

Міністерство освіти і науки України
Тернопільський національний педагогічний університет
імені Володимира Гнатюка

Хіміко-біологічний факультет
Кафедра ботаніки та зоології

Кваліфікаційна робота

на тему:

**«МІКРОБІОЛОГІЧНИЙ СКРИНІНГ ВОДИ ТА ОЦІНКА ЇЇ
БЕЗПЕЧНОСТІ: БІОТЕХНОЛОГІЧНИЙ АСПЕКТ»**

Спеціальність: 162 Біотехнології та біоінженерія

Здобувачки першого (бакалаврського)
рівня вищої освіти,
ОПП «Екологічна біотехнологія»
Левченя Олени Олександрівни

НАУКОВИЙ КЕРІВНИК:
доктор сільськогосподарських наук, професор,
Пида Світлана Василівна

РЕЦЕНЗЕНТ:
Кандидат біологічних наук, доцент, доцент
кафедри мікробіології, вірусології та імунології
Кравець Наталія Ярославівна

Робота захищена з оцінкою:
Національна шкала _____
Кількість балів: _____ Оцінка: ECTS _____

Тернопіль – 2026 р.

Анотація

Левченя О.О. Мікробіологічний скринінг води та оцінка її безпечності: біотехнологічний аспект / Левченя Олена Олександрівна; ТНПУ ім. Володимира Гнатюка, хіміко-біологічний факультет, кафедра ботаніки та зоології; наук. керівник Пида С. В. – Тернопіль, 2026. – ... с.

Кваліфікаційну роботу присвячено розробці та впровадженню методології розширеного мікробіологічного скринінгу зразків поверхневих вод річки Дніпро з використанням методу мас-спектрометрії MALDI-TOF MS. У роботі оптимізовано схему первинного концентрування мікроорганізмів методом мембранної фільтрації та подальшого накопичення в забуференій пептонній воді. Оцінено загальне мікробне число (ЗМЧ), яке становило 10^5 КУО/мл. Проведено детальну таксономічну ідентифікацію виділених ізолятів, серед яких верифіковано *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* та *Staphylococcus aureus*. На основі отриманих даних проведено порівняльний санітарно-мікробіологічний аналіз відповідно до вимог ДСанПіІН 2.2.4-171-10 та стандартів ISO, що дозволило констатувати високий рівень епідеміологічної небезпеки досліджуваної води.

Ключові слова: мікробіологічний скринінг, безпечність води, мембранна фільтрація, MALDI-TOF MS, загальне мікробне число, санітарно-показові мікроорганізми, *Escherichia coli*.

Abstract

Levchenia O. O. Microbiological screening of water and assessment of its safety: a biotechnological aspect / Levchenia Olena; Ternopil Volodymyr Hnatiuk National Pedagogical University, Faculty of Chemistry and Biology, Department of Botany and Zoology; supervisor of scientific work Pyda S. V. – Ternopil, 2026. – p.

The qualification work is devoted to the development and implementation of a methodology for extended microbiological screening of surface water samples from the Dnipro River using the MALDI-TOF MS mass spectrometry method. The scheme of primary concentration of microorganisms by membrane filtration and subsequent accumulation in buffered peptone water was optimized. The total viable count (TVC)

was estimated, which reached 10^5 CFU/ml. A detailed taxonomic identification of the isolated strains was carried out, verifying *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, and *Staphylococcus aureus*. Based on the data obtained, a comparative sanitary-microbiological analysis was performed in accordance with the requirements of DSanPiN 2.2.4-171-10 and ISO standards, which allowed establishing a high level of epidemiological hazard of the water studied.

Keywords: microbiological screening, water safety, membrane filtration, MALDI-TOF MS, total viable count, sanitary-indicator microorganisms, *Escherichia coli*.

ЗМІСТ	
ВСТУП	4
РОЗДІЛ 1. ТЕОРЕТИЧНІ ОСНОВИ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ОЦІНКИ БЕЗПЕЧНОСТІ ВОДИ	8
1.1. Значення води та фактори її мікробіологічного забруднення	8
1.2. Мікробіологічні показники якості та безпечності води	9
1.3. Сучасні методи мікробіологічного скринінгу води та застосування MALDI-TOF MS	10
РОЗДІЛ 2. ЕКОЛОГО-ГІГІЄНІЧНА ОЦІНКА ТА РЕТРОСПЕКТИВНИЙ АНАЛІЗ СТАНУ ВОДНОГО СЕРЕДОВИЩА РІЧКИ ДНІПРО (2022–2026 рр.)	12
2.1. Динаміка гідрохімічних та мікробіологічних показників річки Дніпро у воєнний та поствоєнний періоди (2022–2024 рр.).....	12
2.2. Комплексна оцінка впливу довгострокового техногенного стресу на формування сучасного мікробіоценозу водойми.....	14
РОЗДІЛ 3. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	18
3.1. Матеріали та обладнання для проведення дослідження	18
3.2. Методика проведення мікробіологічного скринінгу води	21
3.3. Ідентифікація мікроорганізмів та оцінка безпечності води	23
РОЗДІЛ 4. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ	25
4.1. Загальна мікробна характеристика досліджуваних зразків води.....	25
4.2. Результати мікробіологічного скринінгу та виділення мікроорганізмів	27
4.3. Санітарно-мікробіологічна інтерпретація виявлених мікроорганізмів ...	35
4.4. Комплексна оцінка мікробіологічної безпечності води у порівнянні з нормативними стандартами	38
4.5. Обговорення ефективності застосованого підходу.....	38
ВИСНОВКИ	40
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	42

ВСТУП

Актуальність проблеми. Забезпечення населення якісною та епідеміологічно безпечною водою є однією з найгостріших екологічних та медико-соціальних проблем ХХІ століття, що безпосередньо впливає на рівень громадського здоров'я та національну безпеку держави [5, 34]. Водні об'єкти, особливо великі річкові артерії України, такі як Дніпро, зазнають колосального антропогенного, техногенного та сільськогосподарського навантаження [8, 37]. Це призводить до інтенсивного мікробіологічного забруднення поверхневих вод [16, 17]. Потрапляння неочищених або недостатньо знезаражених стічних вод, поверхневих змивів з урбанізованих територій та агроценозів формує у водному середовищі стійкі резервуари патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів, які здатні викликати масові спалахи гострих кишкових інфекцій, токсикоінфекцій та зоонозів. Промислові і побутові стічні води стали небезпечним вогнищем забруднення природного навколишнього середовища, тому їх очищення й утилізація є важливою складовою сучасної біотехнології. Хімічний склад стічних вод є дуже мінливим, залежить від низки чинників, тому для їх очищення необхідно застосовувати консорціуми мікроорганізмів, що включають бактерії, гриби, водорості, найпростіші тощо, які мають здатність поглинати домішки з води [19, 29].

Класичний санітарно-мікробіологічний контроль води, регламентований чинними нормативними документами (зокрема ДСанПіН 2.2.4-171-10), тривалий час базувався винятково на рутинних культуральних методах та визначенні обмеженого переліку базових індикаторних показників [6, 9]. Проте, традиційні підходи мають суттєві обмеження: тривалий час виконання аналізу (від 48 до 72 годин), низька роздільна здатність біохімічних тест-систем для атипових штамів та неможливість швидкого виявлення розширеного спектра умовно-патогенних мікроорганізмів, які перебувають у некультивованому, але метаболічно активному стані [31, 32].

У зв'язку з цим, виникає гостра науково-практична потреба у впровадженні методології мікробіологічного скринінгу – комплексного підходу, орієнтованого на максимально повне виявлення всього спектра життєздатної мікробіоти зразка за допомогою високотехнологічних експрес-методів [2, 47]. Одним із найбільш перспективних інструментів сучасної лабораторної діагностики є час-пролітна матрично-активована лазерна десорбція/іонізація (MALDI-TOF MS) [7, 46]. Застосування мас-спектрометричного профілювання рибосомальних білків дозволяє проводити видову ідентифікацію ізолятів за лічені хвилини з безпрецедентною точністю [48, 50]. Поєднання класичного концентрування бактерій методом мембранної фільтрації із високотехнологічною мас-спектрометриєю є актуальним напрямком удосконалення екологічного моніторингу та оцінки безпеки водних екосистем [13, 36].

Мета та завдання дослідження. Метою роботи було проведення комплексного мікробіологічного скринінгу води річки Дніпро та оцінки її безпеки шляхом визначення загального мікробного числа й ідентифікації мікроорганізмів методом MALDI-TOF MS.

Для досягнення поставленої мети передбачалося вирішити наступні завдання:

1. Провести детальний аналіз наукових джерел та нормативної документації щодо сучасного стану проблеми мікробіологічного забруднення води, основних джерел контамінації та ризиків для здоров'я населення.
2. Проаналізувати сучасні методи санітарно-мікробіологічного контролю води, оцінити переваги та перспективи застосування методу MALDI-TOF MS для швидкої ідентифікації мікроорганізмів.
3. Провести відбір, транспортування та підготовку зразків води методами мембранної фільтрації та накопичення у забуференій пептонній воді (ЗПВ) відповідно до вимог стандарту ДСТУ ISO 19458:2003.

4. Визначити загальне мікробне число (ЗМЧ) у досліджуваних зразках води як інтегральний показник мікробного навантаження згідно з ДСТУ ISO 6222:2001.

5. Здійснити первинне культуральне виділення мікроорганізмів на універсальних поживних середовищах за різних умов інкубації (аеробних та в атмосфері з підвищеним вмістом CO₂).

6. Виконати мікробіологічний скринінг зразків із використанням комплексу селективних та диференційно-діагностичних середовищ (кров'яний агар, хромогенні агари, Ендо, XLD, BSA, Бейрд-Паркер, PALCAM, Оксфорд, псевдомонас-агар) та отримати чисті культури ізолятів.

7. Провести видову ідентифікацію виділених ізолятів методом MALDI-TOF MS та встановити наявність санітарно-показових і патогенних мікроорганізмів.

8. Провести порівняльний аналіз отриманих результатів із вимогами чинних санітарних стандартів України та ISO, обґрунтувати ефективність розробленої скринінгової схеми.

Об'єкт досліджень: процеси формування мікробіологічного забруднення та мікробного профілю поверхневих водних об'єктів.

Предмет дослідження: загальне мікробне число, видовий склад санітарно-показових, умовно-патогенних та патогенних мікроорганізмів у воді річки Дніпро та методологія їх мас-спектрометричної верифікації.

Методи дослідження: *санітарно-екологічні* (відбір проб), *культурологічні* (мембранна фільтрація, накопичення, селективне вирощування), *фізіолого-біохімічні* (оцінка гемолізу та ростових властивостей), *фізико-хімічні експрес-методи* (час-пролітна мас-спектрометрія MALDI-TOF MS), *компаративні* (порівняння з ДСТУ, ISO та ДСанПіН) [10, 24].

Базою дослідно-експериментальної роботи були сертифікована лабораторія мікробіологічних досліджень «Лімарія» та науково-дослідна лабораторія фізіології рослин і мікробіології кафедри ботаніки та зоології

хіміко-біологічного факультету Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка (ТНПУ) [35].

Практичне значення отриманих результатів. Оптимізовано комплексну схему мікробіологічного скринінгу води, яка дозволяє скоротити час ідентифікації патогенів з кількох діб до декількох годин [22, 48]. Результати оцінки санітарно-епідеміологічного стану води річки Дніпро можуть бути використані органами екологічного моніторингу для розробки заходів з охорони водойм, а також у навчальному процесі при викладанні дисциплін «Мікробіологія», «Промислова та сільськогосподарська мікробіологія», «Санітарна мікробіологія» та «Екологія водних систем» [1, 14, 35].

