

现代环境监测新技术译丛

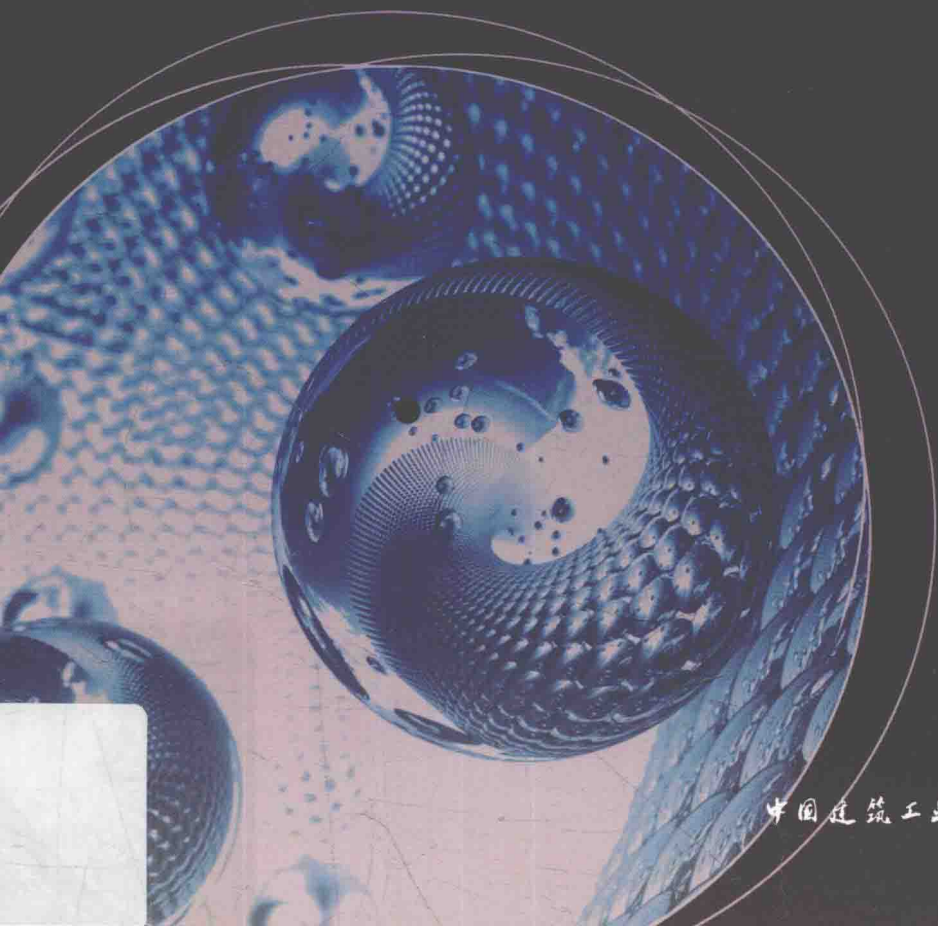
水中病原微生物微纳检测技术

Detection of Pathogens in Water Using Micro and Nano-technology

[意] 詹保罗·祖凯里
Giampaolo Zuccheri

[英] 尼古劳斯·阿斯普如蒂斯 著
Nikolaos Asproulis

周小红 俞博凡 蔡强 译



中国建筑工业出版社

现代环境监测新技术译丛

水中病原微生物微纳 检测技术

Detection of Pathogens in Water Using
Micro and Nano-Technology

[意]詹保罗·祖凯里

[英]尼古劳斯·阿斯普如蒂斯 著

Giampaolo Zuccheri

Nikolaos Asproulis

周小红 俞博凡 蔡 强 译

中国建筑工程工业出版社

著作权合同登记图字：01-2013-8246 号

图书在版编目 (CIP) 数据

水中病原微生物微纳检测技术/ (意) 詹保罗·祖凯里, (英) 尼古拉斯·阿斯普如蒂斯著; 周小红, 俞博凡, 蔡强译. —北京: 中国建筑工业出版社, 2017. 12

(现代环境监测新技术译丛)

ISBN 978-7-112-21222-4

I. ①水… II. ①詹… ②尼… ③周… ④俞… ⑤蔡… III. ①纳米技术—应用—病原微生物—医学检验—研究 IV. ①R446. 5

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2017)第 223624 号

Detection of Pathogens in Water Using Micro and Nano-Technology/ Giampaolo Zuccheri and Nikolaos Asproulis, ISBN 9781780401089

Copyright ©2012 IWA Publishing

This translation of *Detection of Pathogens in Water Using Micro and Nano-Technology* is published by arrangement with IWA Publishing of Alliance House, 12 Caxton Street, London, SW1H 0QS, UK, www.iwapublishing.com

Chinese Translation Copyright ©2017 China Architecture & Building Press

Through Vantage Copyright Agency of China

All rights reserved.

