МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 35240— 2025

ВОДА ПИТЬЕВАЯ И МИНЕРАЛЬНАЯ

Методы определения спор сульфитредуцирующих клостридий

Издание официальное

Москва
Российский институт стандартизации
2025

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и общие правила проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Федеральным государственным бюджетным учреждением «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Федерального медико-биологического агентства «Научно-исследовательский институт экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н. Сысина» (ФГБУ «ЦСП» ФМБА России)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 28 февраля 2025 г. № 182-П)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	ЗАО «Национальный орган по стандартизации и метрологии» Республики Армения
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Узбекистан	UZ	Узбекское агентство по техническому регулированию

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 28 мая 2025 г. № 489-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 35240—2025 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2026 г. с правом досрочного применения

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации.

В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты»

© Оформление. ФГБУ «Институт стандартизации», 2025

В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Термины и определения 2
4 Средства измерений, оборудование, материалы, реактивы 3
4.1 Оборудование и средства измерений 3
4.2 Реактивы 4
4.3 Питательные среды 5
5 Подготовка к анализу 5
5.1 Приготовление питательных сред и реактивов — общие требования 5
5.2 Питательные среды для определения спор сульфитредуцирующих клостридий 6
6 Отбор проб 8
7 Методы определения сульфитредуцирующих клостридий 8
7.1 Подготовка проб к анализу 8
7.2 Определение спор сульфитредуцирующих клостридий методом мембранной фильтрации 8
7.3 Определение спор сульфитредуцирующих клостридий методом прямого посева в пробирках . . 9
8 Учет результатов 10
Приложение А (рекомендуемое) Эмпирическая оценка неопределенности, связанная с исследованиями проб на наличие спор сульфитредуцирующих клостридий 11
Приложение Б (рекомендуемое) Оценка достоверности при оценке различия средних значений с использованием критерия Стьюдента-Фишера 13
Приложение В (справочное) Информация о применяемых технических регламентах и нормативных правовых актах в странах СНГ 15

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

ВОДА ПИТЬЕВАЯ И МИНЕРАЛЬНАЯ

Методы определения спор сульфитредуцирующих клостридий

Drinking and mineral water. Methods for the determination of spores of sulfite-reducing clostridia

Дата введения — 2026—01—01
с правом досрочного применения

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на упакованную питьевую воду, относящуюся к пищевой продукции, включая природную минеральную воду (в том числе столовую природную минеральную воду, лечебно-столовую природную минеральную воду и лечебную природную минеральную воду), купажированную питьевую воду, обработанную питьевую воду, природную питьевую воду, питьевую воду централизованного питьевого, в том числе горячего водоснабжения, питьевую воду для детского питания, искусственно минерализованную питьевую воду, изготовленную с использованием природной питьевой воды [в случае, если вода отобрана из поверхностного водозабора или подвержена влиянию поверхностных вод в точке водоотбора исходной (сырой) воды], соответствующую требованиям нормативных правовых актов, действующих на территории государства, принявшего настоящий стандарт, а также воду для использования в процессах производства безалкогольной и алкогольной продукции, воду, используемую для питьевых и хозяйственно-бытовых целей, воду источников водоснабжения и устанавливает методы определения содержания спор сульфитредуцирующих клостридий при проведении санитарно-микробиологического анализа воды.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 8.417 государственная система обеспечения единства измерений. Единицы величин

ГОСТ 83 Реактивы. Натрий углекислый. Технические условия

ГОСТ 199 Реактивы. Натрий уксуснокислый 3-водный. Технические условия

ГОСТ 975 глюкоза кристаллическая гидратная. Технические условия[1)]

ГОСТ 1770 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 3118 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 4148 Реактивы. Железо (II) серно-кислое 7-водное. Технические условия

ГОСТ 4233 Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия

ГОСТ 4328 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 4517—2016 Реактивы. Методы приготовления вспомогательных реактивов и растворов, применяемых при анализе

ГОСТ 4919.1 Реактивы и особо чистые вещества. Методы приготовления растворов индикаторов

ГОСТ 5644 Сульфит натрия безводный. Технические условия

[1)] В Российской Федерации действует ГОСТ Р 70925—2022 Глюкоза кристаллическая. Технические условия.

Издание официальное

ГОСТ 5962 Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. Технические условия

ГОСТ 6709 Вода дистиллированная. Технические условия[1)]

ГОСТ 10163 Реактивы. Крахмал растворимый. Технические условия

ГОСТ 10444.1—84 Консервы. Приготовление растворов реактивов, красок, индикаторов и питательных сред, применяемых в микробиологическом анализе

ГОСТ 10444.9—88 Продукты пищевые. Метод определения Clostridium perfringens

ГОСТ 13805 Пептон сухой ферментативный для бактериологических целей. Технические условия

ГОСТ 17206 Агар микробиологический. Технические условия

ГОСТ 21241 Пинцеты медицинские. Общие технические требования и методы испытаний

ГОСТ 23932—90 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Общие технические условия

ГОСТ 24849 Вода. Методы санитарно-бактериологического анализа для полевых условий

ГОСТ 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 27068 Реактивы. Натрий серноватистокислый (натрия тиосульфат) 5-водный. Технические условия

ГОСТ 29227 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

ГОСТ 29311—92 гидролизаты панкреатические для бактериальных питательных сред. Общие технические условия

ГОСТ 30813 Вода и водоподготовка. Термины и определения

ГОСТ 31942 (ISO 19458:2006) Вода. Отбор проб для микробиологического анализа

ГОСТ 32031—2022 Продукты пищевые. Методы выявления бактерий Listeria monocytogenes и других видов Listeria (Listeria spp.)

