

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 614.777-078

Иванова Л.В.¹, Артёмова Т.З.¹, Загайнова А.В.¹, Гипп Е.К.¹, Максимкина Т.Н.¹, Красняк А.В.¹, Шустова С.А.¹, Юрцева Н.А.¹, Райкович Блейзер Л.М.², Сипс Ж.², Хертерих С.², Бруин Б.², Губин С.Н.³, Брызнюк Н.А.³**ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ УСКОРЕННОГО ВЫПОЛНЕНИЯ САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ВОДЫ**¹ ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Минздрава России, 119991, Москва;² IDEXX Laboratories, Уэстбрук, 04092, США;³ ООО «Симедика РУ», 141069, Королёв

Выполнена оценка метода обнаружения и идентификации санитарно-показательных микроорганизмов в пробах воды с применением тест-систем IDEXX производства фирмы IDEXX Laboratories, Inc (США), основанных на использовании хромогенных питательных сред и реагентов в соответствии с методикой, разработанной фирмой-изготовителем. Установлено, что метод IDEXX не уступает референтным методам исследования воды, которые применяются на территории РФ и в международной практике. Сравнительная оценка посевов показала сопоставимость полученных результатов как при исследовании загрязненной воды с естественными микробиоценозом, так и воды модельных водоёмов, контаминированных суточными культурами тест-микроорганизмов. Метод позволяет сократить время проведения анализа за счёт исключения проведения биохимических реакций (оксидазная активность, ферментация углеводов, образование индола и др.), необходимых для определения видовых признаков микроорганизмов, и получить окончательный результат анализа через 24 ч. На основании полученных результатов тест-системы IDEXX Laboratories (США) могут применяться на территории РФ для оценки качества воды по санитарно-микробиологическим показателям.

Ключевые слова: санитарно-микробиологический анализ воды; санитарно-показательные микроорганизмы; гигиенические нормативы; методы контроля; тест-системы.

Для цитирования: Иванова Л.В., Артёмова Т.З., Загайнова А.В., Гипп Е.К., Максимкина Т.Н., Красняк А.В., Шустова С.А., Юрцева Н.А., Блейзер Л.М., Сипс Ж., Хертерих С., Бруин Б., Губин С.Н., Брызнюк Н.А. Оценка эффективности тест-систем для ускоренного выполнения санитарно-бактериологического анализа воды. *Гигиена и санитария*. 2017; 96(11): 1109-1114. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2017-96-11-1109-1114>

Для корреспонденции: Загайнова Анжелика Владимировна, канд. биол. наук, зав. лаб. санитарной бактериологии и паразитологии ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Минздрава России, 119991, Москва. E-mail: milkbacterialab@list.ru

Ivanova L.V.¹, Artemova T.Z.¹, Zagaynova A.V.¹, Gipp E.K.¹, Maksimkina T.N.¹, Krasnyak A.V.¹, Shustova S.A.¹, Yurtseva N.A.¹, Raykovich Bleyzer L.M.², Sips Zh.², Kherterikh S.², Bruin B.², Gubin S.N.³, Bryznyuk N.A.³

EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF TEST-SYSTEMS FOR RAPID IMPLEMENTATION OF SANITARY-BACTERIOLOGICAL ANALYSIS OF WATER¹Center for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, Moscow, 119991, Russian Federation;²IDEXX Laboratories, Westbrook, 04092, USA;³Ltd «Simedika Ru», Korolev, 141069, Russian Federation

There was executed the assessment of the method of the detection and identification of sanitary-indicative microorganisms in water samples with the use of test systems IDEXX manufactured by IDEXX Laboratories, Inc (USA), based on the use of chromogenic culture media and reagents in accordance with the methodology developed by the manufacturer. IDEXX method was found not to be inferior to the reference methods of water analysis applied in Russia and in international practice. Comparative evaluation of crops showed the consistency of results, as in the study of contaminated water with natural microbiocenoses and water modeling of water bodies, contaminated by daily cultures test microorganisms. The method allows reduce time of an analysis due to the exclusion of the biochemical reactions (oxidase activity, fermentation of carbohydrates, formation of indole, etc.) needed to determine species of microorganisms, and to obtain the final result of the analysis after 24 hours. On the basis of obtained results test systems IDEXX Laboratories (USA) may be applied on the territory of the Russian Federation for the assessment of water quality according to sanitary-microbiological indices

Key words: sanitary-microbiological analysis of water; sanitary-indicative microorganisms of the hygienic standards; monitoring methods; test system.

For citation: Ivanova L.V., Artemova T.Z., Zagaynova A.V., Gipp E.K., Maksimkina T.N., Krasnyak A.V., Shustova S.A., Yurtseva N.A., Raikovovich Blazer L.M., Sipes J., Herterich S., Bruin B., Gubin S.N., Bryznyuk N.A. Evaluation the effectiveness of test-systems for rapid implementation of sanitary-bacteriological analysis of water. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)* 2017; 96(11): 1109-1114. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2017-96-11-1109-1114>

For correspondence: Angelica V. Zagaynova, MD, PhD, Associate Professor, Head of the Laboratory of Sanitary Bacteriology and Parasitology of the Center for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, Moscow, 119991, Russian Federation. E-mail: milkbacterialab@list.ru

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment: The study had no sponsorship.

