

国际  
标准

ISO  
9308-2

第二版

2012-07-01

---

---

水质——大肠埃希氏菌和大肠菌群检测

第二部分

最大可能数方法



Reference number  
ISO 9308-2:2012(E)

© ISO 2012

## 目录

|                           |    |
|---------------------------|----|
| 前言 .....                  | 3  |
| 简介 .....                  | 4  |
| 1. 范围 .....               | 5  |
| 2. 引用标准 .....             | 5  |
| 3. 术语和定义 .....            | 6  |
| 4. 原则 .....               | 6  |
| 5. 设备和玻璃器皿 .....          | 6  |
| 6. 培养基和试剂 .....           | 7  |
| 7. 采样 .....               | 7  |
| 8. 操作 .....               | 7  |
| 9. 结果 .....               | 8  |
| 10. 检测报告 .....            | 10 |
| 11. 质量控制 .....            | 10 |
| 附件 A 进一步微生物信息 .....       | 11 |
| 附件 B 封口机和结果计算 .....       | 12 |
| 附件 C Colilert-18 组成 ..... | 17 |
| 附件 D 验证实验 .....           | 19 |
| 生物学 .....                 | 20 |

## 前言

国际标准化组织 (ISO) 是一个世界性的国家标准机构联合会(ISO 成员机构)。制定国际标准的工作通常是通过 ISO 技术委员会进行。任何一个对技术委员会建立的主题感兴趣的成员均有权利委派代表参加该委员会。国际组织、政府和非政府,与 ISO 存在联络的单位或组织,也可以参加工作。ISO 与国际电工委员会(IEC)在所有电工技术标准化事务有密切合作。

国际标准的起草制定符合 ISO / IEC 指示, 第 2 部分。

技术委员会的主要任务是制定国际标准。草案由技术委员会通过的国际标准提交各成员团体投票表决。出版一个国际标准要求得到至少 75%的成员团体投票通过。

ISO 9308 - 2 是由技术委员会 ISO / TC 147 水质、微生物方法小组 4 SC 准备。

第二版取消和取代了第一版(ISO 9308 - 2:1990), 且已经在技术上经过修改。

ISO 9308 由以下几个部分组成, 标题 水质——大肠埃希氏菌和大肠菌群检测:

—第 1 部分: 滤膜法检测低含菌量的水

—第 2 部分: 最大可能数法

—第 3 部分: 小型化方法(最大可能的数)检测地表水和废水中的大肠埃希氏菌和大肠菌群

## 简介

粪便污染是影响水体水质的重要因素，是对人类健康的重大风险。大肠埃希氏菌主要来自于人类及其它温血动物的粪便，检测水中的大肠埃希氏菌可以指示水体是否被粪便污染。由于并不是所有的大肠菌群都来自于肠道，部分大肠菌群存在于土壤或者表层淡水中，所以检测水中的大肠菌群用以解释水体是否被粪便污染比较困难。虽然检测水体中的大肠菌群不是粪便污染存在的证据，但是也可以指示水质处理措施的成效或者提示此类细菌是否进入到了供水系统。

国际标准化组织声明此文件可能会使用到 Colilert-18 以及 Quanti-Tray 的专利。

ISO 不关心专利的范围及有效期。

专利权持有人已向 ISO 说明，他/她愿意免费或在合理和非歧视的全球应用条件下协商许可。在这方面，专利持有人已在 ISO 登记。信息可从以下获得：

IDEXX Laboratories, Inc.

One IDEXX Drive Westbrook,

Maine 04092 USA

ISO (<http://www.iso.org/patents>) 和 IEC (<http://patents.iec.ch>) 将所有相关专利的数据都放到了网上的数据库。使用者可以查阅专利的日期信息。

## 水质——检测大肠埃希氏菌和大肠菌群

### 第二部分

#### 最大可能数法

**警告**——使用此方法的实验人员必须熟悉正确的实验室操作。这一国际标准并不会罗列所有的安全问题，文件提到的也是使用中可能会遇到的问题，实验人员有责任建立合适的安全和健康条例来保证实验操作符合当地国家的规章制度。

**重要**——选择合适且经过考核的操作人员进行这一部分的实验操作非常重要。

### 1 范围

ISO 9308 的这部分具体介绍了一种枚举水中大肠埃希氏菌和大肠菌群的方法。该方法基于液体培养基中目标微生物的生长并通过 MPN 表计算水中“最大可能的数字”。这种方法适用于所有类型的水，包括那些含有大量悬浮物和较高数量异养细菌的水质。然而，它不能用于检测海水中的大肠菌群，当采用此方法检测海水中的大肠埃希氏菌时，必须用无菌水进行 10 倍的稀释。尽管该方法已被证明可以很好地适用于一些低盐度的海水。但是仍然缺乏无需稀释即可检测的数据支持。

这种方法是基于检测能够产生 $\beta$ -D-葡萄糖醛酸酶的大肠埃希氏菌。一些肠出血性大肠埃希氏菌的菌株由于不能表达此种酶而不能被检测。另外，仍有一小部分的大肠埃希氏的菌株不表达 $\beta$ -D-葡萄糖醛酸酶。

选择用于检测和确认大肠菌群以及大肠埃希氏菌可被视为是一个连续的部分。对于某个样品的确认取决于水质，同时也取决于污染的原因。ISO 9308 此部分描述的方法，提供了一个确认的结果而不需要对阳性的结果进行确认。

注意：尽管这种方法提供了 MPN 表用于计数，但是此培养基同样适用于标准的 MPN 表。

### 2. 引用标准

下列文件中的部分或全部被本文档引用，这些标准的应用是不可或缺的。对于引用的有日期的标准，只限于引用的版本。若引用的文件没有日期，则自动引用最新版的文件(包括任何修改)。

ISO 8199 水质——培养基检测微生物通用指南

ISO / IEC Guide 2:2004、标准化和相关活动——通用词汇

ISO 19458 水质——微生物分析采样过程

### 3. 术语和定义

以下术语和 ISO/IEC Guide 2 中的定义适用于本标准。

#### 3.1 大肠菌群

能够表达  $\beta$ -D-半乳糖苷酶的肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)细菌。

#### 3.2 大肠埃希氏菌

能够表达  $\beta$ -D-半乳糖苷酶和  $\beta$ -D-葡糖醛酸酶的肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)细菌。

### 4. 原则

将一个干燥的 Snap 包装的培养基加入到 100mL 样品, 或者是稀释后的样品中。轻轻混匀样品和培养基以保证充分混合, 保证培养基充分溶解。然后将样品和培养基倒入 Quanti-Tray<sup>1)</sup> (51 孔定量盘) 或 Quanti-Tray/2000<sup>1)</sup> (97 孔定量盘) 中, 两种规格的定量盘分别可以检出每 100mL 水样中最多 201 个或者 2419 个目标微生物。另外, 定量盘需要在封口机上封口, 然后培养在  $(36 \pm 2) ^\circ\text{C}$  培养箱中, 18-22h。

