2.12. Контроль микробиологических и паразитологических показателей

ГОСТ 18963—73

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ВОДА ПИТЬЕВАЯ

МЕТОДЫ САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2008

gost.e-ecolog.ru

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ВОДА ПИТЬЕВАЯ

Методы санитарно-бактериологического анализа

ГОСТ 18963—73

Drinking water.
Methods of sanitary-bacteriological analysis

МКС 13.060.20
ОКСТУ 9109

Дата введения 01.07.74

Настоящий стандарт распространяется на питьевую воду и устанавливает методы санитарно-бактериологического анализа, отбора, хранения и транспортирования проб воды.

1. МЕТОД ОТБОРА, ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ ПРОБ ВОДЫ

1.1. Для отбора проб воды используют стерильные флаконы вместимостью 0,5 $дм^3$ с притертой каучуковой или корковой пробкой.

1.2. Место и время отбора пробы определяют в зависимости от цели анализа в наиболее характерных точках водопроводной сети: ближайших к насосной станции, наиболее удаленных от нее, наиболее возвышенных, в тупиках, а также в точках, качество воды в которых вызывает сомнение.

1.3. Пробы воды периферической водопроводной сети отбирают в периоды наибольшего расхода воды при соблюдении правил стерильности, после предварительной стерилизации кранов обжиганием пламенем горящего тампона, смоченного спиртом, и последующего спуска воды в течение 10—15 мин при полностью открытом кране. Бумажный пакет или колпачок с флакона снимают вместе с пробкой непосредственно перед отбором пробы, не касаясь пробки руками. Наполняют флаконы с таким расчетом, чтобы при транспортировании не замочить пробку. Объем отбираемой пробы — 500 $см^3$. Наполненные флаконы закрывают притертыми, каучуковыми или корковыми пробками и стерильными бумажными колпачками, которые обвязывают ниткой и бечевкой.

1.4. Пробы хлорированной водопроводной воды (с аммонизацией или без нее) отбирают во флаконы с дехлоратом: во флакон, предназначенный для отбора 500 $см^3$ воды, до стерилизации вносят 10 мг серноватистокислого натрия.

Издание официальное ★ Перепечатка воспрещена

©Издательство стандартов, 1973
© Стандартинформ, 2008

1.5. Отобранные пробы должны сопровождаться документом, содержащим:

точное наименование этапа очистки и обеззараживания;

при отборе проб из периферической водопроводной сети — точное месторасположение крана, из которого отбирают пробу;

дату отбора пробы (с указанием года, месяца, числа и часа);

особые обстоятельства, имевшие место при отборе проб (время спуска воды из крана, условия транспортирования и т. п.);

цель исследования: сделан ли отбор пробы в порядке текущего санитарного надзора или по особым показаниям (рекомендации санитарно-эпидемиологической службы; сигналы, поступающие от населения, об изменении органолептических качеств воды и т. п.).

Все сопроводительные документы должны быть подписаны лицом, отбиравшим пробу, с указанием его места работы и должности.

1.6. Проба должна быть исследована не позже чем через 2 ч после ее отбора.

При невозможности выполнения этих условий анализ допускается проводить не позже чем через 6 ч после отбора пробы, сохраняя при этом пробу при температуре от 1 до 5 °С.

1.7. При невозможности исследовать пробы на месте допускается транспортировать их в пределах времени, указанных в п. 1.6.

1.8. Посуда с пробами должна быть упакована в сумки-холодильники или в ящики с теплоизолирующей прокладкой.

1.9. Температуру, указанную в п. 1.6, необходимо поддерживать, применяя резиновые или пластмассовые мешки, наполненные летом льдом, а зимой теплой водой.

1.10. Необходимо избегать при транспортировании резких толчков, которые могут привести к намоканию пробок.

2. АППАРАТУРА, МАТЕРИАЛЫ, РЕАКТИВЫ, ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ

2.1. Для проведения анализа должны применяться следующие аппараты, реактивы и питательные среды:

банки широкогорлые с притертыми пробками;

воронки стеклянные по ГОСТ 23932;

колбы конические вместимостью 250 и 500 $см^3$ по ГОСТ 25336;

колбы с тубусом по ГОСТ 25336;

флаконы стеклянные вместимостью 100—250 $см^3$;

посуда мерная лабораторная стеклянная по ГОСТ 1770;

пипетки вместимостью 1, 5, 10 $см^3$ с ценой деления 0,1 $см^3$ исполнений 4, 5, 6 по ГОСТ 29227;

пипетки Мора вместимостью 50 и 100 $см^3$;

цилиндры вместимостью 100, 250, 500 $см^3$ исполнений 1, 3 или мензурки вместимостью 250, 500, 1000 $см^3$ по ГОСТ 1770;

пробирки бактериологические по ГОСТ 25336;

флаконы для отбора проб с притертыми пробками или без них вместимостью 500 $см^3$;

спиртовки по ГОСТ 25336;

стаканы лабораторные по ГОСТ 25336;

стекла покровные для микропрепаратов по ГОСТ 6672;

стекла предметные для микропрепаратов по ГОСТ 9284;
чашки бактериологические (Петри);
кристаллизаторы;
насос водоструйный стеклянный лабораторный по ГОСТ 25336;
поплавки для пробирок и колб длиной 20, 45 и 75 мм и диаметром соответственно 5, 9 и 10 мм;
автоклав электрический по ТУ 27—31—2939;
аппараты фильтровальные с диаметром фильтрующей поверхности 32 мм;
баня водяная;
вакуум-насос;
весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104*, 4-го класса точности, наибольший предел взвешивания 200 г, допускаемая погрешность не более 0,02 г; весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104, 4-го класса точности, наибольший предел взвешивания 1 кг, допускаемая погрешность не более 0,1 г;
дистиллятор;
лупа с увеличением 2—5× по ГОСТ 25706;
микроскоп биологический по нормативно-техническому документу;
осветитель ОИ-19;
пеналы металлические для пипеток;
пластинка с сеткой для счета колоний;
pH-метр;
прибор для счета колоний бактерий;
термостаты электрические для выращивания бактерий с автоматическим терморегулятором до 50 °С и с термометром с ценой деления 0,2 °С;
холодильник электрический или газовый бытовой, поддерживающий температуру на 4—6 °С;
холодильники походные (сумки) или ящики для транспортирования проб с теплоизоляцией и резиновыми мешками (для льда или теплой воды);
часы сигнальные или песочные по ОСТ 25—11—38;
шкаф сушильный;
агар-агар в волокнах или в порошке по ГОСТ 17206;
агар сухой питательный;
кислота борная по ГОСТ 9656;
индикатор бриллиантовый зеленый;
индикатор бромтимоловый синий;
вата гигроскопическая медицинская по ГОСТ 5556;
вата хлопчатобумажная негигроскопическая по ТУ—17 РСФСР 63—9022;
индикатор генциан фиолетовый;
глюкоза, х. ч., по ГОСТ 6038;
диметил-*п*-фенилендиамин;
желчь крупного рогатого скота свежая или сухая обезвоженная;
вода дистиллированная по ГОСТ 6709;
желатин;
йод по ГОСТ 4159;
калий йодистый по ГОСТ 4232;

* С 1 июля 2002 г. введен в действие ГОСТ 24104—2001 (здесь и далее).