Received: 06 March 2017

Accepted: 05 July 2017

Введение

В связи с переходом практики санитарно-гигиенического контроля объектов окружающей среды на новые критерии оценки качества и необходимости их гармонизации с международными подходами требуется дальнейшее совершенствование существующей методической базы контроля за циркуляцией возбудителей воднообусловленных инфекций и их индикаторов в водных объектах в направлении повышения чувствительности, точности, экспрессности методов, соответствия международным стандартам.

Разработанный метод определения в воде индикаторных и потенциально-патогенных бактерий с использованием тест-систем IDEXX Laboratories (США) (далее IDEXX) простой, позволяет в течение суток получить результат оценки качества воды. Эксклюзивным представителем фирмы-производителя в России является компания ООО «Симедика РУ».

В ряде работ отмечено потенциальное преимущество тест-системы Colilert-18 по сравнению с методом ISO. Кроме того, после разработки метода была организована широкая апробация метода IDEXX (defined substrate of procedure) в 20 лабораториях 13 европейских стран (Niemel S.I., Lee J.V., Trieren C.R.) при исследовании воды с уровнем бактериального загрязнения от 5 до 15 КОЕ/100 мл. Установлено, что тест-система Colilert-18 является альтернативой референтному методу ISO.

Анализ литературных источников показал, что тест-система Colilert-18, основанная на определении β-D-галактозидазы и β-D-глюкоронидазы, широко использовалась для выявления колиформных бактерий и *E.coli* в объектах окружающей среды, в том числе в воде. При сравнении тест-системы Colilert-18 по сравнению с мембранным методом ISO на среде с тергитолом приведены сопоставимые результаты и рядом авторов доказано потенциальное преимущество тест-системы Colilert-18 над традиционными методами (Edberg et al, 1988; Sartory and Howard, 1912; Palmer et al, 1993; Tridar et al, 1997).

Для внедрения IDEXX в практику лабораторного контроля в Российской Федерации (РФ) необходимо проведение сравнительной оценки эффективности IDEXX с действующими в настоящее время референтными методами определения уровня бактериального загрязнения воды различного назначения, что и явилось целью работы.

Объект исследования – питьевая вода; вода поверхностных водоёмов (река Москва); вода, расфасованная в ёмкости; экспериментальные модельные водоёмы с искусственным загрязнением.

Материал и методы

Колиформные бактерии, *E.coli* и фекальные энтерококки определяли методом мембранной фильтрации в соответствии с утверждёнными в РФ нормативно-методическими документами водно-санитарного законодательства: МУК 4.2. 1018–01 «Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды»; МУК 4.2.1884–04 «Санитарно-микробиологический и санитарно-паразитологический анализ воды поверхностных водных объектов»; МУ 2.1.4.1184–2002 «Методические указания по внедрению и применению Санитарных правил и норм СанПиН 2.1.4.1116–2002 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды, расфасованной в ёмкости. Контроль качества», ГОСТ Р 31942–2012 (ISO 19458:2006) «Вода питьевая. Отбор проб для микробиологического анализа»; МУ 2.1.5.800–99.

Посевы выполняли с использованием мембранных фильтров фирмы «Владисарт» (г. Владимир), фильтрующая мембрана из нитроцеллюлозы (ФМНЦ) производства фирмы «Мерк» с диаметром пор 0,45 мкм, предназначенных для задержания бактериальных клеток. Посевы проб воды на мембранные фильтры проводили с десятикратными разведениями с таким расчётом, чтобы после инкубации получить рост изолированных колоний. После фильтрации мембранный фильтр при помощи стерильного пинцета помещали на селективную питательную среду в соответствии с видовой принадлежностью исследуемого микроорганизма посевом вверх. Инкубацию посевов осуществляли в термостате при температуре 37 ± 1 °C в течение установленного времени для каждого микробиологического показателя, после чего производили учёт выросших колоний и определяли их количество в 100 мл воды (КОЕ/100мл).

Кроме метода мембранной фильтрации был применён титрационный метод. При определении колиформных бактерий, *E.coli*, энтерококков проводили посев воды в трёх рядах в объёме 10 см³, 1 см³, 0,1 см³, 0,01 см³, 0,001 см³ в глюкозо-пептонную среду накопления. Через 24 ч инкубации при обнаружении роста производили посев на плотные селективные среды – Эндо, энтерококк-агар, колиформ-агар. После инкубации посевов в течение 24 ч при температуре 37°C проводили учёт и идентификацию выделенных микроорганизмов.

При определении *P. aeruginosa* посева проб воды производили в среду накопления «Бонде» с последующей инкубацией посевов в течение 24 ч с последующим высевом на подтверждающую среду «Блеск» и «цетримид агар». Наиболее вероятное число (НВЧ) бактерий определяли по статистическим таблицам.

Исследования проводили на воде поверхностных водоисточников с естественным микробиоценозом, воде, расфасованной в ёмкости и искусственных водоёмах, контаминированных тест-микроорганизмами. В качестве тест-микроорганизмов использовали контрольные штаммы музейных микроорганизмов: *Escherichia coli* 1257, *Pseudomonas aeruginosa* 10145 ATCC, *Pseudomonas fluorescens* ATCC № 948, *Enterococcus faecalis* 29212 ATCC, *Enterococcus faecium* 7171, *Citrobacter freundii* 101/57, *Enterobacter cloacae* ГИСК А-186 В-4982, *Klebsiella pneumoniae subsp.* ATCC 700603, полученные из коллекции музея живых культур ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича Роспотребнадзора и ФБУН ГНЦ ПМБ г. Оболенска, обладающие типичными морфологическими, культуральными, биохимическими и серологическими свойствами.

