



Совместный проект  
ККП и ЗАО «РОСА»

## Главная тема: Профессионалы — о качестве контроля

### Читайте и узнаете:

- о том, как ТР ЕАЭС 044/2017 гармонизирует отечественные и международные нормативные документы в вопросах микробиологической безопасности воды;
- что перечень документов, обеспечивающих соблюдение требований ТР ЕАЭС 044/2017, допускает одновременное использование методов контроля с разной эффективностью определения показателя;
- насколько полон перечень документов, обеспечивающих соблюдение требований регламента на упакованную питьевую воду по микробиологическим показателям

### Ключевые слова:

упакованная вода,  
микробиологические  
нормативы безопасности,  
ТР 044/2017

# Упакованная питьевая вода. Методическое обеспечение соответствия ТР ЕАЭС 044/2017 по микробиологическим показателям

#### **В.Е. Ларин**

начальник отдела биологических методов анализа ЗАО «РОСА», канд. биол. наук

#### **С.Н Тымчук**

начальник сектора бактериологии и вирусологии ЗАО «РОСА»

#### **Е.Н. Ахапкина**

ведущий бактериолог ЗАО «РОСА»

#### **С.Н Власова**

начальник сектора паразитологии и гидробиологии ЗАО «РОСА»

Введение в действие технического регламента ЕАЭС на упакованную воду и утверждение перечня методов, обязательных для его реализации<sup>1</sup>, ставит перед аналитическими лабораториями задачу их освоения и включения в область аккредитации. Часть из них регламентирована национальными стандартами, идентичными международным. Но не по всем микробиологическим нормативам соблюдение требований ТР ЕАЭС 044/2017 методически обеспечено, да и сами методы не всегда применимы для исследования воды. Это делает проблематичным включение в области аккредитации аналитических лабораторий всех необходимых методик

<sup>1</sup> Решение Коллегии ЕЭК № 164 от 05.12.2017 г. «О перечне стандартов, в результате применения которых на добровольной основе обеспечивается соблюдение требований технического регламента Евразийского экономического союза «О безопасности упакованной питьевой воды, включая природную минеральную воду» (ТР ЕАЭС 044/2017), и перечне стандартов, содержащих правила и методы исследований (испытаний) и измерений, в том числе правила отбора образцов, необходимые для применения и исполнения требований технического регламента Евразийского экономического союза «О безопасности упакованной питьевой воды, включая природную минеральную воду» (ТР ЕАЭС 044/2017) и осуществления оценки соответствия объектов технического регулирования».

С 01.01.2019 г. вводится в действие ТР ЕАЭС «О безопасности упакованной питьевой воды, включая природную минеральную воду»<sup>2</sup>. Сравнение нормативов микробиологической безопасности нового ТР, действующего

СанПиН 2.1.4.1116–02<sup>3</sup> и иных нормативных документов (НД) (см. таблицу) показывает, что при разработке ТР 044/2017 была предпринята попытка гармонизировать национальные и

<sup>2</sup> Технический регламент ЕАЭС 044/2017 «О безопасности упакованной питьевой воды, включая природную минеральную воду» принят Решением Совета ЕЭК № 4 от 23.06.2017 г.

<sup>3</sup> Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы СанПиН 2.1.4.1116–02 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды, расфасованной в емкости. Контроль качества» введены с 01.07.2002 г.

# Главная тема: Профессионалы — о качестве контроля

международные нормативы безопасности упакованной воды. Для этого:

- в перечень нормируемых микробиологических показателей были включены *E. coli* и энтерококки (фекальные стрептококки);
- единицы измерения показателей приведены в соответствие с Директивой 2009/54/EC<sup>4</sup> (отсутствие в 250 см<sup>3</sup>);
- установлены требования контроля общего микробного числа (ОМЧ) в течение 12 ч после упаковки продукции при охлаждении.