калий фосфорнокислый двузамещенный по ГОСТ 2493;
калий фосфорнокислый однозамещенный по ГОСТ 4198;
кислота соляная по ГОСТ 3118;
кислота розоловая;
индикатор кристаллический фиолетовый;
лактоза;
марля медицинская в кусках и бинтах по ГОСТ 9412;
масло иммерсионное для микроскопии по ГОСТ 13739;
натрия гидроокись по ГОСТ 4328;
натрий серноватистокислый по ГОСТ 27068;
натрий хлористый по ГОСТ 4233;
α-нафтол по ТУ 6—09—5417;
пептон сухой ферментативный для бактериологических целей по ГОСТ 13805;
проволока из никелевых сплавов диаметром 0,3—0,5 мм;
спирт этиловый ректификованный по ГОСТ 5962*;
среда Эндо сухая питательная;
препарат с индикатором ВР и глюкозой;
препарат с индикатором ВР и лактозой;
фенол по ТУ 6—09—5303;
фильтры мембранные № 2 и 3 и фильтры планктонные № 6 или фильтрующие мембраны «Владипор» марки МФА-МА № 5, 6, 7, 8, 10 диаметром 35 мм;
фуксин основной;
фуксин кислый;
бумага фильтровальная по ГОСТ 12026;
пробки резиновые разных размеров для флаконов;
«сторож для молока».

(Измененная редакция, Изм. № 1, 2).

3. ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

3.1. Подготовка посуды и материалов

3.1.1. Вся бактериологическая посуда перед стерилизацией должна быть тщательно вымыта и высушена.

3.1.2. Пробирки и флаконы должны быть заткнуты ватными пробками и завернуты в бумагу. На горлышки флаконов следует надеть бумажные колпачки, которые обвязывают шнурком (ниткой).

3.1.3. Флаконы для отбора проб должны быть заткнуты ватными пробками, снабжены бумажными колпачками. Хорошо подобранные притертые, каучуковые или корковые пробки, завернутые в бумагу, привязывают к горлышку флакона.

3.1.4. Пробки для пробирок и флаконов готовят из ваты, обертывают слоем марли и завязывают ниткой на свободном конце.

3.1.5. Чашки Петри укладывают в металлические пеналы или завертывают в бумагу. Между крышкой и дном бактериологических чашек, предназначенных

* На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 51652—2000.

для разливки среды Эндо, можно проложить кружки фильтровальной бумаги диаметром на 1—2 см больше диаметра чашки.

3.1.6. В конец пипетки, который берется в рот, вкладывают кусочек ваты. Пипетки помещают в металлические пеналы не более 6—10 шт. в каждый или завертывают в бумагу.

3.2. Стерилизация посуды

3.2.1. Подготовленную посуду стерилизуют сухим жаром в сушильном шкафу при (160 ± 5) °С в течение 1 ч, считая с момента достижения этой температуры. Флаконы с привязанными к ним каучуковыми пробками стерилизуют отдельно в автоклаве при (126 ± 2) °С ($1{,}47 \cdot 10^5$ Па) 30 мин.

(Измененная редакция, Изм. № 2).

3.2.2. Простерилизованную посуду вынимают из сушильного шкафа после его охлаждения ниже 60 °С.

3.2.3. Стерильную посуду хранят в плотно закрытых шкафах или ящиках лабораторных столов.

3.2.4. При отсутствии сушильного шкафа посуду стерилизуют в автоклаве при (126 ± 2) °С ($1{,}47 \cdot 10^5$ Па) 30 мин.

(Измененная редакция, Изм. № 2).

3.3. Приготовление сред и реактивов

3.3.1. Приготовление стерильной воды

Водопроводную (колодезную, речную) воду разливают в пробирки по 10 $см^3$ в каждую или во флаконы по 100 $см^3$ в каждый, закрывают ватными пробками и стерилизуют в автоклаве при (120 ± 2) °С ($1{,}078 \cdot 10^5$ Па) 20 мин. Срок хранения — не более двух недель.

Целесообразнее воду стерилизовать во флаконе и разливать в пробирки по 9 $см^3$ непосредственно перед посевом, соблюдая правила стерильности.

3.3.2. *Приготовление мясной воды*

500 г мясного фарша без жира и сухожилий заливают 1 $дм^3$ дистиллированной воды, настаивают 12 ч на холоде или 1 ч в водяной бане при 50—60 °С. Затем настой кипятят, фильтруют через марлю или вату и опять доводят дистиллированной водой до 1 $дм^3$, разливают во флаконы, стерилизуют в автоклаве при (120 ± 2) °С ($1{,}078 \cdot 10^5$ Па) 20 мин или приступают непосредственно к приготовлению мясного бульона или других питательных сред.

3.3.3. *Приготовление мясопептонного бульона*

К 1 $дм^3$ мясной воды прибавляют 10 г пептона и 5 г хлористого натрия, нагревают до полного растворения пептона и соли, устанавливают pH (7,2—7,4), осветляют, фильтруют и разливают в пробирки или флаконы в количествах, необходимых для анализа, закрывают ватными пробками и стерилизуют в автоклаве при (120 ± 2) °С ($1{,}078 \cdot 10^5$ Па) 20 мин.

Примечание. Допустимая погрешность взвешивания 0,1 %.

3.3.4. *Приготовление мясопептонного агара*

К 1 $дм^3$ мясопептонного бульона прибавляют 15 г агара в волокнах или порошке, нагревают до полного растворения, проверяют pH (7,2—7,4), осветляют, фильтруют в горячем виде через ватно-марлевый фильтр и разливают во флаконы или пробирки в количествах, необходимых для анализа. Стерилизуют в автоклаве при (120 ± 2) °С ($1{,}078 \cdot 10^5$ Па) 20 мин.

Вместо мясопептонного бульона также используют перевар Хоттингера с концентрацией аминного азота не менее 100 мг/дм^3.

3.3.1—3.3.4. **(Измененная редакция, Изм. № 2).**

3.3.5. *Приготовление питательного агара Дагестанского НИИ питательных сред*

Готовят по прописи на этикетке.

3.3.6. *Приготовление глюкозопептонной среды*

Среду готовят двух видов: нормальную и концентрированную.

Среда нормальной концентрации: 10 г пептона, 5 г хлористого натрия, 5 г глюкозы, 1 дм^3 дистиллированной воды. После растворения указанных ингредиентов прибавляют индикатор (2 см^3 1,6 %-ного спиртового раствора бромтимолового синего или 10 см^3 индикатора Андреде), устанавливают pH (7,4—7,6), разливают по 10 см^3 в пробирки с поплавками или комочками ваты, стерилизуют в автоклаве при 112 °С ($0{,}49 \cdot 10^5$ Па) 12 мин. Приготовляя концентрированную среду, количество всех ингредиентов, кроме воды, увеличивают в 10 раз.