本书经广西万达版权代理中心代理, IWA Publishing 正式授权中国建筑工业出版社独家翻译、出版

责任编辑: 姚荣华 董苏华 张文胜

责任校对: 李美娜 张 颖

现代环境监测新技术译丛

水中病原微生物微纳检测技术

[意] 詹保罗·祖凯里 [英] 尼古拉斯·阿斯普如蒂斯 著

周小红 俞博凡 蔡 强 译

*

中国建筑工业出版社出版、发行 (北京海淀三里河路 9 号)

各地新华书店、建筑书店经销

北京红光制版公司制版

北京建筑工业出版社印刷

*

开本: 787×960 毫米 1/16 印张: 20 字数: 365 千字

2018 年 1 月第一版 2018 年 1 月第一次印刷

定价: 68.00 元

ISBN 978-7-112-21222-4

(30861)

版权所有 翻印必究

如有印装质量问题, 可寄本社退换

(邮政编码 100037)

译者的话

水是生命之源，病原微生物是水中常见的天然寄居者，对人群的健康风险不可避免。在饮用水供应的诸多环节中，种类繁多、生命力强的病原微生物无孔不入，以水为媒介的传染病也屡见报道，我国尤甚。

及时、准确地监测水中病原微生物，是保障饮用水安全的重要手段。然而，定性或定量检测病原微生物，困难且昂贵。即使是常规意义上的快速检测，也通常需要若干小时，往往也不能现场操作，不能满足复杂且庞大的供水系统的检测需求，不能起到预警、预防的作用。

为解决水中病原微生物的监测预警难题，本书在饮用水供应各环节风险分析的基础上，介绍了基于微纳技术的各种快速检测和在线监测技术，阐述了供水管网或龙头水等大体积水样自动采集、微生物自动浓缩、细胞裂解、核酸提取的微流控技术以及靶标核酸分子信号增强技术和多种病原微生物同时检测的生物传感器。同时，本书介绍了欧盟健康水项目从水样浓缩到微阵列检测的全套开发过程，水中分枝杆菌、嗜肺军团杆菌、病毒的定量检测新方法，也针对性地分析了细菌检测的 PCR 引物设计技术和纳米级流场的流体结构设计技术。因本书汇集了各国科研团队的最新研究成果，为饮用水微生物安全保障提供了更多、更新的替代手段，特此翻译出来，供国内同行参考。

本书的翻译过程得到了课题组研究生的大力协助，王若瑜、朱锡宇、刘金钊、周燕、岳慧慧、董骞、韩世同、唐云飞、王建森、丁超、徐玮琦参与了本书第 1、2、5、8~13、15 章的初稿翻译工作。蔡强参与了本书第 3、4、6、7、14 章的初稿翻译工作。王程完成了本书第 8 章校对工作。周小红完成了第 16、17 章的翻译，与俞博凡一起完成了全书的统稿和第二稿校审。

限于译者的知识水平，在翻译中肯定存在一些不确切甚至讹误之处，诚请同行专家和广大读者不吝指出，译者不胜感激。

前言

饮用水微生物安全风险控制是保障人体健康的重要因素之一。在过去的 150 年，确保饮用水水质达标一直是防控疾病传染的核心，也是介水传染病预防的基础。世界卫生组织（WHO）和联合国儿童基金会（UNICEF）相关数据显示，目前全球每 8 人约有 1 人无法获得安全的饮用水。此外，20 世纪用水量的增长率是世界人口增长率的两倍之多，加剧了水资源短缺现状。

