

## Читайте и узнаете:

- о различных подходах к определению *P.aeruginosa* в воде;
- об особенностях питательных сред, применяемых для определения *P.aeruginosa*;
- к каким последствиям привела модернизация методики 1984 г. определения псевдомонад в водных объектах

## Ключевые слова:

*P.aeruginosa*, среда Бонде, среда Блеск, МУ 2.1.4.1184-03, методика, определение псевдомонад в воде

## Шаг вперед, два шага назад. Эффективность методик определения *Pseudomonas aeruginosa* в воде

**С.Н. Тымчук**

ведущий бактериолог отдела биологических методов анализа ЗАО «РОСА», канд. мед. наук

**Е.Н. Ахапкина**

начальник сектора бактериологии и вирусологии отдела биологических методов анализа ЗАО «РОСА»

**В.Е. Ларин**

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

**Е.В. Буданова**

доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, канд. мед. наук

**Д.Н. Нечаев**

доцент кафедры микробиологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, канд. мед. наук

Как отмечал один из основоположников отечественной санитарной микробиологии профессор Г.П. Калина, нет области микробиологии, более ограниченной рамками нормативно-методической базы, чем санитарная микробио-

Выявление микроорганизма *P.aeruginosa* в водных объектах окружающей среды до сих пор осуществляется по методике 80-х гг. прошлого столетия, которая не позволяет определять его наличие в низких концентрациях, что является значимым недостатком при исследовании питьевой и других типов подготовленной воды. Показано, чем обусловлена низкая чувствительность методики и отсутствие у нее видоспецифичности. Даны рекомендации, позволяющие применять методику при исследованиях водных объектов и продуктов питания

логия. Состояние каждого объекта окружающей среды регламентируется соответствующими Санитарными правилами и нормами (СанПиНами), а методики определения показателей — соответствующими методическими указаниями (МУК), методическими рекомендациями (МР) или иными документами. Такой подход целесообразен и логичен, но иногда большое количество близкородственных объектов порождает неразбериху в документах, поскольку они выпускаются разными организациями и разработчиками и зачастую без учета уже существующих.

Примером тому может служить показатель, который в зависимости от объекта исследования и организации, выпустившей документ, называют и «колиформные бактерии», и «общие колиформные бактерии»<sup>1</sup>, и «БГКП (колиформы)»<sup>2</sup>, и «БКП (коли-

<sup>1</sup> СанПиН 2.1.4.1074-01 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества» приняты Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ № 24 от 26.09.2001 г. (ред. от 28.06.2010 г.).

<sup>2</sup> СанПиН 2.3.2.1078-01 «Продовольственное сырье и пищевые продукты. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов» приняты Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ № 36 от 14.11.2001 г. (ред. от 06.07.2011 г.).

# Испытания, измерения, анализ

формные бактерии)»<sup>3</sup> и «лактозоположительные кишечные палочки»<sup>4</sup>. И это не единственный пример.

Еще одной характерной чертой отечественной нормативной базы является утверждение нор-

сованной в емкости, вышел в 2002 г., а методический документ по его внедрению МУ 2.1.4.1184-03<sup>8</sup>, — только в 2003 г. Кроме того, согласно Постановлению Правительства РФ № 554<sup>9</sup> срок действия нормативно-

зованием отечественного и мирового опыта.

В отечественной нормативной базе обязательно исследованию на наличие *P.aeruginosa* подлежат воды плавательных бассейнов и аквапарков, питье-



**Формальное исполнение модифицированной методики МУ 2.1.4.1184-03 может привести к ложноотрицательным результатам, что неприемлемо при исследовании таких важных объектов, как бутилированная и другие типы питьевых вод, и что негативно скажется на достоверности контроля качества соответствующей продукции**



мативного документа в отсутствие документа методического. Показатель есть, а как определять его — указаний нет. Похожая ситуация сложилась с нормированием содержания легионеллы<sup>5</sup>, ооцист криптоспоридий в осадках сточных вод<sup>6</sup>, санитарной оценкой бутилированной воды. Как один из примеров, СанПиН 2.1.4.1116-02<sup>7</sup>, регламентирующий качество воды, расфа-

