



**TÜRK STANDARDI**  
**TURKISH STANDARD**

**TS EN ISO 6222**

Şubat 2002

ICS 07.100.20; 13.060.70

---

**SU KALİTESİ - KÜLTÜRÜ YAPILABİLEN  
MİKROORGANİZMALARIN SAYIMI -  
AGAR BESİYERİNDE AŞILAMA İLE KOLONİ SAYIMI**

Water quality - Enumeration of culturable micro - organisms -  
Colony count by inoculation in a nutrient agar culture medium

---

**TÜRK STANDARDLARI ENSTİTÜSÜ**  
**Necatibey Caddesi No.112 Bakanlıklar/ANKARA**

- Bugünkü teknik ve uygulamaya dayanılarak hazırlanmış olan bu standardın, zamanla ortaya çıkacak gelişme ve değişikliklere uydurulması mümkün olduğundan ilgililerin yayınları izlemelerini ve standardın uygulanmasında karşılaştıkları aksaklıkları Enstitümüze iletmelerini rica ederiz.
- Bu standardı oluşturan Hazırlık Grubu üyesi değerli uzmanların emeklerini; tasarılar üzerinde görüşlerini bildirmek suretiyle yardımcı olan bilim, kamu ve özel sektör kuruluşları ile kişilerin değerli katkılarını şükranla anarız.



#### **Kalite Sistem Belgesi**

İmalât ve hizmet sektörlerinde faaliyet gösteren kuruluşların sistemlerini TS EN ISO 9000 Kalite Standardlarına uygun olarak kurmaları durumunda TSE tarafından verilen belgedir.



#### **Türk Standardlarına Uygunluk Markası (TSE Markası)**

TSE Markası, üzerine veya ambalajına konulduğu malların veya hizmetin ilgili Türk Standardına uygun olduğunu ve mamulle veya hizmetle ilgili bir problem ortaya çıktığında Türk Standardları Enstitüsü'nün garantisi altında olduğunu ifade eder.

## **TSEK**

#### **Kalite Uygunluk Markası (TSEK Markası)**

TSEK Markası, üzerine veya ambalajına konulduğu malların veya hizmetin henüz Türk Standardı olmadığından ilgili milletlerarası veya diğer ülkelerin standardlarına veya Enstitü tarafından kabul edilen teknik özelliklere uygun olduğunu ve mamulle veya hizmetle ilgili bir problem ortaya çıktığında Türk Standardları Enstitüsü'nün garantisi altında olduğunu ifade eder.

## **DİKKAT!**

TS işareti ve yanında yer alan sayı tek başına iken (TS 4600 gibi), mamulün Türk Standardına uygun ürettiğine dair üreticinin beyanını ifade eder. **Türk Standardları Enstitüsü tarafından herhangi bir garanti söz konusu değildir.**

*Standartlar ve standardizasyon konusunda daha geniş bilgi Enstitümüzden sağlanabilir.*

**TÜRK STANDARDLARININ YAYIN HAKLARI SAKLIDIR.**

## Önsöz

- Bu Standard, CEN tarafından Kabul edilen EN ISO 6222 (1999) standardı esas alınarak TSE Çevre Hazırlık Grubu'na bağlı Çevre Sağlığı ve Atıklar Özel Daimi Komitesi'nce TS ISO 6222 (1998)'nin revizyonu olarak hazırlanmış ve TSE Teknik Kurulunun 5 Şubat 2002 tarihli toplantısında Türk Standardı olarak kabul edilerek yayımına karar verilmiştir.
- Bu standardın daha önce yayımlanmış bulunan baskıları geçersizdir.

## Su kalitesi - Kültürü yapılabilen mikroorganizmaların sayımı - Agar besiyerinde aşılama ile koloni sayımı

### 0 Giriş

Birçok mikroorganizma türünü barındıran, toprak bitki gibi çeşitli kaynaklardan suya geçen mikroorganizmaların sayılarının tahmini, su kalitesinin tayininde ve denetiminde yararlı bilgi sağlar. Sayımlar, genellikle 36°C ve 22°C'da agar besiyerinde geli şebilen mikroorganizmalarla yapılır.

