

# САМООЧИЩЕННЯ ФАСОВАНОЇ МІНЕРАЛЬНОЇ ЛІКУВАЛЬНО-СТОЛОВОЇ ВОДИ ВІД *ESCHERICHIA COLI* ВПРОДОВЖ ЗБЕРІГАННЯ

Хмельєвська О. М., Мокієнко А. В., Войцеховський В. Г., Ніколенко С. І.

ДУ "Український науково-дослідний інститут медичної реабілітації та курортології Міністерства охорони здоров'я України", м. Одеса, Україна  
Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця, м. Київ, Україна

**Ключові слова:** фасована мінеральна лікувально-столова вода, *Escherichia coli*, самоочищення.

**Вступ.** Самоочищення (антимікробна, бактерицидна дія) мінеральних вод (МВ) від патогенної та умовно-патогенної мікробіоти обумовлюється як автохтонною мікробіотою чи мікробіотою субстрату, так і специфічним комплексом органічних речовин. Виразність антибактеріальної активності залежить від кількісного і якісного вмісту автохтонної мікробіоти і продуктів її життєдіяльності [1, 2]. Відомо, що деякі флуоресцируючі види *Pseudomonas spp.* (наприклад, *Pseudomonas fluorescens*), представники роду *Xantomonas* [3], вид *Flavobacterium odoratum* [4], а також деякі вуглеводнеокиснювальні мікроорганізми є продуцентами антибіотичних речовин [2].

До двох функціональних класів вторинних метаболітів, типових для *Pseudomonas spp.*, відносять сідерофори і ряд активних речовин, які мають властивості антибіотиків – феназіни, ніолотеорин, пірролінітрин, трополон, піоціанін та 2,4-діацетилфлороглюцинол. Другий важливий клас вторинних продуктів життєдіяльності *Pseudomonas* включає в себе амінокислоти і пептиди. Крім цих двох головних груп вторинних метаболітів з культур *Pseudomonas* було виділено деякі гліколіпіди, ліпіди та аліфатичні сполучення з широким спектром антибактеріальної та противогрибкової активності [5].

Необхідність визначення здатності до самоочищення МВ продиктовано тим, що застосування засобів з бактерицидним ефектом статистично вірогідно знижує число осіб з захворюваннями нирок та сечовивідних шляхів, має практичне значення, особливо в терапії шлунково-кишкових захворювань, зокрема, жовчовивідних шляхів [2, 6]. Ці дані підтверджують важливість вимог Директиви 2009/54/ЄС [7] про необхідність збереження автохтонної мікробіоти МВ.

Попит до фасованих вод з кожним роком зростає [8, 9]. Разом з тим висіювання санітарно-показової мікробіоти з фасованих МВ реєструється кожного року [10], на фоні нестійкої епідемічної ситуації із захворюваності на кишкові інфекції [11].

**Мета дослідження** полягала у визначенні здатності до самоочищення фасованої природної лікувально-столової хлоридної натрієвої МВ Куяльницького родовища у вигляді суміші вод 3-х свердловин: 1) негазованої до фільтрації; 2) негазованої після фільтрації; 3) сильногазованої МВ (го-

тової продукції), відносно тест-культури *Escherichia coli* O55K59 впродовж п'яти місяців зберігання зразків.

**Актуальність даної роботи** визначається відсутністю вітчизняних та зарубіжних досліджень фасованих негазованих та газованих МВ впродовж зберігання щодо самоочищення від автохтонних мікроорганізмів.

**Матеріали і методи.** Об'єкт досліджень: МВ фасована негазована до та після фільтрації; сильногазована МВ – у вигляді суміші вод 3-х свердловин одного родовища; контрольні автоклавовані зразки.

