

**ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΕΠΙΚΥΡΩΣΕΩΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ EN ISO 9308-01:2000 ΚΑΙ ΣΧΕΣΕΙΣ
ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΤΩΝ ΣΥΝΟΛΩΝ ΤΩΝ ΚΑΤΑΜΕΤΡΟΥΜΕΝΩΝ ΕΙΔΩΝ.**

ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ Ε. ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΥ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟ ΚΕΝΤΡΟ ΕΛΕΓΧΟΥ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
Μ.Ε.Π.Ε.
ΝΟΤΑΡΑ 133, ΠΑΤΡΑ- ΤΚ 26 442- ΤΗΛ: +302610452459- Τ/Ο: +302610452536
ΗΛ. ΤΑΧ: da@e-eket.gr

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα «Ολικά Κολοβακτηριοειδή» και τα “E. coli” είναι δύο σημαντικές παράμετροι ελέγχου της μικροβιολογικής ποιότητας του νερού ανθρώπινης κατανάλωσης. Η Οδηγία 98/83, του Συμβουλίου της Ευρωπαϊκής Επιτροπής, καθορίζει ως μέθοδο ανάλυσης των παραμέτρων αυτών την EN ISO 9308-01:2000 ή ισοδύναμή της.

Στην παρούσα εργασία, γίνεται σύντομη παρουσίαση των απαιτήσεων του προτύπου ISO 17025:2005 ως προς την επικύρωση των μικροβιολογικών δοκιμών νερού, παρουσιάζονται τα στοιχεία επικύρωσης της μεθόδου EN ISO 9308-01:2000 από το Εργαστηριακό Κέντρο Ελέγχου Τροφίμων και Περιβάλλοντος (Ε.Κ.Ε.Τ.) (εξειδίκευση, ευαισθησία, θετική και αρνητική απόκλιση, όριο προσδιορισμού κλπ) για διάφορα δείγματα νερών, εμβολιασμένων και φυσικών και σχολιάζονται τα αποτελέσματα σε σχέση με την απόδοση της μεθόδου, αλλά και ως προς την εκπλήρωση των ορισμών που η μέθοδος θέτει για τους μικροοργανισμούς αυτούς.

Επίσης, εντοπίζεται και προτείνεται η σχέση εγκλεισμού των συνόλων των προσδιοριζομένων μικροοργανισμών, ως δείκτη ελέγχου της ορθότητας διεξαγωγής του προσδιορισμού αυτού, σε δείγματα νερού.

ABSTRACT

Total coliforms and Escherichia coli are two significant parameters for checking the microbiological quality of the water of human consumption. The 98/83 European Commission's Directive, establishes the EN ISO 9308-01:2000 method (or its equivalent alternatives) as the method of choice to determine those parameters.

At the present study, the demands of the ISO 17025:2005, regarding the microbiological testing of water, and the details of the validation of the method EN ISO 9308-01:2000 from the Food and Environmental Analysis Center, LTD, are presenting (specificity, selectivity, range, LOD,...) for different kinds of water samples, natural and spiked, and comments about the method efficiency and about the fulfil of the definitions that this method sets for these microorganisms are made.

The clarification of the relationship of enclosure which exists between the populations of the determined microorganisms and the proposal of the use of this relationship as a tool to check the correctness of these determination in water samples, are also presenting.

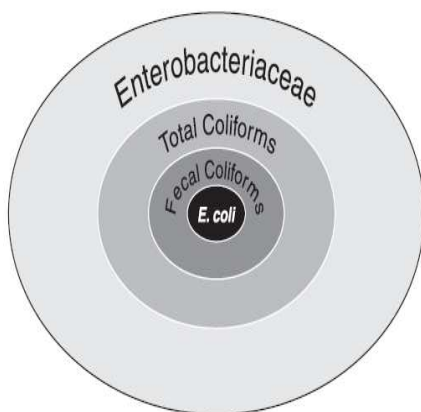
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το ζήτημα της επάρκειας νερού κατάλληλου προς ανθρώπινη κατανάλωση είναι όχι μόνο ένα περιβαλλοντικό ζήτημα μεγίστης σπουδαιότητας αλλά και ζήτημα επιβίωσης του ανθρώπου, αφού, αυτό που για αιώνες έδειχνε αυτονήτο, γίνεται συνεχώς δυσχερέστερο να επιτευχθεί,