Koloni sayımları yeraltısuyu kaynaklarının durumunu ve koagülasyon filtrasyon ve dezenfeksiyon gibi su arıtım işlemlerinin etkinliğini tayin etmek için yararlıdır ve su dağıtım sistemlerinin durum ve temizliğinin de göstergesidirler. Koloni sayımlarından bozucu organizmalarla bulaşmış ürünlerden kaçınmak için az sayıda mikroorganizma içermesi gereken suların, gıda hazırlamada ve içme suyu olarak kullanımı durumunda, bu tip suların uygunluğunu tespit etmek içinde yararlanılabilir.

Koloni sayımlarının ana değeri, sık ve uzun dönemli izlemeyi temel alarak beklenen değışimlerin tespit edilmesi esasına dayanır. Sayımdaki ani artış ciddi kirlenmeler için erken bir uyarıcı olabilir ve derhal yeni araştırmaları mecburi kılar.

### 1 Kapsam

Bu standard, suda yaşıyan ve kültürü yapılabilen mikroorganizmaların, 36°C ve 22°C'da aerobik inkübasyondan sonra agar besiyerinde oluşan kolonilerinin sayılmasına dair bir metodu kapsar.

Bu metot, şehir içme suyu arıtım işlemlerinin etkinliğini ölçmeye yöneliktir ve bütün su tiplerine uygulanabilir. Metot özellikle kapalı muhafaza kaplarında tutulan ve doğal mineral sular gibi insanların tüketeyeği tüketimine yönelik suyun incelenmesi için uygundur.

### 2 Atıf yapılan standard ve/veya dokümanlar

Bu standardda, tarih belirtilerek veya belirtilmeksizin diğere standard ve/veya dokümanlara atıf yapılmaktadır. Bu atıflar metin içerisinde uygun yerlerde belirtilmiş ve aşağıda liste halinde verilmiştir. Tarih belirtilen atıflarda daha sonra yapılan tadil veya revizyonlar, atıf yapan bu standardda da tadil veya revizyon yapılması şartı ile uygulanır. Atıf yapılan standard ve/veya dokümanın tarihinin belirtilmemesi halinde en son baskısı kullanılır.

EN, ISO, IEC vb. No	Adı (İngilizce)	TS No <sup>1)</sup>	Adı
EN ISO 3696:1987	Water for analytical laboratory use - Specification and test methods	TS EN ISO 3696	Su - Analitik laboratuvarında kullanılan - özellikler ve deney metotları
EN 25667-2	Water quality - Sampling -Part 2: Guidance on sampling techniques	TS 5090 EN 25667-2	Su kalitesi - Numune alma Bölüm 2: Numune alma teknikleri kılavuzu
ISO 5667-3:1994	Water quality - Sampling - Part 3: Guidance on the preservation and handling of sampling	TS 5106 ISO 5667-3	Su kalitesi - Numune alma - Bölüm 3: Numunelerin muhafaza ve taşınma kuralları
ISO 6887 <sup>2)</sup> :	Microbiology - General guidance for the preparation of dilutions for microbiological examination	TS 6235 EN ISO 6887-1	Gıda ve hayvan yemleri mikrobiyolojisi - Deney numunelerinin başlangıç süspansiyonun ve ondalık seyreltilerinin hazırlanması için genel kurallar
ISO 8199	Water quality - General guide for microbiological examination Enumeration of micro - organisms by culture	TS 9528	Su kalitesi - Mikroorganizmaların kültür yoluyla sayımı - Genel kurallar

1) TSE Notu -Atıf yapılan standartların TS numarası ve Türkçe adı 3. ve 4. kolonda verilmiştir.

2) TSE Notu: ISO 6887 iptal edilmiş yerine ISO 6887-1 geçmiştir.

### 3 Tarifler

Bu Standard amaçları bakımından aşağıdaki tarif uygulanır.