Однако при этом нормируемый объем воды, в котором должны отсутствовать споры сульфитредуцирующих клостридий<sup>5</sup>, отличается от указанного в Директиве 98/83/EEC<sup>6</sup> и СанПиН 2.1.4.1116-02 на 100 мл и разнится с нормативом Директивы 2009/54/EC для бактериологических показателей (250 мл).

Тем не менее по ряду микробиологических нормативов ТР 044/2017 имеет сходство с СанПиН 2.1.4.1116-02 и одновременно — принципиальные различия с Директивами 2009/54/EC и 98/83/EEC, а именно: в ТР включен норматив по содержанию бактерий группы кишечной палочки (БГКП) (в СанПиН 2.1.4.1116-02 это показатель

«глюкозоположительные колиформные бактерии»), а также детализированный набор паразитологических показателей, которого нет в Директивах ЕС.

Среди показателей микробиологической безопасности в новом регламенте имеются и паразитологические: отсутствие в 50 дм<sup>3</sup> ооцист криптоспоридий, цист лямблий и яиц гельминтов. Следует отметить, что согласно ТР 044/2017 паразитологические показатели безопасности определяются только в том случае, если вода отобрана из поверхностного водозабора или «подвержена влиянию поверхностных вод», при этом определение проводится только в точке отбора исходной (сырой) воды. Почему необходимо исполнять данные требования — абсолютно неясно. В чем выражается «подверженность влиянию поверхностных вод»? Какие меры и кем должны приниматься при обнаружения паразитарных агентов в «точках водоотбора»? Нужно ли исследовать в этом случае готовую продукцию? Эти неоднозначные требования в равной мере относятся и к наличию спор сульфитредуцирующих клостридий.

## Стандарты, обеспечивающие соблюдение требований ТР 044/2017

1) Утвержденный Решением Коллегии ЕЭК № 164 Перечень стандартов, содержащих правила и методы исследований (испытаний) и измерений, в том числе правила отбора образцов, необходимых для применения и исполнения требований ТР 044/2017 (далее — Перечень), предписывает для определения **общего микробного числа**

(ОМЧ) применять ГОСТ 18963-73<sup>7</sup>, но данный НД не регламентирует ни режим инкубации посевов при 22 °С, ни метод определения ОМЧ при 22 °С. То есть, как это ни парадоксально, исполнение норматива оказывается методически не обеспеченным.

2) Контролировать *E. coli* надлежит по ГОСТ 31955.1-2013<sup>8</sup> или СТБ ISO 9308-1-2016<sup>9</sup>. Здесь тоже необходимы пояснения. ГОСТ 31955.1-2013, устаревший относительно не входящего в Перечень ISO 9308-1:2014<sup>10</sup>, предписывает определение колиформных бактерий и *E. coli* на лактозном ТТХ агаре с гептадецилсульфатом натрия (среде с тергитолом 7), в то время как ISO 9308-1:2014 и СТБ ISO 9308-1-2016 предписывают применение современных хромогенных сред, в частности хромогенного колиформного агара (CCA), действие которого основано на выявлении активности фермента β-D-глюкуронидазы. Следовательно для соблюдения норматива ТР 044/2017 по показателю *E. coli* допускается применение

<sup>7</sup> ГОСТ 18963-73 «Вода питьевая. Методы санитарно-бактериологического анализа» (с Изм. № 1, 2) утвержден и введен в действие Постановлением Госстандарта СССР № 1612 от 29.06.1973 г.

<sup>8</sup> ГОСТ 31955.1-2013 (ISO 9308-1:2000). Вода питьевая. Обнаружение и количественный учет *Escherichia coli* и колиформных бактерий. Часть 1. Метод мембранной фильтрации» (с Поправкой) Приказом Росстандарта № 1904-ст от 12.12.2012 г. введен в действие в качестве национального стандарта с 01.01.2014 г.

<sup>9</sup> СТБ ISO 9308-1-2016 «Качество воды. Подсчет количества кишечных палочек *Escherichia coli* и колиформных бактерий. Часть 1. Метод мембранной фильтрации для вод с низким содержанием бактериальной флоры» утвержден 26.10.2016 г. Госстандартом Республики Беларусь, применяется в ЕАЭС.