Методы определения индикаторных микроорганизмов в питьевой воде с использованием тест-систем IDEXX производства фирмы IDEXX Laboratories, Inc. (США) основаны на использовании хромогенных питательных сред для выращивания и идентификации бактерий. Принцип действия хромогенных питательных сред заключается в образовании окрашенных веществ (индикаторов) в результате взаимодействия высокоспецифичных ферментов бактерий с компонентами среды.

Для получения количественного результата использован оригинальный способ распределения (раститровки) анализируемого объёма воды в объёме 100 мл в стерильные пластмассовые лотки с 51 ячейками. Пробу воды после добавления субстрата вносят в лоток и распределяют по ячейкам. Затем лоток запечатывают герметично на аппарате Sealer и помещают в термостат ячейками вниз при температуре $37 \pm 0,5$ °C, время инкубации каждой тест-системы зависит от видовой принадлежности исследуемых микробиологических показателей (колиформные бактерии, псевдомонады, энтерококки). Наличие в лунке бактерий определяют по изменению цвета или по появлению способности к свечению – флюоресценции под УФ-лампой. Число положительных лунок подсчитывают и определяют НВЧ по таблице, прилагаемой к каждой тест-системе.

Колиформы и *E.coli* определяли с использованием системы Colilert-18. Для контроля качества системы использовали воду модельных водоёмов: стерильную водопроводную, инфицированную суточными культурами штаммов *E.coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae* после инкубации посевов 18 или 24 ч. При положительном результате подсчитывали лунки с изменённым цветом (жёлтым) для определения показателя колиформных бактерий, из которых определяли флюоресцирующие лунки для определения *E.coli*. Энтерококки определяли с использованием системы *Enterolert*. Для контроля качества системы исследовали воду модельных водоёмов, инфицированную *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* и *E.coli*.

Бактерии *P. aeruginosa* определяли с использованием системы *Pseudolert* в присутствии штаммов *P. aeruginosa*, *E.coli*, *P. fluorescens*.

Исследования проведены на воде модельных водоёмов, создаваемых путём разбавления воды, отобранной из реки Москвы стерильной водопроводной водой в соотношении 1:100 и 5:1000, таким образом, чтобы уровень естественного загрязнения воды соответствовал высокому и низкому уровням загрязнения в реальных условиях.

Также исследовалась вода модельных водоёмов со стерильной водопроводной водой, контаминированной штаммами му-

Таблица 1

Результаты сравнительной оценки задержания микроорганизмов на фильтрующей поверхности мембран производства ЗАО «Владисарт» и ЗАО НТЦ «Владипор»

№ пробы	Разведение	Виды микроорганизмов	Мембранные фильтры различных производителей			
			Владисарт	Миллипор	Владисарт	Миллипор
1	1:100	<i>E.coli</i>	30	40	6	12
		Колиформы	64	70	20	16
		Энтерококки	40	30	0	0
2	1:10	<i>E.coli</i>	300	250	60	50
		Колиформы	600	700	100	200
		Энтерококки	210	190	2	4
1		<i>E.coli</i>	130	200	12	10
		Колиформы	270	300	16	14
		Энтерококки	40	30	10	12
2		<i>E.coli</i>	140	120	15	15
		Колиформы	600	500	100	300
		Энтерококки	150	170	8	10
3		<i>E.coli</i>	170	150	18	30
		Колиформы	300	300	51	43
		Энтерококки	70	85	23	28
4		<i>E.coli</i>	90	50	10	16
		Колиформы	250	180	25	40
		Энтерококки	50	70	18	24

зейных тест-микроорганизмов с низким и высоким уровнями микробного загрязнения.

Из каждого модельного водоёма отбирали пробы воды для проведения санитарно-микробиологического анализа (КОЕ/100 мл) на соответствующие питательные селективные среды в соответствии с видовой принадлежностью исследуемых микроорганизмов: питательный агар – для определения ОМЧ, дифференциально-диагностическая среда Эндо, колиформ-агар, среда ГПС – для выявления колиформных бактерий и *E.coli*, энтерококк-агар – для выделения энтерококков, среды «Блеск» и «Цитримид агар» отечественного и импортного производства – для первичной идентификации *P. aeruginosa*.

Натурные исследования проводили при анализе питьевой воды, расфасованной в ёмкости и воды поверхностного водоёма из реки Москвы. Всего исследовано 4 пробы питьевой воды, расфасованной в ёмкости, 16 проб воды из реки Москвы и 20 проб воды из модельных водоёмов, контаминированных семью тест-микроорганизмами.

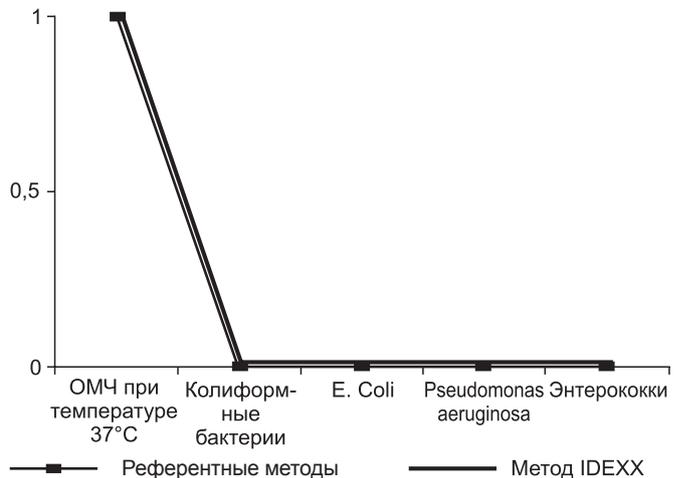
Для анализа питьевой воды использовали воду, расфасованную в ёмкости первой и высшей категории качества. В пробах воды определяли ОМЧ, колиформные бактерии, *Escherichia coli*, энтерококки, *P. aeruginosa*.