**Kültürü yapılabilen mikroorganizmalar:** Bu standardda tanımlanan deney şartlarında, belirtilen besiyerinde koloni oluşturabilen bütün aerobik bakteriler, mayalar ve küflerdir.

### 4 Prensiptir

Metodun prensibi, numunenin ölçülmüş hacimleri veya seyreltilmiş numunenin, petri kaplarındaki özel besiyeriyle karıştırılarak aşılmasıdır. Bir petri grubunda inkübasyon süresi 36°C'da 44 saat diğeriinde 22°C'da 68 saattir.

Koloni oluşturan birimlerin (cfu) sayısı, numunenin bir mililitresi başına besiyeri ortamında oluşan kolonilerin sayısından hesaplanır.

### 5 Cihaz ve cam malzemeler

Genel mikrobiyolojik laboratuvar ekipmanı ve özellikle aşağıdakiler;

#### 5.1 Buharla sterilizasyon için cihaz (otoklav)

5.2 İnkübatör Sıcaklığı (36 ± 2)°C'da muhafaza edilebilen,

5.3 İnkübatör Sıcaklığı (22 ± 2)°C'da muhafaza edilebilen,

5.4 Cam veya plâstik petri kapları Çapı 90 mm veya 100 mm olan,

5.5 Su banyosu veya benzer bir cihaz, sıcaklığı (45 ± 1)°C'da tutulabilen.

5.6 Koloni sayma ekipmanı Karanlık zemine karşı aydınlatmalı, luplu ve tercihan mekanik veya elektronik dijital sayıcısı olan.

### 6 Numune alma

Su numuneleri EN 25667-2 ve EN ISO 5667-3'de verilen numune alma, işleme ve muhafaza kurallarına göre alınır.

İncelenecek doğal mineral sular da dahil kapalı kaplarda muhafaza edilen sular için, numuneler 12 saat içerisinde şişelenmeli ve bu periyot esnasında (5±3) °C'da tutulmalıdır.

### 7 Besiyeri ve seyrelticiler

#### 7.1 Temel maddeler

Besiyerinin hazırlanması için homogen ve analitik saflıkta kimyasallar kullanılmalıdır; alternatif olarak eşdeğer bir susuz besiyeri kullanılır ve firmanın talimatı dikkate alınır.

Ortamı hazırlamak için deney koşullarında gelişmeyi önleyebilecek maddeler içermeyecek şekilde EN ISO 3696'ya göre hazırlanan cam damıtma cihazından elde edilen su ve deiyonize su kullanılmalıdır.

Not - Farklı saflıktaki kimyasal maddelerin kullanımına, deneyde eşdeğer performans sağlamaları durumunda izin verilir.

#### 7.2 Seyreltici

Seyreltme işlemini yapmak için ISO 8199'da verilen pepton seyrelticisi kullanılır.

#### 7.3 Maya ekstraktı agar

Tripton (kazeinin, pankreatik sindirimi ile elde edilen pepton) .....	6,0 g
Susuz maya ekstraktı.....	3,0 g
Agar, toz veya pellet .....	10g-20g (Jelleşme durumuna göre)
Su.....	1000 mL

Yukarıdaki karışımlar veya susuz besiyeri suya katılır ve ısıtarak çözülür. Gerekirse sterilizasyondan sonra 25°C'da pH 7,2 + 0,2 olacak şekilde ayarlanır.

Yukarıdaki çözeltilerden 15 mL - 20 mL'lik kısımlar halinde olacak şekilde tüplere, şişelere veya diğer kaplara bölünür. Daha büyük hacimlerde muhafaza için 500 mL kapasiteli muhafaza kapları kullanılır. Otoklavda (Madde 5.1), (121±3)°C'de (15±1) dakika süreyle sterilize edilir.

Kullanılacağı zaman besiyeri eritilir, soğumaya bırakılır ve su banyosu (Madde 5.5) kullanılarak, (45 ± 1)°C'da tutulur. Besiyerinin 45°C'da 4 saatte n fazla olmayacak şekilde muhafaza edilmesi tavsiye edilir. Bu süreden sonra besi yeri kullanılmamalıdır.