ГОСТ 34257 Упаковка. Пробки с дополнительным верхом и защитные колпачки для стеклянных бутылок. Общие технические условия

ГОСТ 34786—2021 Вода питьевая. Методы определения общего числа микроорганизмов, колиформных бактерий, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa и энтерококков

ГОСТ ISO 7218 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям

ГОСТ ISO 11133 Микробиология пищевых продуктов, кормов для животных и воды. Приготовление, производство, хранение и определение рабочих характеристик питательных сред

ГОСТ ISO 11607-1 Упаковка для медицинских изделий, подлежащих финишной стерилизации. Часть 1. Требования к материалам, барьерным системам для стерилизации и упаковочным системам

ГОСТ OIML R 76-1 государственная система обеспечения единства измерений. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов и классификаторов на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации (gost.e-ecolog.ru по указателям национальных стандартов, издаваемым в государствах, указанных в предисловии, или на официальных сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации. Если на документ дана недатированная ссылка, то следует использовать документ, действующий на текущий момент, с учетом всех внесенных в него изменений. Если заменен ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, то следует использовать указанную версию этого документа. Если после принятия настоящего стандарта в ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение применяется без учета данного изменения. Если ссылочный документ отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены термины по ГОСТ 30813, а также следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **клостридии:** Облигатно-анаэробные грамположительные спорообразующие палочковидные бактерии, принадлежащие к семейству Clostridiaceae рода Clostridium.

[1)] В Российской Федерации действует ГОСТ Р 58144—2018.

3.2 **споры сульфитредуцирующих клостридий:** Одна из стадий цикла развития клостридий, выработанная в процессе эволюции в борьбе за сохранение вида, редуцирующих сульфит натрия до сульфидов и образующих в присутствии солей железа соединение черного цвета на железосульфитном агаре при температуре (44 ± 1) °С в течение 16—18 ч.

3.3

воспроизводимость: Прецизионность в условиях воспроизводимости.
[ГОСТ ИСО 5725-1—2003, пункт 3.17]

3.4

повторяемость (сходимость): Прецизионность в условиях повторяемости.
[ГОСТ ИСО 5725-1—2003, пункт 3.13]

3.5

предел воспроизводимости R: Значение, которое с доверительной вероятностью 95 % не превышается абсолютной величиной разности между результатами измерений (или испытаний), полученными в условиях воспроизводимости.
[ГОСТ ИСО 5725-1—2003, пункт 3.20]

3.6

условия воспроизводимости: Условия, при которых результаты анализа получают по одной и той же методике на идентичных пробах, но в различных условиях (разное время, разные аналитики, разные партии реактивов одного типа, разные наборы мерной посуды, разные экземпляры средств измерений одного типа, разные лаборатории).
[ГОСТ ИСО 5725-1—2003, пункт 3.18]

3.7

прецизионность: Степень близости друг к другу независимых результатов измерений, полученных в конкретных установленных условиях в одной лаборатории.

Внутрилабораторная прецизионность — это прецизионность в условиях, при которых результаты получают по одной и той же методике, на идентичных образцах, в одной лаборатории, но при вариации всех факторов (время, исполнитель, реактивы и прочее). Контроль повторяемости предусматривает выполнение параллельных определений и проводится каждым исполнителем самостоятельно.
[ГОСТ ИСО 5725-1—2003, пункт 3.12]

4 Средства измерений, оборудование, материалы, реактивы

Используется оборудование, материалы и реактивы по ГОСТ 24849 со следующими дополнениями:

4.1 Оборудование и средства измерений

Автоматические дозаторы различных объемов или пипетки одноразового или многоразового применения — по ГОСТ 29227.

Оборудование для создания анаэробных условий в замкнутой воздушной среде при инкубировании — анаэростат, эксикатор, анаэробная станция.

Инкубатор (термостат), обеспечивающий поддержание температуры (44 ± 1) °С.

CO_2 инкубатор, одновременно обеспечивающий анаэробные условия и температурный режим (44 ± 1) °С.

Водяная баня или термостат для температурного режима 45 °С — 75 °С.

Весы лабораторные не ниже II класса с дискретностью до 0,01 г, в том числе оснащенные автоматической внутренней калибровкой по ГОСТ ISO 7218, ГОСТ OIML R 76-1

pH-метр, обеспечивающий считывание показаний до ± 0,01 ед. pH с погрешностью измерений 0,1 ед. pH, оснащенный ручной или автоматической термокомпенсацией.

Термометры стеклянные ртутные или стеклянные спиртовые, или автоматические регистраторы для измерения температуры в диапазоне, обеспечивающем проведение исследований.

Морозильная камера с температурой в камере не выше минус 70 °С (для хранения запасов эталонных культур) или холодильник с температурой в камере (6 ± 2) °С (для хранения запасов эталонных культур, реактивов и питательных сред).

Оборудование для измерения показателей микроклимата помещений.

Оборудование для мембранной фильтрации под вакуумом с диаметром фильтрующей поверхности 35 или 47 мм и устройства для создания разрежения 0,05—0,10 мПа — по ГОСТ 8.417.

Ламинарный шкаф (класс II).

Дистиллятор.

Стерилизатор паровой, режим работы от 0 до 2,5 кгс/см^3.

Стерилизатор суховоздушный.

Батометр с устройством для закрепления стерильных емкостей или прибор с аналогичными характеристиками.

Фильтрующий материал (из нитратцеллюлозы, ацетатцеллюлозы, в том числе трековые мембраны) для микробиологических целей с диаметром пор 0,2—0,45 мкм и размером диска 35 или 47 мм или другие фильтрующие мембраны с аналогичной способностью фильтрации.

Петли бактериологические одноразовые или многоразовые.

Ножницы.

Пинцет анатомический или пинцет медицинский для работы с мембранными фильтрами — по ГОСТ 21241.

Емкость для дезинфицирующего раствора.

Маркер по стеклу.

Герметичные контейнеры или мешки для сбора и хранения отработанного материала.

Средства защиты (очки для защиты глаз от УФ-излучения, латексные перчатки, маски и шапочки одноразового использования).

Средство дезинфекционное, допущенное к применению в установленном порядке.

Стерилизационные пакеты — по ГОСТ ISO 11607-1.

Вата хлопчатобумажная гигроскопическая медицинская — по ГОСТ 5556.

Корнцанг.

Пробирки лабораторные одноразового или многоразового использования, объемом 15 см^3; 20 см^3; 30 см^3 — по ГОСТ 25336.

Пробки силиконовые разных размеров — по ГОСТ 34257.

Газовые горелки, спиртовки стеклянные или металлические с подставкой — по ГОСТ 25336.

Флаконы стеклянные объемом 100; 250 и 500 см^3 — по ГОСТ 1770.

