

КЫРГЫЗ РЕСПУБЛИКАСЫНЫН  
САЛАМАТТЫК САКОО  
МИНИСТРЛИГИ



МИНИСТЕРСТВО  
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ

*номер доп  
2017г*

**БУЙРУК  
ПРИКАЗ**

28.06.17 № 546

Бишкек ш.

**"Об утверждении Методического указания по санитарно-  
бактериологическому контролю воды поверхностных водных  
объектов"**

С целью усиления контроля за санитарно-бактериологическими лабораторными показателями воды поверхностных водных объектов и совершенствования уровня эффективности лабораторных исследований

**ПРИКАЗЫВАЮ:**

1. Утвердить прилагаемое Методическое указание по санитарно-бактериологическому контролю воды поверхностных водных объектов (Приложение 1).
2. Директору ЦПЗиГСОН (Исаков Т.Б.), главным врачам ЦПЗиГСОН обеспечить внедрение сотрудниками санитарно-бактериологических лабораторий территориальных ЦПЗиГСОН и ЦГСОН г.Бишкек бактериологические показатели и методы лабораторных исследований воды поверхностных водных объектов.

Срок: до 31 августа 2017 года.

3. Считать утратившим силу Методические указания по санитарно-микробиологическому анализу воды поверхностных водоемов за № 2285-81.
4. Контроль за выполнением настоящего приказа возложить на заместителя министра Горина О.В.

Министр

Батыралиев Т.А.

**Приложение 1  
к приказу Минздрава  
Кыргызской Республики  
№ 576 от 28 июня  
2017 года.**

**САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ  
ВОДЫ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ**

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ**

<b>Содержание</b>	<b>стр.</b>
<b>1. Область применения</b>	2
<b>2. Санитарно-бактериологические исследования</b>	2
2.1. Отбор, хранение и транспортирование проб	2-4
2.2. Аппаратура, расходные материалы, реактивы, питательные среды	4-7
2.3. Подготовка посуды и материалов	7
2.4. Приготовление питательных сред и реактивов	8-12
2.5. Подготовка к анализу	12
2.6. Определение общих и термотолерантных колиформных бактерий титрационным методом	12-15
2.7. Определение колифагов прямым методом	15-18
2.8. Определение патогенных бактерий семейства Enterobacteriaceae рода Salmonella	18-20
<b>Приложения</b>	20
Таблица 8.1. Расчет наиболее вероятного числа бактерий в 100 мл воды поверхностных водоемов, обеззараженных сточных вод	20
Таблица 8.2 Расчет наиболее вероятного числа бактерий в 100 мл воды водоемов	21-22
Таблица 8.3 Расчет наиболее вероятного числа бактерий в 100 мл воды незагрязненных водоемов	22-23
Таблица 8.4. Схема посева воды из различных объектов при работе титрационным методом	23-24

## **1. Область применения**

1.1. Настоящие методические указания (далее - *МУК*) устанавливают методы санитарно-бактериологического контроля качества воды поверхностных водных объектов в пунктах питьевого, хозяйственно-бытового и рекреационного водопользования, а также у населенных мест в соответствии с постановлением Правительства Кыргызской Республики № 128 от 14 марта 2016 года "Правила охраны поверхностных вод Кыргызской Республики"

1.2. Методические указания предназначены для санитарно-бактериологических лабораторий органов государственной санитарно-эпидемиологической службы, обеспечивающих надзор и контроль за качеством воды поверхностных водоемов, зон рекреации, а также для лабораторий организаций, осуществляющих производственный контроль.

1.3. Санитарно-бактериологический анализ воды действующих источников в черте населенных мест, зонах рекреации осуществляют по следующим показателям: общие и термотолерантныесолиформные бактерии, колифаги, возбудители кишечных инфекций (сальмонеллы).

1.4. При выборе поверхностного источника централизованного питьевого водоснабжения, а также при решении вопроса о необходимости проведения оздоровительных мероприятий или закрытия зоны рекреации, анализ качества воды проводят по более широкому набору микробиологических показателей в соответствии с действующими документами.

## **2. Санитарно-бактериологические исследования**

### **2.1. Отбор, хранение и транспортирование проб**

Отбор проб осуществляют в соответствии с требованиями действующих документов.

Пробы для санитарно-микробиологического анализа отбирают в стерильные емкости.

Для отбора проб воды используют специально предназначенную для этих целей одноразовую посуду или емкости многократного применения, изготовленные из материалов, не влияющих на жизнедеятельность микроорганизмов.

Емкости должны быть оснащены плотно закрывающимися пробками (силиконовыми, резиновыми или из других материалов) и защитным колпачком (из алюминиевой фольги, плотной бумаги) или завинчивающимися крышками. Многократная посуда, в т.ч. пробки, должна выдерживать стерилизацию сухим жаром или автоклавированием.

Стерильные емкости открывают непосредственно перед отбором, удаляя пробку вместе со стерильным колпачком. Во время отбора пробка и края емкости не должны чего-либо касаться. Ополаскивать посуду не следует.

После наполнения емкость закрывают стерильной пробкой, обеспечивающей герметичность и не намокающей при транспортировании (ватные пробки не применять), и стерильным колпачком.

При заполнении емкостей должно оставаться пространство между пробкой и поверхностью воды, чтобы пробка не смачивалась при транспортировании.

Поверхностные пробы отбирают с глубины 10-15 см от поверхности воды или от нижней кромки льда. Придонные пробы отбирают в 30-50 см от дна. Отбор проб следует производить с использованием различных плавсредств, с мостов, помостов и т.п. в местах, где глубина водоемов не менее 0,5 м. Недопустимо производить отбор проб с берега.

Поверхностные пробы отбирают батометром с устройством для закрепления стерильных емкостей. Глубинные пробы отбирают специальным батометром, предназначенным для этих целей.

При отборе одним батометром нескольких проб, его каждый раз стерилизуют фламбированием. Из одной точки в первую очередь отбирают пробы для микробиологических исследований, а затем для других целей. Проруби делают, избегая внесения загрязнения со льда и инструментов. Руки перед отбором проб должны быть обеззаражены.

Для воды, содержащей токсичные металлы (бериллий, ртуть, кадмий, таллий) массовой концентрацией более 0,01 мг/л, в емкости до их стерилизации добавляют 0,3 мл 15%-ного раствора нитрилтриуксусной кислоты на 500 мл пробы.

Отбор проб производит специалист после прохождения инструктажа по технике выполнения отбора проб для микробиологического анализа.

Отобранную пробу маркируют и сопровождают документом отбора проб воды с указанием места, даты, времени забора, фамилии специалиста, отбравшего пробу, и другой информации (температуры воды, погодных условий).

Объем пробы зависит от того, какие микроорганизмы должны быть определены, например, при анализе воды:

- на индикаторные микроорганизмы - не менее 500 мл;
- патогенные бактерии (сальмонеллы) - 1,0 л.