培养结束后, 将样品与比色盘对照, 样品的颜色与比色盘相同或者比比色盘深的为大肠菌群阳性, 显示黄色同时发出荧光的为大肠埃希氏菌阳性。

通过统计计数的表格, 或者小型的计算机软件, 即可查出 100mL 水样中的大肠菌群以及大肠埃希氏菌的数量。

注意: 肉眼即可检测黄色反应, 黄色产生于邻硝基酚半乳糖苷与  $\beta$ -D-半乳糖苷酶的反应。荧光需要在 365nm 紫外灯下进行观察, 4-甲基伞形酮- $\beta$ -D 葡萄糖醛酸苷(MUG)与  $\beta$ -D-葡糖醛酸酶反应可以产生荧光。

### 5. 设备和玻璃器皿

使用微生物实验室设备, 特别是以下设备和器皿:

#### 5.1 高压蒸汽灭菌器

应按照 ISO 8199 中的说明对设备和玻璃器皿进行灭菌消毒。

**5.2 热烘箱**，干热灭菌。

**5.3 保温箱**，恒温控制在 $(36\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 。

**5.4 Quanti-Tray<sup>1</sup>**封口机。

**5.5 无菌广口容器**，容量至少 110 毫升。

**5.6 Quanti-Tray<sup>2</sup>**比色盘。

**5.7 紫外灯**，365nm。

**5.8 Quanti-Tray<sup>2</sup>** (51 孔定量盘) 或 **Quanti-Tray / 2000<sup>2</sup>** (97 孔定量盘) 见附件 B。

## **6 培养基和试剂**

### **6.1 基本的材料**

此方法采用的 Colilert-18<sup>3</sup>这一培养基是基于固定底物酶底物技术原理，用于检测 100mL 样品的提前分配在 Snap 包装即用的粉末状培养基。每个 Snap 包装中包含对于一个单独检测需要的足够的培养基 (2.8g)。培养基需要储存在适宜的温度 ( $2^{\circ}\text{C}$  -  $25^{\circ}\text{C}$ )，避免阳光直射，而且需要在包装上标记的保质期内使用。

培养基由 2 部分组成，详细成分详见附件 C

### **6.2 稀释**

对于采用 Colilert-18 培养基检测且需要稀释的水样，应该采用无菌的，无抑制剂或氧化剂的水 (去离子或自来水)。使用含有缓冲液成分以及有盐度的或者含有蛋白胨成分的稀释水会干扰此检测。

### **6.3 消泡剂**

消泡剂 B 是一个具有 10%活性，水溶性分散硅胶。

## **7 采样**

采集及运输样品按照 ISO 19458 进行。

## **8 过程**

## 8.1 样品准备

按照 ISO 19458 中规定, 样品应该在 $(5\pm 3)^{\circ}\text{C}$  温度条件下运输和储存, 并在采集当天的 18 h 内进行分析。特殊情况下, 样品最长可在 $(5\pm 3)^{\circ}\text{C}$  温度条件下保存 24 h。

## 8.2 培养基

将一个 Snap 包装的 Colilert<sup>4)</sup>-18 培养基 (2.8 g) 加入到 100mL 样品或稀释后的样品中。当培养基完全溶解后, 将样品和培养基的混合液倒入到 Quanti-Tray<sup>4)</sup> (51 孔定量盘) 或 Quanti-Tray<sup>4)</sup>/2000 (97 孔定量盘) 中。然后用 Quanti-Tray<sup>4)</sup> 封口机封口。海水样本应用无菌水至少稀释 10 倍。

为了减少孔格中的气泡, 样品可以加入到加有消泡剂 B 的灭菌容器中, 或者将消泡剂 B 用滴瓶添加到每个取样瓶中。采用任何一种添加消泡剂的方式都是允许的。

另外, Colilert<sup>4)</sup>-18 和水样的混合物可以分配到传统的无菌的 MPN 管中进行检测 (例如:  $1\times 50\text{mL}$  和  $5\times 10\text{mL}$ )。如果直接将一个 100 mL 的样品进行培养, 则可以作为定性检测大肠菌群和大肠埃希氏菌的方法。如果采用后两种方法, 样品管需要在  $(36\pm 2)^{\circ}\text{C}$  条件下预热 20 分钟再进行培养。

同时建议检测海水样品前, 需要将海水用无菌水稀释至少 10 倍。在某些地区, 海水的盐度足够低可以无需稀释即可检测。如果采用此程序进行检测, 需要验证数据, 海水的盐度变化极大, 实验室有责任去验证本区域海水样品检测前是否需要稀释。

## 8.3 培养

将封口后的定量盘 Quanti-Tray 在 $(36\pm 2)^{\circ}\text{C}$  培养箱内培养 18h-22h, 检测大肠菌群和大肠埃希氏菌。

## 8.4 检测结果

培养 18-22h 后, 数出 Quanti-Tray<sup>4)</sup>或 Quanti-Tray<sup>4)</sup>/2000 中阳性的孔格数, 反应后的黄色与比色盘对照, 颜色等于或大于比色盘的视为大肠菌群阳性。将定量盘放入暗室或暗箱, 置于紫外线照射下(365nm)。数出发黄色且荧光的孔格数, 视为大肠埃希氏菌阳性。如果 18h 培养后, 实验结果是模棱两可的 (即黄色与比色盘比较颜色较浅), 应将定量盘延长培养至 22 h 后再进行观察。18h 前观测的阳性结果以及 22h 后观测的阴性结果视为有效。

## 9 最终结果



通过数出的阳性的 大肠菌群和大肠埃希氏菌的孔格数，对照 MPN / 100mL 的表格或者利用计算机 MPN 生成软件可以得到最终的结果。见表 B.1 和 B.2。

## 10 检测报告

检测报告应至少包括以下信息：

- a) 采用的检测方法以及引用的方法；
- b) 全部的样品身份信息；
- c) 第 9 章中得到的检测结果；
- d) 在分析以及操作中出现任何可能影响结果的因素，ISO 9308 中没有具体说明的可能影响结果的因素。