методических документов не может превышать 10 лет с возможностью продления не более чем на 5 лет. На самом же деле возраст многих документов превышает 15 лет, и даже если документ пересматривают, то зачастую это приводит к ухудшению методик. Такая ситуация сложилась с нормативно-методической базой для определения *Pseudomonas aeruginosa*<sup>10</sup> [1] в различных типах подготовленной воды. Целью исследований было получение доказательств необходимости и определение путей модернизации существующей методики исследования *P.aeruginosa* в подготовленной воде с исполь-

вые бутилированные и минеральные воды. Определение количества *P.aeruginosa* в бутилированной воде регламентировано СанПиН 2.1.4.1116-02, в минеральной воде и напитках — СанПиН 2.3.2.1078-01, в воде бассейнов — СанПиН 2.1.2.1188-03<sup>11</sup>. Все эти документы предписывают использование методики 1984 г.<sup>12</sup> или ее «усовершенствованного» варианта МУ 2.1.4.1184-03. То есть все действующие отечественные нормативные документы регламентируют использовать методику 80-х гг. прошлого века, которая существенно устарела. Схема методики представлена на рис. 1. В ней не предусмотрен этап концентрирования пробы, хотя метод мембранной фильтрации давно стал «зо-

<sup>3</sup> ГОСТ Р 54316-2011 «Воды минеральные природные питьевые. Общие технические условия» введен в действие Приказом Росстандарта № 55-ст от 22.04.2011 г. (ред. от 15.12.2015 г.).

<sup>4</sup> ГОСТ 2761-84 «Источники централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения. Гигиенические, технические требования и правила выбора» введен в действие 01.01.1986 г.

<sup>5</sup> СанПиН 2.1.2.1331-03 «Гигиенические требования к устройству, эксплуатации и качеству воды аквапарков» введен Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ № 104 от 28.05.2003 г. Легионеллы (*лат. Legionella*) — род патогенных грамотрицательных бактерий.

<sup>6</sup> СанПиН 3.2.3215-14 «Профилактика паразитарных болезней на территории Российской Федерации» введен Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ № 50 от 22.08.2014 г. (с изм. на 29.12.2015 г.).

<sup>7</sup> СанПиН 2.1.4.1116-02 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды, расфасованной в емкости. Контроль качества» введен Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ № 12 от 19.03.2002 г. (ред. от 28.06.2010 г.).

<sup>8</sup> МУ 2.1.4.1184-03 «Методические указания по внедрению и применению СанПиН 2.1.4.1116-02» утверждены Главным государственным санитарным врачом РФ 15.01.2003 г. (ред. от 07.07.2010 г.).

<sup>9</sup> Постановление Правительства РФ № 554 «Об утверждении Положения о государственной санитарно-эпидемиологической службе Российской Федерации и Положения о государственном санитарно-эпидемиологическом нормировании» от 24.07.2000 г.

<sup>10</sup> *Pseudomonas aeruginosa* (синегнойная палочка) — условно-патогенный микроорганизм рода *Pseudomonas* (псевдомонады).