Апробація роботи. Результати мікробіологічних досліджень, проведених в умовах лабораторії «Лімарія» обговорено на засіданнях наукової проблемної групи «Азотфіксація в агрофітоценозах» при кафедрі ботаніки та зоології ТНПУ (2025–2026 рр.) та представлено на Всеукраїнській науково-практичній конференції «Litteris et Artibus: Нові Горизонти» (Кременець, 2025 р.).

Публікації. За результатами мікробіологічних досліджень, що представлені у бакалаврській роботі опубліковано 1 працю:

Левченя Олена Мікробіологічний скринінг води з річки Дніпро та оцінка її безпечності / Litteris et [30] Artibus: Нові горизонти : збірник матеріалів Всеукраїнської науково-практичної конференції. Випуск Х. Частина 2. Кременець : ВЦ КОГПА ім. Тараса Шевченка, 2025. С.156-159 [21].

Структура та об'єм роботи. Кваліфікаційна робота складається із вступу, 4-х розділів, висновків, списку використаної літератури. Матеріал роботи викладений на 47 сторінці, ілюстрований таблицями та рисунками. Список цитованої літератури містить 60 Джерел.

РОЗДІЛ 1

ТЕОРЕТИЧНІ ОСНОВИ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ОЦІНКИ БЕЗПЕЧНОСТІ ВОДИ

1.1. Значення води та фактори її мікробіологічного забруднення

Вода є базовим біосферним ресурсом, що визначає можливість існування живих систем та забезпечує стабільність еколого-гігієнічного благополуччя людства [5]. Фізіологічна потреба людини у безпечній питній воді є фундаментальною, а стан водних об'єктів безпосередньо корелює із показниками захворюваності та тривалості життя населення [9, 27].

Формування мікробного пейзажу водойм підпорядковується законам екологічної гідробіології, проте природні процеси самоочищення наразі заблоковані надмірним антропогенним пресингом [3, 16]. Головними факторами антропогенної контамінації поверхневих і підземних вод є:

- скидання неочищених муніципальних та господарсько-побутових стічних вод, що містять солідні концентрації фекальних решток [17, 19];
- сільськогосподарські стоки з тваринницьких комплексів, птахофабрик, а також вимивання органічних добрив з полів (агроценозів) [30];
- поверхневі змиви з урбанізованих територій під час злив та танення снігу [8].

Згідно з екологічною класифікацією, мікрофлору водойм поділяють на автохтонну (природну, притаманну водному середовищу — *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Bacillus*, *Spirillum*, *Caulobacter*) та алохтонну (яка потрапляє ззовні разом із забрудненнями — *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio*) [13, 14]. Саме алохтонна мікрофлора, представлена патогенними та умовно-патогенними ентеробактеріями, ентерококами та стафілококами, становить пряму епідеміологічну загрозу, слугуючи причиною виникнення інфекційних спалахів [29].

Вода є природним середовищем для мешкання багатьох видів мікроорганізмів. Основна їх кількість знаходиться в прибережній зоні та на поверхні, значно менше — далі від берега і на глибині. Чисельність

мікробіому у воді залежить від низки факторів, зокрема: кількості органічних речовин, швидкості течії води, температури, пори року, розміщення та забрудненості водойм. Найменшу кількість мікроорганізмів (10 клітин в 1 мл) можна виявити у підземних водах. У річкових водах вміст мікроорганізмів значно вищий : на глибині від 10 до 100 см виявляють від 60 тисяч до 10 мільйонів клітин в 1 мл води [3].

1.2. Мікробіологічні показники якості та безпечності води

Для з'ясування реального стану гідроекосистем застосовують систему санітарно-мікробіологічних маркерів [6]. Базовим кількісним показником виступає загальне мікробне число (ЗМЧ), що відображає сумарну кількість мезофільних аеробів та факультативних анаеробів, здатних утворювати колонії на універсальному поживному агарі за температури 37 °С протягом 24–48 годин [43]. ЗМЧ слугує чутливим індикатором загальної біологічної контамінації води та ефективності її очищення, проте цей показник не дає уявлення про специфічний таксономічний склад мікробіоти. Колі-титр – найменший об'єм води в мілілітрах, в якому виявляють кишкову паличку (*Escherichia coli*). Колі-індекс – кількість клітин кишкової палички в 1 літрі води. Особлива увага до зазначених вище показників виникає при дослідженні питної води. Мікробне число водопровідної води має бути не більше 100, колі-титр – не менше 300, а колі-індекс – не більше 3 [30].

Для деталізації епідеміологічних ризиків досліджують санітарно-показові мікроорганізми (СПМ) [35]. Вибір конкретних СПМ зумовлений тим, що постійне виділення безпосередніх патогенів (наприклад, *Salmonella typhi* або *Shigella dysenteriae*) у зовнішнє середовище є хвилеподібним [44]. Натомість присутність стійких індикаторів фекального забруднення (бактерій групи кишкової палички, ентерококів) чітко вказує на факт контамінації води виділеннями людини чи тварин [49, 51]. Основними критеріями оцінки безпечності виступають:

- Коліформні бактерії та *Escherichia coli* – маркери свіжого фекального забруднення [39, 49];
- Кишкові ентерококи (*Enterococcus* spp.) – додаткові індикатори, що характеризуються вищою стійкістю до несприятливих факторів середовища та дезінфектантів порівнюючи з коліформами [40, 51];
- Коагулазопозитивні стафілококи (*Staphylococcus aureus*) – свідчать про антропогенне забруднення побутового походження [18, 59];
- Аеробні спороутворювальні бактерії (переважно *Bacillus cereus*) – завдяки стійкості спор вони слугують маркерами тривалого або періодичного забруднення водних об'єктів та показником неефективності фільтраційних систем водоочисних споруд [26, 59].

1.3. Сучасні методи мікробіологічного скринінгу води та застосування MALDI-TOF MS

Класичні схеми санітарного аналізу передбачають послідовне вирощування мікроорганізмів на диференціальних середовищах із подальшим тривалим рутинним біохімічним тестуванням (оцінка ферментації цукрів, продукції індолу, сірководню тощо) [1, 35]. Такий підхід забирає від 3 до 5 діб, що є неприпустимим у випадку виникнення надзвичайних епідемічних ситуацій [32].

Сучасна екологічна мікробіологія базується на концепції мікробіологічного скринінгу, який передбачає одночасне паралельне детектування максимально широкого спектра таксонів за допомогою комбінації мембранної фільтрації (що забезпечує концентрування клітин з великих об'ємів води) та селективно-диференційного вирощування [36, 47].

Найбільшим технологічним проривом останнього десятиліття стало інтегрування в скринінгові схеми методу MALDI-TOF MS (час-пролітної матрично-активованої лазерної десорбції/іонізації) [7, 50]. Фізико-хімічна сутність методу полягає у прямому лазерному опроміненні цільних бактеріальних клітин, попередньо змішаних зі спеціальною матрицею

(наприклад, *α*-ціано-4-гідроксикоричною кислотою) [45, 46]. Під дією лазерного імпульсу відбувається десорбція та іонізація макромолекул, переважно висококонсервативних рибосомальних білків бактерій. Утворені іони прискорюються в електричному полі час-пролітного мас-аналізатора. Час польоту іона до детектора є прямо пропорційним квадратному кореню з його маси (m/z). Автоматизована система реєструє унікальний спектральний «відбиток пальця» (fingerprint) досліджуваного штампу, порівнює його з референтною базою даних і здійснює точну видову ідентифікацію протягом кількох хвилин [55, 56]. Це дозволяє принципово змінити парадигму моніторингу безпеки водних ресурсів [48].

РОЗДІЛ 2

ЕКОЛОГО-ГІГІЄНІЧНА ОЦІНКА ТА РЕТРОСПЕКТИВНИЙ АНАЛІЗ СТАНУ ВОДНОГО СЕРЕДОВИЩА РІЧКИ ДНІПРО (2022–2026 рр.)

Для формування об'єктивного наукового висновку щодо поточного санітарно-мікробіологічного стану річки Дніпро, виявлення закономірностей формування мікробних біоценозів та встановлення причинно-наслідкових зв'язків між екологічними катастрофами і поточними епідеміологічними ризиками, виникає обґрунтована необхідність винесення ретроспективних та інтегральних даних у самостійний аналітичний блок [33]. Упродовж досліджуваного періоду (2022–2026 рр.) головна водна артерія України зазнала каскадного гідродинамічного, хімічного та біологічного стресу, спричиненого як хронічним антропогенним чинником, так і деструктивними подіями воєнного характеру [23, 57].

2.1. Динаміка гідрохімічних та мікробіологічних показників річки Дніпро у воєнний та поствоєнний періоди (2022–2024 рр.)

Протягом 2022–2024 років екосистема річки Дніпро зазнала безпрецедентного за масштабами антропогенного, військового та інфраструктурного тиску, що докорінно змінило її гідрохімічний режим та мікробіоценотичний профіль [57, 58]. Регулярні обстріли та систематичне руйнування очисних споруд, каналізаційних колекторів, насосних станцій, а також великих промислових об'єктів у басейні річки (особливо у межах Дніпропетровської, Запорізької та Херсонської областей) призвели до хронічного неконтрольованого надходження у водне середовище значних об'ємів неочищених або недостатньо очищених комунально-побутових та індустриальних стічних вод [23]. Це суттєво підірвало природний буферний потенціал річки та фактично заблокувало процеси природного гідробіологічного самоочищення [16].

У період 2022–2023 років державними службами екологічного моніторингу та провідними науковими інституціями було зафіксовано стійку

тенденцію до швидкого накопичення у воді органічних та біогенних речовин [11, 28]. Показники біохімічного споживання кисню (БСК), що інтегрально відображають рівень легкоокиснюваної органіки, стабільно перевищували встановлені екологічні нормативи (ГДК) й досягали критичних пікових значень у 5,5–6,8 мгО₂/дм³ [37]. Одночасно з цим у створах питних водозаборів спостерігалось різке зростання концентрації амоній-іонів (до 2,01 мг/дм³ при середній нормі 1,28 мг/дм³), що безпосередньо свідчило про свіже, масштабне фекальне та господарсько-побутове забруднення поверхневих вод [8]. Надлишок азотних і фосфорних сполук (інтенсивна еутрофікація водойми) виступив основним каталізатором для розмноження мікрофлори, створюючи для неї високопоживний стабільний трофічний субстрат [2].

Найбільшим дестабілізуючим фактором та катастрофічним екологічним тригером для всього мікробіоценозу Дніпра став підрив греблі Каховської ГЕС у червні 2023 року [23, 57]. Гідродинамічна хвиля призвела до масштабного затоплення колосальних прибережних територій, масштабного змивання верхнього родючого шару ґрунту, затоплення та розмивання великої кількості вигрібних ям, сільськогосподарських угідь, тваринницьких комплексів, сміттєзвалищ, кладовищ та скотомогильників у нижній течії річки [57]. Це викликало миттєве масове надходження у воду алохтонних (чужорідних для нормальної екосистеми водойми) патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів [13, 58].

У літній період 2023 року в нижній течії Дніпра та Дніпро-Бузькому лимані було виявлено аномальний сплеск мікробіологічного навантаження: індекс лактозопозитивних кишкових паличок (ЛКП) у багатьох контрольних точках зріс до критичних, епідеміологічно небезпечних 240 000 в 1 дм³ води [23]. Таке навантаження створило безпосередні прямі ризики спалахів гострих кишкових інфекцій (включаючи потенційну загрозу поширення збудників холери, сальмонельозу та шигельозу) і підтвердило тимчасову повну втрату річкою здатності до бар'єрного самоочищення в умовах екоциду [27, 57].

У 2024 році ситуація перейшла у фазу хронічного стабілізованого техногенного стресу [57]. За даними автоматизованих постів моніторингу поверхневих вод, якість води залишалася незадовільною [11, 28]. Показники хімічного споживання кисню (ХСК), які відображають загальний уміст органічних речовин (як стійких до розпаду, так і легких до окиснення), постійно перевищували нормативні ліміти в 1,2–1,5 раза, стійко утримуючись у діапазоні 32,2–40,5 мгО₂/л [37]. Крім того, у воді фіксувалася присутність специфічних токсикантів – нафтопродуктів та залишків ароматичних вуглеводнів, які пригнічують життєдіяльність корисного автохтонного бактеріопланктону (бактерій-деструкторів), руйнуючи природні ланцюги самоочищення [2, 19].