## 11 质量控制

实验室应该具有明确的质量控制体系条例来确保设备，试剂以及检测技术可以满足此检测。阳性控制，阴性控制以及空白对照都应包含在此检测中。

## 附件 A

### 大肠菌群的微生物进一步信息

除了表达 $\beta$ -D-半乳糖苷酶，大肠菌群是典型的革兰氏阴性无芽孢，氧化酶阴性的杆状细菌。大肠菌群是需氧和兼性厌氧的，且能够在胆盐条件下生长（或其他具有类似生长抑制属性的表面活性剂中），能够在 $(36\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 条件下发酵乳糖并在48h内产酸产气。除了表达 $\beta$ -D-葡萄糖醛酸酶，大肠埃希氏菌属于大肠菌群，在 $(44\pm 0.5)^{\circ}\text{C}$ 条件下 $(21\pm 3)\text{h}$ 能够分解色氨酸产生吲哚。甲基红试验阳性，以脱羧基谷氨酸但不能产生乙酰甲基甲醇，利用柠檬酸作为唯一的碳源且可生长在KCN肉汤中。

有些不产生 $\beta$ -D-葡萄糖醛酸酶的大肠埃希氏菌株，如大肠埃希氏菌 O157，并不作为大肠埃希氏菌被检出。因为他们是 $\beta$ -D-半乳糖苷酶阳性，他们将作为大肠菌群被检出。

## 附件 B

Quanti-Tray<sup>5)</sup>封口机和结果计算

## B.1 简述

Quanti-Tray<sup>5)</sup>封口机是一种热封口密封设备，形成密封的独立的定量盘孔格。封口机自动分配到 Quanti-Tray 或 Quanti-Tray / 2000 的孔格中。当水样中的含菌量低于 200 cfu / 100mL 时，采用 Quanti-Tray(51 孔定量盘)进行检测。Quanti-Tray / 2000 可以用来检测含菌量最高 2419 cfu / 100mL。当计算 MPN 时，提供的 MPN 表可以查到所有数值。一个简单的统计程序也可以用来计算结果。如果需要，可以通过以下程序手动计算出 MPN 值。

## B.2 计算最大可能数

## B.2.1 计算 IDEXX 的 51 孔定量盘和 97 孔定量盘的 MPN 值

B.2.1.1 Quanti-Tray<sup>5)</sup> 51 孔定量盘

定量盘的 MPN 是耶鲁大学设计的。另外，这一系列的 MPN 可以在美国食品药品去安全局查到 (BAM Appendix 2: Most Probable Number from Serial Dilutions, October 2010)。

每个样品孔的体积大约为 1.96mL

顶部最大的孔至少保存 8.5mL

计算51孔定量盘的MPN值 (表 B.1)

$$N_{\text{MPN}} = N \cdot \ln [N/(N - X)] \quad (\text{B.1})$$

$N_{\text{MPN}}$  是 MPN;

$N$  检测中用到的管子数量;

$X$  检测中阳性的管子数量

B.2.1.2 Quanti-Tray<sup>5)</sup>/2000 (97-孔定量盘)

Quanti-Tray/2000 MPN最早在引用的文献中被描述 [1].

小孔的体积 0.186 ml

大孔的体积1.86 ml (是小孔体积的10倍)

顶部大孔的体积 11 ml.

Quanti-Tray<sup>6)</sup> /2000 MPN的计算 (表 B.2), 参见(B.2):

$$\frac{\sum_{i=1}^K \frac{V_i d_i P_i}{1 - e^{-V_i d_i N_{mpn}}}}{\sum_{i=1}^K V_i d_i n_i} \quad (\text{B.2})$$

$d_i$  是稀释倍数;

$K$  是稀释水平的数量;

$n_i$  是样品孔数  $i$ ;

$N_{mpn}$  是 MPN;

$P_i$  是阳性孔数  $i$ ;

$V_i$  是孔格中的样品体积  $i$ .

95 % 置信区间:

$$T_0 = (\ln N_{mpn} - 1.96) \times z(\ln N_{mpn})$$

$$T_1 = (\ln N_{mpn} + 1.96) \times z(\ln N_{mpn})$$

$T_0$  低区间;

$T_1$  高区间;

$$z(\ln N_{mpn}) = \sqrt{N_{mpn}^2 \sum_{i=1}^K \frac{V_i^2 d_i^2 n_i^2}{e^{-V_i d_i N_{mpn}} - 1}}$$

表 B.1 ——51 孔定量盘 MPN

| 阳性孔数<br>(每 100mL 水样) | MPN 值 | 95% 置信区间 |      |
|----------------------|-------|----------|------|
|                      |       | 下限       | 上限   |
| 0                    | <1    | 0.0      | 3.7  |
| 1                    | 1.0   | 0.3      | 5.6  |
| 2                    | 2.0   | 0.6      | 7.3  |
| 3                    | 3.1   | 1.1      | 9.0  |
| 4                    | 4.2   | 1.7      | 10.7 |
| 5                    | 5.3   | 2.3      | 12.3 |
| 6                    | 6.4   | 3.0      | 13.9 |
| 7                    | 7.5   | 3.7      | 15.5 |
| 8                    | 8.7   | 4.5      | 17.1 |
| 9                    | 9.9   | 5.3      | 18.8 |
| 10                   | 11.1  | 6.1      | 20.5 |
| 11                   | 12.4  | 7.0      | 22.1 |
| 12                   | 13.7  | 7.9      | 23.9 |
| 13                   | 15.0  | 8.8      | 25.7 |
| 14                   | 16.4  | 9.8      | 27.5 |
| 15                   | 17.8  | 10.8     | 29.4 |
| 16                   | 19.2  | 11.9     | 31.3 |
| 17                   | 20.7  | 13.0     | 33.3 |
| 18                   | 22.2  | 14.1     | 35.2 |
| 19                   | 23.8  | 15.3     | 37.3 |
| 20                   | 25.4  | 16.5     | 39.4 |
| 21                   | 27.1  | 17.7     | 41.6 |
| 22                   | 28.8  | 19.0     | 43.9 |
| 23                   | 30.6  | 20.4     | 46.3 |
| 24                   | 32.4  | 21.8     | 48.7 |
| 25                   | 34.4  | 23.3     | 51.2 |
| 26                   | 36.4  | 24.7     | 53.9 |
| 27                   | 38.4  | 26.4     | 56.6 |
| 28                   | 40.6  | 28.0     | 59.5 |
| 29                   | 42.9  | 29.7     | 62.5 |
| 30                   | 45.3  | 31.5     | 65.6 |
| 31                   | 47.8  | 33.4     | 69.0 |
| 32                   | 50.4  | 35.4     | 72.5 |

|    |        |       |       |
|----|--------|-------|-------|
| 33 | 53.1   | 37.5  | 76.2  |
| 34 | 56.0   | 39.7  | 80.1  |
| 35 | 59.1   | 42.0  | 84.4  |
| 36 | 62.4   | 44.6  | 88.8  |
| 37 | 65.9   | 47.2  | 93.7  |
| 38 | 69.7   | 50.0  | 99.0  |
| 39 | 73.8   | 53.1  | 104.8 |
| 40 | 78.2   | 56.4  | 111.2 |
| 41 | 83.1   | 59.9  | 118.3 |
| 42 | 88.5   | 63.9  | 126.2 |
| 43 | 94.5   | 68.2  | 135.4 |
| 44 | 101.3  | 73.1  | 146.0 |
| 45 | 109.1  | 78.6  | 158.7 |
| 46 | 118.4  | 85.0  | 174.5 |
| 47 | 129.8  | 92.7  | 195.0 |
| 48 | 144.5  | 102.3 | 224.1 |
| 49 | 165.2  | 115.2 | 272.2 |
| 50 | 200.5  | 135.8 | 387.6 |
| 51 | >200.5 | 146.1 | —     |