虽然发达国家的管网供水水质一直被认为是值得信赖的，但是也逐渐暴露出饮用水微生物安全隐患。不可否认，目前的水和废水处理技术取得了显著进展，尽管如此，介水传染病仍是全球公共卫生的主要威胁之一（WHO，2003）。据估计，介水传染病导致了全球人口 4% 的死亡率，5.7% 的疾病负担与其有关。传统水处理工艺的效力不足是引起介水传染病暴发的重要原因之一。美国（*Cryptosporidium*, Milwaukee, 1993）、加拿大（*Escherichia coli* O157: H7, Walkerton, Ontario, 2000）、英国以及欧洲其他发达国家均出现过相关疫情。仅 2007 年，欧洲八国报道的介水传染病疫情达到 17 次，且很可能存在漏报（European Food safety Authority, 2009），患病人数达到 10912 人，其中 232 人需要住院接受治疗，主要的病原微生物为弯曲菌属、诺如病毒、贾第虫属和隐孢子虫属。

不规律或一些极端降水事件会破坏水处理设施，使得隐孢子虫卵由泉水或湖水等天然水体渗透进入饮水蓄水池，并可在配水管网系统中留存很长一段时间，即便是剧烈、反复冲洗也无法将其去除，从而导致隐孢子虫病的暴发。来自英格兰和威尔士的一项研究表明，在 20 世纪，10% 的介水传染病的暴发与强降雨有关，20% 与持续低强度降雨有关。旱灾或干旱期的延长使得河水流量减小，从而增加水中病原微生物的浓度，这对水处理厂同样是一个考验。

除了英国、芬兰、捷克和瑞典的一些特殊案例外，欧洲的介水传染病暴发与洪水相关性较小。2010 年 11 月，瑞典北部（Östersund）的人体隐

孢子虫感染事件暴发,波及 12700 余人,其中 174 人体内检测到隐孢子虫。该地的原水和饮用水中均检测出隐孢子虫,推测这起事件是由污水流入湖库型饮用水源地导致的。2011 年 2 月,该地的给水处理厂工艺升级,有效控制了隐孢子虫污染,此时有关饮水前先需对水进行煮沸的建议才得到取消 (ECDC, 2011)。

由于所需的生物制剂量大,对大型城市市政供水系统蓄意破坏是有难度的。然而,破坏小规模供水系统的处理效能是可能发生的。考虑到供水系统的复杂性,可能的蓄意投毒地点有很多。由此带来的供水安全故障可能导致大规模污染和疾病的暴发。其他一些低剂量反复污染可能导致重大的散发性疾病,非常遗憾的是,公共卫生监督部门常常忽略将其与饮用水源联系起来。

在食品加工和公共卫生领域,使用达不到饮用标准的水可能产生严重后果,当然也取决于水是否直接被饮用(食用)以及潜在污染物是否经过了后续处理。为了预防风险,用于食品工业的水必须确保水质全部达标。在食品生产中,水质管理不善可能导致重大的经济损失。目前还没有一种方法可以收集、处理和分析水样中所有的目标病原微生物。事实上,现今采用的低频次批量检测水质方式有可能错过突发性的水污染事件。开发通用检测方法所面临的困难包括:受关注风险病原微生物(病毒、细菌、原生动物)之间的生理差异、有效浓缩大体积水样实现对某些低浓度目标病原微生物的检测、去除样品中附带浓缩的微生物抑制剂以及建立不依赖于微生物培养为终点的标准检测方法。在公共卫生和涉水微生物分析领域,不同技术有效集成,形成一种单一、通用、简单的病原微生物检测方法和系统,这将代表该领域的显著进步。样品采集、在线处理和纯化以及 DNA 微阵列技术的最新进展是研发水中病原微生物通用检测方法的基础。除通用检测方法外,追踪病原微生物来源、判别水处理过程是否失效并确定新的质控流程等特定检测技术仍需得到发展。

供水系统的传统微生物检测技术耗时长,当得到结果时,很多人可能已经饮水且患病。WHO/UNICEF 技术工作组 (Villie-Morgon, 法国, 2010 年 11 月 16~18 日) 也表示,在饮用水微生物检测领域应该采用新的快速评估技术。此类迫切需求推动了相关分子生物传感器方法的开发和验证,该方法预计会比现行的细胞培养方法节省大量时间。尽管如此,该方法在走向实用化的过程中也必须克服一些技术挑战。在此过程中,快速和高性能的微电子技术,多功能化的微流控技术以及生物传感器表面修饰的纳米结构自组装技术,都可以发挥巨大作用。