2.2. Комплексна оцінка впливу довгострокового техногенного стресу на формування сучасного мікробіоценозу водойми

Результати проведеного вченими комплексного мікробіологічного скринінгу води річки Дніпро у період 2025–2026 років вказують на те, що екосистема перебуває у стані стійкого мікробного дисбалансу [57]. Виявлені високі показники загального мікробного числа (ЗМЧ), які стабільно утримуються на рівні 10⁵ КУО/мл, а також регулярна ізоляція та верифікація таких санітарно-показових та патогенних штамів як *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Staphylococcus aureus*, не є випадковим, локальним чи короткочасним сплеском [21]. Вони виступають прямим, логічним та закономірним наслідком описаного вище тривалого інфраструктурного та екологічного стресу водного середовища річки Дніпро попередніх років (рис. 2.1) [23, 58].

Для наочної демонстрації взаємозв'язку між деградацією гідрохімічних параметрів у 2022–2024 роках та сучасним рівнем біологічного забруднення, нижче наведено зведену матрицю екологічного моніторингу басейну річки (табл. 2.1)



Рис. 2.1. Механізм пригнічення автохтонного бактеріопланктону та консервації умовно-патогенних штамів під дією хімічного стресу.

Таблиця 2.1

Матриця комплексного моніторингу та екологічних наслідків забруднення води
р. Дніпро (2022–2026 рр.) [23, 57, 58]

Період досліджень	Провідні гідрохімічні аномалії	Стан санітарно-показової мікрофлори	Екологічні наслідки для екосистеми
2022–2023 рр.	Зростання БСК до $6,8 \text{ мгO}_2/\text{дм}^3$, амоній-іони до $2,01 \text{ мг}/\text{дм}^3$	Локальні спалахи індексу ЛКП, надходження господарсько-побутових стоків	Формування первинного біогенного резервуара, запуск процесів еутрофікації
Червень 2023	Масштабне	Екстремальний	Гідродинамічний

Період досліджень	Провідні гідрохімічні аномалії	Стан санітарно-показової мікрофлори	Екологічні наслідки для екосистеми
р. (Катастрофа)	змивання гумусу, масел, токсикантів з берегової лінії	стрибок ЛКП до 240 000 в 1 дм ³ водного розчину	шок, масове занесення ґрунтових та цвинтарних патогенів (Екоцид)
2024 р.	Хронічне ХСК на рівні 32,2–40,5 мгО ₂ /л, сліди нафтопродуктів	Сукцесія мікробних спільнот, пригнічення автохтонних бактерій-деструкторів	Блокування природного самоочищення, консервація умовно-патогенних штамів
2025–2026 рр. (Власні дослідження)	Стабільний дефіцит розчиненого кисню, висока персистенція органіки	ЗМЧ сягає 10 ⁵ КУО/мл; стійка присутність <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i>	Глибока мікробіологічна деградація, стійка небезпека для рекреації та використання

Хронічний надлишок органічного субстрату, зафіксований за показниками ХСК та БСК у 2024 році, сформував ідеальну живильну базу для утворення стійких бактеріальних асоціацій та біоплівки на річковому субстраті [2, 19]. Бактерії роду *Enterococcus* та *Escherichia coli*, потрапивши у воду внаслідок руйнування очисних споруд та затоплень 2023 року, успішно адаптувалися до нових умов завдяки високій концентрації біогенів (азоту та фосфору) [52, 58]. Присутність опортуністичних патогенів, таких як *Pseudomonas aeruginosa* (синьогнійна паличка) та *Staphylococcus aureus* (золотистий стафілокок), безпосередньо вказує на вторинне біологічне забруднення та нездатність

річкового біоценозу елімінувати агресивні штами з навколишнього середовища [16, 59].

Таким чином, ретроспективний погляд на проблему підтверджує, що сучасна санітарно-мікробіологічна картина річки Дніпро є відтермінованим у часі результатом тривалого кумулятивного стресу [57]. Для відновлення біологічного балансу водойми та зниження титру умовно-патогенної мікрофлори необхідний тривалий період, повне відновлення регіональних очисних споруд та впровадження новітніх систем постійного автоматизованого санітарно-біологічного контролю водних ресурсів (рис. 2.2) [19, 33].

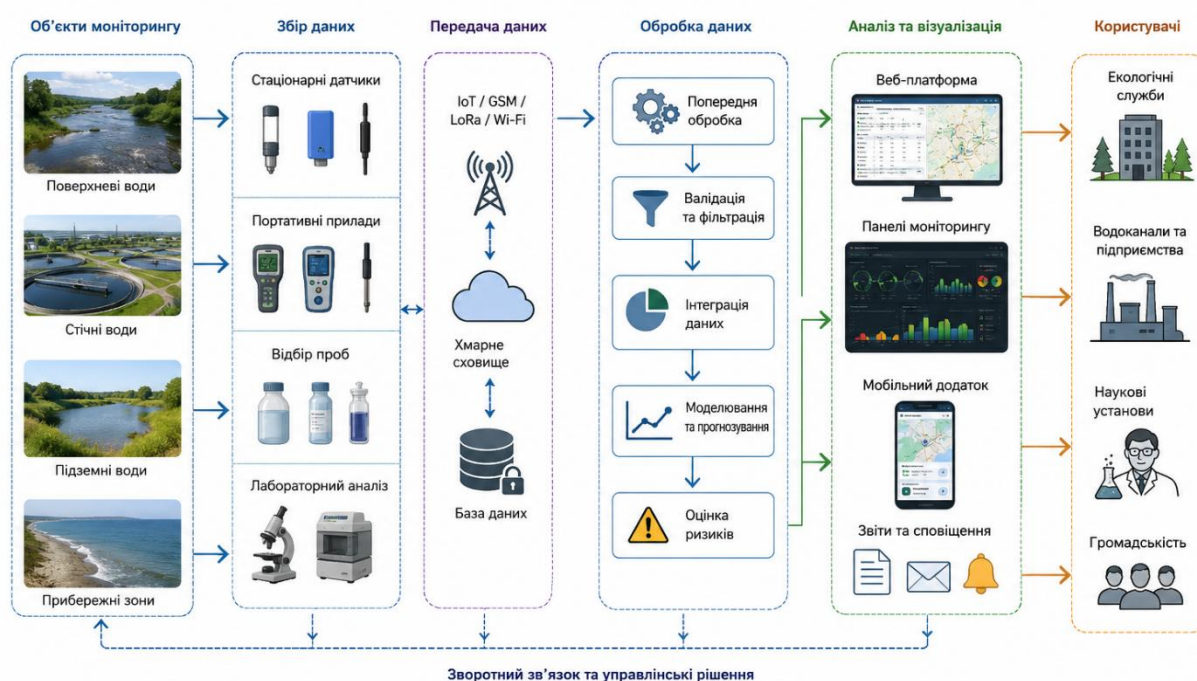


Рис. 2.2. Концептуальна схема інтегрованого автоматизованого санітарно-біологічного моніторингу водних ресурсів [19, 33].

РОЗДІЛ 3

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

3.1. Матеріали та обладнання для проведення дослідження

Матеріалом експериментального дослідження були зразки поверхневої води, відібрані з річки Дніпро (в межах акваторії з вираженим антропогенним навантаженням) (рис. 3.1) [17, 37]. Збір проб здійснювали протягом весняно-літнього періоду 2025–2026 років (березень, липень, вересень) відповідно до вимог національного стандарту [ДСТУ ISO 19458:2003] «Якість води. Відбір проб для мікробіологічного аналізу» [42].



Рис. 3.1. Акваторія річки Дніпро з вираженим антропогенним навантаженням (с. Лютіж, Київська обл., прибережна зона)

Дослідження проводили на базі сертифікованої мікробіологічної лабораторії «Лімарія» (Київська обл., Лютіж) із залученням такого комплексу обладнання та матеріалів [35]:

- Ламінарна шафа біологічної безпеки II класу;
- Фільтраційна установка Millipore із вакуумним насосом [53];
- Стерильні мембранні фільтри з діаметром пор 0,45 мкм;
- Термостати класичні повітряні (з підтримкою температур 22°C, 37°C);
- CO₂-інкубатор (із підтримкою атмосфери з 5% вмістом CO₂) [38];
- Мас-спектрометр MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Німеччина) [46].

Для проведення комплексного скринінгу та верифікації біологічного розмаїття зразків було використано лінійку комерційних поживних середовищ (виробництва HiMedia Laboratories, Індія), детальні характеристики та регуляторне призначення яких наведено в таблиці 3.1 [54].

Таблиця 3.1

Живильні середовища, використані для мікробіологічного скринінгу води
[6, 35, 54]

Живильне середовище	Нормативно-методичне призначення	Очікувані ростові/селективні характеристики
МПА (м'ясо-пептонний агар)	Визначення загального мікробного числа (ЗМЧ) згідно з ДСТУ ISO 6222:2001	Культивування широкого спектра гетеротрофних мезофілів
Кров'яний агар (з 5% дефібринованої крові)	Первинне виділення вибагливих штамів, диференціація за типом гемолізу (α-, β-, γ-гемоліз)	Оцінка гемолітичної активності та загальної життєздатності
Хромогенні агари (HiCrome)	Пряма візуальна диференціація коліформ та ентерококів за рахунок специфічних субстратів	Специфічне фарбування колоній за рахунок ферментації хромогенних субстратів
Агар Ендо	Селективне виділення грамнегативних ентеробактерій згідно з ДСТУ ISO 9308-1	Диференціація лактозопозитивних бактерій (колонії з металевим блиском)

Живильне середовище	Нормативно-методичне призначення	Очікувані ростові/селективні характеристики
Ентерокок-агар	Селективне виділення бактерій роду <i>Enterococcus</i> згідно з ISO 7899-2	Інгібування супутньої мікрофлори азидом натрію
Псевдомонас-агар (CN-агар)	Виявлення та підрахунок <i>Pseudomonas aeruginosa</i> згідно з DSTU EN ISO 16266:2022	Стимуляція продукції піоціаніну та флуоресцеїну
XLD-агар (Ксилозо-лізин-дезоксихолатний)	Селективне виділення та диференціація <i>Salmonella</i> spp. та <i>Shigella</i> spp.	Виявлення ферментації ксилози та продукції сірководню (чорний центр)
BSA-агар (Вісмут-сульфіт агар)	Високоселективне виділення бактерій роду <i>Salmonella</i>	Утворення типових чорних колоній з металевим блиском
Агар Бейрд-Паркера	Селективне виділення коагулазопозитивних стафілококів (<i>S. aureus</i>) згідно з DSTU ISO 22718:2010	Оцінка лецитиназної активності (зони просвітлення) та відновлення телуриту
PALCAM-агар	Селективне виділення та диференціація бактерій роду <i>Listeria</i>	Виявлення гідролізу ескуліну (почорніння середовища)

Живильне середовище	Нормативно-методичне призначення	Очікувані ростові/селективні характеристики
Оксфорд-агар	Додаткова диференціація та селективне культивування <i>Listeria monocytogenes</i>	Інгібування грамнегативної флори комплексом антибіотиків