Дослідження проводили згідно методики [12, 13], яка базується на контамінації досліджуваного матеріалу тест-культурою заданої концентрації, реєстрації змін середовища та оцінці результатів. Здійснювали контамінацію *E. coli* O55K59 в концентраціях  $10^1$  –  $10^3$  у чотирьох паралельних пробах вод по кожній концентраційній серії. Відмирання тест-культури реєстрували кожні 10 діб (від моменту контамінації МВ), до повного відмирання тест-культури. Для цього після кожного пересіву підраховували число позитивних проб у кожній концентраційній серії, а оцінку рівня бактерицидності здійснювали за формулою:

$$B = \frac{\sum A_{1,2n}}{t},$$

$$\text{де } A = \frac{n_x \times \lg \text{КУО}}{n_0} \times 100\%,$$

B – показник рівня бактерицидності МВ, %;

A<sub>1,2...n</sub> – бал, що відбиває кількість проб з позитивною реакцією і показник концентрації тест-культури в одній серії проб;

Σ A<sub>1,2...n</sub> – сумарний бал, що відбиває кількість проб з позитивною реакцією по всіх серіях;

n<sub>x</sub> – число проб з позитивною реакцією; n<sub>0</sub> – вихідне число проб у серії; t – 10;

lg КУО – показник ступеню концентрації контамінуючої дози тест-культури.

Після 10 діб культивування, для реєстрації загибелі тест-культури, з кожного флакону з МВ та *E. coli* і контролю вносили по 1,0 см<sup>3</sup> у пробірки з напіврідким середовищем, що містило лактозу і індикатор (бромтимоловий синій). Посіви на середовище з лактозою витримували у

термостаті при температурі  $37 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$  впродовж 5 годин. Відсутність газоутворення в пересіваннях і незмінний колір середовища свідчило про відсутність росту тест-культури. Таку пробу вважали позитивною. Пожовтіння середовища і газоутворення в ньому, навпаки, підтверджували наявність життєздатної кишкової палички. Дана методика виконання вимірювань показника бактерицидності МВ оцінюється в діапазоні від 2,5 % до 60 %, де при набуванні показником бактерицидності (В) значення від 2,5 % до 10,0 % МВ оцінюють як слабо-, від 15 % до 30 % як помірно-, від 37,5 % до 60 % – суттєво-бактерицидну.

**Результати та обговорення.** На рисунках представлені результати самоочищення від *E. coli* негазованої МВ до фільтрації, та негазованої МВ після фільтрації, оскільки сильногазована МВ та контрольні автоклавовані зразки МВ такої зданості не проявили. На рис. 1 показано, що негазована МВ до фільтрації, яку зберігали впродовж 1-го місяця, через 30 діб після контамінації проявила слабку бактерицидну дію (2,5 %), через 50 діб – помірну (20 %) та через 60 діб – суттєву бактерицидність (60 %). Негазована МВ після фільтрації, через 20 діб після контамінації проявила помірну бактерицидну дію (30 %) і вже через 30 діб показала суттєву бактерицидність (60 %).

На рис. 2 показано, що негазована МВ до фільтрації, яку зберігали впродовж 2-х місяців, через 20 діб після кон-

тамінації проявила слабку (5 %), через 30 діб – помірну (15 %) та через 40 діб – суттєву бактерицидну дію (60 %).

Негазована МВ після фільтрації, через 10 діб після контамінації проявила помірну (15 %) і вже через 20 діб повністю пригнітила ріст *E. coli* (60 %).

На рис. 3 показано, що негазована МВ до фільтрації, яку зберігали впродовж 3-х місяців, через 20 діб після контамінації проявила помірну (35 %), і вже через 30 діб суттєву бактерицидну дію (60 %). Негазована МВ після фільтрації, через 10 діб після контамінації пригнітила розвиток *E. coli* на 2,5 %, тобто, проявила слабку бактерицидну дію, через 20 діб – помірну (30 %) і вже через 30 діб повністю пригнітила ріст тест-культури (60 %).

На рис. 4 видно, що негазована МВ до фільтрації, яку зберігали впродовж 4-х місяців, через 10 діб після контамінації зовсім не проявила бактерицидну дію, однак через 20 діб показала слабку (2,5 %) і через 30 діб – суттєву бактерицидну дію (60 %). Негазована МВ після фільтрації почала пригнічувати розвиток тест-культури на 20 добу після контамінації і спочатку проявила слабку (12,5 %), через 30 діб – помірну, та згодом суттєву бактерицидну дію (60 %) через 40 діб.