在此背景下,欧盟第六轮框架计划支持的 DINAMICS 研究项目试图

把大学、研究所和企业联合起来，开发面向应用需求的自动化、网络化微生物分析系统。最终希望开发出一套全自动化运行样机，可以采集供水管网或龙头水等大体积水样，对病原微生物进行浓缩、细胞裂解、核酸提取等步骤后，将其暴露于生物传感器表面，达到同步检测多种病原微生物的目的。在病原微生物检测结果为阳性时，整个分析过程数据可通过移动电话网络对外发送信息。

本书邀请 DINAMICS 项目参与者撰写相关章节，对该项目的核心成果和技术进行了介绍。Sabine Müller 和 Jonathan Loeffler (Steinbeis Europa Zentrum) 概述了欧盟饮用水法规。Christian Mittermayr (Lambda, GmbH) 论述了微生物风险评估的复杂性及用于风险管理决策的数学模型。Miloslava Prokšová 与其合作者 (Slovak Water Research Institute) 对水样采集的完整程序进行了详细介绍。Christoph Zeis (Provenion Engineering) 对一种大体积水样病原微生物的自动浓缩系统进行了详细介绍。Hunor Santha 与其同事 (University of Technology and Economy of Budapest) 介绍了所研发的细胞裂解装置。Theo Veenstra (LioniX, BV) 详细描述了具有特定功能的微流控装置，如 DNA 提取、PCR 芯片、混合器和阀门、带电极的 DNA 杂交室等。Daniele Gazzola 与其同事 (University of Bologna) 首先回顾了电化学传感器的一般特性，接着详细报道了 DINAMICS 项目中研发的该类传感器。Alessandra Vinelli 与其合作者 (University of Bologna) 针对病原微生物核酸靶标分子信号增强技术的发展现状进行了综述。Dimitris Mantzalis 与其合作者详细阐述了连续流分子体系下的水环境模型建模方法。Nikolaos Asproulis 对微纳流控装置中传输现象的各种数值模拟技术进行了综述。

为了使本书内容更加丰富，我们也邀请了部分未参与 DINAMICS 项目的研究者分享他们的观点和结论。Sophie Courtois (Suez Environment) 介绍了欧盟健康水项目从水样浓缩到微阵列检测的全套开发过程。Joseph Faulkinham (Virginia Polytechnic Institute and State University) 介绍了水生分枝杆菌的定量检测方法。Vicente Catalan 与其同事 (LabAqua) 介绍了水中嗜肺军团杆菌的检测新方法。Johan Nordgren 与其同事 (Linköping University) 讲述了水中病毒的检测新方法。Richard Christen 与其同事 (Université de Nice) 针对如何设计水生细菌检测的 PCR 引物进行了介绍。Nikolai Priezjev 分享了他在纳米级流场的流体结构与壁面滑移方面的丰富见解。Theodoros Karakasidis 和 Antonios Liakopoulos 介绍了在微纳流控装置中观察到的滑移现象及其影响因素。

我们清楚地认识到，仅凭本书介绍的知识和技能不足以彻底改变饮用

水微生物安全风险检测的现状。尽管如此，我们仍然相信，微纳技术的迅速发展能将病原微生物分子水平的检测带入一个成熟的技术驱动型领域。与化学分析技术充分利用自动化相类似的优势，在未来，借助微纳技术的病原微生物检测可能帮助地球上的城市和家庭免于受到介水传染病的感染。本书以及本书的作者们一直致力于该目标的快速实现。

詹保罗·祖凯里 (Giampaolo Zuccheri)

(博洛尼亚, 意大利)

尼古劳斯·阿斯普如蒂斯 (Nikolaos Asproulis)

(克兰菲尔德, 英国)

撰 稿 者

第 1 章

Sabine Müller

Jonathan Loeffler

Steinbeis-Europa-Zentrum der Steinbeis
Innovation gGmbH

Haus der Wirtschaft

Erbprinzenstrasse 4-12

D-76133 Karlsruhe

Germany

第 2 章

Christian Mittermayr

Lambda GmbH

Gewerbepark 2

Rainbach

Austria, A-4261

第 3 章

Miloslava Prokšová

Marianna CíCHOVÁ

Lívia Tóthová

Water Research Institute

Slovak National Water Reference

Laboratory

Arm.gen.L.Svobodu 5

812 49 Bratislava – Slovak Republic

第 4 章

Christoph Zeis

Provenion GmbH

Spannleitenberg 1

85614 Kirchseeon

Germany

第 5 章

Hunor Sántha

Budapest University of Technology and

Economics

Department of Electronics Technology

H-1521, Hungary

P.O. box: 91

第 6 章

Theo T. Veenstra

LioniX BV

PO Box 456

7500 AL Enschede

The Netherlands

第 7 章

Daniele Gazzola

Università degli Studi di Bologna

Centro Interdipartimentale di Ricerca

Industriale Scienze della Vita e

Tecnologie per la Salute

Via Tolara di Sopra

50 – Ozzano Emilia

Bologna

Italy 40064

Simone Bonetti

Università degli Studi di Bologna

Dipartimento di Biochimica “G. Moruzzi”