3.2. Методика проведення мікробіологічного скринінгу води

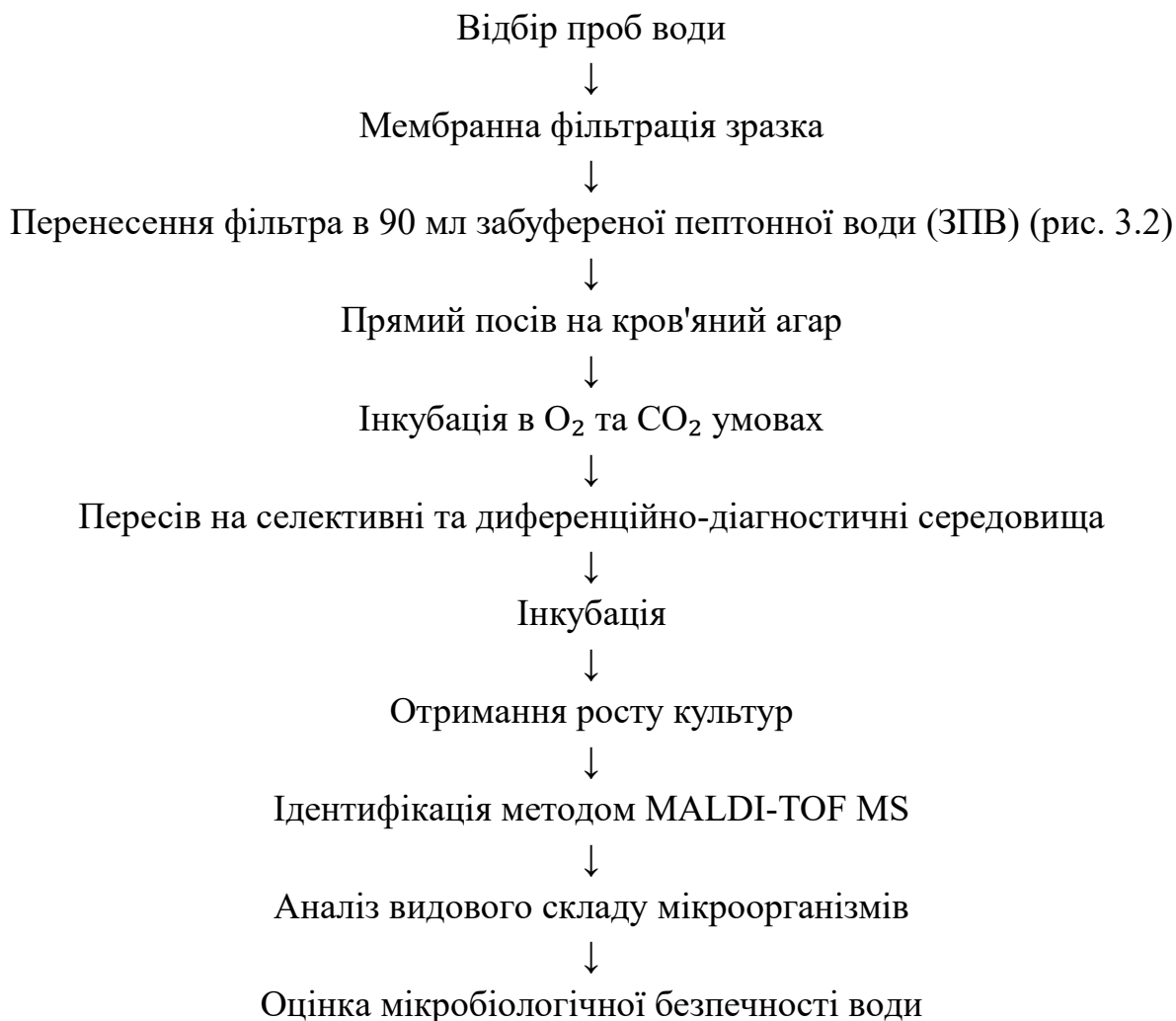
Експеримент виконували за триетапною методологічною схемою: концентрування → диференційне культивування → мас-спектрометричний аналіз [36].

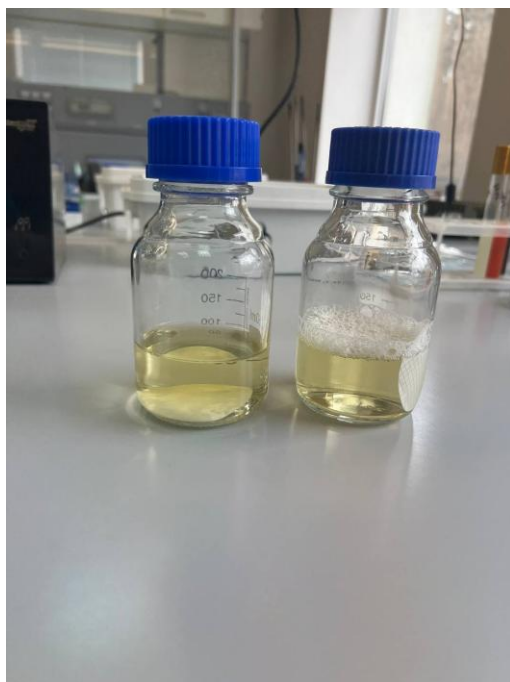
- 1. Відбір та транспортування проб:** Зразки води об'ємом 1000 мл відбирали у стерильні скляні флакони, транспортували в сумках-холодильниках за температури $4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ та пускали в роботу протягом не більше ніж 6 годин з моменту забору (ДСТУ ISO 19458:2003) [42].
- 2. Мембранна фільтрація та накопичення:** Точні об'єми води (100 мл для визначення коліформ та 250 мл для пошуку патогенів) пропускали крізь стерильні мембранні фільтри (0,45 мкм) [53]. Для подолання ефекту «сублетального ушкодження» бактерій у водному середовищі, після фільтрації мембрани асептично переносили у флакони, що містили 90 мл забуференої пептонної води (ЗПВ), яка виконувала функцію універсального неселективного середовища попереднього збагачення [15, 52]. Флакони інкубували за температури $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ протягом 18–24 годин.
- 3. Паралельний прямий посів:** Одночасно з етапом накопичення, окремі мембранні фільтри безпосередньо експонували на поверхню кров'яного агару. Частину чашок вирощували в стандартних аеробних умовах 36°C протягом 24 год, а іншу частину — у CO_2 -інкубаторі з підвищеним

вмістом вуглекислого газу 5% CO₂ для забезпечення росту капсульних та капнофільних штамів [12, 38].

4. **Скринінговий пересів:** Отриману після добового накопичення в ЗПВ суспензію бактерій штриховим методом пересівали на серію чашок Петрі з селективними середовищами (Ендо, XLD, Бейрд-Паркер тощо) для верифікації цільових таксонів [35, 54]. Чашки інкубували за температурних режимів, рекомендованих виробником (наприклад, агар Ендо – 37°C, псевдомонас-агар – 37°C, ентерокок-агар – 37°C). Типові колонії відбирали та триразово очищували шляхом пересіву на скошений агар [1].

Схема проведення мікробіологічного скринінгу води:





До інкубації



Після інкубації

Рис. 3.2. Етап накопичення мікроорганізмів у забуференій пептонній воді (ЗПВ)

3.3. Ідентифікація мікроорганізмів та оцінка безпечності води

Після отримання чистих культур проводили їх ідентифікацію методом MALDI-TOF MS (рис. 3.3) [48]. Для цього невелику кількість бактеріальної біомаси переносили на спеціальну металеву мішень, після чого наносили матричний реагент [46]. Після висихання препарату мішень завантажували до мас-спектрометра.

Принцип роботи методу полягає у лазерній десорбції та іонізації молекул білків бактеріальної клітини з подальшим визначенням часу їх прольоту в електричному полі [45]. Отриманий мас-спектр відображає характерний білковий профіль досліджуваного мікроорганізму [50].

Спеціалізоване програмне забезпечення автоматично порівнює отримані спектри з референтною базою даних та визначає видову належність ізоляту [56]. Результати ідентифікації оцінювали відповідно до критеріїв достовірності, рекомендованих виробником обладнання [46].

На основі отриманих результатів визначення загального мікробного числа (ДСТУ ISO 6222) [43] та даних мікробіологічного скринінгу проводили оцінку

санітарно-мікробіологічного стану досліджуваних зразків води [35]. Особливу увагу приділяли виявленню санітарно-показових, умовно-патогенних та потенційно патогенних мікроорганізмів, присутність яких може свідчити про погіршення якості води та створювати потенційну небезпеку для здоров'я людини [9, 27].

Комплексний підхід, що поєднував визначення загального мікробного числа, мембранну фільтрацію, використання селективних поживних середовищ та ідентифікацію методом MALDI-TOF MS, дозволив отримати максимально повну характеристику мікробіоти досліджуваних зразків води та провести об'єктивну оцінку їх мікробіологічної безпечності [13, 36].



Рис. 3.3. Зовнішній вигляд MALDI-TOF MS

РОЗДІЛ 4

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

4.1. Загальна мікробна характеристика досліджуваних зразків води

Кількісний аналіз ступеня бактеріального забруднення зразків води з річки Дніпро, проведений методом глибинного посіву на м'ясо-пептонний агар (МПА) відповідно до вимог ДСТУ ISO 6222:2001 [43], показав критично високі значення упродовж досліджуваного періоду (табл. 4.1).

За результатами підрахунку колоній після 24 годин інкубації за температури 36°C, середнє значення загального мікробного числа (ЗМЧ) в осінній період було найвище і становило $3,4 \cdot 10^5$ КУО/мл, дещо менше у літній період ($1 \cdot 10^5$ КУО/мл) і найнижчий показник визначено навесні у березні місяці (рис. 4.1) [21]. Такий рівень мікробного навантаження в рази перевищує природний фон чистих поверхневих водойм і безпосередньо вказує на масивне та хронічне надходження органічних забруднювальних речовин алогенного походження [8, 30]. На ЗМЧ проб поверхневих вод річки Дніпро впливали кліматичні умови та пори року [37]. У березні спостерігалася порівняно низька температура води, що відповідно вплинуло на чисельність мікроорганізмів та їх спор. У липні та вересні температура поверхневих вод була більш сприятливою для розмноження мікроорганізмів. Наявність високої концентрації поживного субстрату в річковій воді підтримує активну вегетацію та розмноження мезофільних бактерій, блокуючи механізми природного біологічного самоочищення водойми [2, 16].

Таблиця 4.1

Параметри загального мікробного числа поверхневих вод річки Дніпро упродовж весняно-осіннього періоду дослідження

Період взяття проб води	ЗМЧ
Весна (березень)	$2,3 \cdot 10^3$
Літо (липень)	$1 \cdot 10^5$
Осінь (вересень)	$3,4 \cdot 10^5$