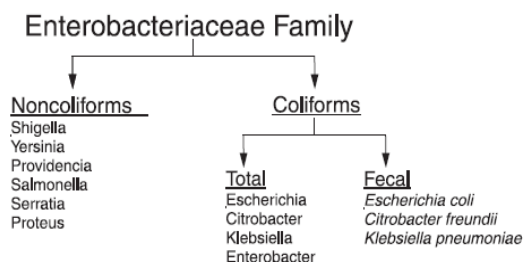
λόγω κυρίως της ανθρώπινης δραστηριότητας αλλά και των κλιματικών μεταβολών. Η συνηθέστερη αιτία μόλυνσης του νερού ανθρώπινης κατανάλωσης είναι αναμφιβόλως η μόλυνση με ρύπους που περιέχουν μικροβιακό φορτίο, όπως αστικά απόβλητα που χύνονται σε ποταμούς, ζωικά απόβλητα που ξεπλένονται από τα νερά της βροχής κ.λ.π. Η μόλυνση με παθογόνους μικροοργανισμούς μπορεί να είναι ιδιαίτερος επικίνδυνος, αφού μπορεί να οδηγήσει σε ασθένειες μεγάλα τμήματα του πληθυσμού, ασθένειες που δύνανται να αποβούν ακόμη και θανατηφόρες, όπως ο τύφος, ο παράτυφος κ.α

Κατόπιν τούτων, γίνεται φανερή η ανάγκη για ένα αξιόπιστο σύστημα αποτελεσματικής παρακολούθησης της μικροβιολογικής ποιότητας του νερού ανθρώπινης κατανάλωσης και παρέμβασης με μεθόδους απολύμανσης όποτε εντοπίζονται προβλήματα. Όμως, οι **παθογόνοι** μικροοργανισμοί βρίσκονται στο νερό σε ελάχιστες συγκεντρώσεις, ενώ οι μέθοδοι προσδιορισμού τους είναι χρονοβόρες, δαπανηρές και κοπιαστικές. Εναλλακτικώς, μπορεί να πραγματοποιείται προσδιορισμός **μικροοργανισμών- δεικτών**, αφού έχει αποδειχθεί η συσχέτιση της παρουσίας αυτών με την πιθανότητα να προκληθεί ασθένεια από το νερό που τους περιέχει, αλλά και ο πληθυσμός τους σε ένα μολυσμένο νερό είναι αρκετά υψηλός και ο προσδιορισμός τους εύκολος, οικονομικός και γρήγορος. Τέτοιοι μικροοργανισμοί- δείκτες είναι τα **ολικά κολοβακτηριοειδή** (Total coliforms), τα **κοπρανώδη κολοβακτηριοειδή** (Fecal coliforms), τα **κολοβακτηρίδια** (*E. coli*), οι **εντερόκοκκοι** (Enterococci) και τα **κλωστηρίδια** (*Clostridium Perfringens*).

Τα ολικά κολοβακτηριοειδή, ευρίσκονται στο εντερικό σύστημα του ανθρώπου και των ζώων, από όπου και αποβάλλονται καθημερινά, αλλά και στο έδαφος. Τα κοπρανώδη κολοβακτηριοειδή ευρίσκονται μόνο στο εντερικό σύστημα του ανθρώπου και των ζώων και όχι στο έδαφος. Τα κολοβακτηρίδια ευρίσκονται μόνο στο εντερικό σύστημα των θερμόαιμων ζώων και η παρουσία τους δείχνει πρόσφατη μόλυνση από ανθρώπινα ή ζωικά απόβλητα. Κάποια στελέχη τους είναι παθογόνα (π.χ. το *E. coli* O157:H7, που προκαλεί αιμορραγικό πυρετό).



