



中华人民共和国城镇建设行业标准

CJ/T 141~150—2001

城市供水水质检验方法标准 及编制说明和研究报告

2001-07-17发布

2001-12-01实施

中华人民共和国建设部 发布

一、城市供水水质检验方法标准

**Standard methods for the examination of
water of urban water supply**

前 言

本标准由建设部标准定额研究所提出。

本标准由建设部给水排水产品标准化技术委员会归口。

本标准由国家城市供水水质监测网北京监测站负责起草。

本标准起草人：徐欣、金红。

本标准参加验证单位：上海监测站、武汉监测站、天津监测站、广州监测站、深圳监测站及顺德监测站（省级）。

中华人民共和国城镇建设行业标准

城市供水 粪性链球菌的测定

CJ/T 148—2001

Urban water supply—
Detection and enumeration of fecal streptococcus

1. 发 酵 法

1. Method by enrichment in liquid medium

1 范围

本标准规定了用发酵法测定城市供水及其水源水中的粪性链球菌。

本标准适用于城市供水及其水源水中粪性链球菌的测定。

2 方法

将水样接种于含叠氮化钠的葡萄糖液态培养基中,叠氮化钠可抑制一般革兰氏阴性细菌的生长,能在此种培养液中生长的菌体可认为是粪性链球菌推测试验阳性。取推测试验为阳性的培养液移至 Pfrizer 培养基上做确证试验,能在 Pfrizer 培养基上有棕色晕轮的棕黑色菌落生成,则表示粪性链球菌的证实试验为阳性。

3 试剂和材料

3.1 叠氮化物葡萄糖液态培养基

3.1.1 成分(单强度)

牛肉膏	4.5 g
胰胨或聚胨	15 g
叠氮化钠	0.2 g
葡萄糖	7.5 g
氯化钠	7.5 g
蒸馏水	1 L

3.1.2 制法

将上述各成分于蒸馏水中加热溶解,调节 pH 值使其灭菌后为 7.2 ± 0.1 ,分装于试管内,高压灭菌器 121°C 灭菌 15 min。上述各成分取 2 倍量为双倍强度培养基。

3.2 Pfrizer 选择性肠球菌琼脂培养基

3.2.1 成分

蛋白胨	20.0 g
酵母膏	5.0 g
3 号胆盐	10.0 g
氯化钠	5.0 g

柠檬酸钠	1.0 g
七叶苷	1.0 g
柠檬酸铁铵	0.5 g
叠氮化钠	0.25 g
琼脂	15.0 g
蒸馏水	1 L

3.2.2 制法

将上述各成分于蒸馏水中加热溶解,调节 pH 值使其灭菌后为 7.2 ± 0.1 ,分装于试管内,121℃ 灭菌 15 min。

4 仪器

4.1 试管:18 mm×180 mm。

4.2 刻度吸管:1 mL、10 mL。

4.3 恒温培养箱。

4.4 高压蒸气灭菌器。

4.5 酒精灯。

4.6 量筒。

4.7 培养皿。

4.8 冰箱。

5 测定步骤

5.1 推测试验

5.1.1 接种不同量的被检水样于一组叠氮化物葡萄糖液态培养基中;接种 1 mL 或更少的水样于单倍强度的液态培养基 10 mL 中,接种 10 mL 的水样于双倍强度的液态培养基 10 mL 中,接种量的多少与数目应依水样的特性而有所变化,接种量一般为 1 mL 的十进倍数。

5.1.2 接种过的试管应在 $35\text{C} \pm 0.5\text{C}$ 的恒温培养箱内培养,24 h±2 h 后检查每一支试管是否有浑浊,如果浑浊不明显,应继续培养到 48 h±3 h 后进行检查。

5.2 确信试验

经过 24 h 或 48 h 培养而显示浑浊的所有的叠氮化物葡萄糖液态培养基试管要进一步做确信试验。

从推测试验为阳性的试管内取一些培养液,划线转移到培养皿中,其内盛有 Difco 选择性肠球菌琼脂培养基(3.2),培养皿在 $35\text{C} \pm 0.5\text{C}$ 倒置培养 24 h±2 h,具有棕色晕轮的棕黑色菌落生成则显示粪性链球菌确实存在。