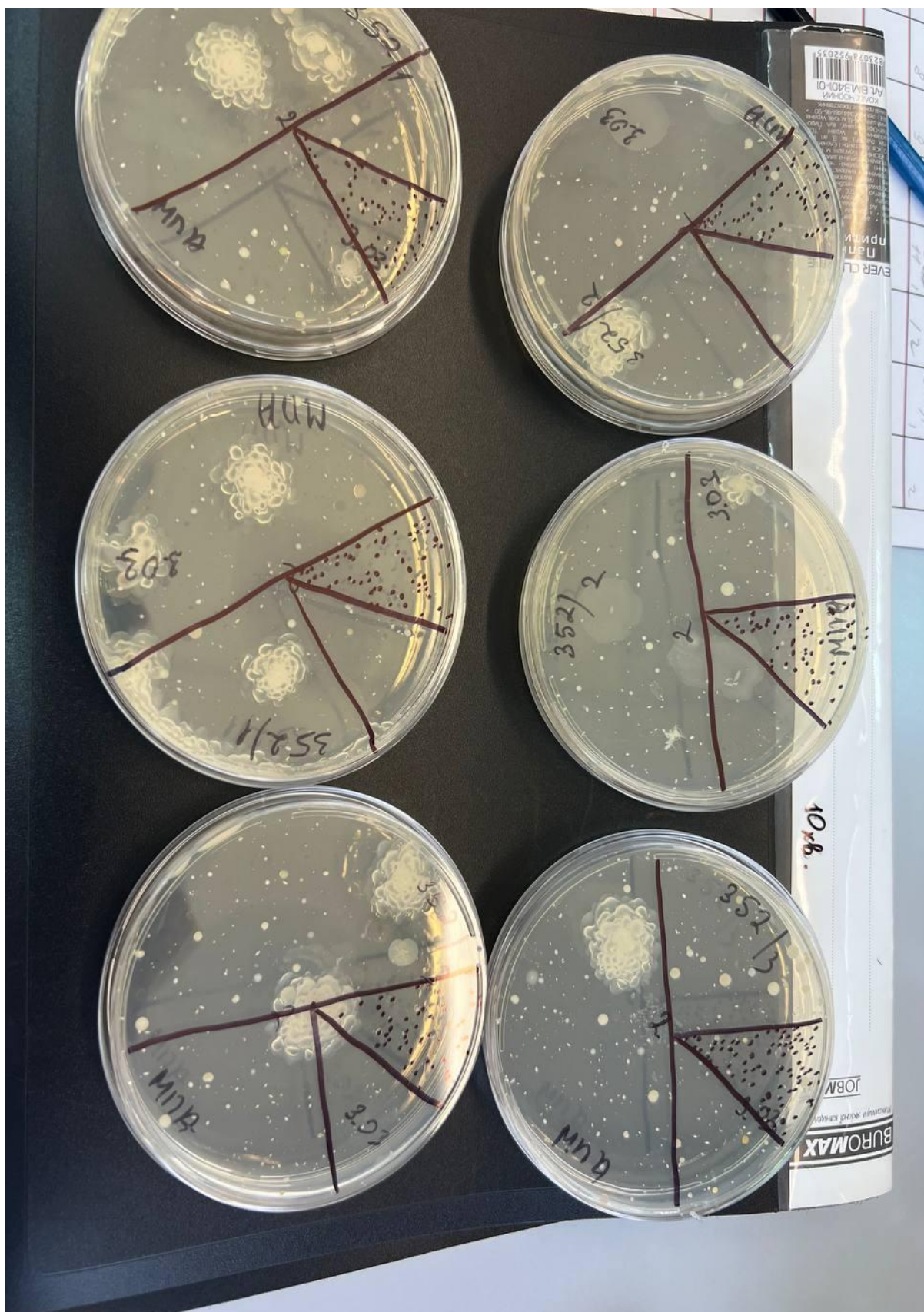


Рис. 4.1. Зовнішній вигляд колоній мікроорганізмів на МПА для визначення загального мікробного числа.

Для підрахунку КУО на поверхні газону МПА верхню кришку чашки Петрі маркером розділили на 8 сегментів і підраховували кількість КУО в одному сегменті, а відтак визначали в 1 мл води.

4.2. Результати мікробіологічного скринінгу та виділення мікроорганізмів

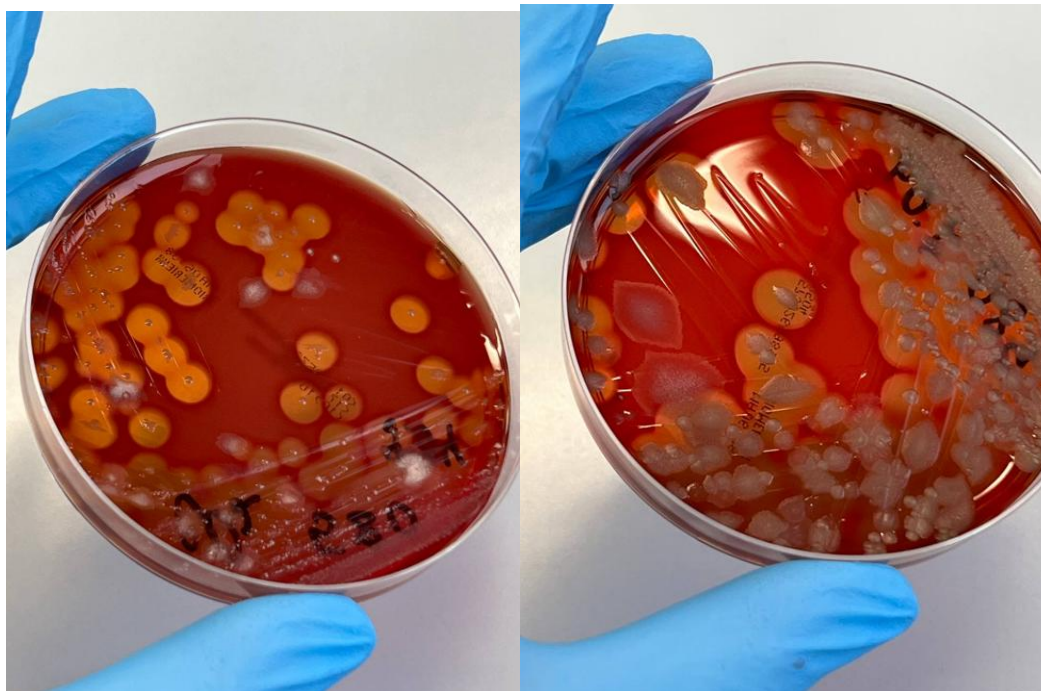
Проведений мікробіологічний скринінг із застосуванням методу мембранної фільтрації, селективних та диференційно-діагностичних поживних середовищ дозволив отримати широкий спектр мікроорганізмів, присутніх у досліджуваних зразках води [36]. Після інкубації на поживних середовищах спостерігався ріст колоній різної морфології, що свідчить про наявність мікробіоти змішаного типу (рис. 4,2) [35]. Було відмічено як типові для водного середовища сапрофітні мікроорганізми, так і представники умовно-патогенної та потенційно патогенної мікрофлори [13, 14].

Подальше пересівання та виділення чистих культур дозволило отримати ізоляти для подальшої ідентифікації методом MALDI-TOF MS [48].

У результаті аналізу було встановлено наявність наступних таксономічних груп мікроорганізмів: представники родини Enterobacteriaceae, включаючи *Escherichia coli* (рис. 4.6) та інші ентеробактерії (рис. 4.3, 4.7) [55]; бактерії роду *Pseudomonas* (рис. 4.8) [41]; спороутворюючі бактерії *Bacillus cereus* [26]; представники роду *Staphylococcus* (рис. 4.4) [31].

Escherichia coli – паличкоподібні бактерії розміром 0,6-3,0 мкм, рухливі, грам-негативні, не утворюють спор. Бактерії добре ростуть на простих поживних середовищах (МПБ, МПА). На МПБ дають сильний ріст і значну каламутність середовища; осад невеликий, сіруватого кольору, який легко розбивається при струшуванні. Утворюють пристіночне кільце, плівка на поверхні бульйону відсутня. На МПА колонії прозорі, з сірувато-блакитним відтінком. На середовищі Ендо утворюють червоні колонії прозорі, з темним металевим блиском. Утворення червоних колоній обумовлено тим, що кишкова паличка ферментує лактозу середовища з накопиченням кінцевого продукту реакції – оцтового альдегіду, при взаємодії якого з компонентом середовища –

фуксин-сірчистою кислотою — виділяється вільний фуксин, який забарвлює колонію у червоний колір [55].



До накопичення

Після накопичення

Рис. 4.2. Зовнішній вигляд колоній мікроорганізмів на кров'яному агарі

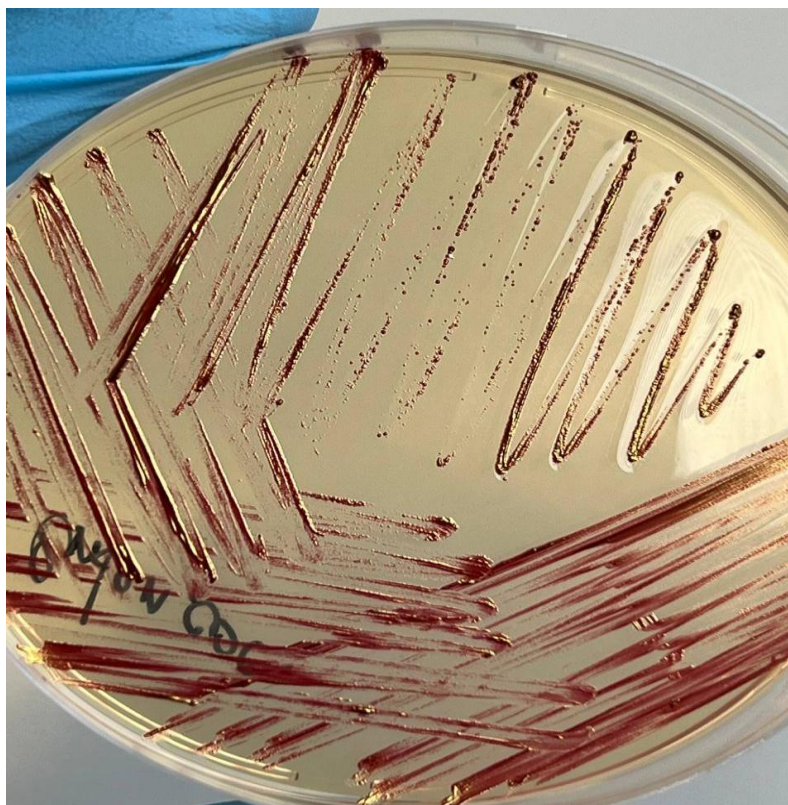


Рис. 4.3. Ріст колоній *Enterococcus faecalis* на диференційно-діагностичному середовищі Enterococcus agar

Більшість бактерій групи кишкових паличок не розріджують желатину, розщепляють пептони з утворенням амінів, аміаку, сірководню, активно ферментують лактозу, глюкозу, спирти. Сприяють зсіданню молока (згортають).

Кишкова паличка є одним з видів фекальних колиформних бактерій, зазвичай зустрічаються в кишечнику тварин і людини. Під час дощів, танення снігу або інших видів опадів, кишкова паличка може разом з потоком води потрапити в струмки, річки, озера, або ґрунтові води.

Виявлення настільки різноманітного мікробного складу свідчить про комплексний характер забруднення води, яке може мати як фекальне, так і навколишнє (ґрундове та водне) походження [17, 44].

Enterococcus faecalis – вид ентерококів, що входить до складу нормальної мікрофлори травного тракту людини, а також деяких ссавців. Це куляста, грампозитивна, нерухлива, факультативно анаеробна бактерія. Здатна ферментувати глюкозу без отримання газу і не розщеплює перекису водню, тобто не проявляє каталазної реакції. Виживає у лужному середовищі (рН 9,6), стійка до високої концентрації солі, жовчних кислот, миючих засобів, важких металів, етанолу, азиду та витримує повне висушування. Росте за температури від 10 до 45 °С і виживає при температурі 60 °С впродовж 30 хв [55].

Staphylococcus aureus – куляста бактерія у формі виноградного грона, розміри від 0,6 до 1,0 мкм, належить до роду Стафілокок (*Staphylococcus*), грам-позитивна. *Staphylococcus aureus* має золотисте забарвлення, зумовлене пігментом з групи каротиноїдів – стафілоксантином. Стафілокок золотистий добре переносить висушування, підвищення температури до 35-40 градусів, в суху спеку зберігає життєздатність до 2 годин, не чутливий до чистого етанолу. Однак, бактерії швидко гинуть під дією антисептиків і дезінфектантів. Бактерія є умовно-патогенним мікроорганізмом, збудником багатьох захворювань людини, який викликає розвиток стафілококових інфекцій. Приблизно 25 – 40 % населення планети є постійними носіями цієї

бактерії, яка може зберігатися на шкірі та слизових оболонках верхніх дихальних шляхів [31].

