



# 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 *Coli form bacteria*

2000-09-30 发布

2001-01-01 实施

---

国家质量技术监督局 发布

订单号: 0100181113029851 防伪编号: 2018-1113-0416-3630-5660 购买单位: 光泽疾控中心

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  
北京西城区复兴门外三里河北街16号  
邮政编码:100045

<http://www.bzcb.com>

电话:63787337、63787447

2005年1月第一版 2005年4月电子版制作

\*

书号: 155066 • 1-21949

版权专有 侵权必究  
举报电话:(010)68533533

## 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。

本标准为首次发布。

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。

光泽疾控中心 专用

订单号: 0100181113029851 防伪编号: 2018-1113-0416-3630-5660 购买单位: 光泽疾控中心

光泽疾控中心 专用

# 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

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

### 1 范围

本标准规定了游泳池水大肠菌群的测定方法。  
本标准适用于游泳池水大肠菌群的测定。

### 2 引用标准

下列标准所包含的条文,通过在本标准中引用而构成为本标准的条文。本标准出版时,所示版本均为有效。所有标准都会被修订,使用本标准的各方应探讨使用下列标准最新版本的可能性。

GB/T 18204.2—2000 公共场所茶具微生物检验方法 大肠菌群测定

### 3 定义

本标准采用下列定义。

大肠菌群 *coliform bacteria*

指一群在  $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  培养 24 h 能发酵乳糖、产酸、产气的需氧和兼性厌氧的革兰氏阴性无芽胞杆菌。

### 第一法 多管发酵法

### 4 仪器

见 GB/T 18204.2—2000 中第 3 章。

### 5 培养基和试剂

#### 5.1 乳糖蛋白胨培养液

5.1.1 成分:	蛋白胨	10 g
	牛肉膏	3 g
	乳糖	5 g
	氯化钠	5 g
	1.6%(V/V)溴甲酚紫乙醇溶液	1 mL
	蒸馏水	1 000 mL

三倍浓缩乳糖蛋白胨培养液按上述乳糖蛋白胨培养液浓缩三倍配制。

5.1.2 配法:将蛋白胨、牛肉膏、乳糖及氯化钠置于 1 000 mL 蒸馏水中加热溶解,调 pH 到 7.2~7.4。

国家质量技术监督局 2000-09-30 批准

2001-01-01 实施

订单号: 0100181113029851 防伪编号: 2018-1113-0416-3630-5660 购买单位: 光泽疾控中心

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

自推测性检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。

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  $36^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$  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。

紫红色,具有金属光泽的菌落;



## 版权声明

中国标准在线服务网([www.spc.org.cn](http://www.spc.org.cn))是中国质检出版社委托北京标科网络技术服务有限公司负责运营销售正版标准资源的网络服务平台,本网站所有标准资源均已获得国内外相关版权方的合法授权。未经授权,严禁任何单位、组织及个人对标准文本进行复制、发行、销售、传播和翻译出版等违法行为。版权所有,违者必究!

### 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。

中国标准在线服务网  
<http://www.spc.org.cn>

标准号: GB/T 18204.10-2000  
购买者: 光泽疾控中心  
订单号: 0100181113029851  
防伪号: 2018-1113-0416-3630-5660  
时 间: 2018-11-13  
定 价: 19元



GB/T 18204.10-2000

版权专有 侵权必究

\*

书号:155066·1-21949