<sup>10</sup> ISO 9308-1:2014. Water quality — Enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria — Part 1: Membrane filtration method for waters with low bacterial background flora (Качество воды. Подсчет количества кишечных палочек *Escherichia coli* и колиформных бактерий. Часть 1. Метод мембранной фильтрации для воды с низким содержанием бактериальной флоры).

<sup>4</sup> Directive 2009/54/EC — Директива Европейского парламента и Совета Европейского Союза от 18.06.2009 г. «Об использовании и размещении на рынке природных минеральных вод».

<sup>5</sup> Сульфитредуцирующие клостридии (СРК) — грамположительные спорообразующие палочки, высокая устойчивость их спор к агрессивным воздействиям внешней среды, в т.ч. к дезинфицирующим и стерилизующим приемам, делает споры СРК важным индикатором оценки эффективности очистки воды.

<sup>6</sup> Council Directive 98/83/EC — Директива Совета Европейского Союза от 03.11.1998 г. «О качестве воды, предназначенной для употребления людьми».

## Упакованная питьевая вода. Методическое обеспечение соответствия ТР ЕАЭС 044/2017 по микробиологическим показателям

ние стандартов, регламентирующих принципиально различные базовые дифференцирующие среды и принципы идентификации целевых микроорганизмов.

3) В еще большей степени вышесказанное относится к методическому обеспечению норматива по показателю **БГКП**. В Перечень стандартов для этой цели включены три документа: ГОСТ 18963–73, ГОСТ 31955.1–2013 и СТБ ISO 9308–1–2016. Из перечисленных стандартов только ГОСТ 18963–73 содержит показатель с наименованием «БГКП», в других описывается определение «колиформных бактерий». Причем во всех трех стандартах базовые среды различаются: в ГОСТ 18963–73 — это Эндо, в ГОСТ 31955.1–2013 — среда с тергитолом 7, а в СТБ ISO 9308–1–2016 — хромогенный колиформный агар (ССА). Подобное смешение методик может привести к конфликтным ситуациям при интерпретации результатов их применения, но важно отметить, что Перечень фактически уравнивает термины «БГКП» и «колиформные бактерии», несмотря на различия базовых сред и наборов подтверждающих тестов вышеназванных стандартов.

4) Для определения **Ps. aeruginosa** Перечень допускает использование методов, регламентированных тремя стандартами: СТБ ISO 16266–2015<sup>11</sup>, СТ РК ISO 16266–2012<sup>12</sup> и ГОСТ Р 54755–

<sup>11</sup> СТБ ISO 16266–2015 «Качество воды. Обнаружение и подсчет *Pseudomonas aeruginosa*. Метод мембранной фильтрации» утвержден 25.05.2015 г. Госстандартом Республики Беларусь, применяется в ЕАЭС.

<sup>12</sup> СТ РК ISO 16266–2012 «Качество воды. Обнаружение и подсчет микроорганизмов *Pseudomonas aeruginosa*. Метод мембранной фильтрации» утвержден Комитетом технического регулирования и метрологии Министерства индустрии и новых технологий Республики Казахстан 18.10.2012 г., применяется в ЕАЭС.

2011<sup>13</sup>. Присутствие в Перечне последнего выглядит просто анекдотично, поскольку в п. 1 «Область применения» данного ГОСТа говорится, что «метод определения количества посевом на агаризованные селективно-диагностические среды предна-

“  
Для соблюдения норматива ТР 044/2017 по показателю *E.coli* допускается применение стандартов, регламентирующих принципиально различные базовые дифференцирующие среды и принципы идентификации целевых микроорганизмов  
”