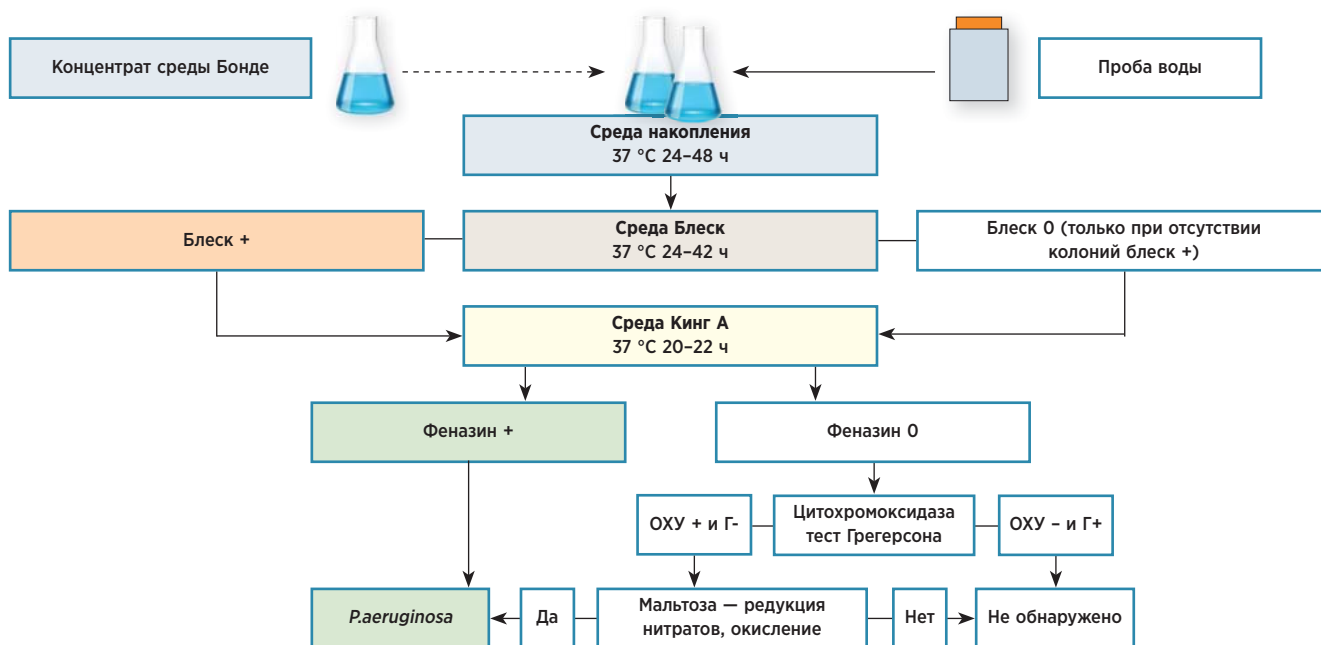
<sup>11</sup> СанПиН 2.1.2.1188-03 «Плавательные бассейны. Гигиенические требования к устройству, эксплуатации и качеству воды. Контроль качества» введены Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ № 430.01.2003 г.

<sup>12</sup> Методические рекомендации «Обнаружение и идентификация *Pseudomonas aeruginosa* в объектах окружающей среды (пищевых продуктах, воде, сточных жидкостях)» утверждены Минздравом СССР 24.05.84 г.

## Шаг вперед, два шага назад. Эффективность методик определения *Pseudomonas aeruginosa* в воде

Рис. 1

Схема анализа на обнаружение и идентификацию *Pseudomonas aeruginosa* в объектах окружающей среды (пищевых продуктах, воде, сточных жидкостях)



лотым стандартом» санитарной микробиологии и является незаменимым инструментом при исследовании объектов с низкими уровнями контаминации [2]. Отсутствие этого этапа приводит к снижению чувствительности методики, а также необходимости инкубировать посеы больших объемов (2 объема по 0,5 л на каждую пробу), в результате чего полезный объем термостатов используется нерационально. В качестве среды обогащения используется среда Бонде, которая обладает низкими ростовыми свойствами и содержит ингибитор роста — кристаллический фиолетовый, что не оправдано при исследовании объектов с низкими уровнями контаминации. Высев обогащенного материала проводится на среду Блеск, дифференцирующие свойства которой, как будет показано ниже, вызывают определенные сомнения.

В то же время в отечественной<sup>15</sup> и мировой<sup>14</sup> практике существуют иные подходы к определению *P.aeruginosa* в воде (см. табл. 1). Методики ISO 16266:2006 и МР № 96/225–1997 предусматривают использование мембранной фильтрации при исследовании бутилированных вод и вод, близких по уровню предполагаемой контаминации. Обе методики используют прямой посев сконцентрированной пробы на среду Эндо или Блеск (МР № 96/225–1997) или на цетримидный агар (ISO 16266:2006),

который является более селективным и подавляет не только постороннюю флору, но и другие виды псевдомонад. Методика ISO 8360-1:1988 подобно методике 1984 г. и МУ 2.1.4.1184-03 использовала обогащение в жидкой среде, но в качестве среды обогащения — среду Дрейка-10 с предварительным концентрированием пробы на мембранах при исследовании образцов объемом свыше 50 мл. Посев обогащенного материала по методике ISO 8360-1:1988 производится на молочный агар с цетримидом.