**表 B.2 ——97 孔定量盘 MPN**  
(含置信区间版本请参见 ISO 英文原版)

| 大孔阳<br>性格数 | 小孔阳性格数 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
|------------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|            | 0      | 1     | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    | 11    | 12    | 13    | 14    | 15    | 16    |
| 0          | <1     | 1.0   | 2.0   | 3.0   | 4.0   | 5.0   | 6.0   | 7.0   | 8.0   | 9.0   | 10.0  | 11.0  | 12.0  | 13.0  | 14.1  | 15.1  | 16.1  |
| 1          | 1.0    | 2.0   | 3.0   | 4.0   | 5.0   | 6.0   | 7.1   | 8.1   | 9.1   | 10.1  | 11.1  | 12.1  | 13.2  | 14.2  | 15.2  | 16.2  | 17.3  |
| 2          | 2.0    | 3.0   | 4.1   | 5.1   | 6.1   | 7.1   | 8.1   | 9.2   | 10.2  | 11.2  | 12.2  | 13.3  | 14.3  | 15.4  | 16.4  | 17.4  | 18.5  |
| 3          | 3.1    | 4.1   | 5.1   | 6.1   | 7.2   | 8.2   | 9.2   | 10.3  | 11.3  | 12.4  | 13.4  | 14.5  | 15.5  | 16.5  | 17.6  | 18.6  | 19.7  |
| 4          | 4.1    | 5.2   | 6.2   | 7.2   | 8.3   | 9.3   | 10.4  | 11.4  | 12.5  | 13.5  | 14.6  | 15.6  | 16.7  | 17.8  | 18.8  | 19.9  | 21.0  |
| 5          | 5.2    | 6.3   | 7.3   | 8.4   | 9.4   | 10.5  | 11.5  | 12.6  | 13.7  | 14.7  | 15.8  | 16.9  | 17.9  | 19.0  | 20.1  | 21.2  | 22.2  |
| 6          | 6.3    | 7.4   | 8.4   | 9.5   | 10.6  | 11.6  | 12.7  | 13.8  | 14.9  | 16.0  | 17.0  | 18.1  | 19.2  | 20.3  | 21.4  | 22.5  | 23.6  |
| 7          | 7.5    | 8.5   | 9.6   | 10.7  | 11.8  | 12.8  | 13.9  | 15.0  | 16.1  | 17.2  | 18.3  | 19.4  | 20.5  | 21.6  | 22.7  | 23.8  | 24.9  |
| 8          | 8.6    | 9.7   | 10.8  | 11.9  | 13.0  | 14.1  | 15.2  | 16.3  | 17.4  | 18.5  | 19.6  | 20.7  | 21.8  | 22.9  | 24.1  | 25.2  | 26.3  |
| 9          | 9.8    | 10.9  | 12.0  | 13.1  | 14.2  | 15.3  | 16.4  | 17.6  | 18.7  | 19.8  | 20.9  | 22.0  | 23.2  | 24.3  | 25.4  | 26.6  | 27.7  |
| 10         | 11.0   | 12.1  | 13.2  | 14.4  | 15.5  | 16.6  | 17.7  | 18.9  | 20.0  | 21.1  | 22.3  | 23.4  | 24.6  | 25.7  | 26.9  | 28.0  | 29.2  |
| 11         | 12.2   | 13.4  | 14.5  | 15.6  | 16.8  | 17.9  | 19.1  | 20.2  | 21.4  | 22.5  | 23.7  | 24.8  | 26.0  | 27.2  | 28.3  | 29.5  | 30.7  |
| 12         | 13.5   | 14.6  | 15.8  | 16.9  | 18.1  | 19.3  | 20.4  | 21.6  | 22.8  | 23.9  | 25.1  | 26.3  | 27.5  | 28.6  | 29.8  | 31.0  | 32.2  |
| 13         | 14.8   | 16.0  | 17.1  | 18.3  | 19.5  | 20.6  | 21.8  | 23.0  | 24.2  | 25.4  | 26.6  | 27.8  | 29.0  | 30.2  | 31.4  | 32.6  | 33.8  |
| 14         | 16.1   | 17.3  | 18.5  | 19.7  | 20.9  | 22.1  | 23.3  | 24.5  | 25.7  | 26.9  | 28.1  | 29.3  | 30.5  | 31.7  | 33.0  | 34.2  | 35.4  |
| 15         | 17.5   | 18.7  | 19.9  | 21.1  | 22.3  | 23.5  | 24.7  | 25.9  | 27.2  | 28.4  | 29.6  | 30.9  | 32.1  | 33.3  | 34.6  | 35.8  | 37.1  |
| 16         | 18.9   | 20.1  | 21.3  | 22.6  | 23.8  | 25.0  | 26.2  | 27.5  | 28.7  | 30.0  | 31.2  | 32.5  | 33.7  | 35.0  | 36.3  | 37.5  | 38.8  |
| 17         | 20.3   | 21.6  | 22.8  | 24.1  | 25.3  | 26.6  | 27.8  | 29.1  | 30.3  | 31.6  | 32.9  | 34.1  | 35.4  | 36.7  | 38.0  | 39.3  | 40.6  |
| 18         | 21.8   | 23.1  | 24.3  | 25.6  | 26.9  | 28.1  | 29.4  | 30.7  | 32.0  | 33.3  | 34.6  | 35.9  | 37.2  | 38.5  | 39.8  | 41.1  | 42.4  |
| 19         | 23.3   | 24.6  | 25.9  | 27.2  | 28.5  | 29.8  | 31.1  | 32.4  | 33.7  | 35.0  | 36.3  | 37.6  | 39.0  | 40.3  | 41.6  | 43.0  | 44.3  |
| 20         | 24.9   | 26.2  | 27.5  | 28.8  | 30.1  | 31.5  | 32.8  | 34.1  | 35.4  | 36.8  | 38.1  | 39.5  | 40.8  | 42.2  | 43.6  | 44.9  | 46.3  |
| 21         | 26.5   | 27.9  | 29.2  | 30.5  | 31.8  | 33.2  | 34.5  | 35.9  | 37.3  | 38.6  | 40.0  | 41.4  | 42.8  | 44.1  | 45.5  | 46.9  | 48.4  |
| 22         | 28.2   | 29.5  | 30.9  | 32.3  | 33.6  | 35.0  | 36.4  | 37.7  | 39.1  | 40.5  | 41.9  | 43.3  | 44.8  | 46.2  | 47.6  | 49.0  | 50.5  |
| 23         | 29.9   | 31.3  | 32.7  | 34.1  | 35.5  | 36.8  | 38.3  | 39.7  | 41.1  | 42.5  | 43.9  | 45.4  | 46.8  | 48.3  | 49.7  | 51.2  | 52.7  |