(Измененная редакция, Изм. № 2).

3.3.7. *Приготовление лактозопептонной среды*

Готовят так же, как глюкозопептонную среду, заменив глюкозу лактозой.

3.3.8. *Приготовление индикатора Андреде*

1 г кислого фуксина растворяют в 32 см^3 нормального раствора гидрата окиси натрия, прибавляют 200 см^3 дистиллированной воды, настаивают 24 ч при 37 °С, фильтруют, стерилизуют 5 мин при 100 °С. Хранят во флаконе из темного стекла с притертой пробкой.

3.3.9. *Приготовление полужидкой среды с индикатором ВР и глюкозой*

Готовят по прописи на этикетке. Срок хранения — не более 7 сут.

3.3.10. *Приготовление полужидкой среды с глюкозой*

Полужидкую среду применяют при отсутствии сухих сред. Для этого в 1 дм^3 дистиллированной воды растворяют 10 г пептона, 5 г хлористого натрия, 4—5 г агар-агара, доводят до кипения, устанавливают pH (7,2—7,4), добавляют 1 см^3 1,6 %-ного спиртового раствора бромтимолового синего. Стерилизуют при (120 ± 2) °С ($1{,}078 \cdot 10^5$ Па) 20 мин. В расплавленную среду вносят 5 г глюкозы, нагревают до кипения, разливают в стерильные пробирки столбиком высотой около 3 см и стерилизуют при 112 °С ($0{,}49 \cdot 10^5$ Па) 12 мин. Срок хранения — не более 7 сут.

(Измененная редакция, Изм. № 2).

3.3.11. *Приготовление среды Эндо (модификация)*

Готовят из сухого препарата по прописи на этикетке.

В готовую и охлажденную до 60—70 °С среду перед разливкой в чашки допускается прибавлять на 100 см^3 среды: 0,2 см^3 10 %-ного спиртового раствора основного фуксина для повышения дифференцирующих свойств среды и 0,2 см^3 5 %-ного спиртового раствора розоловой кислоты во избежание зарастания посевов споровыми аэробными бактериями. После тщательного перемешивания среду разливают в чашки по 20—25 см^3. Если на поверхности среды заметны следы влаги, чашки перед посевом необходимо подсушить. Для этого можно оставить чашки со средой на 0,5—1 ч для застывания и подсушивания накрытыми стерильными кружками фильтровальной бумаги. Хранить чашки со средой допускается не более двух-трех суток в темноте или

в холодильнике. Срок хранения растворов фуксина и розоловой кислоты — не более одного месяца.

3.3.12. *Приготовление желчно-лактозного бульона с бриллиантовым зеленым*

10 г пептона, 10 г лактозы, 200 см^3 свежей фильтрованной желчи крупного рогатого скота (или 20 г сухой обезвоженной желчи, растворенной в 200 см^3 дистиллированной воды) растворяют при нагревании в 700 см^3 дистиллированной воды, устанавливают pH (7,2—7,4), прибавляют 13,3 см^3 1 %-ного водного раствора бриллиантового зеленого, доливают дистиллированной водой до общего объема 1 дм^3, фильтруют через ватный фильтр, разливают по 5 см^3 в пробирки с поплавками и стерилизуют при 112 °С (0,49·10^5 Па) 12 мин или три дня при 100 °С. Срок хранения — не более двух недель.

3.3.13. *Приготовление борнокислой буферной среды с лактозой*

10 г пептона, 12,2 г калия фосфорнокислого двузамещенного (безводного), 4,1 г калия фосфорнокислого однозамещенного (безводного), 3,2 г борной кислоты, 5 г лактозы растворяют в 1 дм^3 дистиллированной воды, разливают по 5 см^3 в пробирки с поплавками, стерилизуют при 112 °С (0,49·10^5 Па) 12 мин. Срок хранения — не более двух недель.

3.3.12, 3.3.13. **(Измененная редакция, Изм. № 2).**

3.3.14. *Приготовление реактивов для окраски по Граму* *

Карболовый раствор генциана фиолетового готовят следующим образом: 1 г генциана фиолетового, 10 см^3 ректификованного этилового спирта, 5 г фенола растирают в ступке, добавляя 100 см^3 дистиллированной воды.

Раствор Люголя готовят следующим образом: 1 г йода, 2 г йодистого калия растворяют в 300 см^3 дистиллированной воды. Хранят во флаконе из темного стекла.

Фуксин Циля готовят следующим образом: 1 г основного фуксина, 10 см^3 ректификованного этилового спирта, 5 г фенола растирают в ступке, добавляя 100 см^3 дистиллированной воды.

Мазок на предметном стекле фиксируют трехкратным проведением через пламя горелки. На препарат накладывают полоску фильтровальной бумаги и на нее наливают карболовый раствор генциана фиолетового на 0,5—1 мин, снимают бумагу, наливают раствор Люголя на 0,5—1 мин, сливают раствор Люголя и стекло прополаскивают в этиловом спирте в течение 0,5—1 мин, пока не перестанет отходить краситель. Затем стекло тщательно промывают водой и докрашивают от 1 до 2 мин фуксином Циля, разведенным 1:10 дистиллированной водой. После промывки и просушивания препарата мазок микроскопируют.

Экспресс-метод окраски по Граму.

Приготовление реактива № 1: 0,5 %-ный спиртовой раствор кристаллического фиолетового.

Приготовление реактива № 2: в 100 см^3 ректификованного этилового спирта растворяют 0,4 г йодистого калия, нагревают на водяной бане или оставляют на сутки при комнатной температуре. Затем прибавляют 0,2 г кристаллического йода и 0,1 г основного фуксина. Хранят во флаконе из темного стекла.

---

* Вместо карболового раствора генциана фиолетового и фуксина Циля допускается использовать полоски фильтровальной бумаги, пропитанные соответствующими растворами и высушенные.

На обезжиренное спиртом предметное стекло наносят петлей одну каплю дистиллированной воды (при приготовлении препарата из колоний на плотных средах) или одну каплю бульонной культуры. В каплю дистиллированной воды вносят небольшое количество микробных клеток из анализируемой колонии или газона чистой культуры на плотной среде. Затем в каплю вносят петлей одну каплю реактива № 1, распределяют смесь по стеклу и подсушивают мазок при комнатной температуре. Затем фиксируют на пламени горелки, промывают водой, просушивают фильтровальной бумагой и наносят реактив № 2, покрывая им всю поверхность стекла, на 1—5 мин (продолжительность окраски не влияет на ее результат). Тщательно и быстро прополаскивают препарат водой, просушивают фильтровальной бумагой, микроскопируют. При приготовлении на одном стекле нескольких мазков на лицевую сторону стекла наносят восковым карандашом линии, делящие поверхность стекла на необходимое количество квадратов.