Доставку проб воды осуществляют в контейнерах-холодильниках при температуре (4-10)°С. В холодный период года контейнеры снабжают термоизолирующими прокладками, обеспечивающими предохранение проб от промерзания. В лаборатории, если анализ по каким-либо причинам откладывают, пробы следует поместить в холодильник.

При соблюдении указанной температуры транспортирования и хранения срок начала исследований от момента отбора проб не должен превышать 6 ч. Если пробы нельзя охладить, их анализ проводят в течение 2 ч после забора.

Если не может быть соблюдено время доставки пробы и температура хранения, анализ пробы по бактериологическим показателям не проводят.

Метод отбора и концентрирования колифагов из воды поверхностных водоемов представлен в п. 2.7.

## 2.2. Аппаратура, расходные материалы, реактивы, питательные среды

### 2.2.1. Аппаратура

Термостаты для температурного режима (37±1) °С
Термостат и водяная баня с автоматическим регулированием температуры (44 ± 0,5) °С
Водяная баня для температурного режима (75 ± 5) °С
Водяная баня или термостат для температурного режима 45-49 °С (для питательных сред)
Весы лабораторные общего назначения 4 класса точности, с пределом взвешивания до 1000 г, допустимая погрешность не более 0,1 г
Весы лабораторные общего назначения 4 класса точности, с пределом взвешивания до 200 г, допустимая погрешность не более 0,02 г
Термометр ртутный с диапазоном измерения от 0 до 50 °С с ценой деления шкалы 0,5 °С
Термометр ртутный с диапазоном измерения от 0 до 200 °С с ценой деления шкалы 1 °С
Термометр спиртовой с диапазоном измерения от -50 до +50 °С с ценой деления шкалы 1 °С
РН-метр, обеспечивающий измерение с погрешностью до 0,01
Стерилизатор суховоздушный для температурного режима
Стерилизатор паровой
Холодильники бытовые
Нагревательный прибор для варки питательных сред, либо магнитные мешалки с подогревом до 300 °С
Прибор для счета колоний бактерий
Лупа с двукратным увеличением
Дозаторы для разлива жидких питательных сред и растворов
Дозаторы пипеточные
Облучатель бактерицидный
Оптический стандарт мутности на 10 ед.
Микроскоп стереоскопический
Батометр с устройством для закрепления стерильных емкостей
Батометр специальный для отбора проб с разных глубин
Часы сигнальные или песочные
Микродозаторы переменного объема: на 0,5-10 мкл; 40-200 мкл; 200-1000 мкл
Штатив для микродозаторов 5-поз.
Наконечники на 200, 1000 мкл

### 2.2.2. Посуда лабораторная стеклянная

Пробирки (многоразового или одноразового использования)
---

Цилиндры, вместимостью 100, 250, 500 мл или мензурки, вместимостью 250, 500, 1000 мл
Чашки бактериологические (Петри)
Воронки стеклянные
Пипетки, вместимостью 1, 2, 5, 10 мл с ценой деления 0,1 мл (многоразового или одноразового использования)
Стекла предметные
Стекла покровные
Стеклянные бюретки, диаметром 12-13 мм и высотой 35-40 см
Флаконы стеклянные или пластиковые (одноразовые) для культивирования культур тканей емкостью: 5, 100, 200, 500 и 1000 мл

### **2.2.3. Расходные материалы**

Фольга алюминиевая, колпачки металлические
Горелки газовые или спиртовки
Петли бактериологические
Поплавки бактериологические
Штативы для пробирок
Емкости эмалированные
Пробки различных размеров: силиконовые, резиновые и другие, выдерживающие стерилизацию сухим жаром или автоклавированием
Вата хлопковая медицинская гигроскопическая
Марля медицинская
Маркеры водостойкие
Лейкопластырь
Перчатки резиновые
Шпагат
Бумага плотная для упаковки посуды

### **2.2.4. Химические реактивы**

Бромтимоловый синий
Кислота соляная
Натрий хлористый
Натрий гидрат окиси
Спирт этиловый ректификованный медицинский
Спирт этиловый технический
Глюкоза
Лактоза
$\alpha$ -нафтол *
N,N,N',N'-тетраметил-п-фенилендиамин гидрохлорид или N,N-диметил-п-фенилендиаминсоляно-кислый
Фуксин основной *

Хлороформ **
Калий фосфорно-кислый однозамещенный
Калий фосфорно-кислый двузамещенный
Натрий фосфорно-кислый двузамещенный безводный
Натрий фосфорно-кислый однозамещенный
Бриллиантовый зеленый
Кислота ортофосфорная
Магний хлористый 6-водный
Перекись водорода 33 %
Пара-диметиламинобензальдегид
2,-3,-5-трифенилтетразолий хлорид
Йод кристаллический
Калий йодистый
Кристаллический фиолетовый водорастворимый

Примечание.

Все химические реактивы должны соответствовать квалификации не ниже ЧДА.

\* Вещества обладают канцерогенным и мутагенным действием, работа с ними требует соблюдения мер предосторожности.

\*\* Вещества, используемые для исследований на колифаги.

### **2.2.5. Питательные среды**

Питательная среда для выделения энтеробактерий, сухая (типа Эндо)
Агар микробиологический
Агар питательный сухой
Сухой препарат с индикатором ВР и лактозой или среда Гисса с лактозой
Сухой препарат с индикатором ВР и глюкозой или среда Гисса с глюкозой
Сухой питательный бульон
Пептон сухой ферментативный для бактериологических целей
Системы индикаторные бумажные (СИБ)
- СИБ-лактоза
- СИБ-оксидаза
- СИБ-глюкоза
Питательная среда для накопления сальмонелл, сухая (селенитовый бульон)
Висмут-сульфит агар
SS-агар
Питательная среда для первичной идентификации энтеробактерий (агарКлигlera)
Сыворотки агглютинирующие адсорбированные сальмонеллезные О и Н (сухие)
Сыворотки агглютинирующие адсорбированные поливалентные к сальмонеллам

Примечание.

Допускаются к использованию оборудование, расходные материалы, реактивы, питательные среды, диагностические препараты и системы идентификации с



аналогичными характеристиками, разрешенные к применению для этих целей в установленном порядке.

Питательные среды и биологические препараты зарубежного производства должны иметь международный сертификат качества ISO 9000 или EN 29000.

При использовании следует руководствоваться рекомендациями фирмы-производителя. Все обезвоженные питательные среды должны иметь сертификат соответствия.