| 24         | 31.7   | 33.1  | 34.5  | 35.9  | 37.3  | 38.8  | 40.2  | 41.7  | 43.1  | 44.6  | 46.0  | 47.5  | 49.0  | 50.5  | 52.0  | 53.5  | 55.0  |
| 25         | 33.6   | 35.0  | 36.4  | 37.9  | 39.3  | 40.8  | 42.2  | 43.7  | 45.2  | 46.7  | 48.2  | 49.7  | 51.2  | 52.7  | 54.3  | 55.8  | 57.3  |
| 26         | 35.5   | 36.9  | 38.4  | 39.9  | 41.4  | 42.8  | 44.3  | 45.9  | 47.4  | 48.9  | 50.4  | 52.0  | 53.5  | 55.1  | 56.7  | 58.2  | 59.8  |
| 27         | 37.4   | 38.9  | 40.4  | 42.0  | 43.5  | 45.0  | 46.5  | 48.1  | 49.6  | 51.2  | 52.8  | 54.4  | 56.0  | 57.6  | 59.2  | 60.8  | 62.4  |
| 28         | 39.5   | 41.0  | 42.6  | 44.1  | 45.7  | 47.3  | 48.8  | 50.4  | 52.0  | 53.6  | 55.2  | 56.9  | 58.5  | 60.2  | 61.8  | 63.5  | 65.2  |
| 29         | 41.7   | 43.2  | 44.8  | 46.4  | 48.0  | 49.6  | 51.2  | 52.8  | 54.5  | 56.1  | 57.8  | 59.5  | 61.2  | 62.9  | 64.6  | 66.3  | 68.0  |
| 30         | 43.9   | 45.5  | 47.1  | 48.7  | 50.4  | 52.0  | 53.7  | 55.4  | 57.1  | 58.8  | 60.5  | 62.2  | 64.0  | 65.7  | 67.5  | 69.3  | 71.0  |
| 31         | 46.2   | 47.9  | 49.5  | 51.2  | 52.9  | 54.6  | 56.3  | 58.1  | 59.8  | 61.6  | 63.3  | 65.1  | 66.9  | 68.7  | 70.5  | 72.4  | 74.2  |
| 32         | 48.7   | 50.4  | 52.1  | 53.8  | 55.6  | 57.3  | 59.1  | 60.9  | 62.7  | 64.5  | 66.3  | 68.2  | 70.0  | 71.9  | 73.8  | 75.7  | 77.6  |
| 33         | 51.2   | 53.0  | 54.8  | 56.5  | 58.3  | 60.2  | 62.0  | 63.8  | 65.7  | 67.6  | 69.5  | 71.4  | 73.3  | 75.2  | 77.2  | 79.2  | 81.2  |
| 34         | 53.9   | 55.7  | 57.6  | 59.4  | 61.3  | 63.1  | 65.0  | 67.0  | 68.9  | 70.8  | 72.8  | 74.8  | 76.8  | 78.8  | 80.8  | 82.9  | 85.0  |
| 35         | 56.8   | 58.6  | 60.5  | 62.4  | 64.4  | 66.3  | 68.3  | 70.3  | 72.3  | 74.3  | 76.3  | 78.4  | 80.5  | 82.6  | 84.7  | 86.9  | 89.1  |
| 36         | 59.8   | 61.7  | 63.7  | 65.7  | 67.7  | 69.7  | 71.7  | 73.8  | 75.9  | 78.0  | 80.1  | 82.3  | 84.5  | 86.7  | 88.9  | 91.2  | 93.5  |
| 37         | 62.9   | 65.0  | 67.0  | 69.1  | 71.2  | 73.3  | 75.4  | 77.6  | 79.8  | 82.0  | 84.2  | 86.5  | 88.8  | 91.1  | 93.4  | 95.8  | 98.2  |
| 38         | 66.3   | 68.4  | 70.6  | 72.7  | 74.9  | 77.1  | 79.4  | 81.6  | 83.9  | 86.2  | 88.6  | 91.0  | 93.4  | 95.8  | 98.3  | 100.8 | 103.4 |
| 39         | 70.0   | 72.2  | 74.4  | 76.7  | 78.9  | 81.3  | 83.6  | 86.0  | 88.4  | 90.9  | 93.4  | 95.9  | 98.4  | 101.0 | 103.6 | 106.3 | 109.0 |
| 40         | 73.8   | 76.2  | 78.5  | 80.9  | 83.3  | 85.7  | 88.2  | 90.8  | 93.3  | 95.9  | 98.5  | 101.2 | 103.9 | 106.7 | 109.5 | 112.4 | 115.3 |
| 41         | 78.0   | 80.5  | 83.0  | 85.5  | 88.0  | 90.6  | 93.3  | 95.9  | 98.7  | 101.4 | 104.3 | 107.1 | 110.0 | 113.0 | 116.0 | 119.1 | 122.2 |
| 42         | 82.6   | 85.2  | 87.8  | 90.5  | 93.2  | 96.0  | 98.8  | 101.7 | 104.6 | 107.6 | 110.6 | 113.7 | 116.9 | 120.1 | 123.4 | 126.7 | 130.1 |
| 43         | 87.6   | 90.4  | 93.2  | 96.0  | 99.0  | 101.9 | 105.0 | 108.1 | 111.2 | 114.5 | 117.8 | 121.1 | 124.6 | 128.1 | 131.7 | 135.4 | 139.1 |
| 44         | 93.1   | 96.1  | 99.1  | 102.2 | 105.4 | 108.6 | 111.9 | 115.3 | 118.7 | 122.3 | 125.9 | 129.6 | 133.4 | 137.4 | 141.4 | 145.5 | 149.7 |
| 45         | 99.3   | 102.5 | 105.8 | 109.2 | 112.6 | 116.2 | 119.8 | 123.6 | 127.4 | 131.4 | 135.4 | 139.6 | 143.9 | 148.3 | 152.9 | 157.6 | 162.4 |
| 46         | 106.3  | 109.8 | 113.4 | 117.2 | 121.0 | 125.0 | 129.1 | 133.3 | 137.6 | 142.1 | 146.7 | 151.5 | 156.5 | 161.6 | 167.0 | 172.5 | 178.2 |
| 47         | 114.3  | 118.3 | 122.4 | 126.6 | 130.9 | 135.4 | 140.1 | 145.0 | 150.0 | 155.3 | 160.7 | 166.4 | 172.3 | 178.5 | 185.0 | 191.8 | 198.9 |
| 48         | 123.9  | 128.4 | 133.1 | 137.9 | 143.0 | 148.3 | 153.9 | 159.7 | 165.8 | 172.2 | 178.9 | 186.0 | 193.5 | 201.4 | 209.8 | 218.7 | 228.2 |
| 49         | 135.5  | 140.8 | 146.4 | 152.3 | 158.5 | 165.0 | 172.0 | 179.3 | 187.2 | 195.6 | 204.6 | 214.3 | 224.7 | 235.9 | 248.1 | 261.3 | 275.5 |