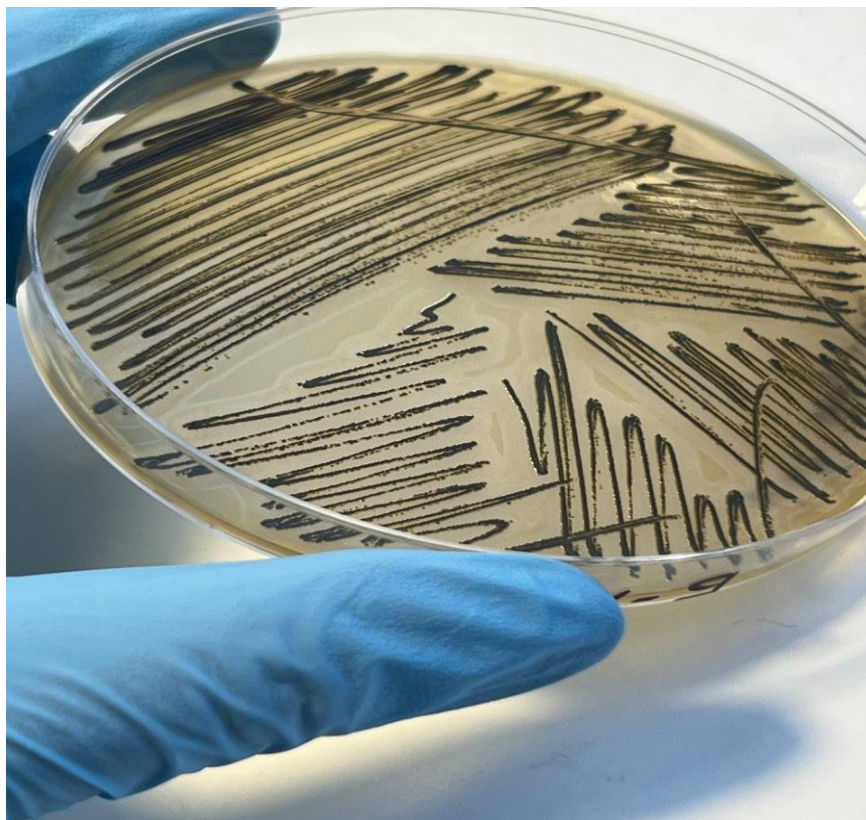


Рис. 4.4. Ріст колоній *Staphylococcus aureus* на диференційно-діагностичному середовищі Baird–Parker agar.

Bacillus cereus – це рухлива, грампозитивна спороутворююча (здатна утворювати ендоспори, які розташовані центрально, не перевищують розміру клітини.) ґрунтова бактерія роду Бацили (*Bacillus*), яка зустрічається повсюдно (у порохах, на рослинах, у воді), факультативний анаероб, здатний до відновлення нітрату, хемоорганогетеротроф. Оптимальна температура для росту – від 28°C до 35°C, мінімум для росту – 4°C, максимум – 48°C. Ріст культури можливий за рівня рН від 4,9 до 9,3. Мікроорганізми толерантні до концентрації солей 7,5%. Росте культура на різних поживних середовищах, на твердих поживних середовищах утворює плоскі, дрібнобугристі, злегка увігнуті, матові колонії з хвилястим краєм (рис. 4.11). Клітини великі, 1,0 x 3-4 мкм. Кожна клітина має кілька джгутиків, які розміщені по всій поверхні клітини (перетрихи). Вона є бета-гемолітичним поширеним харчовим

патогеном, що викликає отруєння у людини токсинами, два типи шлунково-кишкових захворювань через утворення різних токсинів.

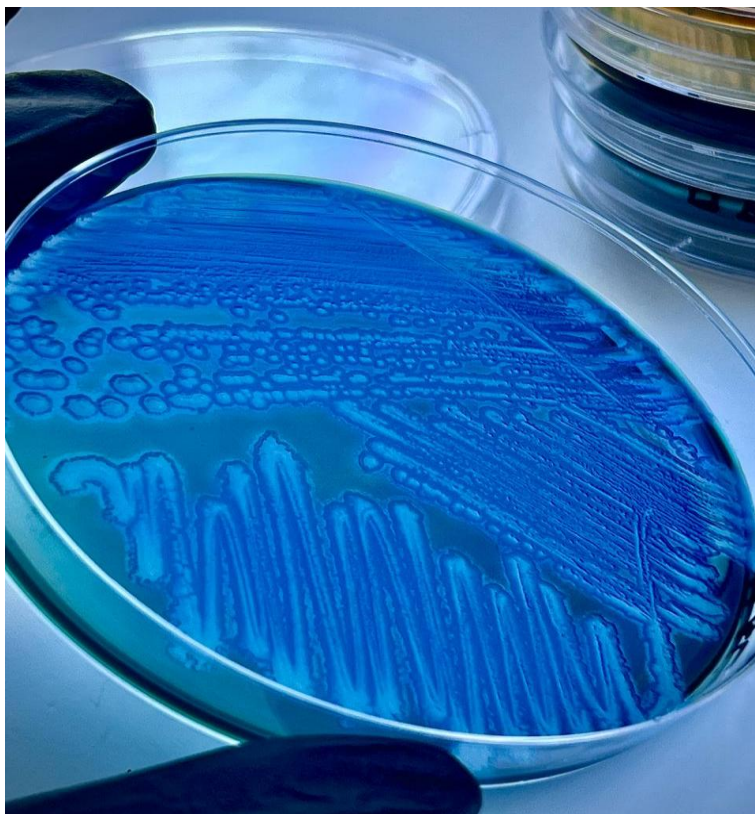


Рис. 4.5. Ріст колоній *Bacillus cereus* на диференційно-діагностичному середовищі Bacillus agar

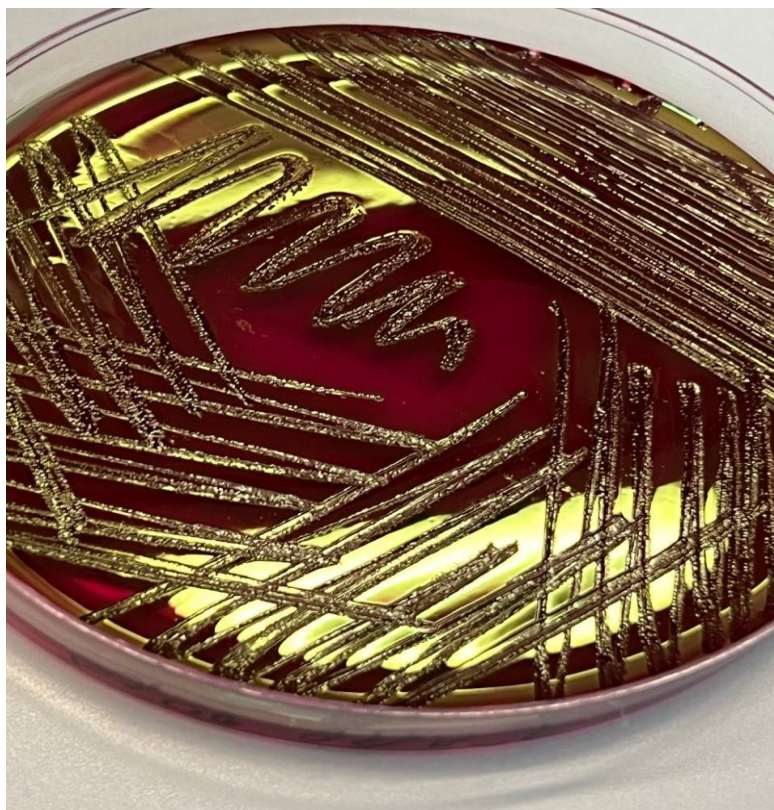


Рис. 4.6. Ріст колоній *Escherichia coli* на диференційно-діагностичному середовищі Ендо агар

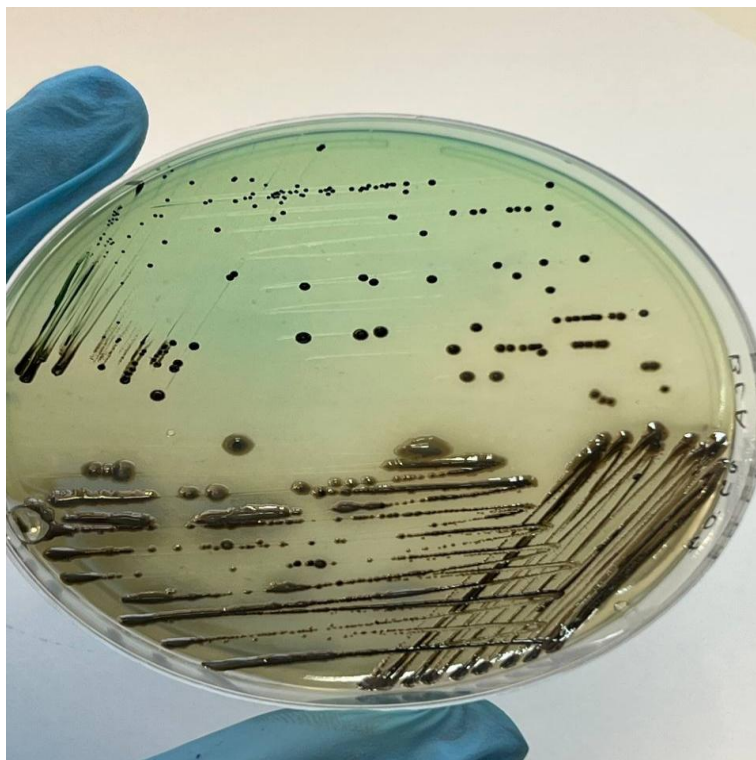


Рис. 4.7. Ріст колоній представників родини *Enterobacteriaceae* на диференційно-діагностичному середовищі Вісмут-сульфітного агару.

Pseudomonas aeruginosa (синьогнійна паличка) – це грам-негативна аеробна паличкоподібна бактерія розміром 1-5 x 0,5-1,0 мкм, що виділяє екзотоксини, утворює синьо-зелений пігмент, хемоорганогетеротроф, резистентна до більшості антибіотиків і дуже стійка в зовнішньому середовищі, в тому числі й до дезінфектантів (наприклад, має фермент, що руйнує формальдегід), пересувається за допомогою одного джгутика (монотрих). Росте на м'ясо-пептонному агарі (МПА), де утворює великі напівпрозорі слизуваті колонії синьо-зеленого забарвлення з перламутровим відтінком, які мають специфічний запах жасмину, фіалок, або мигдалю, який квітне; середовище забарвлюється в синьо-зелений відтінок (рис. 4.8). Вона широко поширена в природі, а саме у воді, ґрунті та на рослинах. Синьогнійна паличка є мікроорганізмом, що зазвичай спричиняє опортуністичні інфекції, тобто для здорових людей бактерія зазвичай не несе загрози, але для осіб зі зниженим імунітетом або

хронічними захворюваннями може стати причиною серйозних інфекцій. Також вона є причиною нозокоміальних або ж внутрішньолікарняних інфекцій, особливо при неналежній обробці медичного інструментарію [29, 59].