<sup>15</sup> МР № 96/225–1997 «Контроль качества и безопасности минеральных вод по химическим и микробиологическим показателям».

<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. ISO 8360-1:1988. Water quality; detection and enumeration of *Pseudomonas aeruginosa*; part 1: method by enrichment in liquid medium — Качество воды — определение и подсчет *Pseudomonas aeruginosa*. Часть 1. Метод обогащения в жидкой среде. Отменен.

### Интегральная оценка эффективности методик

Для определения необходимости и путей модернизации отечественной методики 1984 г. был проведен ряд исследований с целью сравнения ее эффективности с аналогичной международной методикой ISO 8360-1:1988. Была выполнена инте-

# Испытания, измерения, анализ

## Сравнение ключевых этапов методик определения псевдомонад в воде

[табл. 1]

Метод	Методика 1984 г.	Методика № 96/225-1997	ISO 8360-1: 1988	ISO 16266:2006
Концентрирование образца методом МФ	Нет	Да	Для объемов >50 мл	Да
Среда обогащения	Бонде	Прямой посев или метод наиболее вероятных чисел с использованием лактозо-пептонной воды	Дрейка-10	Прямой посев
Плотная селективная среда	Блеск	Эндо или Блеск	Молочный агар с цетримидом	Цетримид агар

гральная оценка эффективности методик, а также проведено исследование эффективности отдельных этапов анализа: оценка ростовых свойств сред обогащения Бонде и Дрейка и плотных дифференциальных сред Эндо и цетримидного агара, оценка дифференцирующих свойств среды Блеск.

Интегральная оценка эффективности методик определения *P.aeruginosa* проводилась путем параллельного исследования нескольких модельных суспензий. Для этого одинаковые низкоуровневые посевные дозы монокультур эталонных микроорганизмов или их смесей вносили в подготовленные среды Бонде и

Дрейка, которые затем инкубировали в соответствии с процедурой. Штаммы, использованные в исследовании, состав смесей и посевные дозы представлены в первой части табл. 2. После инкубации из всех сред делали высеив обогатившей суспензии параллельно на среды Блеск (приготовлена на основе питательного агара (ПА) производства *HiMedia*, Индия), Эндо и цетримидный агар.

Ростовые свойства сред Бонде и Дрейка для целевых и нецелевых микроорганизмов оценивали по методике МУ 2.1.4.1057-01 путем определения показателя «чувствительность» для штаммов *P.aeruginosa* ATCC9027 и

*Escherichia coli* M17-02. Порядок обогащения каждой из сред для штамма *P.aeruginosa* ATCC9027 рассчитывали как соотношение концентраций жизнеспособных бактерий эталонного штамма до и после обогащения в соответствующей питательной среде после инокуляции в 10 мл среды 1 мл суспензии *P.aeruginosa* ATCC9027 с концентрацией 100 КОЕ/мл. Ростовые свойства сред Эндо и цетримидного агара оценивали через показатель «% всхожести» для штамма *P.aeruginosa* ATCC9027 при прямом поверхностном посева и посева методом мембранной фильтрации. Дифференцирующие свойства среды Эндо определяли путем посева смеси штаммов *P.aeruginosa* ATCC9027 и *E.coli* M17-02 обоими методами. Дифференцирующие свойства среды Блеск оценивали из посевов монокультур целевых и нецелевых штаммов бактерий, а также их смесей в разных соотношениях.

Полученные результаты интегральной оценки эффективности методик представлены во второй части табл. 2. При визуальной оценке посевов среда Бонде во всех случаях оставалась прозрачной, и только в посевах смесей

## Результаты параллельного исследования модельных суспензий по отечественной методике 1984 г. и международной методике ISO 8360-1:1988

[табл. 2]