Слід визначити, що після 5-и місяців зберігання (рис. 5) негазована МВ після фільтрації проявила суттєву бактерицидну дію через 20 діб після контамінації, як і ця ж вода

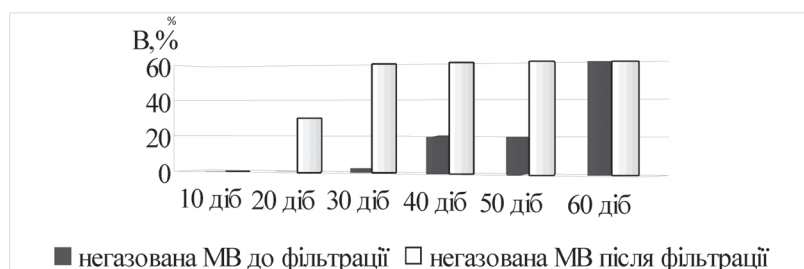


Рис. 1. Здатність до самоочищення фасованих лікувально-столових МВ від *E. coli* після 1-го місяця зберігання до контамінації

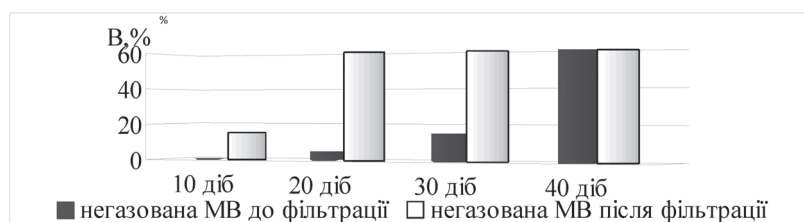


Рис. 2. Здатність до самоочищення фасованих лікувально-столових МВ від *E. coli* після 2-го місяця зберігання до контамінації

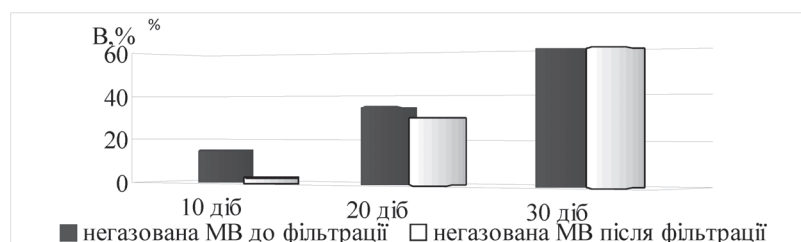


Рис. 3. Здатність до самоочищення фасованих лікувально-столових МВ від *E. coli* після 3-х місяців зберігання до контамінації

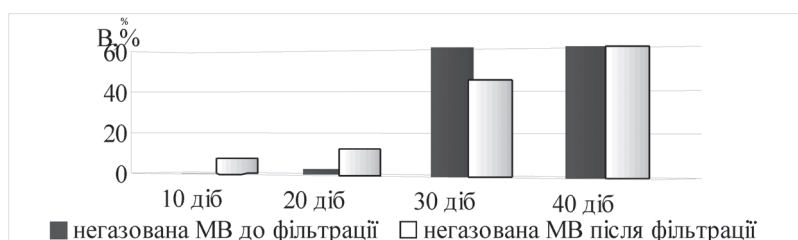


Рис. 4. Здатність до самоочищення фасованих лікувально-столових МВ від *E. coli* після 4-х місяців зберігання до контамінації

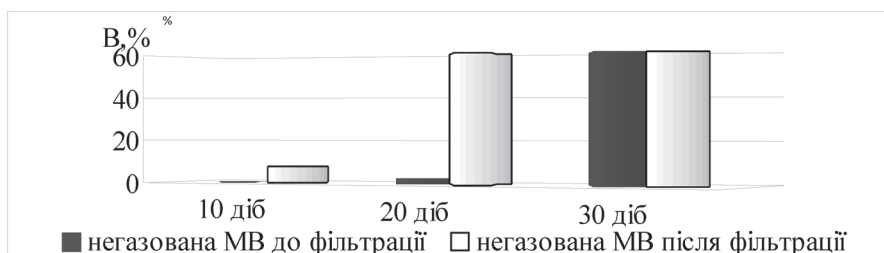


Рис. 5. Здатність до самоочищення фасованих лікувально-столових МВ від *E. coli* через 5 місяців зберігання до контамінації

після 2-ох місяців зберігання. Це може свідчити про відновлення популяції мікроорганізмів – продуцентів антибіотичних речовин та їх найбільш активну життєдіяльність на даному етапі зберігання.