### **2.2.6. Тест-культуры микроорганизмов**

Контрольный колифаг MS-2 штамм ВКПМ РН 1505, штамм ВКПМ-3254 E. coli K<sub>12</sub> F<sup>+</sup> Str-г

Штаммы получают во Всероссийской Коллекции Промышленных Микроорганизмов (Государственном НИИ генетики) и (или) в Национальном органе контроля (Государственном НИИ стандартизации и контроля медицинских и биологических препаратов им. Л.А. Тарасевича).

### **2.2.7. Внутренний контроль качества санитарно-бактериологических исследований**

Комплекс выполняемых лабораторией мероприятий и процедур, направленных на обеспечение и контроль стабильности требуемых условий роста микроорганизмов, ведения эталонных бактериальных культур, а также предупреждения неблагоприятного воздействия факторов, возникающих в процессе выполнения анализа и оценки его результатов, изложены в МУ 2.1.4.2899-11 "Организация внутреннего контроля качества санитарно-микробиологического исследования воды".

## **2.3. Подготовка посуды и материалов**

Вся посуда, применяемая для микробиологического анализа, должна быть стерильной.

Правила подготовки посуды и материалов в соответствии с МУК 4.2.2794-10 "Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды".

Срок хранения стерильной посуды не более 30 дней.

Новая стеклянная посуда должна выдерживаться в течение 2 ч в 15-20 %-ном растворе серной кислоты (применяется только химически чистая серная кислота) или в течение 10-12 ч в 4 %-ном растворе соляной кислоты. Работу необходимо проводить с соблюдением правил техники безопасности - в защитных очках, резиновом фартуке и резиновых перчатках. После обработки кислотой посуду тщательно промывают струей горячей воды (не менее 10 раз) и трехкратно - дистиллированной водой, высушивают, монтируют в металлические контейнеры или в бумагу.

Посуду для микробиологического анализа стерилизуют в сухожаровом шкафу в течение 2 ч при 180 °С.

Контроль стерильности посуды проводят в соответствии с МУ 2.1.4.2899-11 "Организация внутреннего контроля качества санитарно-микробиологических исследований воды".

## **2.4. Приготовление питательных сред и реактивов**

### **2.4.1. Общие требования**

При выполнении санитарно-бактериологического анализа следует отдавать предпочтение стандартизованным сухим питательным средам промышленного производства. 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.

Вновь приобретенная партия питательных сред должна пройти внутренний контроль качества в соответствии с МУ 2.1.4.2899-11 "Организация внутреннего контроля качества санитарно-микробиологических исследований воды".

По этому же документу выполняют контроль питательных сред на этапе приготовления, контроль условий и сроков хранения готовых питательных сред, контроль их биологических свойств, характеристик роста бактерий и т.п.

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 в термостате, приоткрывая крышку, до исчезновения конденсата.

### **2.4.2. Растворы для разбавлений**

#### **2.4.2.1. Солевой (физиологический) раствор**

В 1 л дистиллированной воды растворяют 8,5 г хлорида натрия, устанавливают рН с расчетом, чтобы после стерилизации  $\text{pH} = 7,0 \pm 0,1$ . Разливают во флаконы, стерилизуют при температуре  $(120 \pm 2)^\circ\text{C}$  20 мин. Разливают мерно непосредственно перед посевом.

Срок хранения - до 1 месяца при комнатной температуре.

#### **2.4.2.2. Пептонный раствор**

В 1 л дистиллированной воды растворяют при кипячении 1 г пептона. Устанавливают рН с расчетом, чтобы после стерилизации  $\text{pH} = 7,0 \pm 0,1$ . Разливают во флаконы. Стерилизуют при температуре  $(120 \pm 2)^\circ\text{C}$  20 мин. Разливают мерно непосредственно перед посевом.

Срок хранения - до 1 месяца при комнатной температуре.

#### **2.4.2.3. Пептонный солевой раствор**

В 1 л дистиллированной воды растворяют при кипячении 8,5 г хлорида натрия и 1 г пептона. Устанавливают рН с расчетом, чтобы после стерилизации  $\text{pH} = 7,0 \pm 0,1$ .

Стерилизуют при температуре  $(120 \pm 2)^\circ\text{C}$  20 мин. Разливают мерно непосредственно перед посевом.

Срок хранения - до 1 месяца при комнатной температуре.

#### ***2.4.3. Питательный бульон***

Готовят из сухого препарата промышленного производства по способу, указанному на этикетке.

Питательный бульон (десятикратный) для колифагов готовят путем увеличения в 10 раз навески сухого препарата, указанной на этикетке.

Срок хранения - до 1 месяца при комнатной температуре.

#### ***2.4.4. Питательный агар***

Готовят из сухого препарата промышленного производства по способу, указанному на этикетке.

Срок хранения - до 1 месяца при комнатной температуре.

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

Питательный агар для определения колифагов прямым методом при посеве 20 мл пробы на чашку Петри готовят, увеличивая навеску сухого препарата в 2 раза от прописи. Разливают в емкости, автоклавируют при температуре  $(120 \pm 2)^\circ\text{C}$  20 мин.

Полужидкий питательный агар готовят с использованием одной трети навески сухого препарата, указанной на этикетке. Разливают в пробирки и автоклавируют при температуре  $(120 \pm 2)^\circ\text{C}$  20 мин.

Срок хранения - до 1 месяца при комнатной температуре.

Питательный агар со стрептомицином готовят из расчета содержания 100 мкг стрептомицина на 1 мл питательного агара, приготовленного по стандартной прописи. Стерильно на стерильной дистиллированной воде готовят раствор стрептомицина в концентрации 10 мг на 1 мл. В готовый питательный агар, отмеренный по объему и остуженный до температуры  $45-49^\circ\text{C}$ , вносят приготовленный стерильный раствор стрептомицина из расчета 0,1 мл на 10 мл питательного агара. Разливают в пробирки для приготовления скошенного агара.

Срок хранения питательного агара со стрептомицином не более 2 недель. Повторное расплавление питательной среды со стрептомицином запрещается.

#### ***2.4.5. Фуксин-сульфитная среда Эндо***

Готовят из сухого препарата по способу, указанному на этикетке.

Готовую среду охлаждают до  $60-70^\circ\text{C}$  и разливают в чашки Петри.

Если после застывания на поверхности среды заметны следы влаги, чашки перед посевом необходимо подсушить. Срок хранения чашек со средой не более 3-5 суток в темноте, если производителем не оговорены другие сроки.

#### **2.4.6. Лактозопептонная среда**

Растворяют при нагревании в 1 л дистиллированной воды 10 г пептона, 5 г натрия хлористого, 5 г лактозы. После растворения ингредиентов добавляют индикатор (2 мл 1,6 %-ного спиртового раствора бромтимолового синего), устанавливают рН (7,4-7,6), разливают по 10 мл в пробирки. Для приготовления концентрированной лактозопептонной среды все ингредиенты, кроме воды, увеличивают в 10 раз, разливают по 1 мл в пробирки и по 10 мл во флаконы.