3.3.15. *Приготовление реактива для определения оксидазной активности бактерий*

30—40 мг α-нафтола растворяют в 2,5 $см^3$ ректификованного этилового спирта, прибавляют 7,5 $см^3$ дистиллированной воды и растворяют 40—60 мг диметил-*п*-фенилендиамина. Раствор готовят непосредственно перед определением.

Оксидазный тест предназначается для дифференциации бактерий семейства Enterobacteriaceae от грамотрицательных бактерий семейства Pseudomonadaceae и других водных сапрофитных бактерий, которые обладают активным ферментом оксидазой и окисляют фенилендиаминовые соединения до индофенола ярко-синего цвета.

3.3.15.1. Постановка оксидазного теста при работе методом мембранных фильтров

Мембранный фильтр с выросшими на нем колониями бактерий переносят пинцетом, не переворачивая, на кружок фильтровальной бумаги несколько большего диаметра, чем фильтр, обильно смоченный реактивом. Через 2—4 мин определяют результат. Все посиневшие колонии или с синим ободком не относятся к семейству Enterobacteriaceae, их учитывают.

Колонии, не изменившие своего первоначального цвета, в подавляющем большинстве образованы бактериями группы кишечных палочек, но среди них могут быть кокки, спорообразующие и грамотрицательные палочки, не имеющие санитарно-показательного значения, которые не учитывают после микроскопирования и отсутствия образования газа на полужидкой среде с глюкозой при (37 ± 0,5) °С. Учитывая бактерицидность реактива для определения оксидазной активности, мембранный фильтр сразу же после четкого проявления реакции переносят обратно на среду Эндо и немедленно (не позднее чем через 5 мин) пересеивают оксидазоотрицательные колонии в полужидкую среду с глюкозой.

3.3.15.2. Постановка оксидазного теста при работе бродильным методом

По 2—3 изолированные колонии каждого типа, выросшие на секторах среды Эндо, снимают петлей или стеклянной палочкой и наносят штрихом на фильтровальную бумагу, смоченную реактивом. В месте нанесения бактериальной массы бумага не изменяет цвета, если оксидазный тест отрицательный, и синеет в течение 1 мин, если бактерии имеют активную оксидазу. Исследование изо-

лированных колоний является обязательным, иначе можно необоснованно отбросить кишечную палочку при ложном посинении за счет примеси оксидазоположительных бактерий.

Примечание. Если оксидазный тест со средой Эндо проявляется недостаточно четко из-за того, что мешают ингибиторы (это относится в основном к темно-красным колониям), то для получения правильного результата такие колонии можно пересеять на секторы или на скошенный питательный агар и после подращивания повторить оксидазный тест.

4. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

4.1. Определение общего количества бактерий в воде

Сущность метода заключается в определении в 1 см^3 воды общего содержания мезофильных, мезотрофных аэробов и факультативных анаэробов, способных расти на питательном агаре данного состава при температуре (37 ± 0,5) °С в течение (24 ± 2) ч, образуя колонии, видимые при увеличении в 2—5 раз.

4.1.1. Питательный агар расплавляют в водяной бане и охлаждают до температуры (45 ± 5) °С.

4.1.2. Стерильные чашки Петри раскладывают на столе и подписывают на крышках номер пробы, дату посева и объем посеянной воды.

4.1.3. Из каждой пробы должен быть сделан посев не менее двух различных объемов, выбранных с таким расчетом, чтобы на чашках выросло от 30 до 300 колоний. При исследовании водопроводной воды засевают в каждую из двух чашек по 1 см^3.

4.1.4. С флаконов с пробой воды снимают бумажные колпачки, вынимают пробки, горлышки фламбируют, после чего воду тщательно перемешивают осторожным продуванием воздуха через стерильную пипетку.

4.1.5. Стерильной палочкой отбирают соответствующие объемы воды и вносят в стерильные чашки, слегка приоткрывая крышку.

4.1.6. Для посева 0,1 см^3 и меньших объемов воды используют разведения анализируемой воды. Для этого в пробирку с 9 см^3 стерильной воды, приготовленной по п. 3.3.1, вносят 1 см^3 анализируемой воды. При этом пипетка должна быть опущена ниже поверхности воды не более чем на 3 мм, чтобы избежать смывания бактерий с наружной стороны. Другой стерильной пипеткой продуванием воздуха тщательно перемешивают содержимое пробирки, отбирают из нее 1 см^3 и переносят в чашку, что 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 с 9 см^3 стерильной воды. Посев 1 см^3 из второй пробирки будет соответствовать посеву 0,01 см^3 анализируемой воды и т. д.

4.1.7. После внесения воды в чашки Петри ее заливают 10—12 см^3 остуженного питательного агара при фламбировании краев пробирки или бутылки, где он содержится.

Воду быстро смешивают с агаром, осторожно наклоняя или вращая чашку по поверхности стола. Необходимо избегать образования пузырьков воздуха, незалитых частей дна чашки, попадания среды на края и крышку чашки. После этого чашки оставляют на горизонтальной поверхности до застывания среды.

4.1.8. После застывания агара чашки с посевами помещают в термостат вверх

дном не более чем по 3—4 чашки вместе. Посевы выращивают при (37 ± 0,5) °С в течение (24 ± 2) ч.

4.1.9. Колонии, выросшие как на поверхности, так и в глубине агара, подсчитывают с помощью лупы с увеличением в 2—5 раз или прибора для счета колоний. Для этого чашку кладут вверх дном на черный фон. Для большей точности счета каждую подсчитанную колонию отмечают со стороны дна тушью или чернилами для стекла.

4.1.10. Оценивают только те разведения, при посеве которых на чашке выросло от 30 до 300 колоний. При посеве 1 $см^3$ неразведенной пробы учитывают любые количества колоний, но не превышающие 300.

Если в чашке с наиболее высоким разведением выросло свыше 300 колоний и анализ нельзя повторить, то допускается подсчитывать колонии с помощью пластинки с сеткой и лупы при сильном боковом освещении. Подсчитывают не менее 20 квадратов площадью 1 $см^2$ каждый в разных местах чашки, затем выводят среднеарифметическое число колоний на 1 $см^2$, значение которого умножают на площадь чашки в $см^2$, вычисленную по формуле

$$S = \pi r^2.$$

4.1.11. Результат подсчета колоний в каждой чашке выражают в количестве бактерий на 1 $см^3$ анализируемой воды с учетом посеянного объема. За окончательное количество бактерий принимают среднеарифметическое результатов подсчета на двух параллельных чашках или разных разведений. Результаты округляют следующим образом:

если результат находится в пределах чисел от 1 до 100, то записывают те числа, которые получены; если результат находится в пределах чисел от 101 до 1000, то результат округляют до 10; если результат находится в пределах чисел от 1001 до 10000, то результат округляют до 100 и т. д.