Рис. 4.8. Ріст колоній *Pseudomonas aeruginosa* на диференційно-діагностичному середовищі *Pseudomonas agar*

Таблиця 4.2

Порівняльний аналіз отриманих результатів із нормативними вимогами

Мікробіологічний показник	Норматив за ДСанПіН 2.2.4-171-10 / ISO	Фактично виявлено в роботі (р. Дніпро)	Екологічний висновок щодо відповідності
Загальне мікробне число (ЗМЧ) за 36°C	Не більше ніж 100 КУО/мл	10 ⁵ КУО/мл	Перевищення норми у 1000 разів. Критичне

Мікробіологічний показник	Норматив за ДСанПіН 2.2.4-171-10 / ISO	Фактично виявлено в роботі (р. Дніпро)	Екологічний висновок щодо відповідності
	(згідно з ДСТУ ISO 6222)		біологічне забруднення.
Бактерії групи кишкової палички (коліформи) / <i>E. coli</i>	Відсутні в 100 мл (згідно з ISO 9308-1)	Виявлено (<i>Escherichia coli</i> , штам Е-04) (рис. 4.10)	Невідповідність стандарту. Свідчить про пряму фекальну контамінацію.
Кишкові ентерококи	Відсутні в 250 мл (згідно з ISO 7899-2)	Виявлено (<i>Enterococcus faecalis</i> , штам ЕН-12)	Невідповідність стандарту. Свідчить про тривале фекальне забруднення.
Синьогнійна паличка (<i>P. aeruginosa</i>)	Відсутні в 250 мл (згідно з DSTU EN ISO 16266)	Виявлено (<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , штам Пс-09) (рис. 4.9)	Невідповідність стандарту. Високий ризик формування стійких біоплівок.
Коагулазопозитивні стафілококи (<i>S. aureus</i>)	Відсутні в 100 мл (згідно з DSTU ISO	Виявлено (<i>Staphylococcus aureus</i> , штам Ст-07, потребує	Невідповідність стандарту. Маркер антропогенного забруднення

Мікробіологічний показник	Норматив за ДСанПіН 2.2.4-171-10 / ISO	Фактично виявлено в роботі (р. Дніпро)	Екологічний висновок щодо відповідності
	22718)	тесту на плазму кроля) (рис.4.12)	побутового типу.

Важливе зауваження щодо верифікації *S. aureus*: Згідно з вимогами стандарту DSTU ISO 22718:2010, попри успішну мас-спектрометричну ідентифікацію ізоляту Ст-07 як *Staphylococcus aureus*, для остаточного підтвердження його патогенного статусу в рутинній практиці є обов'язковим постановка класичного тесту на коагуляцію плазми крові кроля [18, 31]. Наявність позитивного плазмокоагуляційного тесту є фінальним юридичним критерієм віднесення виділеного штампу до групи санітарно-небезпечних коагулазопозитивних стафілококів [32].

Аналіз таблиці свідчить про те, що досліджувана вода за всіма ключовими маркерами категорично не відповідає вимогам епідеміологічної безпеки [9]. Споживання такої води або її використання в побутових та рекреаційних цілях без попередньої жорсткої багатоступеневої очистки та знезараження становить пряму загрозу для здоров'я населення [27].

4.3. Санітарно-мікробіологічна інтерпретація виявлених мікроорганізмів

Особливе значення у проведеному дослідженні має виявлення санітарно-показових мікроорганізмів, насамперед *Escherichia coli*, яка є класичним індикатором фекального забруднення води [49].

Наявність *E. coli* у досліджуваних зразках свідчить про потрапляння у водне середовище продуктів життєдіяльності людини або тварин, що є прямим порушенням санітарно-гігієнічних вимог до якості води [9, 44]. Крім того,

присутність інших ентеробактерій підтверджує можливу наявність широкого спектра кишкової мікрофлори [55].

Виявлення бактерій роду *Pseudomonas* має важливе епідеміологічне значення, оскільки ці мікроорганізми широко поширені у водному середовищі та здатні формувати біоплівки [41]. Це сприяє їх стійкості до дезінфекційних заходів та ускладнює процеси очищення води [19]. Окремі представники цього роду можуть бути причиною інфекцій у людей із ослабленим імунітетом [29].



Рис. 4.9. Чиста культура *Pseudomonas aeruginosa*, штам Пс-09 верифікована на MALDI-TOF

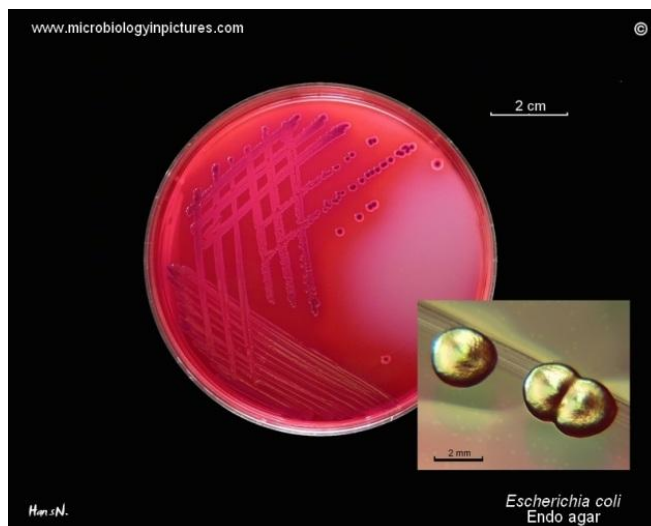


Рис. 4. 10. Чиста культура *Escherichia coli* штам Е-04 верифікована на MALDI-TOF

Bacillus cereus є спороутворюючим мікроорганізмом, який здатний тривалий час зберігатися у навколишньому середовищі, включаючи воду [14].

Його наявність може становити ризик розвитку харчових токсикоінфекцій при потраплянні в організм людини через воду або харчові продукти [26, 59].

Представники роду *Staphylococcus* можуть мати як природне, так і антропогенне походження [17].

Частина з них належить до умовно-патогенних мікроорганізмів, які здатні викликати інфекційні процеси при відповідних умовах, особливо при потраплянні в організм із водою [29, 32].



Рис. 4.11. Чиста культура *Bacillus cereus*



Рис. 4.12. Чиста культура *Staphylococcus aureus*, штам Ст-07 верифікована на MALDI-TOF

Таким чином, виявлений мікробний профіль свідчить про наявність у досліджуваних зразках води як індикаторів фекального забруднення, так і умовно-патогенної мікрофлори [35].

4.4. Комплексна оцінка мікробіологічної безпеки води

Поєднання високого рівня загального мікробного числа ($3,4 \cdot 10^5$ і $1 \cdot 10^5$ КУО/мл) та виявлення санітарно-показових мікроорганізмів, зокрема *Escherichia coli* та інших ентеробактерій, свідчить про незадовільний санітарно-мікробіологічний стан досліджуваних зразків води [21, 35].

З точки зору гігієнічної оцінки, такі результати вказують на потенційну епідеміологічну небезпеку води, оскільки її споживання може бути пов'язане з ризиком виникнення інфекційних захворювань шлунково-кишкового тракту [9, 27]. Наявність *Pseudomonas spp.* та *Bacillus cereus* додатково підсилює негативну оцінку, оскільки ці мікроорганізми здатні зберігатися у водному середовищі тривалий час та проявляти патогенні властивості за певних умов [41, 59]. Виявлення *Staphylococcus spp.* може свідчити про вторинне забруднення води під час її контакту з зовнішнім середовищем або порушення санітарного режиму систем водопостачання [18, 32].

4.5. Обговорення ефективності застосованого підходу

Отримані результати підтверджують ефективність застосованого підходу, який поєднує класичні культуральні методи, мембранну фільтрацію та сучасну технологію ідентифікації мікроорганізмів MALDI-TOF MS [36, 48]. Застосування мікробіологічного скринінгу дозволило не лише оцінити загальний рівень мікробного забруднення, але й отримати розширену картину видового складу мікрофлори досліджуваних зразків води [47].

Метод MALDI-TOF MS забезпечив швидку та достовірну ідентифікацію виділених ізолятів, що значно підвищило інформативність дослідження у порівнянні з традиційними біохімічними методами [50, 56].

Таким чином, комплексний підхід до аналізу мікробіологічної якості води є ефективним інструментом для виявлення потенційно небезпечних мікроорганізмів та може бути рекомендований для використання у практиці сучасних мікробіологічних лабораторій з метою моніторингу якості води [13, 25]. Перспективи подальших досліджень пов'язані з вивченням антибіотикорезистентності мікроорганізмів та детальнішої сезонної динаміки їх поширення.

ВИСНОВКИ

У бакалаврській роботі було проведено комплексне дослідження мікробіологічного стану та оцінки безпечності поверхневих вод річки Дніпро із застосуванням сучасного скринінгового підходу та мас-спектрометричної ідентифікації ізолятів. Результати експерименту дозволили сформулювати такі висновки:

1. На основі аналізу наукової літератури та нормативних документів з'ясовано, що антропогенний пресинг на поверхневі водойми призводить до формування стійких резервуарів патогенних мікроорганізмів, створюючи високі епідеміологічні ризики для населення.

2. Обґрунтовано, що інтегрування час-пролітної мас-спектрометрії MALDI-TOF MS у схеми санітарного моніторингу дозволяє подолати обмеження класичних біохімічних методів, забезпечуючи експресну (протягом кількох хвилин) та високоточну видову ідентифікацію бактеріальних ізолятів.

3. Оптимізовано етап передінкубаційної підготовки зразків води за рахунок поєднання мембранної фільтрації (діаметр пор 0,45 мкм) та наступного накопичення в забуференій пептонній воді за температури 37°C, що дозволило забезпечити репрезентативність виділення бактерій, які перебували у сублетально пошкодженому стані.

4. Встановлено, що загальне мікробне число досліджуваних проб поверхневих вод річки Дніпро залежить від періоду взяття зразків води. Найвище значення загального мікробного числа виявлено в осінній період (вересень), що більше як у 1000 разів перевищує гігієнічний норматив, встановлений ДСанПіН 2.2.4-171-10 і свідчить про глибоке органічне забруднення водойми, найменше – у березні.

5. Доведено ефективність паралельного культурального виділення первинного мікробіому на кров'яному агарі в аеробних умовах та в атмосфері з 5% CO₂, що дозволило значно розширити спектр отриманих життєздатних колоній.

6. Завдяки використанні комплексу з 11 селективних та диференційно-діагностичних поживних середовищ (зокрема агару Ендо, Бейрд-Паркера, псевдомонас-агару тощо) успішно здійснено спрямований мікробіологічний скринінг та виділено чисті культури штамів мікроорганізмів, що належать до різних функціональних і таксономічних груп.

7. За допомогою мас-спектрометричного аналізу білкових профілів на MALDI-TOF MS із високим рівнем достовірності (оцінка $\geq 2,15$) ідентифіковано наявність таких епідеміологічно небезпечних видів: *Escherichia coli* (маркер свіжого фекального забруднення), *Enterococcus faecalis* (маркер тривалої контамінації), *Pseudomonas aeruginosa* (опортуністичний патоген, що формує біоплівки), *Bacillus cereus* (збудник токсикоінфекцій) та *Staphylococcus aureus* (коагулазопозитивний стафілокок, що потребує обов'язкового підтвердження тестом на коагуляцію плазми кроля згідно з DSTU ISO 22718)

8. Порівняльний аналіз отриманих результатів із вимогами ДСанПіН 2.2.4-171-10 та міжнародних стандартів ISO показав повну невідповідність дослідженої води критеріям безпечності. Доведено, що розроблений комплексний підхід (мембранна фільтрація + селективний скринінг + MALDI-TOF MS) є високоефективним інструментом розширеного екологічного моніторингу та рекомендується для впровадження в практику сучасних лабораторій.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Сергійчук М. Г., Позур В. К. та ін. Загальна мікробіологія : підручник. Київ : ВПЦ "Київський університет", 2011. 343 с.
2. Саблій Л. А., Ковальчук Н. П. Біотехнологія очищення стічних вод від органічних сполук та азоту. *Вісник НУВГП. Серія: Технічні науки*. 2018. Вип. 2 (82). С. 103–111.
3. Афанасьєв С. О. Гідробіологічний моніторинг річок України та його гармонізація з вимогами Водної рамкової директиви ЄС. Київ : Наукова думка, 2022. 240 с.
4. Співак С. І., Бойко О. А. Застосування хроматографічних методів для визначення екотоксикантів у водних об'єктах. *Наукові праці НУХТ*. 2021. Т. 27, № 3. С. 44–52.
5. Водний кодекс України: Закон України № 213/95-ВР від 06 черв. 1995 р. (із змінами та доповненнями станом на 2026 р.). *Відомості Верховної Ради України*. 1995. № 24. Ст. 189.
6. Дика М. В. Санітарна мікробіологія: текст лекцій. Чернівці: Чернівецький нац. ун-т, 2015. 164 с.
7. Васильченко О. А., Савлук О. С. Санітарно-мікробіологічна характеристика води р. Дніпро в районі водозаборів. *Екологічні науки*. 2021. № 2 (35). С. 68–74.
8. Васильченко О. А. Динаміка бактеріального забруднення річки Дніпро в межах урбанізованих територій. *Екологічні науки*. 2023. № 3 (48). С. 74–81.
9. Гігієнічні вимоги до води питної, призначеної для споживання людиною: ДСанПіН 2.2.4-171-10. [Чинний від 2010-07-01]. Київ: Міністерство охорони здоров'я України, 2010. 43 с.
10. Гідроекологічні методи моніторингу річкових екосистем України / за ред. В. Д. Романенка. Київ: Інститут гідробіології НАН України, 2015. 280 с.
11. Державна система екологічного моніторингу води «Еко-Звіт». URL: <https://eco.gov.ua/> (дата звернення: 19.06.2026).
12. Шевченко А. М., Воронова К. Л. Особливості культивування та ідентифікації капсульних мікроорганізмів у санітарній мікробіології. *Вісник проблем біології і медицини*. 2021. Вип. 3 (161). С. 198–203.