значен для пищевых продуктов, содержащих в 1 г твердого продукта не менее 1500 или в 1 см<sup>3</sup> жидкого продукта не менее 150 КОЕ бактерий вида *Pseudomonas aeruginosa*», то есть чувствительность данного метода явно не позволяет достоверно обеспечить соблюдение норматива, установленного ТР 044/2017, — «отсутствие в 250 см<sup>3</sup>». Что же касается СТБ ISO 16266–2015, то он является дословным переводом ISO 16266:2006<sup>14</sup> и содержит описание метода, основанного на мембранной фильтрации и использовании в качестве среды цетримидного агара. К недостатку метода следует отнести то, что система идентификации целевых микроорганизмов основана

<sup>13</sup> ГОСТ Р 54755–2011 «Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий вида *Pseudomonas aeruginosa*» введен в действие Приказом Росстандарта № 944-ст от 13.12.2011 г.

<sup>14</sup> ISO 16266:2006. *Water quality — Detection and enumeration of Pseudomonas aeruginosa — Method by membrane filtration* (Качество воды. Обнаружение и количественный учет *Pseudomonas aeruginosa*. Метод мембранной фильтрации).

на выявлении пигмента пиоцианина на исходной среде с цетримидом. Степень проявления этого признака на данной среде значительно варьируется от партии к партии продукции даже одного производителя, что приводит к необходимости прово-

дить подтверждающие тесты для «прочих флюоресцирующих или окрашенных в красновато-коричневый цвет колоний» на среде с канцерогенным ацетамидом. Тем не менее переход к СТБ ISO 16266–2015 — несомненный прогресс, поскольку этот документ заменяет МУ 2.1.4.1184–03<sup>15</sup>, недостатки которых детально описаны в статье ККП<sup>16</sup>.

5) Для определения присутствия **спор сульфитредуцирующих клостридий** в Перечне указан СТБ ISO 6461–2–2016<sup>17</sup>, пред-

<sup>15</sup> «Методические указания по внедрению и применению санитарно-эпидемиологических правил и нормативов СанПиН 2.1.4.1116–02 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды, расфасованной в емкости. Контроль качества» (с Изменением № 1) введены в действие с 01.07.2002 г. Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ № 12 от 19.04.2002 г.

<sup>16</sup> Тымчук С.Н., Ахапкина Е.Н., Ларин В.Е. и др. Шаг вперед, два шага назад. Эффективность методик определения *Pseudomonas aeruginosa* в воде // Контроль качества продукции. — 2017. — № 11. — С. 49–56.

<sup>17</sup> СТБ ISO 6461–2–2016 «Качество воды. Обнаружение и подсчет спор сульфитредуцирующих анаэробов (*clostridia*). Часть 2. Метод мембранной фильтрации» утвержден 26.10.2016 г. Госстандартом Республики Беларусь, применяется в ЕАЭС.

# Главная тема: Профессионалы — о качестве контроля

Сравнение нормативных показателей микробиологической безопасности  
бутилированной (упакованной) питьевой воды в российских и международных НД

[Таблица]