Штамм или смесь штаммов	Доза (КОЕ/посев)	Помутнение		Высев из среды Бонде				Высев из среды Дрейка			
		Среда Бонде	Среда Дрейка	Среда Блеск		Среда Эндо	Цетримид агар	Среда Блеск		Среда Эндо	Цетримид агар
				Рост	Блеск			Рост	Блеск		
<i>P.aeruginosa</i> ATCC9027	14	—	+	—	—	—	—	+	—	+	+
<i>E.coli</i> M17-02	111	—	—	—	—	—	—	—	—	единичные	—
<i>P.fluorescens</i> 948	7	—	+	—	—	—	—	+	—	+	+
<i>A.caviae</i> 21833	3	—	—	—	—	—	—	—	—	единичные	—
<i>P.fluorescens</i> + <i>E.coli</i> + <i>A.caviae</i>	121	+/-	+	+	—	+	+	+	—	+	+
<i>P.fluorescens</i> + <i>E.coli</i> + <i>A.caviae</i> + <i>P.aeruginosa</i>	135	+/-	+	+	—	+	+	+	—	+	+

## Шаг вперед, два шага назад. Эффективность методик определения *Pseudomonas aeruginosa* в воде

штаммов, где суммарная заражающая доза была на порядок выше, наблюдалось незначительное помутнение. Образования пленки не наблюдалось ни в одном из посевов. В среде Дрейка, напротив, наблюдалось выраженное помутнение посевов с псевдомонадами и образование поверхностной пленки в посевах, содержащих *P.aeruginosa*. В посевах монокультур *E. coli* и *Aeromonas caviae* помутнения не наблюдалось ни в среде Бонде, ни в среде Дрейка. Результаты визуальной оценки были подтверждены результатами посева в плотные среды. Особенно хочется отметить тот факт, что высева из среды Бонде, инокулированной 14 КОЕ *P.aeruginosa* и 7 КОЕ *Pseudomonas fluorescens*, оказались «отрицательными». В то же время все содержавшие псевдомонады посева из среды Дрейка были «положительными». В посевах из сред обогащения, инокулированных монокультурами эшерихий<sup>15</sup> и аэромонад<sup>16</sup>, только при высеве из среды Дрейка наблюдались единичные колонии на среде Эндо. При этом характерного для *P.aeruginosa* золотистого блеска не было отмечено ни в одном из посевов на среду Блеск как из среды Бонде, так и из среды Дрейка.

Отсутствие роста при высеве из среды Бонде, инокулированной 14 КОЕ *P.aeruginosa*, и наличие его при высеве из среды Дрейка, зараженной аналогичной дозой, свидетельствует о меньшей чувствительности среды Бонде по сравнению со сре-

<sup>15</sup> Вид кишечной палочки.

<sup>16</sup> Грамотрицательные палочковидные бактерии, являющиеся факультативными анаэробами.

### Результаты определения порядка обогащения сред Бонде и Дрейка

[табл. 3]

Питательная среда	Концентрация микроорганизмов в среде до обогащения (КОЕ/мл)	Концентрация микроорганизмов в среде после обогащения (КОЕ/мл)	Порядок обогащения
Бонде	$1,0 \cdot 10^1$	$5,2 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^4$
Дрейка	$1,0 \cdot 10^1$	$1,2 \cdot 10^9$	$1,2 \cdot 10^8$

дой Дрейка и/или о более высоких ее ингибирующих свойствах. Это значительный недостаток методики, так как она не позволяет определять низкие концентрации *P.aeruginosa* (порядка десяти клеток в литре), что неприемлемо для исследования подготовленной воды, для которой наиболее характерны подобные

сталлический фиолетовый ингибитор, что оправдано при исследовании объектов с высокими уровнями контаминации, но совершенно неприемлемо при исследовании подготовленных вод с низким содержанием микроорганизмов. Во-вторых, несмотря на то, что среды Бонде и Дрейка являются минимальными<sup>17</sup> син-

### Методика определения *P.aeruginosa* в питьевой и других типах подготовленной воды, изложенная в МР 1984 г., требует модернизации с учетом современных методов исследования и современных стандартизованных коммерческих сред

уровни контаминации. Этот вывод подтвердили полученные значения показателя «чувствительность» (для среды Дрейка около 11 КОЕ/мл и >1000 КОЕ/мл для среды Бонде) и порядка обогащения данных питательных сред для штамма *P.aeruginosa* ATCC 9027 (для среды Дрейка 1,0 мл из 7-го разбавления и свыше 1,0 мл из 5-го разбавления — для среды Бонде).