Υπάρχει σχέση εγκλεισμού μεταξύ των συνόλων των **Εντεροβακτηριδίων**, των **Ολικών Κολοβακτηριοειδών**, των **κοπρανωδών κολοβακτηριοειδών** και των **κολοβακτηριδίων** (*E.coli*), με τα τελευταία να αποτελούν υποσύνολο των προτελευταίων κ.ο.κ.



Η Οδηγία 98/83 της Ε.Ε. ορίζει μηδενική ανοχή στα ολικά κολοβακτηριοειδή ανά 100 mL νερού ανθρώπινης κατανάλωσης, όπως επίσης και στα κολοβακτηρίδια, τους εντερόκοκκους και τα κλωστηρίδια (τα τελευταία στην περίπτωση των επιφανειακών νερών).

Η εν λόγω Οδηγία και η Υγιεινονομική Διάταξη 2600/2001 (όπως τροποποιήθηκε και ισχύει σήμερα) που την ενσωματώνει στο ελληνικό Δίκαιο, προβλέπει ότι ο προσδιορισμός των **Ολικών Κολοβακτηριοειδών** και των ***E. coli*** στο νερό ανθρώπινης κατανάλωσης, πρέπει να διενεργείται **αποκλειστικά και μόνο με τη μέθοδο EN ISO 9308-01** ή με **εναλλακτικές-**

επικυρωμένες- μεθόδους που αποδεικνύουν ότι δίνουν αποτελέσματα τουλάχιστον εξίσου αξιόπιστα με αυτά της EN ISO 9308-01 και εφ' όσον η Ευρωπαϊκή Επιτροπή λάβει γνώση των στοιχείων ισοδυναμίας της εναλλακτικής αυτής μεθόδου (Υ2/ 2600/2001/ άρθρο 7/παρ. 4/εδαφ. β).

2. ΟΡΙΣΜΟΙ

Συμφώνως προς τη μέθοδο EN ISO 9308-01:

Ως **Κολοβακτηριοειδή** ορίζονται τα βακτήρια που σχηματίζουν αερόβιες αποικίες στους $36\pm 2^{\circ}\text{C}$ εντός 21 ± 3 h στο εκλεκτικό και διαφοροποιητικό καλλιεργητικό μέσο λακτόζης της μεθόδου, παράγοντας οξύ και είναι αρνητικά στη δοκιμασία Οξειδάσης.

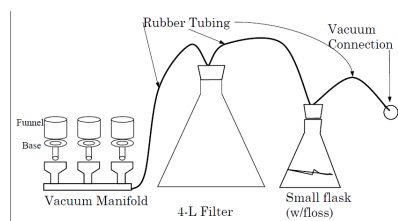
Ως **E. coli** ορίζονται όσα κολοβακτηριοειδή παράγουν ινδόλη από την τρυπτοφάνη, στους $44\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ / 21 ± 3 h

3. ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ

Οι προσδιορισμοί έγιναν συμφώνως προς τα προβλεπόμενα από τη μέθοδο EN ISO 9308-01 (standard test). Η προμήθεια των καλλιεργητικών μέσων έγινε από τα AES Laboratoires και των χημικών αντιδραστηρίων από τη MERCK.

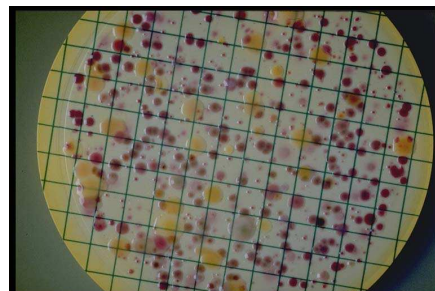
Χρησιμοποιήθηκαν αποκλειστικώς και μόνο διακριβωμένα όργανα και συσκευές. Τα φίλτρα μεμβράνης ήταν κατασκευασμένα από νιτρική κυτταρίνη. Οι θερμοκρασίες επώσεων κατεγράφοντο συνεχώς καθ' όλη τη διάρκεια των καλλιεργειών και ο ποιοτικός έλεγχος έγινε κατά τα προβλεπόμενα από το σύστημα

διασφαλίσεως ποιότητας του εργαστηρίου. Οι δειγματοληψίες, καθώς και η συντήρηση και μεταφορά των δειγμάτων στο εργαστήριο διενεργήθηκαν σύμφωνα προς τα προβλεπόμενα από τις ISO 5667-1, 5667-2 και 5667-3, καθώς και από την ISO 19458:2006.