Исследования на музейных тест-микроорганизмах были выполнены в двух независимых сериях экспериментов. В каждой серии испытаны 10 модельных водоёмов. Отбор и анализ исследованных проб проводили в трёх повторностях с параллельным определением КОЕ в 100 мл методом мембранной фильтрации, титрационным методом и с использованием тест-системы IDEXX.

Данные, полученные в результате экспериментальных и натурных исследований, обработаны с использованием программного обеспечения Microsoft Windows, Microsoft Excel 2003 и пакета статистических программ Statistic for Windows.

Результаты

Оценка эффективности микробиологического анализа воды методом мембранной фильтрации с использованием мембранных фильтров фирм «Владисарт» и «Миллипор». В связи с тем, что достоверность результатов микробиологического анализа проб воды методом мембранной фильтрации зависит от эффективности задержания микроорганизмов на фильтрующей по-



Результаты сравнительной оценки определения уровней бактериального загрязнения питьевой воды, расфасованной в ёмкости, с методом мембранной фильтрации, титрационным методом и с применением тест-систем IDEXX.

верхности мембраны, были проведены исследования по оценке эффективности мембранных фильтров фирм «Владисарт» и «Миллипор» для различного уровня микробного загрязнения воды (колиформные бактерии, *E.coli*, энтерококки) (табл. 1).

При использовании мембранных фильтров «Владисарт» и «Миллипор» для оценки качества воды с различным уровнем микробного загрязнения статистически достоверных различий не установлено (коэффициент корреляции $r = 0,947$ при статистической значимости $p = 0,05$, коэффициент регрессии – накл. $b = 0,97$, сдвиг $a = 11,13$, стандартная ошибка $b = 0,06$, стандартная ошибка $a = 10,64$, стандартное отклонение 50,69). На основании полученных результатов дальнейшие исследования проводили с использованием мембран фирмы «Владисарт».

Сравнение методов при анализе воды, расфасованной в ёмкости. Исследования питьевой воды, расфасованной в ёмкости методами мембранной фильтрации, титрационным и методом IDEXX на тест-системах Colilert-18, Pseudolert, Enterolert показали сопоставимость полученных результатов (см. рисунок). Установлено, что при проведении анализа питьевой воды, расфасованной в ёмкости стандартными методами, вода соответствовала установленным требованиям. Аналогичный результат получен с использованием тест-системы IDEXX, ложноположительные результаты не выявлены.

Сравнительная оценка методов анализа воды питьевой, искусственно контаминированной санитарно-показательными микроорганизмами. В первой серии исследований при уровне заражения $n \times 10^2 - n \times 10^3$ КОЕ/100 см³ установлено (табл. 2), что с применением тест-системы IDEXX численность колиформных бактерий в воде модельных водоёмов варьировала от 19,2 до 129,8 КОЕ/см³ (мл); методом мембранной фильтрации – от 12 до 150 КОЕ/см³.

Несмотря на отличающиеся величины статистическая обработка данных подтвердила сопоставимость результатов санитарно-микробиологического анализа воды $r = 0,961$ при $p = 0,0001$.

При использовании титрационного метода установлены более высокие значения числа колиформных бактерий (от 46 до 280 КОЕ/100 см³). Соответственно коэффициент корреляции был установлен ниже ($r = 0,767$). Однако эти различия не существенны ($p = 0,012$). В четырёх водоёмах бактерии *E.coli* не обнаружены ни одним из сравниваемых методов.

Во второй серии исследований также было проведено 10 независимых экспериментов при анализе воды 10 модельных водоёмов с уровнем загрязнения $n \times 10^2 - n \times 10^3$ КОЕ/100 см³. Получены аналогичные результаты, подтвердившие высокий уровень сопоставимости сравниваемых результатов. Бактерии *E.coli* как и в первой серии исследований были обнаружены не во всех модельных водоёмах. Титрационным методом показан более высокий уровень инфицирования воды бактериями, которые входят в показатель «колиформные бактерии». Однако это различие не отразилось на

Таблица 2

Сопоставимость результатов санитарно-микробиологического анализа воды питьевой, искусственно контаминированной санитарно-показательными микроорганизмами, полученными на тест-системе Colilert-18 с методами, утверждёнными РФ (серия 1)

Проба	Тест-системы Colilert-18, КОЕ/100 мл		Референтные методы, утверждённые на территории РФ, КОЕ/100 см ³			
	Уровень контаминации 10 ² -10 ³ , КОЕ/100 см ³					
	колиформы	<i>E.coli</i>	мембранный		титрационный	
колиформы			<i>E.coli</i>	колиформы	<i>E.coli</i>	
	50,4	17,9	65	35	143	43
	59,1	59,1	78	46	130	36
	19,2	8,7	12	10	23	0
	56,0	11,1	75	11	150	18
	129,8	0	150	0	210	0
	65,9	50,4	67	14	130	15
	20,7	0	16	0	46	0
	109,1	0	110	0	280	0
	88,5	0	98	0	281	0
	32,4	23,9	65	24	136	58
<i>r</i>	-	-	0,961	0,952	0,767	0,721
<i>p</i>	-	-	0	0	0,012	0,021

статистической оценке достоверности разницы методов IDEXX и общепринятых методов бактериологического анализа.