Готовую среду стерилизуют при  $(112 \pm 2) ^\circ\text{C}$  12 мин. Срок хранения 10 суток при 2-8  $^\circ\text{C}$ .

#### **2.4.7. Питательные среды для подтверждения способности ферментировать лактозу до кислоты и газа**

##### **2.4.7.1. Полужидкая среда с лактозой из сухого препарата**

Готовят по способу, указанному на этикетке.

Срок хранения не более 2 недель при комнатной температуре. В холодильнике не хранить.

Посев производят уколом до дна пробирки. При образовании кислоты цвет питательной среды изменяется в соответствии с использованным индикатором. При газообразовании газ скапливается или по уколу, или на поверхности, или в толще среды появляются разрывы. При инкубации посевов более 5 ч газ может улетучиться. В таких случаях на присутствие газа указывают оставшиеся в толще среды "карманы" - потемнения среды на месте бывшего пузырька газа.

##### **2.4.7.2. Жидкая лактозопептонная среда**

Готовят в соответствии с п. 2.4.6 с добавлением 1 мл 1,6 %-ного спиртового раствора бромтимолового синего на 1 л среды, разливают по 3-5 мл в пробирки с поплавком или комочком ваты.

Срок хранения 10 суток при 2-8  $^\circ\text{C}$ .

##### **2.4.7.3. СИБ-лактоза**

Готовят по прописи завода-изготовителя.

Примечание. При выборе среды для подтверждения ферментации углеводов целесообразно использовать полужидкие среды, которые позволяют улавливать небольшое количество газа и на ранних стадиях ферментации, что повышает чувствительность метода и скорость получения ответа через 4-6 ч.

#### **2.4.8. Приготовление лактозного бульона с борной кислотой**

Растворяют в 1 л дистиллированной воды 10 г пептона, 12,2 г калия фосфорно-кислого двузамещенного (безводного), 4,1 калия фосфорно-кислого однозамещенного

(безводного), 3,2 г борной кислоты, 5 г лактозы, разливают по 5 мл в пробирки с поплавками или комочками ваты, стерилизуют при  $(112 \pm 2)^\circ\text{C}$  12 мин.

Срок хранения не более 2 недель.

Примечание. Каждую новую партию борной кислоты следует испытывать: при выращивании *E. coli* при температуре  $44^\circ\text{C}$  среда дает положительную реакцию - помутнение и газ.

#### 2.4.9. Селенитовая среда Лейфсона

Готовят из сухого препарата промышленного производства по указанию на этикетке.

Для приготовления селенитового бульона двойной концентрации увеличивают навеску сухого препарата в два раза на тот же объем дистиллированной воды.

#### 2.4.10. Магниева среда

Приготовление 100 мл среды обычной и двойной концентрации.

Готовят отдельно растворы А, Б, В по нижеследующей прописи:

Растворы	Ингредиенты	Обычная концентрация	Удвоенная концентрация
А	Пептон ферментативный	0,42 г	0,84 г
	Натрий хлористый	0,7 г	1,4 г
	Калий фосфорно-кислый однозамещенный	0,15 г	0,3 г
	Дрожжевой экстракт	2,0 мл	4,0 мл
	Вода дистиллированная	89,0 мл	89,0 мл
Б	Магний хлористый кристаллический	3,6 г	7,2 г
	Вода дистиллированная	9,0 мл	9,0 мл
В	Бриллиантовый зеленый 0,1 %-ный водный раствор	0,5 мл	1,0 мл

Ингредиенты растворяют, кипятят в течение 10 мин, затем растворы А, Б и В сливают в одну колбу.

Для посева больших объемов воды можно предварительно готовить навески и растворы ингредиентов среды в расфасованном виде, которые затем вносят в исследуемую воду в соответствии с нижеследующей прописью:

Ингредиенты	Объем пробы воды	
	500 мл	100 мл
Магний хлористый кристаллический	19,5 г	3,9 г
Натрий хлористый	4,0 г	0,8 г
Калий фосфорно-кислый однозамещенный безводный	0,8 г	0,16 г
10 %-ный раствор пептона	25,0 мл	5,0 мл
Дрожжевой экстракт	11,0 мл	2,5 мл

Бриллиантовый зеленый 0,1 %-ный водный раствор	2,5 мл	0,5 мл
--	--------	--------

Все навески можно соединить в одной емкости в виде жидкой кашицы. Уже через 24 ч хранения при комнатной температуре происходит стерилизация концентрата. Дополнительная стерилизация не требуется.

#### **2.4.11. Висмут-сульфит агар**

Готовят из сухого препарата промышленного производства по указанию на этикетке.

#### **2.4.12. Приготовление 'SS-агара**

Готовят из сухого препарата промышленного производства по указанию на этикетке.

#### **2.4.13. Реактивы для оксидазного теста**

##### *Вариант 1.*

Раствор 1%-ный водный тетраметил-п-фенилендиамина гидрохлорида. Готовят перед употреблением.

##### *Вариант 2.*

Реактив N 1. Раствор 1 %-ный спиртовой  $\alpha$ -нафтола.

Реактив N 2. Раствор 1 %-ный водный диметил-п-фенилендиаминадигидрохлорида.

Растворы сохраняют в темных флаконах с притертыми пробками: 1-й - до одного месяца, 2-й - до одной недели. Перед употреблением к трем частям первого раствора добавляют семь частей второго раствора.

Могут быть использованы коммерческие тест-системы для постановки оксидазного теста (СИБ-оксидаза или аналоги). Каждую новую партию и периодически раз в месяц реактивы или тест-системы на оксидазу следует испытывать с тест-культурами микроорганизмов, дающих положительную (*Ps. aeruginosa*).

## **2.5. Подготовка к анализу**

### **2.5.1. Подготовка проб воды**

Перед посевом пробу тщательно перемешивают и фламбируют горящим тампоном край емкости. Используемые пробирки и чашки маркируют.

Перед каждым отбором новой порции воды для анализа пробу перемешивают продуванием воздуха стерильной пипеткой.

### **2.5.2. Приготовление разбавлений**

Для посева объемов воды, меньших, чем 1 мл, используют разбавления анализируемой воды. Перед посевом растворы для разбавления ( п. 2.4.2) разливают по 9 мл в пробирки с соблюдением правил стерильности. Затем в первую пробирку с 9 мл раствора вносят 1 мл анализируемой воды. При этом пипетка не должна быть опущена ниже поверхности воды, чтобы избежать смывания бактерий с наружной стороны. Другой стерильной пипеткой продуванием воздуха тщательно перемешивают содержимое пробирки, отбирают из нее 1 мл и переносят в чашку Петри, что будет соответствовать посеву 0,1 мл анализируемой воды. При необходимости посева меньших объемов, этой же пипеткой переносят 1 мл содержимого первой пробирки в следующую пробирку с 9 мл раствора для разбавления. Другой стерильной пипеткой делают посев 1 мл из второй пробирки, что будет соответствовать посеву 0,01 мл

анализируемой воды. В случаях высокого уровня загрязнения воды разбавление продолжают аналогично, каждый раз меняя пипетку.