Επιγραμματικά, η διαδικασία προσδιορισμού είναι:

- Διήθηση ορισμένου όγκου νερού από ηθμό μεμβράνης.
- Καλλιέργεια του ηθμού επί Lactose TTC Agar (A), στους 36°C / 21 h. (Η χρήση μιας δεύτερης μεμβράνης που θα επωαστεί στους 44°C μπορεί να αντιμετωπίσει προβλήματα παρεμποδίσεων)
- Υποκαλλιέργεια σε TSA agar (B) στους 36°C / 21 h και συγχρόνως σε Tryptophan Broth (Γ), στους 44°C / 21 h)
- Διενεργούμε δοκιμασία οξειδάσης στο (B) και δοκιμασία ινδόλης στο (Γ)
- Καταμετρούμε ως **Ολικά κολοβακτηριοειδή** τις αποικίες που δίνουν πορτοκαλί-κίτρινο χρώμα στο (A) και συγχρόνως αρνητική δοκιμασία οξειδάσης.
- Καταμετρούμε ως **E. coli** τις αποικίες που έχουν ήδη καταμετρηθεί ως Ολικά Κολοβακτηριοειδή (δηλαδή έδωσαν τυπικές αποικίες στο (A) και αρνητική δοκιμασία οξειδάσης) και επιπλέον έδωσαν θετική δοκιμασία Ινδόλης.
- Στην περίπτωση χρησιμοποίησης μεμβράνης επωασμένης στους 44°C , ως αριθμός των Ολικών Κολοβακτηριοειδών θεωρείται ο μέγιστος μεταξύ της καταμέτρησεως των 37°C και αυτής των 44°C .
- Λεπτομέρειες της μεθόδου παρέχονται στο πρότυπο EN ISO 9308-01:2000, όπως τροποποιήθηκε και ισχύει (δεν αναφέρονται, για λόγους προστασίας πνευματικών δικαιωμάτων



του ISO).

4. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΠΙΚΥΡΩΣΕΩΣ

Ετοιμάστηκαν 1000 mL προθερμασμένου στους 34-38° C αραιωτικού και 1000mL φυσικού δείγματος νερού που περιείχε T. Coliforms και E. coli και εμβολιάστηκαν με E. coli (ATCC#51813), Klebsiella pneumoniae (ATCC#10031), Enterobacter aerogenes (ATCC#13048), Pseudomonas aeruginosa (ATCC#27853) και Staphylococcus aureus (ATCC#6538) σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή (Microbiologics).

Διηθήθηκαν όγκοι των 100 mL και προσδιορίστηκε ο αριθμός των E. coli και των κολοβακτηριοειδών /100 mL σε κάθε δείγμα, σύμφωνα με τα προβλεπόμενα στη μέθοδο ISO 9308-01/ Standard Test.

Στους υπολογισμούς χρησιμοποιήθηκαν οι λογάριθμοι των καταμετρηθέντων πληθυσμών προκειμένου η αναμενόμενη κατανομή κατά Poisson να προσεγγίσει την κανονική (Gauss).

Υπολογίστηκε η % ανακτησιμότητα σύμφωνα με την εξίσωση: $R = 100 * (N_s - N_u) / T$, όπου:

R=% ανακτησιμότητα

N_s =αριθμός μικροοργανισμών- στόχων στο εμβολιασμένο δείγμα

N_u =αριθμός μικροοργανισμών- στόχων σε μη εμβολιασμένο δείγμα

T= «αληθής» τιμή μικροοργανισμών- στόχων βάσει της μέσης τιμής παρτίδας που δίνεται από τον κατασκευαστή και της Heterotrophic Plate Count (H.P.C.) / pour plate technique.