ISO 9308-2:2012(E)

| 大孔阳<br>性格数 | 小孔阳性格数 |       |       |       |       |       |        |        |        |        |        |        |        |        |        |         |
|------------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|
|            | 33     | 34    | 35    | 36    | 37    | 38    | 39     | 40     | 41     | 42     | 43     | 44     | 45     | 46     | 47     | 48      |
| 0          | 33.6   | 34.7  | 35.7  | 36.8  | 37.8  | 38.9  | 40.0   | 41.0   | 42.1   | 43.1   | 44.2   | 45.3   | 46.3   | 47.4   | 48.5   | 49.5    |
| 1          | 35.0   | 36.1  | 37.2  | 38.2  | 39.3  | 40.4  | 41.4   | 42.5   | 43.6   | 44.7   | 45.7   | 46.8   | 47.9   | 49.0   | 50.1   | 51.2    |
| 2          | 36.5   | 37.5  | 38.6  | 39.7  | 40.8  | 41.9  | 43.0   | 44.0   | 45.1   | 46.2   | 47.3   | 48.4   | 49.5   | 50.6   | 51.7   | 52.8    |
| 3          | 37.9   | 39.0  | 40.1  | 41.2  | 42.3  | 43.4  | 44.5   | 45.6   | 46.7   | 47.8   | 48.9   | 50.0   | 51.2   | 52.3   | 53.4   | 54.5    |
| 4          | 39.4   | 40.5  | 41.6  | 42.8  | 43.9  | 45.0  | 46.1   | 47.2   | 48.3   | 49.5   | 50.6   | 51.7   | 52.9   | 54.0   | 55.1   | 56.3    |
| 5          | 41.0   | 42.1  | 43.2  | 44.4  | 45.5  | 46.6  | 47.7   | 48.9   | 50.0   | 51.2   | 52.3   | 53.5   | 54.6   | 55.8   | 56.9   | 58.1    |
| 6          | 42.6   | 43.7  | 44.8  | 46.0  | 47.1  | 48.3  | 49.4   | 50.6   | 51.7   | 52.9   | 54.1   | 55.2   | 56.4   | 57.6   | 58.7   | 59.9    |
| 7          | 44.2   | 45.3  | 46.5  | 47.7  | 48.8  | 50.0  | 51.2   | 52.3   | 53.5   | 54.7   | 55.9   | 57.1   | 58.3   | 59.4   | 60.6   | 61.8    |
| 8          | 45.9   | 47.0  | 48.2  | 49.4  | 50.6  | 51.8  | 53.0   | 54.1   | 55.3   | 56.5   | 57.7   | 59.0   | 60.2   | 61.4   | 62.6   | 63.8    |
| 9          | 47.6   | 48.8  | 50.0  | 51.2  | 52.4  | 53.6  | 54.8   | 56.0   | 57.2   | 58.4   | 59.7   | 60.9   | 62.1   | 63.4   | 64.6   | 65.8    |
| 10         | 49.3   | 50.6  | 51.8  | 53.0  | 54.2  | 55.5  | 56.7   | 57.9   | 59.2   | 60.4   | 61.7   | 62.9   | 64.2   | 65.4   | 66.7   | 67.9    |
| 11         | 51.2   | 52.4  | 53.7  | 54.9  | 56.1  | 57.4  | 58.6   | 59.9   | 61.2   | 62.4   | 63.7   | 65.0   | 66.3   | 67.5   | 68.8   | 70.1    |
| 12         | 53.1   | 54.3  | 55.6  | 56.8  | 58.1  | 59.4  | 60.7   | 62.0   | 63.2   | 64.5   | 65.8   | 67.1   | 68.4   | 69.7   | 71.0   | 72.4    |
| 13         | 55.0   | 56.3  | 57.6  | 58.9  | 60.2  | 61.5  | 62.8   | 64.1   | 65.4   | 66.7   | 68.0   | 69.3   | 70.7   | 72.0   | 73.3   | 74.7    |
| 14         | 57.0   | 58.3  | 59.6  | 60.9  | 62.3  | 63.6  | 64.9   | 66.3   | 67.6   | 68.9   | 70.3   | 71.6   | 73.0   | 74.4   | 75.7   | 77.1    |
| 15         | 59.1   | 60.4  | 61.8  | 63.1  | 64.5  | 65.8  | 67.2   | 68.5   | 69.9   | 71.3   | 72.6   | 74.0   | 75.4   | 76.8   | 78.2   | 79.6    |
| 16         | 61.2   | 62.6  | 64.0  | 65.3  | 66.7  | 68.1  | 69.5   | 70.9   | 72.3   | 73.7   | 75.1   | 76.5   | 77.9   | 79.3   | 80.8   | 82.2    |
| 17         | 63.5   | 64.9  | 66.3  | 67.7  | 69.1  | 70.5  | 71.9   | 73.3   | 74.8   | 76.2   | 77.6   | 79.1   | 80.5   | 82.0   | 83.5   | 84.9    |
| 18         | 65.8   | 67.2  | 68.6  | 70.1  | 71.5  | 73.0  | 74.4   | 75.9   | 77.3   | 78.8   | 80.3   | 81.8   | 83.3   | 84.8   | 86.3   | 87.8    |
| 19         | 68.2   | 69.7  | 71.1  | 72.6  | 74.1  | 75.5  | 77.0   | 78.5   | 80.0   | 81.5   | 83.1   | 84.6   | 86.1   | 87.6   | 89.2   | 90.7    |
| 20         | 70.7   | 72.2  | 73.7  | 75.2  | 76.7  | 78.2  | 79.8   | 81.3   | 82.8   | 84.4   | 85.9   | 87.5   | 89.1   | 90.7   | 92.2   | 93.8    |
| 21         | 73.3   | 74.9  | 76.4  | 77.9  | 79.5  | 81.1  | 82.6   | 84.2   | 85.8   | 87.4   | 89.0   | 90.6   | 92.2   | 93.8   | 95.4   | 97.1    |
| 22         | 76.1   | 77.6  | 79.2  | 80.8  | 82.4  | 84.0  | 85.6   | 87.2   | 88.9   | 90.5   | 92.1   | 93.8   | 95.5   | 97.1   | 98.8   | 100.5   |
| 23         | 78.9   | 80.5  | 82.2  | 83.8  | 85.4  | 87.1  | 88.7   | 90.4   | 92.1   | 93.8   | 95.5   | 97.2   | 98.9   | 100.6  | 102.4  | 104.1   |