Время от момента приготовления разбавлений и заливки питательным агаром не должно превышать 30 мин.

## **2.6. Определение общих и термотолерантных колиформных бактерий титрационным методом**

### **2.6.1. Определение понятия показателей**

Общие колиформные бактерии (ОКБ) - грамотрицательные, оксидазоотрицательные, не образующие спор палочки, способные расти на дифференциальных лактозных средах, ферментирующие лактозу до кислоты и газа при температуре  $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$  в течение 24-48 ч.

Термотолерантные колиформные бактерии (ТКБ) входят в число общих колиформных бактерий, обладают всеми их признаками и, кроме того, способны ферментировать лактозу до кислоты и газа при температуре  $(44 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$  в течение 24 ч.

### **2.6.2. Значение показателей и область применения**

ОКБ - основной нормируемый показатель при оценке качества воды водоемов в местах водозаборов для централизованного водоснабжения, рекреации, в черте населенных пунктов. ОКБ - интегральный показатель степени фекального загрязнения, который включает ТКБ, *E. coli*, и поэтому обладает индикаторной надежностью в отношении возбудителей бактериальных кишечных инфекций.

ОКБ - наиболее чувствительный показатель при выявлении источников фекального загрязнения, в т. ч. небольших.

ТКБ рекомендуется определять одновременно в одном и том же посеве с ОКБ для подтверждения фекального происхождения загрязнения. Уровни ОКБ и ТКБ в воде водоемов, загрязняемых сточными водами, близки, различия находятся в пределах ошибки метода. По мере удаления от источника загрязнения и воздействия факторов самоочищения различия в численности этих групп индикаторов возрастают.

При высоком антропогенном, в частности, химическом загрязнении водоемов, сбросах недостаточно обеззараженных сточных вод, нарушении естественного статуса водоема (зарегулированные водоемы, каналы и т.п.) возможно снижение индикаторного значения лактозоположительных ОКБ и ТКБ в результате их более интенсивного отмирания, чем патогенных (*сальмонеллы*) и условно-патогенных бактерий семейства *Enterobacteriaceae*. Если при этом центром профилактики заболеваний и госсанэпиднадзора установлено несоответствие данных анализа по ОКБ и ТКБ (менее 1000 и 100 КОЕ соответственно) и неблагоприятной санитарно-гигиенической обстановки (нарушение режима в зонах санитарной охраны водопроводов, сброс сточных вод, урбанизации территорий водосбросов и т.п.), следует обратить внимание на рост лактозоотрицательных колоний, определить их принадлежность к бактериям семейства *Enterobacteriaceae* (по отрицательному оксидазному тесту и ферментации глюкозы до кислоты и газа) и включить их в число ОКБ при выдаче результата.

### **2.6.3. Выполнение анализа**

Объем воды для посева выбирают с таким расчетом, чтобы в минимальных объемах или в наибольшем разбавлении получить один или несколько отрицательных

результатов с учетом таблиц расчета наиболее вероятного числа микроорганизмов (НВЧ).

Выбирают схему посева в 2 или 3 параллельных рядах, учитывая при этом, что чем больше повторностей, тем выше точность получаемых результатов.

Каждый объем воды или ее разбавления засевают в лактозопептонную среду, приготовленную в соответствии с п. 2.4.6. Посев 10 мл анализируемой воды вносят в пробирки с 1 мл концентрированной лактозопептонной среды, 1 мл пробы воды и 1 мл из разбавлений вносят в пробирки с 10 мл среды нормальной концентрации.

Посевы инкубируют при температуре  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$  в течение 24 ч.

Полное отсутствие изменения среды позволяет дать отрицательный ответ.

Из посевов в среду накопления, где отмечено помутнение, образование кислоты и газа или только помутнение, производят высев петлей на сектора среды Эндо с таким расчетом, чтобы получить изолированные колонии. Посевы на среде Эндо инкубируют при температуре  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$  в течение 16-18 ч.

#### *2.6.3.1. Определение общих колиформных бактерий*

При наличии в среде накопления помутнения и газообразования, а при высеве на подтверждающую среду типичных для лактозоположительных колоний (темно-красных с металлическим блеском или без него), выполняют оксидазный тест

Полоску фильтровальной бумаги помещают в чистую чашку Петри и смачивают 2-3 каплями реактива для оксидазного теста. Бумажные системы промышленного производства смачивают дистиллированной водой. Подсчитывают типичные колонии каждого типа и по 3-4 - изолированные колонии, из них платиновой петлей или стеклянной палочкой (металлическая петля из нихрома дает ложноположительную реакцию при работе с реактивом - тетраметил-п-фенилендиамином) наносят штрихом на подготовленную фильтровальную бумагу. Реакция считается положительной, если в течение 1 мин появляется сине-фиолетовое окрашивание штриха. При отрицательной реакции цвет в месте нанесения культуры не меняется

При обнаружении оксидазоотрицательных колоний дают положительный ответ на наличие ОКБ в данном объеме пробы.

Наличие ОКБ требуется подтвердить:

- если в среде накопления имеет место сомнительная реакция (небольшое газообразование или только помутнение);
- если на среде Эндо выросли колонии с недостаточно четкими дифференциальными признаками лактозоположительных колиформных бактерий.

В этих случаях:

- проверяют наличие отпечатка на среде Эндо после снятия петлей подозрительных колоний;
- подтверждают способность к газообразованию при посеве изолированных 1-2 колоний каждого типа с каждого сектора на среду с лактозой в соответствии с п. 2.4.7 с последующей инкубацией посевов при температуре  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$  в течение 24 ч.

При отсутствии изолированных колоний проводят рассев на среду Эндо общепринятыми бактериологическими методами.

Отрицательный ответ дают, если:



- в среде накопления нет признаков роста;
- на секторах среды Эндо нет роста;
- на секторах среды Эндо выросли не характерные для колиформных бактерий колонии (прозрачные, с неровными краями, расплывчатые, а также розовые без отпечатков на среде и т. п.);
- все колонии оказались оксидазоположительные;
- если в подтверждающем тесте на среде с углеводом не отмечено газообразования.

#### *2.6.3.2. Определение термотолерантных колиформных бактерий*

Для определения ТКБ работают с секторами среды Эндо, где выросли типичные лактозоположительные колонии, а в среде накопления обнаружено газообразование. Делают посев 2-3 изолированных колоний каждого типа с каждого сектора в пробирки с любой из лактозных сред, приготовленных в соответствии с п. 2.4.7.