При проведении санитарно-микробиологического анализа питьевой воды с использованием тест-системы Colilert-18, искусственно контаминированной микроорганизмами в концентрации $n \cdot 10^3$ - 10^4 КОЕ/100 мл (табл. 3), количественного результата получено не было. Полученные данные доказывают, что при использовании тест-системы Colilert-18 для исследования воды с высоким уровнем загрязнения необходимо разведение пробы в несколько раз, что увеличивает погрешность получаемого результата.

При выявлении санитарно-показательных микроорганизмов *E. coli*, *S. freundi*, *E. cloacae*, *K. pneumoniae*, входящие в показатель «колиформные бактерии», в присутствии представителей бактерий других семейств *P. aeruginosa*, *E. faecalis* при концентрации $n \cdot 10^2$ - $n \cdot 10^3$ КОЕ /100 см³ с применением тест-системы IDEXX

Таблица 3

Сопоставимость результатов санитарно-микробиологического анализа воды питьевой, искусственно контаминированной микроорганизмами, полученными на тест-системе Colilert-18 с методами, утверждёнными РФ

Проба	Тест-системы Colilert-18, КОЕ/100 мл		Референтные методы, утверждённые на территории РФ, КОЕ/100 см ³			
	Уровень контаминации 10 ³ -10 ⁴ , КОЕ/100 мл					
	колиформы	<i>E.coli</i>	мембранный		титрационный	
колиформы			<i>E.coli</i>	колиформы	<i>E.coli</i>	
	> 200,5	> 200,5	1,5•10 ⁴	8,0•10 ³	> 1,1•10 ⁴	1,1•10 ³
	> 200,5	> 200,5	3,7•10 ⁴	9,0•10 ³	4,6•10 ⁴	1,1•10 ⁴
	> 200,5	> 200,5	2,3•10 ⁴	7,0•10 ³	3,5•10 ⁴	1,0•10 ³
	> 200,5	> 200,5	2,9•10 ⁴	6,9•10 ³	3,9•10 ⁴	1,1•10 ³
	> 200,5	> 200,5	2,4•10 ⁴	7,8•10 ³	3,7•10 ⁴	1,1•10 ³
	> 200,5	> 200,5	3,3•10 ⁴	6,9•10 ³	4,3•10 ⁴	1,1•10 ⁴
	> 200,5	> 200,5	2,1•10 ⁴	7,8•10 ³	> 1,1•10 ⁴	1,1•10 ⁴
	> 200,5	> 200,5	2,7•10 ⁴	7,1•10 ³	3,6•10 ⁴	1,1•10 ⁴
	> 200,5	> 200,5	3,7•10 ⁴	6,8•10 ³	2,9•10 ⁴	1,1•10 ³
	> 200,5	> 200,5	3,4•10 ⁴	9,5•10 ³	3,7•10 ⁴	1,1•10 ⁴

Таблица 4

Результаты оценки эффективности тест-системы Colilert-18 при анализе стерильной водопроводной воды, контаминированной суточными культурами бактерий (серия 1)

Проба	Тест-системы Colilert		Референтные методы, утверждённые на территории РФ и ТС, КОЕ/100 см ³			
	колиформы	<i>E. coli</i>	Уровень заражения 10 ² -10 ³ , КОЕ/100 см ³			
			мембранный		титрационный	
			колиформы	<i>E. coli</i>	колиформы	<i>E. coli</i>
	50,4	17,9	65	35	143	43
	59,1	59,1	78	46	130	36
	19,2	8,7	12	10	23	0
	56,0	11,1	75	11	150	18
	129,8	0	150	0	210	0
	65,9	50,4	67	14	130	15
	20,7	0	16	0	46	0
	109,1	0	110	0	280	0
	88,5	0	98	0	281	0
	32,4	23,9	65	24	136	58
<i>r</i>			0,961	0,952	0,767	0,721
<i>p</i>			0,00	0,00	0,012	0,021

был получен сопоставимый со стандартными методами количественный результат. При более высоких уровнях загрязнения 10³-10⁴ КОЕ/100 см³ тест-системы IDEXX показывают наличие в воде загрязнения качественно без количественного результата.

Сравнительная оценка методов при анализе воды поверхностных водоёмов, полученными на тест-системе Colilert-18 и методами, утверждёнными РФ. Результаты сравнительной оценки тест-системы Colilert-18 и методов РФ при исследовании речной воды приведены в табл. 3.

Выполнены две серии исследований при разбавлении загрязнённой речной воды 1:100 и 5:1000. В каждой из 16 отобранных проб воды определяли колиформы и *E. coli* тремя сравниваемыми методами одновременно.

Натурные исследования воды реки Москвы подтвердили, что использование количественных методов определения индексов бактерий с помощью тест-систем IDEXX ограничено уровнем загрязнения воды. Установить индекс колиформных бактерий и *E. coli* при уровне загрязнения >200 КОЕ/100 мл не представляется возможным. В этих случаях полученные результаты позволяют констатировать, что исследуемые пробы воды инфицированы колиформными бактериями.