Χρησιμοποιώντας τις % R των δειγμάτων υπολογίστηκε η μέση % R και η % RSD των ανακτησιμοτήτων. (Η % RSD είναι η τυπική απόκλιση επί 100 διαιρούμενη δια της μέσης τιμής).

Συγκρίνεται η μέση ανακτησιμότητα και η % RSD για την εκτίμηση ικανότητας με τα κριτήρια του πίνακα:

ΠΙΝΑΚΑΣ . Κριτήρια αποδοχής αρχικής και διαρκούς ανακτησιμότητας και επαναληψιμότητας.

ΑΠΟΔΟΣΗ ΔΟΚΙΜΗΣ	ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΑΠΟΔΟΧΗΣ	
	ΕΜΒΟΛΙΟ σε ΦΥΣΙΚΟ ΝΕΡΟ	EZ-FPCTM
ΑΡΧΙΚΗ	31% < % Rec < 127% % RSD < 28%	85% < % Rec < 106% % RSD < 14%
ΔΙΑΡΚΗΣ	27% < % Rec < 131% % RSD < 28%	78% < % Rec < 113% % RSD < 14%

ΕΛΕΓΧΟΙ

ΑΡΝΗΤΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ

Με κάθε παρτίδα υποστρωμάτων ή αντιδραστηρίων αλλά και με κάθε παρτίδα δειγμάτων (ή ανά 10 δείγματα) εξετάζεται αρνητικό δείγμα. Ο αρνητικός έλεγχος γίνεται με διήθηση και προσδιορισμό επί εναιωρήματος Pseudomonas aeruginosa (π.χ. ATCC#27853) και Staphylococcus aureus (ATCC#6538). Η ζωτικότητα του εναιωρήματος αρνητικού ελέγχου ελέγχεται με καλλιέργεια σε μη εκλεκτικό μέσο (π.χ. nutrient agar ή tryptic soy agar).

ΘΕΤΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ

Με κάθε παρτίδα υποστρωμάτων ή αντιδραστηρίων αλλά και με κάθε παρτίδα δειγμάτων εξετάζεται θετικό δείγμα. Ο θετικός έλεγχος γίνεται με διήθηση και προσδιορισμό εναιωρήματος E. coli (ATCC#51813) και Klebsiella pneumoniae (ATCC#10031).

ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΤΙΚΑ ΜΕΣΑ

Με κάθε παρτίδα υποστρωμάτων ή αντιδραστηρίων εξετάζεται αρνητικό και θετικό δείγμα. Επίσης εξετάζεται αρνητικό και θετικό δείγμα με κάθε παρτίδα δειγμάτων που υποβάλλεται σε επιβεβαίωση.

ΕΛΕΓΧΟΙ ΣΤΕΙΡΟΤΗΤΑΣ

Γίνονται έλεγχοι στεριότητας για κάθε παρτίδα των μεμβρανών (σε μη εκλεκτικό μέσο) και των υποστρωμάτων, για 24 ± 2 ώρες σε $36 \pm 2^\circ \text{C}$. Επίσης, ελέγχεται η διαδικασία διήθησης με διήθηση 100mL αποστειρωμένου αραιωτικού και επώαση σε μη εκλεκτικό μέσο για 24 ± 2 ώρες σε $36 \pm 2^\circ \text{C}$.

ΕΛΕΓΧΟΣ ΑΝΑΓΝΩΣΗΣ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ

Πραγματοποιούνται αναγνώσεις εις διπλούν μία φορά το μήνα ή κάθε 20 δείγματα. Οι δύο αναγνώσεις δεν πρέπει να διαφέρουν περισσότερο από 5%.