Среду перед посевом нагревают на водяной бане или в термостате до 44 °С. Немедленно после посева пробирки помещают в термостат и инкубируют при температуре (44 ± 0,5) °С в течение 24 ч. Допускается просмотр посевов через 4-6 ч.

При образовании газа в среде накопления, росте на среде Эндо лактозоположительных бактерий и выявлении способности этих бактерий ферментировать лактозу до кислоты и газа в течение 24 ч при температуре 44 °С, дают положительный ответ на наличие в этом объеме пробы воды ТКБ. Во всех остальных случаях дают отрицательный ответ.

Для ускорения выдачи ответа на присутствие ТКБ производят высев 1 мл из объемов среды накопления, где отмечено помутнение и газообразование, в пробирки с лактозопептонной средой и поплавком или ваткой по п. 2.4.7.2 и прогретой предварительно до температуры 44 °С. Посевы выдерживают в термостате при температуре (44 ± 0,5) °С в течение 24 ч. При обнаружении кислоты и газа дают положительный ответ.

#### *2.6.4. Учет результатов*

После определения положительных и отрицательных результатов на наличие ОКБ, ТКБ в объемах воды, засеянной в среду накопления, вычисляют наиболее вероятное число (НВЧ) колониеобразующих единиц (КОЕ) в 100 мл по одной из таблиц прилож. 8, соответствующих схеме посева и полученным результатам.

Для расчета выбирают 3 таких последовательных десятикратных разбавления или объема воды, засеянной в среду накопления, в которых получены как положительные, так и отрицательные результаты. Если имеют место сочетания положительных и отрицательных результатов, отсутствующие в таблицах, то при повторении таких сочетаний более чем в 1% случаев следует искать причины в неправильной технике выполнения анализа.

В протоколе анализа указывают: НВЧ КОЕ ОКБ в 100 мл, НВЧ КОЕ ТКБ в 100 мл. Доверительный интервал не указывают.

### **2.7. Определение колифагов прямым методом**

#### *2.7.1. Определение понятия показателя*

Колифаги - бактериальные вирусы, способные лизировать кишечную палочку и формировать зоны лизиса (бляшки) через  $(18 \pm 2)$  ч при температуре  $(37 \pm 1)$  °С на ее газоне на питательном агаре.

### **2.7.2. Значение показателя и область применения**

Колифаги являются нормируемым показателем и предназначены для проведения текущего контроля качества воды поверхностных водоемов, служащих источником для питьевого и хозяйственно-бытового водоснабжения, водоснабжения пищевых предприятий, для рекреационного водопользования, а также в черте населенных мест в отношении возможного вирусного загрязнения.

### **2.7.3. Подготовка тест-культуры *E. coli* K<sub>12</sub>F<sup>+</sup> Str-r**

На всех этапах исследования используют бактериальную взвесь, приготовленную следующим образом: культуру *E. coli* K<sub>12</sub>F<sup>+</sup> Str-r ( п. 2.2.6) засевают в пробирку со скошенным питательным агаром со стрептомицином ( п. 2.4.4). Через  $(18 \pm 2)$  ч инкубации при температуре  $(37 \pm 1)$  °С производят смыв бактерий с косяка 5 мл стерильного солевого раствора (п. 2.4.2.1) и по стандарту мутности готовят взвесь *E. coli* в концентрации  $10^9$  бактериальных клеток в 1 мл.

Допускается в день анализа внести культуру *E. coli* K<sub>12</sub>F<sup>+</sup> Str-r в питательный бульон, при 37 °С инкубировать в течение 4 ч и использовать при внесении в питательный агар, расплавленный и остуженный до  $(44 \pm 1)$  °С.

### **2.7.4. Выполнение анализа**

Объем воды для посева выбирают в зависимости от степени ее загрязнения с таким расчетом, чтобы на чашках выросло до 300 БОЕ, без образования сливных зон. При посеве на чашку Петри 1 мл или соответствующих десятикратных разбавлений используют питательный агар в обычной прописи ( п. 2.4.4), при посеве 100 мл исследуемой воды - питательный агар двойной концентрации ( п. 2.4.4). В зависимости от плотности используемого агара проводят посевы воды по 10 мл на 10 чашек или по 20 мл на 5 чашек. Для освобождения исследуемой воды от сопутствующей бактериальной флоры, ее обрабатывают хлороформом из расчета 1 мл хлороформа на 10 мл воды. Пробу тщательно встряхивают и отстаивают в течение 15 мин при комнатной температуре для осаждения хлороформа. На исследование берут воду над хлороформом. В питательный агар( п. 2.4.4), расплавленный и остуженный до  $(44 \pm 1)$  °С, добавить смыв *E. coli* K<sub>12</sub>F<sup>+</sup> Str-r (п. 2.9.3) из расчета 1,0 мл смыва на каждые 100 мл агара, перемешать. Для контроля культуры *E. coli* на возможную контаминацию ее посторонними колифагами в одну чашку Петри вносят 10 мл стерильной водопроводной воды, прогретой до 20-25 °С, заливают 25 мл приготовленного агара с *E. coli* K<sub>12</sub>F<sup>+</sup> Str-r и осторожно перемешивают.

Исследуемые объемы воды вносят в стерильные чашки Петри и заливают, слегка приоткрывая крышки, 25 мл смеси агара с кишечной палочкой. При посеве 100 мл воды температуру пробы предварительно доводят до 20-25 °С.

Содержимое чашек осторожно перемешивают и оставляют при комнатной температуре до застывания. Чашки с застывшим агаром помещают дном вверх в термостат и инкубируют при температуре  $(37 \pm 1)$  °С в течение  $(18 \pm 2)$  ч.

### **2.7.5. Учет результатов**

Просмотр посевов осуществляется в проходящем свете.

При исследовании 100 мл воды (5 чашек по 20 мл) подсчитывают и суммируют все бляшки, выросшие на чашках Петри.

Если посевная доза была меньше 100 мл, то число колифагов вычисляют по формуле:

$$X = \frac{a \cdot 100}{V}, \text{ где}$$

$a$  - сумма бляшек на чашках;

$V$  - объем исследуемой воды.

При исследовании децинормальных разведений, число колифагов в 100 мл воды вычисляют по формуле:

$$X = \frac{a \cdot p_1 + a \cdot p_2 + a \cdot p_3}{3} 100, \text{ где}$$

$a$  - сумма бляшек на чашке,

$p_{1,2,3}$  - разведение.

3 - количество разведений (в данном примере их 3 -  $p_1, p_2, p_3$ ).

Результаты выражают в бляшкообразующих единицах (БОЕ) на 100 мл пробы воды. В контрольной чашке бляшки должны отсутствовать.

Предварительный учет результатов можно проводить через 5-6 ч инкубации. На этом этапе при наличии четких зон лизиса может быть выдан предварительный ответ о присутствии колифагов в воде.