Показатель безопасности	СанПиН 2.1.4.1116—02	ЕЕС 98/83	ТР 044/2017	2009/54/ЕС
	Нормативы и единицы измерения			
ОМЧ при температуре 37°C	Не более 20 КОЕ/мл	20 КОЕ/мл	<20, КОЕ/см <sup>3</sup>	≤ 20, КОЕ/мл
ОМЧ при температуре 22°C	Не более 100 КОЕ/мл	100 КОЕ/мл	< 100, КОЕ/см <sup>3</sup>	≤ 100, КОЕ/мл
Общие колиформные бактерии	Отсутствие в 300 мл, КОЕ/100 мл	—	—	—
Колиформные бактерии	—	—	—	Отсутствие, КОЕ/250 мл
Глюкозоположительные колиформные бактерии	Отсутствие в 300 мл, КОЕ/100 мл	—	—	—
БГКП	—	—	Отсутствие, КОЕ/250 см <sup>3</sup>	—
Термотолерантные колиформные бактерии	Отсутствие в 300 мл, КОЕ/100 мл	—	—	—
<i>Escherichia coli</i> ( <i>E. coli</i> )	—	Отсутствие, КОЕ/250 мл	Отсутствие, КОЕ/250 см <sup>3</sup>	Отсутствие, КОЕ/250 мл
Энтерококки (фекальные стрептококки)	—	Отсутствие, КОЕ/250 мл	Отсутствие, КОЕ/250 см <sup>3</sup>	Отсутствие, КОЕ/250 мл
Споры сульфитредуцирующих клостридий	Отсутствие в 20 мл, КОЕ/20 мл	—	Отсутствие, КОЕ/100 см <sup>3</sup>	Отсутствие, КОЕ/50 мл
<i>Clostridium perfringens</i> ( <i>C.perfringens</i> )	—	Отсутствие, КОЕ/100 мл	—	—
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Отсутствие в 1000 мл	Отсутствие, КОЕ/250 мл	Отсутствие, КОЕ/250 см <sup>3</sup>	Отсутствие, КОЕ/250 мл
Колифаги	Отсутствие в 1000 мл, КОЕ/100 мл	—	—	—
Паразитарные и патогенные микроорганизмы	—	—	—	Отсутствие
Ооцисты криптоспоридий	Отсутствие, кол-во/50 л	—	Отсутствие, кол-во/50 дм <sup>3</sup>	—
Цисты лямблий	Отсутствие, кол-во/50 л	—	Отсутствие, кол-во/50 дм <sup>3</sup>	—
Яйца гельминтов	Отсутствие, кол-во/50 л	—	Отсутствие, кол-во/50 дм <sup>3</sup>	—

ставляющий собой аутентичный перевод *ISO 6461-2:1986*<sup>18</sup> и регламентирующий метод мембранной фильтрации с несколько необычным для санитарной бактериологии размером пор фильтра (0,2 мкм вместо типичных 0,45 мкм) с последующей инкубацией посевов на/в железосуль-

<sup>18</sup> *ISO 6461-2:1986. Water quality — Detection and enumeration of the spores of sulfite-reducing anaerobes (clostridia) — Part 2: Method by membrane filtration* (Качество воды. Обнаружение и подсчет спор сульфитредуцирующих анаэробов (*clostridia*). Часть 2. Метод мембранной фильтрации).

фитном агаре в анаэробных условиях, достигаемых тем или иным методическим приемом. То есть документ, как и в случае с определением *E. coli*, допускает одновременное использование разных методов создания анаэробно-оза с разной эффективностью определения показателя. При этом, по данным авторов этой статьи, эффективность инкубации зависит от способа обеспечения анаэробных условий, а именно, при использовании анаэро-

статов<sup>19</sup> эффективность выделения клостридий достоверно выше, чем при заливке с использованием мембранных фильтров. В то же время доступность посевов для учета результата у двухслойного чашечного метода существенно выше, чем при посеве заливкой в пробирки. Среда для выделения клостридий идентич-

<sup>19</sup> Анаэростат — герметичная емкость, в которую вносится специфический набор реактивов, предназначен для культивирования микроорганизмов группы облигатных анаэробов и микроаэрофилов.

на указанной в МУК 4.2.1018-01<sup>20</sup> — это железо-сульфитный агар, хотя документ предусматривает возможность использования коммерческих сред, в том числе и с производными тиогликолевой кислоты, что повышает эффективность метода.

б) Для определения в упакованной воде **кишечных энтерококков** Перечень предписывает применение трех стандартов. Один из них (СТ РК 1884-1-2009) «не применяется для исследования питьевой воды», а второй и третий (СТБ СТ РК 1884-2-2009 и СТБ ISO 7899-2-2015) идентичны ISO 7899-2:2000<sup>21</sup> и описывают метод на основе мембранной фильтрации с последующей инкубацией на среде Сланца-Бартли и подтверждением на желчно-эскулиновом агаре с азидом натрия (СТБ ISO 7899-2-2016<sup>22</sup>). Принципиальное отличие данного стандарта от действующих МУК 4.2.1884-04<sup>23</sup> состоит именно в требовании подтверждения на желчно-эскулиновом агаре вместо проведения серии тестов (окраски микроорганизмов по Грамму, пересева на солевой агар с 2,3,5-трифенилтетразолий хлоридом и определе-

ния каталазной активности), что существенно упрощает и ускоряет метод. Несомненно, применение СТБ ISO 7899-2-2016 прогрессивно, поскольку ведет к снижению трудозатрат и ускорению получения результата анализа, что чрезвычайно важно для санитарно-микробиологического контроля.