По результатам исследования степени обогащения (табл. 3) эффективность среды Дрейка оказалась на 4 порядка выше, чем среды Бонде. Этот факт можно объяснить следующими причинами. Во-первых, в среде Бонде содержится кри-

тетическими питательными средами, среда Бонде является более бедной и содержит единственный источник углерода — цитрат, тогда как в среде Дрейка источником углерода и азота являются аспарагиновая кислота и пролин. Более богатая среда Дрейка, тем не менее, сохраняет селективность в отношении целевых микроорганизмов с более сложными пищевыми потребностями, чем псевдомонады. Интересной особенностью среды Дрейка является также оптимальность солевого состава для образования пигмента флюоресцеина, который использует-

<sup>17</sup> Среда простого состава.

# Испытания, измерения, анализ

## Результаты контроля ростовых свойств цетримидного агара разных производителей

[табл. 4]

Партия среды	Производитель	% всхожести в прямом посеве	% всхожести в посеве методом мембранной фильтрации
vm 579284 338	Merck	23	84
0000085094	HiMedia	23	91
0000016318	HiMedia	6	87
0000005862	HiMedia	2	92
2K047	HiMedia	10	98
vm 242284 419	Merck	30	104
143112	Difco	1	91

ся как диагностический признак в международной методике ISO 8360-1:1988 и не применяется в отечественной практике.

Чтобы оценить пригодность среды Эндо для исследований псевдомонад, был определен показатель «% всхожести» штамма *P.aeruginosa* ATCC 9027 на среде Эндо. В качестве контрольной среды использовался питательный агар (обе среды — ГНЦПМ г. Оболенск). Значение показателя составило 105% при прямом посеве и 113% — при посеве мето-

дом мембранной фильтрации. Дифференцирующие свойства среды Эндо при посеве смеси культур *P.aeruginosa* и *E. coli* также оказались приемлемыми для обнаружения псевдомонад (см. рис. 2).

Результаты контроля цетримидного агара разных производителей по показателю «% всхожести» представлены в табл. 4. Особенностью данной среды является то, что она обладает низкими ростовыми свойствами в прямом посеве и пригодна для

определения *P.aeruginosa* только для посевов из сред обогащения и посевов методом мембранной фильтрации.

Среда Блеск является нестандартизованной средой, которая готовится *ex tempore*<sup>18</sup>, и ее эффективность в значительной степени зависит от состава компонентов, что признают и сами разработчики. Приемлемые результаты, по признанию авторов, получаются только при использовании в качестве агаровой основы для приготовления среды мясопептонного агара, который в настоящее время самостоятельно не готовят ни в одной лаборатории. Использование же в качестве основы готового коммерческого питательного агара в «ускоренном» варианте среды значительно ухудшает проявление признака от сплошного блеска до «блестящих точек на поверхности колоний или блестящего ободка вокруг колонии» (методика 1984 г.).

Для оценки эффективности среды Блеск проводился параллельный высеv чистых культур эталонных штаммов и модельных суспензий с разными концентрациями целевых и нецелевых микроорганизмов на четыре варианта среды Блеск, отечественный питательный агар и на среду № 9, аналог среды Кинг А, которая предназначена для определения пигмента пиоцианина. Варианты среды Блеск отличались агаровой основой и жирностью молока. Одна среда была приготовлена на основе отечественного ПА, вторая — на основе ПА производства HiMedia (Индия). В каждом из этих вариантов было еще два варианта