ΛΟΙΠΟΙ ΕΛΕΓΧΟΙ

Παρακολουθούνται οι θερμοκρασίες επώασης των τρυβλίων, αποστείρωσης των μέσων και ψύξης των δειγμάτων και των προτύπων και διακριβώνεται όλος ο χρησιμοποιούμενος εξοπλισμός.

ΛΟΙΠΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΙ

Προσδιορίστηκε το κατώτερο όριο προσδιορισμού (LOD), η αβεβαιότητα, η επαναληψιμότητα η ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα, η ευαισθησία και η εξειδίκευση ενώ η ακρίβεια εκτιμήθηκε με συμμετοχή σε προγράμματα διεργαστηριακών συγκρίσεων (QWAS).

5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

	T. COLIFORMS	E. COLI
ΚΑΤΩΤΕΡΟ ΟΡΙΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ (cfu/100mL)	1	1
ΑΝΑΚΤΗΣΙΜΟΤΗΤΑ (% του H.P.C.)	95	95
% ΑΝΩΤΑΤΟ ΟΡΙΟ ΑΒΕΒΑΙΟΤΗΤΟΣ (95% επ.εμπ.)	+8	+8
% ΚΑΤΩΤΑΤΟ ΟΡΙΟ ΑΒΕΒΑΙΟΤΗΤΟΣ (95% επ.εμπ.)	-8	-8
% ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ ($2.8 * \% \text{RSD}_r$)	3	3
% ΕΝΔΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΜΟΤΗΤΑ ($2.8 * \text{RSD}_{RL}$)	4	4
ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ		1
ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΣΗ		1
ΑΚΡΙΒΕΙΑ (PROF. TEST. Z- SCORE)	ΑΠΟ -0,13 ΕΩΣ -1,58	ΑΠΟ +0,09 ΕΩΣ -1,77

Επειδή, η καταμέτρηση των E. coli γίνεται με δοκιμασία ινδόλης επί των τυπικών αποικιών του (A) που έδωσαν αρνητική δοκιμασία οξειδάσης, δηλαδή των ολικών κολοβακτηριοειδών, γι' αυτό η καταμέτρηση των αποικιών των E. coli είναι οπωσδήποτε μικρότερη ή ίση αυτής των ολικών κολοβακτηριοειδών. Ακόμη και αν χρησιμοποιηθούν δύο μεμβράνες με τη μία να επωάζεται στους 37°C και την άλλη στους 44°C , τότε, στην περίπτωση κατά την οποία η πρώτη δώσει μικρότερη καταμέτρηση από τη δεύτερη, η πρώτη (των 37°C) απορρίπτεται ως αποτυχούσα και ως καταμέτρηση των Ολικών Κολοβακτηριοειδών δίδεται η καταμέτρηση της δεύτερης μεμβράνης (των 44°C), όπως είναι προφανές και αποτελεί πάγια πρακτική στη

διαδικασία της μεθόδου αλλά και όπως επιβάλλεται προκειμένου να ισχύει ο ορισμός των εν λόγω μικροοργανισμών που δίδεται στη μέθοδο ISO 9308-01.

6. ΚΑΘΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΑΓΚΑΙΑΣ ΣΥΝΘΗΚΗΣ ΟΡΘΟΤΗΤΟΣ ΤΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ

Όπως είναι αναμενόμενο, εξ αιτίας των ορισμών που δίνονται στη μέθοδο, αλλά και όσων αναπτύχθηκαν ανωτέρω, σε κάθε περίπτωση, η οποιαδήποτε έκθεση αποτελεσμάτων μικροβιολογικών εξετάσεων ύδατος, που διεξήχθη βάσει της μεθόδου ISO 9308-01 ή οποιασδήποτε ισοδύναμής της, **οφείλει να περιέχει αριθμό Ολικών Κολοβακτηριοειδών ίσο ή μεγαλύτερο αυτού των E. coli**. Η εν λόγω συνθήκη εγκλεισμού των συνόλων των πληθυσμών των δύο αυτών ειδών μικροοργανισμών, αποτελεί **αναγκαία συνθήκη ορθότητας κάθε εργαστηριακού προσδιορισμού του πληθυσμού των ολικών κολοβακτηριοειδών και των E. coli σε ένα οποιοδήποτε δείγμα ύδατος, συμφώνως με τη μέθοδο ISO 9308-01 (και κάθε ισοδύναμής της)** και δύναται να χρησιμοποιείται ως εργαλείο ελέγχου της ορθότητας κάθε σχετικής μικροβιολογικής εξέτασης ύδατος. (Σημ: Στο “rapid test” που προβλέπεται ως εναλλακτική δοκιμή, η καταμέτρηση γίνεται επί της ίδιας μεμβράνης οπότε και πάλι ισχύει η ίδια αναγκαιότητα ορθότητας ενός προσδιορισμού).