4.1.12. Количество колоний учитывают, ориентируясь на одну чашку, в случаях: если на другой чашке при посеве из разведения выросло менее 20 колоний; при ползучем росте бактерий, распространившихся на всю поверхность чашки или значительные зоны, маскирующем рост других колоний; при количестве колоний свыше 300.

Счетную пластинку рекомендуется применять при подсчете количества колоний, когда на обеих чашках отмечен ползучий рост.

При этом просчитывают квадраты на свободных от сплошного роста местах чашки.

4.1.13. Окончательный результат вносят в протокол анализа или в журнал регистрации, где должны быть приведены сведения из сопроводительного документа к пробе воды. Кроме того, отмечают особые обстоятельства анализа (превышение срока хранения пробы, изменение температуры и времени инкубации посевов, применение заменителей при приготовлении питательных сред и прочие вынужденные отклонения).

4.2. Определение количества бактерий группы кишечных палочек

К бактериям группы кишечных палочек относятся грамотрицательные, не образующие спор палочки, сбраживающие лактозу с образованием кислоты и газа при (37 ± 0,5) °С в течение 24—48 ч или сбраживающие глюкозу с образо-

ванием кислоты и газа при (37 ± 0,5) °С в течение 24 ч и не обладающие оксидазной активностью.

Обнаружение в воде бактерий группы кишечных палочек следует рассматривать как показатель фекального загрязнения воды, а их количество позволяет судить о степени этого загрязнения.

Количество бактерий группы кишечных палочек определяют методом мембранных фильтров и бродильным методом.

Метод мембранных фильтров

Сущность метода заключается в концентрировании бактерий из определенного объема анализируемой воды на мембранный фильтр, выращивании их при (37 ± 0,5) °С на среде Эндо, дифференцировании выросших колоний и подсчете количества бактерий группы кишечных палочек на 1 дм^3 воды.

4.2.1. *Подготовка к анализу*

При анализе воды, поступающей в водопроводную сеть, и в наиболее характерных ее точках необходимо анализировать объем не менее 333 см^3, профильтровывая этот объем не менее чем через два фильтра.

На этапах очистки анализируют не менее двух десятикратных объемов воды, выбранных в зависимости от ее качества таким образом, чтобы на одном из фильтров вырастало не более 30 колоний бактерий группы кишечных палочек. При этом необходимо ориентироваться на результаты предыдущих анализов воды в этих же пунктах (например, для воды после первичного хлорирования могут быть выбраны объемы 10 и 100 см^3; для воды необеззараженной — 0,1; 1 и 10 см^3).

При анализе воды неизвестного качества следует засевать 3—4 десятикратных объема (например, из водопроводной сети можно фильтровать 3; 30; 100; 200 см^3 воды; по этапам очистки — 0,1; 1; 10; 100 см^3 воды).

4.2.2. *Подготовка мембранных фильтров*

Мембранные фильтры № 2 или 3, а также планктонные фильтры № 6, проверенные на отсутствие трещин, отверстий и т. п., помещают по одному на поверхность дистиллированной воды, нагретой до 80 °С в стакане (в чашке для выпаривания, эмалированной кастрюле), и медленно доводят до кипения на слабом огне, после чего воду заменяют и кипятят 10 мин. Смену воды и последующее кипячение повторяют 3—5 раз до полного удаления остатков растворителей из фильтров, после чего они готовы к работе. Подготовленные фильтры сохраняют сухими или в широкогорлой банке с дистиллированной водой. Перед употреблением фильтры стерилизуют кипячением в дистиллированной воде.

Фильтрующие мембраны «Владипор» марки МФА-МА № 5, 6, 7, 8 и 10, визуально проверенные на отсутствие трещин, отверстий, пузырей и т. п., стерилизуют кипячением. При этом во избежание скручивания мембран необходимо строго соблюдать следующие правила. На дно сосуда, в котором проводят кипячение (химический стакан, эмалированная кастрюля и т. п.), помещают «сторож для молока» или нержавеющую сетку (для ограничения бурного кипения). Дистиллированную воду заливают в этот сосуд в небольшом объеме, ограничивающем свободное вращение в ней фильтрующих мембран, но достаточном для того, чтобы предназначенные для стерилизации фильтрующие мембраны были покрыты водой. Дистиллированную воду доводят в сосуде до 80—90 °С, после чего, убавив нагрев, на поверхность воды по одной поме-

щают фильтрующие мембраны. Воду с помещенными в нее мембранами медленно доводят до кипения и кипятят на слабом огне в течение 10—15 мин. Затем воду сливают и заменяют небольшим количеством (чтобы покрыть фильтрующие мембраны) стерильной дистиллированной воды. После этого фильтрующие мембраны готовы к употреблению. При необходимости может быть проведено повторное кипячение фильтрующих мембран.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

4.2.3. *Подготовка фильтровального аппарата к анализу*

Перед посевом воды фильтровальный аппарат стерилизуют фламбированием после обтирания ватным тампоном, смоченным спиртом. После охлаждения на нижнюю часть фильтровального аппарата (столик) кладут фламбированным пинцетом стерильный мембранный фильтр, прижимают его верхней частью прибора (стаканом, воронкой) и закрепляют устройством, предусмотренным конструкцией прибора.

4.2.4. *Фильтрование воды*

В воронку (стакан) фильтровального прибора при соблюдении правил стерильности наливают необходимый объем воды и создают вакуум в приемном сосуде. Фильтруют сначала меньшие, а затем бóльшие объемы воды через один фильтровальный аппарат, меняя каждый раз фильтры. При фильтровании небольших объемов воды (1 $см^3$) в воронку сначала наливают 10 $см^3$ стерильной воды, а затем вносят анализируемую воду.

После окончания фильтрования воронку снимают, фильтр осторожно приподнимают за край фламбированным пинцетом при сохранении вакуума для удаления излишка влаги на нижней стороне фильтра, а затем переносят его, не переворачивая, на среду Эндо, разлитую в чашку Петри, избегая пузырьков воздуха между средой и фильтром. Поверхность фильтра с осевшими на ней бактериями должна быть обращена вверх.

Под каждым фильтром на дне чашки делают надпись с указанием объема профильтрованной воды, даты посева и номера пробы. На одну чашку можно поместить 3—4 фильтра с условием, чтобы фильтры не соприкасались.

4.2.5. Если анализируемая вода содержит большое количество взвешенных веществ или клеток фитопланктона, то ее фильтруют сначала через предварительный фильтр № 6 для удаления крупной взвеси. Для этого фильтр № 6 помещают в фильтровальный прибор над фильтром № 2 или 3. После окончания фильтрования оба фильтра переносят на среду Эндо. При выведении результатов анализа учитывают рост бактерий на обоих фильтрах.

