стеклянной крышкой, необходимо защитить сверху от загрязнения, например, алюминиевой фольгой.

Если для анализа необходимы большие объемы, например, для вирусов, *Salmonella* spp., амёб, *Cryptosporidium* оцист, *Giardia* цист, иногда требуется подвергнуть анализу десятки или сотни литров. Чтобы избежать трудностей обращения, охлаждения и встряхивания таких объемов, рекомендуется применять концентрирование *in situ* (путем флокуляции, центрифугирования или фильтрования). Можно использовать шланговый насос со стерильными трубками.

ПРИМЕЧАНИЕ 1 Металлические крышки, особенно из алюминия, при автоклавировании могут выделять токсичные вещества. Это можно предотвратить путем использования термостойкой непротекающей прокладки.

ПРИМЕЧАНИЕ 2 Определенные материалы могут также давать токсичные побочные продукты при стерилизации под нагревом, даже в сушильной печи, или приводить к изменению pH.

ПРИМЕЧАНИЕ 3 Хлопковая вата некоторых производителей, используемая для изготовления тампонов для стеклянной посуды, может стать токсичной при слишком продолжительном нагревании при слишком высоких температурах.

ПРИМЕЧАНИЕ 4 Плотно надеваемые пластиковые крышки на бутылку или канистру имеют несколько преимуществ, так как они не протекают, как навинчиваемые крышки, и при открытой крышке, что облегчает наполнение и забор проб из емкости пипеткой, такая крышка остается присоединенной к бутылке, поэтому бутылки и крышки держатся вместе, что защищает крышку от дополнительного загрязнения.

4.2.2 Стерилизация бутылей

При повторном использовании стеклянные бутылки с крышками моют нетоксичным, не содержащим фосфора моющим веществом с последующим тщательным споласкиванием деионизованной или дистиллированной водой.

Бутылки обрабатывают в автоклаве при температуре $(121 \pm 3)^\circ\text{C}$ в течение не менее 15 мин. Бутылки закрывают неплотно, чтобы пар мог вытеснить воздух при подъеме температуры и чтобы предотвратить растрескивание пластиковых бутылей при охлаждении. После стерилизации завинчивающиеся крышки плотно закрывают. Стеклянные пробки обрабатывают в автоклаве отдельно от бутылей или используют бумагу или алюминиевый разделитель, чтобы предотвратить заедание при охлаждении.

При необходимости бутылки стерилизуют в сушильной печи в течение не менее 1 ч при температуре (170 ± 10) °С. Притертые пробки в горлышка прокладывают бумажной лентой или веревочкой, чтобы пробка не застряла при охлаждении. Бутылки должны проследиваться по дате стерилизации.

Процесс стерилизации контролируют с помощью химических или биологических индикаторов.

Если невозможно осуществить стерилизацию другими средствами, дезинфицируют бутылки путем погружения их в открытом виде в кипящую воду не менее чем на 30 мин. Сразу после кипения опустошают бутылки и закрывают их прокипевшими крышками и оборачивают чистой бумагой.

ПРИМЕЧАНИЕ 1 Полиэтиленовые бутылки можно стерилизовать под воздействием газа этиленоксида, но ввиду его токсичности, процедуру можно выполнить только на специальной установке с учетом времени, разрешенного для десорбции газообразного этиленоксида. Поэтому такой метод не используется в качестве повседневного в лабораторной практике.

ПРИМЕЧАНИЕ 2 Воздействие гамма-лучей от источника на базе ^{60}Co или ^{137}Cs или ускоренных электронов достаточной энергии (от 1×10^4 Gy до 2×10^4 Gy) является очень эффективной техникой стерилизации, доступной только для специальных установок. остаточной антибактериальной активности не будет, но некоторые материалы могут измениться за счет полимеризации после повторного облучения.

4.2.3 Дезактивация дезинфицирующего средства

Чтобы оценить микробиологическое качество воды, обеззараженной окислителем (например, хлором, хлорамином, бромом или озоном), прекращают действие окислителя, как только пробу отобрали. Добавляют восстановитель, такой как тиосульфат натрия в бутылки для проб.

Теоретическая масса тиосульфата натрия (пентагидрата), требующегося для дезактивации 1 мг хлора составляет 7,1 мг. Таким образом, 0,1 мл раствора пентагидрата тиосульфата натрия (4.3.1.2) добавляют на каждые 100 мл вместимости бутылки. Это дезактивирует не менее 2 мг/л и вплоть до 5 мг/л остатка свободного хлора, в зависимости от динамики дезактивации, что будет достаточным для большинства проб.

В определенных обстоятельствах, например, как меры по дезинфекции тазов в плавательных бассейнах (например, уничтожение *Legionella* в водопроводных системах подачи питьевой воды), может быть обнаружена более высокая концентрация и пропорционально потребуются более высокая доза тиосульфата натрия.

Тиосульфат натрия не разрушается при автоклавировании или сухим теплом. Обеспечивают, чтобы рН раствора тиосульфата натрия был примерно нейтральным (низкий рН может привести к разложению).

Тиосульфат натрия не действует на пробу и может также использоваться для не хлорированной воды.

ПРИМЕЧАНИЕ Имеется информация, что *Legionella* чувствительна к натрию и что предпочтительно использовать тиосульфат калия, однако, отрицательного эффекта натрия при концентрации, используемой для дезактивации хлора в обычной концентрации, обнаружено не было.

Для других дезинфицирующих средств необходимо принимать другие соответствующие меры дезактивации. Если дезактивация невозможна или не осуществима, об этом необходимо сообщить.