Цилиндры стеклянные на 100 см^3; 250 см^3; 1000 см^3 — по ГОСТ 1770.

Чашки Петри диаметром 90 мм; 100 мм одноразовые или стеклянные многократного применения по ГОСТ 23932.

Посуда мерная лабораторная стеклянная 2-го класса точности вместимостью 500 и 1000 см^3 однократного применения или многократного применения вместимостью 500 см^3 и 1000 см^3 и другое оборудование, необходимое для отбора проб воды по ГОСТ 1770.

Штативы для пробирок.

Допускается применение других средств измерения, вспомогательного и испытательного оборудования, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам и обеспечивающим необходимую точность измерения.

4.2 Реактивы

Необходимые реактивы или их аналоги могут быть приобретены в готовом виде или приготовлены из составляющих веществ в соответствии с методиками. Используют реактивы особо чистые (о.с.ч.) или чистые для анализа (ч.д.а.).

Агар микробиологический — по ГОСТ 17206.

Вода дистиллированная — по ГОСТ 6709.

Гидролизат казеина панкреатический — по ГОСТ 29311.

Гидролизат мяса говяжьего ферментативный (ГМФ-основа бактериологических питательных сред сухая) по нормативным правовым актам, действующим в государствах, принявших стандарт.

Глюкоза — по ГОСТ 975.

Декстроза.

Дрожжевой экстракт — по ГОСТ 10444.1.

Железо сульфат 7-водное ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) — по ГОСТ 4148.

Железа аммонийного цитрат — по ГОСТ 32031—2022 (подпункт Б 1.1.2.4).

Кислота соляная — по ГОСТ 3118 (HCl) 20 %-ный раствор для подкисления питательной среды при установлении pH (приготовление 20 %-ного раствора соляной кислоты по ГОСТ 4517—2016 (пункт 4.89) в зависимости от плотности исходной концентрированной кислоты).

Крахмал растворимый — по ГОСТ 10163.

Мальтоза.

Натрия гидроксид (NaOH) 2 %-ный раствор для подщелачивания питательной среды при установлении pH (2,00 г гидроксида натрия по ГОСТ 4328 растворяют в 90,0 $см^3$ свежекипяченой и охлажденной дистиллированной воды и разбавляют свежекипяченой и охлажденной дистиллированной водой до 100,0 $см^3$).

Натрий углекислый (карбонат натрия) (Na_2CO_3) насыщенный раствор — для подщелачивания питательной среды при установлении pH (22,00 г растертого в порошок карбоната натрия по ГОСТ 83 смешивают со 100 $см^3$ дистиллированной воды, нагревают до кипения и кипятят 5 мин. После охлаждения используют отстоявшийся прозрачный раствор над осадком).

Натрия сульфит (Na_2SO_3) безводный — по ГОСТ 5644.

Натрия пиросульфита ($Na_2S_2O_5$ безводный).

Натрия хлорид — по ГОСТ 4233.

Натрий серноватистокислый пятиводный (натрия тиосульфат) — по ГОСТ 27068.

Натрий уксуснокислый трехводный — по ГОСТ 199.

Пептон сухой ферментативный (соевый) — по ГОСТ 13805.

Спирт этиловый ректификованный — по ГОСТ 5962 с крепостью не ниже 96 %.

Физиологический раствор 0,9 % по нормативным правовым актам, действующим в государствах, принявших стандарт.

L-цистеин.

0,1 %-ный водный раствор бриллиантового зеленого — по ГОСТ 4919.1.

4.3 Питательные среды

Сахарный кровяной агар по Цейсслеру по ГОСТ 10444.9—88 (пункт 3.2.9).

Среда Вильсон-Блера по ГОСТ 10444.1—84 (подраздел 5.28).

Примечание — Допускается использовать оборудование, расходные материалы, реактивы, питательные среды, в том числе готовые и хромогенные среды, диагностические препараты и тест-системы по качеству не ниже указанных в настоящем стандарте или с аналогичными характеристиками, разрешенными к применению в установленном порядке.

5 Подготовка к анализу

Подготовка к анализу осуществляется в соответствии с ГОСТ 34786—2021 (подразделы 5.1—5.8).

5.1 Приготовление питательных сред и реактивов — общие требования

5.1.1 Для получения достоверных воспроизводимых результатов исследования, для приготовления питательных сред необходимо использовать коммерческие сухие питательные среды, промышленные среды, готовые к применению, или осуществлять приготовление сред согласно рецептуре в соответствии с 5.1.2. При использовании промышленных сухих питательных сред их приготавливают в соответствии с указаниями изготовителя на этикетке. В этом случае следует соблюдать способ применения и срок хранения питательных сред, указанных на упаковках.

Допускаются к использованию коммерческие питательные среды, диагностические препараты, тест-системы и системы идентификации производства зарубежных фирм, предназначенные для целей описываемых методов. Питательные среды и биологические препараты зарубежного производства должны иметь международный сертификат качества. При использовании следует руководствоваться рекомендациями фирмы-производителя. Все обезвоженные коммерческие питательные среды отечественного производства должны иметь сертификат соответствия.

При поступлении в лабораторию питательные среды должны иметь сопроводительные документы: регистрационное удостоверение; паспорта отдела контроля организации-изготовителя на реализуемую серию препарата; инструкцию по применению на русском языке; этикетки на русском языке.

При получении питательных сред необходимо проверить целостность упаковки (оценивают визуально) и наличие сопроводительной документации, которая должна содержать следующую информацию:

- название среды и ее назначение;
- название предприятия-изготовителя;
- номер серии;
- номер протокола контрольных испытаний;
- дата изготовления;
- срок годности;
- состав среды;
- условия хранения;
- рецептура приготовления;
- описание внешнего вида и консистенции сухой и готовой среды;
- условия и длительность хранения готовой среды.

5.1.2 Приготовление питательных сред и реактивов проводят по ГОСТ ISO 11133, ГОСТ 10444.9, ГОСТ 10444.1 и в соответствии с инструкциями производителя.

