

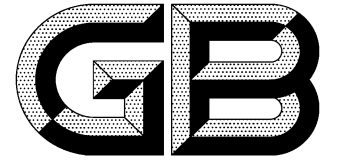
紫红色,具有金属光泽的菌落;  
深红色,不带或略带金属光泽的菌落;  
淡红色,中心色较深的菌落。

10.6 将革兰氏染色为阴性的无芽胞杆菌接种到乳糖蛋白胨培养液中,于 36℃±1℃ 培养 48 h。产酸产气者证实为大肠菌群阳性。

#### 11 检验结果报告

计算滤膜上生长的证实为大肠菌群的菌落数,再乘以 10 即为每 1 000 mL 水样中的大肠菌群数。

GB/T 18204.10—2000



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 18204.10—2000

## 游泳池水微生物检验方法 大肠菌群测定

Methods of microbiological examination for water in swimming pool—  
Determination of *Coliform bacteria*



GB/T 18204.10—2000

版权专有 侵权必究

\*

书号:155066·1-21949

定价: 8.00 元

2000-09-30 发布

2001-01-01 实施

国家质量技术监督局 发布

- 8.2 滤膜:孔径 0.45  $\mu\text{m}$ 。直径根据滤器规格,目前常用的有 35 mm 和 47 mm 两种。
- 8.3 抽滤设备。
- 8.4 无齿镊子。
- 8.5 其他仪器见 GB/T 18204.2—2000 中第 3 章。

## 9 培养基

### 9.1 品红亚硫酸钠培养基

#### 9.1.1 成分:

蛋白胨	10 g
酵母浸膏	5 g
牛肉膏	5 g
乳糖	10 g
琼脂	10~20 g
磷酸氢二钾	3.5 g
无水亚硫酸钠	5 g
5%碱性品红乙醇溶液	20 mL
蒸馏水	1 000 mL

#### 9.1.2 储备培养基的制备

将磷酸氢二钾、酵母浸膏、牛肉膏及蛋白胨加到含有 900 mL 蒸馏水的烧杯中,溶解后调 pH 值到 7.2~7.4,加入琼脂加热溶解,用蒸馏水补足至 1 000 mL,趁热用脱脂棉或绒布过滤,再加入乳糖,混匀后定量分装于烧瓶内,115℃高压灭菌 20 min,置冷暗处备用。

#### 9.1.3 平皿培养基的制备

将上述培养基加热融化,根据培养基的用量,碱性品红乙醇溶液与培养基按 1:50 的比例,用灭菌吸管吸取一定量的碱性品红溶液置于灭菌空试管中。再按 1:200 的比例称取所需的无水亚硫酸钠置于另一个灭菌空试管内,加灭菌水少许使其溶解,在沸水浴中煮沸灭菌 10 min。

用灭菌吸管吸取已灭菌的亚硫酸钠溶液,滴加于碱性品红乙醇溶液至深红色褪成淡粉红色为止。将此亚硫酸钠与碱性品红的混合液全部加入已融化的储备培养基中,并充分混匀(防止产生气泡),立即将此培养基适量倾入灭菌的空平皿内,待其冷却凝固后置冰箱内备用。此培养基于冰箱中保存不宜超过两周,如培养基已由淡红色变成深红色,则不能再用。

### 9.2 乳糖蛋白胨培养液

见 5.1。

## 10 操作步骤

10.1 滤膜灭菌:将滤膜放入含蒸馏水的烧杯中,煮沸灭菌三次,每次 15 min。前两次煮沸后需更换水洗涤 2~3 次,以除去残留溶剂。

10.2 滤器灭菌:用 121℃高压灭菌 20 min 或用点燃的酒精棉球火焰灭菌。

10.3 水样过滤:用无菌镊子夹取灭菌滤膜边缘部分,将粗糙面向上,贴放在滤床上。固定好滤器,将 100 mL 水样(如水样含菌数较多,可减少滤水样量或将水样稀释)注入滤器中,打开滤器阀门,在  $-0.5 \times 10^5$  Pa ( $-0.5$  大气压)下抽滤。