Для защиты бактерий от токсичного действия тяжелых металлов, таких как медь и цинк, рекомендуется использовать хелатообразователи. Этилендинитрилтетрауксусную кислоту (EDTA) или нитрилоацетат натрия, ее натриевую соль (NTA) ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_6\text{NO}_6$) можно использовать как фильтр-стерилизующий раствор при конечной концентрации примерно 50 мг на литр, но добавлять ее следует только при необходимости (например, если вода была обработана серебром или медью). Серебро можно также дезактивировать сульфидом натрия. Добавляют 1 мл раствора сульфида натрия (4.3.1.3) на 1 л пробы.

4.2.4 Контроль качества бутылей для проб

4.2.4.1 Определение стерильности

Лаборатория должна убедиться в стерильности бутылей для проб, независимо от того, стерилизовали бутылки в лаборатории или приобрели в продаже, а также пластиковые это бутылки или стеклянные. Приобретенные в продаже бутылки должны поставляться с сертификатом, подтверждающим стерилизацию, что является условием приемки, однако тест на стерильность рекомендуется провести для полученной партии. Это касается партии бутылей после этикетирования, добавления дезактивирующих веществ, где необходимо, и хранения.

Стерильность бутылей обычно можно гарантировать путем контроля процесса стерилизации. В противном случае стерильность контейнеров необходимо подтвердить тестированием.

ПРИМЕР Далее следуют примеры процедур испытания (обычно выполняемых на 1 из 100 бутылей):

a) Метод “катания бутыли”

Этот метод заключается в следующем: в испытуемую бутылку вводят 20 мл или 50 мл расплавленного пищевого агара (агар для подсчета колоний в чашках) и покрывают стенки агаром, вращая бутылку в процессе охлаждения (если необходимо, под струей воды). Инкубация при температуре $(22 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение пяти дней не должна выявить заметного роста.

b) Метод с использованием жидкого бульона

Метод заключается в следующем: в бутылку наливают от 20 мл до 50 мл тиогликолята или другого пищевого бульона, вращая бутылку таким образом, чтобы смочить все стенки, и инкубируют при температуре $(22 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение 5 дней. Если бутылка стерильна, не должно появиться помутнения на ее стенках.

4.2.4.2 Тест на присутствие дезактивирующих веществ

Присутствие тиосульфата можно проверить иодометрическим методом:



Добавляют 10 мл дистиллированной воды в бутылку и титруют раствором йода (4.3.1.4), используя крахмал или тиофен в качестве титрующего вещества до конечной точки титрования.

4.2.4.3 Тест на остаточную токсичность в бутылках для проб

Причиной остаточной токсичности в контейнерах для проб может быть метод промывания стекла, результат выделения компонентов или добавок из пластиковых бутылей, а также собственно процесс стерилизации. Повседневное применение стеклянных или полиэтиленовых бутылей не требует регулярной проверки на токсичность, но в случае сомнений, выполняют тест по Гельдриху (Geldreich) 1975^[8] (например).

4.3 Реактивы, аппаратура и материалы

4.3.1 Реактивы

4.3.1.1 Этанол, объемная доля $\varphi(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}) = 70\%$, **изопропанол**, объемная доля $\varphi[(\text{CH}_3)_2\text{CHOH}] = 70\%$, или **раствор гипохлорита**, $\rho(\text{ClO}^-) \approx 1$ г/л.

4.3.1.2 Раствор пентагидрата тиосульфата натрия, $\rho(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}) = 18$ мг/мл.

4.3.1.3 Раствор сульфида натрия, ρ (Na_2S) = 0,1 мг/мл.

4.3.1.4 Раствор йода, $c(\text{I}_2)$ = 0,05 моль/л.

4.3.2 Аппаратура и материалы

Кроме контейнеров для проб, могут потребоваться следующие позиции.

4.3.2.1 Мыло и полотенца.

4.3.2.2 Газовая паяльная лампа и зарядка.

4.3.2.3 Банки или химические стаканы, дезинфицирующие средства.

4.3.2.4 Зажигалка, спички.

4.3.2.5 Маркеры, карандаши, этикетки.

4.3.2.6 Гаечные ключи, клещи, отвертки, нож.

4.3.2.7 Коробка для льда и лед, или кубики льда, портативные холодильники или холодильные камеры в автомобилях.

4.3.2.8 Термометр или регистрирующее устройство.

4.3.2.9 Балластированный держатель для бутылей или равноценное приспособление, с веревкой или цепью (предпочтительно из нержавеющей стали, хотя бы нижняя часть).

4.3.2.10 Шест или длинные щипцы или пробоотборники, приспособленные для различных глубин.

4.3.2.11 Карты, перечень точек отбора проб, бланки для заполнения.

4.3.2.12 Средство транспортирования и документация, удостоверение личности или разрешение на забор проб.

4.3.2.13 Водонепроницаемая (защитная) обувь.

4.3.2.14 Аппаратура для измерения pH, хлора, растворенного кислорода, проводимости.

4.3.2.15 Стерильные перчатки.

4.4 Процедура наполнения бутылей

4.4.1 Питьевая вода из водопровода

4.4.1.1 Общие положения

Отбор проб из водопровода может производиться с разными целями:

- чтобы определить качество воды в водопроводной системе (ответственность несет организация, ведающая этой системой);
- чтобы определить качество воды, подаваемой по водопроводу потребителю — в состоянии подачи в водопровод — (которое может измениться в обслуживающей сети внутри здания);