При более низком уровне - 10²-10³ КОЕ/100 см³ - индекс колиформных бактерий во всех пробах был практически одинаковым при посеве мембранным методом и методом IDEXX (в первой серии *r* = 0,946 при *p* = 0, вторая серия *r* = 0,899 при *p* = 0) (табл. 4). В то же время индекс колиформных бактерий был выше при посеве титрационным методом. Индекс *E. coli*, который определяли методами IDEXX и мембранной фильтрации в обеих сериях исследований, был идентичен в пределах допустимой ошибки (первая серия *r* = 0,976 при *p* = 0,000, вторая серия *r* = 0,768 при *p* = 0,031).

Сравнительная оценка эффективности тест-систем Enterolert DW и методов РФ при проведении анализа воды, инфицированной суточными культурами бактерий. Исследования выполнены на стерильной водопроводной воде, инфицированной суточными культурами бактерий *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*. Проведены две серии экспериментов по 10 модельных водоёмов в каждой серии. Исследовано 20 проб воды с разным уровнем загрязнения методами мембранной фильтрации, титрационным и с использованием тест-систем Enterolert DW метода IDEXX. Результаты представлены в табл. 5.

Полученные данные свидетельствуют об идентичной эффективности трёх сравниваемых методов при определении в воде показателя «энтерококки». В модельных водоёмах моделирован различный уровень КОЕ энтерококков, что позволяет судить о возможности исследования воды методами IDEXX при числен-

Таблица 5

Результаты оценки эффективности тест-системы Enterolert IDEXX при анализе стерильной водопроводной воды, инфицированной суточными культурами бактерий. Уровень заражения 10^2 – 10^3 , КОЕ/100 см³

Проба	Серия 1			Серия 2		
	Тест-система Enterolert IDEXX	Методы РФ		Тест-система Enterolert IDEXX	Методы РФ	
		мембранный	титрационный		мембранный	титрационный
1	9,9	10	2	8,7	21	3,4
2	20,7	20	30	34,4	35	35
3	1	0	0	1	0	0
4	> 200,5	100	> 240	> 200,5	152	> 240
5	> 200,5	250	150	> 200,5	280	110
6	> 200,5	220	> 240	> 200,5	230	> 240
7	30,6	20	46	32,4	24	46
8	> 200,5	150	> 240	> 200,5	154	> 240
9	22,2	20	110	27,1	24	110
10	30,6	30	24	32,4	36	46
r	–	0,948	0,912	–	0,952	0,842
p	–	0,000	0,000	–	0,000	0,004

ности бактерий от единичных клеток до сотен КОЕ/см³. При уровне обсеменённости воды энтерококками свыше 200 КОЕ/см³ с помощью тест-систем Enterolert DW не удалось получить количественных результатов, однако можно констатировать высокое бактериальное загрязнение воды. Статистическая обработка полученных данных подтверждает сопоставимость результатов контроля качества воды по показателю «энтерококки», полученных методом IDEXX и традиционными методами (первая серия $r = 0,948$ при $p = 0,000$; вторая серия $r = 0,952$ при $p = 0,000$ при сравнении методов IDEXX и мембранной фильтрации и $r = 0,912$ при $p = 0,000$; $r = 0,842$ при $p = 0,004$ соответственно при сравнении с титрационным методом).

Оценка эффективности тест-систем Enterolert DW и методов РФ при проведении анализа речной воды. Пробы речной воды перед анализом разбавляли стерильной водопроводной водой 1:100 и 5:1000, чтобы провести сравнительную оценку методов при различном уровне бактериального загрязнения речной воды. Выполнены две независимые серии, исследовано 16 проб воды параллельно тремя методами (табл. 6).

Анализ полученных данных показывает достаточно высокую эффективность тест-системы Enterolert DW при анализе воды водоёма. Коэффициент корреляции $r = 0,851$ при $p = 0,010$ и $r = 0,952$ при $p = 0,000$ при исследовании первой и второй серии соответственно мембранным методом. Аналогичные результаты получены при сравнении метода IDEXX и титрационного метода ($r = 0,976$ при $p = 0,000$ и $r = 0,842$ при $p = 0,004$ в первой и второй сериях соответственно).

Оценка эффективности тест-системы Pseudolert и методов РФ при проведении анализа стерильной водопроводной воды, инфицированной суточными культурами бактерий. Исследования выполнены при анализе воды модельных водоёмов, где моделирован различный уровень загрязнения путём внесения суточных культур бактерий *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Enterococcus faecalis*. Проведены 3 серии исследований по 10 модельных водоёмов в каждой серии. Результаты представлены в табл. 10 и 11. Сравнение полученных данных подтверждает установленную в предыдущих разделах закономерность, заключающуюся в том, что методом IDEXX количественные результаты могут быть получены только при низком уровне бактериального загрязнения в воде – менее 200 КОЕ/100 см³.

Анализ полученных данных, приведенный в табл. 7, показывает сопоставимость результатов анализа методом IDEXX и методами РФ, что подтверждает статистическая обработка. Коэффициенты корреляции во второй серии составляют $r = 0,648$ при $p = 0,044$ при сравнении с мембранным методом и $r = 0,870$

Таблица 6

Результаты оценки эффективности тест-системы Enterolert IDEXX при анализе реки Москвы (разбавление 1:100 и 5:1000 (КОЕ/100 см³))

Проба	Серия 1			Серия 2		
	Тест-система Enterolert IDEXX	Методы РФ		Тест-система Enterolert IDEXX	Методы РФ	
		мембранный	титрационный		мембранный	титрационный
1*	> 200,5	400	460	65,9	180	70
1*	> 200,5	300	460	73,8	175	60
2*	17,9	24	12	30,6	80	40
2*	47,8	17	46	34,4	130	50
3*	165,2	56	110	109,1	85	20
3*	25,4	6	15	144,5	65	25
4*	11,1	2	8	13,7	40	30
4*	34,4	14	24	13,7	30	20
r	–	0,851	0,976	–	0,952	0,842
p	–	0,010	0,000	–	0,000	0,004

при $p = 0,002$ при сравнении с титрационным. Аналогично высокие коэффициенты корреляции получены в третьей серии.