## 8 İşlem

### 8.1 Hazırlama ve aşılama

Numunenin hazırlanması, seyreltmelerin yapılması ve besiyerine aşılama ISO 8199, EN ISO 5667-3 ve ISO 6887'ye göre yapılır.

Dökme plâk metodu kullanılır (ISO 8199). Petri kaplarındaki deney numunesinin hacmi (veya seyreltilmiş hacmi) 2 mL'yi aşmayacak şekilde eritilmiş maya özütü agar besiyerinin (Madde 7.3) 15 mL-20 mL'sine ilâve edilir ve yavaşça döndürerek dikkatlice karıştırılır, besiyeri bekletilir. Deney numunesinin (veya seyreltilmişinin) ilâvesi ve eritilmiş besiyerinin ilâve edilmesi arasındaki zaman 15 dakikayı geçmemelidir. Her bir sıcaklıkta inkübasyon için en az bir petri plâğına aşılama yapılır.

### 8.2 İnkübasyon ve inceleme

Petri plâkları ters çevrilerek bir grup (36 ± 2)°C'da (44 ± 4) saat süreyle; diğer bir grup ise (22 ± 1)°C'da (68 ± 4) saat süreyle inkübasyona bırakılır. Petri plâkları inkübatörden alınır alınmaz incelenir. Bu mümkün değilse (5±3)°C'da muhafaza edilir ve 48 saat içerisinde incelenir. Düzensiz büyüme görülen kaplar iptal edilir.

### 8.3 Kolonilerin sayımı

İnkübasyonun her bir sıcaklığı için ISO 8199'da belirtilen işlemleri takiben her bir petri plâğında büyüyen koloniler sayılır ve numunenin 1 mL'sinde mevcut koloni oluşturan birimlerin tahmini sayısı hesaplanır.

## 9 Sonuçların gösterilmesi

Sonuçlar, her bir inkübasyon sıcaklığı için numunenin her bir mililitresi için koloni oluşturan birimlerin sayısı cinsinden (cfu/mL) ifade edilir.

Seyreltilmemiş numunenin deneyde kullanılan kısmının aşılandığı kaplarda koloniler oluşmamışsa, sonuçlar bir mililitrede 1 koloni oluşturan birimden daha az olarak ifade edilir. Çok yüksek seyreltmeler kullanılarak aşılanan kaplarda 300'den fazla koloni varsa, sonuçlar 300 şeklinde yaklaşık olarak ifade edilir.

## 10 Deney raporu<sup>2)</sup>

Deney raporunda bu standarda (TS EN ISO 6222) atıf yapılmalı ve aşağıdaki maddeleri kapsayan uygun bilgiler verilmelidir:

- Numunenin tam olarak tanımı için gerekli bütün detaylar;
- Kullanılan yöntem (dökme plâk veya yüzeye yayarak) ve kullanılan besiyeri,
- İnkübasyon süresi ve sıcaklığı,
- Madde 9'a göre açıklanmış sayım sonuçları,
- Analiz esnasında gözlenen herhangi bir oluşum ve takip edilen işlemlerle ilgili diğer olaylar.

2) TSE Notu - Deney raporu, burada istenilen bilgilere ilâveten, TS EN ISO/IEC 17025'de verilen bilgileri de ihtiva edecek şekilde düzenlenebilir.