Окончательный количественный учет прямого посева проводится через  $(18 \pm 2)$  ч. Результаты выражают количеством бляшкообразующих единиц (БОЕ) на 100 мл пробы воды.

Если отмечен сливной рост бляшек и счет затруднителен, то по данным прямого посева может быть выдан качественный результат: "обнаружено в 100 мл воды".

При наличии зон лизиса в контрольной чашке результат исследования считается недействительным.

### **2.7.6. Постановка контролей**

"Отрицательный контроль" - подтверждает отсутствие контаминации фагом питательных сред, лабораторной посуды, оборудования на этапах подготовки и проведения анализа, а также позволяет оценить способность тест-культуры *E. coli* давать равномерный газон.

"Отрицательным контролем" служит исследование стерильной водопроводной воды, проводимое аналогично анализируемой пробе воды. С этой целью, в зависимости от

посевной дозы исследуемой воды, в стерильную чашку Петри вносят от 1 до 20 мл стерильной водопроводной воды, заливают смесью мясопептонного агара с *E. coli* и инкубируют ( $18 \pm 2$ ) ч при  $37^\circ\text{C}$ .

В случае обнаружения бляшек колифагов в чашках с "отрицательным" контролем результаты исследования всей серии проб воды недействительны.

Следует проверить стерильность лабораторного оборудования, посуды, питательных сред, а также повторить контрольный посев на лизогенность тест-штамма *E. coli* K<sub>12</sub> F<sup>+</sup> Str-г.

Для проверки культуры на лизогенность необходимо использовать новую пробирку с культурой, хранящейся на полужидком агаре (п. 2.4.7.1). В стерильную чашку Петри помещают 1 мл бактериальной взвеси и заливают расплавленным и остуженным до  $45-49^\circ\text{C}$  питательным агаром, инкубируют при температуре  $37^\circ\text{C}$  в течение ( $18 \pm 2$ ) ч.

Просмотр посевов осуществляют в проходящем свете. Наличие зон лизиса в контрольном посеве свидетельствует о спонтанно проявившемся свойстве культуры продуцировать фаги или контаминации ее колифагом в процессе работы.

Использование в работе лизогенной культуры запрещается. Необходимо получить новую лиофилизированную культуру (п. 2.2.6).

### **2.7.7. Методика подтверждения фаговой природы лизиса**

В сомнительных случаях необходимо провести контрольный посев на подтверждение фаговой природы лизиса.

С этой целью бактериологической петлей извлекают участок агара с бляшкой колифага, вызывающей сомнение, помещают его в 5 мл питательного бульона, куда добавляют каплю тест-культуры *E. coli* K<sub>12</sub>F<sup>+</sup> Str-г и инкубируют при  $37^\circ\text{C}$  в течение ( $18 \pm 2$ ) ч. Полученную культуру обрабатывают хлороформом или фильтруют через мембранный фильтр и исследуют на наличие фага. Высев осуществляют петлей или пипеткой на поверхность питательного агара, содержащего взвесь *E. coli*, чашки инкубируют в термостате при  $37^\circ\text{C}$  в течение ( $18 \pm 2$ ) ч. Наличие зон лизиса на поверхности агара расценивается как подтверждение наличия фага.

## **2.8. Определение патогенных бактерий семейства Enterobacteriaceae рода Salmonella**

### **2.8.1. Область применения показателя**

В соответствии с требованиями постановления Правительства Кыргызской Республики № 128 от 14 марта 2016 года "Правила охраны поверхностных вод Кыргызской Республики" об отсутствии патогенных микроорганизмов в местах водопользования, контроль воды поверхностных водоемов осуществляют по определению бактерий рода *Salmonella* семейства Enterobacteriaceae и учитывают их отсутствие в 1000 мл воды как наиболее устойчивых из патогенных представителей этого семейства. Анализ на выделение других возбудителей инфекционных заболеваний с водным путем передачи выполняют только по эпидпоказаниям.

Бактерии рода *Salmonella* определяют: при выборе источников водоснабжения и зон рекреации; при установлении влияния выбросов сточных вод на водоем; при

превышении нормативов по ОКБ и ТКБ и в повторно отобранных пробах; при ухудшении санитарно-гигиенической обстановки (появление новых источников загрязнения, при метеорологических условиях, приводящих к смыву загрязнений с прилегающих территорий, экстремальных ситуациях и т.п.), а также при неблагоприятной санитарно-гигиенической и эпидемической ситуации. Частоту контроля определяют в каждом конкретном случае в соответствии с программой центров госсанэпиднадзора.

В водоемах, где уровни индикаторных микроорганизмов в местах водозаборов соответствуют требованиям вышеназванного приложения 1, периодический контроль на обнаружение сальмонелл необходимо предусмотреть: при несоблюдении режимов в зонах санитарной охраны водозаборов, особенно при сбросах недостаточно обеззараженных сточных вод; при химическом загрязнении; в водоемах с нарушенным естественным статусом (водохранилищах, каналах, нижних бьефах ГЭС и др.). При этом необходимо иметь в виду более длительные сроки выживаемости сальмонелл по сравнению с колиформами и, следовательно, снижение их индикаторного значения.

При обнаружении сальмонелл в местах рекреации необходимо рассмотреть вопрос о закрытии пляжа.

При обнаружении сальмонелл в местах водозаборов централизованного питьевого водоснабжения следует принять меры по усилению режимов очистки и обеззараживания, а при контроле их эффективности иметь в виду большую устойчивость сальмонелл в процессах обеззараживания по сравнению с ОКБ и ТКБ.

### **2.8.2. Выполнение анализа**

Для определения сальмонелл исследуют 1000 мл воды водоемов, засевая по 500 мл в две из следующих сред накопления: селенитовый бульон по п. 2.4.9., магниевая среда по п. 2.4.10. и другие апробированные для этих целей среды накопления.

#### **2.8.2.1. Посев воды в селенитовый бульон для определения**

К 500 мл воды добавляют 500 мл селенитового бульона двойной концентрации по п. 2.4.9.

#### **2.8.2.2. Посев воды в магниевую среду**

К 500 мл исследуемой воды прибавляют навески и растворы ингредиентов по прописи п. 2.4.10.

### **2.8.3. Ход анализа**

Посевы воды в среды накопления инкубируют при температуре 37 °С в течение 18-20 ч. При обнаружении роста (помутнения) производят высев бактериологической петлей на две чашки с висмут-сульфитным агаром (п. 2.4.11). Рассев производят одним из методов получения изолированных колоний. Чашки с посевами инкубируют при температуре 37 °С в течение 18-20 ч.

На висмут-сульфитном агаре колонии сальмонелл круглые, черные, с металлическим блеском, с сероватым металлическим ободком вокруг колоний, так называемое "зеркало", зеленые с темным центром и без него, вызывающие потемнение среды под колонией.