Навпаки, негазована МВ до фільтрації (5 місяців зберігання) почала проявляти слабку бактерицидну дію через 20 діб після контамінації (2,5%) і тільки через 30 діб показала суттєву бактерицидну дію (60%).

#### Висновки:

1. Констатовано здатність до самоочищення негазованих фасованих лікувально-столових МВ до та після фільтрації від *E. coli* впродовж 5-и місяців зберігання.

2. Встановлено, що мінеральна вода із додаванням діоксиду вуглецю не має здатності до самоочищення.

3. Досліджено, що інтенсивність пригнічення *E. coli* у фасованій негазованій мінеральній воді до фільтрації зростає з кожним наступним місяцем зберігання; максимальна кількість діб для пригнічення розвитку склала 30.

4. Доведено, що фасована негазована мінеральна вода після фільтрації найбільш інтенсивно (20 діб після контамінації) пригнічує розвиток *E. coli* на 2-му та 5-му місяці зберігання.

5. Обґрунтовано важливість збереження автохтонної мікробіоти в фасованих лікувально-столових водах, на якісний та кількісний склад якої можуть впливати різні способи обробки мінеральних вод (фільтрація, додавання діоксиду вуглецю). Збереження природного стану мінеральних вод забезпечує ефективність їх використання та практичну значущість.

Рецензент: академік НАН, член-кор. НАМН України, д.м.н., професор Ширококов В.П.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Хмелєвська О. М. Особливості бактерицидної дії мінеральних вод Куяльницького родовища відносно *Escherichia coli* / Міжнар. наук. конф. студентів та молодих вчених "Актуальні питання сучасної медицини": Тези конф. – Харків, 2011. – С. 177–178.

2. Николєнко С. И. Микрофлора слабоминерализованных вод типа "Нафтуся" и её влияние на бальнеологические свойства : автореф. дис. канд. биол. наук: 03.00.07, 14.00.34 / Николєнко Светлана Ивановна; Институт микробиологии Академии наук Белорусской ССР. – Минск, 1988. – 22 с.

3. Ducluzeau R. [et al.] Influence of autochthons bacteria on the longevity of *Escherichia coli* in bottled mineral water // Sciences and aliments. – 1984. – № 4. – P. 585–593.

4. Маслов Ю. Н. Микробиологические аспекты бальнеотерапии с использованием сульфатно-хлоридных минеральных вод : автореф. на соиск. уч. степ. д. мед. н. : спец. 14.00.51, 03.00.07 / Маслов Юрий Николаевич; – Москва, 2005. – 46 с.

5. Бутилированная вода: типы, состав, нормативы / под ред. Д. Сениор, Н. Дега; пер. с англ. Е. Бровниковой, Т. Зверевич. – СПб.: Профессия, 2006. – 424 с.

6. Феодосиади Н. И. Микрофлора, бактериостатическое и бактерицидное действие термальных вод Зауралья : автореф. на соиск. уч. степ. к. мед. н. : спец. 03096 "Микробиология" / Н. И. Феодосиади – Свердловск, 1970. – 20 с.

7. Directive 2009/54/EC of the European Parliament and of the council of 18 June 2009 on the exploitation and marketing of natural mineral waters (Recast)(Text with EEA relevans)[Електронний ресурс] / Режим доступа: [http://www.fsai.ie/uploaded/Files/Legislation\\_Links/Water/Dir\\_2009\\_54.pdf](http://www.fsai.ie/uploaded/Files/Legislation_Links/Water/Dir_2009_54.pdf)

8. Реалізація вимог деяких положень Директиви 2009/54/ ЄС при визначенні мікробіологічних характеристик мінеральних вод / С. І. Ніколєнко, О. М. Хмелєвська, А. В. Мокієнко, С. М. Глуховська / Мат. наук.-пр. щорічної 7-ої ювілейної конф., "Сучасні проблеми епідеміології, мікробіології, гігієни". – Львів, 2010. – С.115–117.