При работе с фильтрующими мембранами «Владипор» марки МФА-МА в качестве предварительной мембраны для удаления крупной взвеси используют мембрану «Владипор» марки МФА-МА № 10, которую помещают в фильтровальный прибор над основной мембраной, задерживающей бактерии группы кишечных палочек. В качестве основной используют фильтрующую мембрану «Владипор» марки МФА-МА № 5, 6, 7 или 8. После окончания фильтрования предварительную и основную мембраны переносят на среду Эндо. При определении результатов анализа учитывают рост бактерий на обеих фильтрующих мембранах.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

4.2.6. Чашки с фильтрами на среде Эндо помещают в термостат дном вверх и инкубируют при (37 ± 0,5) °С в течение 18—24 ч.

4.2.7. *Обработка результатов*

При отсутствии каких-либо колоний на фильтрах или при наличии только пленчатых, губчатых, с неровной поверхностью и краями, плесневых и других нехарактерных для кишечных палочек колоний дают отрицательный результат на присутствие бактерий группы кишечных палочек в анализируемом объеме воды. Анализ на этом этапе заканчивают через 18—24 ч.

4.2.8. При наличии на фильтрах колоний, характерных для кишечных палочек (темно-красных с металлическим блеском и без него, розовых, прозрачных), из нескольких колоний каждого типа готовят мазки, окрашивают по Граму и микроскопируют. Отсутствие в мазках грамотрицательных неспороносных палочек дает отрицательный ответ. Анализ на этом заканчивают через 18—24 ч.

4.2.9. При наличии в мазках грамотрицательных, коротких, полиморфных, не образующих спор палочек (возможны удлиненные нитевидные формы, а также крупные палочки, полярно окрашенные) выполняют оксидазный тест (п. 3.3.15.1).

4.2.10. Наличие активной оксидазы у всех колоний, кроме перечисленных в п. 4.2.7, позволяет дать отрицательный результат.

4.2.11. Отсутствие оксидазы у темно-красных с металлическим блеском и без него (лактозоположительных) колоний позволяет отнести их к бактериям группы кишечных палочек и немедленно дать положительный ответ.

Анализ питьевой воды может быть завершен на этом этапе, если нет других колоний, не обладающих оксидазной активностью.

Анализ воды по этапам очистки заканчивают через 18—24 ч подсчетом этих колоний для вычисления колииндекса.

4.2.12. При наличии на фильтрах розовых и бесцветных колоний с отрицательной оксидазной активностью их подсчитывают и подтверждают принадлежность к бактериям группы кишечных палочек посевом 2—3 изолированных колоний каждого типа в полужидкую среду с глюкозой. Учет проводят через 4—5 ч инкубации при (37 ± 0,5) °С. При образовании кислоты и газа результат анализа считают положительным. При отсутствии кислоты и газа получают отрицательный результат. Анализ заканчивают через 24—28 ч.

При наличии только кислоты пробирки оставляют в термостате для окончательного учета через 24 ч. При отсутствии газообразования через 24 ч получают окончательный отрицательный результат, при наличии газообразования — положительный результат.

4.2.13. *Вычисление колииндекса*

Результат выражают в виде колииндекса, т. е. количества бактерий группы кишечных палочек в 1 $дм^3$ воды. Питьевая вода удовлетворяет требованиям ГОСТ 2874*, если колииндекс не превышает 3.

Колииндекс высчитывают следующим образом: количество бактерий группы кишечных палочек, выросших в анализируемом объеме воды, умножают на 1000 $см^3$ и делят на этот объем воды.

При отсутствии на фильтрах бактерий группы кишечных палочек колииндекс будет меньше той величины, которая была бы определена в случае обнаружения в анализируемом объеме одной клетки кишечной палочки.

---

* На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 51232—98.

Пример 1. При посеве 300 см^3 воды не выросло ни одной колонии. (1·1000) : 300 = 3. Колииндекс менее 3.

При наличии бактерий группы кишечных палочек вычисляют колииндекс, учитывая весь объем анализируемой воды.

Пример 2. При посеве трех объемов воды по 100 см^3 на одном фильтре выросло три колонии бактерий группы кишечных палочек, на двух других нет роста; колииндекс равен (3·1000) : 300 = 10. При посеве 10 и 100 см^3 воды на одном фильтре выросла одна колония, на другом выросло пять колоний; колииндекс равен (6 ·1000) : 110 = 54.

Если на одном из фильтров сплошной рост бактерий и подсчет их невозможен, тогда в расчет принимают тот объем воды, при фильтровании которого на фильтре выросли изолированные колонии.

Пример 3. В 100 см^3 — сплошной рост, в 10 см^3 — 12 бактерий группы кишечных палочек; колииндекс равен (12 ·1000) : 10 = 1200.

При подсчете колииндекса в пробах воды необеззараженной, с большим фекальным загрязнением, когда для анализа профильтровывают объем воды менее 10 см^3 или ее разведения, то для учета выбирают тот фильтр, на котором выросло не менее 10 и не более 30 изолированных колоний кишечных палочек. Количество колоний на нем, относимых к бактериям группы кишечных палочек, пересчитывают на 1 дм^3 с учетом только того объема воды, который профильтрован через этот фильтр.

Если на всех фильтрах получен более густой рост и анализ невозможно повторить, то допускается подсчет колоний на фильтре с наименьшим разведением, но с записью в протоколе исследования и в журнале регистрации.

Результат в виде колииндекса вносят в журнал регистрации и в протокол анализа, где помечают особые обстоятельства, имевшие место при анализе воды (отклонения в температуре инкубации, составе используемых сред, особенно добавки в среду Эндо и т. п.).

Бродильный метод

Сущность метода заключается в посеве определенных объемов анализируемой воды и подращивании при (37 ± 0,5) °С в средах накопления с последующим высевом бактерий на плотную среду Эндо, дифференцировании выросших бактерий и определении наиболее вероятного числа бактерий группы кишечных палочек в 1 дм^3 воды по таблицам.

4.2.14. *Подготовка к анализу:*

а) при исследовании на этапах очистки и обеззараживания засевают 100,0; 10,0; 1,0 и 0,1 см^3 воды;

б) на выходе в водопроводную сеть и в наиболее характерных ее точках засевают три объема по 100,0 см^3, три объема по 10,0 см^3 и три объема по 1,0 см^3.

4.2.15. Указанные в п. 4.2.14 объемы воды помещают во флаконы и пробирки с глюкозопептонной или лактозопептонной средой и индикатором, снабженные поплавками или комочками ваты, погруженными на дно сосуда. Посев 100,0 и 10,0 см^3 воды проводят во флаконы и пробирки соответственно с 10,0 и 1,0 см^3 концентрированной среды; посев 1,0 и 0,1 см^3 воды — в пробирки с 10,0 см^3 среды нормальной концентрации. Посевы инкубируют 24 ч при (37 ± 0,5) °С. Отсутствие помутнения и образования кислоты и газа во флаконах

и пробирках позволяет получить отрицательный результат на наличие бактерий группы кишечных палочек в исследованном объеме воды и закончить исследование через 24 ч.