Оценка эффективности тест-системы Pseudolert и методов РФ при проведении анализа воды реки Москвы. Исследования 16 проб воды реки Москвы выполнены параллельно тремя методами: титрационным, мембранным и методом IDEXX. Результаты представлены в табл. 8. Анализ полученных результатов показал, что методом IDEXX бактерии *P. aeruginosa* выявлены в количестве, полученном при посеве проб мембранным и титрационным методами (первая серия – коэффициенты корреляции при этом составляют $r = 0,571$ при $p = 0,130$ и $r = 0,869$ при $p = 0,007$; вторая серия – $r = 0,530$ при $p = 0,170$ и $r = 0,601$ при $p = 0,113$ при сравнении мембранным и титрационным методами соответственно).

Следовательно, метод IDEXX системы Pseudolert пригодна для анализа поверхностных водоёмов с низким уровнем загрязнения.

Заключение

Результаты исследований по оценке эффективности альтернативного метода исследования воды с использованием тест-систем производства фирмы IDEXX Laboratories, Inc (США)

Таблица 7

Результаты оценки эффективности тест-системы Pseudolert IDEXX при анализе стерильной водопроводной воды, инфицированной суточными культурами бактерий. Уровень заражения 10^2 – 10^3 , КОЕ/100 см³

Проба	Серия 2			Серия 3		
	Тест-система Pseudolert IDEXX	Методы РФ		Тест-система Pseudolert IDEXX	Методы РФ	
		мембранный	титрационный		мембранный	титрационный
1	3,1	7	9,3	4,2	5	4
2	129,8	250	150	109,1	100	150
3	2	4	9,3	2	2	9
4	9,9	5	9,3	5,3	5	9,3
5	> 200,5	140	> 240	> 200,5	120	> 240
6	> 200,5	130	> 240	> 200,5	110	> 240
7	45,3	80	15	42,9	100	15
8	> 200,5	15	110	> 200,5	7	110
9	> 200,5	135	> 240	> 200,5	120	> 240
10	> 200,5	78	110	> 200,5	70	110
r	–	0,648	0,870	–	0,767	0,870
p	–	0,044	0,002	–	0,012	0,002

Результаты оценки эффективности тест-системы Pseudolert IDEXX при анализе реки Москвы (разбавление 1:100 и 5:1000 (КОЕ/100 см³))

Проба	Серия 1			Серия 2		
	Тест-система Pseudolert IDEXX	Методы РФ и ТС		Тест-система Pseudolert IDEXX	Методы РФ и ТС	
		мембранный	титрационный		мембранный	титрационный
1*	2,0	6	2	> 73,8	64	70
1 ^н	3,1	6	2	31,1	72	
2*	12,4	11	4	15,1	22	24
2 ^н	7,9	3	9	12	26	
3*	36,4	26	29	19,5	20	24
3 ^н	9,9	2	6	37,2	23	–
4*	7,5	2	4	39,2	22	24
4 ^н	34,4	30	21	20,2	30	–
r	–	0,571	0,869	–	0,530	0,601
p	–	0,130	0,007	–	0,170	0,113

(эксклюзивного представителя компании ООО «Симедика РУ») на соответствие гигиеническим требованиям по микробиологическим показателям по сравнению с референтными методами, используемыми на территории РФ, показали, что такой метод по эффективности не уступает референтным методам исследования воды. Тест-системы, разработанные на основе принципа действия хромогенных сред и специфичные для каждого санитарно-показательного микроорганизма, позволяют не только качественно (обнаружено/не обнаружено), но и количественно определять КОЕ/100 мл пробы: колиформные бактерии по изменению цвета среды в лунках; *E. coli* – по числу флюоресцирующих лунок по отношению к лункам с изменённым цветом среды, характерным для колиформных бактерий; энтерококков – на тест системе Enterolert DW по изменению цвета среды в лунках; *P. aeruginosa* – по флюоресценции лунок на тест-системе Pseudolert. Следует отметить преимуществом тест-системы Pseudolert, которая позволяет определять в воде не родовой показателя (аердомоады), а вид, патогенный для человека – *Pseudomonas aeruginosa*.

Сравнительная оценка тест-систем IDEXX с методами мембранной фильтрации подтвердила сопоставимость полученных результатов как при исследовании загрязнённой воды водоёма с естественным микробиоценозом, так и воды модельных водоёмов, контаминированных суточными культурами тест-микробов. Полученные статистические отклонения при проведении статистического анализа оказались незначительными и находятся в пределах допустимых колебаний различия средних величин.

На основании полученных результатов при использовании метода IDEXX установлено, что альтернативный метод позволяет:

– провести объективный качественный и количественный анализ воды;

– сократить время проведения исследований и получить окончательный ответ (результат) за 24 ч от начала посева, так как он исключает проведение последующих пересевов и других дополнительных манипуляций (определения оксидазной активности бактерий, ферментации углеводов, образования индола и др.) для подтверждения принадлежности к данной группе микроорганизмов.