При дальнейшей работе с культурами сальмонелл возможно использование SS агара (п. 2.4.12). На SS-агаре колонии сальмонелл вырастают бесцветными. Колонии нежные, гладкие, круглые, слегка выпуклые с ровными краями, блестящие, полупрозрачные, диаметром 1,0-2,0 мм.

В отличие от патогенных бактерий, *E. coli* образуют круглые, выпуклые, гладкие, малинового цвета колонии.

При обнаружении колоний, подозрительных на сальмонеллы, по 4-5 изолированных колоний с каждой чашки снимают для посева в пробирки с комбинированными средами для определения биохимических свойств, подтверждающих принадлежность к родам *Salmonella* (типа Клиглера, Олькеницкого и др.).

Окончательное определение биохимических и серологических свойств сероваров проводят по действующим инструкциям.

## Приложения

### Таблицы расчета наиболее вероятного числа микроорганизмов

Таблица 8.1

#### Расчет наиболее вероятного числа бактерий в 100 мл воды поверхностных водоемов, обеззараженных сточных вод

Число положительных объемов			НВЧ бактерий в 100 мл
двух объемов по 1,0 мл	двух объемов по 0,1 мл	двух объемов по 0,01	
1	2	3	4
0	0	0	менее 50
0	0	1	50
0	0	2	90
0	1	0	50
0	1	1	90
0	1	2	140
0	2	0	90
0	2	1	140
0	2	2	190
1	0	0	60
1	0	1	120
1	0	2	190
1	1	0	130
1	1	1	200
1	1	2	280

1	2	0	210
1	2	1	290
1	2	2	370
2	0	0	230
0	0	0	менее 50
2	0	1	500
2	0	2	950
2	1	0	620
2	1	1	1300
2	1	2	2100
2	2	0	2400
2	2	1	7000
2	2	2	более 24 000

При исследовании других объемов воды, помимо 1; 0,1 и 0,01, соответственно уменьшают или увеличивают НВЧ. Например, при исследовании объемов 10; 1 и 0,1 мл НВЧ уменьшают в 10 раз; при исследовании объемов 0,1; 0,01 и 0,001 мл НВЧ увеличивают в 10 раз; при исследовании объемов 0,01; 0,001 и 0,0001 мл НВЧ увеличивают в 100 раз и т. д.

Если при исследовании воды сделан посев более чем трех десятикратных объемов воды или разбавлений, то учитывают 3 такие последовательные объема, в последнем из которых получен один или несколько отрицательных результатов. Например: 10 мл - обе пробирки положительны, 1 мл - аналогично, 0,1 мл - положительный результат только в одной пробирке, 0,01 мл - отрицательный результат в обеих пробирках. Учитывают объемы 1; 0,1 и 0,01 мл

Таблица 8.2

### Расчет наиболее вероятного числа бактерий в 100 мл воды водоемов

Число положительных результатов из			Нвч бактерий в 100 мл	Число положительных результатов из			НВЧ бактерий в 100 мл
трех объемов по 1 мл	трех объемов по 0,1 мл	трех объемов по 0,01 мл		трех объемов по 1 мл	трех объемов по 0,1 мл	трех объемов по 0,01 мл	
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>	<i>8</i>
0	0	0	менее 30	2	0	0	91
0	0	1	30	2	0	1	140
0	0	2	60*	2	0	2	200*
0	0	3	90*	2	0	3	260*
0	1	0	30	2	1	0	150
0	1	1	61*	2	1	1	200
0	1	2	92*	2	1	2	270*
0	1	3	120*	2	1	3	340*

0	2	0	62*	2	2	0	210
0	2	1	93*	2	2	1	280
0	2	2	120*	2	2	2	350*
0	2	3	160	2	2	3	420*
0	3	0	94*	2	3	0	290
0	3	1	130*	2	3	1	360*
0	3	2	160*	2	3	2	440*
0	3	3	190*	2	3	3	530*
1	0	0	36	3	0	0	230
1	0	1	72	3	0	1	390
1	0	2	110*	3	0	2	640
1	0	3	150*	3	0	3	950*
1	1	0	73	3	1	0	430
1	1	1	110	3	1	1	750
1	1	2	150*	3	1	2	1200
1	1	3	190*	3	1	3	1600*
1	2	0	110	3	2	0	930
1	2	1	150*	3	2	1	1500
1	2	2	200*	3	2	2	2100
1	2	3	240*	3	2	3	2900
1	3	0	160*	3	3	0	2400
1	3	1	200*	3	3	1	4600
1	3	2	240*	3	3	2	11000
1	3	3	290*	3	3	3	более 11000

Примечание.

1)\* Вероятность ниже допустимого уровня.

2) Схему посева табл. 8.2 используют при необходимости получения более точных результатов

Таблица 8.3

**Расчет наиболее вероятного числа бактерий в 100 мл воды незагрязненных водоемов**

Число положительных результатов из			НВЧ бактерий в 100 мл
одного объема по 50 мл	пяти объемов по 10 мл	пяти объемов по 1 мл	
1	2	3	4
1	2	3	4
0	0	0	менее 1
0	0	1	1
0	0	2	2
0	1	0	1
0	1	1	2



0	1	2	3
0	2	0	2
0	2	1	3
0	2	2	4
0	3	0	3
0	3	1	5
0	4	0	5
1	0	0	1
1	0	1	3
1	0	2	4
1	0	3	6
1	2	3	4
1	1	0	3
1	1	1	5
1	1	2	7
1	1	3	5
1	2	0	5
1	2	1	7
1	2	2	10
1	2	3	12
1	3	0	8
1	3	1	11
1	3	2	14
1	3	3	8
1	3	4	21
1	4	0	13
1	4	1	17
1	4	2	22
1	4	3	28
1	4	4	35
1	4	5	43
1	5	0	24
1	5	1	35
1	5	2	54
1	5	3	92
1	5	4	160
1	5	5	более 240

Приложение 8.4

**Схема посева воды из различных объектов при работе титрационным методом**

Объект исследования	Объем засеваемой воды (мл) для определения колиформных бактерий
Водоемы, не загрязняемые сточными водами	2 или 3 повторности по: 10; 1; 0,1
	2 или 3 повторности по: 10; 1; 0,1; 0,01
Водоемы, загрязняемые сточными водами	2 или 3 повторности по: 1; 0,1; 0,01; 0,001
Водоемы в зоне влияния выпусков сточных вод	2 или 3 повторности по: 0,1; 0,01; 0,001; 0,0001; 0,00001

Примечание. Схему посева в 2 или 3 повторностях выбирают в зависимости от необходимой степени точности получаемых результатов.

Схему посева 50 мл, 5 по 10 мл и 5 по 1 мл используют при исследовании воды чистых водохранилищ.