Via Innerio
48 – Bologna
Italy 40126

Giampaolo Zuccheri

Università degli Studi di Bologna
Dipartimento di Biochimica“G.Moruzzi”
(currently: Università degli Studi di
Bologna, Department of Pharmacy and
Biotechnology)

Via Innerio
48 – Bologna
Italy 40126

第 8 章

Alessandra Vinelli

Università degli Studi di Bologna
Dipartimento di Biochimica“G.Moruzzi”
Via Innerio
48 – Bologna
Italy 40126

Manuele Onofri

Università degli Studi di Bologna
Centro Interdipartimentale di Ricerca
Industriale Scienze della
Vita e Tecnologie per la Salute
Via Tolara di Sopra
50 – Ozzano Emilia
Bologna
Italy 40064

Giampaolo Zuccheri

Università degli Studi di Bologna
Dipartimento di Biochimica“G.Moruzzi”
(currently: Università degli Studi di
Bologna Department of Pharmacy and
Biotechnology)
Via Innerio
48 – Bologna
Italy 40126

第 9 章

Dimitrios Mantzalis
Konstantinos Karantonis

Nicolaos Asproulis

László Könözy

Dimitris Drikakis

Dept. of Fluid Mechanics and
Computational Sciences

Cranfield University

Bld. 83

Cranfield University

Cranfield

Beds MK43 0A

第 10 章

Nicolaos Asproulis

Dept. of Fluid Mechanics and
Computational Sciences

Cranfield University

Bld. 83, Cranfield University

Cranfield, Beds MK43 0A

第 11 章

Sophie Courtois

Anne Cajon

Aurore Romey

Fanny Poyet

Claude Mabilat

SUEZ ENVIRONNEMENT

38, Rue du President Wilson

78230 Le Pecq – France

第 12 章

Joseph O. Falkinham III

Department of Biological Sciences

Virginia Polytechnic Institute and State
University

Derring Hall

Blacksburg, VA, 24061-0406, U.S.A.

第 13 章

Elena Soria

M. Adela Yáñez

Raquel Múrtula

Vicente Catalán

Labagua
C/Dracma, 16-18
Polígono Industrial Las Atalayas
03114 Alicante, Spain

第 14 章

Johan Nordgren
Div. Molecular Virology
Linköping University
581 85 Linköping, Sweden
Lennart Svensson
Div. Molecular Virology
Linköping University
580 85 Linköping, Sweden

第 15 章

Julien Gardès
Institute of Signaling
Developmental Biology and Cancer
Centre de Biochimie
Faculté des Sciences
Université de Nice, France
6109 Nice cedex 2, France

Richard Christen
Institute of Signaling, Developmental
Biology and Cancer Centre de Biochimie
Faculté des Sciences
Université de Nice, France
06108 Nice cedex 2, France

第 16 章

Nikolai V. Priezjev
Dept. of Mechanical Engineering,
Michigan State University
2465 Engineering Building
East Lansing, MI 48824-1226

第 17 章

Theodoros E. Karakasidis
Athanassios Liakopoulos
Department of Civil Engineering
School of Engineering
University of Thessaly
Pedion Areos, 38334 Volos, Greece

目 录

译者的话

前言

撰稿者

第 1 章 欧洲微生物水质分析法律及标准概述	1
1.1 引言	1
1.2 欧洲有关生活饮用水微生物分析的法规	1
1.3 有关娱乐设施用水微生物学分析的欧洲法规	3
1.4 微生物水质分析的欧洲和国际标准	4
本章参考文献	8
第 2 章 饮用水系统遭受生物恐怖主义袭击的风险分析	9
2.1 引言	9
2.2 定义	10
2.3 恐怖主义攻击风险分析	12
2.4 饮用水系统遭受生物袭击的风险分析	16
2.5 风险评估	27
本章参考文献	33
第 3 章 在线污染物监测系统的样本采集程序	37
3.1 引言	37
3.2 饮用水的微生物监测	38
3.3 采样方案	40
3.4 新型饮用水安全保障措施	44
3.5 在线污染物监测设备 (OCMD) 所采用的新技术	47
本章参考文献	50
第 4 章 一种从大体积水样中浓缩样本用于后续芯片实验室 检测的设备	51
4.1 宏观—微观流控界面的必要性	51