Рис. 2

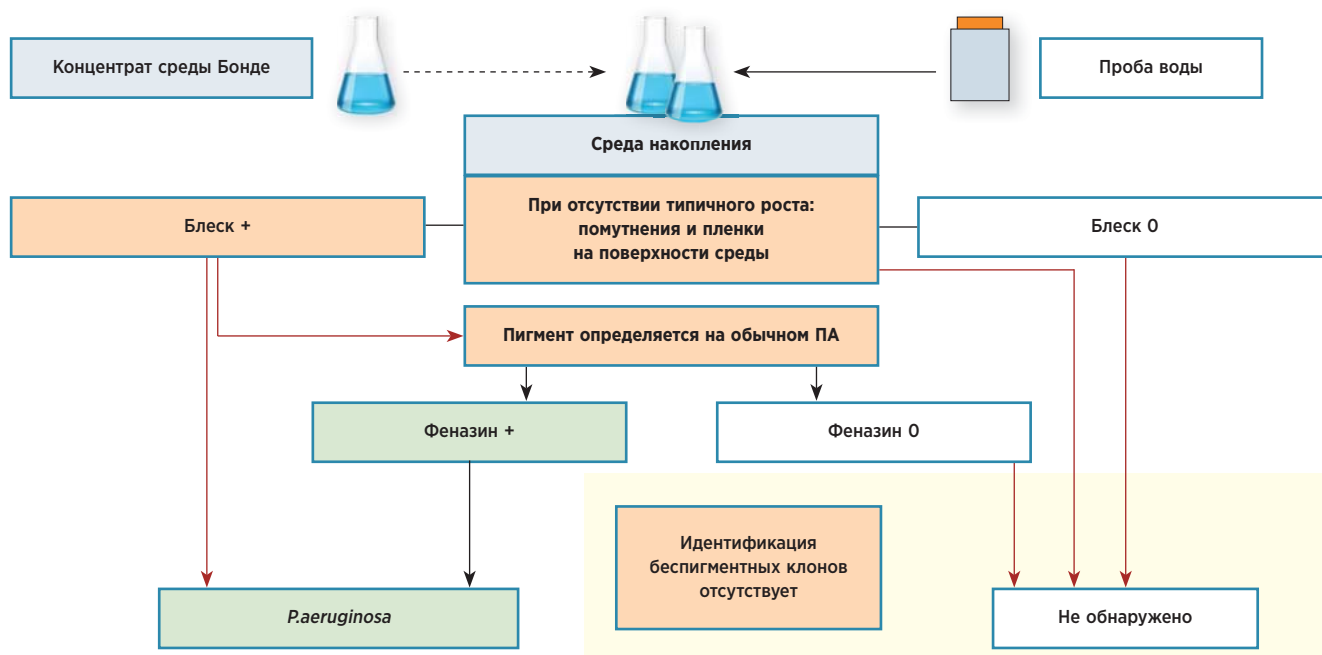
Дифференцирующие свойства среды Эндо при прямом поверхностном посеве (слева) и посеве методом мембранной фильтрации (справа). Колонии *P.aeruginosa* шероховатые, бесцветные (цвета среды) (инкубация при 37 °С, 18–24 ч)



<sup>18</sup> По мере надобности — прим. ред.

## Шаг вперед, два шага назад. Эффективность методик определения *Pseudomonas aeruginosa* в воде

Рис. 3  
Модификация методики МР 1984г. в МУ 2.1.4.1184-03



сред с молоком жирностью 3,2 и 0,5 %.

Наиболее важным результатом исследования оказалось отсутствие исключительной видоспецифичности среды Блеск в отношении *P.aeruginosa*, а проявление признака блеска зависело от целого ряда факторов. Подробно результаты оценки эффективности следы Блеск изложены в [1].

### Оценка эффективности методики 1984 г.

1. Проведенные исследования показали, что методика, описанная в МР 1984 г., не позволяет определять наличие *P.aeruginosa* в низких концентрациях (около 10 КОЕ/л), что является значимым недостатком при исследовании питьевой и других типов подготовленной воды.

2. Низкая чувствительность методики обусловлена отсутствием этапа концентрирования

пробы и низкими ростовыми свойствами среды Бонде, рекомендованной в качестве среды обогащения.

3. Среда Блеск не обладает исключительной видоспецифичностью в отношении *P.aeruginosa*, а дифференцирующие свойства среды зависят от качества ее компонентов и ряда других факторов.

4. Из-за не стандартизованного состава среды Блеск и ее сомнительных дифференцирующих свойств предпочтительно использовать современные сухие коммерческие (стандартизованные) среды, например цетримидный агар и/или среду Эндо.

Очевидно, что методика определения *P.aeruginosa* в питьевой и других типах подготовленной воды, изложенная в МР 1984 г., требует модернизации с учетом современных методов исследования и современных

стандартизованных коммерческих сред.