10.4 培养:水样滤完后,再抽气约 5 s,关上滤器阀门,取下滤器。用灭菌镊子夹取滤膜边缘部分,移放在乳糖琼脂分离培养基上,滤膜截留细菌面向上,滤膜应与培养基完全贴紧,两者之间不得留有气泡。然后将平皿倒置,放入 36℃ $\pm$ 1℃恒温箱内培养 18~24 h。

10.5 挑取滤膜上符合下列特征的菌落进行革兰氏染色、镜检。

中 华 人 民 共 和 国  
国 家 标 准

游泳池水微生物检验方法

大肠菌群测定

GB/T 18204.10—2000

\*

中国标准出版社出版发行  
北京复兴门外三里河北街 16 号

邮政编码:100045

网址 www.bzchs.com

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

各地新华书店经销

\*

开本 880×1230 1/16 印张 0.5 字数 6 千字

2005 年 1 月第一版 2005 年 1 月第一次印刷

\*

书号:155066·1-21949 定价 8.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换

版权专有 侵权必究

举报电话:(010)68533533

再加入 1 mL 1.6% 溴甲酚指示剂,充分混匀,分装到含有倒管的试管中,115℃ 高压灭菌 15 min。

### 5.2 伊红美兰琼脂

见 GB/T 18204.3—2000 中第 4 章第 2 节。

### 5.3 革兰氏染色液

见 GB/T 18204.3—2000 中第 4 章第 4 节。

### 5.4 染色法

见 GB/T 18204.3—2000 中第 4 章第 5 节。

## 6 推测性试验

6.1 在 2 个装有 50 mL 三倍浓缩乳糖胆盐培养液的大试管或烧杯内各加入水样 100 mL。

6.2 在 10 支装有 5 mL 三倍浓缩乳糖胆盐培养液的试管里各加入水样 10 mL。

6.3 轻摇试管,使液体充分混匀,置 36℃±1℃ 培养箱中,培养 24 h。

6.4 观察每管是否产气,如不产气则报告为大肠菌群阴性;若有气体产生则为推测性试验阳性,需做进一步的证实试验。

## 7 证实试验

### 7.1 平板分离

自推测性试验阳性管中取一接种环培养液,接种到伊红美蓝琼脂平板上,置 36℃±1℃ 培养箱培养 18~24 h,观察菌落形态,典型的大肠菌群菌落为黑紫色或红紫色,具有金属光泽。

### 7.2 复发酵试验

挑取可疑大肠菌群菌落 1 或 2 个进行革兰氏染色,同时接种乳糖发酵管,于 36℃±1℃ 培养箱中,培养 24 h。

7.3 凡乳糖发酵管最终产酸、产气,革兰氏染色为阴性的无芽胞杆菌,为大肠菌群阳性。记下证实试验的阳性管数,查总大肠菌群(MPN)检索表得出 1 000 mL 水样中总大肠菌群的 MPN 值。

表 1 总大肠菌群(MPN)检索表

100 mL 水量的阳性管(瓶)数 10 mL 水量的阳性管数	0	1	2
	每升水样中总大肠菌群数	每升水样中总大肠菌群数	每升水样中总大肠菌群数
0	<3	4	11
1	3	8	18
2	7	13	27
3	11	18	38
4	14	24	52
5	18	30	70
6	22	36	92
7	27	43	120
8	31	51	161
9	36	60	230
10	40	69	>230

## 第二法 滤膜法

## 8 仪器

### 8.1 滤器。

## 前 言

为贯彻执行《公共场所卫生管理条例》和 GB 9663~9673—1996、GB 16153—1996《公共场所卫生标准》,加强对公共场所卫生监督管理,特制定本标准。本标准中的方法是与 GB 9663~9673—1996、GB 16153—1996 相配套的监测检验方法。

本标准第一法为仲裁法。

本标准首次发布。

本标准由中华人民共和国卫生部提出。

本标准起草单位:天津市卫生防疫站、中国预防医学科学院环境卫生监测所、江苏省卫生防疫站、北京市卫生防疫站、广东省卫生防疫站。

本标准主要起草人:张淑兰、陈西平、路金爽、封幼玲、高晖。