| 24         | 81.9   | 83.6  | 85.2  | 86.9  | 88.6  | 90.3  | 92.0   | 93.8   | 95.5   | 97.2   | 99.0   | 100.7  | 102.5  | 104.3  | 106.1  | 107.9   |
| 25         | 85.1   | 86.8  | 88.5  | 90.2  | 92.0  | 93.7  | 95.5   | 97.3   | 99.1   | 100.9  | 102.7  | 104.5  | 106.3  | 108.2  | 110.0  | 111.9   |
| 26         | 88.4   | 90.1  | 91.9  | 93.7  | 95.5  | 97.3  | 99.2   | 101.0  | 102.9  | 104.7  | 106.6  | 108.5  | 110.4  | 112.3  | 114.2  | 116.2   |
| 27         | 91.9   | 93.7  | 95.5  | 97.4  | 99.3  | 101.2 | 103.1  | 105.0  | 106.9  | 108.8  | 110.8  | 112.7  | 114.7  | 116.7  | 118.7  | 120.7   |
| 28         | 95.6   | 97.5  | 99.4  | 101.3 | 103.3 | 105.2 | 107.2  | 109.2  | 111.2  | 113.2  | 115.2  | 117.3  | 119.3  | 121.4  | 123.5  | 125.6   |
| 29         | 99.5   | 101.5 | 103.5 | 105.5 | 107.5 | 109.5 | 111.6  | 113.7  | 115.7  | 117.8  | 120.0  | 122.1  | 124.2  | 126.4  | 128.6  | 130.8   |
| 30         | 103.7  | 105.7 | 107.8 | 109.9 | 112.0 | 114.2 | 116.3  | 118.5  | 120.6  | 122.8  | 125.1  | 127.3  | 129.5  | 131.8  | 134.1  | 136.4   |
| 31         | 108.2  | 110.3 | 112.5 | 114.7 | 116.9 | 119.1 | 121.4  | 123.6  | 125.9  | 128.2  | 130.5  | 132.9  | 135.3  | 137.7  | 140.1  | 142.5   |
| 32         | 113.0  | 115.2 | 117.5 | 119.8 | 122.1 | 124.5 | 126.8  | 129.2  | 131.6  | 134.0  | 136.5  | 139.0  | 141.5  | 144.0  | 146.6  | 149.1   |
| 33         | 118.2  | 120.5 | 122.9 | 125.4 | 127.8 | 130.3 | 132.8  | 135.3  | 137.8  | 140.4  | 143.0  | 145.6  | 148.3  | 150.9  | 153.7  | 156.4   |
| 34         | 123.8  | 126.3 | 128.8 | 131.4 | 134.0 | 136.6 | 139.2  | 141.9  | 144.6  | 147.4  | 150.1  | 152.9  | 155.7  | 158.6  | 161.5  | 164.4   |
| 35         | 129.9  | 132.6 | 135.3 | 138.0 | 140.8 | 143.6 | 146.4  | 149.2  | 152.1  | 155.0  | 158.0  | 161.0  | 164.0  | 167.1  | 170.2  | 173.3   |
| 36         | 136.7  | 139.5 | 142.4 | 145.3 | 148.3 | 151.3 | 154.3  | 157.3  | 160.5  | 163.6  | 166.8  | 170.0  | 173.3  | 176.6  | 179.9  | 183.3   |
| 37         | 144.2  | 147.3 | 150.3 | 153.5 | 156.7 | 159.9 | 163.1  | 166.5  | 169.8  | 173.2  | 176.7  | 180.2  | 183.7  | 187.3  | 191.0  | 194.7   |
| 38         | 152.6  | 155.9 | 159.2 | 162.6 | 166.1 | 169.6 | 173.2  | 176.8  | 180.4  | 184.2  | 188.0  | 191.8  | 195.7  | 199.7  | 203.7  | 207.7   |
| 39         | 162.1  | 165.7 | 169.4 | 173.1 | 176.9 | 180.7 | 184.7  | 188.7  | 192.7  | 196.8  | 201.0  | 205.3  | 209.6  | 214.0  | 218.5  | 223.0   |
| 40         | 173.0  | 177.0 | 181.1 | 185.2 | 189.4 | 193.7 | 198.1  | 202.5  | 207.1  | 211.7  | 216.4  | 221.1  | 226.0  | 231.0  | 236.0  | 241.1   |
| 41         | 185.8  | 190.3 | 194.8 | 199.5 | 204.2 | 209.1 | 214.0  | 219.1  | 224.2  | 229.4  | 234.8  | 240.2  | 245.8  | 251.5  | 257.2  | 263.1   |
| 42         | 201.1  | 206.2 | 211.4 | 216.7 | 222.2 | 227.7 | 233.4  | 239.2  | 245.2  | 251.3  | 257.5  | 263.8  | 270.3  | 276.9  | 283.6  | 290.5   |
| 43         | 219.8  | 225.8 | 231.8 | 238.1 | 244.5 | 251.0 | 257.7  | 264.6  | 271.7  | 278.9  | 286.3  | 293.8  | 301.5  | 309.4  | 317.4  | 325.7   |
| 44         | 243.6  | 250.8 | 258.1 | 265.6 | 273.3 | 281.2 | 289.4  | 297.8  | 306.3  | 315.1  | 324.1  | 333.3  | 342.8  | 352.4  | 362.3  | 372.4   |
| 45         | 275.3  | 284.1 | 293.3 | 302.6 | 312.3 | 322.3 | 332.5  | 343.0  | 353.8  | 364.9  | 376.2  | 387.9  | 399.8  | 412.0  | 424.5  | 437.4   |
| 46         | 319.9  | 331.4 | 343.3 | 355.5 | 368.1 | 381.1 | 394.5  | 408.3  | 422.5  | 437.1  | 452.0  | 467.4  | 483.3  | 499.6  | 516.3  | 533.5   |
| 47         | 387.7  | 403.4 | 419.8 | 436.6 | 454.1 | 472.1 | 490.7  | 509.9  | 529.8  | 550.4  | 571.7  | 593.8  | 616.7  | 640.5  | 665.3  | 691.0   |
| 48         | 501.2  | 524.7 | 549.3 | 574.8 | 601.5 | 629.4 | 658.6  | 689.3  | 721.5  | 755.6  | 791.5  | 829.7  | 870.4  | 913.9  | 960.6  | 1011.2  |
| 49         | 727.0  | 770.1 | 816.4 | 866.4 | 920.8 | 980.4 | 1046.2 | 1119.9 | 1203.3 | 1299.7 | 1413.6 | 1553.1 | 1732.9 | 1986.3 | 2419.6 | >2419.6 |