4.2 分离原理	52
4.3 大海捞针	57
4.4 DINAMICS 系统中预浓缩装置的技术特点	58
本章参考文献	63
第 5 章 在线式水中病原微生物筛查设备的 DNA/RNA 持续 释放方法	64
5.1 引言	64
5.2 病原微生物裂解/细胞破碎方法的调研	66
5.3 水样和在线(准连续)操作的注意事项	77
5.4 DINAMICS 项目研发实例	80
本章参考文献	83
第 6 章 DINAMICS 水样测试系统的核心微系统: 芯片单元的 设计和实现	85
6.1 DINAMICS 中的微流体	85
6.2 DINAMICS 流体部分的设计	85
6.3 DINAMICS 的微流控组件	87
6.4 现状	95
6.5 结论	96
本章参考文献	97
第 7 章 水中病原微生物检测的电化学生物传感器技术	98
7.1 引言	98
7.2 水中病原微生物检测的生物传感器技术	98
7.3 用于 DNA 生物传感器的通用电化学检测系统	104
7.4 DINAMICS 项目开发的芯片简化电化学技术	108
本章参考文献	114
第 8 章 实现核酸检测中生物传感器信号放大的生化和纳米 技术手段	115
8.1 引言	115
8.2 基于催化反应的放大方法	117
8.3 基于纳米颗粒和纳米结构的信号放大手段	127
8.4 基于 DNA 纳米结构的方法	130
8.5 结论与展望	135
本章参考文献	136
第 9 章 水环境中微米和纳米通道的计算模型	140
9.1 引言	140

9.2 物理特性的影响	142
9.3 计算方法	144
9.4 密闭几何体中的液体流动	155
9.5 水的分子模型	162
本章参考文献	164
第 10 章 微纳流体传输现象的计算方法	167
10.1 引言	167
10.2 模拟方法	167
10.3 大分子的元模型	173
10.4 混合连续分子模型	174
本章参考文献	175
第 11 章 利用超滤浓缩和 DNA 阵列技术对原水和已处理 水中病原微生物的多重检测	177
11.1 引言	177
11.2 改进和简化的病毒、细菌和原生动物的浓缩方法	178
11.3 利用高密度微阵列进行核酸提取、扩增和序列鉴别的集成方案	183
11.4 结果	186
11.5 结论	192
本章参考文献	193
第 12 章 水源性分枝杆菌的检测和计数	195
12.1 水源性分枝杆菌生态学	195
12.2 水生分枝杆菌生理生态学	197
12.3 环境分枝杆菌的风险分析和源跟踪	199
12.4 分枝杆菌检测和计数的采样以及样品处理方法	200
12.5 分枝杆菌的检测或计数	202
本章参考文献	203
第 13 章 用于水中嗜肺军团杆菌快速检测的新型分子学技术	207
13.1 前言	207
13.2 免疫检测和 <i>Legionella</i> 快速检测	208
13.3 采用微流控技术检测 <i>Legionella</i>	209
13.4 未来研究方向	216
本章参考文献	218
第 14 章 水环境中病毒的检测	219
14.1 简介	219
14.2 水中病毒的浓缩技术	225

14.3 病毒检测和定量方法	231
14.4 展望	235
本章参考文献	236
第 15 章 水生细菌检测中 PCR 引物的设计	242
15.1 概述	242
15.2 目的基因	242
15.3 引物设计	244
15.4 DNA 检测技术	250
15.5 结论	256
本章参考文献	257
第 16 章 纳米级流场的流体结构与壁面滑移	259
16.1 摘要	259
16.2 简介	259
16.3 分子动力学模型	262
16.4 结果	265
16.5 结论	278
本章参考文献	279
第 17 章 基于原子模拟分析流体纳米级滑移	282
17.1 引言——滑移的定义	282
17.2 滑移的重要性	283
17.3 滑移的实验研究	285
17.4 原子模拟	286
17.5 滑移的原子模拟结果	291
17.6 结论	299
本章参考文献	300