Хотя анализируемая методика была модернизирована (МУ 2.1.4.1184-03), однако внесенные изменения (см. рис. 3) привели к снижению ее чувствительности и специфичности и, как следствие, к потенциальному занижению результатов. В новом варианте методики:

- не проводится идентификация беспигментных штаммов. То есть присутствие клонов *P.aeruginosa*, не образующих пигмент, приводит к отрицательному результату, хотя согласно *ISO 16266:2006* и *ISO 8360-1:1988* 10% штаммов *P.aeruginosa* не образуют пигментов феназинового ряда;

- наличие пигментов определяют не на специализированной среде Кинга А или среде № 9, а на обычном питательном агаре, в то время как известно, что пигментообразование у псевдомо-

# Испытания, измерения, анализ

над существенно зависит от солевого и аминокислотного состава питательной среды. Например, *P.aeruginosa* не образует пигмент пиоцианин на ПА (*HiMedia*);

- пигментообразование подтверждается только у колоний с золотистым блеском, но при выявлении типичного роста в среде Бонде (помутнение и образование пленки на поверхности) это исследование можно не проводить, а считать результат положительным только по наличию блеска. В то же время, исследования продемонстрировали нестабильность проявления данного признака и его зависимость от множества параметров;

- при отсутствии колоний с блеском результат считается отрицательным вне зависимости от наличия неблестящих колоний. В исходной же методике при отсутствии блестящих колоний пигментообразование определяется у колоний без блеска;

- при отсутствии видимого помутнения в среде Бонде методика МУ 2.1.4.1184-03 позволяет считать результат отрицательным без выполнения посева на плотные среды, хотя проведенные исследования показали, что при исследовании вод с низкими уровнями контаминации типичный рост отсутствует из-за низких ростовых свойств среды Бонде.

Таким образом, формальное исполнение модифицированной методики из МУ 2.1.4.1184-03 может привести к получению ложноотрицательных результатов, что неприемлемо при исследовании таких важных, с эпидемиологической точки зрения, объектов, как бутилированная и др. типы питьевых вод, и что не-

гативно скажется на достоверности контроля качества соответствующей продукции.

## Заключение

Результаты проведенных исследований позволяют дать следующие рекомендации по применению исходной методики 1984 г. для выявления псевдомонад в питьевой и других типах подготовленной воды:

1. Перед посевом в среду обогащения исследуемые образцы воды концентрировать методом мембранной фильтрации.

2. Заменить среду Бонде на среду Дрейка для малококонтamинированных типов вод.

3. Высев со среды обогащения проводить не только на среду Блеск, но и на цетримидный агар и/или среду Эндо.

4. Исследование пигментообразования проводить на специ-

ализированных средах для всех типичных колоний вне зависимости от наличия блеска.

5. Идентифицировать оксидозоположительные, грамотрицательные, беспигментные клоны до вида при помощи тест-систем биохимической идентификации, например *api 20NE*.

## Использованная литература:

1. Тымчук С.Н., Ахапкина Е.Н. и др. Не все то золото, что блестит // Контроль качества продукции. — № 10. — 2017. — С. 18–24.

2. ГОСТ 31955.1-2013 (ISO 9308-1:2000) «Вода питьевая. Обнаружение и количественный учет *Escherichia coli* и колиформных бактерий. Часть 1. Метод мембранной фильтрации».



## Резюме

**Низкая чувствительность методики 1984 г. определения *P.aeruginosa* в водных объектах окружающей среды обусловлена отсутствием этапа концентрирования пробы и низкими ростовыми свойствами используемой среды.**

**Рекомендовано не применять модернизированную методику МУ 2.1.4.1184-03 в связи с занижением результатов исследований из-за нестабильности проявления признака блеска на среде Блеск и отсутствием у методики видоспецифичности. Для повышения чувствительности методики и возможности определения *P.aeruginosa* в низких концентрациях в питьевой воде методику нужно дополнить этапом концентрации образца методом мембранной фильтрации, заменить среду Бонде на среду Дрейка для мало контаминированных типов вод, а для повышения специфичности высев проводить не только на среду Блеск, но и на цетримидный агар и/или среду Эндо**