## 附件 C

## Colilert-18 组成

Table C.1 — Composition of component 1

| Substance        | Concentration<br>g/l |
|------------------|----------------------|
| Alanine          | 0,025 to 0,08        |
| Arginine         | 0,030 to 0,08        |
| Aspartic acid    | 0,056 to 0,085       |
| Cystine          | 0,002 to 0,005       |
| Glutamic acid    | 0,102 to 0,207       |
| Glycine          | 0,015 to 0,15        |
| Histidine        | 0,005 to 0,020       |
| Isoleucine       | 0,0145 to 0,046      |
| Leucine          | 0,030 to 0,079       |
| Lysine           | 0,034 to 0,068       |
| Methionine       | 0,011 to 0,023       |
| Phenylalanine    | 0,018 to 0,037       |
| Proline          | 0,088 to 0,093       |
| Serine           | 0,028 to 0,044       |
| Threonine        | 0,018 to 0,032       |
| Tryptophan       | 0,0036 to 0,005      |
| Tyrosine         | 0,0064 to 0,018      |
| Valine           | 0,023 to 0,056       |
| Cobalt           | trace                |
| Copper           | trace                |
| Iron             | 0,00165              |
| Lead             | trace                |
| Biotin           | 0,000 05 to 0,000 16 |
| Choline          | 0,050 to 0,10        |
| Cyanocobalamin   | trace                |
| Folic acid       | 0,000 075 to 0,001 4 |
| Inositol         | 0,060 to 0,12        |
| Niacin           | 0,003 85 to 0,007 0  |
| Nicotinic acid   | 0,014 to 0,03        |
| PABA             | 0,020 to 0,038       |
| Pantothenic acid | 0,01 to 0,013        |
| Pyridoxine       | 0,001 5 to 0,002 1   |
| Riboflavin       | 0,002 8 to 0,005 8   |
| Thiamine         | 0,003 7 to 0,026     |
| Thymidine        | 0,010 to 0,02        |
| Enzyme Inducers  | 0,015                |

Table C.2 — Composition of component 2

| Substance  | Concentration<br>g/l |
|--|----------------------|
| Ammonium sulfate (anhydrous)   | 5,000                |
| HEPES (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid) (free acid) | 6,864                |
| HEPES (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid) (Na- salt)  | 5,292                |
| D-Gluconic acid (hemicalcium salt)                                     | 0,145                |
| Sodium sulfite (anhydrous)   | 0,040                |
| Amphotericin B (solubilized)   | 0,001 0 *            |
| Magnesium sulfate (anhydrous)  | 0,100                |
| <i>o</i> -nitrophenol- $\beta$ -D-galactoside                          | 0,500                |
| 4-Methylumbelliferyl- $\beta$ -D-glucuronide                           | 0,075                |
| Zinc sulfate (heptahydrate)  | 0,000 5              |
| Manganese sulfate  | 0,000 5              |
| Pyruvic acid (Na + salt)   | 0,005                |
| Sodium chloride  | 0,100                |
| DNA precursors   | 0,005                |
| Vancomycin   | 0,005                |
| Getulodin  | 0,011                |
| Amino acid precursors  | 0,001                |
| Phosphate sources  | 0,1                  |

\* Final concentration of Amphotericin B after taking into account the concentration of the solution.

## 附件 D

Colilert-18 检测水样中的大肠菌群和大肠埃希氏菌  
的验证实验

Colilert-18 / Quanti-Tray 方法用于检测饮用水或者其它类似的处理和未处理的水中的大肠菌群和大肠埃希氏菌。此检测基于固定底物技术酶底物法, 可以通过颜色和荧光反应来确定是否存在大肠菌群和大肠埃希氏菌, 当大肠菌群分解底物 ONPG, 样品会变为黄色, 当大肠埃希氏菌分解第二种底物 MUG, 样品在紫外灯下会发出荧光。Colilert-18 可以 18h 同时检测样品中的大肠菌群和大肠埃希氏菌, 每 100mL 样品中最少可以检测出 1 个, 最高可以检测  $2 \times 10^6$  个。定量盘的设计是用来得到 MPN 定量结果。

Colilert-18 的定量盘方法按照 ISO/TR 13843:2000 进行验证。

该方法与单纯培养基培养大肠埃希氏菌和大肠菌群进行对比, 获得一直结果, 所有典型的反应都被观察到。

验证的结果包括: 灵敏度, 特异性, 选择性 (所有的数据都来自于真实的样品), 以及复壮性的实验 (采用标准菌株), 所有的结果总结在表 D.1 中:

Table D.1 — Performance data

|                     | Coliforms | <i>E. coli</i> |
|---------------------|-----------|----------------|
| Sensitivity         | 100 %     | 100 %          |
| Specificity         | 100 %     | 99 %           |
| False positive rate | 0 %       | 1 %            |
| False negative rate | 0 %       | 0 %            |
| Efficiency          | 100 %     | 99,5 %         |
| Selectivity         | -0,004    | -0,305         |
| Repeatability       | 0,022     | 0,000          |
| Reproducibility     | 0,020     | 0,007          |

最新的关于 Colilert-18/Quanti-Tray 方法的验证是按照 ISO/TR 13843 (文献 [2]) 于 2007 年进行的, 结果报告与 2008 年发表。验证实验由 IDEXX 实验室在 SWM 顾问监督下进行的。

所有详细的验证报告及原始数据可以从以下网站获得:

<http://standards.iso.org/iso/9308/-2>

## Bibliography

- 1) HURLEY, M.A. and M.E. ROSCOE. Automated statistical analysis of microbial enumeration by dilution series. *Journal of Applied Bacteriology*. 1983, **55**, 159-164
- 2) ISO/TR 13843, *Water quality — Guidance on validation of microbiological methods*

1)-6) Colilert 和 Quanti-Tray 是 IDEXX 的注册商标。