第 1 章

欧洲微生物水质分析法律及标准概述

Sabine Müller, Jonathan Loeffler

1.1 引言

目前，在微生物水质分析领域，欧盟对其成员国有三个指定的既成指标：98/83/EC 生活饮用水指令（供人生活的饮水和生活用水水质标准）；2006/7/EC 沐浴水质指令（沐浴水质管理标准）以及 2008/105/EC 指令（有关水政策领域的环境质量标准）。所有标准均直接引自有关采样、检测和验证方法及系统的欧洲/国际的特定质量标准（EN ISO 标准），以及世界卫生组织（WHO）特定的准则。

1.2 欧洲有关生活饮用水微生物分析的法规

98/83/EC 理事会指令，也称为生活饮用水指标，是迄今为止有关人类饮用水（微生物）质量评估的主要法律文件。

该法规于 1998 年发布，为确保消费者健康安全，它设定了一般性义务，要求饮用水及食品生产行业用水必须健康和清洁。鉴于此，文件中规定了几项水质质量标准（微生物、化学和感官性能参数），这些标准在很大程度上是以世界卫生组织准则（World Health Organization, 2008）为依据的。尽管指令中列出了超过 25 种化学指标，只有三种微生物参数用于饮用水水质分析，即大肠杆菌（*E. coli*）、肠球菌和铜绿假单胞菌（*P. aeruginosa*），所有的对应值均规定：不得检出/100 mL 水样（瓶装水标准为不得检出/250 mL）。另外一个普遍适用的微生物参数是关于细菌菌落计数，在 22°C 和 37°C 条件下数值分别为 100 细菌量/mL 和 20 细菌量/mL。除此之外，大概有 20 个指标性参数，这些数值仅在有需要或者满足预先设定的参数值失败时需要加以确定。比如说，上述参数

包括感官性能参数或者放射性参数、电导率、浊度以及产气荚膜梭菌数量（产气荚膜梭菌）（包括孢子）和大肠菌群（设定值为每 100mL 或 250mL 水样不得检出）。

该指令中已对用于这些参数的分析方法提供了说明，并直接参照 CEN /ISO 标准方法（产气荚膜梭菌除外）。因此，必须通过分别在 EN ISO 9308-1，EN ISO 7899-2 和 EN ISO 16266 中详细说明了特定膜过滤技术来进行大肠杆菌、大肠菌群、肠球菌和绿脓杆菌的检测和计数，必须通过在营养琼脂培养基上接种来进行细菌菌落计数（如 EN ISO 6222 中所述）。

就生活饮用水标准而言，欧盟成员国必须定期监测饮用水水质。欧洲理事会建议设立具体监测方案以检查水质是否达标。目前已知的监测方法有两种：检查监控和审计监控（向委员会报告）。指令中规定了采样规格（采样点、采样频率和采样体积）。这些都取决于供水的水量以及供水的目的。之前列举的微生物参数都与监测要求有关。

当欧盟各成员国将饮用水指令翻译成本国法规时，可在其境内纳入相关的额外要求和参数（对新的分析方法应设定附加参数和规范的数值），也可根据需要采用更严格的标准，或者加以补充。但成员国不得降低标准，因为对于人类健康保障的水平应在整个欧盟范围内保持相同。在某些特定情况下，如存在污染的可能性，可在监测方案中将附加参数作为法规规定下来。在任何时候，由各成员国开发的分析方法都应保证其结果的可靠性、可重复性以及可比性。

该指令最近的一个重要议题是：每个成员国都有义务向消费者提供充分的和最新的饮用水水质信息。必须三年一次向欧盟委员会报告饮用水水质，以定期向消费者提供补充信息。

自2009年以来，欧盟委员会启动对饮用水指令的修订。依据2008年外部顾问团针对修订开展的一项影响评估研究以及参与修订筹备工作的利益相关方的建议，修订后的指令于2012年出版。欧盟委员会将修改参数及规格列表，同时在指令中引入应对风险的方法。其他内容变化将考虑指令的应用条件和基于供水量大小向欧盟委员会汇报的义务有关。

为了保证欧洲法律规范未来与最新技术及科学发展保持一致，欧盟委员会在过去几年中特别征集（特别是在 FP7 框架计划中）与微生物水质分析标准方法研究直接相关的项目建议书。因此，未来该领域将会引入更多具体和合理的技术作为本领域的标准。