5.1.3 Контроль питательных сред проводят с использованием тест-штаммов микроорганизмов в соответствии ГОСТ 34786. Допускается проводить контроль питательных сред с использованием тест-штаммов микроорганизмов в соответствии ГОСТ ISO 11133, а также использование коммерческих готовых питательных сред с документами, подтверждающими их качество.

Питательные среды, которые в соответствии с указанием производителя не требуют стерилизации автоклавированием, а также среды с коротким сроком хранения после розлива в чашки Петри, могут быть приготовлены непосредственно перед анализом. Такие среды готовят в эмалированной или стеклянной емкости, или емкости из нержавеющей стали.

Промышленные сухие питательные среды готовят в соответствии с указаниями изготовителя. В этом случае следует соблюдать способ применения и срок хранения питательных сред, указанных на упаковках.

Питательные среды, разлитые в чашки и хранящиеся в холодильнике, перед посевом должны быть прогреты до комнатной температуры.

При наличии следов влаги на поверхности агаризованных сред проводят подсушивание, соблюдая асептические условия, приоткрывая крышку, до исчезновения конденсата.

5.1.4 Подготовленные заранее стерильные емкости, питательные среды, лабораторную посуду и реактивы следует хранить в условиях, предусмотренных для каждого средства, среды и реактива с соблюдением стерильности и предельных сроков хранения. При этом емкости и пробирки с готовыми средами должны быть закрыты силиконовыми пробками и защищены колпачками из силикона или жароустойчивой бумаги или металлической фольгой. Чашки Петри с готовыми средами должны быть помещены в специальные пакеты или завернуты в плотную бумагу, защищающую среду от высыхания и воздействия света.

При вскрытии упаковок и емкостей, удалении пробок (крышек) непосредственно перед проведением анализа пробка (крышка) и края емкости не должны касаться посторонних поверхностей.

5.1.5 Операции по подготовке и проведению анализа выполняют чистыми и продезинфицированными руками (например, после обработки рук 70 %-ным этиловым спиртом или дезинфицирующими салфетками для индивидуального пользования) или в стерильных перчатках.

5.2 Питательные среды для определения спор сульфитредуцирующих клостридий

5.2.1 Среда Вильсона-Блера, измененная для анаэробов

5.2.1.1 Активно размешивая смешивают все компоненты: панкреатический гидролизат казеина — 15,0 г; дрожжевой экстракт — 10,0 г; железа цитрат — 1,0 г; натрия сульфит — 0,5 г; агар микробиологический — (11,0 ± 1,5) г; дистиллированную воду — 1 дм^3. Не допуская пригорания, кипятят 2 мин. Разливают мерно во флаконы, стерилизуют автоклавированием при температуре 121 °С в течение 15 мин.

5.2.1.2 Смешивают все компоненты: ГМФ-основа 18,0 г; натрия хлорид 5,0 г; натрий сернистокислый 20,0 г; железа сульфат семиводный 0,75 г; глюкоза 17,0 г; мальтоза 4,0 г; агар микробиологический

от 10 до 12 г; воду дистиллированную 1 $дм^3$. Кипятят до полного расплавления агара. Фильтруют через ватно-марлевый фильтр, разливают в стерильные бутылки или пробирки и стерилизуют автоклавированием при температуре 110 °С в течение 20 мин. Готовая среда — прозрачная, коричневого цвета. В таком виде среду Вильсон—Блера можно использовать в течение семи суток при температуре хранения от 2 °С до 8 °С.

5.2.1.3 В 1000 $см^3$ стерильного расплавленного микробиологического агара, который готовят из сухого препарата промышленного производства по способу, указанному на этикетке, добавляют 10 г глюкозы, нагревают до растворения, разливают мерно во флаконы, автоклавируют при (112 ± 2) °С 12 мин (основная среда). 20 %-ный раствор сульфита натрия (Na_2SO_3) и 8 %-ный раствор железа сернокислого закисного ($FeSO_4$) или железа хлористого ($FeCl_2$) готовят непосредственно перед употреблением в стерильной посуде на стерильной дистиллированной воде. Раствор сульфита натрия нагревают до полного растворения. Перед выполнением анализа в 100 $см^3$ расплавленной основной среды вносят 5 $см^3$ 20 %-ного раствора сульфита натрия, перемешивают, затем вносят 1 $см^3$ 8 %-ного раствора сернокислого железа, перемешивают и стерильно разливают во флаконы.

Примечание — Питательный агар не допускается выдерживать в расплавленном состоянии более 8 ч. Оставшийся неиспользованным агар повторному расплавлению не подлежит.

5.2.2 Агар сульфит-полимиксин-неомициновый по ГОСТ 10444.9—88 (пункт 3.2.2)

Основу питательной среды готовят следующим образом: 17,0 г ферментативного пептона по ГОСТ 13805, 15 $см^3$ дрожжевого экстракта, 5,0 г хлорида натрия, 1,0 г безводного пиросульфита натрия ($Na_2S_2O_5$), 1,0 г цитрата аммонийного железа, 12,0—15,0 г агара добавляют к 1 $дм^3$ дистиллированной воды. Смесь, периодически перемешивая, подогревают до кипения и кипятят до полного растворения всех составных частей. Устанавливают pH таким образом, чтобы после стерилизации он соответствовал 7,6 ± 0,1 при температуре (25 ± 1) °С. Стерилизуют при температуре (121 ± 1) °С в течение 20 мин. Основу среды хранят при температуре (4 ± 2) °С не более 14 суток. К 1 $дм^3$ основы, расплавленной и охлажденной до 45 °С — 55 °С, непосредственно перед употреблением добавляют 1 $см^3$ раствора массовой концентрации неомицина сульфата 50 $г/дм^3$ или 5 $см^3$ раствора массовой концентрации неомицина сульфата 10 $г/дм^3$ (50 $мкг/см^3$ основы среды) и 8 $см^3$ раствора массовой концентрации полимиксина 2,5 $г/дм^3$ или 4 $см^3$ раствора массовой концентрацией полимиксина 5 $г/дм^3$ (20 $мкг/см^3$ основы среды).

5.2.3 Модифицированная среда для выделения спор сульфитредуцирующих клостридий

В 1 $дм^3$ дистиллированной воды добавляют 23 г микробиологического агара, 15 г казеинового пептона, 1 г сульфита натрия (Na_2SO_3), 10 г дрожжевого экстракта, 0,5 г сульфат железа, 5 г декстрозы, 0,5 г L-цистеин, 1 $см^3$ 0,1 %-ного водного раствора бриллиантового зеленого.