4.2.16. Из каждого флакона, где отмечены помутнение, кислота и газ, а также помутнение и кислота при использовании глюкозопептонной среды или помутнение при использовании лактозопептонной среды, высевают петлей штрихами на поверхность среды Эндо, разделенной на 3—4 сектора. Посевной материал следует брать с таким расчетом, чтобы получить изолированные колонии. При получении сплошного роста необходимо рассеивать посевной материал на чашку со средой Эндо для выделения изолированных колоний. Чашки помещают крышками вниз в термостат и инкубируют 16—18 ч при (37 ± 0,5) °С.

4.2.17. При отсутствии роста колоний на секторах среды Эндо, а также при наличии пленчатых, губчатых, с неровными краями и поверхностью, плесневых и других нехарактерных для кишечных палочек колоний получают отрицательный результат.

4.2.18. Если при высеве из флаконов и пробирок, где отмечены помутнение, кислота и газ, на секторах среды Эндо выросли темно-красные с металлическим блеском и без него (лактозоположительные) колонии, то их принадлежность к бактериям группы кишечных палочек подтверждают микроскопированием и постановкой оксидазного теста по п. 3.3.15.1.

Наличие грамотрицательных палочек в мазках и отрицательный оксидазный тест позволяют немедленно дать положительный ответ о наличии бактерий группы кишечных палочек в анализируемом объеме воды. Анализ воды по этапам очистки заканчивают учетом результатов по наличию или отсутствию на подтверждающей среде Эндо темно-красных колоний грамотрицательных палочек, не обладающих оксидазной активностью.

4.2.19. При анализе питьевой воды учитывают и те секторы, где выросли только розовые и бесцветные колонии, или где темно-красные колонии оказались оксидазоположительными. В этом случае из двух-трех разного типа колоний каждого сектора приготовляют мазки, окрашивают по Граму и микроскопируют, а также проверяют оксидазную активность по п. 3.3.15.2.

4.2.20. При наличии только грамположительных спорообразующих бактерий получают отрицательный результат.

4.2.21. Наличие активной оксидазы у всех бактерий, высеянных из флаконов или пробирок, кроме перечисленных в п. 4.2.17, позволяет также получить отрицательный результат. Анализ во всех этих случаях заканчивают через 40—42 ч.

4.2.22. При росте на секторах оксидазоотрицательных не окрашивающихся по Граму палочек две-три изолированные колонии разного типа с каждого сектора засеивают в полужидкую среду с глюкозой и инкубируют 4—5 ч при (37 ± 0,5) °С.

При наличии кислоты и газа получают положительный результат. При отсутствии кислоты и газа получают отрицательный результат, анализ заканчивают через 44—48 ч.

При наличии только кислоты пробирки оставляют на 24 ч для окончательного учета. При отсутствии газообразования через 24 ч получают окончательный отрицательный результат, при наличии газа — положительный результат.

Примечание. Допускается высев из пробирок и флаконов проводить на среду Эндо с добавкой молока или желатина, что позволит дифференцировать бактерии группы кишечных палочек от других водных сапрофитов, обладающих протеолитической активностью.

В готовую среду Эндо перед разливкой в чашки помимо 0,2 $см^3$ 10 %-ного спиртового раствора основного фуксина и 0,2 $см^3$ 5 %-ного спиртового раствора розоловой кислоты вводят 10 $см^3$ стерильного снятого молока (можно использовать сухое молоко, приготовленное по прописи на этикетке, или 15 $см^3$ стерильного 30 %-ного водного раствора желатина на 100 $см^3$ среды. При изготовлении среды Эндо следует учитывать воду, вводимую впоследствии с молоком или желатином. Вокруг колоний микробов, обладающих протеолитической активностью, образуются зоны просветления в результате преципитации при выпадении в осадок параказеина или углубления (кратеры) при разжижении желатина. В последнем случае после 16—18 ч инкубации чашки вынимают из термостата и оставляют на 1—2 ч при температуре 20 °С или в холодильнике для образования кратеров.

В этом случае о наличии на секторах среды Эндо бактерий группы кишечных палочек судят по обнаружению колоний грамотрицательных неспороносных палочек, сбраживающих глюкозу до кислоты и газа при (37 ± 0,5) °С и не обладающих протеолитической активностью.

4.2.23. Результат анализа выражают в виде колииндекса (наиболее вероятное число бактерий группы кишечных палочек в 1 $дм^3$ воды), значение которого определяют по таблицам приложения. При анализе питьевой воды на выходе в водопроводную сеть и из нее колииндекс определяют по табл. 1 и 2 приложения. При анализе воды на этапах очистки и обеззараживания колииндекс определяют по табл. 3 приложения.

4.3. Дополнительные исследования на наличие бактерий — показателей свежего фекального загрязнения

При обнаружении бактериального загрязнения воды свыше допустимых норм проводят повторный отбор проб с дополнительным их исследованием на наличие бактерий — показателей свежего фекального загрязнения.

Свежее фекальное загрязнение в воде устанавливают, определяя наличие кишечных палочек (преимущественно Escherichia coli), обладающих способностью ферментировать лактозу до кислоты и газа при (43 ± 0,5) °С в присутствии ингибиторов посторонней микрофлоры.

4.3.1. *Дополнительные исследования при работе методом мембранных фильтров*

Если при повторном исследовании воды обнаружены на фильтрах темно-красные с металлическим блеском и без него (лактозоположительные) колонии бактерий группы кишечных палочек, то параллельно с определением колииндекса эти колонии (но не более 15) засевают в лактозную среду с борной кислотой, предварительно нагретую на водяной бане до (43 ± 0,5) °С. Затем засеянные пробирки вместе с баней переставляют в термостат и инкубируют 24 ч при (43 ± 0,5) °С. Наличие мути и газа указывает на присутствие в воде бактерий — показателей свежего фекального загрязнения. Признаки роста (помутнение) без образования газа во внимание не принимают.

Вместо лактозной среды с борной кислотой можно использовать желчно-лактозную среду с бриллиантовым зеленым, инкубируя посевы при (44,5 ± 0,5) °С.

4.3.2. *Дополнительные исследования при работе бродильным методом*

Если при повторном исследовании на секторах среды Эндо выросли темно-красные колонии с металлическим блеском и без него (лактозоположительные), то по две-три такие колонии с каждого сектора засевают в лактозную среду с борной кислотой или в желчно-лактозную среду с бриллиантовым зеленым. Анализ выполняют по п. 4.3.1.

При необходимости ускоренного анализа высев в эти лактозные среды можно проводить параллельно с посевом на секторы среды Эндо непосредственно из пробирок и флаконов, где обнаружены признаки роста, кислота и газообразование.

Примечание. Дополнительные исследования на наличие бактерий — показателей свежего фекального загрязнения можно выполнять не только во время повторных, но и первичных анализов при резком ухудшении санитарно-бактериологической характеристики воды.

4.3.3. В протоколе анализа необходимо указать значение колииндекса, определяемое по основным методам и свидетельствующее о степени фекального загрязнения воды, а также наличие или отсутствие бактерий — показателей свежего фекального загрязнения, что устанавливают по дополнительным исследованиям.