7) Согласно п. 748 Перечня для определения **ооцист криптоспоридий и цист лямблий** применяется ГОСТ ISO 15553-2017<sup>24</sup>. Необходимо отметить, что методики для определения **яиц гельминтов** в данном перечне просто нет. Видимо, это техническая ошибка или же результат отсутствия на сегодняшний день методических документов уровня ГОСТов по определению яиц гельминтов в воде. Также следует подчеркнуть, что метод, ре-

гламентируемый ГОСТ ISO 15553-2017, — сложный и дорогостоящий, однозначно требующий применения диагностических наборов, которые в ЕАЭС в настоящее время не производятся. Его невозможно реализовать без значительных денежных затрат, связанных с приобретением эпифлуоресцентного микроскопа<sup>25</sup> и наборов фильтров для детекции свечения флуоресценции изотиоцианата и диамидинофенилиндола. Техническая сложность метода и немногочисленность отечественных публикаций о его применении заставляет сомневаться в возможности реализовать метод с соблюдением всех требований к аккредитованной лаборатории.



<sup>25</sup> Эпифлуоресцентный микроскоп с УФ-фильтром (длина волны возбуждения — 350 нм, длина волны эмиссии — 450 нм), фильтром FITC (длина волны возбуждения — 480 нм, длина волны эмиссии — 520 нм), оптическим устройством для микроскопии по методу дифференциально-интерференционного контраста (DIC) и окулярной шкалой. Общее увеличение — 1000 × (ГОСТ ISO 15553-2017).

<sup>24</sup> ГОСТ ISO 15553-2017 «Качество воды. Выделение из воды и идентификация ооцист криптоспоридий и цист лямблий» введен в действие Постановлением Госстандарта Республики Беларусь № 63 от 31.07.2017 г. в качестве государственного стандарта РБ с 01.07.2018 г., применяется в ЕАЭС.

<sup>20</sup> МУК 4.2.1018-01 «Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды» (с Изменением № 1) утверждены Главным государственным санитарным врачом РФ 09.02.2001 г.

<sup>21</sup> ISO 7899-2:2000. *Water quality — Detection and enumeration of intestinal enterococci — Part 2: Membrane filtration method.* (Качество воды — Обнаружение и подсчет кишечных энтерококков — Часть 2: Мембранный метод фильтрации).

<sup>22</sup> СТБ ISO 7899-2-2016 «Качество воды. Обнаружение и подсчет кишечных энтерококков. Часть 2. Метод мембранной фильтрации» утвержден 26.10.2016 г. Госстандартом Республики Беларусь, применяется в ЕАЭС.

<sup>23</sup> МУК 4.2.1884-04 «Санитарно-микробиологический и санитарно-паразитологический анализ воды поверхностных водных объектов» (с Изменением № 1) утверждены и введены в действие Главным государственным санитарным врачом РФ 03.03.2004 г.

## Резюме

**Принятие технического регламента ЕАЭС 044/2017 «О безопасности упакованной питьевой воды, включая природную минеральную воду» — огромный шаг к гармонизации отечественной нормативной базы в отношении микробиологических показателей с международными документами, регламентирующими безопасность упакованной воды. Однако перед лабораториями, включающими в область аккредитации методики, обеспечивающие соблюдение требования ТР ЕАЭС 044/2017 по микробиологии, возникают сложные задачи, связанные с несовершенством методической базы, обеспечивающей соблюдение его нормативов.**