5.2.4 Агар для выделения спор сульфитредуцирующих клостридий усиленный (реактивы, включенные в рецептуру по ГОСТ 10444.1—84 (подраздел 5.47)) для культивирования мезофильных анаэробных микроорганизмов

Разводят в 1 $дм^3$ дистиллированной воды 10,0 г мясного экстракта,10,0 г пептона, 5,0 г декстрозы (или глюкозы), 0,5 г сульфата железа, 5,0 г хлорида натрия, 3,0 г дрожжевого экстракта, 3,0 г ацетата натрия или 5 г водного уксуснокислого натрия ($CH_3COONa \cdot 3H_2O$), 1,0 г растворимого крахмала, 0,5 г L-цистеина гидрохлорида, 15 г микробиологического агара, хорошо перемешивают и нагревают. Часто помешивая, доводят до кипения и кипятят в течение минуты до полного растворения. Раствор охлаждают до температуры 50 °С — 60 °С, доводят его реакцию до pH (7,0 ± 0,1). Разливают в емкости и стерилизуют 15 мин при 121 °С. Охлаждают до 45 °С — 50 °С и при необходимости добавляют 0,02 г/л полимиксина В в виде стерильного отфильтрованного раствора. Готовая среда имеет светло-янтарный цвет, слегка опалесцирует, должна храниться при 8 °С — 15 °С. Конечная величина pH (6,8 ± 0,2) при 25 °С.

5.2.5 Улучшенная клостридиальная среда (R. C. M.) (реактивы, включенные в рецептуру по ГОСТ 10444.1—84 (подраздел 5.47)) для культивирования мезофильных анаэробных микроорганизмов

В 1 $дм^3$ дистиллированной воды помещают 3 г дрожжевого экстракта или 15 $см^3$ раствора дрожжевого экстракта, 10 г мясного экстракта, 10 г пептона, 1 г растворимого крахмала, 5 г глюкозы, 0,5 г сульфата железа, 0,5 г L-цистеина гидрохлорида, 5 г хлористого натрия, 3 г уксуснокислого натрия или 5 г водного уксуснокислого натрия ($CH_3COONa \cdot 3H_20$), 0,5 г агара для вязкой среды или 15 г агара для плотной среды, нагревают при непрерывном помешивании до кипения и кипятят до полного растворения всех компонентов; раствор охлаждают до температуры 50 °С — 60 °С, доводят его реакцию до pH (7,0 ± 0,1). Стерилизуют при температуре (121 ± 1) °С в течение 20 мин. Вязкую среду непосредственно

перед использованием регенерируют, плотную — после розлива по чашкам Петри подсушивают. Допускается использовать 1 дм^3 мясной воды вместо мясного экстракта и воды.

Допускается использование готовых коммерческих сред, предназначенных для определения спор сульфитредуцирующих клостридий.

5.2.6 Агар триптозо-сульфит-циклосериновый

Растворяют при нагревании 15 г триптозы, 5 г гидролизата соевой муки, 5 г дрожжевого экстракта, 1 г пиросульфита натрия, 1 г цитрата железа (III)-аммония в 1000 мл дистиллированной воды и корректируют уровень pH до 7,6 ± 0,1 при 25 °С. Разливают по пробиркам в объеме 18 мл. Стерилизуют среду в течение 15 мин при температуре (121 ± 1) °С. Хранят в холодильнике при температуре от 4 °С до 5 °С. Срок хранения готовой питательной среды не более двух недель.

6 Отбор проб

Отбор, транспортирование и хранение проб воды для микробиологического анализа проводят по ГОСТ 31942.

7 Методы определения сульфитредуцирующих клостридий

Перед посевом пробу тщательно перемешивают (стараясь не намочить пробку), край фламбируют, пробирки и чашки, подготовленные для посева, маркируют. Перед каждым отбором новой порции воды для исследования пробу перемешивают стерильной пипеткой. Для посева проб воды используют следующие методы в зависимости от степени загрязнения воды и от поставленной цели исследования:

а) метод прямого посева на агаризованные среды;

б) метод мембранной фильтрации.

Допускается применение хромогенных сред и тест-систем для ускоренного качественного определения сульфитредуцирующих клостридий в соответствии с инструкцией производителя.

7.1 Подготовка проб к анализу

Пробу воды в объеме, необходимом для проведения исследования, перед посевом прогревают на водяной бане при температуре (75 ± 5,0) °С в течение 15 мин для исключения вегетативных форм (время отсчитывают после достижения указанной температуры).

Для упрощения процедуры прогревания проб, исключения перегрева и увеличения времени нагрева пробы (что может привести к занижению результата) пробы прогревают во флаконах с тонкими стенками в объемах, не превышающих 20 см^3.

При исследовании хлорированной воды прогревание пробы можно не производить.

Питательные среды готовят во флаконах небольшими порциями непосредственно перед посевом (повторному расплавлению агар не подлежит). В течение посева поддерживают температуру среды до (75 ± 5,0) °С в водяной бане.

7.2 Определение спор сульфитредуцирующих клостридий методом мембранной фильтрации

При исследовании упакованной питьевой воды, в том числе минеральной воды, на наличие спор сульфитредуцирующих клостридий методом мембранной фильтрации фильтруют пробу объемом 100 см^3. При исследовании воды, предназначенной для систем централизованного питьевого водоснабжения, в том числе горячего водоснабжения, фильтруют пробу воды объемом 20 см^3 или в соответствии с требованиями нормативных правовых актов государств, принявших стандарт. При исследовании загрязненных вод спорами сульфитредуцирующих клостридий (например, родниковой или колодезной воды) готовят разведения, корректируя таким образом результат, чтобы выросли изолированные колонии, которые можно было подсчитать.