4.3.4. При наличии на фильтрах или секторах среды Эндо бесцветных, прозрачных, нежных (реже слегка мутноватых) оксидазоотрицательных колоний необходимо их выделить и изучить для установления их принадлежности к патогенным бактериям кишечной группы.

ПРИЛОЖЕНИЕ

ПОЯСНЕНИЯ К ПОЛЬЗОВАНИЮ ТАБЛИЦАМИ

Таблицы 1 и 2 для вычисления результатов анализа водопроводной воды бродильным методом заимствованы из Международного стандарта качества питьевой воды (1964 г.) со следующим добавлением: введены индексы при всех положительных и всех отрицательных результатах и даны титры (т. е. наименьшее количество воды, в котором еще содержится хотя бы одна микробная клетка), которые рассчитаны по формуле

$$\text{Титр} = \frac{1000}{\text{Индекс}}.$$

По таблицам определяют наиболее вероятное значение индекса бактерий группы кишечных палочек, которое соответствует полученным комбинациям положительных и отрицательных результатов. Доверительные границы указывают бактериологу верхний и нижний пределы, в диапазоне которых может колебаться истинное количество бактерий с 95 %-ной вероятностью. При получении результатов анализа доверительные границы не указывают.

Для определения индекса кишечных палочек на этапах очистки и обеззараживания рекомендуется пользоваться табл. 3 в соответствии с однорядовой схемой посева четырех десятикратных объемов воды. При таком ограничении количества анализируемых объ-

емов доверительные границы не могут быть рассчитаны, результаты следует считать ориентировочными.

В случае когда необходимо получить более точные результаты, необходимо применять схему трехрядного посева и пользоваться для расчета табл. 1 с доверительными границами. Наиболее достоверные результаты могут быть получены методом мембранных фильтров.

При анализе воды большей степени загрязнения уменьшают объемы анализируемой воды в 10 или 100 раз с тем, чтобы в последнем объеме получить отрицательные результаты. При этом соответственно увеличивают в 10 или 100 раз индекс и уменьшают в 10 или 100 раз титр.

Из таблицы исключены редко встречающиеся комбинации положительных и отрицательных результатов. Если при анализе они получены более чем в 1 % случаев, то их следует отнести к техническим погрешностям анализа, выявить их причину и анализ повторить.

Таблица 1

Определение индекса бактерий группы кишечных палочек при исследовании 300 см^3 воды

Количество положительных результатов анализа воды из			Коли-индекс	Пределы индекса (доверительные границы)		Колититр
трех флаконов по 100 см^3	трех пробирок по 10 см^3	трех пробирок по 1 см^3		нижний	верхний	
0	0	0	Менее 3	—	—	Более 333
0	0	1	3	0,5	9	333
0	1	0	3	0,5	13	333
1	0	0	4	0,5	20	250
1	0	1	7	1	21	143
1	1	0	7	1	23	143
1	1	1	11	3	36	91
1	2	0	11	3	36	91
2	0	0	9	1	36	111
2	0	1	14	3	37	72
2	1	0	15	3	44	67
2	1	1	20	7	89	50
2	2	0	21	4	47	48
2	2	1	28	10	149	86
3	0	0	23	4	120	43
3	0	1	39	7	130	26
3	0	2	64	15	379	16
3	1	0	43	7	210	23
3	1	1	75	14	230	13
3	1	2	120	30	380	8
3	2	0	93	15	380	11
3	2	1	150	30	440	7
3	2	2	210	35	470	5
3	3	0	240	36	1300	4
3	3	1	460	71	2400	2
3	3	2	1100	150	4800	0,9
3	3	3	Более 1100	—	—	Менее 0,9

Таблица 2

Определение колииндекса бактерий группы кишечных палочек при исследовании 500 см^3 воды

Количество положительных результатов анализа воды из пяти флаконов по 100 см^3	Колииндекс	Пределы индекса (доверительные границы)		Колититр
		нижний	верхний	
0	Менее 2	0	6,0	Более 455
1	2	0,1	12,6	455
2	5	0,5	19,2	196
3	9	1,6	29,4	109
4	16	3,3	52,9	62
5	Более 16	8,0	—	Менее 62

Примечание. Данные таблицы могут быть применены в тех случаях, когда воду на выходе в водопроводную сеть или из нее исследуют в объеме 500 см^3.

Таблица 3

Определение индекса бактерий группы кишечных палочек при исследовании воды по этапам очистки

Объем исследуемой воды, см^3				Колииндекс	Колититр
100	10	1,0	0,1		
—	—	—	—	Менее 9	Более 111
—	—	+	—	9	111
—	+	—	—	10	105
+	—	—	—	23	43
+	—	+	—	94	10
+	+	—	—	230	4
+	+	—	+	960	1
+	+	+	—	2380	0,4
+	+	+	+	Более 2380	Менее 0,4

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

1. УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Государственного комитета стандартов Совета Министров СССР от 29.06.73 № 1612

2. ВЗАМЕН ГОСТ 5215—50 и ГОСТ 5216—50

3. ССЫЛОЧНЫЕ НОРМАТИВНО-ТЕХНИЧЕСКИЕ ДОКУМЕНТЫ

Обозначение НТД, на который дана ссылка	Номер пункта	Обозначение НТД, на который дана ссылка	Номер пункта
ГОСТ 1770—74	2.1	ГОСТ 9656—75	2.1
ГОСТ 2493—75	2.1	ГОСТ 12026—76	2.1
ГОСТ 2874—82	4.2.13	ГОСТ 13739—78	2.1
ГОСТ 3118—77	2.1	ГОСТ 13805—76	2.1
ГОСТ 4159—79	2.1	ГОСТ 17206—96	2.1
ГОСТ 4198—75	2.1	ГОСТ 23932—90	2.1
ГОСТ 4232—74	2.1	ГОСТ 24104—88	2.1
ГОСТ 4233—77	2.1	ГОСТ 25336—82	2.1
ГОСТ 4328—77	2.1	ГОСТ 25706—83	2.1
ГОСТ 5556—81	2.1	ГОСТ 27068—86	2.1
ГОСТ 5962—67	2.1	ГОСТ 29227—91	2.1
ГОСТ 6038—79	2.1	ОСТ 25—11—38—84	2.1
ГОСТ 6672—75	2.1	ТУ 6—09—5303—86	2.1
ГОСТ 6709—72	2.1	ТУ 6—09—5417—88	2.1
ГОСТ 9284—75	2.1	ТУ—17 РСФСР—63—9022—83	2.1
ГОСТ 9412—93	2.1	ТУ 27—31—2939—86	2.1

4. Ограничение срока действия снято Постановлением Госстандарта СССР от 25.12.91 № 2121

5. ИЗДАНИЕ (январь 2008 г.) с Изменениями № 1, 2, утвержденными в июле 1982 г., ноябре 1984 г. (ИУС 10—82, 2—85)

gost.e-ecolog.ru