6 最大可能数(MPN 值)的计算及记录

根据确信试验的阳性管数查最可能数(MPN)表(见表 1),即可得 100 mL 水样中的粪链球菌的最可能数。

对表中未被列入的组合,以及当试管数和稀释情况不同时,可用简单公式(1)计算:

$$MPN/100\text{ mL} = \frac{\text{阳性试管数} \times 100}{\sqrt{\text{阳性试管中的水样毫升数} \times \text{全部试管中的水样毫升数}}} \quad \dots\dots(1)$$

表 1 最可能数(MPN)表

(接 5 份 10 mL 水样、5 份 1 mL 水样、5 份 0.1 mL 水样时,不同阳性及阴性
情况下 100 mL 水样中细菌数的最可能数和 95%可信限值)

出现阳性份数			每 100 mL 水样中 细菌的 最可能数	95%可信限值		出现阳性份数			每 100 mL 水样中 细菌的 最可能数	95%可信限值	
10 mL 管	1 mL 管	0.1 mL 管		下 限	上 限	10 mL 管	1 mL 管	0.1 mL 管		下 限	上 限
0	0	0	<2			4	2	1	26	9	78
0	0	1	2	<0.5	7	4	3	0	27	9	80
0	1	0	2	<0.5	7	4	3	1	33	11	93
0	2	0	4	<0.5	11	4	4	0	34	12	93
1	0	0	2	<0.5	7	5	0	0	23	7	70
1	0	1	4	<0.5	11	5	0	1	34	11	89
1	1	0	4	<0.5	11	5	0	2	43	15	110
1	1	1	6	<0.5	15	5	1	0	33	11	93
1	2	0	6	<0.5	15	5	1	1	46	16	120
2	0	0	5	<0.5	13	5	1	2	63	21	150
2	0	1	7	1	17	5	2	0	49	17	130
2	1	0	7	1	17	5	2	1	70	23	170
2	1	1	9	2	21	5	2	2	94	23	220
2	2	0	9	2	21	5	3	0	79	25	190
2	3	0	12	3	28	5	3	1	110	31	250
3	0	0	8	1	19	5	3	2	140	37	310
3	0	1	11	2	25	5	3	3	180	44	500
3	1	0	11	2	25	5	4	0	130	35	300
3	1	1	14	4	34	5	4	1	170	43	190
3	2	0	14	4	34	5	4	2	220	57	700
3	2	1	17	5	46	5	4	3	280	90	850
3	3	0	17	5	46	5	4	4	350	120	1 000
4	0	0	13	3	31	5	5	0	240	68	750
4	0	1	17	5	46	5	5	1	350	120	1 000
4	1	0	17	5	46	5	5	2	540	180	1 400
4	1	1	21	7	63	5	5	3	920	300	3 200
4	1	2	26	9	78	5	5	4	1 600	640	5 800
4	2	0	22	7	67	5	5	5	≥2 400		

2. 滤膜法

2. Method by membrane filtration

1 范围

本标准规定了用滤膜法测定城市供水中共性链球菌。

本标准适用于城市供水及其水源水中共性链球菌的测定。

2 方法

将水样用孔径 $<0.45\ \mu\text{m}$ 的滤膜过滤,并将滤膜移至 KF 链球菌琼脂培养基上,于 $35\text{C} \pm 0.5\text{C}$ 恒温箱中培养 48 h,如果有红色或粉红色菌落生长,需将菌落接种于胰心浸萃琼脂培养基上做进一步的

确信试验,如过氧化氢酶反应为阴性并能在 45℃ 脑-心浸萃琼脂培养基上生成菌落,则证实粪性链球菌的存在,其检测结果为阳性。

3 试剂和材料

3.1 KF 链球菌琼脂培养基

3.1.1 成分

3 号脉胨或聚胨	10.0 g
麦芽糖	20.0 g
乳糖	1.0 g
酵母浸膏	10.0 g
氯化钠	5.0 g
叠氮化钠	0.4 g
甘油磷酸钠	10.0 g
琼脂	20.0 g
蒸馏水	1 L