Примечание — Готовят разведения анализируемой воды, используя стерильные растворы для разведения: солевой (физиологический раствор, пептонный раствор или пептонно-солевой раствор). При посеве проб воды объемом менее 0,1 и 1,0 см^3 используют разведения (1:9 и более) анализируемой воды. Для этого в пробирку с 9 см^3 раствора для разведения вносят 1 см^3 анализируемой воды. Пипетка не должна касаться поверхности раствора, чтобы избежать смывания бактерий с наружной стороны. Другой стерильной пипеткой содержимое пробирки тщательно перемешивают многократным пипетированием или используя альтернативные методы (например,

ротационные миксеры, вортексы), получая десятикратное разведение. Посев в питательную среду 1 $см^3$ этого разведения будет соответствовать посеву 0,1 $см^3$ анализируемой воды. При необходимости посева меньших объемов воды этой же пипеткой переносят 1 $см^3$ содержимого первой пробирки в следующую пробирку с 9 $см^3$ стерильного раствора. Посев 1 $см^3$ второго разведения будет соответствовать посеву 0,01 $см^3$ анализируемой воды.

Каждую пробу исследуемой воды фильтруют (20 $см^3$ или два раза по 10 $см^3$ при нормируемом объеме в 20 $см^3$; при нормируемом объеме в 100 $см^3$ пропускают 100 $см^3$ или два раза по 50 $см^3$, или пять раз по 20 $см^3$) в зависимости от предполагаемого загрязнения и необходимости количественного значения результата.

7.2.1 Подготовка фильтровального аппарата

Воронку и столик фильтровального аппарата обтирают марлевым (ватным) тампоном, смоченным ректификованным спиртом, и фламбируют. После охлаждения на столик фильтровального аппарата фламбированным пинцетом кладут стерильный фильтрующий материал, прижимают его воронкой.

7.2.2 Определение спор сульфитредуцирующих клостридий глубинным методом культивирования фильтров в пробирках

Стерильным пинцетом берут фильтр за два противоположных края и, согнув в виде трубочки, помещают в пробирку с горячим агаром. Сторона фильтра с осевшими бактериями должна быть обращена внутрь. При этом фильтр распрямляется пинцетом и располагается по стенке пробирки. Сразу же после посева пробирку с агаром и фильтром для создания анаэробных условий быстро охлаждают, помещая в емкость с холодной водой. Культивируют посевы при (44 ± 0,5) °С в течение 16—18 часов.

7.2.3 Определение спор сульфитредуцирующих клостридий методом культивирования фильтров на чашках в анаэростате или анаэробной станции

С применением стерильного пинцета фильтр помещают на агаризованную среду, приготовленную по 5.2.2—5.2.5, фильтратом вверх. Чашки с фильтрами помещают в анаэростат, затем в термостат или в термостат в анаэробной станции дном вверх и инкубируют посевы в анаэробных условиях при температуре (37 ± 1) °С в течение (20 ± 4) ч. При отсутствии роста через (20 ± 4) ч посевы оставляют до (44 ± 4) ч.

Если на фильтрах нет роста типичных черных колоний, бесцветных колоний с черным центром или бесцветных колоний со слабовыраженным черным центром, то выдают отрицательный ответ: «отсутствие спор сульфитредуцирующих клостридий в исследуемом объеме воды».

Если на фильтрах обнаружен рост изолированных типичных черных колоний, бесцветных колоний с черным центром или бесцветных колоний со слабовыраженным черным центром, то количество колоний подсчитывают.

7.2.4 Определение спор сульфитредуцирующих клостридий методом культивирования фильтров на чашках в CO_2-инкубаторе

Мембранный фильтр с сконцентрированной пробой укладывают на дно стерильной чашки Петри фильтрующей поверхностью ко дну чашки «лицом вниз», избегая образования пузырей воздуха под мембраной, затем заливают до верхнего края чашки расплавленной и остуженной до температуры (75 ± 5) °С одной из питательных сред, указанных в 5.2, так, чтобы крышка плотно прилегала к среде. Культивируют посевы в CO_2-инкубаторе или в термостате при (44 ± 1,0) °С в течение 16—18 часов.

Подготовленную пробу или ее разведения высевают также глубинным методом в две чашки Петри. Посевы заливают триптозо-сульфит-циклосериновым или сульфит-полимиксин-неомициновым агаром, или сахарным кровяным агаром по Цейсслеру, или агаром Вильсон-Блера, или рекомендуемой для применения дифференциальной средой. Содержимое чашек Петри быстро, осторожными круговыми движениями, перемешивают. После застывания среды посевы на чашках Петри термостатируют в CO_2-инкубаторе или в термостате при температуре (44 ± 1,0) °С в течение 16—18 часов.

7.3 Определение спор сульфитредуцирующих клостридий методом прямого посева в пробирках

Для посева выбирают 2—3 объема воды с таким расчетом, чтобы выросли изолированные колонии, ориентируясь на результаты, полученные ранее при анализе воды в этой же точке.

В стерильные пробирки вносят пробы исследуемой воды:

- по 10 $см^3$ в две пробирки (объемом не менее 30 $см^3$) или
- по 5 $см^3$ в четыре пробирки (объемом по 15 $см^3$).

Посевы вносят в стерильные пробирки и заливают горячим железосульфитным агаром высоким столбиком или другой средой, разрешенной к применению, в количестве, превышающем объем воды

в два раза. Агар наливают по стенке пробирки во избежание попадания воздуха. После этого пробирку быстро охлаждают, помещая ее в емкость с холодной водой для создания анаэробных условий. Посевы инкубируют при (44 ± 1) °С в течение (18 ± 2) часов.

8 Учет результатов

Количественному учету подлежат только те посевы, где получены изолированные колонии. Подсчитывают черные колонии, выросшие как на фильтрах, так и в толще питательной среды. При учете посевов прямым методом число колоний пересчитывают на нормируемый объем (100 $см^3$ для упакованной питьевой воды, включая природную минеральную воду, 20 $см^3$ для систем централизованного питьевого водоснабжения, в том числе горячего водоснабжения).

Результат исследования выражают числом колониеобразующих единиц (КОЕ) спор сульфитредуцирующих клостридий в нормируемом объеме (100 $см^3$ или 20 $см^3$) воды.