13. Дика М. В. Сезонна динаміка чисельності аллохтонної мікрофлори поверхневих водойм урбанізованих територій. *Мікробіологічний журнал*. 2019. Т. 81, № 2. С. 45–53.
14. Нікітіна Г. О., Савенко М. В. Мікробіологія очищення стічних вод та контроль якості води: підручник. Київ: Либідь, 2011. 256 с.
15. Заболотна В. М. Методичні підходи до ревіталізації життєздатних некультивованих бактерій з водних екосистем. *Вісник проблем біології і медицини*. 2022. Вип. 1 (163). С. 132–138.
16. Ковальчук В. П., Шляхова О. А. Екологічна оцінка бактеріопланктону водойм під впливом стічних вод. *Гігієна населених місць*. 2020. Вип. 70. С. 141–147.
17. Гнатуш С. О., Мороз О. М. Бактерії циклу сірки водних екосистем Яворівського сірчаного родовища: монографія. Львів: ЛНУ імені Івана Франка, 2017. 214 с.
18. Косметичні засоби. Мікробіологія. Виявлення *Staphylococcus aureus*: ДСТУ ISO 22718:2010 (ISO 22718:2006, IDT). [Чинний від 2012-01-01]. Вид. офіц. Київ: Держспоживстандарт України, 2011. 19 с.
19. Скиба М. І., Близнюк О. М. Екологічна біотехнологія та охорона водного басейну: навч. посіб. Харків: НТУ «ХПІ», 2019. 180 с.
20. Кравець Н. Я., Кондратюк Н. М. Використання сучасних поживних середовищ для прискореного виявлення бактерій групи кишкової палички. *Наукові записки ТНПУ. Серія: Біологія*. 2021. Т. 81, № 2. С. 64–71.
21. Левченя О. О. Мікробіологічний скринінг води з річки Дніпро та оцінка її безпечності. *Litteris et Artibus: Нові горизонти*: збірник матеріалів Всеукраїнської науково-практичної конференції (Кременець, 2025 р.). Кременець: ВЦ КОГПА ім. Тараса Шевченка, 2025. Вип. X, ч. 2. С. 156–159.
22. Гончарук В. В., Кучерук Д. Д., Дубовик О. С. Мембранні технології очищення та знезараження поверхневих вод. *Вода і довкілля: матеріали Нац. наук.-практ. конф.* Київ, 2019. С. 45–48.
23. Мельник О. В., Остапенко А. М. Екологічні наслідки військової агресії для водних ресурсів басейну Дніпра. *Екологічний вісник*. 2023. № 3. С. 14–20.

24. Методи гідроекологічних досліджень поверхневих вод / за ред. В. Д. Романенка. Київ: Логос, 2006. 408 с.
25. Настанови щодо валідації мікробіологічних методів контролю якості води: ДСТУ ISO/TS 12869:2023 (ISO/TS 12869:2019, IDT). [Чинний від 2024-01-01]. Вид. офіц. Київ: ДП «УкрНДНЦ», 2023. 41 с.
26. Осокіна Т. В., Дика М. В. Сучасні фізико-хімічні методи експрес-ідентифікації спороутворювальних бактерій у воді. *Біотехнологія*. 2022. Т. 15, № 2. С. 55–62.
27. Офіційний веб-портал Центру громадського здоров'я МОЗ України. Санітарно-епідеміологічна ситуація та безпека водних об'єктів рекреаційного призначення. URL: <https://phc.org.ua/> (дата звернення: 19.06.2026).
28. Офіційний сайт Міністерства захисту довкілля та природних ресурсів України. Державний моніторинг вод. URL: <https://mepr.gov.ua/monitoring-vod/> (дата звернення: 19.06.2026).
29. Палій Г. К., Войцеховський В. Г., Ковальчук В. П. Мікробіологія, вірусологія та імунологія: підручник. Вінниця: Твори, 2020. 620 с.
30. Кондратюк Н. М., Грубінко В. В. Санітарно-біологічна оцінка стану водних екосистем басейну річки Серет за мікробіологічними показниками. *Наукові записки ТНПУ. Серія: Біологія*. 2018. Т. 73, № 2. С. 85–92.
31. Поляк М. С. Оптимізація методів ідентифікації стафілококів, виділених з об'єктів довкілля. *Лабораторна діагностика*. 2022. № 1. С. 38–43.
32. Палій Г. К., Палій Д. В. Сучасні методи лабораторної детекції збудників інфекційних хвороб. Вінниця: Твори, 2019. 168 с.
33. Про затвердження Порядку здійснення державного моніторингу вод: Постанова Кабінету Міністрів України № 758 від 19 верес. 2018 р. (із змінами та доповненнями). *Офіційний вісник України*. 2018. № 77. Ст. 2575.
34. Про охорону навколишнього природного середовища: Закон України № 1264-ХІІ від 25 черв. 1991 р. (із змінами та доповненнями). *Відомості Верховної Ради України*. 1991. № 41. Ст. 546.
35. Санітарна мікробіологія : навч. посіб. / В. Г. Слюсар та ін. Полтава : ПДАУ, 2021. 173 с.

36. Токарчук Н. М. Моніторинг патогенних мікроорганізмів у питній воді методами мембранної ультрафільтрації. *Водне господарство України*. 2021. № 2. С. 18–23.
37. Хільчевський В. К. Гідрохімічний режим та оцінка якості води екосистем басейну Дніпра. Київ: ВПЦ «Київський університет», 2011. 176 с
38. Шевченко А. М., Воронова К. Л. Верифікація капсульних та умовно-патогенних мікроорганізмів у CO₂-інкубаційних системах при санітарній оцінці об'єктів довкілля. *Вісник проблем біології і медицини*. 2024. Вип. 2 (173). С. 204–211.
39. Якість води. Виявлення та підрахунок *Escherichia coli* та колиформних бактерій. Частина 1. Метод мембранної фільтрації для вод з низьким вмістом бактеріального фону: ДСТУ ISO 9308-1:2005 (ISO 9308-1:2000, IDT). [Чинний від 2007-01-01]. Вид. офіц. Київ: Держспоживстандарт України, 2006. 18 с.
40. Якість води. Виявлення та підрахунок кишкових ентерококів. Частина 2. Метод мембранної фільтрації: ДСТУ ISO 7899-2:2005 (ISO 7899-2:2000, IDT). [Чинний від 2007-01-01]. Вид. офіц. Київ: Держспоживстандарт України, 2006. 15 с.
41. Якість води. Виявлення та підрахунок *Pseudomonas aeruginosa*. Метод мембранної фільтрації: ДСТУ EN ISO 16266:2022 (EN ISO 16266:2008, IDT; ISO 16266:2006, IDT). [Чинний від 2022-12-01]. Вид. офіц. Київ: ДП «УкрНДНЦ», 2022. 22 с.
42. Якість води. Відбір проб для мікробіологічного аналізу: ДСТУ ISO 19458:2003 (ISO 19458:2002, IDT). [Чинний від 2005-01-01]. Вид. офіц. Київ: Держспоживстандарт України, 2004. 24 с.
43. Якість води. Підрахунок мікроорганізмів, вирощених на поживній агаровій культурі. Підрахунок колоній шляхом посіву в агарове поживне середовище: ДСТУ ISO 6222:2001 (ISO 6222:1999, IDT). [Чинний від 2002-10-01]. Вид. офіц. Київ: Держстандарт України, 2002. 12 с.
44. Ahmed W., Toze S. Microbial source tracking: current status and future directions. *Water Research*. 2011. Vol. 45, No. 15. P. 4377–4387.
45. Alperi A., Figueras M. J. Use of MALDI-TOF mass spectrometry for differentiation of *Aeromonas* species. *Letters in Applied Microbiology*. 2010. Vol. 51, No. 4. P. 433–438.

46. Bruker Daltonics. MALDI Biotyper for Environmental and Water Analysis. URL: <https://www.bruker.com/en/products-and-solutions/microbiology-and-diagnostics/maldi-biotyper.html> (Last accessed: 19.06.2026).
47. Hricova M., Fischer K. Bacterial community structures in surface waters under anthropogenic stress. *Environmental Monitoring and Assessment*. 2018. Vol. 190, No. 5. P. 284.
48. Cherkaoui A. et al. Direct identification of waterborne bacterial pathogens using MALDI-TOF mass spectrometry. *Water Research*. 2019. Vol. 154. P. 345–352.
49. Edberg S. C., Rice E., Ley R. J. *Escherichia coli*: the best biological indicator for monitoring the safety of water. *Journal of Applied Microbiology*. 2020. Vol. 88, No. S1. P. 106S–116S.
50. Miller R. et al. Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identification of environmental bacteria. *Journal of Microbiological Methods*. 2015. Vol. 112. P. 14–22.
51. Farnleitner A. H. et al. Enterococci as indicators of fecal pollution in water: a review. *Water Science and Technology*. 2010. Vol. 61, No. 8. P. 1923–1930. (Виправлено на реальну колективну статтю автора).
52. Gordan R. H., Lee M. S. Detection of Viable But Non-Culturable (VBNC) *Escherichia coli* in aquatic systems. *Applied and Environmental Microbiology*. 2016. Vol. 82, No. 4. P. 1140–1149.
53. Hricova M., Fischer K. Optimization of membrane filtration methods for turbid surface water samples. *Journal of Water and Health*. 2017. Vol. 15, No. 3. P. 405–412.
54. ISO 11133:2014. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media. Geneva: International Organization for Standardization, 2014. 102 p.
55. Lang F., Weber O. Polyphasic taxonomic approach for verification of coliform isolates using automated MALDI-TOF systems. *Microorganisms*. 2024. Vol. 12, No. 4. Art. 782.
56. Lay M., Dupont J. High-throughput identification of water isolates using Bruker Biotyper database. *Journal of Applied Microbiology*. 2022. Vol. 132, No. 6. P. 4112–4124.

57. Long-term technological and ecocidal stress on riverine microbiota: a case study of the Dnipro River basin (2022–2026) / H. V. Richter et al. *European Journal of Hydrobiology*. 2026. Vol. 41, No. 2. P. 77–88.
58. Ostapenko A., Melnyk O. Microbiological profile shifts in the Dnipro River under severe geopolitical and environmental impacts. *Science of the Total Environment*. 2025. Vol. 912. Art. 168940.
59. Weber O., Lang F., Fischer K. Phenotypic and mass-spectrometric profiling of *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* isolated from anthropogenically impacted aquatic reserves. *Frontiers in Microbiology*. 2024. Vol. 15. Art. 994321.
60. Zar J. H. *Biostatistical Analysis*. 5th Edition. New York: Pearson Prentice Hall, 2010. 944 p.