7. ΕΠΙΛΟΓΟΣ

Το Ε.Κ.Ε.Τ. επικύρωσε και υιοθέτησε την επίσημη μέθοδο αναφοράς για τον προσδιορισμό των Ολικών Κολοβακτηριοειδών και των E. coli στο νερό, ISO 9308-01, που αποτελεί μια ασφαλή και ιδιαίτερος ευαίσθητη μέθοδο για τον έλεγχο της ποιότητας του πόσιμου νερού. Η μεγάλη ευαισθησία της την καθιστά πολύτιμη, αλλά λόγω της έλλειψης εκλεκτικότητας απαιτείται ιδιαίτερη προσοχή όταν υπάρχουν παρεμποδίσεις από άλλα είδη μικροοργανισμών.

Πολύτιμοι αποβαίνουν και οι ορισμοί των ειδών των προσδιοριζομένων με τη μέθοδο ISO 9308-01 μικροοργανισμών και η πλήρης υποστήριξη των ορισμών αυτών δια της αναλυτικής διαδικασίας της μεθόδου, που μας δίνουν τη δυνατότητα της διατυπώσεως σχέσεως εγκλεισμού των συνόλων των πληθυσμών τους σε ένα δείγμα, κάτι το οποίο αποτελεί **σημαντικό εργαλείο ελέγχου της ορθότητας διεξαγωγής κάθε μέτρησης Ολικών Κολοβακτηριοειδών και E. coli σε νερό, με τη μέθοδο ISO 9308-01 ή με οποιαδήποτε ισοδύναμή της.**

8. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1) EN ISO 9308-01:2000. Ποιότητα νερού- Ανίχνευση και καταμέτρηση κολοβακτηριοειδών και E. coli- Μέρος 1: Μέθοδος διήθησης από μεμβράνες.
- 2) EN ISO 9308-01:2000/ TECHNICAL CORRIGENDUM 1: 2007
- 3) ISO 8199:2005 Water Quality- General guidance on the enumeration of micro- organismw by culture.
- 4) ISO 19458: 2006. Water Quality- Sampling for microbiological analysis.
- 5) ΟΔΗΓΙΑ 98/83/ΕΚ του Συμβουλίου της Ε.Ε. της 3ης Νοεμβρίου 1998.
- 6) ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ/ ΚΥΑ Υ2/2600/2001 (ΦΕΚ 892/11-07-2001). Ποιότητα νερού ανθρώπινης κατανάλωσης.
- 7) ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ/ ΔΥΓ2/ Γ.Π. οικ. 38295 (ΦΕΚ 630/ 26-04-2007). Τροποποίηση της ΚΥΑ Υ2/2600/2001.
- 8) ΑΡΗΑ/ ΑWWA/ WEF: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater/ 21st edition.
- 9) ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΝΤΟΥΙΣΜΠΟΥΡΓΚ- ΕΣΣΕΝ/ ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΥΔΑΤΟΣ ΡΗΝΑΝΙΑΣ- ΒΕΣΤΦΑΛΙΑΣ (I.W.W.)/ Διευκρινιστική Επιστολή του προέδρου της ομάδας εργασίας της αρμόδιας επιτροπής του ISO για τα Κολοβακτηριοειδή και τα E. coli.