На основании проведённых исследований установлено, что при проведении санитарно-микробиологического анализа воды при использовании тест-систем IDEXX Laboratories, Inc (США) подтверждение результатов анализа проводить другими методами не требуется.

Установлено, что на протяжении всего срока годности тест-систем IDEXX полученные результаты сопоставимы и при необходимости их возможно воспроизвести. Использование тест-систем IDEXX сокращает время на подготовку и проведение анализа. Метод прост в исполнении. Реагенты для наборов IDEXX не требуют дополнительных затрат, необходимым

условием их применения является доведение их температуры перед исследованием до 22–25 °С.

Необходимым условием для использования IDEXX в практике лабораторного контроля на территории РФ является проведение сравнительных исследований (испытаний) с целью подтверждения идентичности, сопоставимости и воспроизводимости результатов с утверждёнными референтными методами оценки качества питьевой воды по микробиологическим показателям на территории РФ.

Санитарно-микробиологический анализ проб воды, проведённый титрационным методом, наиболее сопоставим с методом IDEXX, поскольку основан на едином принципе обнаружения микроорганизмов.

Ограничения альтернативного метода:

– метод позволяет количественно исследовать качество воды с невысоким уровнем загрязнения – не более 200 КОЕ/100 см³, поэтому может быть рекомендован для количественного анализа питьевой воды и качественного анализа для исследования поверхностных водосточников;

– метод требует дополнительного оснащения лаборатории специальным оборудованием производства США (тест-системы, реактивы, аппарат для запаивания тест-системы, аппарат, оснащенный УФ-лампой).

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

- ГОСТ 31942–2012 (ISO 19458:2006). «Вода питьевая. Отбор проб для микробиологического анализа». М.; 2012.
- ГОСТ Р 31955–2012 (ISO 9308-1:2000). «Вода питьевая. Обнаружение и количественный учёт *Escherichia coli* и колиформных бактерий. Часть 1. Метод мембранной фильтрации». М.; 2012.
- СанПиН 2.1.4.1074–01. «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества». М.; 2001.
- МУК 4.2.1.1018–01. «Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды». М.; 2001.
- МУК 4.2.1884–04. «Санитарно-микробиологический и санитарно-паразитологический анализ воды поверхностных водных объектов». М.; 2004.
- МУ 2.1.4.1184–03. «Методические указания по внедрению и применению санитарно-эпидемиологических правил и нормативов СанПиН 2.1.4.116–02 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды, расфасованной в емкости. Контроль качества». М.; 2003.
- Заварзин Г.А., ред. *Определитель Берджи*. Том 1. М.; 1997.
- Ашмарин И.П., Воробьев А.А. *Статистические методы в микробиологических исследованиях*. Ленинград: Медицинская литература; 1962.
- Платонов А.Е. *Статистический анализ в медицине и биологии*. М.: РАМН; 2000.
- Савилов Е.Д., Мамонтова Л.М., Астафьев В.А., Жданова С.Н. *Применение статистических методов в эпидемиологическом анализе*. М.; 2004.
- Халафян А.А. *Статистический анализ данных. Статистика 6*. М.: Бином; 2008.

References

- GOST 31942–2012 (ISO 19458:2006). «Drinking water. Sampling for microbiological analysis». Moscow; 2012. (in Russian)
- GOST R 31955–2012 (ISO 9308-1:2000). «Drinking water. Detection and quantification of *Escherichia coli* and coliform bacteria. Part 1. Method of membrane filtration». Moscow; 2012. (in Russian)
- SanPiN 2.1.4.1074–01. «Drinking water. Hygienic requirements for water quality of centralized drinking water supply systems. Quality control». Moscow; 2001. (in Russian)
- MUK 4.2.1.1018–01. «Sanitary-microbiological analysis of drinking water». Moscow; 2001. (in Russian)
- MUK 4.2.1884–04. «Sanitary-microbiological and sanitary-parasitological analysis of surface water bodies water». Moscow; 2004. (in Russian)
- MU 2.1.4.1184–03. «Methodical instructions on the introduction and application of Sanitary and Epidemiological Regulations and Norms SanPiN 2.1.4.116–02 «Drinking water. Hygienic requirements for the quality of water packaged in a container. Quality control». Moscow; 2003. (in Russian)
- Zavarzin G.A., ed. *The Determinant of Berdzh. Volume 1 [Opredelitel' Berdzh. Tom 1]*. Moscow; 1997. (in Russian)
- Ashmarin I.P., Vorob'ev A.A. *Statistical Methods in Microbiological Studies [Statisticheskie metody v mikrobiologicheskikh issledovaniyakh]*. Leningrad: Meditsinskaya literatura; 1962. (in Russian)
- Platonov A.E. *Statistical Analysis in Medicine and Biology [Statisticheskiy analiz v meditsine i biologii]*. Moscow: RAMS; 2000. (in Russian)
- Savilov E.D., Mamontova L.M., Astaf'ev V.A., Zhdanova S.N. *The Use of Statistical Methods in Epidemiological Analysis [Primeneniye statisticheskikh metodov v epidemiologicheskoy analize]*. Moscow; 2004. (in Russian)
- Khalafyan A.A. *Statistical Analysis of Data. Statistics 6 [Statisticheskiy analiz dannykh. Statistika 6]*. Moscow: Binom; 2008. (in Russian)

Поступила 06.03.17

Принята к печати 05.07.17