3.1.2 制法

将上述成分溶解于蒸馏水中,置于沸水浴内加热,以溶解其中的琼脂,待完全溶解后,再加热 5 min,然后冷却,温度降到 50℃ 或 60℃ 时,于 100 mL 培养基内再加 1 mL 的 1% 的氯化三苯基四氮唑的无菌水溶液(用 0.22 μm 滤膜过滤除菌,用 10% 的 NaCO₃ 溶液将 pH 调到 7.2)。培养基于 45℃~50℃ 存放,到灌入平皿之前不可超过 4 h,有培养基的平皿应在 2℃~10℃ 保存。过 30 天不用,弃去。

3.2 脑-心浸萃液态培养基

3.2.1 成分

幼牛脑的浸萃	200 g
葡萄糖	2.0 g
牛心的浸萃	250 g
NaCl	5.0 g
脉胨	10.0 g
Na ₂ HPO ₄	2.5 g
蒸馏水	1 L

3.2.2 制法

将上述各成分于蒸馏水中加热溶解,调节 pH 值使其灭菌后为 7.4。

3.3 脑-心浸萃琼脂培养基

脑-心浸萃琼脂培养基除了含有与上述脑-心浸萃液态培养基相同的成分外,再加入 15.0 g 的琼脂,灭菌后的 pH 值应为 7.4。分装到试管中做成斜面培养基。

4 仪器

4.1 滤器。

4.2 滤膜:孔径 0.45 μm 和 0.22 μm,直径根据滤器规格而定,常用的有 3.5 cm 和 4.7 cm 两种。

4.3 抽滤设备。

4.4 无齿镊子。

4.5 显微镜(10~15 倍)。

4.6 其他仪器同多管发酵法。

5 测定步骤

5.1 推测试验

5.1.1 水样过滤:根据水质情况决定过滤水样量,水样量以滤过一张无菌滤膜后能产生 20 到 100 个菌落为宜。滤膜经过滤后应直接转移到培养基上,避免在滤膜和培养基之间夹留着空气泡。

5.1.2 培养:将培养皿倒置,在 $35\text{C} \pm 0.5\text{C}$ 培养 48 h。

5.1.3 计数:粪性链球菌菌落在滤膜上呈现大小不等的红色或粉红色菌落,可用一台低倍(10~15 倍)的双筒、广野的解剖显微镜或其他功效相同的光学器械,计数每 100 mL 水样中的粪性链球菌落数。

5.2 确信试验

5.2.1 从滤膜上挑取典型的菌落,接种到脑-心浸萃琼脂培养基斜面上,在 $35\text{C} \pm 0.5\text{C}$ 培养 24 h 到 48 h。如果有菌落生长,则继续以下 5.2.2 和 5.2.3 的步骤。

5.2.2 以接种环从脑-心浸萃琼脂培养基斜面上挑取一典型菌落到一片清洁的载玻片上,加几滴新鲜的 3%过氧化氢到载玻片的涂抹菌液上,如果没有气泡发生,就显示过氧化氢酶反应为阴性,则菌落可视为粪性链球菌,则继续如下的确信过程。如果有气泡发生,则过氧化氢酶反应为阳性,因此菌落不属于粪性链球菌,确信试验到此即可停止。

5.2.3 以接种环从脑-心浸萃琼脂培养基上转移一典型菌落到脑-心浸萃液态培养基内,在 45C 培养 48 h。此外,也同时转移一典型菌落培养到胆汁液态培养基中,在 35C 培养 3 天。胆汁液态培养基由 40 mL 无菌的 10%牛胆液加入 60 mL 无菌的脑-心浸萃液态培养基中配成。

5.2.4 转移到上述培养基后,若菌落能得到繁殖,则表示结果为阳性,证实确实存在粪性链球菌。

5.3 结果计数

$$CFU/100\text{ mL} = N/V \times 100 \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中: N ——经证实的粪性链球菌菌落数;

V ——过滤的水样体积, mL。