При отсутствии роста черных колоний на всех фильтрах дают ответ: «не обнаружено в 100 $см^3$ или 20 $см^3$ воды». При невозможности учета колоний из-за сливного роста результат оценивается как качественный, в протоколе отмечают: «обнаружено в 100 $см^3$ или 20 $см^3$ воды». При необходимости получения количественного результата анализ повторяют.

Приложение А
(рекомендуемое)

Эмпирическая оценка неопределенности, связанная с исследованиями проб на наличие спор сульфитредуцирующих клостридий

При количественном определении спор сульфитредуцирующих клостридий в исследуемой пробе воды неопределенность можно оценить по следующим методам[1)].

Основным источником неопределенности являются условия воспроизводимости — отбор проб, первичное разведение, оборудование, культуральная среда, реактивы, компетентность исследователя, время проведения исследования, остаточные случайные погрешности.

Лаборатории при внедрении метода должны подтверждать техническую компетентность путем сличительных испытаний. Стандартное отклонение воспроизводимости может быть оценено по результатам, полученным в условиях внутрилабораторного или межлабораторного эксперимента с целью оценки технической компетентности, что позволит оценить неопределенность результатов в условиях конкретной лаборатории.

Для оценивания неопределенности может использоваться стандартное отклонение воспроизводимости, полученное в условия межлабораторных сличений, в которых лаборатория принимала участие, либо стандартное отклонение внутрилабораторной прецизионности, полученное путем проведения эксперимента в конкретной лаборатории.

Количество выросших колоний (КОЕ) x на чашках или в пробирках вычисляют по формуле

$$x = \frac{\sum C}{(n_1 + n_2)\cdot 0{,}1}\cdot 10^{n}, \qquad (A.1)$$

где $\sum C$ — сумма всех подсчитанных колоний на чашках Петри в шести последовательных разведениях;

n_1 — количество чашек Петри, подсчитанное для первого меньшего разведения;

n_2 — количество чашек Петри, подсчитанное для второго разведения;

n — степень разведения воды (для меньшего разведения).

Число разведений может быть больше, что зависит от степени загрязнения исследуемой воды.

Для оценки стандартного отклонения внутрилабораторной прецизионности (анализ выполняют разные исполнители) по каждому образцу необходимо исследовать не менее 10 повторностей образца, выполненных каждым исполнителем, по результатам которых рассчитывается среднее арифметическое значение результатов параллельных определений.

Результаты числа колоний выражают как число КОЕ/20 см^3 или КОЕ/100 см^3, пересчитанные в $\log_{10}$ (КОЕ/см^3).

Стандартное отклонение воспроизводимости S_R для n образцов рассчитывается по формуле

$$S_R = \sqrt{\sum_{i=1}^{n}\frac{(y_{iA} - y_{iB})^2}{N-1}}, \qquad (A.2)$$

где y_{iA}, y_{iB} — результаты, выраженные в логарифмической шкале $\log_{10}$(КОЕ/см^3);

i — индекс выборки $i = 1n(n \geq 10)$;

n — количество составляющих, используемых при вычислении неопределенности;

iA, iB — результат испытаний i-го объекта обычным методом при сравнении методов А и В;

N — количество результатов в выборке, $N \geq 10$, при оценке близости друг к другу независимых результатов измерений, полученных двумя разными сотрудниками лаборатории, выполняющих внедрение метода в конкретных одинаковых условиях в одной лаборатории.

Стандартное отклонение прецизионности (повторяемость) S_r рассчитывается по формуле

$$S_r = \sqrt{\frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n}\frac{(y_{iA} - y_{iB})}{2}}, \qquad (A.3)$$

где n — количество результатов в выборке, $n \geq 10$, при проведении сравнительной оценки близости результатов измерений, полученных в одинаковых условиях в одной лаборатории, выполненные одним и тем же сотрудником лаборатории при внедрении метода.

[1)] Эмпирическую оценку неопределенности, связанную с исследованиями проб на наличие спор сульфитредуцирующих клостридий в воде, при внедрении метода можно проводить в соответствии с ГОСТ ISO/TS 19036:2006 «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Руководство по оценке неопределенности измерений при количественных определениях».

Так как предполагается, что на чашках Петри или в пробирках количество выросших колоний не превышает пределов счета для использованного способа посева, то оно подчиняется закону распределения Пуассона.

Если результат испытаний выражен в логарифмических единицах, то расширенная неопределенность U, с учетом того, что коэффициент охвата равен 2 (что приблизительно соответствует вероятности (p = 0,95), может быть определена по следующему уравнению:

$$U = 2 \cdot \sqrt{S_R^2 + \frac{0{,}18861}{\sum C}}, \quad (A.4)$$

где S_R^2 — стандартное отклонение воспроизводимости;

$\frac{0{,}18861}{\sum C}$ — компонента дисперсии, возникающая вследствие распределения Пуассона.

Результаты расчета стандартного отклонения воспроизводимости S_R и расширенной неопределенности для разных видов матрицы представлены в таблице А.1.

Таблица А.1 — Неопределенность, связанная с исследованиями проб на наличие спор сульфитредуцирующих клостридий в воде

Результаты расчетов, КОЕ/20 см^3 или КОЕ/100 см^3	Образец 1	Образец 2
СКО внутрилабораторной воспроизводимости, S_R (log10(КОЕ/см^3)	0,013	0,02
$\frac{0{,}18861}{\sum C}$ log10 (КОЕ/см^3)	0,024	0,026
Расширенная неопределенность U, log10 (КОЕ/см^3)	0,055	0,065
Расширенная неопределенность U, %	4,6	4,8

Эмпирический подход является надежным способом оценки неопределенности результатов микробиологического анализа.

Данные о сходимости методов, описанных в настоящем стандарте, базируются на результатах, полученных в межлабораторных испытаниях.

Абсолютная разность между двумя отдельными результатами испытаний (число спор сульфитредуцирующих клостридий в 20 или 100 см^3) или результатов, полученных при использовании одного и того же метода, на идентичном испытуемом материале, одним и тем же оператором, использующим одно и то же оборудование, в течение допустимого промежутка времени, будет превышать предел повторяемости не более чем в 5 % случаев. При этом оценивают результаты 10 повторных по степени близости друг к другу независимых результатов измерений, полученных в конкретных установленных условиях в одной лаборатории.