## TSE BÖLGE MÜDÜRLÜKLERİ

SEHİR	KOD	TELEFON	FAX
Gebze/Kocaeli (KALITE KAMPUSÜ)	262	653 07 51	653 08 06
Adana	322	458 19 40	458 82 43
Antalya	242	346 65 03	334 12 43
Bursa	224	243 83 25	243 83 24
Çorum	364	284 90 41	254 94 04
Denizli	258	269 13 65	269 13 67
Erzurum	442	327 20 92	327 21 70
Gaziantep	342	231 12 28	233 12 47
İçel	324	337 41 72	337 41 70
İzmir	232	376 24 25	386 33 98
Kayseri	352	321 11 06	321 15 69
Konya	332	239 04 80	239 04 83

## TSE MAHALLİ TEMSİLCİLİKLERİ

Adapazarı	264	278 17 87	273 64 59
Adıyaman	416	216 46 46	232 38 36
Afyon	272	217 40 84	217 40 85
Ağrı	472	321 22 20	321 22 20
Alsaray	382	213 10 49	213 99 10
Alzancak İth. Tem.	232	464 02 76	463 85 32
Amasya	358	218 10 79	218 23 97
Ardahan	478	211 30 36	211 30 36
Arvin (Hopa)	466	371 50 98	371 50 97
Aydın	256	212 39 62	212 82 54
Bahçeşehir	266	239 40 00	243 02 20
Bandırma	266	714 26 61	714 32 61
Bartın	488	213 12 45	213 74 06
Bayburt	458	211 70 13	211 60 42
Bilecik	228	212 20 67	212 38 98
Bingöl	426	213 11 59	213 18 72
Bilecik	434	226 71 15	
Bolu	374	218 01 84	217 52 45
Burdur (P. Prj. Md)	248	252 96 96	252 98 50
Çanakkale	286	217 10 14	217 10 14
Çanlon	376	213 10 53	213 31 14
Dişarbaslar	412	228 53 67	224 45 12
Edirne	284	214 33 46	214 33 47
Elazığ	424	218 35 00	218 96 90
Erzincan	446	214 21 05	223 36 93
Erenköy İth. Tem.	216	576 85 44	576 85 77
Eskişehir	222	236 02 78	236 03 83
Giresun	454	216 11 27	216 26 41
Gümüşhane	456	213 11 12	213 60 59
Hakkari (Yüksekova)	438	351 24 47	
Halkalı İth. Tem.	212	437 10 86	437 11 11
Hatay	326	213 98 89	213 77 65
Haydarpaşa İth. Tem.	216	333 21 58	334 10 99
İsparta	246	218 16 14	232 94 48
İğdır	476	228 65 91	228 65 92
İskenderun	326	613 13 84	613 15 56
İstanbul (Taksim)	212	252 43 10	293 18 90
Kahramanmaraş	344	225 19 71	225 19 71
Karaman	338	415 17 31	
Kars	474	212 28 59	223 24 97
Karabük	372	424 11 42	
Kdz. Ereğli	372	316 11 61	
Kastamonu	366	214 94 63	214 94 67
Kırkkale	318	218 70 26	218 70 26
Kırkdareli	288	214 42 56	214 11 09
Kırşehir	386	212 24 31	212 16 26
Kocaeli	262	226 96 18	226 47 03
Kilis	342	813 10 44	813 72 97
Kütahya	274	216 10 74	216 14 04
Malatya	422	326 04 84	325 82 87
Manisa	236	233 70 23	233 70 25
Mardin	482	212 10 33	213 03 14
Miğla	252	214 11 22	214 71 21
Muş	436	212 11 95	
Nevşehir	384	212 32 42	213 23 85
Ordu	452	223 24 07	223 30 71
Osmaniye İth. Tem.	328	814 11 14	814 11 14
Rize	464	217 10 82	212 22 00
Samsun	362	432 36 11	432 78 22
Sirt	484	223 12 03	
Sinop	368	261 18 06	261 18 06
Sivas	346	221 13 84	221 22 37
Sanlıurfa	414	215 50 07	216 36 50
Sirnak	486	216 22 68	216 22 68
Tekirdağ	282	260 13 04	260 61 20
Tokat	356	214 10 33	214 45 40
Trabzon	462	326 44 21	326 94 19
Tunceli	428	212 10 87	212 28 74
Turgutlu	236	313 15 55	312 79 26
Uşak	276	215 10 84	215 20 93
Van	432	223 33 16	
Yalova	216	814 12 24	812 17 82
Yozgat	354	212 18 29	
Zonguldak	372	251 15 11	253 16 14