9. Kokkinakis E. N. Monitoring microbiological quality of bottled water as suggested by HACCP methodology

/ E. N. Kokkinakis, G. A. Fragkiadakis, A. N. Kokkinaki // *Food Control*. – 2008. – № 19. – P. 957 – 961.

10. Ніколенко С.І. Динаміка висіювання санітарно-показових мікроорганізмів з газованих та негазованих фасованих мінеральних вод / С.І. Ніколенко, О.М. Хмелевська, А.В. Мокієнко // *Матеріали наук.-практ. конф. "Сучасні проблеми епідеміології, мікробіології, гігієни"*. – Львів, 2008. – С. 365 – 367.

11. Панорама охорони здоров'я населення України / А. В. Підаєв, О. Ф. Возіанов, В. Ф. Москаленко, В. М. Пономаренко та ін. – К. : Здоров'я, 2003. – 396 с.

12. Посібник з методів контролю природних мінеральних вод, штучно-мінералізованих вод, напоїв на їх основі та преформованих засобів Ч. 2. Мікробіологічні дослідження / Ніколенко С. І., Глуховська С.М., Хмелевська О. М., Петровська В. Б. – К.: КІМ. – 2011. – 52 с.

13. Ніколенко С. І. Методика визначення бактерицидності рідких природних лікувальних ресурсів та преформованих засобів / С. І. Ніколенко, О. М. Хмелевська // *Санітарний лікар України*. – 2010. – № 3. – С. 110 – 124.

### САМООЧИЩЕНИЕ ФАСОВАННОЙ МИНЕРАЛЬНОЙ ЛЕЧЕБНО-СТОЛОВОЙ ВОДЫ ОТ *ESCHERICHIA COLI* В ТЕЧЕНИИ ХРАНЕНИЯ

Хмелевская О.Н., Мокієнко А.В.,  
Войцеховский В.Г., Ніколенко С.І.

ГУ "Украинский научно-исследовательский институт медицинской реабилитации и курортологии МЗ Украины", г. Одесса  
Национальный медицинский университет им. О.О. Богомольца, г. Киев

**Резюме.** Впервые в Украине проведено исследование самоочищения негазированной фасованной природной минеральной лечебно-столовой воды до и после фильтрации и сильногазированной (готовой продукции) в течении пяти месяцев хранения. Установлено, что только негазированная минеральная вода может проявлять такую способность. Углекислый газ подавляет развитие автохтонной микробиоты, что исключает возможность минеральной воды антагонистически влиять на условно-патогенную микробиоту. Это следует учитывать при употреблении фасованной минеральной лечебно-столовой воды.

**Ключевые слова:** фасованная минеральная лечебно-столовая вода, *Escherichia coli*, самоочищення.

### SELF-CLEANING BOTTLED MINERAL MEDICAL-TABLE WATER FROM *ESCHERICHIA COLI* DURING STORAGE

O.N. Khmyelyevska, A.V. Mokienko,  
V.G. Voycehovskiy, S.I. Nikolenko

State agency "Ukrainian Research Institute for Medical Rehabilitation and Balneology of Ukrainian Ministry of Public Health", Odessa  
National O.O. Bohomolets Medical University, Kyiv

For the first time in Ukraine, a study of self-purification of bottling non-carbonated natural mineral medical-table water before and after filtration and carbonated (finished product) within five months of storage. Found that only non-carbonated mineral water may be this ability. Carbon dioxide inhibits the development of the autochthonous microbiota, which excludes the possibility of mineral water antagonistic influence on opportunistic microbiota. What to consider when using bottling mineral medical-table water.

**Key words:** bottling mineral medical-table water, *Escherichia coli*, self-cleaning.