Оценку повторяемости, воспроизводимости и правильности при оценке неопределенности измерений можно проводить статистическими методами, принятыми при оценке повторяемости, воспроизводимости и правильности при оценке неопределенности измерений в соответствии с нормативными правовыми актами государств, принявших стандарт.

Приложение Б
(рекомендуемое)

Оценка достоверности при оценке различия средних значений с использованием критерия Стьюдента-Фишера

Оценка достоверности при оценке различия средних значений с использованием критерия Стьюдента-Фишера рассчитывается по ГОСТ 34786.

Расчет значения критерия Стьюдента t вычисляется по формуле

$$|t| = (M_1 - M_2)\sqrt{\frac{1-2(N_1+N_2)^{-1}}{\frac{\sigma_1^2}{N_1}+\frac{\sigma_2^2}{N_2}}}, \quad (Б.1)$$

где t — критерий Стьюдента;

M_1 и M_2 — сравниваемые средние арифметические значения количества колоний;

σ_1 и σ_2 — дисперсии сравниваемых рядов посевов (расчет дисперсии проводят согласно ГОСТ 34786—2021 (пункт В.1);

N_1 и N_2 — количество посевов в исследуемых вариационных рядах.

Если полученное значение критерия t более значения, приведенного в таблице Б.1, то различие между сравниваемыми средними значениями достоверно.

Таблица Б.1 — Критические значения t — критерия Стьюдента

f	p				f	p			
	0,9	0,95	0,99	0,999		0,9	0,95	0,99	0,999
1	6,314	12,70	63,65	636,61	43	1,681	2,017	2,695	3,532
2	2,920	4,303	9,925	31,602	44	1,680	2,015	2,692	3,526
3	2,353	3,182	5,841	12,923	45	1,679	2,014	2,690	3,520
4	2,132	2,776	4,604	8,610	46	1,679	2,013	2,687	3,515
5	2,015	2,571	4,032	6,869	47	1,678	2,012	2,685	3,510
6	1,943	2,447	3,707	5,959	48	1,677	2,011	2,682	3,505
7	1,895	2,365	2,998	5,408	49	1,677	2,010	2,680	3,500
8	1,860	2,306	2,896	5,041	50	1,676	2,009	2,678	3,496
9	1,833	2,262	3,250	4,781	51	1,675	2,008	2,676	3,492
10	1,812	2,228	3,169	4,587	52	1,675	2,007	2,674	3,488
11	1,796	2,201	3,106	4,437	53	1,674	2,006	2,672	3,484
12	1,782	2,179	3,055	4,318	54	1,674	2,005	2,670	3,480
13	1,771	2,160	3,012	4,221	55	1,673	2,004	2,668	3,476
14	1,761	2,145	2,977	4,140	56	1,673	2,003	2,667	3,473
15	1,753	2,131	2,947	4,073	57	1,672	2,002	2,665	3,470
16	1,746	2,120	2,921	4,015	58	1,672	2,002	2,663	3,466
17	1,740	2,110	2,898	3,965	59	1,671	2,001	2,662	3,463
18	1,734	2,101	2,878	3,922	60	1,671	2,000	2,660	3,460
19	1,729	2,093	2,861	3,883	61	1,670	2,000	2,659	3,457
20	1,725	2,086	2,845	3,850	62	1,670	1,999	2,657	3,454
21	1,721	2,080	2,831	3,819	63	1,669	1,998	2,656	3,452
22	1,717	2,074	2,819	3,792	64	1,669	1,998	2,655	3,449
23	1,714	2,069	2,807	3,768	65	1,669	1,997	2,654	3,447
24	1,711	2,064	2,797	3,745	66	1,668	1,997	2,652	3,444
25	1,708	2,060	2,787	3,725	67	1,668	1,996	2,651	3,442
26	1,706	2,056	2,779	3,707	68	1,668	1,995	2,650	3,439
27	1,703	2,052	2,771	3,690	69	1,667	1,995	2,649	3,437
28	1,701	2,048	2,763	3,674	70	1,667	1,994	2,648	3,435
29	1,699	2,045	2,756	3,659	71	1,667	1,994	2,647	3,433
30	1,697	2,042	2,750	3,646	72	1,666	1,993	2,646	3,431
31	1,696	2,040	2,744	3,633	73	1,666	1,993	2,645	3,429
32	1,694	2,037	2,738	3,622	74	1,666	1,993	2,644	3,427
33	1,692	2,035	2,733	3,611	75	1,665	1,992	2,643	3,425
34	1,691	2,032	2,728	3,601	76	1,665	1,992	2,642	3,423
35	1,690	2,030	2,724	3,591	78	1,665	1,991	2,640	3,420
36	1,688	2,028	2,719	3,582	79	1,664	1,990	2,639	3,418
37	1,687	2,026	2,715	3,574	80	1,664	1,990	2,639	3,416
38	1,686	2,024	2,712	3,566	90	1,662	1,987	2,632	3,402
39	1,685	2,023	2,708	3,558	100	1,660	1,984	2,626	3,390
40	1,684	2,021	2,704	3,551	110	1,659	1,982	2,621	3,381
41	1,683	2,020	2,701	3,538	120	1,658	1,980	2,617	3,373
42	1,682	2,018	2,698	3,532					

Примечание: f — число степеней свободы; p — доверительная вероятность.

Приложение В
(справочное)

Информация о применяемых технических регламентах и нормативных правовых актах в странах СНГ

Наименование технического регламента или нормативного правового акта	Государство — участник СНГ
Технический регламент ЕАЭС 044/2017 «О безопасности упакованной питьевой воды, включая природную минеральную воду»	AM, BY, KZ, KG, RU

УДК 628.1.03:579.68:006.354 МКС 67.160.01

Ключевые слова: вода питьевая, споры сульфитредуцирующих клостридий, анаэробные условия, прямой метод, метод мембранной фильтрации

Редактор *Е.Ю. Митрофанова*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *М.И. Першина*
Компьютерная верстка *Л.А. Круговой*

Сдано в набор 29.05.2025. Подписано в печать 18.06.2025. Формат 60×84⅛. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,32. Уч.-изд. л. 1,97.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении в ФГБУ «Институт стандартизации»
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов,
117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru