

Министерство сельского хозяйства российской федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Российский государственный аграрный университет
–МСХА имени К.А. Тимирязева»

На правах рукописи

Снегирев Дмитрий Владимирович

**Действие сенсibilизаторов на энтеробактерии и вирусы,
попадающие в поверхностные водоемы и экологичное
восстановление прополисом иммунитета и микробиоценоза
Oreochromis niloticus при аквариумном содержании**

1.5.15 – Экология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель
д.б.н., профессор Маннапова Р.Т.

Москва – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. Теоретические основы действия сенсibilизаторов на энтеробактерии и вирусы, влияющие на экологию.....	13
1.1. Определение и значение сенсibilизаторов, микробных сообществ, влияющих на экологию поверхностных водоемов	13
1.2. Микробная экология в водохранилищах и озерах	21
1.3 Роль аллохтонных санитарно - показательных микроорганизмов, участвующих в экологии поверхностных водоемов	27
ГЛАВА 2. Механизмы экологичного восстановления иммунной защиты <i>Oreochromis niloticus</i> прополисом и микробиоценозом с сенсibilизаторами на фоне развития энтеробактерий и вирусов, попадающих в поверхностные водоемы	34
2.1. Влияние на экологию поверхностных водоемов разных способов обеззараживания сточных вод, физико- химические свойства фотосенсibilизаторов	34
2.2. Особенности экологичного восстановления иммунной защиты <i>Oreochromis niloticus</i> прополисом и микробиоценозом с сенсibilизаторами на фоне развития энтеробактерий и вирусов	40
2.3 Материалы и методы исследований	49
ГЛАВА 3. Результаты собственных исследований	64
3.1 Экологическая эффективность сенсibilизаторов в отношении энтеробактерий и вирусов, для сохранения биоресурсного потенциала поверхностных водоемов и экологичного восстановления	64
3.2 Степень реактивации в процессе экологического обеззараживающего действия разных концентраций сенсibilизаторов в отношении <i>E. coli</i> 1257	110
3.3 Экотоксичность фотосенсibilизаторов и степень опасности продуктов их фототрансформации	115
3.4 Оценка эффективности применения фотосенсibilизаторов для экологического оздоровления и очистки воды	126
ГЛАВА 4. Экологичное восстановление прополисом иммунитета и микробиоценоза <i>Oreochromis niloticus</i> на фоне кандидамикозов при аквариумном содержании.....	131
4.1 Влияние прополиса с сенсibilизаторами на морфологию крови <i>Oreochromis niloticus</i> , зараженных <i>Candida albicans</i> в условиях аквариумного содержания	131
4.2 Степень повышения механизмов иммунной защиты <i>Oreochromis niloticus</i> , на фоне развития кандидамикозов, прополисом в комплексе с сенсibilизаторами	148

4.3 Влияние прополиса с сенситизаторами на восстановление микробной экологии кишечника <i>Oreochromis niloticus</i> , зараженных <i>Candida albicans</i> в условиях аквариумного содержания	151
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	171
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	179
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ	204
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	205

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования обусловлена тем, что в настоящее время, в поверхностные воды поступает большое количество отходов жизнедеятельности человека и животных, что обеспечивает идеальные условия для накопления, развития и распространения устойчивых к антибиотикам бактерий, включая энтеробактерии и вирусы. Быстрое распространение энтеробактерий и вирусов, попадающих в поверхностные водоемы, представляет собой растущую угрозу общественному здравоохранению. Совершенствование действующих и освоение новых технологий и устройств, позволяющих повысить экологическое благополучие и снизить негативное воздействие на водные ресурсы объектов промышленности и сельского хозяйства, связанного с обеззараживанием и оздоровлением воды, остается одной из актуальных вопросов в системе охраны окружающей среды от биологического загрязнения. При этом принципы и механизмы системного экологического мониторинга и обеспечение эпидемической безопасности водопользования в отношении патогенных микроорганизмов, распространяющихся водным путем, является важной задачей эколого-микробиологического контроля воды (К. А. Кутковский, 2013; Л. Н. Барина с соавт., 2017; L. Liang et al., 2015; Di. P. Bonito et al., 2017; M. Mahmoud et al., 2017). В настоящее время наблюдается высокий уровень заболеваемости по группе патогенных микроорганизмов с фекально-оральным механизмом заражения (А. И. Бивалькевич, 2015; А. В. Мокиенко, 2017; П. Ф. Кику с соавт., 2019; G. Li, M. Taljaard et al., 2017; A. K. Berger et al., 2017). В этой связи, особо актуальным является научное обоснование принципов и разработка методов прогнозирования, предупреждения и ликвидации последствий загрязнения окружающей среды с внедрением высокоэффективных средств обеззараживания воды, исключающих возникновение стрессированных форм бактерий, которые при благоприятных условиях способны восстановить свою жизнеспособность

понижающий экологический потенциал водной среды. Реактивация микроорганизмов приводит к появлению таких форм, которые затрудняют проведение профилактических мероприятий и создают возможность эпидемических ситуаций (Н. А. Степанов с соавт., 2015; В. М. Медведева, 2015; Л. П. Сычева, 2016; А. И. Поняев с соавт., 2017; С. В. Шабунин, 2019; Н. Abou-Yousefetal., 2017; Y. Crideretal., 2018).

Существующие методы обеззараживания воды с позиции экологического равновесия и сохранения биоразнообразия и стабильного состояния природной среды характеризуются рядом недостатков. При этом распространённые реагенты на основе активного хлора не только токсичны и вызывают аллергические реакции, но и приводят к образованию в воде хлорорганических соединений, многие из которых обладают мутагенной и/или канцерогенной активностью. Вследствие этого, обеспечение необходимого уровня дезинфекции возможно только при использовании комбинации нескольких методов обеззараживания. В этой связи, разработка научных основ рационального использования и охраны водных ресурсов, их санации эффективными и экологически безопасными методами обеззараживания воды остается актуальным (Э. Р. Муллина, 2016; Ю. А. Рахманин с соавт., 2016;; О. Ferreretal., 2015; S. Purnelletal., 2015; M. Elapaseryetal.,2017; D. Kimetal., 2017; H. Gafferetal., 2017;K.H. Nguyenetal., 2018).

Среди методов обеззараживания воды особый интерес представляет фотодинамическая инактивация микроорганизмов, которая имеет ряд преимуществ, по сравнению с традиционными: эффективность не зависит от спектра чувствительности патогенных микроорганизмов к антибиотикам; противомикробное действие не уменьшается со временем при длительном применении; у патогенных микроорганизмов не развивается устойчивость (M. Elapaseryetal.,2017; T. A. Khattabetal., 2018).

В основе фотодинамического эффекта лежит фотоиндуцированное красителем-сенсбилизатором образование активных форм кислорода - синглетного кислорода и кислород центрированных радикалов, которые

окисляют жизненно важные биомолекулы, инактивируя микроорганизмы. Главными требованиями, предъявляемыми к идеальному фотосенсибилизатору, являются: отсутствие токсичности и приобретение локальной токсичности только после активации светом.

С другой стороны, сегодня для обеспечения количественного и качественного питания населения особое место отводится развитию аквакультуры. Здесь особый интерес, как объект, представляет *Oreochromis niloticus* (нильская теляпия), которая занимает 8 место в мире по объему выращивания в товарных хозяйствах и дает 80 % мировой продукции всех видов тилапий. Тилапия имеет приятный вкус и является источником белка, эссенциальных нутриентов, незаменимых жирных кислот ω -3 и ω -6 [2,4,11].

В литературе большое количество работ посвящены изучению вопросов кормления, содержания, повышения продуктивности и улучшения качественных показателей мяса *O. niloticus* [12, 13, 14, 15, 40, 52]. Однако при аквариумном разведении и содержании, как и многие другие аквариумные рыбы, *Oreochromis niloticus* проявляет особую чувствительность к усилению активизации в среде и соответственно в организме рыб условно- патогенной *Candida albicans*, которая приводит к гибели до 90-100% рыбы, что создает большие экономические убытки [20, 83, 87, 122]. Среди большого разнообразия противомикробных средств для профилактики и лечения кандидамикозов при выращивании рыб в аквариумах предложен метиленовый голубой. Однако он обладает некоторой токсичностью. В этой связи, нужны экологичные безвредные препараты, которые могли бы снять токсическое влияние его на организм рыб, способствовали активизации кроветворения, иммунных механизмов и как следствие повышению продуктивности рыб. К таким препаратам относится биологически активный продукт пчеловодства (БАПП) – прополис.

Целью исследования является совершенствование способа управления экологическим состоянием поверхностных водоемов, загрязненных энтеробактериями и вирусами; профилактика развития кандидамикозов,

снижение токсигенности сенсibilизаторов при содержании *Oreochromis niloticus* в аквариумах, экологичная активизация функций кроветворения, иммунного статуса, естественного микробиоценоза и продуктивности рыб с применением прополиса.

Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи:

- рассмотреть определение и значение сенсibilизаторов, микробных сообществ, влияющих на экологию поверхностных водоемов;
- исследовать микробную экологию в водохранилищах и озерах;
- изучить роль аллохтонных санитарно - показательных микроорганизмов, участвующих в экологии поверхностных водоемов;
- проанализировать влияние на экологию поверхностных водоемов разных способов обеззараживания сточных вод, физико- химические свойства фотосенсibilизаторов;
- определить особенности экологичного восстановления иммунной защиты *Oreochromis niloticus* прополисом и микробиоценозом с сенсibilизаторами на фоне развития энтеробактерий и вирусов;
- проанализировать материалы и методы исследований;
- рассмотреть экологическую эффективность сенсibilизаторов в зависимости от концентрации (модель PV-1, колифаг MS-2), времени освечивания рН воды и в условиях естественного микробиоценоза водоемов;
- исследовать экологичность действия сенсibilизаторов в отношении *E. coli* 1257 в зависимости от органического состава воды и времени освечивания;
- рассмотреть экологическое фотообеззараживающее действие сенсibilизаторов в отношении вируса полиомиелита 1 типа (PV-1);
- исследовать экологическое и фотодинамическое воздействие сенсibilизаторов на полиовирус 1 типа в зависимости от концентрации и времени освечивания водоема;

- рассмотреть экологическое фотообеззараживающее действие сенсibiliзаторов в отношении вирусного загрязнения воды (колифаг MS-2) в зависимости от pH;
- проанализировать экологичное фотообеззараживающее действие метиленового голубого в отношении колифагов в условиях естественного микробиоценоза поверхностных водоемов;
- изучить экологичность действия сенсibiliзаторов в отношении санитарно-показательных микроорганизмов в зависимости от органического загрязнения воды;
- изучить экологичность действия сенсibiliзаторов в зависимости от концентрации в отношении Гр отрицательного микроорганизма (*E. coli* 1257) в зависимости от органического загрязнения воды;
- изучить экологическое фотообеззараживающее действие сенсibiliзаторов в отношении грамположительных микроорганизмов (*S. aureus* и *Ent. faecalis*) в зависимости от органического загрязнения воды;
- рассмотреть степень реактивации в процессе экологического обеззараживающего действия разных концентраций сенсibiliзаторов в отношении *E. coli* 1257;
- рассмотреть экотоксичность фотосенсibiliзаторов и степень опасности продуктов их фототрансформации;
- дать оценку эффективности применения фотосенсibiliзаторов для экологического оздоровления и очистки воды;
- определить влияние прополиса с сенсibiliзаторами на морфологию крови *Oreochromis niloticus*, зараженных *Candida albicans* в условиях аквариумного содержания;
- проанализировать степень повышения механизмов иммунной защиты *Oreochromis niloticus*, на фоне развития кандидамикозов, прополисом в комплексе с сенсibiliзаторами;

- рассмотреть влияние прополиса с сенсibilизаторами на восстановление микробной экологии кишечника *Oreochromis niloticus*, зараженных *Candida albicans* в условиях аквариумного содержания.

Научная новизна. Выявлены закономерности улучшения экологического состояния воды на основе фотообеззараживающего действия сенсibilизаторов - октакис фталоцианин цинка, метиленового голубого и профлавин ацетата на энтеробактерии и вирусы, санитарно-показательные Гр- и Гр+ микроорганизмы при различных концентрациях, сочетаниях физических параметров среды, рН, уровня органического загрязнения поверхностных водоемов, влияющих на формирование планктона, степени реактивации микроорганизмов, влияние на генеративные функции и мутагенную активность на моделях планктона (инфузории, дафнии). Впервые представлены результаты влияния прополиса для профилактики развития кандидамикозов, снижения токсигенности сенсibilизаторов при содержании *Oreochromis niloticus* в аквариумах для экологичной активизации функций кроветворения, повышения иммунного статуса, восстановления естественного микробиоценоза и продуктивности рыб.

Теоретическая и практическая значимость работы. Разработанные модели позволяют обосновать параметры и режимы экологичного фотообеззараживающего действия сенсibilизаторов для очистки и обеззараживания поверхностных водоемов. Они значительно расширяют и углубляют теоретическую базу по решению проблемы экологической очистки от загрязнения поверхностных водоемов энтеробактериями и вирусами, влияющих на формирование планктона, нарушающих санитарно-гигиенический режим водных ресурсов, представляющих эпидемиологическую опасность.

Практическая значимость результатов исследований состоит в: а) разработке метода очистки поверхностных водоемов с применением более экологичного фотообеззараживающего сенсibilизатора метиленового голубого, обладающего бактерицидным и вирулицидным действием в

отношении энтеробактерий и вирусов, санитарно-показательных микробов, являющегося безвредным в отношении планктона водного биоресурса поверхностных водоемов, имеющего слабую токсичность (в пределах ПДК) и отсутствие мутагенного действия; б) рекомендуется применение метиленового голубого в комплексе с экологичным экстрактом прополиса для полного обезвреживания его токсигенности в условиях аквариумов при выращивании *Oreochromis niloticus* в целях профилактики активизации условно-патогенного *Candida albicans* и терапии от развившихся кандидамикозов для экологичной активизации в организме рыб процессов кроветворения, восстановления иммунного баланса, оптимизации естественной микробной экологии кишечника, с целью обеспечения населения диетическим мясом, богатым жирными кислотами омега 3, 6.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Состояние и характер загрязнения энтеробактериями и вирусами поверхностных водоемов, влияющих на циклы и особенности формирования планктона, определяющего экологию составляющих их биоресурсов.

2. Степень экологичности проявления действия существующих методов обеззараживания поверхностных водоемов фотосенсибилизаторами на энтеробактерии и вирусы, в зависимости от органического загрязнения среды, их физико-химические свойства.

3. Степень экологичности действия сенсибилизаторов в зависимости от концентрации в отношении санитарно-показательных Гр- и Гр+ микроорганизмов – загрязнителей водной экологии поверхностных водоемов и влияние их на реактивацию микроорганизмов.

4. Токсичность фотосенсибилизаторов на моделях планктонов биоресурсов поверхностных водоемов, влияние на их генеративные функции, мутагенная активность.

5. Экстракт прополиса для экологичного инактивирования токсигенности сенсибилизатора метиленового голубого и снижения токсичности,

мутагенности и генеративных функции профлавин ацетата и фталоцианина цинка.

6. Степень активизации и восстановления экстрактом прополиса в комплексе с метиленовым голубым в организме *Oreochromis niloticus*, зараженных кандидамикозами при содержании в аквариумах, морфофункциональных процессов кроветворения (активизации гемо- и лейкопоэза) и восстановления механизмов гуморальной и клеточной защиты, баланса микробно-микологической экологии толстого отдела кишечника рыб.

Методология и методы исследования. В работе использованы микробиологические, вирусологические, морфологические, химические, биохимические, токсикологические, иммунологические, генетические методы исследований, разработанные ведущими учеными мира.

Внедрение результатов исследования в практику. Результаты диссертационной работы внедрены в учебный процесс в ФГБОУ ВО РГАУ-МСА имени К.А. Тимирязева при изучении дисциплин микробиология, вирусология, иммунология, декоративное и промышленное рыбоводство студентами институтов «Агробиотехнологии», «Зоотехнии и биологии» и «Технологического».

Методология и методы диссертационного исследования. Работа выполнена с использованием современного оборудования и приборов, прошедших поверку средств измерений, согласно ГОСТ 8.513-84, достаточным количеством исследуемого материала, применением высокоинформативных классических и современных микробиологических, физиологических, физических и биологических методов исследований. Цифровой материал подвергнут статистической обработке. Достоверность разности результатов средних значений (опыт – контроль) определялась по критерию Стьюдента.

Материалы диссертационной работы доложены на расширенном заседании кафедр микробиологии и иммунологии, аквакультуры и пчеловодства ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева.

Степень достоверности и апробации результатов. По теме диссертации опубликовано 13 работ, в том числе 6 статей в изданиях, рекомендуемых ВАК РФ и 3 - в изданиях, входящих в международную базу данных и систему цитирования Scopus. Основные результаты исследований доложены на ежегодных научно- практических конференциях ФГБОУ ВО РГАУ- МСХА, 2014-2023г.г., на конференции «Современные аспекты сельскохозяйственной микробиологии (Москва, 2016); на 71-й Международной научно-практической конф., посвященной 130-летию со дня рождения А.В. Чайнова (Москва, 2018); на Международной конф., посвященной 120 летию создания кафедры микробиологии и 150-летию профессора Н.Н. Худякова (Москва, 2018); на конференции по медицинской микологии и микробиологии (Москва 17-18 мая 2023 г.).

Объем и структура диссертации. Объем диссертационной работы составляет 227 страницы компьютерной верстки. Включает введение, обзор литературы, главы материал и методы исследований, результаты собственных исследований, заключение, выводы и практические предложения, список литературы, приложения. Диссертация иллюстрирована 60 таблицами, 12 рисунками. Библиография включает 202 источника, в том числе 113 иностранных авторов.

Личный вклад автора. На всех этапах выполнения диссертации (в постановке цели, разработке задач, плана проведения экспериментальных работ, опытов их выполнения, анализа и интерпретации полученного материала, подготовки его к публикации) автор принимал личное участие.

ГЛАВА 1. Теоретические основы действия сенсibilизаторов на энтеробактерии и вирусы, влияющие на экологию

1.1. Определение и значение сенсibilизаторов, микробных сообществ, влияющих на экологию поверхностных водоемов

Сенсibilизатор (аллерген) - это вещество, которое вызывает развитие аллергической реакции в нормальных тканях после многократного воздействия. Состояние повышенной чувствительности к веществу называется гиперчувствительностью.

Химические вещества, классифицируемые как сенсibilизаторы, могут воздействовать либо на кожу, либо на дыхательные пути. Респираторный сенсibilизатор означает химическое вещество, которое приводит к повышенной чувствительности дыхательных путей после вдыхания этого химического вещества.

Кожный сенсibilизатор означает химическое вещество, которое вызывает аллергическую реакцию после контакта с кожей. Сенсibilизация - это иммунный ответ. В то время как некоторые люди легко поддаются сенсibilизации, другие могут никогда не пострадать даже после такого же воздействия. Некоторые химические вещества не оказывают немедленного воздействия, однако после многократного воздействия сенсibilизатора может внезапно развиться аллергия или чувствительность к нему.

Сенсibilизирующие химические вещества будут обозначены одной или обеими из следующих категорий опасности, согласованных на глобальном уровне (СГС).

Сенсibilизаторы - это химические вещества, которые потенциально могут становиться аллергенами. Трудно предсказать, какие химические вещества будут сенсibilизаторами, кто, вероятно, будет уязвим к ним и какое воздействие вызовет реакцию. Отметим, что взаимодействие сенсibilизатора

с отрицательно заряженной в водной среде поверхностью микроорганизмов усиливает положительный заряд. Поиск эффективных катионных сенсбилизаторов образования синглетного кислорода для водной среды и изучение фотохимических процессов, протекающих в их растворах, является актуальным и представляет не только теоретический, но и практический интерес для разработки новых препаратов для фотодинамической инактивации микроорганизмов.

Все воды, находящиеся между атмосферой и литосферой: реки, озера, водохранилища, болота, ледники, относятся к поверхностным водоемам [58]. Водная экосистема включает связанные между собой абиотическую и биотическую часть водной экосистемы. Специфическое их сочетание влияет на характер микрофлоры поверхностных водоемов.

Экосистемы поверхностных водоемов и наземные имеют ключевые отличия: водные экосистемы подвергаются меньше колебаниям температуры (от 2 до 40°C), чем наземные, но более - содержанию кислорода; благодаря значительной (чем у воздуха) плотности воды, водные организмы населяют ее в свободно плавающем состоянии; в водной среде различный уровень освещённости и поэтому гораздо выражена вертикальная стратификация; вода, как уникальный растворитель, создает условия для развития сети биохимических связей между компонентами экосистемы за счет выделения организмами в воду кислорода, углекислоты и продуктов метаболизма. Эти связи играют в водных экосистемах более выраженную роль, чем в наземных; биоразнообразие водных биотопов выше, чем в наземных биоценозах, причем основную биомассу составляют микроорганизмы: зоо- и фитопланктон, бактерии и т.д. Значительное разнообразие абиотических компонентов водных экосистем способствует развитию микробиоценозов, использующих различные стратегии выживания и занимающих различные экологические ниши.

Для поверхностных водоемов с вертикальной расчленённостью водной среды характерно пространственное распределение биотопов: планктон –

организмы, живущие во взвешенном состоянии в массе, толще воды; бентос - организмы, живущие на дне водоемов или в грунте [4,9,103,161].

Микрофлора водоемов образована автохтонными (собственно водными) и аллохтонными (попадающими в случае загрязнения из внешней среды) микроорганизмами. Автохтоны постоянно живут и размножаются в водной среде, являются основными деструкторами органических продуктов животного и растительного происхождения и обеспечивают питательными веществами другие организмы, живущие в воде [5]. Состав водной микрофлоры может сильно варьировать. К типичным автохтонам относятся следующие таксоны: *Actinobacteria* (родов *Micrococcus*), *Bacteroidetes*, *Cyanobacteria* (особенно родов *Microcystis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Oscillatoria*, *Planktothrix*, *Synechococcus* и *Cyanothece*), *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria* (роды *Limnohabitans*, *Polynucleo bacter*), *Gammaproteobacteria* (напр., *Pseudomonas fluorescens*). Здесь в сложном взаимодействии сосуществуют продуценты (автотрофы, например, хемоавтотрофные бактерии) и потребители органического вещества (гетеротрофы, редуценты) [23,46,49].

Из аллохтонных микроорганизмов можно выделить бактерии класса *Gammaproteobacteria* (в том числе и *Escherichia coli*) [25]. В воду поступают также и сапрофитные микробы почвы: родов *Azotobacter*, *Nitrobacter*, *Proteus*, *Pseu-domonas*, *Spirillum* и др. Из загрязненной органическими веществами воде выделяются клостридии и другие анаэробы, повышается содержание аэробов (бактерий, вибрионов, спирохет).

Автохтонные бактерии осуществляют круговорот серы в водоемах. Они также участвуют в депонировании углерода, поступающего из наземных экосистем [71,109].

Пониженная способность самоочищения водных экосистем является важным моментом в плане санитарно-эпидемиологического контроля воды. В этой связи, попавшие со стоками в водоем болезнетворные микробы, могут длительно сохраняться и размножаться в них. Многие аллохтонные

патогенные и условно-патогенных микроорганизмов не приспособлены к существованию в воде и быстро погибают. Но тем не менее какое-то время они сохраняются в воде: сальмонеллы до 3 месяцев, шигеллы до 9 дней, лептоспиры до 150 дней, холерный вибрион - нескольких месяцев и даже может размножаться в воде.

К патогенным бактериям в микробиоценозе поверхностных водоемов относятся: *Legionella*, *Helicobacter*, *Campylobacter*, *Mycobacterium* и штамм *Escherichia coli* O 157:H7; энтеровирусы, гепатовирусы, реовирусы, ротавирусы, калицивирусы, вирус гриппа, коронавирусы, аденовирусы и др.

В воде, контаминированной фекалиями человека и животных, может быть обнаружено более 100 видов патогенных вирусов [25]. Вирусы - облигатные внутриклеточные паразиты и, следовательно, их нахождение в воде связано с нахождением в ней чувствительных организмов (от бактерий и простейших до высших животных).

По данным ВОЗ санитарно-показательные микроорганизмы воды разделены на три основные группы: 1) Индикаторы фекального загрязнения – бактерии группы кишечных палочек (БГКП) – представители родов *Escherichia*, *Enterococcus*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*. Иногда, как дополнительный показатель, выделяют *Streptococcus faecalis*, свидетельствующий о свежем загрязнении фекальными массами. Сульфитредуцирующие бактерии (*Clostridium perfringens*) – более устойчивы в воде, т.к. являются спорообразующими, свидетельствуют о более давнем фекальном загрязнении; 2) Модельные микроорганизмы – присутствие некоторых патогенных бактерий коррелирует с концентрацией бактериофагов. Например, F-специфические РНК-бактериофаги (MS2) из-за сходства морфологии, структуры и инфекционного цикла с энтеровирусами человека, легкостью обнаружения, используются в качестве их модели; 3) Микроорганизмы-индикаторы эффективности дезинфекции вод или работы очистных сооружений – высокая численность гетеротрофных или

колиформных бактерий свидетельствует о недостаточной эффективности дезинфекции.

Санитарно-показательные микроорганизмы поверхностных водоемов представлены колиформными бактериями, сульфитредуцирующими клостридиями, фекальными стрептококками и энтерококками, колифагами.

Колиформные бактерии (колиформы) – грамотрицательные палочки, живущие и размножающиеся в нижнем отделе пищеварительного тракта теплокровных животных и человека. Большинство из них способны ферментировать лактозу при 35-37 °С с образованием кислоты, газа и альдегида. Также к колиформным бактериям относится род *Escherichia* и отдельные виды *Klebsiella*, *Enterobacter* и *Citrobacter*, способные ферментировать лактозу при 44 - 45 °С (подгруппа термотолерантных колиформных бактерий). Для оценки эффективности очистки воды от фекальных бактерий главное место отводится термотолерантным колиформным бактериям [10,42,55,127]. Наличие колиформных бактерий косвенно свидетельствует о возможном присутствии в воде патогенных микроорганизмов (например, *Campylobacter*). В водоисточниках для централизованного питьевого и хозяйственно-бытового водоснабжения допускается численность общих колиформ не более 1000 КОЕ/100 мл, а термотолерантных колиформ – не более 100 единиц.

Присутствие колиформных организмов в воде свидетельствует о ее недостаточной очистке, вторичном загрязнении или о наличии в воде избыточного количества питательных веществ. Но данная группа санитарно-показательных микроорганизмов не может служить показателем эффективного обеззараживания сточных вод, ибо попав в неблагоприятные условия *E. coli* и другие колиформы теряют способность ферментировать лактозу и, как следствие, игнорирование этого факта может привести к ложноотрицательным результатам [13]. К тому же, *E. coli* и другие термотолерантные колиформные бактерии (ТКБ) при обеззараживании питьевой воды хлорными препаратами менее устойчивы, чем представители

рода *Salmonella* (*S. enteritidis*, *S. infantis*) и некоторые другие глюкозоположительные колиформные бактерии (ГКБ). А это ставит под сомнение индикаторное значение по крайней мере ТКБ и *E. coli*[3,13].

Сульфитредуцирующие клостридии - анаэробные спорообразующие, присутствуют в фекалиях человека, хотя и в значительно меньших количествах (13-35%), чем колиформы. Присутствие в воде *C. perfringens* показывает загрязнение её фекалиями теплокровных животных(особенно травоядных), хотя домашние кошки и собаки также могут служить их источником [160]. Клостридии не размножаются в воде поверхностных водоемов [13]. Споры клостридий существуют в воде дольше, по сравнению с колиформными бактериями и они более устойчивы к обеззараживанию [3,123]. Поэтому клостридии могут быть обнаружены далеко от места загрязнения, что может усложнить интерпретацию результатов. Применение в санитарной микробиологии индикации сульфитредуцирующих клостридий ограничено и является лишь вспомогательным методом [83,92,145,147].

Фекальные стрептококки (ФС) – присутствуют в больших количествах в экскрементах человека и животных. ФС - гетерогенная в таксономическом плане группа кишечных микроорганизмов, к которой относятся представители *Streptococcus*, но большую долю составляют бактерии рода *Enterococcus* (*Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *E. casseliflavus/gallinarum*, *E. raffinosus*), *Streptococcus bovis* и *S. equinus* [138]. ФС более устойчивы в среде поверхностных водоемов, чем, например, *E. coli* и ТКБ [101]. Наличие ФС однозначно свидетельствует о загрязнении, но в последние годы появились работы, которые ставят под сомнения использование данной группы ФС в качестве идеального индикатора фекального загрязнения поверхностных водоемов. Некоторые представители рода *Enterococcus*, при попадании в неблагоприятные условия поверхностного водоема примерно через 6-8 недель изменяются настолько, что сохраняются в виде некультивируемых форм [122]. Это сужает возможности использования ФС в качестве индикаторной группы микробов. Выявлена способность *Enterococcus faecalis* использовать для

прикрепления собственных клеток хитиновый покров планктонных веслоногих рачков и сохраняться в виде некультивируемой формы [149]. *E. casseliflavus* и *E. faecalis* в условиях морского приливно-отливного участка штата обнаруживаются и размножаются в планктоне при 10-30°C, причем пик концентрации приходится на июль [149].

Колифаги – вирусы-бактериофаги, для которых хозяевами являются колиформные бактерии. Колифаги могут оказаться в фекалиях человека и теплокровных животных и служить индикаторами загрязнения поверхностных вод. Различают соматические и F-специфические колифаги. Соматические колифаги инфицируют колиформные бактерии путем прикрепления к рецепторам их наружной мембраны. Размножаются они в кишечнике, но способны продолжать размножаться и оказавшись вместе с клеткой хозяина в поверхностном водоеме [101]. Численность колифагов коррелирует с численностью колиформных бактерий, коэффициент корреляции 0,73 [13,141].

F-специфические колифаги инфицируют колиформные бактерии через F-пили, участвующие в конъюгации. Так как, не все штаммы колиформ обладают F-фактором (плазмидами), то это делает данную группу колифагов более специфичной в сравнении с соматическими.

Помимо этой основной классификации, колифаги делят на шесть групп в зависимости от морфологических признаков, а F-специфические РНК-колифаги дополнительно еще на 4 подгруппы [149]. Здесь возможна рекомбинация между отдельными штаммами и появление новых рекомбинантных вирусов [29,96,119,141,144].

Большое значение для профилактики кишечных вирусных инфекций имеет своевременный вирусологический контроль качества воды, т.к. ибо даже если концентрация вирусных частиц в питьевой воде очень мала, тем не менее, нескольких вирионов может быть достаточно для инфицирования человека, например, энтеровирусами [2,98,132]. Поэтому, важным этапом санитарно-вирусологического контроля качества воды является

концентрирования вирусов из больших объемов воды. Среди существующих способов индикации и количественной оценки уровня вирусного загрязнения воды является метод мембранной фильтрации. В настоящее время, выпускаются мембраны различных типов на основе различных фильтров: нитроцеллюлозы (Millipore), целлюлозы (Whatman), стекловолокна и др. [75,90,98]. Наиболее интересен метод фильтрационного модуля МФМ-0142, основанного на микрофильтрации воды в тангенциально-радиальном режиме, сущность которого состоит в пропускании воды под давлением вдоль поверхности мембраны. Здесь неотфильтрованный продукт возвращается в цикл, а свободный от вирусов фильтрат удаляется. При этом увеличивается скорость фильтрации и концентрирования вирусов. В модуле МФМ-0142 используется микропористая мембрана капроновая (ММК) с размером пор 0,2 мкм и диаметром 142 мм. В работе [52] сообщается, что эффективность сорбции не зависит от исходной концентрации фага в пределах возможного уровня вирусного загрязнения водопроводной воды (10^1 - 10^2 БОЕ/100 мл) и составляет 100 %, а процент элюции колеблется в пределах 80,40 – 84,51 %.

Дальнейшее усовершенствование модуля было достигнуто путем использования вторичного этапа концентрирования на позитивно заряженных мембранах, например, мембраны микропористые полиамидные с положительным дзета-потенциалом ММПА⁺ [36]. Мембранный фильтрующий модуль МФМ-0142 (с мембранами марки ММПА⁺) испытан и рекомендован НИИ ЭЧиГОС им. Сысина РАМН для санитарно-вирусологических исследований воды в лабораториях НИИ и СЭС согласно МУК 4.3.2029-05 «Методические указания по санитарно-вирусологическому контролю водных объектов окружающей среды» и для очистки питьевой воды».

Исходя из изложенного, можно прийти к заключению, что в настоящее время, для установления точного фекального загрязнения, внимание исследователей направлено разработке методов серотипирования и генотипирования колифагов[130]. И тем не менее, колифаги, особенно F-специфические РНК-колифаги, являются наиболее подходящими объектами

для построения моделей фекального загрязнения поверхностных водоемов и попадания в них патогенных энтеровирусов, ибo и колифаги и энтеровирусы примерно одинаково устойчивы к действию обеззараживающих агентов.

1.2. Микробная экология в водохранилищах и озерах

В пресноводных экосистемах микробы играют важную роль в глобальных потоках энергии и разнообразных биогеохимических (C, N, P, S и другие элементы) путях круговорота глубоких водохранилищ и мелководных озер. По сравнению с олиготрофными, стабильными глубоководными экосистемами океана, в этих пресноводных водоемах обитают различные микробные сообщества, которые связаны с водой и донными отложениями. Популяции водных микроорганизмов в пресной воде и океанах могут в значительной степени определяться изменениями в состоянии питания водоемов из-за изменений гидрологического режима и изменения климата. Недавно, благодаря быстрому развитию высоко производительной технологии секвенирования и биоинформатике в сочетании с функциональной геномикой, в водохранилищах и озерах было обнаружено неожиданное разнообразие функциональных микробов.

Тема исследования *Frontiers* — Микробная экология в водохранилищах и озерах — предполагает участие в следующих областях:

(а) взаимосвязь между параметрами качества воды и составом микробного сообщества;

(б) функциональные микробные сообщества в воде и донных отложениях;

(в) влияние гидрологических режимов (например, термической стратификации, ливней, уровня воды) на динамику микробных сообществ; и

(г) цветение водорослей и их взаимодействие с другими микробными сообществами.

Наконец, особое внимание было уделено моделированию данных о качестве воды на основе экосистем и состава микробного сообщества с использованием методов секвенирования ДНК.

Всего по этой теме исследования была опубликована 21 статья, объединенная в эту электронную книгу, чтобы осветить новые открытия по различным аспектам и последние достижения в микробной экологии (например, разнообразие сообществ и распределение прокариот и эукариот в различных пресноводных средах, количественная оценка микробов, связанных с цветением, устойчивость к антибиотикам и загрязнение фекалиями). Исследования, описанные в этих статьях, проводились в эвтрофных, мезотрофных и олиготрофных водохранилищах и озерах, расположенных в разных регионах Китая, Канады, Японии, Европы и США. Цель этой редакционной статьи - обобщить новые результаты, представленные в этих статьях, расширить наше понимание состава, разнообразия, численности, динамики и функций микробов в пресноводных экосистемах.

В этой теме Шен и др. использовали рабочий процесс метагеномики, чтобы выявить взаимосвязи между трофическим статусом и планктонной микробиотой в пресноводных озерах на плато Юньгуй, Китай. Микробные сообщества в эвтрофных и мезотрофно-олиготрофных озерных экосистемах показали большую разницу в структуре сообщества. Авторы обратили внимание на то, что общие различия в генетическом потенциале круговорота элементов и метаболических функциях тесно коррелируют с дивергенцией микробного сообщества. Ву Ю.-Ф. и др. использовала высокопроизводительное секвенирование для изучения микробной сукцессии во время анаэробного разложения *Microcystis* в эвтрофных отложениях, собранных в заливе Мэй Лян озера Тайху. Результаты показали, что добавление *Microcystis* в донные отложения вызвало филогенетическую кластеризацию и нестабильность структуры микробного сообщества донных отложений. Cruaud et al. показано, что сообщества эукариотических

микроорганизмов имели четкие сезонные закономерности в канадской реке, которые, вероятно, были вызваны изменениями условий окружающей среды. В то же время вероятный вклад бактериального сообщества во временное распределение структуры сообщества протистов подтверждался потенциальными взаимосвязями с составом бактериального сообщества.

Распределение кинетопластид в глубоководных слоях во время летней стратификации было выявлено с помощью группоспецифичного катализируемого репортерного осаждения и флуоресценции гибридизации *in situ* (CARD-FISH) зондов и секвенирования гена 18S рРНК Мукерджи и др.. Результаты показали, что кинетопластиды широко распространены в глубоководных районах. Неожиданно авторы обнаружили присутствие диплонемид, сестринской группы кинетопластид. Коломбе и др. сообщает об открытии «Астроподобных наночастиц (ALN)» в пелагической среде. Это исследование показывает, что ALN являются новыми и широко распространены в водных экосистемах и что не все вирусоподобные частицы, обнаруженные в водных системах, обязательно являются вирусами. Более того, исследование показало, что в водных системах может быть больше неизвестных экологически важных сверхмалых частиц. Кай и др. изучены вариации $\delta^{15}\text{NPN}$ и $\delta^{15}\text{NTDN}$ во время термической стратификации и их взаимосвязь с факторами окружающей среды и фитопланктоном в водохранилище Лянхэ, Китай. Результаты показали, что $\delta^{15}\text{NPN}$ и $\delta^{15}\text{NTDN}$ изменялись в зависимости от сезонного термоциклирования; более того, плотность клеток была основным фактором, регулирующим распределение стабильных изотопов азота. Дэвенпорт и др. предприняли мета-транскриптомный подход, чтобы выявить временные изменения в метаболических функциях *Microcystis* spp. В периоды цветения результаты показали, что в образцах, собранных днем или ночью, наблюдались различные паттерны экспрессии генов. Кроме того, распределение экспрессии гена *Microcystis* зависело как от циркадной регуляции, так и от изменений физико-химических факторов окружающей среды.

Чтобы лучше понять пространственные и сезонные вариации сообществ пикофитопланктона в водных экосистемах, Ши и др. выполнено высокопроизводительное секвенирование для изучения численности и разнообразия фотосинтезирующих пикоэукариот (PPE) и пикоцианобактерий, богатых фикоэритрином (PE-cells), в озере Фусянь, Китай. *Synechococcus* был основным типом PE-клеток с относительно одинаковой численностью в течение всего года, за исключением уменьшения летом. Авторы показали, что сезонные изменения существенно повлияли на состав, разнообразие и обилие СИЗ -клеток. Цзян и др. проанализировали микробиоту и ее взаимосвязь с изменениями температуры и другими переменными окружающей среды в течение десятилетия в пяти альпийских озерах с использованием глубокого ампликонного секвенирования гена 16S рРНК. Результаты показали, что температура, питательные вещества и растворенный органический углерод оказали значительное влияние на состав бактериального сообщества. Бомберг и др. исследовали состав и метаболические особенности микробных сообществ в водоемах, разделенных вечной мерзлотой, собранной в районе Кангарлуссуака, Западная Гренландия. Это исследование показало, что в различных холодных водных средах Гренландии существуют весьма разнообразные микробные сообщества, и продемонстрировало четкие закономерности в микробных сообществах в зависимости от местообитаний с уникальными метаболическими характеристиками.

К. Бай исследовали потенциальные факторы относительного обилия бактериальных сообществ и их взаимосвязь с глубиной воды в озере Лугу, расположенном на юго-западе Китая. Результаты показали, что глубина воды была наиболее важным фактором, влияющим на относительную численность 11 доминирующих видов бактерий. Между тем, другие физические, химические и биологические переменные также оказывали большее влияние на численность некоторых видов бактерий.

Фанг и др. использовали высокопроизводительные подходы для исследования динамики генов устойчивости к антибиотикам (ARG) во

взаимосвязи с микробными сообществами и экологическими моделями в субтропическом городском водохранилище в Китае путем высокочастотного отбора проб. Результаты показали, что бактериальное сообщество имело сезонную структуру, в то время как состав ARGs не менялся сезонно; более того, численность бактерий и разнообразие сообщества гораздо сильнее коррелировали с факторами окружающей среды, чем ARGs. Паласин-Лизарбе и др. количественно определены группы четырех генов, связанных с путем N-трансформации в бентических местообитаниях 11 горных озер в Испании, чтобы выявить влияние отложения азота на микробиологические закономерности в олиготрофных пресноводных экосистемах. Они отметили, что эти микробы с разными типами генов обитают в слоях воды разной глубины, что приводит к двум различным реакциям на высокое атмосферное осаждение Азота в олиготрофных озерах разного трофического статуса.

Накацу и др. изучали влияние речных микроорганизмов на озеро Мичиган. В ходе исследования оценивалось, была ли река Гранд-Калумет источником бактериального загрязнения в различных местах озера Мичиган, и были ли бактерии, ассоциированные с фекалиями, в образцах связаны с видом-индикатором патогена *Escherichia coli*. Результаты показали, что существовали значительные различия в бактериальных сообществах на разных участках, и факторы окружающей среды оказали существенное влияние на это различие. В то же время наблюдалась значительная положительная корреляция между бактериями, связанными с фекалиями, и организмами-индикаторами патогенов. Вадде и др. проведена оценка наиболее подходящих методов qPCR-анализа для отслеживания микробных источников для выявления фекального загрязнения, связанного с хозяином, через реку Тиаоси в бассейне Тайху. Их эксперименты показали, что несколько мест на реке Тиаокси сильно загрязнены фекалиями, и это хорошо коррелирует со схемами землепользования. Более того, Сюй и др. собраны исторические данные о случаях вредного цветения водорослей (ВЦВ), произошедших в заливе Бэйбу в Китае, и исследована структура ВЦВ, чтобы

спрогнозировать будущие тенденции. Эта статья подтвердила, что за последние несколько лет состояние NABs постепенно ухудшалось. Лю и др. оценивалось влияние различных наборов для извлечения ДНК на численность и распределение редких и обильных таксонов планктона в поверхностных слоях водоема. Их эксперимент показал, что использование различных наборов для извлечения ДНК оказывало большее влияние на редкие таксоны, чем на распространенные. Кроме того, разные наборы для извлечения ДНК имели свои преимущества при изучении разных микробов. Кроме того, Моншамп и др. использовали высокопроизводительные методы секвенирования для изучения разнообразия и состава нефотосинтетических цианобактерий (NCY) в ядрах донных отложений 10 озер Европейского периальпийского региона. Авторы обнаружили, что в разных озерах были разные сообщества NCY, в то время как за последние 100 лет не произошло существенных изменений в разнообразии комбинаций NCY внутри озер и между ними. В семи европейских периальпийских озерах, Оказаки и др. исследовали богатство и состав CL500-11 (Тип Chloroflexi) с помощью картошки.

Подводя итог, мы ожидаем, что эти статьи стимулируют новые дискуссии и исследования микробной экологии пресноводных водохранилищ и озер. Результаты улучшат наше понимание молекулярных микробных экологических характеристик пресноводных экосистем. С более прикладной точки зрения, в нем также представлена базовая база данных для управления окружающей средой и водными ресурсами с целью улучшения санитарного состояния водохранилищ и озер за счет использования некоторых технологий искусственного укрепления (например, водоподъемных аэраторов) для повышения метаболической активности микробного сообщества в экосистемах водохранилищ с питьевой водой и обеспечения потребителей более чистой и здоровой питьевой водой.

1.3 Роль аллохтонных санитарно - показательных микроорганизмов, участвующих в экологии поверхностных водоемов

С увеличением удельного веса сброса неочищенных стоков, техногенной нагрузки на них из-за интенсивного жилищного строительства по берегам водных объектов, растет микробное заражение этих вод [32,33,137]. Причинами продолжающегося техногенного и антропогенного загрязнения водоемов являются: устаревшие и изношенные технологии и сооружения; сброс в канализацию не утилизируемых отходов; недостаточно эффективная очистка. Поэтому, мероприятия, направленные на прекращение сброса неочищенных сточных вод в водоемы, используемые для питьевого водоснабжения, являются наиболее приоритетными в стране [34].

Значительную долю санитарно-показательных микроорганизмов, обнаруженных в обследованных водоемах I категории, составляют термотолерантные колиформные бактерии (ТКБ) – 14 % и общие колиформные бактерии (ОКБ) – 11,5 %. Роспотребнадзор характеризует ситуацию с загрязнением поверхностных водоемов как «неудовлетворительную».

Обеззараживание воды осуществляется посредством добавления различных химических веществ или проведения специальных мероприятий. Критерии качества питьевой воды лежат в основе «Руководство по контролю качества питьевой воды», изданного ВОЗ в 2004 и 2011 гг. [146], и нормативных актов СанПиН 2.14.1074-01 [130]. Несмотря на значительное количество в очищенной питьевой воде потенциально опасных для человека побочных химических соединений – продуктов ее обеззараживания, опасность заболеваний человека от микробиологического загрязнения воды в 100-1000 раз выше риска развития онкологических процессов от указанных химических

веществ [41]. Методы обеззараживания сточных вод можно разделить на: химические, физические, физико-химические.

Распространенной группой методов обеззараживания воды является химическая. Среди них - хлорирование. Это экономичный метод (дешевые реагенты), характеризующийся возможностью эффективного оперативного контроля за процессом обеззараживания, высокой технологичностью процесса и способностью обеспечить микробиологическую безопасность воды в любой точке распределительной сети, в любой момент времени, благодаря эффекту после действия [19].

При введении в воду Cl_2 образуются хлорноватистая соляная кислота, которая затем диссоциирует с образованием гипохлоритиона. Бактерицидным действием обладают как недиссоциированные молекулы хлорноватистой соляной кислоты, так и гипохлоритион, которые взаимодействуют с содержимым протоплазмы клеток бактерий [6]. При этом, чем выше окислительный потенциал, тем выше бактерицидность дезинфицирующих соединений. С увеличением щелочности среды снижается бактерицидность хлора и хлорреагентов.

К недостатку хлорирования воды относится низкая эффективность в отношении к вирусам. Для обеззараживания воды от энтеровирусов необходима повышенная концентрация свободного хлора (до 1-2,7 мг/л), более продолжительный контакт (30 мин. - 4 ч.) [85, 110]. Штаммы *Enterococcus faecalis*, обладают повышенной устойчивостью и фенотипической толерантностью ко многим химическим и/или физическим агентам, в том числе и хлору. Эффективность хлора в отношении вирусов может в десятки раз превышать чувствительность бактерий, а простейшие обладают высокой устойчивостью к хлору. Также на нее значительное влияние оказывают физические факторы, а именно температура и кислотность. Так, если в отношении бактерий наибольшая полнота инактивации достигается при средних температурах (20-25°C), то для обеспечения максимальной защиты от вирусов в основном требуются более

низкие температуры- около 5°C. Еще сложнее обеспечить полную защиту воды с помощью хлорирования от простейших.

Многие бактерии, в том числе и санитарно-показательные, обладают выраженными адаптационными свойствами в отношении хлорирования [84]. Сообщается об увеличении количества хлоррезистентных форм бактерий, а также о реактивации микроорганизмов в хлорированной питьевой воде [67]. Хлор воздействует в основном на вегетативные формы микроорганизмов, при этом грамположительные формы бактерий более устойчивы к его действию, чем грамотрицательные [28]. Для получения гарантированного бактерицидного эффекта необходимо проведение хлорирования избыточными дозами хлора. При этом возможно ухудшение органолептических показателей и денатурации воды [26, 28,131]. Существенным недостатком хлорирования является образование в воде под действием хлора галогенсодержащих соединений, представляющих опасность для человека в качестве токсичных веществ, мутагенов и канцерогенов. Побочными продуктами, в результате дезинфекции воды хлорированием, являются тригалогенметаны и галогенуксусные кислоты. В работе [131] в пробах хлорированной воды было обнаружено 26 галогенсодержащих веществ, в том числе хлороформ, бромдихлорбутан, трихлорацетальдегид, хлорбутанол, четыреххлористый углерод и др. При этом содержание вероятных канцерогенов для человека – хлороформа и четыреххлористого углерода – превышало ПДК в 3 и 5 раз соответственно, а концентрация проявляющего мутагенные свойства трихлорацетальдегида – в 30 раз. Из тригалогенметанов контроль осуществляется только по содержанию хлороформа [130]. В тоже время в странах Европейского Союза и США контроль проводят по содержанию четырех тригалогенметанов(хлороформ, дибромхлорметан, бромдихлорметан и бромоформ) и пяти галогенуксусных кислот (моноклоруксусная, дихлоруксусная, трихлоруксусная, монобромуксусная и дибромуксусная кислоты), суммарные ПДК которых составляют 0,08 мг/л и 0,06 мг/л соответственно [26,69].

В случае хлорирования воды, содержащей азотсодержащие вещества, образуются токсичные соединения, например, хлорпикрин, а также моно- и дихлорамин [11]. Хлорорганические соединения способны аккумулироваться в донных отложениях, тканях водных и околоводных организмов и, в конечном счете, попадать в организм человека [17,117].

Другим методом обеззараживания является озонирование. Озон как более сильный окислитель, чем хлор, обладает высоким бактерицидным и вирулицидным действием. Обеззараживающее действие озона основано на его высокой окислительной способности, объясняющейся легкостью отдачи им активированного атома кислорода. В случае бактерий окисление приводит к изменению проницаемости клетки. Для вирусов изменение протеиновой оболочки препятствует их захвату восприимчивыми клетками. При воздействии озона на клеточную стенку цист *Giardia* происходит изменение цитоплазматической мембраны и ультраструктурных элементов организмов [61]. Доза озона, необходимая для обеззараживания воды, зависит от степени загрязнения воды и обычно бывает в пределах от 0,5 до 5 мг/л [16,17,61]. Особенно эффективно озонирование в отношении клостридий и колифагов [61]. Наиболее традиционным является использование озона в конце технологической схемы очистки вод. Основная причина недостаточной консервации воды после дезинфекции озоном связана с тем, что органические соединения из биологически устойчивых форм переходят в биоразлагаемые, которые затем легко усваиваются микроорганизмами. К другим недостаткам озона следует отнести высокую стоимость и энергоемкость получения этого вещества, а также и то, что озон не обладает эффектом последствия, в отличие от хлора [24,108,133]. Применение озонирования в качестве дополнительного метода очистки вод рек, обеспечит получение качественной питьевой воды [8].

Среди физических методов обеззараживания воды следует выделить метод ультрафиолетовой обработки, нашедший наибольшее применение в практике водоподготовки. К его основным достоинствам относят

экспоненциальный рост эффективности УФ-дезинфекции с увеличением дозы УФ-излучения, меньшие по сравнению с озонированием энергетические затраты (в 3-4 раза меньше общего энергопотребления озонаторных систем), высокую степень надежности и простоту эксплуатации УФ-комплексов дезинфекции, простоту автоматизации процесса, отсутствие опасных для здоровья человека и окружающей среды реагентов, минимальная продолжительность обработки (секунды) [15]. Обеззараживающий эффект бактерицидных ультрафиолетовых лучей обусловлен фотохимическими реакциями, в результате которых повреждается ДНК и РНК за счет фотолиза двойной связи в молекулах близко расположенных пиримидиновых оснований, что в конечном итоге приводит к образованию димеров в молекуле ДНК. УФ-излучение может вызывать одно- и двунитевые разрывы в молекуле ДНК.

Помимо нуклеиновых кислот, УФ-лучи действуют и на другие структуры клетки, в частности на клеточные мембраны и белки. В механизме фотоинактивации белков ведущая роль принадлежит остаткам ароматических (триптофан, тирозин, фенилаланин), гетероциклических (гистидин) и серосодержащих (цистин) аминокислот. При поглощении кванта УФ-излучения происходит их деструкция. Функционирование клеточных мембран нарушается в результате фотоокисления липидов и вторичного поражения мембранных белков и нуклеиновых кислот продуктами перекисного окисления [1,15].

Вирусы с геномом, представленным двухцепочечной ДНК, например, аденовирусы, реовирусы, обладают повышенной устойчивостью к действию УФ-излучения и при тех дозах ультрафиолета, которые используются в практике водоподготовки, не инактивируются [139]. Для инактивации последних (на 99,9 %) требуется доза облучения в 3-4 раза выше, чем для *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sonnei* (28-42 мВт·с/см²) [12]. Лишь при добавлении в качестве катализатора 10 мг/л пероксида водорода удается достичь существенного уровня повреждения вирусной ДНК при дозе УФ в 200 Дж/см², что сравнимо с устойчивостью многих бактерий [80]. Для

эффективного обеззараживания воды необходима доза УФ-излучения не менее $16 \text{ мВт} \cdot \text{с} / \text{см}^2$ [11].

Из сказанного следует, что существующие методы обеззараживания воды не лишены недостатков, и каждый в отдельности не в состоянии обеспечить уровень дезинфекции, требуемый нормативными документами, а их применение сопряжено с рядом недостатков. В связи с этим, продолжается поиск новых эффективных и безопасных методов обеззараживания воды.

Выводы.

Сенсибилизаторы - это химические вещества, которые потенциально могут становиться аллергенами. Взаимодействие сенсибилизатора с отрицательно заряженной в водной среде поверхностью микроорганизмов усиливает положительный заряд. Поиск эффективных катионных сенсибилизаторов образования синглетного кислорода для водной среды и изучение фотохимических процессов, протекающих в их растворах, является актуальным и представляет не только теоретический, но и практический интерес для разработки новых препаратов для фотодинамической инактивации микроорганизмов.

Микрофлора водоемов образована автохтонными (собственно водными) и аллохтонными (попадающими в случае загрязнения из внешней среды) микроорганизмами.

Пониженная способность самоочищения водных экосистем является важным моментом в плане санитарно-эпидемиологического контроля воды. В этой связи, попавшие со стоками в водоем болезнетворные микробы, могут длительно сохраняться и размножаться в них.

Особое внимание уделяется моделированию данных о качестве воды на основе экосистем и состава микробного сообщества с использованием методов секвенирования ДНК.

Всего по этой теме исследования была опубликована 21 статья, объединенная в эту электронную книгу, чтобы осветить новые открытия по

различным аспектам и последние достижения в микробной экологии (например, разнообразие сообществ и распределение прокариот и эукариот в различных пресноводных средах, количественная оценка микробов, связанных с цветением, устойчивость к антибиотикам и загрязнение фекалиями).

Данные статьи стимулируют новые дискуссии и исследования микробной экологии пресноводных водохранилищ и озер. Результаты улучшат наше понимание молекулярных микробных экологических характеристик пресноводных экосистем. С более прикладной точки зрения, в нем также представлена базовая база данных для управления окружающей средой и водными ресурсами с целью улучшения санитарного состояния водохранилищ и озер за счет использования некоторых технологий искусственного укрепления (например, водоподъемных аэраторов) для повышения метаболической активности микробного сообщества в экосистемах водохранилищ с питьевой водой и обеспечения потребителей более чистой и здоровой питьевой водой.

Существующие методы обеззараживания воды не лишены недостатков, и каждый в отдельности не в состоянии обеспечить уровень дезинфекции, требуемый нормативными документами, а их применение сопряжено с рядом недостатков. В связи с этим, продолжается поиск новых эффективных и безопасных методов обеззараживания воды.

ГЛАВА 2. Механизмы экологичного восстановления иммунной защиты *Oreochromis niloticus* прополисом и микробиоценозом с сенсibilизаторами на фоне развития энтеробактерий и вирусов, попадающих в поверхностные водоемы

2.1. Влияние на экологию поверхностных водоемов разных способов обеззараживания сточных вод, физико- химические свойства фотосенсibilизаторов

Только химические методы оценки качества вод, из-за недостатка сведений о биологической составляющей анализируемых веществ и их комплексном воздействии на гидробионтов не всегда дают необходимые результаты [27]. Поэтому растет число работ по биотестированию, используя стандартные тест-организмы [62].

Как правило, в исследованиях такого рода используют бактерии [73], простейших [135], водоросли [99], ракообразных [140], рыб [156], насекомых [68], растений [76] и млекопитающих [143].

Существенным недостатком хлорирования воды является образование опасных веществ. Особое место принадлежит хлороформу, который отличается кумулятивностью и является умеренно токсичным для гидробионтов и теплокровных животных. Максимальная концентрация хлороформа, не сказывающаяся на санитарном режиме водоемов, равна 50 мг/л. [45]. Мутагенной активностью хлороформ не обладает. Хлорорганические соединения способны аккумулироваться в донных отложениях, тканях гидробионтов и попадать в организм человека [166]. Влияние побочных продуктов хлорирования на водные экосистемы изучено недостаточно. Известно, что остаточный хлор угнетает популяции пресноводных двустворчатых моллюсков [45]. Их источником являются поверхностные воды, принимающие стоки, в то время как *in vitro* хлор не оказывал сколь-

нибудь значительного влияния на длиннопёрого солнечника, белого чукучана, канального сомика и радужной форели [95,116,128,136]. Ряд соединений хлора обладает выраженными антисептическими свойствами, значительно изменяя видовой состав микробиоценоза поверхностных водоемов [158]. Фотодинамическая инактивация микроорганизмов находит применение в качестве альтернативы антибиотикотерапии, при лечении злокачественных опухолей и стерилизации крови [87,104,154]. В ряде работ указывается ряд преимуществ данного метода по сравнению с традиционными методами антибактериальной терапии, например, эффективность фотодинамической терапии (ФДТ: не зависит от чувствительности микроорганизмов к антибиотикам, противомикробное действие ФДТ не снижается, не развивается устойчивость [87,104]. При этом ни одному из компонентов ФДТ - ни фотосенсибилизатору, ни световому облучению - по отдельности не свойственны бактерицидное действие или другие повреждающие эффекты [35].

Основой фотодинамического эффекта является образование активных форм кислорода (АФК) - синглетного кислорода и кислородцентрированных радикалов, которые окисляют жизненно важные биомолекулы, инактивируя таким образом микроорганизмы. Известно, что некоторые красители обладают тропностью к цитоплазматической мембране, внутриклеточным структурам и ДНК. Поэтому клетки быстро окрашиваются такими красителями и удерживают какое-то время. Раковые клетки и клетки бактерий проявляют способность захватывать и удерживать фотосенсибилизаторы [40,47,151]. Ряд бактерий, дрожжей, вирусов и простейших высоко чувствительны к фотосенсибилизирующему действию целого ряда красителей, поглощающих видимый свет [18,125]. Идеальный сенсибилизатор должен быть нетоксичным и проявлять локальную токсичность только после активации светом [38]. Среди фотосенсибилизаторов, которые обладают фотоцитотоксическим действием на грамположительные бактерии, выделяют порфирины и фталоцианины.

Грамотрицательные бактерии оказались резистентными к фотодинамическому воздействию большинства сенсibilизаторов [38]. Возможности данного метода привлекли внимание специалистов из сферы санитарной гигиены и эпидемиологии. В 2006 г. была предложена модель реактора для дезинфекции воды [78].

Фотосенсибилизирующие красители широко применяются в медицине и в фармакологии. Влияние на организм при длительном поступлении изучено недостаточно. В процессе фотохимических реакций происходит трансформация красителей, степень фотолиза которых и спектр образующихся продуктов зависит от длительности облучения [82,91,93]. Фотосенсибилизатор должен быть нетоксичным и проявлять локальную токсичность только после активации светом. В этой связи необходимо знать их физико-химические свойства.

Метиленовый голубой (N,N,N',N'-тетраметилтионина хлорид тригидрат, 3,7-бисдиметиламинофенотиоцианит хлорид, метиловая синь, метиленовый голубой) – относится к фенитиазиновым красителям, обладает сенсibilизирующим свойством и применяется в фотодинамической терапии [134,157]. Вещество представляет собой темно-синие кристаллы без запаха с формулой $C_{16}H_{18}ClN_3S$. Молекулярная масса 319,86 г/моль. Растворимость в воде 50 г/л при 20°C. Устойчив при комнатной температуре. При сильном нагревании разлагается ($t_{\text{плавл.}} = 100-110^\circ\text{C}$). Считается токсичным, однако комплексных исследований влияния на окружающую среду и на организм человека не проводилось [30]. Есть данные [51], что фотоактивация метиленового голубого приводит к образованию соединений, обладающих цитогенетической (индукция протрузий) и цитотоксической (индукция кариопикноза) активностью в клетках толстой кишки крыс. Необлученный краситель во всех изученных дозах (0,25, 0,05, 0,01 мг/кг) не выявил таких изменений в клетках толстой кишки.

Метиленовый голубой существует в виде мономеров и димеров. В водных растворах мономерная форма поглощает свет в $\lambda_{\text{max}} = 668$ нм, димер -

в $\lambda_{\max} = 612$ нм. Применяется в различных областях медицины, в том числе и в качестве антисептического средства. Механизм действия на микрофлору связывают с их фотохимическим преобразованием, переходом молекулы в возбужденное состояние и генерацией синглетного кислорода.

Метиленовый голубой связывается с двухцепочечной молекулой ДНК тремя способами: интеркаляционным, полуинтеркаляционным и электростатическим с фосфатным остовом ДНК. Способы связывания этого лиганда с ДНК зависят от молярного соотношения r ($r = [\text{лиганд}]/[\text{ДНК}]$). При повышении концентрации ДНК $r \geq 0,2$ связывание происходит за счет интеркаляции, что сопровождается явлением известным как тушение флуоресценции при 682 нм. При $r \leq 0,2$ проявляется преимущественно связывание полуинтеркаляционным способом, при котором молекулы метиленового голубого вклиниваются в пространство между двумя соседствующими основаниями одной из нитей ДНК [129,159]. Принцип работы антимикробной ФДТ основан на том, что молекулы метиленового голубого, имеющего положительный заряд, способны прикрепляться к оболочке бактерий. Облучение светом с длиной волны, соответствующей пику поглощения фотосенсибилизатора, приводит к образованию $^1\text{O}_2$, который разрушает стенки бактериальных и грибковых клеток, приводя к их гибели.

Профлавин ацетат (3,6-диаминоакридин ацетат) – относится к группе полициклических азотсодержащих красителей акридинового ряда с формулой $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_3 \cdot \text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2$. Молекулярная масса 268,25 г/моль, $t^\circ\text{C}_{\text{кип.}} = 506,9^\circ\text{C}$, воспламеняется при $292,9^\circ\text{C}$. При облучении разбавленного водного раствора профлавина ацетата в присутствии кислорода происходит фотопревращение через образование первичных фотопродуктов пероксидной природы [113,114].

Профлавин обладает высокой бактерицидностью особенно в отношении грамположительных бактерий. Причем это воздействие происходит как благодаря биохимическим, так и благодаря фотообеззараживающим свойствам. Профлавин *in vitro* ингибирует эффективность работы

бактериальной ДНК-полимеразы на 85%, а РНК-полимеразы - на 30% путем связывания с молекулами дезоксирибонуклеотидов (интеркаляция), а также в результате неупорядоченной адсорбции молекул 3,6-диаминоакридин на внешней стороне спирали ДНК [63,97,124]. Бактерицидность профлавина зависит от степени ионизации молекулы, поэтому ввод кислотных групп, например, ацетата, существенно усиливает воздействие на бактерии. Действуя как интеркалирующий агент, в культурах клеток млекопитающих и человека *in vitro* профлавин повышает частоту генных мутаций [89,112], хромосомных aberrаций [117], сестринских хроматидных обменов [155]. Однако в работе [50] не было выявлено цитогенетической активности профлавина ацетата и продуктов его фотодеструкции в исследованных дозах. Пороговая доза цитотоксического действия необлученного профлавина ацетата – 0,05 мг/кг. После фотодеструкции сенсibilизатор не вызывал цитотоксических эффектов. В основе фотообеззараживающего действия - фотодинамическая активность профлавина. Под действием света в присутствии кислорода происходит генерация синглетного кислорода и других его активных форм, окисляющих биомолекулы и вызывающие гибель микроорганизмов.

Фталоцианины являются макрогетероциклическими соединениями. В их основе-сопряженное кольцо тетрабензотетраазапорфирина, близкий аналог порфиринов. Для них характерно наличие высокоинтенсивного пика в области 670 нм. Высоко гидрофобна [64]. Фталоцианины находят применение в науке и технике вследствие сочетания уникальных оптических и электрохимических свойств в качестве красителей и пигментов, катализаторов, фотокатализаторов, лекарственных и диагностических средств. Кроме того, активно изучается их фотоиндуцированная противоопухолевая активность [37,70,164]. Фталоцианиновые комплексы отличаются от порфириновых высокой термо- и фотохимической стабильностью, а также наличием в электронных спектрах поглощения (ЭСП) узкой интенсивной Q-полосы и высокие значения коэффициента экстинкции ($\lg \epsilon \geq 5$) [37].

Фталоцианин цинка относится к группе катионных кватернизованных хлорметилзамещенных фталоцианинов с центральным атомом металла с формулой $C_{32}H_{16}N_8Zn$. Молекулярная масса 577,90304 г/моль. Присутствие атома цинка способствует появлению некоторых дополнительных характеристик: 1) высокий квантовый выход, 2) высокий выход синглетного кислорода, что значительно увеличивает фотоактивность [56,66,148]. Фталоцианины обладают высокой фотобактерицидной, фотовируцидной и фотофунгицидной активностью [100,105,120]. Фотоцитотоксическое действие данных фотосенсибилизаторов сходно с действием УФ-излучения – фталоцианины вступают в фотохимические реакции, в результате которых возникают одноцепочечные разрывы в молекуле ДНК. Данные реакции относятся к кислородзависимым реакциям II типа по классификации Foote [102]. В таких реакциях в триплетном возбужденном состоянии на первичных стадиях фотосенсибилизатор взаимодействует с молекулярным кислородом. Характерной чертой фотосенсибилизированного окисления II типа является также перенос энергии с ФС в триплетном состоянии на молекулярный кислород. Во взаимодействии с субстратом участвует возбужденный синглетный кислород, окисляя последний. Сенсибилизатор под действием света в присутствии кислорода генерирует синглетный кислород и другие его активные формы, которые окисляют биомолекулы и вызывают гибель клеток, в которых локализован фотосенсибилизатор.

Фталоцианины благодаря химической модификации перспективны в фотообеззараживании, т.к. меняя структуры боковых групп, можно в широких пределах менять гидрофобность и гидрофильность молекул, придавать им амфифильность, влиять на их способность к агрегации и добиваться желательной внутриклеточной локализации. О токсичных свойствах фталоцианинов, несмотря на их широкое использование в различных областях деятельности человека, известно мало. В работах [102,107] была выявлена фитоцидная активность фталоцианинов, особенно сильно выраженная у химически модифицированных вариантов, в отношении ряски малой

(*Lemnaminor*) – тест-организма для исследования водных проб на присутствие токсичных веществ [88]. Сильное экотоксичное воздействие показали фталоцианина алюминия и цинка. Выявлена токсичное воздействие их на цианобактерии [88,106]. Однако токсичность данного вида фотосенсибилизаторов в отношении водных позвоночных (например, рыб) не изучена, что ставит под вопрос их широкое использование в ближайшем будущем [39,106].

2.2. Особенности экологического восстановления иммунной защиты *Oreochromis niloticus* прополисом и микробиоценозом с сенсбилизаторами на фоне развития энтеробактерий и вирусов

Бактериальные сообщества являются важными компонентами экосистем водохранилищ. Для диагностики экологического воздействия микрозагрязнителей в водных путях многие микроорганизмы, такие как бактерии, грибы или микрофауна, полностью игнорируются нормативными актами, регулирующими качество водоемов. Однако все эти микроорганизмы играют важную экологическую роль в водных экосистемах. За последнее десятилетие различные микробные индикаторы продемонстрировали свой потенциал для диагностики токсического загрязнения и его последствий.

На химическое качество водной среды могут влиять так называемые нетоксичные вещества или макрозагрязнители (органические вещества, фосфаты, нитраты...) и токсичные вещества или микрозагрязнители (пестициды, металлы, фармацевтические вещества...). Мониторинг химического качества водных путей обычно основывается на программах мониторинга, которые предусматривают анализ широкого спектра веществ на основе выборочных выборок.

Чтобы более конкретно соответствовать Европейской рамочной директиве по воде (DCE), концентрации, измеренные для 41 микрозагрязнителя, которые считаются приоритетными или опасными в

соответствии с ней, сопоставляются со стандартами качества окружающей среды (NQE), определенными директивой ЕС. Эти программы мониторинга необходимы для составления карт загрязнения и содействия оценке связанного с этим экотоксикологического риска. Однако они по-прежнему недостаточны для реального понимания воздействия этого загрязнения на водные организмы в целом и его последствий для экологического функционирования водных путей, в частности, из-за ограниченных возможностей и методологических отклонений в сообществах бентосных микробов для диагностики экологического воздействия микрозагрязнителей в водных путях. многих микроорганизмов, таких как бактерии, бактерии и бактерии. что бактерии, грибки или микрофауна полностью игнорируются правилами, регулирующими качество водоемов. Однако все эти микроорганизмы играют важную экологическую роль в водных экосистемах.

За последнее десятилетие различные микробные индикаторы продемонстрировали свой потенциал для диагностики токсического загрязнения и его последствий. После описания этих диагностических инструментов и ознакомления с их эксплуатационной перспективой в этой статье рассматриваются тормоза, использование которых на сегодняшний день ограничено. привязки к точечной выборке и учета ограниченного числа микрозагрязнителей для оценки химического состояния на основе NQE (с учетом сложности смесей микрозагрязнителей, присутствующих в реках).

Среди водных микробов бактерии играют особенно важную роль.

Существуют два основных компонента:

те, которые несут ДНК

те, которые производят энергию: бактерии или митохондрии улавливают питательные вещества из внешней среды или цитоплазмы; цианобактерии или хлоропласты улавливают световое излучение (в основном ультрафиолетовое).

Как и все живые клетки, бактериальная клетка содержит дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК), которая является носителем

генетической информации: это основной строительный блок генов, выстроенных в нити, называемые хромосомами. Однако есть одно существенное отличие от других живых существ:

у всех растений и животных клетки состоят из нескольких хромосом, соединенных попарно (например, 46 у человека или 23 пары); они сгруппированы в индивидуализированное ядро, отделенное от цитоплазмы ядерной мембраной; такие организмы называются эукариотами;

с другой стороны, у бактерий большая часть генетического материала образует единую хромосому («бактериальную хромосому»), два конца которой соединяются («кольцевая ДНК») и которая оголена, и никакая мембрана не изолирует ее от цитоплазмы; бактерии считаются прокариотами, по своему характеру они не выделяются из цитоплазмы. Они разделяют это с цианобактериями (ранее называвшимися «синими водорослями»), которые осуществляют фотосинтез.

У бактерий кольцевая ДНК также обнаруживается на небольших независимых структурах хромосомы, плаزمиды, которые несут, в частности, гены устойчивости к антибиотикам.

ДНК управляет размножением, сохраняет генетическое наследие клетки в закодированной форме и управляет с помощью РНК (рибонуклеиновой кислоты) синтезом белков (и особенно ферментов), который происходит в цитоплазме, на уровне рибосом.

Клетка окружена жесткой мембраной, которая придает бактериям их форму. У подвижных видов существуют реснички или жгутики.

Скорость их размножения зависит от скорости переноса питательных веществ через цитоплазматическую мембрану. Таким образом, эта скорость будет зависеть:

от концентрации питательных веществ в среде;

от температуры (от которой зависит скорость диффузии субстрата);

из соотношения [площадь поверхности к объему]; однако, учитывая их небольшой размер (от 0,4 до нескольких мкм), бактерии являются наиболее

крупными из всех организмов; это объясняет, что в очень благоприятных случаях можно было наблюдать деление клеток каждые 15 в 30 минутах езды.

Бактерии живут только в средах, отвечающих определенным характеристикам: содержанию воды, рН, солености, окислительно-восстановительному потенциалу, температуре. Благоприятный окислительно-восстановительный потенциал весьма различен в зависимости от того, работают ли бактерии в аэробнозе или в анаэробе. Эти условия находятся в тесной связи с составом ферментативной смеси, секретлируемой бактериями. Значительные различия в характеристиках среды могут привести к отбору видов.

Бактерии, в зависимости от оптимальной температуры для их ферментов, можно разделить на термофильные (температура выше 50 ° C), мезофильные (температура около 30 ° C), психрофильные (от 0 до 15 ° C.) и криофильные (от – 5 до 0 ° C).,

Некоторые виды бактерий могут проявлять особую форму в результате споруляции: споры, которые они порождают, представляют собой замедленно живущие клетки такого строения, что они гораздо лучше переносят жару, например, засуху. Когда условия возвращаются в нормальное русло, споры прорастают и снова превращаются в активные бактерии.

В поддержании экологического баланса пресноводных экосистем важную роль играют тилапии, и их часто используют для борьбы с водорослями и личинками комаров во многих водных средах. Поскольку рыбы-тилапии могут переносить высокую соленость, высокую температуру воды и низкое содержание растворенного кислорода, их можно легко выращивать до высокой плотности. Действительно, аквакультура тилапии, в основном нильской тилапии (*Oreochromis niloticus*), в последнее время стала одной из самых быстрорастущих отраслей аквакультуры и вторым по культивируемости видом после карпов, мировое производство которого оценивается примерно в 6,3 миллиона метрических тонн в 2018 году, а

мировой рынок, как ожидается, достигнет 9,2 миллиарда долларов США к 2027 году.

Сложная бактериальная популяция может адаптироваться путем отбора и мутаций к медленным изменениям состава субстрата, которым она питается. Известно, что в иммунной системе рыб неспецифический иммунитет занимает большую долю у рыб, чем специфический иммунитет, по сравнению с высшими позвоночными. Вследствие этого, в течение последних нескольких лет повышалось внимание к иммуностимуляторам для борьбы с болезнями рыб. Были проведены разные исследования, в которых сообщалось о дезинфицирующем действии прополиса.

Целью исследований являлась демонстрация потенциала добавления прополиса (PR) в рацион нильской тилапии (*Oreochromis niloticus*) для смягчения вредного воздействия на показатели роста, окислительно-восстановительный статус и иммунологический ответ.

Отметим, что прополис — это смолистое вещество, собираемое пчелами *Apis mellifera* из различных растительных источников и смешиваемое с выделяемым пчелиным воском, является многофункциональным материалом, используемым пчелами при строительстве, обслуживании и защите своих ульев.

Включение прополиса в рацион рыб улучшает ($p < 0,05$) потребление корма, показатели роста, активность антиоксидантных ферментов и иммунологические параметры. Более того, обработка PR уменьшила снижение массы рыбы, удельной скорости роста, эффективности кормления, активности антиоксидантных ферментов, пролиферации лимфоцитов и активности фагоцитоза, а также снизила повышенную смертность, соотношение H / L и уровни малонового диальдегида при холодовом стрессе. Минимальную концентрацию ингибирования (MIC) прополисно-этанольного экстракта против *Aeromonas hydrophila*, которая составляет 80 мкг прополисно-этанольного экстракта и неочищенного прополиса (1%), добавляют к искусственному основному рациону с (30% сырого протеина), для того, чтобы

оценить их эффективность в отношении показателей роста рыбы, иммуностимуляции и устойчивости к *A. Hydrophila*. При проведении экспериментов, было обнаружено, что прополисэтанольный экстракт усиливает рост, иммунитет и резистентность *O. niloticus* к *A. hydrophila* в большей степени, чем неочищенный прополис.

Включение прополиса в количестве 10 г / кг в рацион нильской тилапии может быть одобрено в качестве диетического подхода для повышения их продуктивности, и при стрессе в условиях низких температур.

Отметим, что бисфенол-А (ВРА) является одним из важных загрязнителей водных экосистем, и его пагубное воздействие на рыбу вызывает большую озабоченность. Прополис является природным иммуностимулятором, обладающим различной биологической и фармакологической активностью, и обладает способностью ослаблять токсическое действие бисфенола А на нильскую тилапию, *Oreochromis niloticus* (L.). Добавки прополиса значительно улучшают рост рыбы и потребление корма, которые были значительно замедлены воздействием ВРА. Кроме того, значительно снижаются общий белок, альбумин, глобулин и ацетилхолинэстераза (AChE). Таким образом, введение прополиса улучшает рост рыбы и снижает токсичность, вызванную ВРА.

Были проведены исследования по действию спиртового экстракта прополиса в рационе после выведения личинок нильской тилапии и его влияние на производственные показатели, состав тела и гистологию кишечника

Постличинок и сеголетков нильской тилапии, кормили с повышенным содержанием спиртового экстракта прополиса в рационе. Включение экстракта прополиса в количестве 1 г / кг в рацион после выведения личинок нильской тилапии и сеголетков привело к улучшению состояния организма и увеличению отложения белка в организме ($p < 0,05$). Фактор состояния - это оценка будущего роста животных, рыба, обработанная экстрактом прополиса, демонстрирует лучший рост, выживаемость и больший репродуктивный

потенциал. Результаты этих исследований демонстрируют, что спиртовой экстракт прополиса улучшает состояние питания личинок нильской тилапии и сеголетков, потенциально приводя к повышению продуктивности на последующих стадиях, а также к улучшению отложения мышечной массы у сеголетков.

Стоит сказать, что поиск и разработка новых методов обеззараживания воды на современном этапе является одной из актуальнейших проблем, т.к. используемые в настоящее время методы водоподготовки имеют ряд недостатков, оказывающих неблагоприятное воздействие, как на человека, так и экологию окружающей среды.

Вследствие этого на первом и втором этапах изучалось фотодинамическое воздействие трёх сенсibilизаторов в следующих концентрациях: метиленового голубого – 1,0 и 2,0 мг/л; профлавин ацетата – 0,5 и 1,0 мг/л и октасис фталоцианин цинка октахлорид – 1,0 и 4,0 мг/л. При изучении метиленового голубого в концентрациях 1,0 и 2,0 мг/л был установлен высокий фотообеззараживающий эффект как в отношении колифага, так и в отношении полиовируса. После контакта вирусов с сенсibilизатором при концентрации 1 мг/л в течение 1 часа в темноте и последующего освечивания водоема в течение 30 минут наблюдалась 100% инактивация колифага.

Полиовирус в этих условиях инактивировался более чем на 3 порядка (99,923%), что свидетельствовало о присутствии в водоеме лишь единичных вирионов. Повышение концентрации метиленового голубого до 2,0 мг/л приводило к 100% инаktivации колифага и полиовируса. При этом метиленовый голубой без освечивания водоемов не оказывал значимого вирулицидного эффекта в отношении обоих вирусов. Учитывая сильный фотообеззараживающий эффект метиленового голубого в концентрациях 1,0 и 2,0 мг/л, в следующей серии исследований на модели колифага изучалась меньшая концентрация этого сенсibilизатора – 0,5 мг/л при времени освечивания водоема в течение 15 минут. В этих условиях также наблюдался

100% фотообеззараживающий эффект, что не позволило установить минимальную действующую концентрацию метиленового голубого в отношении колифага. Что касается полиовируса, то для уточнения минимально действующей концентрации 55 возможно проведение исследований с концентрацией метиленового голубого –1,5 мг/л. Сенсibilизатор профлавин ацетат изучался в двух концентрациях: 0,5 и 1,0 мг/л. При обеих концентрациях наблюдался высокий фотообеззараживающий эффект в отношении колифага (99,9999%) после освечивания водоема в течение 30 минут. В этих же условиях фотообеззараживающий эффект профлавин ацетата в отношении полиовируса был незначительным. При обеих концентрациях (0,5 и 1,0 мг/л) инактивация полиовируса после освечивания водоема составляла соответственно: 90 и 97,25%. Учитывая полученные результаты, были проведены исследования с более высокими концентрациями профлавин ацетата (1,5 и 2,0 мг/л) и увеличенным временем освечивания водоема до 60 минут. Так при концентрации 1,5 мг/л и времени освечивания водоема в течение 30 минут полиовирус инактивировался на 98,44%, а при увеличении времени освечивания до 60 минут его инактивация повышалась до 99,98%. Фактически в водоеме оставались лишь единичные вирусные частицы. Увеличение концентрации профлавин ацетата до 2 мг/л при времени освечивания 30 минут приводило к инаktivации колифага на 99,99914%, а увеличение времени освечивания до 60 минут не сопровождалось статистически достоверным дальнейшим снижением концентрации колифага.

Процент инаktivации колифага в этих условиях составлял 99,99982%. Полученные данные свидетельствуют о необходимости изучения более высоких концентраций профлавин ацетата с целью установления минимально действующих в отношении колифагов и полиовирусов.

Высоким фотообеззараживающим эффектом как в отношении колифага, так и полиовируса обладал сенсibilизатор . В обеих испытанных концентрациях (1,0 и 4,0 мг/л) при освечивании водоема в течение 30 минут наблюдалась 100% инаktivация колифага. Полиовирус в этих условиях

инактивировался на 100% при концентрации 4 мг/л и на 99,908% - при концентрации 1 мг/л. Надо отметить, что данный сенсibilизатор и без освечивания водоема обладал довольно высоким вирулицидным эффектом в отношении вирусов. Так при контакте сенсibilизатора с колифагом в темноте в течение 1 часа последний инактивировался на 100% при концентрации 4 мг/л и на 99,99999% при концентрации 1 мг/л. Полиовирус в этих условиях инактивировался на 99,99 при концентрации 4 мг/л и на 82,5% при концентрации 1 мг/л. Для установления минимально действующей концентрации были проведены исследования с более низкими концентрациями данного сенсibilизатора (0,5; 1,0 и 1,5 мг/л) и различном времени освечивания искусственного водоема. Было установлено, что в концентрации 0,5 мг/л и времени освечивания водоема 60 минут вызывал 100% инактивацию колифага. Полиовирус оказался несколько устойчивее. При концентрации цинка 1 мг/л и времени освечивания водоема 60 минут и при концентрации 1,5 мг/л и времени освечивания 30 минут полиовирус инактивировался в одинаковой степени – на 99,98%. Увеличение времени освечивания до 60 минут (при концентрации 1,5 мг/л) приводило к 100% инактивации полиовируса.

Таким образом, наибольшим фотообеззараживающим эффектом в отношении вирусов обладали метиленовый голубой и в испытанных концентрациях. Фотообеззараживающий эффект профлавин ацетата был высоким в отношении колифага, хотя полной его инактивации не наблюдалось, и значительно ниже в отношении полиовируса. Полученные данные показали, что полиовирус оказался более устойчивым к различным концентрациям испытанных сенсibilизаторов по сравнению с колифагом, что, возможно, связано с различным строением вирионов. Вероятно, при внедрении действующих концентраций в отношении вирусного загрязнения воды целесообразно в первую очередь учитывать данные, полученные на модели полиовируса, так как он наиболее близок к патогенным вирусам, чем колифаг. Проведенные экспериментальные исследования позволили

установить действующие дозы изученных сенсibilизаторов в отношении полиовирусов:

- 1,5 мг/л (время освечивания 60 минут);
- метиленовый голубой – 2 мг/л (время освечивания 30 минут).

Однако эта концентрация может быть уточнена после проведения исследований с концентрацией 1,5 мг/л и изменением времени освечивания водоемов.

Профлавин ацетат в изученных концентрациях (0,5, 1,0, 1,5 и 2,0 мг/л) не обладал 100% фотообеззараживающим эффектом в отношении колифага и полиовируса даже при увеличении времени освечивания.

2.3 Материалы и методы исследований

Объектами исследования служили представители фотосенсибилизирующих красителей – метиленовый голубой, фталоцианин цинка и профлавин ацетат. Были проведены эксперименты с созданием модельных водоемов объемом на 100 л по изучению влияния фотосенсибилизаторов на санитарно-показательные микроорганизмы (вирусы – колифаг MS2, полиовирус 1 типа; бактерии *E. coli*, *S. aureus* и *Ent. faecalis*) при различных физико-химических параметрах среды, а также в отношении гидробионтов.

При имитировании вирусного загрязнения, использовали стерильную дехлорированную водопроводную воду с рН воды на уровне 5,0-6,0; 7,0-7,6; 8,5-9,0, в которую вносили колифаг MS2 в концентрациях 10^4 , 10^6 , 10^7 БОЕ/мл. При моделировании поведения санитарно-показательных колиформных бактерий, добавляли суточную культуру *E. coli*, исходное заражение составляло 10^6 КОЕ/100 мл. Схема исследований представлена на рисунке 1. Органическое загрязнение поверхностных водоемов моделировали добавлением пептона ферментативного (ГОСТ 13805-76), создавая *in vitro* три

уровня органического загрязнения: 1. 2,56 мгО₂/л по перманганатной окисляемости, определен в исходной автоклавированной водопроводной воде, освобожденной от хлора и микроорганизмов. Он характерен для водопроводной воды централизованного водоснабжения; 2. 6,56 мгО₂/л - путем добавления в исходную водопроводную воду (первого уровня) пептона до концентрации, нормируемой для первого класса поверхностного источника. Характеризует поверхностный водоем как чистый. При организации очистки и обеззараживания не требуется особых методов водоподготовки; 3. 22 мгО₂/л создан в воде модельного водоема путем добавления пептона до концентрации, нормируемой для 3 класса поверхностного водоисточника и характеризует высокую степень органического загрязнения воды водоемов, имеющую место в экстремальных условиях, а также в местах выпуска сточных вод.

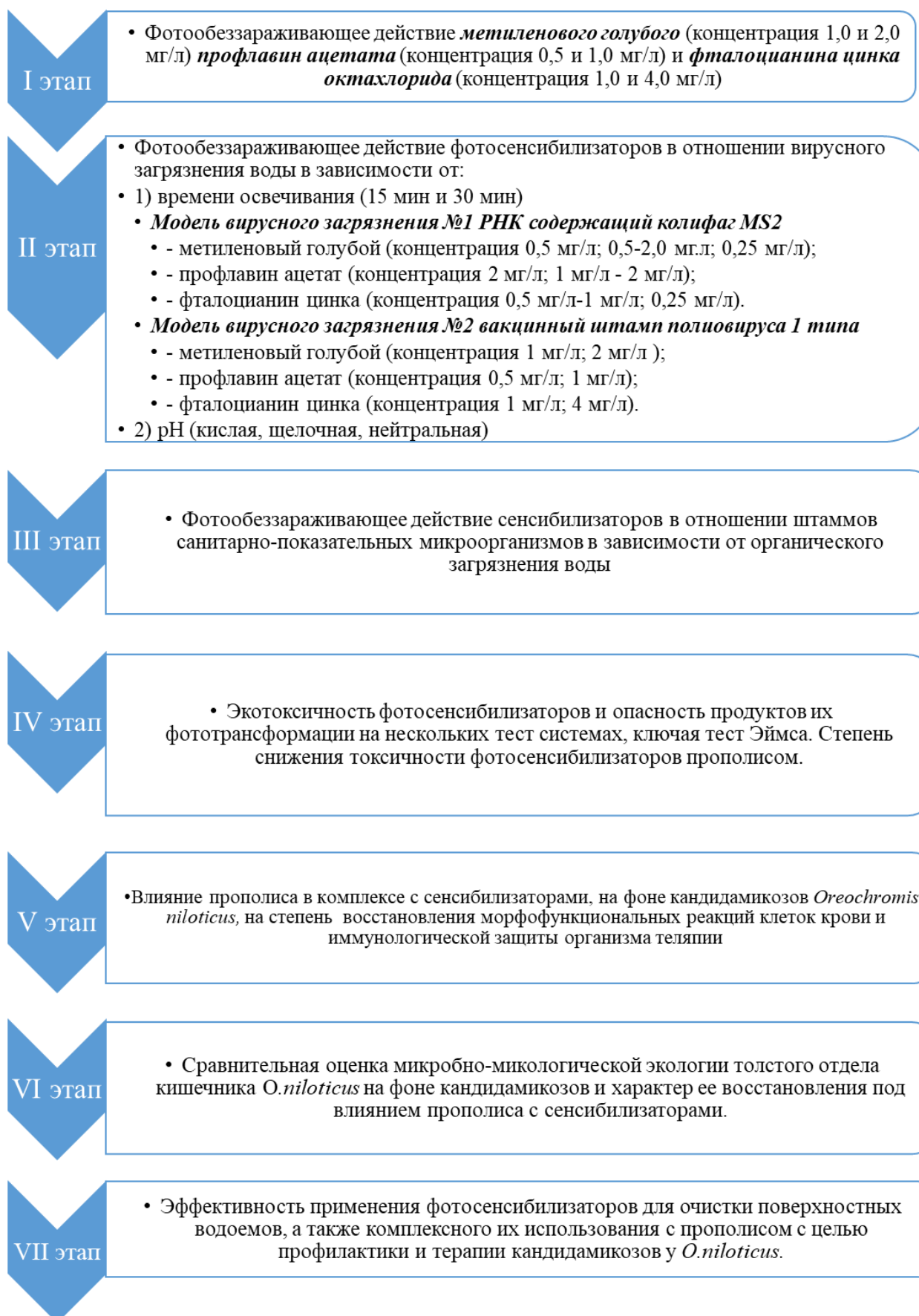


Рис. 1. Общая схема исследований

В качестве контрольного образца использовали искусственный водоем с нативной водопроводной водой.

Химические соединения, использованные в работе

Фотосенсибилизаторы:

- - октакис N-(2-гидроксиэтил)-N, N – диметиламмонийметил фталоцианин цинка октахлорид в концентрациях 0,15 мг/л, 0,25 мг/л и 0,5 мг/л;
- - метиленовый голубой в концентрациях 0,25 мг/л, 0,5 мг/л и 1,0 мг/л;
- - профлавин ацетата 0,5 мг/л, 0,7 мг/л, 1,0 мг/л и 2,0 мг/л.

Фотосенсибилизаторы готовили на основе смеси глицерина, этанола и воды (в соотношении 25:25:50 – для метиленового синего) или дистиллированной воды.

При постановке экспериментов использовали излучение в видимом синем (405 нм; 23, 5 – 80 мВт/см²), красном (625, 660 нм; 33, 40 мВт/см²) и инфракрасном (805, 810 нм; 50, 45 мВт/см²) диапазонах, генерируемое световыми и лазерными диодами.

Использованные микроорганизмы. Для модели вирусного загрязнения был использован колифаг MS2 (штамм ВКПМ РН 1505), полученный из Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов ГУ НИИ Генетика. Для выделения колифага из исследуемых проб в качестве лизабельной культуры использовали штамм кишечной палочки ВКПМ В-3254 *E. coli* К-12 KS 507, который был получен из Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов ГУ НИИ Генетика.

В качестве модели энтеровирусов использовали вакцинный штамм полиовируса 1 типа, который был получен из ГУ НИИ полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАМН. Определение количества полиовируса в отобранных пробах проводили путем титрования на культурах клеток BGM и RD по ТЦД (токсическое цитопатическое действие) в соответствии с рекомендациями, изложенными в документах: МУК 4.2.2029 - 05 «Методические указания по санитарно-вирусологическому контролю

водных объектов окружающей среды» и МУК 4.3.2030-05 «Санитарно-вирусологический контроль эффективности обеззараживания питьевых и сточных вод УФ-облучением». На каждое вещество было проведено три серии исследований. Учет результатов и расчет процента инаktivации проводили по среднему показателю от трех серий.

Для изучения фотообеззараживающего действия сенсibilизаторов использовали штамм музейной культуры *E. coli* 1257, рекомендованный в документах Министерства здравоохранения РФ в качестве индикаторного микроорганизма при оценке дезинфицирующих агентов.

Для изучения изменения интенсивности свечения бактерий под воздействием фотосенсibilизаторов использовали лиофилизированные культуры люминесцентных бактерий «Эколюм» (ТУ 6-09-20-236-93).

Для оценки суммарной мутагенной активности в тесте Эймса использовали штамм *S. typhimurium* TA 98, генотип hisD3052 rfa pKM 101, полученный из Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ) ФГУП ГосНИИГЕНЕТИКА, г. Москва.

Использованные реактивы и питательные среды. В исследованиях использовали питательные среды и реактивы: питательная среда для выделения энтеробактерий сухая (агар Эндо) - ФГУП НПО «Микроген» МЗ РФ; агар микробиологический - ГОСТ 17206-84; питательный бульон для культивирования микроорганизмов сухой - ФГУП НПО «Микроген» МЗ РФ; питательный агар для выделения микроорганизмов сухой - ФГУП НПО «Микроген» МЗ РФ; триптонный агар с желчью и X-глюкуронидом для определения *E. coli* – Merck, Германия; хромогенный агар для определения колиформ и *E. coli* в воде и напитках – Merck, Германия; лактозный агар с Тергитолом®-7и трифенилтетразолиум хлоридом (ТТХ) – Merck, Германия; питательная среда для идентификации энтеробактерий сухая (среда Гисса с лактозой) - ФГУП «НПО «Микроген» МЗ РФ; питательная среда для идентификации энтеробактерий сухая (среда Гисса с глюкозой) - ФГУП «НПО «Микроген» МЗ РФ; питательная среда для выделения энтерококков

сухая (энтерококкагар) - ФГУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии; питательная среда для выделения стафилококков сухая (элективный солевой агар) - ФГУП «НПО «Микроген» МЗ РФ; питательная среда для выделения сальмонелл сухая (висмут-сульфит агар) - ФГУП «НПО «Микроген» МЗ РФ; железо-сульфитная среда вязкая (ЖСС-1) - «Биокомпас», г. Углич; железо-сульфитная среда плотная (ЖСС-2) - «Биокомпас», г. Углич; реактив Ковача – *Merck*, Германия; среда Эшби: маннит – 20,0 г/л; K_2HPO_4 – 0,2 г/л; $MgSO_4$ – 0,2 г/л; $NaCl$ – 0,2 г/л; K_2SO_4 – 0,1 г/л; $CaCO_3$ – 5,0 г/л; агар – 20 г/л; вода дистиллированная; 2,3,5, - трифенилтетразолиумхлорид (ТТХ) – *Merck*, Германия; набор «ЭНТЕРОтест 24» для биохимической идентификации микроорганизмов семейства энтеробактерий – ЗАО «Лахема Интернейшнл», Чехия; L-триптофан; п-диметиламинобензальдегид; K, K', K'-тетраметил-п-фенилендиамин гидрохлорид - *Acros organics*, Бельгия; N,N-диметил-п-фенилендиамин дигидрохлорид - ТУ 6-09-1903-77; а-нафтол - ГОСТ 5838-79; натрий сенистокислый (сульфит натрия) - ГОСТ 903-76; глюкоза - ГОСТ 6038-79; лактоза - ГОСТ 6038-74; кислота борная - Германия; пептон соевый - Франция; триптон - Германия; натрий хлористый - ГОСТ 4233-77; пептон ферментативный - Италия; железо сернокислое закисное 7-водное - ГОСТ 4148-78; сперма быка, замороженная в жидком азоте - ГОСТ 26030-83; фильтры мембранные дисковые, нитрат целлюлозы, диаметр пор 37 мм - ЗАО «Владисарт»; фильтры мембранные дисковые, ацетат целлюлозы, диаметр пор 37 мм - ЗАО «Владисарт»; фильтры мембранные дисковые, смесь ацетатов целлюлозы, диаметр пор 37 мм - ЗАО НТЦ «Владипор».

Метод определения колифагов. Определение колифага в контрольном и в опытных водоемах проводили методом прямого посева в соответствии с документами: МУК 4.2.1018-01 «Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды» и МУК 4.2.1884-04 «Санитарно-микробиологический и санитарно-паразитологический анализ воды поверхностных водных объектов». В питательный агар двойной концентрации, расплавленный и

остуженный до 45 - 49°C, добавляли смыв тест-культуры *E. coli* К-12 KS 507 из расчета 2,0 мл смыва на каждые 100 мл агара, затем перемешивали. Исследуемые образцы воды (общим объемом - 100 мл) разливали по 20 мл в большие пробирки, нагревали до 35 - 44°C и немедленно (не более чем через 5 мин по достижении требуемой температуры) разливали в 5 чашек Петри и сразу же вносили в каждую чашку по 20 мл смеси агара с культурой *E. coli*.

Для контроля культуры *E. coli* в одну чашку Петри вносили 20 мл стерильной воды, прогретой до 35 - 44°C, заливали 20 мл приготовленного агара с *E. coli* и перемешивали. Содержимое чашек оставляли при комнатной температуре до застывания. Чашки с застывшим агаром помещали дном вверх в термостат и инкубировали при температуре $37,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$ в течение $18,0 \pm 2,0$ ч.

Просмотр посевов осуществляли в проходящем свете. Учет результатов проводили путем подсчета и суммирования бляшек, выросших на 5 чашках Петри. Результаты выражали в бляшкообразующих единицах (БОЕ) на 100 мл пробы воды.

Тест на свечение бактерий. Определение общей токсичности по интенсивности биолюминесценции бактерий проводили согласно методическим рекомендациям МР 11-1/134-09. Данная методика основана на определении изменения интенсивности биолюминесценции генно-инженерного штамма бактерий при воздействии токсических веществ, присутствующих в анализируемой пробе, по сравнению с контролем. Критерием токсического действия является изменение интенсивности биолюминесценции тест-объекта в исследуемой пробе по сравнению с контролем. Формула вычисления индекса токсичности (Т) следующая:

$$T = 100 (I_0 - I) / I_0$$
, где I_0 и I - соответственно интенсивность свечения контроля и опыта при фиксированном времени экспозиции исследуемого раствора с тест-объектом.

Интенсивность биолюминесценции регистрировали прибором «Биотокс-6» (ТУ 446-У-028-00-ОТУ). В качестве тест-объекта использовали

лиофилизированные культуры люминесцентных бактерий «Эколюм» (ТУ 6-09-20-236-93).

Выполнение биотестирования на изменение генеративной функции инфузорий Tetrahymena pyriformis. Для биотестирования токсичности сточных вод, кормов, биологической оценки пищевых продуктов в качестве тест-объекта использовали инфузорию *Tetrahymena pyriformis*. Преимущество метода биотестирования на инфузориях *Tetrahymena pyriformis* связано с особенностями тест-объекта: инфузории проявляют высокую чувствительность к широкому кругу токсикантов, имеют относительно короткий цикл развития, объединяют признаки отдельной клетки и целого организма; имеют сходство с животными по кислотнo-щелoчному типу пищеварения, аналогичным ферментным системам, хорошо развитым митохондриям и характеризуются универсальным кодом нуклеиновых кислот, сходным с кодом у высших животных. Практика свидетельствует о высокой корреляции показателей токсичности, полученных в экспериментах на белых крысах и *Tetrahymena pyriformis*.

Критерии токсичности: гибель клеток, изменение численности в культуре, коэффициент деления клеток, средняя скорость роста, суточный прирост культуры; характер и скорость движения инфузории, изменение формы клетки. В основе методики: наблюдение за размножением тетрахимен в исследуемых образцах и в контроле (дехлорированная водопроводная вода). В пробы фотосенсибилизаторов объемом 5 мл помещали по 0,05 мл культуры тетрахимен с исходной концентрацией 100-200 кл./мл. В течение первых 6 часов наблюдали, в основном, за выживаемостью инфузорий (острый опыт), в течение остального времени за приростом количества инфузорий.

Биотестирование сенсibilизаторов с помощью Daphnia magna Straus. Ветвистоусый рачок *Daphnia magna Straus*, обитающий в стоячих и слабопроточных водоемах, является представителем пресноводного зоопланктона. Высокая чувствительность рачков к токсическим веществам, широкое распространение, короткий жизненный цикл, относительная

простота культивирования явились определяющими характеристиками при выборе *Daphnia magna Straus* в качестве тест-организма. Методика основана на определении смертности дафний при воздействии токсических веществ, присутствующих в исследуемой пробе, по сравнению с контролем. Культуру дафний выращивали в термостатируемом при 18-22°C климатостате (освещенность 400-600 люкс, продолжительность светового дня 12-14 часов). Опыты по биотестированию также проводили в климатостате. Для культивирования дафний использовали «биологизированную» аквариумную воду со следующими параметрами: рН 7-8 (граничные значения рН от 6 до 9), жесткость общая 3-4 мг-экв/л, соотношение Са/Мг 4:1, концентрация растворенного кислорода не менее 6-7 мг/л (граничное значение 2 мг/л). Культуру дафний содержали в стеклянных емкостях объемом 1-5 литров, оптимальная плотность взрослых рачков 100-150 особей на 1 л. Биотестирование проводилось с соблюдением требований к температуре, продолжительности светового дня и качеству культивационной воды. Учет смертности дафний проводили через 1, 24, 48, 72 и 96 часов. Исследования проводились в начале и в конце экспериментов.

Биотестирование на сперматозоидах быка. В данной методике в качестве тест-объекта используется кратковременная суспензионная культура сперматозоидов быка - КСБ. Преимуществом КСБ по сравнению с другими клеточными культурами является то, что она не требует для своего сохранения и использования стерильных условий и специальных технологий поддержания, что резко снижает трудоемкость и стоимость испытаний. Метод позволяет оценить суммарный эффект от воздействия на культуру всей совокупности токсикантов, присутствующих в отходе, включая неидентифицированные компоненты, по биологическому действию его экстракта на тест-объект. В основе метода лежит исследование изменения зависимости двигательной активности сперматозоидов от времени под воздействием химических соединений, содержащихся в анализируемой пробе.

Вычисление индексов токсичности (It) выполняется автоматическим

анализатором изображений АТ-05. Чем меньше значение I_t , тем сильнее оказывает испытуемый раствор угнетающее действие на суспензию сперматозоидов. Испытуемый результат считается нетоксичным для целостного организма млекопитающих, то есть не оказывающим общетоксического действия при однократном введении, если значение I_t находится в интервале от 70 до 120 %. В случае получения значений индекса токсичности меньше 70 % и больше 120 % образец признаётся токсичным, то есть оказывающим общетоксическое действие на целостный организм млекопитающего при однократном введении.

Методика оценки суммарной мутагенной активности в бактериальном тесте Эймса Salmonella/микросомы. Тест на индукцию мутаций у *Salmonella typhimurium* является бактериальной тест-системой для учета обратных мутаций от ауксотрофности по гистидину к прототрофности при действии химических соединений и/или их метаболитов, индуцирующих мутации типа замены пар оснований или сдвига рамки считывания в геноме этого организма.

Для определения наличия промутагенных соединений, мутагенная активность которых связана с активностью их метаболитов, используется система метаболической активации *in vitro*. Если в тестируемом образце содержатся мутагенные или промутагенные химические соединения, то они будут индуцировать обратные мутации от ауксотрофности к прототрофности по гистидину у гистидин-зависимых штаммов *Salmonella typhimurium*.

Питательные среды и растворы готовили в соответствии с общепринятыми методиками. Приготовление бактериальной суспензии: 5 мл ночной культуры *S.typhimurium* вносили в 100 мл мясо-пептонного бульона (МПБ) и подращивали до плотности $2-3 \times 10^8$ клеток/мл при 37°C с подкачиванием. Культуру центрифугировали при 4000 об/мин 15 минут, осадок ресуспендировали в 30-40 мл 0,02М фосфатного буфера (для этого 0,2М буфер разводили водой 1:10), повторно центрифугировали в этом же режиме и ресуспендировали в том же буфере до плотности 10^9 клеток/мл.

Приготовление микросомальной активирующей смеси. На 10 мл активирующей смеси брали 5 мл 0,2М фосфатного буфера, 1 мл раствора KCl и MgCl₂, 1 мл 50 мМ раствора глюкозо-6-фосфата, 1 мл 40 мМ раствора НАДФ, 3 мл фракции S-9 печени крыс.

Проведение эксперимента. Растворы исследуемых образцов готовили в стерильной дистиллированной воде или диметилсульфоксиде (ДМСО) в стандартных концентрациях 0,1; 1,0; 10,0; 100,0; 1000,0 мкг/мл. Во всех случаях растворы препаратов готовили с таким расчетом, чтобы при внесении в смесь 0,1 мл раствора доза соответствовала бы необходимой по условиям опыта.

Селективный полубогащенный агар (0,6%) в пробирках плавил в водяной бане при температуре 100° С и помещали в термостатируемую водяную баню с температурой 45-46°С. Вначале в пробирки с агаром вносили 0,1 мл раствора тестируемого образца в необходимых дозах (0,1 мл раствора стандартного мутагена в необходимых концентрациях или 0,1 мл стерильного растворителя ДМСО), затем – 0,1 мл суспензии бактерий. В качестве стандартных мутагенов использовали этидиум бромид и ДИАМ. После этого вносили 0,5 мл микросомальной активирующей смеси. Все добавки делали вне бани, затем содержимое пробирки быстро перемешивали и выливали на слой нижнего минимального агара на чашки Петри. Продолжительность времени внесения микросомальной активирующей смеси и разлива полужидкого агара на чашки не превышала 10-15 секунд. Чашки оставляли при комнатной температуре на 30-40 мин. И после полного застывания агара переносили в термостат на 37°С. Учет результатов проводили через 48-72 часа.

Параллельно в опыт включали варианты с активирующей смесью и без нее. В состав первой входят: суспензия бактерий, исследуемый препарат, фракция S-9 печени крыс и кофакторы. В вариантах без активации в пробирки с полужидким агаром вносили соответствующий объем стерильной воды.

Эксперимент сопровождали позитивными контролями. В качестве позитивных контролей использовали бенз[а]пирен, индуцирующий мутации у

штамма TA98 при наличии или отсутствии условий активации. Для вариантов без активации использовали 2-нитрофлуорен. Активность фракции S-9 контролировали, используя параллельно в вариантах с активацией и без нее бенз[а]пирен или 2-аминоантрацен, соответственно.

В каждом контрольном и опытном вариантах использовали по 3 чашки. Эксперимент повторяли дважды. Результаты учитывали при наличии мутагенного эффекта во всех вариантах позитивного контроля.

Статистическая обработка результатов. Данные, полученные в результате исследований, обработаны с использованием программного обеспечения Microsoft Windows 7, пакета программ статистических расчетов Excel 2010 для Windows 7 и пакета статистических программ Statistica 10 for Windows.

Опыты по исследованию влияния прополиса в комплексе с сенсibilизаторами на морфологические изменения крови, естественные иммунные механизмы и микробиоценоз содержимого толстого отдела кишечника *Oreochromis niloticus* проводили на рыбах 8 - месячного возраста, в количестве 100 голов, зараженных кандидамикозами, в условиях аквариумов кафедры аквакультуры и пчеловодства РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. Рыбы 1 группы были контрольные –здоровые, 2 - 6 группы, естественно зараженные *Candida albicans*. Рыбы, по группам, содержались в разных аквариумах, объемом по 100 литров, по 16-17 голов в каждой. Условия содержания и кормления были одинаковыми. С рыбами *O. niloticus* 1 и 2 групп никакие дополнительные манипуляции не проводились. В аквариумную воду *O. niloticus* 3 группы вносили экстракт прополиса (на 70° этиловом спирте) в дозе 0,25 мл/л, 4 группы – экстракт прополиса в комплексе с сенсibilизатором метиленовым голубым из расчета 1 мг/л, 5 группы – экстракт прополиса в комплексе с профлавин ацетатом в дозе 1,0 мг/л, 6 группы – экстракт прополиса в комплексе с фталоцианином цинка в дозе 1,0 мг/л. Убой рыб для взятия материала проводили до начала опытов, затем на 7, 14, 21 и 30 сут. от начала опытов.

Гематологические исследования крови рыб *Oreochromis niloticus* проводили ветеринарном гематологическом анализаторе автомате «BC-30 Vet», Mindray (Китай), а также согласно методики Г.И. Прониной (2010).

Микробиологические исследования содержимого толстого отдела кишечника. Грибы *Candida albicans* выделяли на агаре Сабуро с хлорамфениколом 2 фирмы «BIOMERIEUX». Первичную идентификацию *Candida albicans* проводили масс спектрометрическим методом на MALDI Biotyper в ФГОУ НМЦ гематологии Минздрава России. В последующие сроки опытов *C. albicans* выделяли на среде Сабуро со стрептомицином (100 ед/л). Для дифференциации *C. albicans* также применяли системы API-System S.A. (Франция). Выделение *E. coli* проводили на средах: МПА, МПБ, Эндо, Левина, Плоскирева. Чистую культуру *E. coli* типировали в реакции агглютинации (РА), *Staphylococcus aureus* выделяли на желточно – солевом и кровяном МПА, *Pseudomonas spp.* – на среде Кинга В, Хью-Лейвсена, цетримидном агаре, *Bifidobacterium spp.* – путем посева больших разведений содержимого кишечника в среду Блаурокка, *Lactobacillus spp.* – культивировали на стандартной среде МРС (Мозера –Рогоза Шарпа) в микроанаэроостате с использованием *GasPak Anaerobic System* («Beckton Dickinson», США).

Достоверность результатов оценивали, используя параметрический t-коэффициент Стьюдента. Вычислению t-критерия предшествовала проверка нулевой гипотезы о том, что распределения признака в каждой сравниваемой группе признаков являются нормальными. Данная проверка проводилась с помощью процедуры параметрического однофакторного анализа вариаций (ANOVA). Средние значения переменных в таблицах представлены в виде $M \pm m$ (выборочное среднее \pm выборочная стандартная ошибка). Разность считалось достоверным, если коэффициент Стьюдента был равен или превышал значение 2, а показатель вероятности ошибки - менее 0,05 (надежность 95 %).

Диаграммы рассеяния и корреляционный анализ проводили с помощью пакета статистических программ Statistica 10 for Windows.

Выводы.

Химические методы оценки качества вод, из-за недостатка сведений о биологической составляющей анализируемых веществ и их комплексном воздействии на гидробионты не всегда дают необходимые результаты. Вследствие этого, растет число работ по биотестированию, используя стандартные тест-организмы.

В исследованиях такого рода используют бактерии, простейших, водоросли, ракообразных, рыб, насекомых, растений и млекопитающих.

Бактериальные сообщества являются важными компонентами экосистем водохранилищ. Для диагностики экологического воздействия микрозагрязнителей в водных путях многие микроорганизмы, такие как бактерии, грибы или микрофауна, полностью игнорируются нормативными актами, регулирующими качество водоемов. Однако все эти микроорганизмы играют важную экологическую роль в водных экосистемах. За последнее десятилетие различные микробные индикаторы продемонстрировали свой потенциал для диагностики токсического загрязнения и его последствий.

В поддержании экологического баланса пресноводных экосистем важную роль играют тилапии, и их часто используют для борьбы с водорослями и личинками комаров во многих водных средах. Сложная бактериальная популяция может адаптироваться путем отбора и мутаций к медленным изменениям состава субстрата, которым она питается. Известно, что в иммунной системе рыб неспецифический иммунитет занимает большую долю у рыб, чем специфический иммунитет, по сравнению с высшими позвоночными. Вследствие этого, в течение последних нескольких лет повышалось внимание к иммуностимуляторам для борьбы с болезнями рыб. Были проведены разные исследования, в которых сообщалось о дезинфицирующем действии прополиса.

Целью исследований являлась демонстрация потенциала добавления прополиса (PR) в рацион нильской тилапии (*Oreochromis niloticus*) для смягчения вредного воздействия на показатели роста, окислительно-восстановительный статус и иммунологический ответ.

Поиск и разработка новых методов обеззараживания воды на современном этапе является одной из актуальнейших проблем, т.к. используемые в настоящее время методы водоподготовки имеют ряд недостатков, оказывающих неблагоприятное воздействие, как на человека, так и экологию окружающей среды.

ГЛАВА 3. Результаты собственных исследований

3.1 Экологическая эффективность сенсibilизаторов в отношении энтеробактерий и вирусов, для сохранения биоресурсного потенциала поверхностных водоемов и экологичного восстановления

Экологическая эффективность сенсibilизаторов в зависимости от концентрации (модель PV-1, колифаг MS-2), времени освечивания рН воды и в условиях естественного микробиоценоза водоемов

Поиск и разработка новых методов обеззараживания воды на современном этапе является одной из актуальнейших проблем, т.к. используемые в настоящее время методы водоподготовки имеют ряд недостатков, оказывающих неблагоприятное воздействие, как на человека, так и экологию окружающей среды. Вследствие этого на первом и втором этапах изучалось фотодинамическое воздействие трёх сенсibilизаторов в следующих концентрациях: метиленового голубого – 1,0 и 2,0 мг/л; профлавин ацетата – 0,5 и 1,0 мг/л и октасис фталоцианин цинка октахлорид – 1,0 и 4,0 мг/л.

При изучении метиленового голубого в концентрациях 1,0 и 2,0 мг/л был установлен высокий фотообеззараживающий эффект как в отношении колифага, так и в отношении полиовируса. После контакта вирусов с сенсibilизатором при концентрации 1 мг/л в течение 1 часа в темноте и последующего освечивания водоема в течение 30 минут наблюдалась 100% инактивация колифага. Полиовирус в этих условиях инактивировался более чем на 3 порядка (99,923%), что свидетельствовало о присутствии в водоеме лишь единичных вирионов. Повышение концентрации метиленового голубого до 2,0 мг/л приводило к 100% инаktivации колифага и полиовируса. При этом метиленовый голубой без освечивания водоемов не оказывал значимого вирулицидного эффекта в отношении обоих вирусов.

Учитывая сильный фотообеззараживающий эффект метиленового голубого в концентрациях 1,0 и 2,0 мг/л, в следующей серии исследований на модели колифага изучалась меньшая концентрация этого сенсibilизатора – 0,5 мг/л при времени освечивания водоема в течение 15 минут. В этих условиях также наблюдался 100% фотообеззараживающий эффект, что не позволило установить минимальную действующую концентрацию метиленового голубого в отношении колифага. Что касается полиовируса, то для уточнения минимально действующей концентрации возможно проведение исследований с концентрацией метиленового голубого – 1,5 мг/л.

Сенсibilизатор профлавин ацетат изучался в двух концентрациях: 0,5 и 1,0 мг/л. При обеих концентрациях наблюдался высокий фотообеззараживающий эффект в отношении колифага (99,9999%) после освечивания водоема в течение 30 минут. В этих же условиях фотообеззараживающий эффект профлавин ацетата в отношении полиовируса был незначительным. При обеих концентрациях (0,5 и 1,0 мг/л) инактивация полиовируса после освечивания водоема составляла соответственно: 90 и 97,25%. Учитывая полученные результаты, были проведены исследования с более высокими концентрациями профлавин ацетата (1,5 и 2,0 мг/л) и увеличенным временем освечивания водоема до 60 минут. Так при концентрации 1,5 мг/л и времени освечивания водоема в течение 30 минут полиовирус инактивировался на 98,44%, а при увеличении времени освечивания до 60 минут его инактивация повышалась до 99,98%. Фактически в водоеме оставались лишь единичные вирусные частицы.

Увеличение концентрации профлавин ацетата до 2 мг/л при времени освечивания 30 минут приводило к инактивации колифага на 99,99914%, а увеличение времени освечивания до 60 минут не сопровождалось статистически достоверным дальнейшим снижением концентрации колифага. Процент инактивации колифага в этих условиях составлял 99,99982%. Полученные данные свидетельствуют о необходимости изучения более

высоких концентраций профлавин ацетата с целью установления минимально действующих в отношении колифагов и полиовирусов.

Высоким фотообеззараживающим эффектом как в отношении колифага, так и полиовируса обладал сенсibilизатор . В обеих испытанных концентрациях (1,0 и 4,0 мг/л) при освещении водоема в течение 30 минут наблюдалась 100% инаktivация колифага. Полиовирус в этих условиях инаktivировался на 100% при концентрации 4 мг/л и на 99,908% - при концентрации 1 мг/л. Надо отметить, что данный сенсibilизатор и без освещивания водоема обладал довольно высоким вирулицидным эффектом в отношении вирусов. Так при контакте сенсibilизатора с колифагом в темноте в течение 1 часа последний инаktivировался на 100% при концентрации 4 мг/л и на 99,99999% при концентрации 1 мг/л. Полиовирус в этих условиях инаktivировался на 99,99 при концентрации 4 мг/л и на 82,5% при концентрации 1 мг/л.

Для установления минимально действующей концентрации были проведены исследования с более низкими концентрациями данного сенсibilизатора (0,5; 1,0 и 1,5 мг/л) и различном времени освещивания искусственного водоема. Было установлено, что в концентрации 0,5 мг/л и времени освещивания водоема 60 минут вызывал 100% инаktivацию колифага. Полиовирус оказался несколько устойчивее. При концентрации цинка 1 мг/л и времени освещивания водоема 60 минут и при концентрации 1,5 мг/л и времени освещивания 30 минут полиовирус инаktivировался в одинаковой степени – на 99,98%. Увеличение времени освещивания до 60 минут (при концентрации 1,5 мг/л) приводило к 100% инаktivации полиовируса.

Таким образом, наибольшим фотообеззараживающим эффектом в отношении вирусов обладали метиленовый голубой и в испытанных концентрациях. Фотообеззараживающий эффект профлавин ацетата был высоким в отношении колифага, хотя полной его инаktivации не наблюдалось, и значительно ниже в отношении полиовируса. Полученные данные показали, что полиовирус оказался более устойчивым к различным

концентрациям испытанных сенсibilизаторов по сравнению с колифагом, что, возможно, связано с различным строением вирионов. Вероятно, при внедрении действующих концентраций в отношении вирусного загрязнения воды целесообразно в первую очередь учитывать данные, полученные на модели полиовируса, так как он наиболее близок к патогенным вирусам, чем колифаг.

Проведенные экспериментальные исследования позволили установить действующие дозы изученных сенсibilизаторов в отношении полиовирусов:

- 1,5 мг/л (время освечивания 60 минут);
- метиленовый голубой – 2 мг/л (время освечивания 30 минут).

Однако эта концентрация может быть уточнена после проведения исследований с концентрацией 1,5 мг/л и изменением времени освечивания водоемов.

Профлавин ацетат в изученных концентрациях (0,5, 1,0, 1,5 и 2,0 мг/л) не обладал 100% фотообеззараживающим эффектом в отношении колифага и полиовируса даже при увеличении времени освечивания.

Экологичность действия сенсibilизаторов в отношении E. coli 1257 в зависимости от органического состава воды и времени освечивания

Проведение эксперимента осуществлялось на модельных водоемах. Они были созданы посредством внесения в стерильную дехлорированную водопроводную воду колифага MS2 в концентрации 10^6 БОЕ/мл. Оценка фотообеззараживающего действия осуществлялась после контакта сенсibilизаторов с колифагом в темноте в течение 1 часа при температуре 22°C, и последующем облучении, время которого определялось задачами каждого конкретного эксперимента. Температура при освечивании была в пределах 18-20°C.

Посредством использования метода прямого посева осуществляли определение колифага в контрольном и в опытных водоемах (см. п.2.).

В качестве другой модели вирусного загрязнения использовали вакцинный штамм полиовируса 1 типа, который был получен из ГУ НИИ

полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАМН. Вакцинный штамм полиовируса 1 типа широко используется во всем мире в качестве модели энтеровирусов, а также вируса гепатита А при изучении новых обеззараживающих и дезинфицирующих средств. Полиовирус 1 типа, также как вся группа энтеровирусов, включающая энтеровирусы, вирусы полиомиелита трёх типов, вирусы ЕСНО и вирусы Коксаки А и В, представляют собой мелкие вирионы размером 25-40 нм. Их капсид имеет икосаэдрическую форму и состоит из четырёх структурных белковых молекул. Внутри капсида содержится однонитчатая линейная молекула рибонуклеиновой кислоты (РНК) с молекулярной массой $2,6 \times 10^6$ дальтон. Она входит в нуклеопротеид вириона, состоящий на 20-30% из РНК и на 70-80% из белка. Углеводы и липиды не обнаружены. Внешней оболочки нет.

Энтеровирусы длительно сохраняют инфекционность при низких температурах (-20 – 70°C). Так в замороженном состоянии они сохраняются в течение нескольких лет. В составе вирионов нет липидов, что обуславливает их устойчивость к эфиру, хлороформу, дезоксихолату, устойчивы также к рН в диапазоне 3,8-8,5, Чувствительны к нагреванию и окислителям (йод, перманганат калия, хлор и др.). Энтеровирусы не утрачивают своих инфекционных свойств в воде открытых водоемов в течение нескольких месяцев (до 3-6), что имеет важное эпидемиологическое значение.

Экологичность действия метиленового голубого в отношении колифага MS2 в зависимости от времени освечивания

Целью данного этапа работы являлось изучение фотообеззараживающего действия метиленового голубого (хлорид) в концентрации 0,5 мг/л в отношении вирусного загрязнения воды в зависимости от времени освечивания. Установлено, что обеззараживающий эффект метиленового голубого в отношении модельного индикаторного вируса зависит от концентрации данного фотосенсибилизатора в водоеме и времени освечивания.

Результаты исследований по оценке фотообеззараживающего действия метиленового голубого в концентрации 0,5 мг/л в отношении колифага MS2 в зависимости от времени освечивания представлены в таблице 1. Как видно из приведенных данных, при помещении экспериментального водоема в темноту, изменения концентрации колифага MS2 после часовой экспозиции находились в пределах одного логарифма. При этом не происходит статистически достоверного снижения содержания колифага в сравнении с его исходным уровнем ($t < 2$).

После дальнейшего освечивания в течение 15 минут колифаг не выделялся из 10 мл исследуемой пробы, что свидетельствует об интенсивном снижении концентрации колифага не менее чем на 7 порядков в сравнении с его исходным уровнем. При этом инактивация достигала 100%. Освечивание пробы в течение 30 минут также сопровождалось 100%-ой инактивацией колифага MS2.

Результаты проведенных исследований показали, что при снижении концентрации метиленового голубого до 0,5 мг/л у сенсбилизатора сохраняется фотообеззараживающий эффект в отношении колифага MS2. Полученные материалы не позволили установить зависимости эффекта инактивации при фотообеззараживании от времени освечивания пробы, так как 100%-ый эффект был достигнут уже при времени освечивания в течение 15 минут.

Таблица 1 - Экологическая характеристика влияния метиленового голубого в концентрации 0,5 мг/л на колифаг MS2

Вид пробы	№ п/п	Концентрация колифага MS2		Инактивация, %
		БОЕ/мл, 10 мл	M±m, БОЕ/мл	
Контрольная	1	1,5x10 ⁶ БОЕ/мл	1,276±0,277x10 ⁶	-
	2	1,49x10 ⁶ БОЕ/мл		
	3	8,4x10 ⁵ БОЕ/мл		
Через 1 час контакта в темноте	1	1,0x10 ⁶ БОЕ/мл	6,2±0,23x10 ⁶	48,58
	2	4,4x10 ⁵ БОЕ/мл		
	3	4,4x10 ⁵ БОЕ/мл		

Вид пробы	№ п/п	Концентрация колифага MS2		Инактивация, %
		БОЕ/1мл, 10 мл	M±m, БОЕ/мл	
Контрольная	1	1,5x10 ⁶ БОЕ/мл	1,276±0,277x10 ⁶	–
	2	1,49x10 ⁶ БОЕ/мл		
	3	8,4x10 ⁵ БОЕ/мл		
Через 15 мин. фотообеззараживания	1	0 БОЕ/10 мл	0	100
	2	0 БОЕ/10 мл		
	3	0 БОЕ/10 мл		
Через 30 мин. фотообеззараживания	1	0 БОЕ/10 мл	0	100
	2	0 БОЕ/10 мл		
	3	0 БОЕ/10 мл		

Сравнение результатов двух серий исследований показали, что метиленовый голубой в пределах концентраций 0,5-2,0 мг/л обладает как вирулицидным действием в отношении колифага, так и фотообеззараживающим эффектом.

Вместе с этим, в данных условиях эксперимента, проведенные исследования не позволили установить у метиленового голубого эффекта фотообеззараживания в зависимости от времени освечивания. Решение этой задачи требует либо дальнейшего сокращения времени освечивания, либо продолжения исследований по определению минимальной действующей концентрации метиленового голубого на колифаг MS2.

При изучении метиленового голубого в концентрации 0,5 мг/л был подтвержден его высокий фотообеззараживающий эффект. После контакта в водоеме колифага с сенсibilизатором в течение 1 часа в темноте и последующего облучения в течение 15 минут наблюдалась 100% фотоинактивация колифага. В тоже время сам сенсibilизатор (при контакте с колифагом в течение 1 часа в темноте) при данной концентрации не оказывал статистически значимого влияния на снижение количества колифага в экспериментальных водоемах. В данных условиях эксперимента не удалось выявить влияние времени освечивания на эффективность фотообеззараживания в отношении колифага. Далее проводили исследования по оценке фотообеззараживающего действия метиленового голубого в

концентрации 0,25 мг/л в отношении колифага MS2 в зависимости от времени освечивания. Результаты представлены в таблице 2.

Как видно из приведенных материалов, при помещении экспериментального водоема в темноту, изменение концентрации колифага MS2 после часовой экспозиции в присутствии метиленового голубого в концентрации 0,25 мг/л находилось в пределах одного логарифма, а процент инактивации был несущественным и составлял 29,53. При этом статистически достоверного снижения содержания колифага в сравнении с его исходным уровнем не происходит ($t < 2$).

После дальнейшего освечивания в течение 30 минут колифаг не выделялся из 10 мл исследуемой пробы, что свидетельствует об интенсивном снижении концентрации колифага не менее, чем на 5 порядков в сравнении с его исходным уровнем.

Таблица 2 - Сравнительная экологическая характеристика влияния метиленового голубого в концентрации 0,25 мг/л на колифаг MS2

Вид пробы	№ п/п	Концентрация колифага MS2		Инактивация, %
		БОЕ/ 1мл, 10 мл	M±m, БОЕ/мл	
Контрольная	1	2,1x10 ⁴ БОЕ/мл	2,1±0,14x10 ⁴	–
	2	2,0x10 ⁴ БОЕ/мл		
	3	2,3x10 ⁴ БОЕ/мл		
Через 1 час контакта в темноте	1	1,1x10 ⁴ БОЕ/мл	1,5±0,3x10 ⁴	29,53
	2	1,51x10 ⁴ БОЕ/мл		
	3	1,9x10 ⁴ БОЕ/мл		
Через 30 мин. фотообеззараживания	1	0 БОЕ/10 мл	0	100
	2	0 БОЕ/10 мл		
	3	0 БОЕ/10 мл		
Через 60 мин. фотообеззараживания	1	0 БОЕ/10 мл	0	100
	2	0 БОЕ/10 мл		
	3	0 БОЕ/10 мл		

При этом инактивация колифага достигала 100%. Освечивание пробы в течение 60 минут также сопровождалось 100%-ой инактивацией колифага MS2. Результаты проведенных исследований показали, что при снижении концентрации метиленового голубого до 0,25 мг/л у сенсбилизатора сохраняется фотообеззараживающий эффект в отношении колифага MS2.

Полученные материалы не позволили установить зависимость эффекта инактивации при фотообеззараживании от времени освечивания пробы, так как 100%-ый эффект был достигнут уже при времени освечивания в течение 30 минут.

Экологичность фотообеззараживающего действия профлави́н ацетата в отношении колифага MS2 в зависимости от времени освечивания

Целью данного этапа исследований являлось изучение влияния времени освечивания на уровень фотообеззараживающего эффекта профлави́н ацетата в концентрации 2 мг/л на колифаг MS2. Время освечивания составляло 30 и 60 минут. Результаты проведенных исследований представлены в таблице 3.

Результаты эксперимента позволяют отметить, что после контакта сенсibilизатора профлави́н ацетата с колифагом в течение одного часа в темноте концентрация последнего снижается менее чем на один порядок, однако разница в сравнении с исходным уровнем статистически достоверна ($t > 2$).

Таблица 3 – Экологическая характеристика влияния профлави́н ацетата в концентрации 0,5 мг/л на колифаг MS2 в зависимости от времени освечивания

Вид пробы	№ п/п	Концентрация колифага MS2		Инактивация, %
		БОЕ/мл, 10 мл	$M \pm m$, БОЕ/мл	
Контрольная	1	$1,5 \times 10^6$ БОЕ/мл	$1,276 \pm 0,277 \times 10^6$	-
	2	$1,49 \times 10^6$ БОЕ/мл		
	3	$8,4 \times 10^5$ БОЕ/мл		
Через 1 час контакта в темноте	1	$8,0 \times 10^5$ БОЕ/мл	$7,08 \pm 0,734 \times 10^5$	44,51
	2	$7,0 \times 10^5$ БОЕ/мл		
	3	$6,25 \times 10^5$ БОЕ/мл		
Через 30 мин. фотообеззараживания	1	12 БОЕ/мл	$11 \pm 4,62$	99,99914
	2	10 БОЕ/мл		
	3	11 БОЕ/мл		
Через 60 мин. фотообеззараживания	1	2,1 БОЕ/мл	$2,4 \pm 0,797$	99,99982
	2	1,6 БОЕ/мл		
	3	3,5 БОЕ/мл		

Процент инактивации при этом составляет 44,51%. Таким образом, полученные результаты подтверждают наличие у профлавин ацетата вирулицидных свойств в отношении колифага. Освечивание в течение 30 минут сопровождалось интенсивным снижением концентрации колифага до десятков бляшкообразующих единиц в 1 мл исследуемой воды. Процент инактивации колифага в сравнении с его исходным уровнем достигал 99,99914%.

Увеличение времени освечивания до 60 минут (время исчезновения «соломенной окраски» пробы) приводило к дальнейшему снижению уровня колифага еще на один порядок, при этом концентрация колифага составляла единичные БОЕ в 1 мл пробы. Уровень инактивации достигал 99,9998%. Однако статистическая обработка этих результатов показала, что разница в снижении концентрации при увеличении времени освечивания статистически не достоверна ($t < 2$). Таким образом, полученные данные следует рассматривать только как тенденцию к снижению концентрации колифага при увеличении времени освечивания. Сравнение результатов 2-х серий исследований показывает, что увеличение концентрации профлавин ацетата с 1 мг/л до 2 мг/л не сопровождается ростом фотообеззараживающего действия сенсбилизатора. Таким образом, у профлавин ацетата не выявлен дозозависимый эффект. Отсутствие статистически достоверной разницы в снижении концентрации колифагов при увеличении времени освечивания свидетельствует о том, что у профлавин ацетата в условиях проведенного эксперимента отсутствует дозо-временная зависимость эффекта воздействия на колифаг.

Экологическое фотообеззараживающее действие октакис N-(2-гидроксиэтил)-N, N-диметиламмониметил фталоцианин цинка октахлорида в отношении колифага MS2 в зависимости от времени освечивания

Целью настоящего раздела исследований явилось изучение фотообеззараживающего действия на колифаг MS2 в концентрации 0,5 мг/л.

Данные результатов проведенных исследований представлены в таблице 4. Анализ полученных данных показал, что через час контакта сенсibilизатора с колифагом в темноте отмечается интенсивное падение концентрации колифага с 10^6 БОЕ/мл до 0,67 БОЕ в мл воды. Уровень инактивации колифага при этом составлял 99,9999948%. Проведенное освечивание пробы в течение 30 минут приводит к дальнейшему снижению концентрации колифага (не менее, чем на 7 порядков) и соответственно 100% -ой его инактивации.

Сравнение полученных результатов с материалами первой серии исследований свидетельствуют о том, что снижение концентрации с 1 мг/л до 0,5 мг/л не приводит к уменьшению вирулицидного свойств изучаемого вещества. Уровень инактивации при этом составлял 99,9999948 %.

Анализ данных двух серий исследований по изучению фотообеззараживающего эффекта показал, что степень инактивации колифага при данных условиях эксперимента сохранялась на одном том же уровне независимо от концентрации сенсibilизатора в пределах 0,5-1,0 мг/л.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что обладает мощным вирулицидным действием и свидетельствуют о необходимости изучения более низких его концентраций с целью установления минимальной действующей фотообеззараживающей дозы.

Таблица 4 - Сравнительная экологическая характеристика влияния в концентрации 0,5 мг/л на колифаг MS2

Вид пробы	№ п/п	Концентрация колифага MS2		Инактивация, %
		БОЕ/мл, 10 мл	$M \pm m$, БОЕ/мл	
Контрольная	1	$1,5 \times 10^6$ БОЕ/мл	$1,276 \pm 0,277 \times 10^6$	—
	2	$1,49 \times 10^6$ БОЕ/мл		
	3	$8,4 \times 10^6$ БОЕ/мл		
Через 1 час контакта в темноте	1	1 БОЕ/10мл	$0,67 \pm 0,42 \times 10^6$	99,999994
	2	1 БОЕ/10мл		
	3	0 БОЕ/10мл		
Через 30 мин. фотообеззараживания	1	0 БОЕ/10мл	0	100
	2	0 БОЕ/10мл		
	3	0 БОЕ/10 мл		

Поэтому следующим этапом исследований явилось изучение фотообеззараживающего действия на колифаг MS2в концентрации 0,25мг/л. Результаты проведенных исследований представлены в таблице 5. Анализ полученных данных показал, что через час контакта сенсibilизатора с колифагом в темноте отмечается падение концентрации колифага с 10^4 БОЕ/мл до 10^2 БОЕ в мл воды (разница статистически достоверна, $t > 2$), инаktivация колифага при этом составляла 97,81%. Проведенное освечивание пробы в течение 30 минут приводило к дальнейшему снижению концентрации колифага на один порядок, а уровень его инаktivации повышался до 99,77%. Увеличение времени освечивания до 60 минут не приводило к дальнейшему существенному снижению концентрации колифага в воде. Уровень инаktivации составлял при этом 99,83%. Разница в уровнях инаktivации после 30 - и 60-минутного освечивания статистически не достоверна ($t < 2$). Сравнение полученных результатов с материалами исследований, проведенных ранее, свидетельствуют о том, что снижение концентрации с 0,5 мг/л до 0,25мг/л приводит к уменьшению вирулицидного действия с 99,9999948 % до 97,81 %.

Таблица 5 - Сравнительная экологическая характеристика влияния в концентрации 0,25 мг/л на колифаг MS2

Вид пробы	№ П/П	Концентрация колифага MS2		Инаktivация, %
		БОЕ/мл, 10 мл	$M \pm m$, БОЕ/мл	
Контрольная	1	$2,1 \times 10^4$ БОЕ/мл	$2,1 \pm 0,14 \times 10^4$	—
	2	$2,0 \times 10^4$ БОЕ/мл		
	3	$2,3 \times 10^4$ БОЕ/мл		
Через 1 час контакта в темноте	1	500 БОЕ/мл	$4,7 \pm 0,25 \times 10^2$	97,81
	2	440 БОЕ/мл		
	3	470 БОЕ/мл		
Через 30 мин. фотообеззараживания	1	58 БОЕ/1мл	$48,33 \pm 8,37$	99,77
	2	49 БОЕ/1мл		
	3	38 БОЕ/1 мл		
Через 60 мин. фотообеззараживания	1	36 БОЕ/1мл	$35,33 \pm 5,85$	99,83
	2	20 БОЕ/1мл		
	3	50 БОЕ/ мл		

Анализ результатов проведенных исследований показал также, что снижение концентрации с 0,5мг/л до 0,25 мг/л сохраняет у этого вещества

фотообеззараживающий эффект, однако он менее выражен, чем вирулицидный.

Экологическое фотообеззараживающее действие сенсibilизаторов в отношении вируса полиомиелита 1 типа (PV-1)

В экспериментальных условиях проводились исследования по изучению фотообеззараживающего действия двух концентраций метиленового голубого в отношении вакцинного штамма полиовируса 1 типа при режиме облучения в течение 30 минут.

Результаты исследований по инаktivации полиовируса при воздействии метиленового голубого в концентрации 1 мг/л представлены в таблице 6. Под действием метиленового голубого в концентрации 1 мг/л в темноте в течение 1 часа не происходит снижения концентрации полиовируса по сравнению с исходным уровнем, процент инаktivации составляет 0. После освечивания водоема лампой в течение 30 минут наблюдается значительное снижение концентрации полиовируса (более чем на 3 порядка), а эффективность инаktivации при этом достигает 99,923%.

Таблица 6 - Сравнительная экологическая характеристика влияния метиленового голубого в концентрации 1 мг/л на полиовирус 1 типа

Вид пробы	№ п/п	Концентрация полиовируса 1 типа в ТЦД/ мл		Инаktivация, %
		в каждой серии	M±m	
Контрольная	1	3,5x10 ³ ± 0,25	1,2 x 10 ⁴ ±0,23	—
	2	3,0x10 ³ ± 0,22		
	3	3,0x10 ⁴ ± 0,22		
Через 1 час контакта в темноте	1	3,5x10 ³ ± 0,25	1,2x 10 ⁴ ±0,23	0
	2	3,0x10 ³ ± 0,22		
	3	3,0x10 ⁴ ±0,22		
Через 30 мин. облучения	1	1,8	9,2	99,923
	2	13,0		
	3	13,0		

Результаты исследований по влиянию метиленового голубого в концентрации 2 мг/л на полиовирус, представлены в таблице 7.

Таблица 7 - Сравнительная экологическая характеристика влияния метиленового голубого в концентрации 2 мг/л на полиовирус 1 типа

Вид пробы	№ п/п	Концентрация полиовируса 1 типа в ТЦД/мл		Инактивация в %
		В каждой серии	M±m	
Контрольная	1	3,5 x 10 ³ ± 0,25	1,2 x 10 ⁴ ± 0,23	–
	2	3,0 x 10 ³ ±0,22		
	3	3,0 x 10 ⁴ ± 0,22		
Через 1 час контакта в темноте	1	1,6x10 ³ ± 0,2	2,2 x 10 ³ ±0,15	81,67
	2	1,9x10 ³ ±0,2		
	3	3,0x10 ³ ± 0,22		
Через 30 мин. облучения	1	0	0	100
	2	0		
	3	0		

Как видно из представленных результатов, увеличение концентрации сенсibilизатора в два раза приводит к инактивации полиовируса на 81,7% в условиях воздействия метиленового голубого в темноте. Это свидетельствует о проявлении, хотя и незначительного, вирулицидного эффекта метиленового голубого в концентрации 2 мг/л. Освечивание водоема в течение 30 минут сопровождается полной (100%) инактивацией полиовируса, что свидетельствует о высоком фотообеззараживающем эффекте метиленового голубого в отношении вируса.

Результаты проведенных исследований показали, что метиленовый голубой обладает значительным фотообеззараживающим эффектом, который проявляется, как при концентрации сенсibilизатора 1 мг/л (99,924%), так и максимально при концентрации 2 мг/л (100%) после освечивания водоема течение 30 минут.

Фотообеззараживающее действие профлавинов ацетата в отношении полиовируса 1 типа. Изучение фотодинамического воздействия профлавинов ацетата на полиовирус 1 типа проводилось при двух концентрациях этого сенсibilизатора – 0,5 мг/л и 1 мг/л. Результаты исследований, полученные при изучении воздействия профлавинов ацетата в концентрации 0,5 мг/л, представлены в таблице 8.

Таблица 8 - Сравнительная экологическая характеристика влияния профлавина ацетата в концентрации 0,5 мг/л на полиовирус 1 типа

Вид пробы	№ п/п	Концентрация полиовируса 1 типа в ТЦД/мл		Инактивация, %
		в каждой серии	M±m	
Контрольная	1	$3,5 \times 10^3 \pm 0,25$	$1,2 \times 10^4 \pm 0,23$	-
	2	$3,0 \times 10^3 \pm 0,2$		
	3	$3,0 \times 10^4 \pm 0,2$		
Через 1 час контакта в темноте	1	$1,8 \times 10^3 \pm 0,2$	$2,6 \times 10^3 \pm 0,2$	78,34
	2	$3,0 \times 10^3 \pm 0,22$		
	3	$3,0 \times 10^3 \pm 0,22$		
Через 30 мин. облучения	1	$3,0 \times 10^2 \pm 0,22$	$1,2 \times 10^3 \pm 0,23$	90,0
	2	$4,4 \times 10^2 \pm 0,25$		
	3	$3,0 \times 10^3 \pm 0,22$		

Профлавин ацетат в концентрации 0,5 мг/л при контакте в течение одного часа в темноте оказывал незначительное действие на полиовирус. В этих условиях концентрация полиовируса снижалась по сравнению с исходным уровнем на 78,34%. Освечивание водоемов в течение 30 минут приводило к более полной инактивации полиовируса. В этих условиях полиовирус инактивировался по сравнению с исходным содержанием на 90%.

Повышение концентрации профлавин ацетата до 1 мг/л приводило к повышению вирулицидного эффекта этого сенсibilизатора. Так, в темноте при часовом контакте с профлавин ацетатом концентрация полиовируса снижается на 82,5% по сравнению с исходным содержанием, а после освечивания водоема в течение 30 минут фотообеззараживающий эффект в отношении полиовируса увеличивался до 97,25% (таблица 9).

Таблица 9 - Сравнительная экологическая характеристика влияния профлавина ацетата в концентрации 1 мг/л на полиовирус 1 типа

Вид пробы	№ п/п	Концентрация полиовируса в ТЦД/мл		Инактивация, %
		В каждой серии	M±m	
Контрольная	1	$3,5 \times 10^3 \pm 0,25$	$1,2 \times 10^4 \pm 0,23$	-
	2	$3,0 \times 10^3 \pm 0,22$		
	3	$3,0 \times 10^4 \pm 0,22$		
Через 1 час контакта в темноте	1	$4,4 \times 10^2 \pm 0,2$	$2,1 \times 10^3 \pm 0,2$	82,5
	2	$3,0 \times 10^3 \pm 0,22$		
	3	$3,0 \times 10^3 \pm 0,22$		
Через 30 мин. облучения	1	$3,0 \times 10^2 \pm 0,22$	$3,3 \times 10^2 \pm 0,23$	97,25
	2	$2,4 \times 10^2 \pm 0,22$		
	3	$4,4 \times 10^2 \pm 0,25$		

Таким образом, приведенные результаты исследований показали, что фотообеззараживающий эффект профлавин ацетата в обеих концентрациях (0,5 и 1 мг/л) значительно ниже по сравнению с метиленовым голубым.

Фотообеззараживающий эффект в отношении полиовируса 1 типа изучали при его концентрациях 1 мг/л и 4 мг/л. Результаты исследований, с концентрацией сенсibilизатора 1 мг/л, представлены в таблице 10. Как видно из приведённых данных, при исследовании фотообеззараживающего действия в концентрации 1 мг/л в течение 1 часа контакта сенсibilизатора с полиовирусом в темноте наблюдается незначительное снижение концентрации полиовируса (менее чем на один порядок). При этом процент инактивации составлял 82,5%. После освечивания водоемов в течение 30 минут наблюдался высокий фотообеззараживающий эффект, что выражалось в значительном снижении концентрации полиовируса в воде, (более чем на 3 порядка), а уровень инактивации достигал 99,908%, что свидетельствует о наличии в водоемах лишь единичных вирусных частиц.

Таблица 10 - Сравнительная экологическая характеристика влияния концентрации 1 мг/л на полиовирус 1 типа

Вид пробы	№ п/п	Концентрация полиовируса в ТЦД/мл		Инактивация, %
		В каждой серии	M±m	
Контрольная	1	$3,5 \times 10^3 \pm 0,25$	$1,2 \times 10^4 \pm 0,23$	–
Контрольная	2	$3,0 \times 10^3 \pm 0,22$	$1,2 \times 10^4 \pm 0,23$	–
	3	$3,0 \times 10^4 \pm 0,22$		
Через 1 час контакта в темноте	1	$4,4 \times 10^2 \pm 0,2$	$2,1 \times 10^3 \pm 0,22$	82,5
	2	$3,0 \times 10^3 \pm 0,23$		
	3	$2,9 \times 10^3 \pm 0,23$		
Через 30 мин. облучения	1	$18,0 \pm 0,2$	$11,0 \pm 0,13$	99,908
	2	0		
	3	$15,0 \pm 0,2$		

При изучении вирулицидного действия в концентрации 4 мг/л (таблица 11) было установлено, что концентрация полиовируса снижается более чем на 4 порядка после его контакта с сенсibilизатором в темноте в течение 1 часа и процент инактивации составлял 99,99%. Фотообеззараживающий эффект сенсibilизатора также был очень высоким. В этих условия (освечивание водоема в течение 30 минут) полиовирус инактивировался на 100%.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что обладает сильным фотообеззараживающим эффектом. При обеих концентрациях сенсibilизатора 1,0 и 4,0 мг/л полиовирус инактивировался соответственно на 99,908% и 100%. При этом надо отметить, что сам сенсibilизатор в концентрации 4 мг/л (без освечивания водоемов) также обладал сильным вирулицидным эффектом.

Проведенные исследования по изучению фотодинамического воздействия сенсibilизаторов: метиленового голубого, профлавин ацетата и октакиса (холинил) фталоцианина цинка в отношении вирусного загрязнения водоемов на модели полиовируса 1 типа указывают на зависимость фотообеззараживающего эффекта испытанных сенсibilизаторов от их концентраций в воде.

Таблица 11 - Сравнительная экологическая характеристика влияния в концентрации 4 мг/л на полиовирус 1 типа

Вид пробы	№ п/п	Концентрация полиовируса в ТЦД/мл		Инактивация, %
		в каждой серии	M±m	
Контрольная	1	3, 5x 10 ³ ± 0,25	1,2 x 10 ⁴ ± 0,23	–
	2	3,0 x 10 ³ ±0,22		
	3	3,0 x 10 ⁴ ± 0,22		
Через 1 час контакта в темноте	1	0	Следы	Более 99,99
	2	1,8		
	3	0		
Через 30 мин. облучения	1	0	0	100
	2	0		
	3	0		

Из двух концентраций метиленового голубого (1,0 и 2 мг/л) наибольшим фотообеззараживающим эффектом обладал метиленовый голубой в концентрации 2,0 мг/л и времени освечивания 30 минут, при которой наблюдалась 100% инактивация полиовируса. Инактивация полиовируса после контакта в темноте в течение 1 часа была незначительной, что свидетельствует о несущественном вирулицидном эффекте этого сенсibilизатора.

Незначительным фотообеззараживающим эффектом обладал профлавин ацетат в концентрациях 0,5 и 1,0 мг/л. После освечивания водоемов полиовирус инактивировался соответственно на 90 и 97,25%. Полученные данные свидетельствуют о целесообразности продолжения исследований с более высокими концентрациями профлавин ацетата для установления минимальных действующих доз.

Сильным фотообеззараживающим эффектом обладал метиленовый голубой в обеих испытанных концентрациях. Так, после освечивания водоемов в течение 30 минут полиовирус инактивировался на 99,908% при концентра-

ции сенсibilизатора в воде 1 мг/л и на 100% - при концентрации 4 мг/л. Надо отметить, что обладал вирулицидным эффектом и без освечивания водоемов, особенно при концентрации 4 мг/л. Полиовирус при контакте с сенсibilизатором в темноте инактивировался на 99,99%.

Экологическое и фотодинамическое воздействие сенсibilизаторов на полиовирус 1 типа в зависимости от концентрации и времени освечивания водоема

Фотодинамического воздействия профлавина ацетата. Изучение действия профлавина ацетата на полиовирус проводилось при его концентрации – 1,5 мг/л и времени освечивания водоемов в течение 30 и 60 минут. Полученные результаты представлены в таблице 12.

Как видно из представленных данных, фотодинамическое действие профлавина ацетата в концентрации 1,5 мг/л на полиовирус зависит от времени освечивания водоема. Так при освечивании водоема в течение 30 минут полиовирус инактивировался на 98,44%. Увеличение времени освечивания до 60 минут приводило к увеличению процента инактивации полиовируса до 99,98%. Фактически в водоеме остаются единичные вирионы.

Таблица 12 – Экологическая характеристика влияния профлавина ацетата в концентрации 1,5 мг/л на полиовирус 1 типа в зависимости от времени освечивания

Вид пробы	№ п/п	Концентрация полиовируса в ТЦД ₅₀ /мл		Инактивация %
		в каждой серии	M±m	
Контрольная	1	4,4 x 10 ³ ± 0,23	3,4 x 10 ³ ± 0,22	-
	2	2,3 x 10 ³ ± 0,2		
	3	3,5 x 10 ³ ± 0,22		
Через 1 час контакта в темноте	1	3,5 x 10 ² ±0,22	4,0 x 10 ² ±0,23	88,24
	2	4,4 x 10 ² ± 0,23		
	3	4,2 x 10 ² ± 0,22		

Через 30 мин. Освечивания	1	74,0± 0,22	53,0± 0,21	98,44
	2	69,0± 0,21		
	3	16,0± 0,21		
Через 60мин. освечивания	1	1,7	0,6	99,98
	2	0		
	3	0		

Профлавин ацетат в концентрации 1,5 мг/л не оказывает существенного вирулицидного эффекта при контакте полиовируса с сенсibilизатором в течение одного часа в темноте. В этих условиях концентрация полиовируса снижалась по сравнению с исходным уровнем на 88,24%. Таким образом профлавин ацетат в концентрации 1,5 мг/л при освещении водоемов в течение 60 минут обладает довольно сильным фотообеззараживающим эффектом в отношении вирусного загрязнения воды. Количество полиовируса в воде в этих условиях снижается более чем в 1000 раз, хотя полной инактивации вируса не наблюдалось.

Фотодинамического воздействия. В экспериментальных условиях проводилось изучение фотодинамического воздействия на полиовирус более низких концентраций (1,0 и 1,5 мг/л) по сравнению с предыдущими исследованиями в зависимости от времени освещивания водоемов (30 и 60 минут).

Результаты проведенных исследований по изучению фотодинамического эффекта данного сенсibilизатора в концентрации 1 мг/л представлены в таблице 13.

Таблица 13 - Сравнительная экологическая характеристика влияния в концентрации 1мг/л на полиовирус 1 типа при времени освечивания 60 минут

Вид пробы	№ п/п	Концентрация полиовируса в ТЦД ₅₀ /мл		Инактивация в %
		В каждой серии	M±m	
Контрольная	1	4,4 x 10 ³ ± 0,23	3,4 x 10 ³ ± 0,23	—
	2	2,3 x 10 ³ ± 0,20		
	3	3,5 x 10 ³ ±0,22		
Через 1 час контакта в темноте	1	3,5 x 10 ² ± 0,22	3,6 x10 ² ± 0,22	89,41
	2	4,4 x 10 ² ± 0,23		
	3	2,9 x 10 ² ± 0,23		
Через 60 минут освечивания	1	1,8 ± 0,20	0,6 ± 0,8	99,98
	2	0		
	3	0		

Как видно из приведенных данных, фотодинамическое воздействие зависело как от его концентрации, так и от времени освечивания водоема. При концентрации 1 мг/л и времени освечивания водоема в течение 60 минут полиовирус инактивировался на 99,98%, т.е. в большей степени по сравнению со временем освечивания в 30 минут. В то же время в концентрации 1 мг/л оказывал статистически достоверное влияние на снижение концентрации полиовируса при контакте сенсibilизатора с ним в темноте в течение 1 часа. В этих условиях вирус инактивировался на 89,41%. Увеличение концентрации до 1,5 мг/л (таблица 14) приводило к более значительному фотодинамическому эффекту в отношении полиовируса, особенно при увеличении времени освечивания водоема.

Таблица 14 - Сравнительная характеристика влияния в концентрации 1,5 мг/л на полиовирус 1 типа при времени освечивания 30 и 60 минут

Вид пробы	№ п/п	Концентрация полиовируса в ТЦД ₅₀ /мл		Инактивация, %
		В каждой серии	M±m	
Контрольная	1	4,4 x 10 ³ ± 0,23	3,4 x 10 ³ ± 0,22	—
	2	2,3 x 10 ³ ± 0,20		
	3	3,5 x 10 ³ ± 0,22		
Через 1 час контакта в темноте	1	6,9 ± 0,23	7,3 ± 0,22	99,79
	2	6,9 ± 0,23		
	3	8,1 ± 0,20		
Через 30 минут освечивания	1	1,7 ± 0,21	0,56 ± 0,20	99,98
	2	0		
	3	0		

Через 60 минут освечивания	1	0	0	100
	2	0		
	3	0		

Так при времени освечивания водоема в течение 30 минут полиовирус инактивировался на 99,98%, т.е. концентрация вируса снижалась более чем на 3 порядка. Увеличение времени освечивания водоема до 60 минут приводило к 100% инаktivации полиовируса. При контакте полиовируса с сенсibilизатором в темноте в течение 1 часа процент инаktivации был также высоким и составлял 99,79%. Полученные данные свидетельствуют о том, что в концентрации 1,5 мг/л обладает сильным фотообеззараживающим эффектом особенно при освечивании водоема в течение 60 минут. В этих условиях наблюдается 100% инаktivация полиовируса, что свидетельствует о полном очищении водоема в отношении вирусного загрязнения.

Таким образом, проведенные исследования по изучению фотодинамического воздействия сенсibilизаторов: профлавин ацетата и октакиса (холинил) фталоцианина цинка в отношении вирусного загрязнения водоемов на модели полиовируса 1 типа показали, что фотообеззараживающий эффект испытанных сенсibilизаторов зависит как от их концентраций в воде, так и от времени освечивания водоемов.

Увеличение концентрации профлавин ацетата до 1,5 мг/л и времени освечивания водоемов до 60 минут приводило к большей, но не полной инаktivации полиовируса. Чтобы получить полное обеззараживание водоемов в отношении вирусного загрязнения целесообразно проверить фотообеззараживающий эффект более высоких концентраций профлавин ацетата.

Фотодинамическое воздействие сенсibilизаторатакже зависело как от концентрации сенсibilизатора, так и от времени освечивания водоема. Минимальной концентрацией, вызывающей 100% фотообеззараживающий эффект, является 1,5 мг/л октакиса (холинил) фталоцианина цинка при времени освечивания водоема 60 минут.

Экологическое фотообеззараживающее действие сенсibiliза-торов в отношении вирусного загрязнения воды (колифаг MS-2) в зависимости от рН

Фотообеззараживающее действие профлавина ацетата в отношении вирусного загрязнения воды в зависимости от рН. На данном этапе проводилось изучение фотообеззараживающего действия сенсibiliзатора профлавина ацетата в концентрации 0,7 мг/л при различных значениях рН воды: кислом, щелочном и нейтральном. Результаты исследований представлены в таблице 15.

Как видно из приведенных материалов, после экспозиции экспериментального водоема в течение часа в темноте, в присутствии профлавина ацетата в концентрации 0,7 мг/л. отмечается снижение уровня колифага MS2 в сравнении с исходным с $1,2 \pm 0,084 \times 10^7$ БОЕ/мл до $8,93 \pm 0,126 \times 10^6$ БОЕ/мл.

Наличие статистически достоверной разницы в изменении концентрации колифага ($t > 2$) свидетельствует о наличии у профлавина ацетата в концентрации 0,7 мг/л вирулицидного действия. Процент инаktivации колифагов при этом составляет 25,583.

Таблица 15 - Сравнительная экологическая характеристика влияния профлавинов ацетата в концентрации 0,7 мг/л при рН воды 7,1 на колифаг MS2

Вид пробы	№ п/п	Концентрация колифага MS2		Инактивация, %
		БОЕ/мл	$M \pm m$, БОЕ/мл	
Контрольная	1	$1,3 \times 10^7$	$1,2 \pm 0,08 \times 10^7$	-
	2	$1,1 \times 10^7$		
	3	$1,2 \times 10^7$		
Через 1 час контакта в темноте	1	$8,8 \times 10^6$	$8,93 \pm 0,126 \times 10^6$	25,583
	2	$9,1 \times 10^6$		
	3	$8,9 \times 10^6$		
Через 30 мин. фотообеззараживания	1	$3,2 \times 10^1$	$4,03 \pm 0,545 \times 10^1$	99,99967
	2	$4,5 \times 10^1$		
	3	$4,4 \times 10^1$		

Последующее освечивание пробы в течение 30 минут приводило к дальнейшему интенсивному снижению концентрации колифага на четыре порядка, а уровень его инактивации достигал при этом 99,99967%.

Результаты исследований по оценке фотообеззараживающего действия профлавинов ацетата в концентрации 0,7 мг/л в отношении колифага MS2 при рН воды 9,08, представлены в таблице 16.

Как видно из материалов таблицы, при щелочных условиях среды (рН 9,08) после часа контакта в темноте под воздействием профлавинов ацетата концентрация колифагов снижается с $1,16 \pm 0,125 \times 10^7$ БОЕ/мл до $4,33 \pm 0,294 \times 10^6$ БОЕ/мл, разница статистически достоверна ($t > 2$). Процент инактивации колифагов при этом составляет 62,67%. После освечивания пробы в течение 30 минут отмечается падение концентрации на 3 логарифма до $2,3 \pm 0,294 \times 10^3$ БОЕ/мл. Инактивация колифагов в сравнении с исходным содержанием составляет 99,98%.

Результаты исследований по фотообеззараживающему эффекту профлавинов ацетата в отношении колифага MS2 при кислых значениях рН среды, представлены в таблице 17.

Таблица 16 - Сравнительная экологическая характеристика влияния профлавин ацетата в концентрации 0,7 мг/л при рН воды 9,08 на колифаг MS2

Вид пробы	№ п/п	Концентрация колифага MS-2		Инактивация,%
		БОЕ/ мл	M _{±m} , БОЕ/мл	
Контрольная	1	1,2x10 ⁷ БОЕ/мл	1,16±0,125x10 ⁷	–
	2	1,3x10 ⁷ БОЕ/мл		
	3	1,0x10 ⁷ БОЕ/мл		
Через 1 час контакта в темноте	1	4,3x10 ⁶ БОЕ/мл	4,33±0,294x10 ⁶	62,67
	2	4,7x10 ⁶ БОЕ/мл		
	3	4,0x10 ⁶ БОЕ/мл		
Через 30 мин. фотообеззараживания	1	2,4x10 ³ БОЕ/ мл	2,3±0,294x10 ³	99,98
	2	1,9x10 ³ БОЕ/ мл		
	3	2,6x10 ³ БОЕ/ мл		

Полученные результаты показывают, что после воздействия профлавин ацетата на колифаг в темноте в течение одного часа его концентрация снижается с $7,366 \pm 0,881 \times 10^6$ БОЕ/мл до $3,93 \pm 0,587 \times 10^6$ БОЕ/мл.

Таблица 17 - Сравнительная экологическая характеристика влияния профлавин ацетата в концентрации 0,7 мг/л при рН воды 5,0 на колифаг MS2

Вид пробы	№ п/п	Концентрация колифага MS2		Инактивация, %
		БОЕ/ мл	M _{±m} , БОЕ/мл	
Контрольная	1	6,0x10 ⁶ БОЕ/мл	7,366±0,881x10 ⁶	–
	2	8,0x10 ⁶ БОЕ/мл		
	3	8,1x10 ⁶ БОЕ/мл		
Через 1 час контакта в темноте	1	4,6x10 ⁶ БОЕ/мл	3,93±0,587x10 ⁶	46,64
	2	3,2x10 ⁶ БОЕ/мл		
	3	4,0x10 ⁶ БОЕ/мл		
Через 30 мин. фотообеззараживания	1	4,5x10 ¹ БОЕ/ мл	4,63±0,126x10 ¹	99,999
	2	4,6x10 ¹ БОЕ/ мл		
	3	4,8x10 ¹ БОЕ/ мл		

Таким образом, результаты проведенных исследований показали, что сенсibilизатор профлавин ацетат в концентрации 0,7 мг/л обладает максимальным фотообеззараживающим эффектом в отношении колифагов (99,999%) при кислых и нейтральных значениях рН воды. Сдвиг рН воды к

щелочным значениям (9,08) - снижает уровень инактивации колифагов до 99,98%.

Фотообеззараживающее действие метиленового голубого в отношении вирусного загрязнения воды в зависимости от рН

Данные исследований по оценке фотообеззараживающего действия метиленового голубого в концентрации 0,5 мг/л в отношении колифага MS2 при рН воды 7,1, представлены в таблице 18. Как видно из приведенных материалов, после экспозиции экспериментального водоема в течение часа в темноте, в присутствии метиленового голубого в концентрации 0,5 мг/л. отмечается незначительное снижение уровня колифага MS2 в сравнении с исходным с $2,5 \pm 0,88 \times 10^6$ БОЕ/мл до $2,0 \pm 0,902 \times 10^6$ БОЕ/мл.

Таблица 18 - Сравнительная экологическая характеристика влияния метиленового голубого в концентрации 0,5 мг/л на колифаг MS2 при рН воды 7,1

Вид пробы	№ п/п	Концентрация колифага MS-2		Инактивация в %
		БОЕ/ мл	M±m, БОЕ/мл	
Контрольная	1	1,7x10 ⁶ БОЕ/мл	2,5±0,88x10 ⁶	-
	2	3,8x10 ⁶ БОЕ/мл		
	3	1,2x10 ⁶ БОЕ/мл		
Через 1 час контакта в темноте	1	3,2x10 ⁶ БОЕ/мл	2,0±0,902x10 ⁶	20
	2	2,0x10 ⁶ БОЕ/мл		
	3	1,0x10 ⁶ БОЕ/мл		
Через 30 мин. фотообеззараживания	1	1 БОЕ/ мл	3,7±2,51	99,99986
	2	7 БОЕ/ мл		
	3	3 БОЕ/ мл		

Разница в изменении концентрации колифага статистически не достоверна ($t < 2$) свидетельствует об отсутствии у метиленового голубого в концентрации 0,5 мг/л выраженного вирулицидного действия. Уровень инактивации колифагов при этом составляет 20%. Последующее освечивание пробы в течение 30 минут приводило к интенсивному снижению концентрации колифага на пять порядков, а уровень его инактивации достигал при этом 99,99986%.

Результаты исследований по оценке фотообеззараживающего действия метиленовго голубого в концентрации 0,5 мг/л в отношении колифага MS2 при рН воды 9,05 представлены в таблице 19. Как видно из материалов таблицы, при щелочных условиях среды (рН 9,05) после часа контакта в темноте под воздействием метиленового голубого концентрация колифагов снижается на 6 порядков с $1,93 \pm 0,168 \times 10^6$ БОЕ/мл до 0 БОЕ/мл. Эти данные указывают на то, что в данных условиях эксперимента рН среды оказывает влияние на колифаг, а не фотосенсибилизатор.

После освечивания пробы в течение 30 минут инаktivация колифагов оставалась на уровне 100%.

Таблица 19 - Сравнительная экологическая характеристика влияния метиленового голубого в концентрации 0,5 мг/л на колифаг MS2 при рН воды 9,05

Вид пробы	№ п/п	Концентрация колифага MS2		Инаktivация, %
		БОЕ/ мл	$M \pm m$	
Контрольная	1	$1,7 \times 10^6$ БОЕ/мл	$1,93 \pm 0,168 \times 10^6$ БОЕ/мл	–
	2	$2,1 \times 10^6$ БОЕ/мл		
	3	$2,0 \times 10^6$ БОЕ/мл		
Через 1 час контакта в темноте	1	0 БОЕ/мл	БОЕ/мл	100
	2	0 БОЕ/мл		
	3	0 БОЕ/мл		
Через 30 мин. фотообеззараживания	1	0 БОЕ/10 мл	0 БОЕ/10 мл	100
	2	0 БОЕ/10 мл		
	3	0 БОЕ/10 мл		

Результаты исследований фотообеззараживающего эффекта метиленового голубого в отношении колифага MS2 при кислых значениях рН среды, представлены в таблице 20.

Полученные результаты показывают, что после воздействия метиленового голубого на колифаг в темноте в течение одного часа его концентрация снижается с $4,9 \pm 0,6279 \times 10^6$ БОЕ/мл до $2,4 \pm 1,4226 \times 10^6$ БОЕ/мл. Проведенная статистическая обработка показала, что полученная разница статистически не достоверна и свидетельствует об отсутствии у этого фотосенсибилизатора вирулицидных свойств при кислых значениях рН среды.

Последующее освечивание пробы в течение 30 минут приводит к снижению концентрации на 7 порядков с $4,9 \pm 0,6279 \times 10^6$ БОЕ/мл до 0 БОЕ/10 мл. Инактивация колифагов при этом составляла 100%.

Анализ полученных результатов показал, что сенсibilизатор метиленовый голубой в концентрации 0,5 мг/л обладает максимальным фотобеззараживающим эффектом в отношении колифагов (100-99,99972%.) при кислых и нейтральных значениях рН воды. При сдвиге рН воды к щелочным значениям (9,0) – полная инактивация колифагов отмечается уже после контакта с фотосенсibilизатором в течение часа в темноте, что указывает на влияние рН среды непосредственно на колифаг.

Таким образом, метиленовый голубой в концентрации 0,5 мг/л является высокоактивным фотосенсibilизатором, действие которого в отношении вирусов сохраняется при нейтральных и кислых значениях рН воды.

Таблица 20 - Сравнительная экологическая характеристика влияния метиленового голубого в концентрации 0,5 мг/л на колифаг MS2 при рН воды 5,0

Вид пробы	№ п/п	Концентрация колифага MS-2		Инактивация в %
		БОЕ/ мл	$M \pm m$, БОЕ/мл	
Контрольная	1	$5,4 \times 10^6$ БОЕ/мл	$4,9 \pm 0,6279 \times 10^6$	–
	2	$5,5 \times 10^6$ БОЕ/мл		
	3	$4,0 \times 10^6$ БОЕ/мл		
Через 1 час контакта в темноте	1	$4,6 \times 10^6$ БОЕ/мл	$2,4 \pm 1,4226 \times 10^6$	51,02
	2	$3,2 \times 10^6$ БОЕ/мл		
	3	$4,0 \times 10^6$ БОЕ/мл		
Через 30 мин. фотообеззараживания	1	0 БОЕ/10 мл	0	100
	2	0 БОЕ/10 мл		
	3	0 БОЕ/10мл		

Для определения параметров фотообеззараживания воды при щелочных значениях рН воды, целесообразно провести дополнительные исследования при рН 7,5; 8,0; 8,5.

Фотообеззараживающее действие фотосенсibilизаторов в отношении вирусного загрязнения воды в зависимости от рН

Целью настоящего раздела исследований явилось изучение фотообеззараживающего действия на колифаг MS2 в концентрации 0,5 мг/л в зависимости от рН воды. Результаты проведенных исследований данной концентрации при рН 7,03 представлены в таблице 21. Как видно из приведенных данных, при исходном уровне колифагов $1,87 \pm 0,67 \times 10^5$ при нейтральных значениях рН воды под воздействием в концентрации 0,5 мг/л в темноте в течение часа отмечается снижение концентрации колифагов на 6 порядков, что составляет 100% инактивации. После освечивания инактивация колифагов сохранилась на прежнем уровне.

Таким образом, полученные данные показали, что в концентрации 0,5 мг/л обладает мощным вирулицидным действием в отношении колифага MS2. Уровень исследований по влиянию щелочных значений рН (9,04) воды на уровень фотообеззараживания в концентрации 0,5 мг/л в отношении фотообеззараживающего действия в этих условиях не выявлен (таблица 22).

Таблица 21 - Сравнительная экологическая характеристика влияния в концентрации 0,5 мг/л на колифаг MS2 при рН 7,03

Вид пробы	№ п/п	Концентрация колифага MS2		Инактивация, %
		БОЕ/ мл, 10 мл	$M \pm m$, БОЕ/мл	
Контрольная	1	$1,0 \times 10^5$ БОЕ/мл	$1,87 \pm 0,67 \times 10^5$	—
	2	$2,0 \times 10^5$ БОЕ/мл		
	3	$2,6 \times 10^5$ БОЕ/мл		
Через 1 час контакта в темноте	1	0 БОЕ/10мл	0	100
	2	0 БОЕ/10мл		
	3	0 БОЕ/10мл		
Через 30 мин. Фотообеззараживания	1	0 БОЕ/10 мл	0	100
	2	0 БОЕ/10 мл		
	3	0 БОЕ/10мл		

Результаты исследований по влиянию щелочных значений рН (9,04) воды на уровень фотообеззараживания в концентрации 0,5 мг/л в отношении колифагов, представлены в таблице 22. Как видно из данных

таблицы, после контакта колифагов в темноте отмечается также, как и при нейтральных. Данные по влиянию концентрации 0,5 мг/л при кислых значениях рН воды на колифаг, представлены в таблице 23.

Полученные материалы показывают падение концентрации колифагов на 6 порядков, что свидетельствует о сохранении вирулицидных свойств этого вещества и при щелочных значениях рН воды.

Таблица 22 - Сравнительная экологическая характеристика влияния в концентрации 0,5 мг/л на колифаг MS2 при рН 9,04

Вид пробы	№ п/п	Концентрация колифага MS-2		Инактивация, %
		БОЕ/мл, 10 мл	$M \pm m$, БОЕ/мл	
Контрольная	1	$1,0 \times 10^5$ БОЕ/мл	$1,73 \pm 0,5 \times 10^5$	—
	2	$2,0 \times 10^5$ БОЕ/мл		
	3	$2,2 \times 10^5$ БОЕ/мл		
Через 1 час контакта в темноте	1	0 БОЕ/ ₁₀ мл	0	100
	2	0 БОЕ/ ₁₀ мл		
	3	0 БОЕ/ ₁₀ мл		
Через 30 мин. фотообеззараживания	1	0 БОЕ/ ₁₀ мл	0	100
	2	0 БОЕ/ ₁₀ мл		
	3	0 БОЕ/ ₁₀ мл		

Таблица 23 - Сравнительная экологическая характеристика влияния в концентрации 0,5 мг/л на колифаг MS2 при кислых значения рН

Вид пробы	№ п/п	Концентрация колифага MS-2		Инактивация, в %
		БОЕ/мл, 10 мл	$M \pm m$, БОЕ/мл	
Контрольная	1	$1,0 \times 10^5$ БОЕ/мл	$4,1 \pm 2,6 \times 10^5$	—
	2	$4,1 \times 10^5$ БОЕ/мл		
	3	$7,2 \times 10^5$ БОЕ/мл		
Через 1 час контакта в темноте	1	$6,0 \times 10^1$ БОЕ/мл	$5,0 \pm 2,94 \times 10^1$	99,878
	2	$8,0 \times 10^1$ БОЕ/мл		
	3	$1,0 \times 10^1$ БОЕ/мл		
Через 30 мин. фотообеззараживания	1	0 БОЕ/ ₁₀ мл	0	100
	2	0 БОЕ/ ₁₀ мл		
	3	0 БОЕ/ ₁₀ мл		

Уровень фотообеззараживания колифагов в этих условиях выявить не удалось (таблица 22).

После контактов в темноте в течение часа с колифагом отмечается падение концентрации MS2 с 10^5 БОЕ/мл до 10^1 БОЕ/мл, т.е. на 4 порядка.

Уровень инаktivации колифагов при этих условиях составлял 99,88%. Дальнейшее освечивание в течение 30 минут приводило к 100% инаktivации колифагов, что свидетельствует о том, что при кислых значениях pH воды сохраняется фотообеззараживающий эффект (таблица 23). Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что при нейтральном и щелочном значениях pH воды в концентрации 0,5 мг/л обладает, прежде всего, мощным вирулицидным действием, что приводит после контакта с веществом в течение часа в темноте к 100% инаktivации колифагов. Т.е. в данных условиях эксперимента не удалось выявить уровень фотообеззараживающего эффекта. При сдвиге pH воды к кислым значениям (5,03) отмечается некоторое снижение уровня инаktivации колифагов – до 99,88% при контакте с веществом в темноте в течение часа. Дальнейшее падение концентрации колифагов после освечивания до 0 БОЕ/10мл указывает на сохранение фотообеззараживающего эффекта у при кислых значениях pH воды.

Экологичное фотообеззараживающее действие метиленового голубого в отношении колифагов в условиях естественного микробиоценоза поверхностных водоемов

Результаты ранее проведенных экспериментов показали перспективность использования фотосенсибилизаторов, а именно метиленового голубого, для обеззараживания воды в отношении колифагов. В этой связи задачей настоящего раздела являлось изучение в экспериментальных условиях фотообеззараживающего эффекта метиленового голубого в концентрации 0,5 мг/л в отношении колифагов в условиях естественного микробиоценоза поверхностных водоемов. Исследования проводились в экспериментальных условиях модельного водоема (вода поверхностного водоема с дополнительным внесением колифага MS2).

В качестве модели кишечных вирусов использовали колифаг MS2 (штамм ВКПМ РН 1505), который был получен из Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов «ГосНИИгенетика». Для выделения колифагов из исследуемых проб в качестве лизабельной культуры использовали штамм кишечной палочки *E. coli* K-12 В3254. Этот штамм позволяет выделять, как «дикие» штаммы колифагов, циркулирующие в воде различных водоемов, так и модельный штамм MS2.

Колифаг на газоне суточной культуры *E.coli* через 24 часа образует литические пятна – бляшки. Концентрацию колифагов выражали в бляшкообразующих единицах (БОЕ) в 1 или 10 мл исследуемой пробы.

Для создания экспериментальных водоемов использовали воду поверхностного водоема, в которую дополнительно вносили колифаги, создавая его концентрацию на уровне 10^2 и 10^6 БОЕ/мл. Характеристика воды данного экспериментального водоема по основным параметрам, представлены в таблице 24.

Таблица 24 – Экологическая характеристика и качество воды поверхностного водоисточника

№ п/п	Исследованные показатели	Параметр показателя	Норматив показателя по СанПин 2.1.5.980-00
1.	Мутность	1,4 мг/дм ³	1,5 мг/дм ³
2.	Цветность	48 ⁰	20 ⁰
3.	РН	8,6	6,5- 8,5
4.	Хлориды	9,0 мг/дм ³	-
5.	Окисляемость перманганатная	10,4мгО ₂ /дм ³	-
6.	Железо	0,17мг/дм ³	0,3 мг/дм ³
7.	Взвешанные вещества	0,18 мг/дм ³	0,25 мг/дм ³
8.	Биохимическое потребление кислорода (БПК ₅)	0,7 мгО ₂ /дм ³	2-4 мгО ₂ /дм ³
9.	Химическое потребление кислорода (ХПК)	8,0 мгО ₂ /дм ³	15-30 мгО ₂ /дм ³
10.	Общее микробное число	40 КОЕ/мл	-
11.	Термотолерантные колиформные бактерии (ТБК)	2 КОЕ/100 мл	Не более 100 КОЕ/100мл
12.	Общие колиформные бактерии	40 КОЕ/100 мл	Не более 1000 КОЕ/100мл
13.	Колифаги	10 БОЕ/100 мл	Не более 10 БОЕ/100 мл

Наличие в воде экспериментального водоема колифагов в концентрации 10 БОЕ/100 мл, циркулирующих в воде данного водоема, свидетельствует о том, что влияние метиленового голубого будет оцениваться по изменению концентрации комплекса колифагов. В состав этого комплекса включаются «дикие» штаммы колифагов, присутствующие изначально в воде поверхностного водоема, а также внесенный модельный штамм MS2. При этом концентрация колифагов MS2 значительно преобладала над уровнем «диких» штаммов колифагов.

После внесения колифага MS2 отбирали контрольные пробы для определения исходного уровня данного микроорганизма.

Метиленовой голубой вносили в экспериментальные поверхностные водоемы и оставляли в темноте в течение 1 часа на контакт при комнатной температуре. Оценку фотообеззараживающего действия сенсбилизатора определяли при времени освечивания 30 минут при температуре 10-12°C. Определение колифагов в отобранных пробах проводили прямым методом в соответствии с документами водно-санитарного законодательства: МУК 4.2.1018-01 «Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды» и МУК 4.2.1884-04 «Санитарно-микробиологический и санитарно-паразитологический анализ воды поверхностных водных объектов». Каждый эксперимент проводили в четырех повторностях.

Результаты проведенных исследований по влиянию метиленового голубого концентрации 0,5 мг/л на колифаги при исходном уровне 10² БОЕ/мл в условиях естественного микробиоценоза, представлены в таблице 25.

Как видно из представленных в таблице 25 данных, при исходной концентрации колифагов на уровне 10² БОЕ/мл (435 ± 25,3 БОЕ/мл) после фотообеззараживания воды в течение 30 минут колифаги не выделялись из 10 мл пробы.

Таблица 25 - Сравнительная характеристика влияния метиленового голубого в концентрации 0,5 мг/л на колифаги при исходном уровне 10^2 БОЕ/мл

Вид пробы	№ п/п	Уровень колифагов 10^2		% инактивации
		БОЕ/ ₁₋₁₀ мл	$M \pm m$, БОЕ/ ₁₀ мл	
Контрольная	1	200 БОЕ/ _{мл}	435 \pm 25,3	-
	2	500 БОЕ/ _{мл}		
	3	540 БОЕ/ _{мл}		
	4	500 БОЕ/ _{мл}		
После фотообеззараживания	1	0 БОЕ/ ₁₀ мл	0	100
	2	0 БОЕ/ ₁₀ мл		
	3	0 БОЕ/ ₁₀ мл		
	4	0 БОЕ/ ₁₀ мл		

Таким образом, эффект фотообеззараживания сопровождался интенсивным снижением уровня колифагов не менее чем на 3 порядка. При этом процент инактивации колифага составлял 100 %.

В таблице 26 представлены данные по влиянию метиленового голубого на колифаги в условиях естественного микробиоценоза при увеличении содержания их в воде до уровня 10^6 БОЕ/мл. Приведенные в таблице 26 данные показывают, что при увеличении концентрации колифагов в исследуемом экспериментальном водоеме до 10^6 БОЕ/мл ($2,67 \pm 0,36 \times 10^6$ БОЕ/мл) после фотообеззараживания в течение 30 минут из 10 мл пробы колифаги также не выделялись (0 БОЕ/10 мл).

Полученные данные свидетельствуют о том, что в данных условиях при 100% эффективности фотообеззараживания, снижение уровня колифагов составляет не менее чем 7 порядков.

Сравнительный анализ этих материалов с результатами ранее проведенных исследований, позволил установить, что в условиях

микробиоценоза поверхностных водоемов и естественной органической нагрузки, метиленовый голубой в концентрации 0,5 мг/л сохраняет свои фотообеззараживающие свойства в отношении колифагов.

Таблица 26 - Сравнительная экологическая характеристика влияния метиленовго голубого в концентрации 0,5 мг/л на колифаги при исходном уровне 10^6 БОЕ/мл

Вид пробы	№ п/п	Уровень колифагов 10^6		% инаktivации
		БОЕ/ $1-10$ мл	$M \pm m$, БОЕ/ 10 мл	
Контрольная	1	$3,07 \times 10^6$ БОЕ/мл	$2,67 \pm 0,36 \times 10^6$	-
	2	$3,0 \times 10^6$ БОЕ/мл		
	3	$1,7 \times 10^6$ БОЕ/мл		
	4	$3,07 \times 10^6$ БОЕ/мл		
После фотообеззараживания	1	0 БОЕ/ 10 мл	0	100
	2	0 БОЕ/ 10 мл		
	3	0 БОЕ/ 10 мл		
	4	0 БОЕ/ 10 мл		

Следует отметить, что эффективность фотообеззараживания колифагов при действии метиленового голубого в концентрации 0,5 мг/л, как в водопроводной воде, так и в воде поверхностного водоема была равнозначной и достигала 100%.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что органическое загрязнение поверхностных водоемов, включая естественный микробиоценоз, не оказывают существенного влияния на эффективность обеззараживания воды метиленовым голубым в концентрации 0,5 мг/л в отношении колифагов колифагов на уровне 10^2 БОЕ/мл. Сопоставление полученных данных с ранее полученными материалами о том, что снижение концентрации колифагов в водопроводной воде на 7 порядков (при исходном содержании 10^6 БОЕ/мл) отмечалось также и при времени овечивания на уровне 15 минут, позволяет предположить, что данный эффект может иметь место и в воде поверхностных водоемов.

Экологичность действия сенсibilизаторов в отношении санитарно-показательных микроорганизмов в зависимости от органического загрязнения воды

Целью данного этапа работы явилось изучение фотообеззараживающего действия сенсibilизаторов в отношении штаммов санитарно-показательных микроорганизмов в зависимости от органического загрязнения воды. Задача заключалась в сравнительной оценке эффективности бактерицидного действия трех сенсibilизаторов: октакис {N-(2-гидроксиэтил)-N,N-диметиламмонийметил} фталоцианин цинка октахлорид, профлавина ацетата и метиленового голубого в отношении штамма музейной культуры *E. coli* 1257, как санитарно-показательного грамотрицательного микроорганизма, и грамположительных микроорганизмов: патогенного стафилококка (*S. aureus*, штамм 960) и энтерококка (*Ent. faecalis*, штамм 29212) в режиме освечивания 30 минут в зависимости от органического загрязнения воды.

Из всего многообразия химических органических веществ для исследования выбран пептон ферментативный (ГОСТ 13805-76). Он является наиболее адекватной моделью загрязнения воды водоемов легкоусвояемыми органическими веществами. В большинстве случаев его используют в составе питательных сред как источник основных питательных веществ, необходимых для роста микроорганизмов. Фракции пептона могут быть определены методом окисления перманганата калия. Наличие в воде легкоусвояемого органического вещества контролируется методом определения перманганатной окисляемости и выражается мг O₂/л.

Этот показатель при санитарно-химических исследованиях воды является интегральным, характеризующим степень хозяйственно-бытового загрязнения, поступающего со сточными водами в поверхностные водоемы, а также с другими источниками результатов хозяйственной, транспортной, рекреационной деятельности. Кроме того, легкоусвояемое органическое вещество образуется в воде водоемов в результате биологических процессов вегетирования микробиоценозов, например, в периоды «цветения» -

массового развития сине-зеленых водорослей. Уровень усвояемого органического вещества в водоемах характеризует процессы загрязнения и самоочищения воды и нормируется в ГОСТ 2761-84 «Источники централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения».

В таблице 27 приведены уровни органического загрязнения по показателю окисляемость перманганатная в мгО₂/л, характеризующее качество воды источников водоснабжения по классам.

Разделение источников по степени загрязнения по классам позволяет ориентироваться в выборе схемы очистки и обеззараживания и реагента для каждого водоисточника.

Гигиеническая значимость показателя окисляемость перманганатная определила выбор органического вещества (пептона) в качестве модели при решении поставленной задачи изучения влияния различных уровней органических веществ на процессы фотодинамического обеззараживания воды. Пептон по своему составу наиболее адекватно отражает характер органического хозяйственно бытового и природного загрязнения.

Таблица 27 - Характеристика качества воды источника водоснабжения по показателю перманганатная окисляемость (мгО₂/л)

Источник водоснабжения	Классы водоисточника, не более		
	1	2	3
Подземный	2	5	15
Поверхностный	7	15	20

Фотообеззараживающий эффект трех фотосенсибилизаторов в двух концентрациях оценен в отношении *E. coli* в воде модельных водоемов с тремя уровнями органического загрязнения (см. п. 2 «Материалы и методы исследований»).

Экологичность действия сенсibilизаторов в зависимости от концентрации в отношении Гр отрицательного микроорганизма (*E. coli* 1257) в зависимости от органического загрязнения воды

В таблице 28 представлены результаты исследований по изучению фотообеззараживающего действия наштамм *E. coli* 1257 катионного фталоцианина цинка при концентрации 0,15 мг/л и 0,5 мг/л в зависимости от концентрации 0,15 мг/л и 0,5 мг/л в зависимости от уровня органического загрязнения воды модельных водоемов при времени освечивания 30 минут. Установлена высокая эффективность (100%) фотообеззараживающего действия изученных концентраций сенсibilизатора на штамм *E. coli* 1257 при уровнях органического загрязнения воды модельных водоемов 2,56; 6,56; 22 мгО/л.

Таблица 28 - Экологичность действия сенсibilизатора катионного фталоцианина цинка в отношении грамотрицательного штамма *E. coli* 1257 в зависимости от органического состава воды при времени освечивания 30 мин

Тест-микроорганизмы	Содержание органического вещества в воде водоемов								
	2,56 мгО ₂ /л			6,56 мгО ₂ /л			22,0 мгО ₂ /л		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
	Концентрация фталоцианина цинка 0,15 мг/л								
<i>E.coli</i> 1257	4,8·10 ⁶	0	100	5·10 ⁶	0	100	4,3·10 ⁶	0	100
	Концентрация фталоцианина цинка 0,5 мг/л								
<i>E.coli</i> 1257	4,8·10 ⁶	0	100	5·10 ⁶	0	100	4,3·10 ⁶	0	100

Примечание: 1 - исходный уровень заражения, КОЕ/100 мл; 2-после фотообеззараживания, КОЕ/100 мл; 3- эффективность в %.

Полученные данные указывают на то, что с существенным увеличением органического вещества в воде до уровня требований к 3 классу водоисточника не произошло снижения фотообеззараживающего эффекта фталоцианина цинка в концентрации 0,15 и 0,5 мг/л в отношении основного индикаторного микроорганизма *E. coli*.

В таблице 29 представлены результаты исследований по изучению влияния сенсibilизатора профлавина ацетата в концентрациях 0,5 и 1,0 мг/л на тест-микроорганизм *E. coli* 1257 в зависимости от уровней органического загрязнения воды модельных водоемов. Установлено высокое (100%) фотообеззараживающее действие на штамм *E. coli* 1257 сенсibilизатора в концентрации 1,0 мг/л при времени освечивания 30 минут независимо от изученных уровней органического загрязнения воды модельных водоемов.

При уровне органического вещества 22,0 мгО₂/л после освечивания обнаружены единичные клетки *E.coli* в посеянном объеме пробы, что при высококомисходном уровне заражения 4,3·10⁶ КОЕ/100 мл представляет практически полное обеззараживание (эффективность 99,998 %). При изучении воздействия профлавина ацетата в концентрации 0,5 мг/л на кишечную палочку

Таблица 29 - Экологичность действия сенсibilизатора профлавина ацетата в отношении грамтрицательного штамма *E. coli* 1257 в зависимости от органического состава воды при времени освечивания 30 мин

Тест-микроорганизмы	Содержание органического вещества в воде водоемов								
	2,56 мгО ₂ /л			6,56 мгО ₂ /л			22,0 мгО ₂ /л		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
	Концентрация профлавина ацетата 0,5 мг/л								
<i>E.coli</i> 1257	4,8·10 ⁶	29000	99,40	5·10 ⁶	59000	98,82	4,3·10 ⁶	470	99,99
	Концентрация профлавина ацетата 1,0 мг/л								
<i>E.coli</i> 1257	4,8·10 ⁶	0	100	5·10 ⁶	0	100	4,3·10 ⁶	0	100

Примечание: 1 - исходный уровень заражения, КОЕ/100 мл; 2-после фотообеззараживания, КОЕ/100 мл; 3- эффективность в %.

установлено существенное уменьшение эффективности обеззараживания и выявлена зависимость этого процесса от уровней органического загрязнения.

Так, в нативной водопроводной воде (перманганатная окисляемость 2,56 млО₂/л) и в водоемах при небольшом уровне пептона (перманганатная окисляемость 6,56 млО₂/л, первый класс поверхностных водосточников), в

воде после обеззараживания обнаружены десятки тысяч КОЕ/100 мл кишечных палочек, что составляет 99,4 и 98,92 % эффективности соответственно.

При увеличении органического вещества в воде модельных водоемов до экстремального уровня 22,0 мгО₂/л эффективность обеззараживания существенно возросла до 99,99 %. Число жизнеспособных клеток *E.coli* по сравнению с исходным уровнем снизилась на 4 порядка и составила всего 470 КОЕ/100 мл, что допустимо для воды водоемов в местах водозаборов и рекреации в соответствии с СанПин 2.1.5.980-00.

В таблице 30 представлены результаты исследований по изучению влияния сенсibilизатора метиленового голубого в концентрациях 0,5 и 1,0 мг/л на тест-микрoорганизм *E. coli* в зависимости от уровней органического загрязнения воды модельных водоемов. В полученных материалах установлена высокая эффективность (100%) фотообеззараживающего действия метиленового голубого на клетки палочек, эффективность обеззараживания составила 99,99%. *E. coli* в концентрации 1,0 мг/л. В нативной воде при этой же концентрации сенсibilизатора после освечивания обнаружены 200 КОЕ/100 мл кишечных палочек.

Таблица 30 – Экологичность действия сенсibilизатора метиленового голубого в отношении грамoтрицательного штамма *E. coli* 1257 в зависимости от органического состава воды при времени освечивания 30 мин

Тест-микрoорганизмы	Содержание органического вещества в воде водоемов								
	2,56 мгО ₂ /л			6,56 мгО ₂ /л			22,0 мгО ₂ /л		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
	Концентрация метиленового голубого 0,5 мг/л								
<i>E.coli</i> 1257	4,8·10 ⁶	1000	99,98	5·10 ⁶	8200	99,84	4,3·10 ⁶	0	100
	Концентрация метиленового голубого 1,0 мг/л								
<i>E.coli</i> 1257	4,8·10 ⁶	200	99,99	5·10 ⁶	0	100	4,3·10 ⁶	0	100

Примечание: 1 - исходный уровень заражения, КОЕ/100 мл; 2-после фотообеззараживания, КОЕ/100 мл; 3- эффективность в %.

При изучении эффективности обеззараживания метиленового голубого в концентрации 0,5 мг/л выявлено влияние различных уровней органического загрязнения на бактерицидное действие сенсibilизатора. В модельном водоеме с нативной водопроводной водой после освечивания в присутствии метиленового голубого в концентрации 0,5 мг/л было выделено 1000 КОЕ/100 мл кишечных палочек (99,98 % эффективности). При незначительном увеличении концентрации органического вещества (до 6,56 мг/л) эффект обеззараживания снизился до 99,84% при числе КОЕ кишечных палочек 8200 на 100 мл. Как в том, так и в другом случае число кишечных палочек после освечивания снизилось на 3 порядка в 1000 раз по сравнению с исходным уровнем. Полученные колебания численности бактерий при первом и втором уровне органического загрязнения не существенны.

Что касается воды водоема с высоким уровнем органического загрязнения 22,0 мгО₂/л, то наблюдалось значительное увеличение бактерицидного действия метиленового голубого в концентрации 0,5 мг/л до полного отсутствия кишечных палочек после освечивания (100% эффективность).

Экологическое фотообеззараживающее действие сенсibilизаторов в отношении грамположительных микроорганизмов (*S. aureus* и *Ent. faecalis*) в зависимости от органического загрязнения воды

В данном эксперименте в условиях различного уровня загрязнения воды органическими веществами было изучено действие фотосенсibilизаторов на патогенные и индикаторные грамположительные микроорганизмы *S.aureus* и *Ent. faecalis*, которые считаются устойчивыми к различным факторам окружающей среды. В частности *Ent.faecalis* устойчив к сдвигу рН среды в щелочную область, повышенному содержанию солей, температуре, высушиванию.

В таблицах 31 и 32 представлены результаты исследований по изучению фотообеззараживающего действия катионного фталоцианин цинка в

концентрациях 0,15 мг/л и 0,5 мг/л на *S.aureus* и *Ent.faecalis* в зависимости от уровня органического загрязнения воды модельных водоемов при времени освечивания 30 минут.

Таблица 31 - Экологическое действие катионного фталоцианина цинка в отношении *S. aureus* 906 в зависимости от органического состава воды при времени освечивания 30 мин

Тест-микрорганизмы	Содержание органического вещества в воде водоемов								
	2,56 мгО ₂ /л			6,56 мгО ₂ /л			22,0 мгО ₂ /л		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
	Концентрация а фталоцианина цинка 0,15 мг/л								
<i>S. aureus</i> 906	4,6·10 ⁶	0	100	3,3·10 ⁶	0	100	4,4·10 ⁶	0	100
	Концентрация фталоцианина цинка 0,5 мг/л								
<i>S. aureus</i> 906	4,6·10 ⁶	0	100	3,3·10 ⁶	0	100	4,4·10 ⁶	0	100

Примечание: 1 - исходный уровень заражения, КОЕ/100 мл; 2-после фотообеззараживания, КОЕ/100 мл; 3- эффективность в %.

Во всех изученных вариантах установлена 100% эффективность фталоцианина цинка независимо от концентрации как сенсibilизатора, так и органического вещества в отношении *S. aureus*.

Что касается *Ent.faecalis*, то в воде модельного водоема при уровне органического загрязнения 6,0 мгО₂/л не было достигнуто полного обеззараживания, хотя действие сенсibilизатора было эффективным – снижение уровня энтерококков произошло на 4 порядка с 3,2·10⁶ до 10 КОЕ/100 мл – эффективность 99,9997%.

Таблица 32 - Экологическое действие катионного фталоцианина цинка в отношении грамположительного штамма *Ent. faecalis* 29212 в зависимости от органического состава воды при времени освечивания 30 мин

Тест-микроорганизмы	Содержание органического вещества в воде водоемов								
	2,56 мгО ₂ /л			6,56 мгО ₂ /л			22,0 мгО ₂ /л		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
	Концентрация фталоцианина цинка 0,15 мг/л								
Ent. faecalis 29212	2,3·10 ⁶	0	100	3,2·10 ⁶	10	99,9997	3,5·10 ⁶	0	100
	Концентрация фталоцианина цинка 0,5 мг/л								
Ent. faecalis 29212	2,3·10 ⁶	0	100	3,2·10 ⁶	0	100	3,5·10 ⁶	0	100

Примечание: 1 - исходный уровень заражения, КОЕ/100 мл; 2-после фотообеззараживания, КОЕ/100 мл; 3- эффективность в %.

Полученные данные указывают на то, что с существенным увеличением органического вещества в воде до уровня требований 3 класса водоисточника не произошло снижения фотообеззараживающего эффекта фталоцианин цинка в концентрации 0,15 и 0,5 мг/л в отношении патогенных и индикаторных грамположительных микроорганизмов *S.aureus* и *Ent.faecalis*.

В таблицах 33 и 34 представлены результаты исследований по изучению влияния сенсibilизатора метиленового голубого в концентрациях 0,5 и 1,0 мг/л на тест-микроорганизмы *S.aureus* и *Ent.faecalis* в зависимости от уровней органического загрязнения воды модельных водоемов.

Таблица 33 - Экологическое действие сенсibilизатора метиленового голубого в отношении штамма *S. aureus* 906 в зависимости от органического состава воды при времени освечивания 30 мин

Тест-микроорганизмы	Содержание органического вещества в воде водоемов								
	2,56 мгО ₂ /л			6,56 мгО ₂ /л			22,0 мгО ₂ /л		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
	Концентрация метиленового голубого 0,5 мг/л								
<i>S. aureus</i> 906	4,6·10 ⁶	0	100	3,3·10 ⁶	0	100	4,4·10 ⁶	50	99,9989
	Концентрация метиленового голубого 1,0 мг/л								
<i>S. aureus</i> 906	4,6·10 ⁶	0	100	3,3·10 ⁶	0	100	4,4·10 ⁶	0	100

Примечание: 1 - исходный уровень заражения, КОЕ/100 мл; 2-после фотообеззараживания, КОЕ/100 мл; 3- эффективность в %.

В полученных материалах показана высокая эффективность (100%) фотообеззараживающего действия метиленового голубого на бактерии *S.aureus* и *Ent.faecalis* в концентрации 1,0 мг/л во всех вариантах опыта, а

также при концентрации 0,5 мг/л при содержании в воде модельных водоемов низких уровней органического вещества 2,56 и 6,0 мгО₂/л.

При максимальном уровне органического загрязнения (20,0 мгО₂/л) обеззараживание в присутствии метиленового голубого в концентрации 0,5 мг/л было не полным, в воде остались 200 жизнеспособных клеток энтерококков (99,9942% эффективности).

Таблица 34 - Экологическое действие сенсibilизатора метиленового голубого в отношении штамма *Ent. faecalis* 29212 в зависимости от органического состава воды при времени освечивания 30 мин

Тест-микроорганизмы	Содержание органического вещества в воде водоемов								
	2,56 мгО ₂ /л			6,56 мгО ₂ /л			22,0 мгО ₂ /л		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
	Концентрация метиленового голубого 0,5 мг/л								
<i>Ent. faecalis</i> 29212	2,3·10 ⁶	0	100	3,2·10 ⁶	0	100	3,5·10 ⁶	200	99,9942
	Концентрация метиленового голубого 1,0 мг/л								
<i>Ent. faecalis</i> 29212	2,3·10 ⁶	0	100	3,2·10 ⁶	0	100	3,5·10 ⁶	0	100

Примечание: 1 - исходный уровень заражения, КОЕ/100 мл; 2-после фотообеззараживания, КОЕ/100 мл; 3- эффективность в %.

Этот же вариант опыта оказался менее эффективным и в отношении *S. aureus* (50 КОЕ/100мл, эффективность 99,89%), что говорит о некоторой закономерности влияния высокого уровня органического вещества на эффективность фотобеззараживающего действия метиленового голубого.

В таблицах 35 и 36 представлены результаты экспериментальных исследований по изучению влияния сенсibilизатора профлавина ацетата в концентрациях 0,5 и 1,0 мг/л на тест-микроорганизмы *S. aureus* и *Ent. faecalis* в зависимости от уровней органического загрязнения воды модельных водоемов. Установлено высокое (100%) фотобеззараживающее действие на штаммы указанных грамположительных бактерий сенсibilизатора в концентрации 1,0 мг/л при времени освечивания 30 минут не зависимо от изученных уровней органического загрязнения воды модельных водоемов. Однако, при уровне органического вещества 20,0 мгО₂/л после освечивания обнаружены единичные клетки *S. aureus* в посеянном объеме пробы, что при

высоком исходном уровне заражения $4,4 \cdot 10^6$ КОЕ/100 мл представляет практически полное обеззараживание (эффективность 99,9934 %). Обнаружение единичных клеток энтерококков при среднем уровне органического загрязнения $6,0 \text{ мгО}_2/\text{л}$ также можно считать случайным, что подтверждает высокая эффективность (99,998%) действия профлавина ацетата в концентрации $1,0 \text{ мг/л}$.

Таблица 35 - Экологическое действие сенсibilизатора профлавина ацетата в отношении штамма *S. aureus* 906 в зависимости от органического состава воды при времени освечивания 30 мин

Тест-микроорганизмы	Содержание органического вещества в воде водоемов								
	2,56 мгО ₂ /л			6,56 мгО ₂ /л			22,0 мгО ₂ /л		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
	Концентрация профлавина ацетата 0,5 мг/л								
<i>S. aureus</i> 906	$4,6 \cdot 10^6$	10	99,997	$3,3 \cdot 10^6$	24	99,992	$4,4 \cdot 10^6$	29	99,993
		0	8		0	7		0	4
	Концентрация профлавина ацетата 1,0 мг/л								
<i>S. aureus</i> 906	$4,6 \cdot 10^6$	0	100	$3,3 \cdot 10^6$	0	100	$4,4 \cdot 10^6$	5	99,999
									9

Примечание: 1 - исходный уровень заражения, КОЕ/100 мл; 2-после фотообеззараживания, КОЕ/100 мл; 3- эффективность в %.

Таблица 36 - Экологическое действие сенсibilизатора профлавина ацетата в отношении штамма *Ent. faecalis* 29212 в зависимости от органического состава воды при времени освечивания 30 мин

Тест-микроорганизмы	Содержание органического вещества в воде водоемов								
	2,56 мгО ₂ /л			6,56 мгО ₂ /л			22,0 мгО ₂ /л		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
	Концентрация профлавина ацетата 0,5 мг/л								
<i>Ent. faecalis</i> 29212	$2,3 \cdot 10^6$	10	99,9996	$3,2 \cdot 10^6$	4200	99,8688	$3,5 \cdot 10^6$	20	99,9994
	Концентрация профлавина ацетата 1,0 мг/л								
<i>Ent. faecalis</i> 29212	$2,3 \cdot 10^6$	0	100	$3,2 \cdot 10^6$	5	99,9998	$3,5 \cdot 10^6$	0	100

Примечание: 1 - исходный уровень заражения, КОЕ/100 мл; 2-после фотообеззараживания, КОЕ/100 мл; 3- эффективность в %.

Концентрация профлавина ацетата 0,5 мг/л оказалась не достаточно эффективной как в отношении *S. aureus* так и в отношении *Ent. faecalis*. В воде модельных водоемов при трех уровнях органического загрязнения после освечивания с профлавином ацетатом обнаружены сотни клеток *S. aureus* в 100 мл пробы, что при достаточно высоком исходном уровне заражения показало высокую эффективность (99,9978-99,9927 %). Снижение числа жизнеспособных клеток по сравнению с исходным значением составило 4 порядка. Однако, учитывая патогенные свойства стафилококка, содержание этого микроорганизма в питьевой воде и воде плавательных бассейнов не допускается. В местах рекреации число *S. aureus* в 100 мл не должно превышать единичных клеток.

В отношении *Ent. faecalis* наиболее низкий эффект обеззараживающего действия профлавина ацетата в концентрации 0,5 мг/л получен при среднем уровне органического вещества 6,0 мгО₂/л. В этом модельном водоеме в пробе воды после освечивания осталось 4200 КОЕ/100 мл жизнеспособных клеток *Ent. faecalis* (эффективность 99,8688%).

Таким образом, не удалось получить наличия закономерного влияния различных концентраций органического вещества на эффективность действия трех изученных сенсibilизаторов в отношении грамположительных бактерий *S. aureus* и *Ent. faecalis*.

Дополнительно к поставленной задаче в этих исследованиях изучалось действие фотосенсibilизаторов профлавин ацетата и метиленового голубого на морфологические и биохимические свойства оставшихся жизнеспособными клеток грамположительных микроорганизмов *S. aureus* и *Ent. faecalis*. Отмечено, что мембранные фильтры, используемые в методе контроля эффективности обеззараживания, имея сетчатую структуру, обладают способностью концентрировать краситель на поверхности и в порах фильтра вместе с бактериями. Тем самым инкубация посевов после освечивания пробы происходит под воздействием более высоких доз сенсibilизатора. Бактерии, оставшиеся жизнеспособными, проявляют

изменение свойств после обеззараживания. Изменяются морфологические характеристики, что отражается на форме выросших на фильтре колоний. Вместо круглых колоний с ровными краями (контроль) после освечивания колонии вырастают с неправильной не характерной для данных микроорганизмов формой, с вытянутыми отростками. В некоторых случаях задерживается рост, и колония становится видимой через 3-4 суток после посева, вместо 1-2 суток. У *S. aureus* задерживается пигментирование и проявление лецитовителлазной активности.

Отмечена необходимость усовершенствования методических подходов при оценке эффективности фотообеззараживания в присутствии сенсibilизаторов профлавина ацетата и метиленового голубого, во избежание ошибочных выводов. Этот вопрос требует дальнейшего более углубленного изучения и разработки специальных методических рекомендаций.

В дополнительных экспериментах изучалась возможность реактивации (восстановления жизнеспособности) бактерий после воздействия фотосенсibilизаторов при освечивании. Не выявлено реактивации, а следовательно, бактериостатического действия фталоцианин цинка, профлавина ацетата и метиленового голубого в концентрации 1,0 мг/л после 24 часов выдерживания освеченных проб в темноте при комнатной температуре. Полученные материалы указывают на перспективность использования фотосенсibilизаторов для практического применения.

3.2 Степень реактивации в процессе экологического обеззараживающего действия разных концентраций сенсibilизаторов в отношении *E. coli*

1257

Изучение возможности реактивации бактерий, подвергнутых освечиванию в присутствии сенсibilизаторов, проведено на модели штамма *E. coli* 1257. Этот микроорганизм выбран в связи с тем, что *E. coli* является

основным нормируемым показателем при оценке качества воды, в частности, при установлении эффективности обеззараживания воды. Надежность обнаружения *E. coli* – одна из основных составляющих контроля эпидемической безопасности объектов водопользования. В связи с этим представлялось необходимым выявить возможность восстановления жизнеспособности бактерий *E. coli* после фотообеззараживания при различном времени экспозиции в темноте модельных водоемов после освечивания.

Экспериментальные данные, полученные при оценке эффективности обеззараживания воды различными дезинфектантами, показали, что из всего изученного спектра индикаторных микроорганизмов наибольшую изменчивость свойств и способность к реактивации проявили бактерии рода *Escherichia*.

При выборе концентраций сенсibilизаторов руководствовались данными предыдущих исследований. При концентрациях сенсibilизаторов 0,5 и 1,0 мг/л можно было ожидать как бактериостатического, так и бактерицидного эффекта обеззараживания бактерий *E. coli*.

Выбор высокой дозы заражения модельных водоемов ($4,2 \cdot 10^6$ КОЕ/100мл) определял аггравированные условия высокой степени заражения водоема ниже спуска сточных вод.

Полученные результаты динамики уровня бактерий *E. coli* на протяжении 6 суток после освечивания и выдерживания освещенных модельных водоемов в темноте, представлены в таблицах 40 и 41.

Как видно из таблицы 37, установлена высокая (100%) эффективность фотообеззараживания в отношении *E. coli* в присутствии сенсibilизатора метиленового голубого в концентрации 1,0 мг/л. При дальнейших исследованиях воды в модельных водоемах через 24 часа и 6 суток после освечивания не было выявлено какого-либо роста внесенных бактерий, что подтвердило наличие бактерицидного действия на бактерии *E. coli*.

Иная ситуация имела место в освещенном водоеме с сенсibilизатором метиловым голубым в концентрации 0,5 мг/л. В данных условиях наблюдалась типичная картина реактивации бактерий. Сразу после освечивания в пробах воды были обнаружены единичные клетки бактерий *E. coli*, что свидетельствует о том, что в результате фотообеззараживания в присутствии 0,5 мг/л метиленового голубого основная часть бактерий погибла, однако, несколько клеток смогли сохранить способность роста на дифференциальной питательной среде.

Таблица 37 - Изучение возможности реактивации *E. coli* 1257 при воздействии метиленового голубого в процессе экологического обеззараживания

Концентрация метиленового голубого мг/л	КОЕ/100 мл				
	Исходный уровень заражения	Сразу после освечивания		Через 1 сутки	Через 6 суток
		КОЕ	% эффективности		
0,5	4,2·10 ⁶	15	100,0	Нет роста	2,4·10 ³
1,0		Нет роста	100,0	Нет роста	Нет роста
Контроль		4,1·10 ⁶	-	3,7·10 ⁵	2,8·10 ⁴

Наибольший интерес представляют исследования воды модельных водоемов через 24 часа после освечивания. Это реальный срок доставки воды с очистных сооружений конечному потребителю. Через сутки при посеве проб воды общепринятыми методами контроля качества (путем учета способных образовывать на среде Эндо видимые колонии) бактерии *E. coli* не были обнаружены. Отсутствие роста внесенных бактерий показывает, что процесс отмирания бактерий в течение указанного срока в данном эксперименте продолжался. По действующим нормативным документам может быть сделан вывод, что произошла полная инактивация тест-бактерий *E. coli* и, следовательно, вода по микробиологическим показателям безопасна в эпидемическом отношении.

Однако, посев воды модельного водоема через 6 суток показал, что за этот период стрессированные клетки *E. coli* при такой концентрации сенсibilизатора не погибли, а восстановили способность размножаться и

вырастать на плотных средах до визуальных колоний. Это указывает на то, что после освечивания в присутствии 0,5 мг/л метиленового голубого имел место как бактерицидный, так и бактериостатический эффект с последующим восстановлением жизнеспособности стрессированных бактерий, т.е. явление реактивации.

Численность оживших колоний составляла 2400 КОЕ/100 мл, что указывает на достаточно высокий уровень загрязнения воды, который соответствует 3 классу источника питьевого водоснабжения и в тысячи раз превышает норматив для питьевой воды по этому показателю.

В процессе реактивации выявлена изменчивость свойств бактерий *E.coli*. В первом пассаже на мембранных фильтрах из нитрат целлюлозы «Владисарт» колонии выросли с опозданием на сутки и имели не типичный вид на среде Эндо (мелкие, малиновые, металлический блеск отсутствовал).

Второй пассаж из выросших колоний показал восстановление типичных морфологических и биохимических свойств штамма *E. coli* 1257. Колонии вырастали с ровными краями, имели металлический блеск, скорость роста составляла 24 часа, отмечалась ферментация глюкозы и лактозы до кислоты и газа.

Результаты изучения возможности реактивации *E. coli* при воздействии профлавин ацетата представлены в таблице 38.

Таблица 38 - Изучение возможности реактивации *E.coli* 1257 при воздействии профлавин ацетата в процессе экологического обеззараживания

Концентрация профлавин ацетата, мг/л	КОЕ/100 мл				
	Исходный уровень заражения	Сразу после освечивания		Через 1 сутки	Через 6 суток
		КОЕ	% эффективности		
0,5	4,6·10 ⁶	1,1·10 ⁴	99,74	2,8·10 ⁴	3,2·10 ⁴
1,0		4,1·10 ²	99,99	Нет роста	Нет роста
Контроль		4,1·10 ⁶	-	3,7·10 ⁵	2,8·10 ⁴

Установлено, что профлавин ацетат в заданных концентрациях 0,5 и 1,0 мг/л не оказал полного инактивирующего действия на бактерии *E. coli* в процессе фотообеззараживания. Однако эффективность была достаточно высока и составила 99,74 и 99,99% соответственно. Анализ проб сразу после освечивания показал интенсивное снижение заданного уровня заражения на два и четыре порядка, что по международным требованиям к критериям оценки эффективности обеззараживания достаточно для дезинфицирующего средства, но не соответствует гигиеническим требованиям к питьевой воде по СанПиН 2.1.4.1074-01 (отсутствие в 300 мл пробы воды).

Дальнейшее наблюдение показало, что при освечивании в присутствии профлавин ацетата в концентрации 1,0 мг/л продолжался процесс гибели клеток *E. coli*., так как при проведении исследований через 1 сутки роста колоний не наблюдалось. Явления реактивации бактерий не было отмечено и через 6 суток.

Иная картина динамики роста бактерий *E. coli* после освечивания наблюдалась при внесении в модельный водоем профлавин ацетата в меньшей концентрации – 0,5 мг/л. Уровень численности бактерий, достигнутый после освечивания ($n \cdot 10^4$), сохранялся в течение всего срока наблюдения до 6 суток.

Таким образом, результаты исследований показали, что в процессе фотообеззараживания сенсбилизатор метиленовый голубой более эффективен в отношении бактерий *E. coli*, чем профлавин ацетат при одинаковых концентрациях и одном и том же уровне заражения.

Сравнение двух изученных концентраций показало, что полный бактерицидный эффект был достигнут при концентрации 1,0 мг/л сразу же после освечивания, в то время как при внесении профлавин ацетата в этой же концентрации только через 24 часа. При концентрации метиленового голубого 0,5 мг/л реактивация жизнеспособных бактерий *E. coli* произошла через 6 суток после освечивания. Действие профлавин ацетата при изученных концентрациях 0,5 мг/л и 1 мг/л не сопровождалось восстановлением жизнеспособности бактерий и их размножением.

3.3 Экоотоксичность фотосенсибилизаторов и степень опасности продуктов их фототрансформации

Токсичность фотосенсибилизаторов по биолюминесценции бактерий

Затем проводили исследование общей токсичности воды после обработки фотосенсибилизаторами на основании интенсивности биолюминесценции бактерий. В таблице 39 приведены данные, полученные в результате оценки влияния сенсибилизаторов на светящиеся бактерии «Эколюм».

Таблица 39 - Изменение интенсивности свечения бактерий «Эколюм»

Фотосенсибилизатор	Концентрация мг/л	Параметры измерения		
		Интенсивность свечения, I ср	Индекс токсичности, T	Норма
под воздействием фотосенсибилизаторов				
Метиленовый синий	Контроль	127804	0	<20
	0,5	125726	1,6	
	1,0	95658	25 ¹	
	2,0	40897	32 ¹	
Профлавин ацетат	Контроль	8586	0	
	0,5	4090	52 ¹	
	1,0	53517	-523 (0) ²	
	2,0	83084	-867 (0) ²	
Фталоцианин цинка	Контроль	118804	0	
	0,5	116726	1,6	
	1,0	86650	24 ¹	
	2,0	163735	-520 (0) ²	
	4,0	193302	-865 (0) ²	
под воздействием сенсибилизаторов в сочетании с прополисом в изучаемых концентрациях				
.Метиленовый синий + прополис 0,5 мл/л	Контроль	135803	0	<20
	0,5	122712	2,8	
	1,0	101256	4,5	
	2,0	138526	6,7	
Профлавин ацетат прополис 0,5 мл/л	Контроль	9526	0	
	0,5	29895	19	
	1,0	9619	37	
	2,0	9426	32	
Фталоцианин цинка прополис 0,5 мл/л	Контроль	10215	0	
	0,5	11258	18	

	1,0	9856	25	
	2,0	9542	20	

Примечание:¹ - токсическое воздействие;²- означает стимуляцию процесса свечения "-" — означает стимуляцию процесса свечения; "+" - токсическое воздействие

Критерием оценки является индекс токсичности (Т), который в норме не превышает величины 20%-го отличия от контроля. Стимуляция свечения не является показателем токсического действия образцов на функцию свечения бактерий. Отсюда видно, что по величине индекса токсичности анализируемой пробы профлавин ацетат даже в концентрации 0,5 мг/л можно классифицировать как сильно токсичное вещество, а два других фотосенсибилизатора в минимальных концентрациях проявили допустимую степень токсичности.

Воздействие более высоких концентраций профлавин ацетата и фталоцианина цинка вызывало не ингибирование свечения биосенсора, а его стимуляцию. Данное явление, являясь алогичным, могло быть вызвано изменениями в содержании сенсбилизатора при многоступенчатой фильтрации (рисунок 2).

Результаты, полученные в данном исследовании позволяют выделить токсичные для инфузорий концентрации сенсбилизаторов в сочетании с прополисом это профлавин ацетат и фталоцианин цинка в концентрации (1,0-2,0 мг/л.) причем эти концентрация сенсбилизаторов являются максимально-допустимыми.

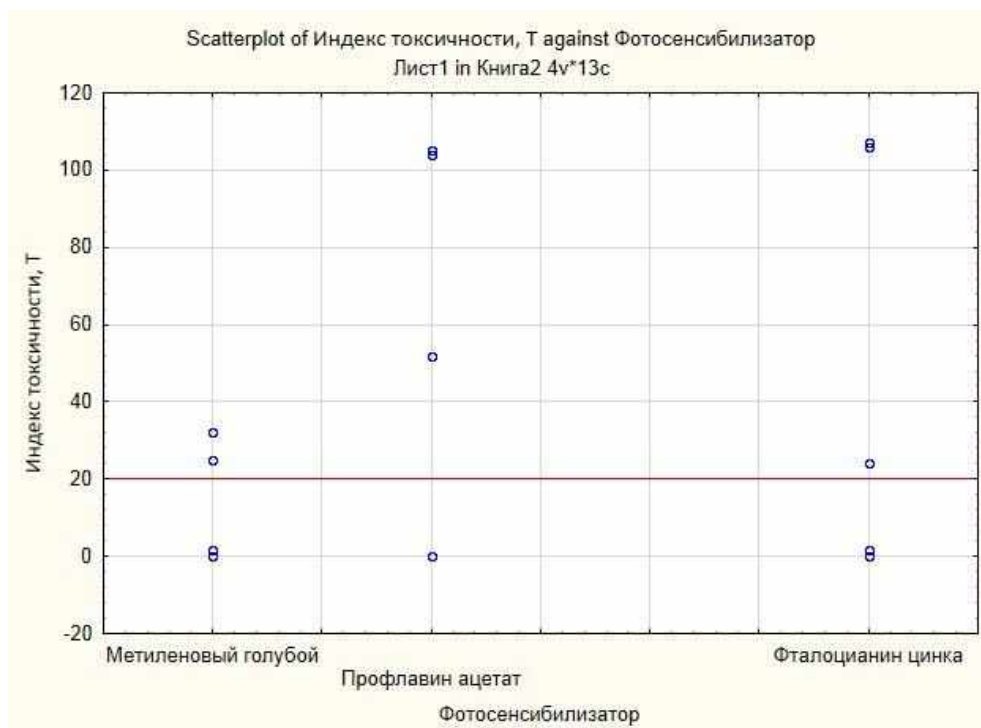


Рис. 2 - Диаграмма рассеяния индекса токсичности сенсбилизаторов

Индекс токсичности надежно коррелировал с концентрацией фотосенсибилизаторов, а вот уровень интенсивности свечения – нет (рисунок 3).

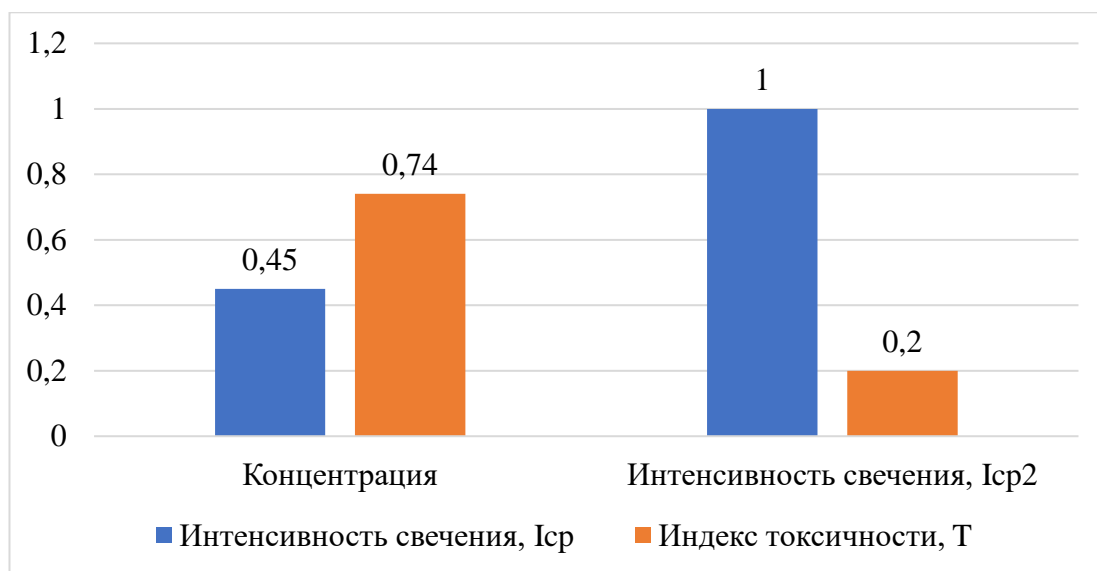


Рис. 3 - Сравнительная характеристика степени корреляции между концентрацией, интенсивностью свечения и индексом токсичности

Биотестирование на изменение генеративной функции инфузорий *Tetrahymena pyriformis* (корреляция между концентрацией, временем и критерием токсичности)

Еще одним методом биотестирования является тест на изменение генеративной или ростовой функции инфузорий *Tetrahymenapyriformis*. При этом критерием токсичности служит показатель размножения, за который принимается относительный прирост численности клеток в 1 мл исследуемого фильтрата. Пробы следует считать токсичными при значении $K_T < 50\%$.

Для этого в пробы фотосенсибилизаторов объемом 5 мл помещали по 0,05 мл культуры тетрахимен с исходной концентрацией 100-200 кл/мл. В течение первых 6 часов наблюдали, в основном, за выживаемостью инфузорий (острый опыт), в течение остального времени за приростом количества инфузорий. Результаты представлены в таблице 40. Результаты тестирования фотосенсибилизаторов на токсичность с помощью изучения их влияния на генеративную функцию инфузорий позволили сделать следующие выводы:

Таблица 40 - Изменение генеративной функции инфузорий при экологическом воздействии сенсбилизаторов

Фотосенсибилизатор	Концентрация сенсбилизатора, мг/л	Средняя численность инфузорий в 0,01 мл через, ч:					Прирост за 48 ч	K _T , %
		15 мин	1	6	24	48		
Контроль		5	5	6	21	64	59	100
Метиленовый голубой	Без внесения	3	3	3	20	55	52	88
	0,5	2	3	3	17	50	48	81
	1,0	3	3	4	14	44	41	69
	1,5	2	3	3	11	34	32	54
	2,0	2	2	4	8	23	21	36
	2,5	2	2	2	2	0	0	0
Профлавин ацетат	Без внесения	4	4	5	15	44	40	67
	0,5	4	4	4	3	3	0	0
	1,0	1	1	1	2	2	1	1
	2,0	4	3	4	10	29	25	42
Фталоцианин цинка	0,5	3	4	6	9	24	21	35
	1,0	6	6	6	11	20	14	23
	2,0	1	4	7	10	24	20	34

	4,0	1	1	1	2	2	1	1
--	-----	---	---	---	---	---	---	---

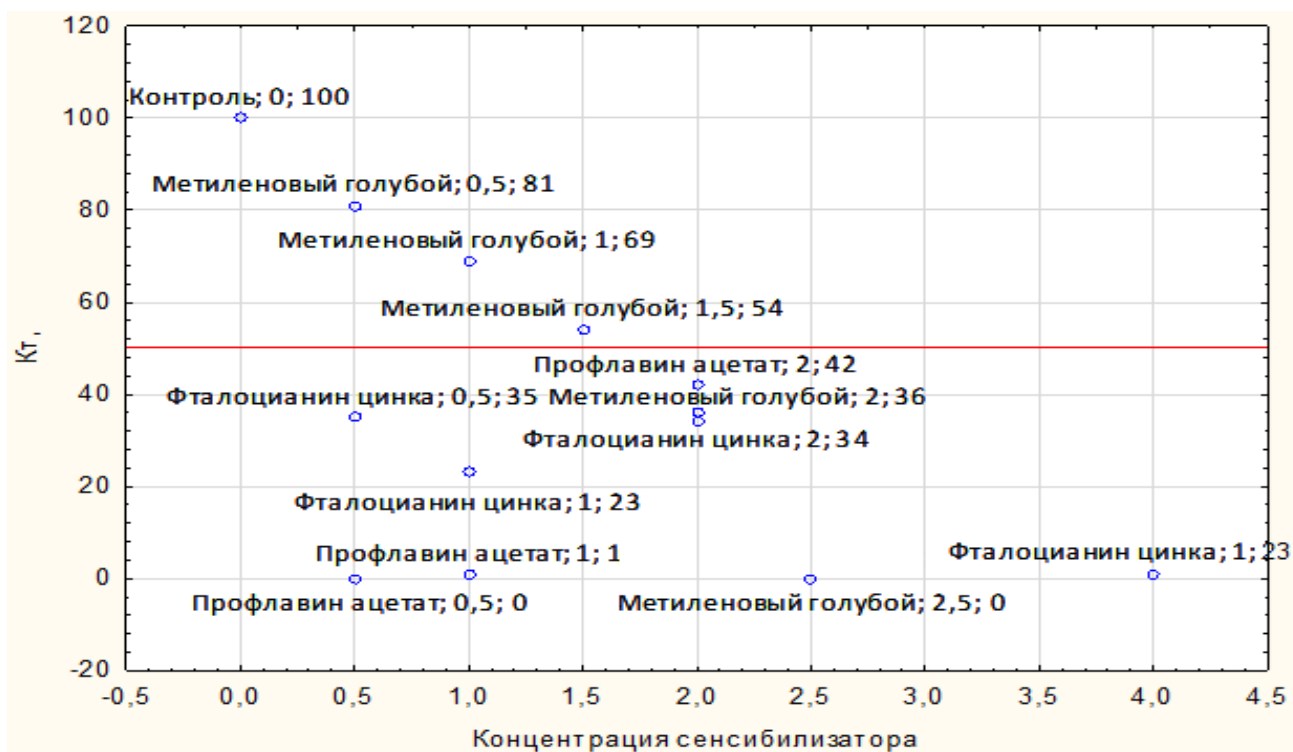


Рис. 4 – Диаграмма рассеяния концентрации исследуемых фотосенсибилизаторов, прироста инфузорий и индекса токсичности

- токсическое воздействие метиленового голубого на генеративную функцию инфузорий проявилось только, начиная с $C=2,0$ мг/л (таблица 40, рисунок 4);
- профлавин ацетат и фталоцианин цинка проявили токсичность по отношению к инфузориям во всех изученных концентрациях, однако степень их воздействия не зависела от концентрации фотосенсибилизатора (таблица 40, рисунок 4).

Таким образом, токсичность метиленового голубого находилась в прямой зависимости от увеличения концентраций сенсибилизатора, тогда как эффект воздействия профлавин ацетата и фталоцианин цинка не зависел от роста концентраций этих веществ.

Корреляция между основными параметрами эксперимента приведена в таблице 41.

Таблица 41 - Корреляция между концентрацией, временем и критерием

ТОКСИЧНОСТИ

	Образец	Концентрация сенсibilизатора	15 мин	1 час	6 час	24 час	48 час	Прирост за 48 час	Кт,
Образец	1,000000	0,960769	0,052414	0,240192		-0,921551	-0,987184	-0,995249	-0,995277
Концентрация сенсibilизатора	0,960769	1,000000	- 0,522380	-0,599901	-0,462904	-0,568120	-0,535643	-0,516074	-0,515321
15 мин	0,052414	-0,522380	1,000000	0,804936	0,535770	0,437171	0,342478	0,287257	0,285749
1 ч	0,240192	-0,599901	0,804936	1,000000	0,858143	0,578453	0,452584	0,392442	0,392240
6 ч		-0,462904	0,535770	0,858143	1,000000	0,558077	0,466353	0,411742	0,413884
24 ч	- 0,921551	-0,568120	0,437171	0,578453	0,558077	1,000000	0,983234	0,970021	0,969547
48 ч	- 0,987184	-0,535643	0,342478	0,452584	0,466353	0,983234	1,000000	0,997063	0,996904
Прирост за 48 ч	- 0,995249	-0,516074	0,287257	0,392442	0,411742	0,970021	0,997063	1,000000	0,999940
Кт,	- 0,995277	-0,515321	0,285749	0,392240	0,413884	0,969547	0,996904	0,999940	1,000000

Результаты, полученные в данном исследовании, позволяют выделить токсичные для инфузорий концентрации сенсibilизаторов: это 1,5 мг/л и более для метиленового голубого, 1,0 мг/л для профлавин ацетата, 0,5 мг/л для фталоцианина цинка. Причем эти концентрации сенсibilизаторов практически являются минимально действующими.

Биотестирование экологичности сенсibilизаторов на выживаемость с помощью *Daphnia magna* Straus и разных концентрациях сенсibilизаторов в отношении *E. coli* 1257

Другим объектом биотестирования стали *Daphnia magna* – индикаторный представитель пресноводного зоопланктонного сообщества. Учет смертности дафний проводили через 1, 24, 48, 72 и 96 часов (табл. 42, 43, 44).

В начале эксперимента изучаемые сенсibilизаторы проявляли токсичность при высоких концентрациях, начиная с 4,0 мг/л и выше. Меньшие концентрации никакого отрицательного влияния на рачков не оказывали. В конце же эксперимента токсичность сенсibilизаторов начала проявляться в образце с начальной концентрацией метиленового голубого 2,0 мг/л, фталоцианин цинка 2,0 мг/л, профлавин ацетата 3,0 мг/л. Вероятно, это произошло потому, что некоторые вещества, оказывающие на дафний токсический эффект, находящиеся в начале опытов в полимолекулярном состоянии, при разложении сенсibilизаторов приобрели способность переходить в экстракт, что лишний раз подтверждает факт отдаленных последствий загрязнения (таблица 42, 43, 44).

Таблица 42 - Биотестирование экологичности метиленового голубого на *Daphnia magna Straus*

Тестирование биопроб	Концентрация сенсibilизатора, мг/л	1 час		24 часа		48 часов		72 часа		96 часов	
		Кол-во смертей	% смертности	Кол-во смертей	% смертности	Кол-во смертей	% смертности	Кол-во смертей	% смертности	Кол-во смертей	% смертности
В начале эксперимента	0,5	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0
	1,0	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0
	2,0	0/10	0	0/10	0	2/10	20	3/10	30	5/10	50
	4,0	0/10	0	0/10	0	0/10	0	2/10	20	5/10	50
Контроль		0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0
В конце эксперимента	0,5	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0
	1,0	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0
	2,0	0/10	0	0/10	0	5/10	50	10/10	100	10/10	100
	4,0	0/10	0	2/10	20	10/10	100	10/10	100	10/10	100

Таблица 43 - Биотестирование экологичности профлавин ацетата на *Daphnia magna Straus*

Тестирование биопроб	Концентрация сенсibilизатора, мг/л	1 час		24 часа		48 часов		72 часа		96 часов	
		Кол-во смертей	% смертности	Кол-во смертей	% смертности	Кол-во смертей	% смертности	Кол-во смертей	% смертности	Кол-во смертей	% смертности
В начале эксперимента	0,5	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0
	1,0	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0
	2,0	0/10	0	0/10	0	2/10	20	3/10	30	5/10	50
	4,0	0/10	0	0/10	0	0/10	0	2/10	20	5/10	50
Контроль		0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0/10	0	0/10
В конце эксперимента	0,5	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0
	1,0	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0
	2,0	0/10	0	0/10	0	5/10	50	10/10	100	10/10	100
	4,0	0/10	0	2/10	20	10/10	100	10/10	100	10/10	100

Таблица 44 - Биотестирование экологичности фталоцианин цинка на *Daphnia magna Straus*

Тестирование биопроб	Концентрация сенсibilизатора, мг/л	1 час		24 часа		48 часов		72 часа		96 часов	
		Кол-во смертей	% смертности	Кол-во смертей	% смертности	Кол-во смертей	% смертности	Кол-во смертей	% смертности	Кол-во смертей	% смертности
В начале эксперимента	0,5	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0
	1,0	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0
	2,0	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0
	4,0	0/10	0	0/10	0	0/10	0	2/10	20	5/10	50
Контроль		0/10	0/10	0	0/10	0	0/10	0/10	0/10	0	0/10
В конце эксперимента	0,5	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0
	1,0	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0
	2,0	0/10	0	0/10	0	5/10	50	10/10	100	10/10	100
	4,0	0/10	0	2/10	20	10/10	100	10/10	100	10/10	100

Биотестирование токсичности и экологичности сенсibilизаторов на сперматозоидах быка

В тестирование на сперматозоидах быка не было выявлено каких-либо токсических эффектов со стороны фотосенсibilизаторов (таблица 45).

Таблица 45 - Тестирование на сперматозоидах быка. Зависимость индексов токсичности (I_t и I_s) от концентрации сенсibilизаторов

Сенсibilизаторы	Концентрация сенсibilизатора	Начало эксперимента		Конец эксперимента	
		I _t , %	I _s , %	I _t , %	I _s , %
Метиленовый голубой	Контроль	101	107	96	98
	0,5	95	108	83	87
	1,0	95	109	99	101
	2,0	67	54	75	81
Профлавин ацетат	1,0	73	55	79	77
	2,0	90	92	80	84
	4,0	114	115	103	110
Фталоцианин цинка	1,0	88	88	100	105
	2,0	108	132	97	100
	4,0	98	108	84	95

Оценка суммарной мутагенной активности и экологичности сенсibilизаторов в бактериальном тесте Эймса с *Salmonella typhimurium*

В работе применен классический тест *Salmonella*/микросомы (тест Эймса). Подробно методика проведения эксперимента дана в главе «Материалы методы исследования».

Результаты исследований по оценке суммарной мутагенной активности в бактериальном тесте Эймса с *Salmonella typhimurium*, приведены в таблице 46.

Таблица 46 - Результаты оценки мутагенной активности и экологичности сенсibilизаторов в тесте Эймса на *Salmonella typhimurium* штамм ТА98 (в вариантах без (СМ-) и в присутствии (СМ+) системы метаболической активации)

Пробы с сенсibilизатором, мг/л	Разведение пробы	Объем пробы, мл/чашка	Х _{оп} /Х _{конт}	
			штамм ТА 98	
			СМ-	СМ+
метиленовый голубой – 1,0 мг/л	1:0	0,3	0,98	1,06
	1:0	0,1	1,10	0,98
	1:5	0,1	0,96	0,98
метиленовый голубой – 2,0 мг/л	1:0	0,3	1,00	0,98
	1:0	0,1	1,04	0,94
	1:5	0,1	1,10	1,08
профлавин ацетат– 1,0 мг/л	1:0	0,3	1,04	1,04
	1:0	0,1	1,10	1,08
	1:5	0,1	0,94	0,96
профлавин ацетат– 2,0 мг/л	1:0	0,3	1,15	1,70
	1:0	0,1	1,02	1,28
	1:5	0,1	0,94	1,13
фталоцианин цинка– 4,0 мг/л	1:0	0,3	1,17	1,55
	1:0	0,1	1,25	1,26
	1:5	0,1	1,06	1,09
Контроли со стандартными мутагенами				
ДИАМ, 10 мкг/чашка			>40,0	
Этидиум бромид, 10 мкг/чашка				<u>22,0</u>
Контроль с растворителем (среднее число колоний ревертантов на чашку)				
ДМСО, 0,1 мл/чашка			(25,0)	(29,5)
Дистиллированная вода, 0,1 мл/чашка			(24,0)	(26,5)

Примечание: Х_{оп}/Х_{конт} - отношение среднего числа колоний-ревертантов на чашку в опыте к таковому в контроле; подчеркнуто - значимый мутагенный эффект.

Нумерация образцов: №1 - метиленовый голубой (2,0 мг/л); №2 - профлавин ацетат (1,0 мг/л); №3 - фталоцианин цинка (4,0 мг/л).

Количество колоний-ревертантов на чашку в контрольных вариантах было в пределах колебаний спонтанного уровня для данных штаммов. Ответ на стандартные мутагены был в пределах обычных уровней.

Метиленовый голубой не обладал мутагенной активностью в отношении штамма TA98 в вариантах эксперимента без (СМ-) и в присутствии (СМ+) системы метаболической активации.

Пробы фталоцианина цинка и профлавина ацетатана штамме TA98 при СМ+ индуцировали в максимальной дозе (0,3 мл экстракта на чашку).

При этом отмечалось возрастание среднего количества колоний-ревертантов на чашку по отношению с контролем, соответственно, в 1,70 и 1,55 раз. Однако для этих проб отмечено выраженное возрастание числа колоний-ревертантов на чашку. Это указывает на мутагенный эффект данных сенсебилизаторов.

Таким образом, в эксперименте на *Salmonella typhimurium* штамм TA98 при СМ+ с профлавином ацетатом и фталоцианином цинка выявлен слабый мутагенный эффект.

3.4 Оценка эффективности применения фотосенсебилизаторов для экологического оздоровления и очистки воды

Для определения эффективности применения фотосенсебилизаторов необходимо знать следующие параметры:

1. Удельный расход активного вещества, необходимого для обеззараживания 1 л стоков;
2. Стоимость реагентов, необходимого для обеззараживания 1 л стоков (с учетом массового содержания активного вещества);
3. Примерную стоимость эксплуатационных расходов в рублях (10 % стоимости используемых реагентов).

На основании суммирования этих параметров можно оценить себестоимость самого процесса обеззараживания воды.

Расчеты эффективности использования исследуемых фотосенсибилизаторов, в сравнении с наиболее распространенным средством обеззараживания воды – гипохлоритом натрия, приведены в таблице 47 и на рисунке 5.

Представленные расчетные данные свидетельствуют, что даже наиболее дорогие в плане синтеза фотосенсибилизаторы профлаavin ацетат и фталоцианин цинка за счет существенно более низкого расхода реагентов, необходимого для обеззараживания единицы сточной воды, в 2-3 раза дешевле хлорирования.

Таблица 47 - Расчетные данные эффективности использования исследуемых фотосенсибилизаторов в сравнении с наиболее распространенным средством обеззараживания воды – гипохлоритом натрия

Показатель	Гипохлорит натрия	Метиленовый голубой	Профлаavin ацетат	Фталоцианин цинка
Удельный расход активного вещества, необходимого для обеззараживания 1 л стоков, г/л	5,0	0,002	0,001	0,004
Количество реагента, необходимого для обеззараживания 1 л стоков, г	41,5-83	0,002	0,001	0,004
Стоимость реагентов, необходимых для обеззараживания 1 л стоков, руб.	0,39-0,78	0,102	0,2	0,28
Стоимость эксплуатационных расходов, руб./л стоков	0,039-0,078	0,01	0,02	0,02
Себестоимость, руб./л стоков	0,429-0,858	0,11	0,22	0,30

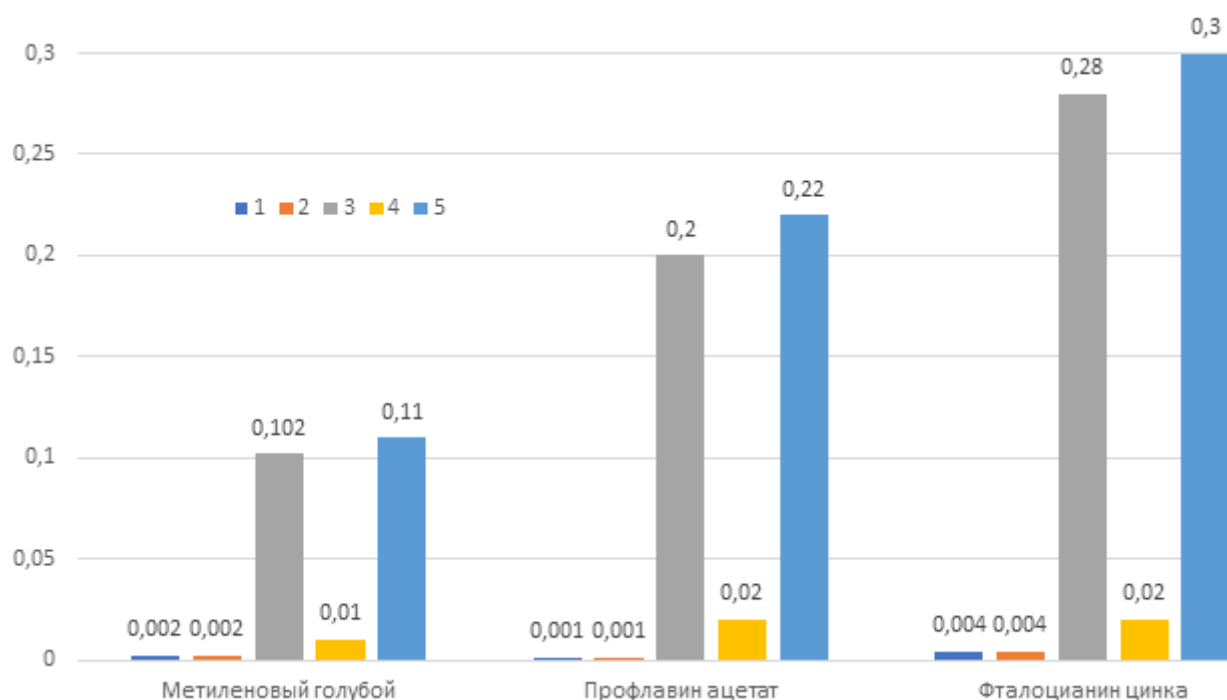


Рис. 5 - Сравнительная характеристика эффективности использования исследуемых фотосенсибилизаторов

Примечание:

1. Удельный расход активного вещества, необходимого для обеззараживания 1 л стоков, г/л;
2. Количество реагента, необходимого для обеззараживания 1 л стоков, г;
3. Стоимость реагентов, необходимого для обеззараживания 1 л стоков, руб.;
4. Стоимость эксплуатационных расходов, руб./л стоков;
5. Себестоимость, руб./л стоков.

Следовательно, технико-экономические составляющие, по сравнимым основным экономическим параметрам, говорят в пользу использования фотосенсибилизаторов для обеспечения биологического потенциала воды как источника биоресурсов.

Выводы.

Наибольшим фотообеззараживающим эффектом в отношении вирусов обладают метиленовый голубой в испытанных концентрациях.

Фотообеззараживающий эффект профлавин ацетата высок в отношении колифага, и значительно ниже в отношении полиовируса. Полученные данные показали, что полиовирус оказался более устойчивым к различным концентрациям испытанных сенсibilизаторов по сравнению с колифагом, что, возможно, связано с различным строением вирионов. Вероятно, при внедрении действующих концентраций в отношении вирусного загрязнения воды целесообразно в первую очередь учитывать данные, полученные на модели полиовируса, так как он наиболее близок к патогенным вирусам, чем колифаг.

Обеззараживающий эффект метиленового голубого в отношении модельного индикаторного вируса зависит от концентрации данного фотосенсibilизатора в водоеме и времени освечивания. Метиленовый голубой в пределах концентраций 0,5-2,0 мг/л обладает как вирулицидным действием в отношении колифага, так и фотообеззараживающим эффектом.

Вместе с этим, проведенные исследования не позволили установить у метиленового голубого эффекта фотообеззараживания в зависимости от времени освечивания. Решение этой задачи требует либо дальнейшего сокращения времени освечивания, либо продолжения исследований по определению минимальной действующей концентрации метиленового голубого на колифаг MS2. При изучении метиленового голубого в концентрации 0,5 мг/л был подтвержден его высокий фотообеззараживающий эффект. После контакта в водоеме колифага с сенсibilизатором в течение 1 часа в темноте и последующего облучения в течение 15 минут наблюдалась 100% фотоинактивация колифага.

Результаты исследований показали, что метиленовый голубой обладает значительным фотообеззараживающим эффектом, который проявляется, как при концентрации сенсibilизатора 1 мг/л (99,924%), так и максимально при концентрации 2 мг/л (100%) после освечивания водоема течение 30 минут.

Результаты исследований показали, что фотообеззараживающий эффект профлавин ацетата в концентрациях (0,5 и 1 мг/л) значительно ниже по сравнению с метиленовым голубым.

Таким образом, проведенные исследования по изучению фотодинамического воздействия сенсibilизаторов: метиленового голубого, профлавин ацетата и октакиса (холинил) фталоцианина цинка в отношении вирусного загрязнения водоемов указывают на зависимость фотообеззараживающего эффекта испытанных сенсibilизаторов от их концентраций в воде, так и от времени освечивания водоемов.

Технико-экономические составляющие, по сравнимым основным экономическим параметрам, говорят в пользу использования фотосенсibilизаторов для обеспечения биологического потенциала воды как источника биоресурсов.

ГЛАВА 4. Экологичное восстановление прополисом иммунитета и микробиоценоза *Oreochromis niloticus* на фоне кандидамикозов при аквариумном содержании

4.1 Влияние прополиса с сенсбилизаторами на морфологию крови *Oreochromis niloticus*, зараженных *Candida albicans* в условиях аквариумного содержания

Кроветворение у рыб специфичное, в отличие от млекопитающих и птиц. У рыб отсутствует красный костный мозг и функцию кроветворения выполняют: жабры, селезенка, почки, сердце, а также образования лимфоидной ткани. В почке и селезенке образуются клетки эритроидного ростка, гранулярные лейкоциты и лимфоциты, тромбоциты и происходит распад эритроцитов (у птиц и млекопитающих селезенка служит «кладбищем эритроцитов»). В крови рыб выявляются и молодые и зрелые формы эритроцитов. Это для рыб является нормальным физиологическим процессом. Эритроциты рыб имеют, как и у птиц ядра. Интересно то, что изнутри сердце рыб выстлано однослойным плоским эпителием, который, как и эндотелий кровеносных сосудов рыб, участвует в кроветворении. Лимфоидные образования в слизистой пищеварительной трубки рыб являются резервуарами лейкоцитов, за счет которых происходит регулярное пополнение ими крови. Т-лимфоциты образуются в мозговой зоне тимуса, В-лимфоциты дозревают в селезенке. В лимфоидном органе происходит образование всех клеток крови. Здесь присутствуют нейтрофилы, эозинофилы, базофилы, тромбоциты и встречаются даже незрелые эритроциты.

Данные по исследованию в крови *Oreochromis niloticus*, зараженных кандидамикозами, динамики изменения содержания эритроцитов на фоне действия сенсбилизаторов, представлены в таблице 48.

Содержание эритроцитов в крови не подвергнутых воздействию *Candida albicans* у рыб *O. niloticus* изменялось в возрастном аспекте с начала опытов и до их завершения лишь в 1,69 раза (на 900 тыс. кл/мкл крови).

Таблица 48 - Динамика в крови *Oreochromis niloticus* эритроцитов (в млн/мкл)

Группы	Стат. показатель	Фон	Сроки исследований от начала опытов, сут.			
			7	14	21	30
Контроль – здоровые (1)	М	1,30*10 ⁶	1,40*10 ⁶	1,60*10 ⁶	1,70*10 ⁶	2,20*10 ⁶
	±m	7,07*10 ⁴	7,07*10 ⁴	1,41*10 ⁵	1,41*10 ⁵	7,07*10 ⁴
	Cv, %	7,69%	7,14%	12,50%	11,76%	4,55%
	P		***	***	***	***
Контроль зараженные <i>Candida albicans</i> (2)	М	7,00*10 ⁵	9,00*10 ⁵	1,20*10 ⁶	1,30*10 ⁶	1,50*10 ⁶
	±m	7,07*10 ⁴	7,07*10 ⁴	7,07*10 ⁴	1,22*10 ⁵	7,07*10 ⁴
	Cv, %	14,29%	11,11%	8,33%	13,32%	6,67%
	P		***	***	***	***
Зараженные <i>Candida albicans</i> +прополис 0,5 мл/л (3)	М	8,00*10 ⁵	2,20*10 ⁶	2,30*10 ⁶	2,60*10 ⁶	3,23*10 ⁶
	±m	7,07*10 ⁴	7,07*10 ⁴	1,48*10 ⁵	4,82*10 ⁵	4,64*10 ⁴
	Cv, %	12,50%	4,55%	4,35%	8,06%	2,03%
	P		***	***	***	***
Зараженные <i>Candida albicans</i> +метиленовый голубой 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (4)	М	6,00*10 ⁵	2,60*10 ⁶	2,80*10 ⁶	2,80*10 ⁶	3,20*10 ⁶
	±m	6,48*10 ⁴	1,41*10 ⁵	7,07*10 ⁴	1,22*10 ⁵	1,87*10 ⁵
	Cv, %	9,37%	7,69%	3,57%	6,19%	8,27%
	P		***	***	***	***
Зараженные <i>Candida albicans</i> +профлавин ацетат 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (5)	М	8,00*10 ⁵	2,20*10 ⁶	2,40*10 ⁶	2,60*10 ⁶	2,30*10 ⁶
	±m	7,07*10 ⁴	7,07*10 ⁴	1,41*10 ⁵	7,07*10 ⁴	1,41*10 ⁵
	Cv, %	12,50%	4,55%	8,33%	3,85%	8,70%
	P		***	***	***	***
Зараженные <i>Candida albicans</i> +фталоцианин цинка 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (6)	М	8,00*10 ⁵	2,40*10 ⁶	2,00*10 ⁶	2,10*10 ⁶	1,80*10 ⁶
	±m	7,07*10 ⁴	7,07*10 ⁴	1,41*10 ⁵	7,07*10 ⁴	7,07*10 ⁴
	Cv, %	12,50%	4,17%	10,26%	4,76%	5,56%
	P		***	***	***	***

Примечание. Здесь и далее: * P ≥ 0,95; ** P ≥ 0,99; *** P ≥ 0,999 - по сравнению с 2-й группой.

Их уровень здесь был за период опытов достаточно стабильным, что свидетельствует о сбалансированности всех физиологических процессов в организме рыб контрольной группы.

Фоновый уровень эритроцитов в крови *O.niloticus*, на фоне развития в организме кандидамикозов был ниже показателя рыб в контроле в 1,62 - 2,16 раза (на 500,0 - 700,0 тыс. кл /мкл крови).

Содержание эритроцитов в крови *O.niloticus* 2 группы, не подвергнутых лечебным манипуляциям, находящихся в одинаковых условиях кормления и содержания с рыбами контрольной и остальных опытных групп, в процессе опыта имело тенденцию к некоторому повышению, по сравнению с фоновым показателем по группе, на 7, 14, 21 и 30 сут. исследований, в 1,18; 1,71; 1,86 и 2,14 раза. Однако этот процесс был выражен слабо и показатели эритроцитов рыб по 2 группе были ниже, чем в контроле. Следовательно, на фоне развития кандидамикозов, отмечаются нарушения функции переноса эритроцитами кислорода от жабр к тканям всего тела и выведения по венозным сосудам конечных продуктов обмена.

Внесение в аквариум *O.niloticus* 3 группы прополиса способствовало значительной активизации продукции в организме рыб эритроцитов, которые встречаются в разных формах: молодые, зрелые, с ядрами, в отличие от млекопитающих. При подсчете эритроцитов в мазках учитывали и молодые и зрелые формы. Количество эритроцитов в крови *O.niloticus* 3 группы увеличилось, по сравнению с фоновым значением, на 7, 14, 21 и 30 сут. опыта, в 2,75; 2,87; 3,25 и 3,62 раза, превысив к концу опыта показатель здоровых рыб 1 контрольной группы – в 1,32 раза, больных рыб 2 группы – в 1,93 раза. Это подтверждает высокие гемостимулирующие свойства прополиса, изученные у человека, описанные у сельскохозяйственных животных и птиц

Максимального уровня содержание эритроцитов достигло в крови *O.niloticus* 4 группы, на фоне внесения в аквариумную воду прополиса в комплексе с метиленовым голубым. Здесь на фоне снижения общего бактериального загрязнения и восстановления естественного микробиоценоза,

освобождения организма *O.niloticus* от кандид, уровень эритроцитов в крови рыб повысился, по сравнению с фоновым значением по группе, на 7, 14, 21 и 30 сут. опыта, в 4,33; 4,66; 4,66 и 5,33 раза.

Показатели уровня эритроцитов в крови *O.niloticus* 5 и 6 групп в процессе опыта также изменялись в сторону восстановления их уровня. Однако этот процесс был более замедленным и низким. К 90 сут. опыта содержание эритроцитов в крови рыб этих групп было ниже, чем в контроле – в 1,16 и 1,22 раза, у рыб 2 и 3 групп – в 1,52 – 1,61 раза. Но данные по 5 и 6 группам, во все сроки исследований, превышали показатели больных *O.niloticus* 2 группы. К концу опыта (30 сут. - в 1,2- 1,26 раза. Следовательно, в этих комплексах в основном на организм рыб оказывает положительное действие прополис, который обладает выраженными противомикробными и противогрибковыми свойствами, однако яркого проявления гемостимулирующего действия комплекса препаратов: профлавин ацетат ифталоцианин цинка с прополисом не установлено.

Динамика в крови *Oreochromis niloticus*, на фоне развития кандидамикозов, гемоглобина

Результаты изучения влияния на изменения продукции в организме *Oreochromis niloticus*, на фоне развития кандидамикозов, гемоглобина представлены на рисунке 6 и таблице 49 (таблица в Приложении). Гемоглобин в эритроцитах рыб связывает в жабрах кислород, снабжает ими органы и ткани рыбы при транспортировке с кровью в эритроцитах, забирает в органах и тканях углекислый газ. Конечно не только кислородом снабжает гемоглобин организм рыбы и связывает для удаления образовавшийся углекислый газ, он также непосредственно участвует в переносе питательных и биологически активных веществ, адсорбируя их на поверхности, регулирует липидный обмен с плазмой, кислотно-щелочное ионное равновесие, водно-солевой обмен, свертывание крови и активизирует механизмы иммунной защиты рыб. Содержание гемоглобина в исследованный период, у *Oreochromis niloticus* 1 контрольной

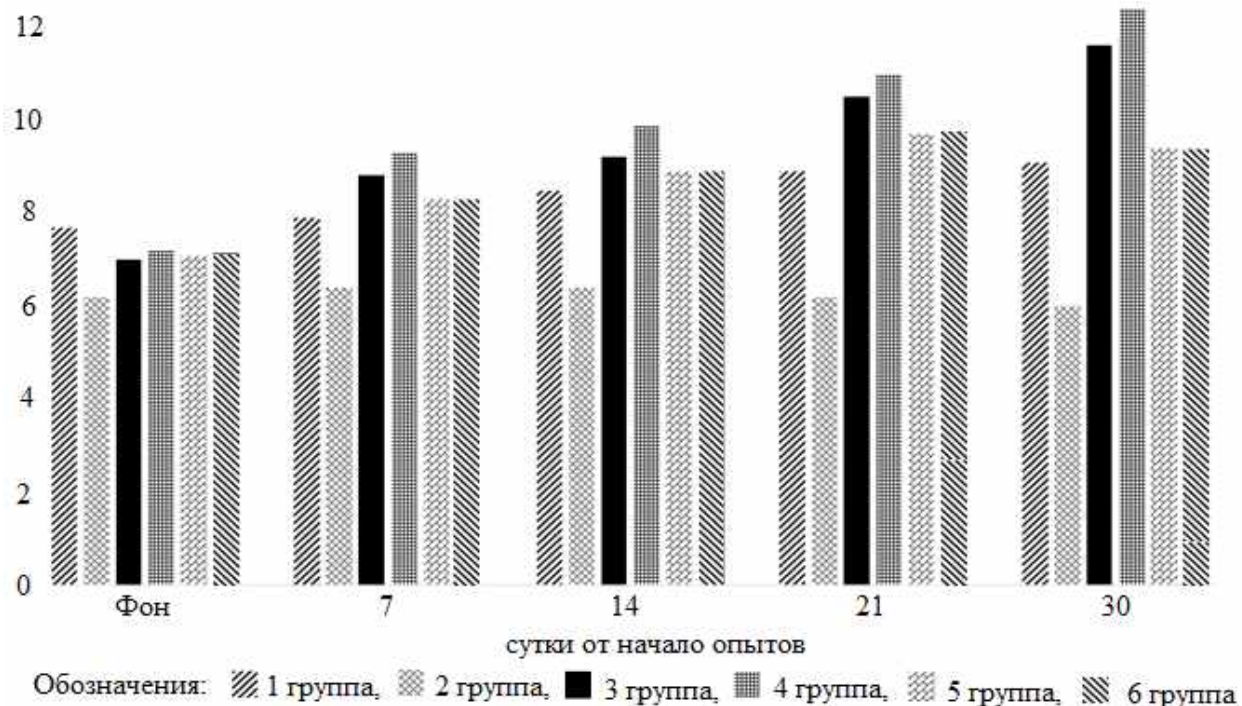


Рис. 6 - Динамика в крови *Oreochromis niloticus* гемоглобина (г%)

группы, было сбалансированным и незначительно изменялось в сторону повышения - в 1, 18 раза (на 1,4 г%).

Кандидамикозы оказывали затормаживающее действие на продукцию в организме рыб гемоглобина. На 7, 14, 21 и 30 сут. исследований уровень гемоглобина в крови *O. niloticus* 2 группы снизился, по сравнению с его значением в контроле, в 1,23; 1,33; 1,43 и 1,51 раза.

Внесение в воду рыб прополиса (3 группа) способствовало повышению гемоглобина в крови *O. niloticus* уже к 7 сут. от начала опыта и в последующие сроки исследований этот показатель находился на уровне высшей границы физиологических норм, что очень важно на фоне насыщения организма рыб кислородом, повышения активности его иммунных механизмов. На 7, 14, 21 и 30 сут. от начала опытов уровень гемоглобина в крови рыб 3 группы был выше показателей *O. niloticus* 2 группы, в 1,37; 1,43; 1,69 и 1,93 раза. При этом показатели рыб 3 группы были выше и контрольных цифр, на эти сроки исследований, в 1,11; 1,08; 1,18 и 1,27 раза. Это подчеркивает необходимость внесения в воду рыб при аквариумном содержании прополиса.

Комплексное применение прополиса с метиленовым голубым способствовало еще более значительной активизации продукции организмом рыб гемоглобина. Показатель гемоглобина в крови *O. niloticus* 4 группы был максимальным в сравнении с данными контрольных здоровых и больных рыб, а также всех опытных групп. Превышение уровня гемоглобина в крови рыб 4 группы, по сравнению с данными больных рыб 2 группы составило на 7, 14, 21 и 30 сут.- в 1,45; 1,54; 1,23 и 2,06 раза.

Уровень гемоглобина в крови *O. niloticus* 5 и 6 групп также повышался, по сравнению с данными *O. niloticus* 2 группы: на 7,14, 21 и 30 сут.- в 1,29 и 1,25раза, в 1,39 и 1,33раза, в 1,56 и 1,40 раза, в 1,56 и 1,48 раза. Данные по 5 и 6 группам значительно приблизились к контрольным показателям рыб 1 группы, но не достигали уровня гемоглобина в крови *O. niloticus* 3 и 4 групп.

В этой связи можно прийти к заключению, что внесение в воду при разведении *O. niloticus*, при их аквариумном содержании, прополиса и, особенно, прополиса в комплексе с метиленовым голубым, на фоне развития в организме кандидамикозов, способствует активизации в организме рыб процессов эритропоэза, в виде увеличения продукции эритроцитов и гемоглобина.

Динамика в крови *Oreochromis niloticus*, на фоне развития кандидамикозов, лейкоцитов

Данные по исследованию динамики изменения содержания в крови *Oreochromis niloticus* лейкоцитов, представлены в таблице 50.

Первоначальный показатель лейкоцитов в крови *O. niloticus* 1 контрольной группы составил 6,2 тыс/мкл, что свидетельствовало о нестабилизированности продукции в организме, к данному периоду роста, лейкоцитов. Но данный процесс имел тенденцию к дальнейшему его повышению, в возрастном аспекте, параллельно с ростом биологических функций всего организма, в том числе и необходимости защитных механизмов. На 7, 14, 21 и 30 сут. от начала опыта в контроле процесс

повышения активной продукции лейкоцитов продолжался и они превысили фоновое значение в 1,09; 1,7; 1,7; 2,06 и 2,25 раза.

Фоновый показатель продукции лейкоцитов в организме *O.niloticus* 2-6 групп, зараженных *Candida albicans*, к началу периода опыта был снижен до в 1,1-1,44 раза, что является показателем снижения иммунной реактивности рыб на фоне развития в организме кандидамикозов. В последующие сроки опыта уровень лейкоцитов в крови зараженных кандидами *O.niloticus* 2 группы продолжал оставаться на низком физиологическом уровне и выявлялся в пределах от 4,2 до 4,6 тыс/мкл., свидетельствуя о низкой иммунной защите организма рыб, на фоне зараженности их кандидами во все периоды опыта.

Внесение в воду аквариума рыб 3 группы прополиса способствовало значительным позитивным перестройкам в крови *O.niloticus* в сторону повышения продукции иммунокомпетентными структурами и органами в организме рыб содержания лейкоцитов. Этот процесс был активно выраженным, что объясняется иммуностимулирующими свойствами прополиса в виду его разнообразного химического состава и удачного сочетания компонентов под влиянием ферментов мандибулярных желез пчел. Содержание лейкоцитов в крови *O.niloticus* 3 группы повысилось, по сравнению с данными рыб 2 группы, на 7, 14, 21 и 30 сут. опыта в 2,06; 4,0; 4,06 и 5,07 раза. Восстановление активности лейкопоэза в организме рыб способствует повышению многих биологических реакций в организме, способствуя, прежде всего, усилению его иммунологической защиты. Это ярко проявлялось по динамике лейкоцитов в крови рыб 3 группы на фоне применения в опыте прополиса, что как отмечалось выше обусловлено богатым и разнообразным его химическим составом. Этот процесс был выражен особенно не только в сравнении с данными *O.niloticus* в больных КПТ рыб 2 группы, но и с показателями рыб 1 контрольной группы (здоровые).

Таблица 50 - Динамика в крови *Oreochromis niloticus* лейкоцитов (в тыс/мкл)

Группы	Стат. показатель	Фон	Сроки исследований от начала опытов, сут.			
			7	14	21	30
Контроль – здоровые (1)	М	6,20	6,80	10,60	12,80	14,00
	±m	0,12	0,66	0,40	0,49	0,27
	Cv, %	2,75%	13,67%	5,28%	5,47%	2,73%
	P		***	***	***	***
Контроль зараженные <i>Candida albicans</i> (2)	М	4,40	4,60	4,20	4,50	4,30
	±m	0,14	0,14	0,14	0,14	0,12
	Cv, %	4,55%	4,35%	4,76%	4,44%	4,03%
	P					
Зараженные <i>Candida albicans</i> +прополис 0,5 мл/л (3)	М	4,80	9,50	16,80	18,30	21,80
	±m	0,37	0,30	0,96	0,23	0,17
	Cv, %	11,02%	4,45%	8,05%	1,79%	1,08%
	P		***	***	***	***
Зараженные <i>Candida albicans</i> +метиленовый голубой 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (4)	М	4,30	12,00	18,70	20,90	24,70
	±m	0,25	0,98	1,39	0,41	1,66
	Cv, %	8,39%	11,50%	10,52%	2,76%	9,49%
	P		*	**	**	***
Зараженные <i>Candida albicans</i> +профлавин ацетат 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (5)	М	5,60	11,40	15,60	16,20	15,80
	±m	0,14	0,43	0,28	0,20	0,65
	Cv, %	3,57%	5,29%	2,54%	1,78%	5,80%
	P		***	***	***	***
Зараженные <i>Candida albicans</i> +фталоцианин цинка 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (6)	М	4,70	9,95	14,42	16,66	15,03
	±m	0,10	0,48	0,12	0,30	0,18
	Cv, %	2,13%	4,79%	0,82%	1,78%	,17%
	P		***	***	***	***

Особенно хорошее действие на реакцию лейкопоза в организме *O. niloticus* оказывало комплексное внесение в аквариумную воду рыб 4 группы прополиса и метиленового голубого в оптимально допустимых дозах. Здесь данные по уровню лейкоцитов в крови *O. niloticus* даже превысили показатели предыдущей группы с прополисом – на 7, 14, 21 и 30 сут. опыта – в 1,26; 1,11; 1,14 и 1,13 раза. При этом данные по уровню лейкоцитов в крови *O. niloticus* 4

группы были выше, по сравнению с их значением у рыб 2 группы, на эти же сроки исследований, в 2,6; 4,45; 4,64; 5,74 раза.

Положительное влияние на состояние лейкопоза оказывало комплексное применение прополиса с сенсibilизаторами: профлавин ацетат и фталоцианин цинка. Однако уровень лейкоцитов в крови *O. niloticus* хотя и достаточно увеличен и уступает в 5 и 6 группах лишь данным по 3 и 4 группам, здесь увеличение лейкопоза, видимо, следует считать лишь за счет применения их в комплексе с прополисом. Это мы объясняем тем, что препараты профлавин ацетат и фталоцианин цинка проявляли некоторое токсичное проявление в серии опыта по исследованию их токсичности. Но при этом содержание лейкоцитов в крови *O. niloticus* 5 и 6 групп были выше их значений в крови рыб 2 группы, на 7, 14, 21 и 30 сут. опыта, в 2,47 и 2,16; в 3,71 и 3,43 раза; в 3,6 и 3,68; в 3,67 и 3,49 раза.

Динамика в крови *Oreochromis niloticus*, на фоне развития кандидамикозов, лимфоцитов

У рыб лимфоциты функционально, как и у млекопитающих, относят к В- и Т-клеткам. В- лимфоциты содержат рецепторы к гамма-глобулинам, то есть они участвуют в образовании защитных антител от поступающих в организм антигенов, а Т-лимфоцитам приписывают популяции киллеров и хелперов. Киллеры служат клетками контролирующими возможность перерождения клеток в опухолевые (о чем свидетельствуют опухолевые патологии у рыб), а хелперы являются непосредственными помощниками В- лимфоцитов в антителогенезе – несут информацию о поступивших антигенах и тем переключаются в продуцентов антител. Также не исключается наличие у рыб и Т- супрессоров (затормаживающих и приостанавливающих при необходимости иммунные реакции) и клеток памяти, без которых невозможны иммунные реакции. Следовательно, у рыб функционируют и специфические иммунные реакции и реакции отторжения.

Данные по исследованию динамики содержания в крови *Oreochromis*

niloticus лимфоцитов представлены на рисунке 7 и таблице 51 (таблица представлена в Приложении).

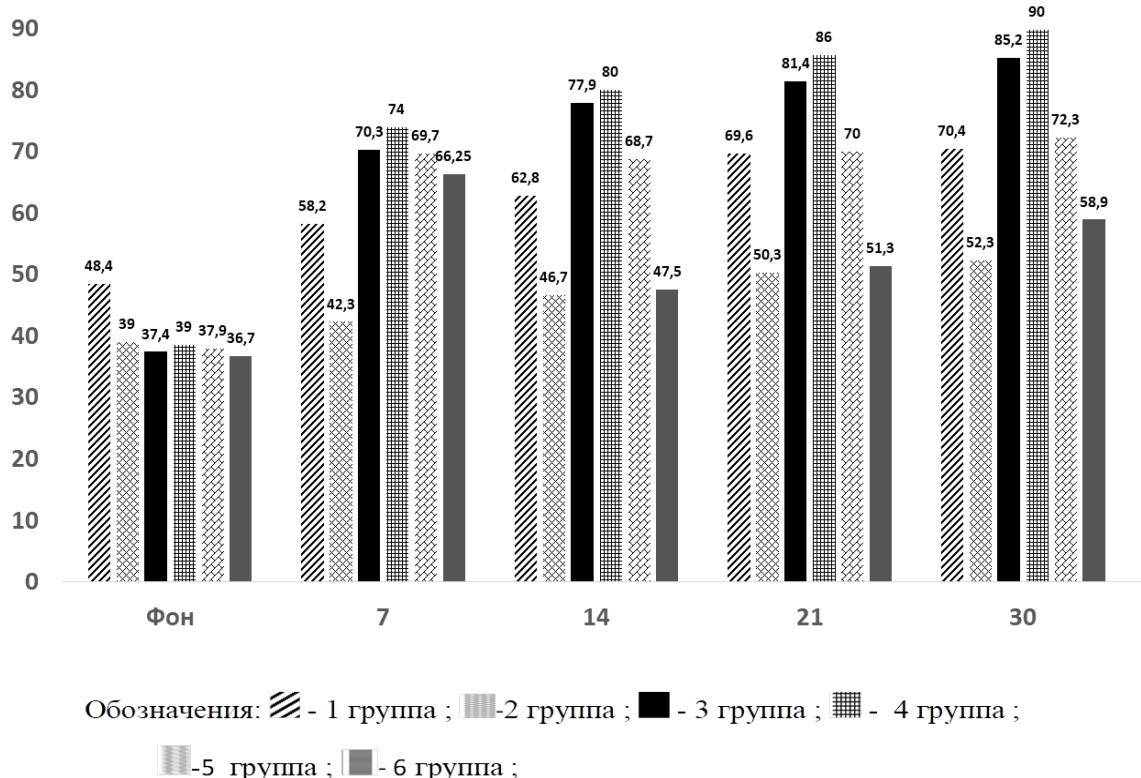


Рис. 7 - Динамика в крови *Oreochromis niloticus* лимфоцитов (в %)

Фоновый уровень лимфоцитов в крови *O. niloticus* 1 контрольной группы составил 48,4%, тогда как показатели рыб 2-6 групп, зараженных кандидами, были снижены, к началу наших исследований, в 1,24 - 1,29 раза. Содержание лимфоцитов в крови рыб 1 группы в процессе опыта, на 7, 14, 21 и 30 сут., увеличилось в 1,2; 1,29; 1,44 и 1,45 раза - до физиологического уровня.

Лимфоциты в крови *O. niloticus* 2 группы имели тенденцию к незначительному повышению, превысив первоначальный фоновый показатель на 7, 14, 21 и 30 сут. опыта в 1,08; 1,19; 1,28 и 1,34 раза. Это показывает, что организм зараженных рыб борется с инфекцией. Но по силе проявления процесс не достигал достаточной активности и уровень лимфоцитов в крови *O. niloticus* 2 группы уступал данным рыб 1 контрольной группы, на 7, 14, 21 и 30 сут. опыта, в 1,37; 1,34; 1,38 и 1,34 раза.

Значительная продукция лимфоцитов в организме *O. niloticus* регистри-

ровалась на фоне внесения в аквариумную воду прополиса – 3 группа. Здесь уровень лимфоцитов был выше, по сравнению данными *O. niloticus* 2 группы, на 7, 14, 21 и 30 сут., в 1,66; 1,67; 1,62 и 1,63 раза. При этом, во все сроки исследований, содержание лимфоцитов в крови *O. niloticus* 3 группы незначительно превысило показатели контрольных рыб 1 группы. Значительная активизация лимфоцитов регистрировалась в крови *O. niloticus* 4 группы на фоне комплексного применения прополиса и метиленового голубого. Уровень лимфоцитов в крови *O. niloticus* 4 группы равномерно повышался, по сравнению с их значением по 1 и 2 группам: на 7 сут. опыта в 1,27 и 1,74 раза, на 14 сут.- в 1,27 и 1,71 раза, на 21 сут.- в 1,23 и 1,70 раза, на 30 сут.- в 1,27 и 1,71 раза.

Внесение в аквариумную воду *O. niloticus* 5 и 6 групп прополиса с сенсibilизаторами: профлавин ацетат и фталоцианин цинка также способствовало повышению продукции в организмы рыб этих групп лимфоцитов. Однако здесь этот процесс был более выражен по 5 группе. Уровень лимфоцитов в крови 5 и 6 групп был выше показателей зараженных рыб 2 группы на 7, 14, 21 и 30 сут. опыта, в 1,65 и 1,56; 1,47 и 1,02; 1,39 и 1,02; 1,38 и 1,12 раза.

Менее активная продукция лимфоцитов в крови *O. niloticus* 6 группы, по сравнению с 5 группой, объясняется более выраженными у этого сенсibilизатора показателями токсигенности.

Следовательно, прополис и, особенно, прополис в комплексе с метиленовым голубым способствуют максимальной стабилизации в организме *O. niloticus* гуморального звена иммунитета.

Динамика в крови *Oreochromis niloticus*, на фоне развития кандидамикозов, нейтрофилов

Параллельно с активизацией в организме *O. niloticus*, на фоне развития кандидамикозов, показателей гуморального звена иммунитета- лимфоцитов, в процессе опытов было установлено и восстановление в организме пораженных кандидамикозами *O. niloticus* показателей и клеточного звена

иммунитета нейтрофилов и моноцитов. Данные по изучению динамики изменения содержания в крови *O. niloticus* уровня нейтрофилов представлены в таблице 52. Нейтрофилы в крови *O. niloticus* 1 контрольной группы в процессе опыта не имели существенных изменений, что говорит о ранней стабилизации этого показателя в организме рыб этой породы. За период исследований данный показатель в крови увеличился лишь в 1,04 раза.

Таблица 52 - Динамика в крови *Oreochromis niloticus* нейтрофилов (в %)

Группы	Стат. показатель	Фон	Сроки исследований от начала опытов, сут.			
			7	14	21	30
Контроль – здоровые (1)	М	7,90	8,00	8,20	8,10	8,20
	±m	0,25	0,24	0,14	0,14	0,21
	Cv, %	0,20	0,20	0,10	0,10	0,15
	P		***	***	***	***
Контроль зараженные <i>Candida albicans</i> (2)	М	5,50	5,70	6,00	6,40	6,80
	±m	0,32	0,14	0,12	0,21	0,21
	Cv, %	8,33%	3,51%	2,89%	4,69%	4,41%
Зараженные <i>Candida albicans</i> +прополис 0,5 мл/л (3)	М	5,20	9,00	9,20	10,70	10,40
	±m	0,12	0,14	0,07	0,14	0,21
	Cv, %	3,33%	2,22%	1,09%	1,87%	2,88%
	P		***	***	***	***
Зараженные <i>Candida albicans</i> +метиленовый голубой 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (4)	М	5,70	9,30	9,60	11,60	11,40
	±m	0,12	0,12	0,28	0,12	0,19
	Cv, %	3,04%	1,86%	4,17%	1,49%	2,32%
	P		***	***	***	***
Зараженные <i>Candida albicans</i> +профлавин ацетат 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (5)	М	5,40	8,20	8,50	8,40	8,00
	±m	0,21	0,25	0,14	0,21	0,21
	Cv, %	5,56%	4,40%	2,35%	3,57%	3,75%
	P		***	***	***	***
Зараженные <i>Candida albicans</i> +фталоцианин цинка 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (6)	М	5,55	7,70	8,10	8,30	8,20
	±m	0,17	0,11	0,53	0,09	0,24
	Cv, %	4,34%	1,95%	9,26%	1,47%	4,15%
	P		***	***	***	***

Показатели содержания нейтрофилов в крови зараженных *Candida albi-*

cans рыб 2-6 групп были снижены к началу наших исследований, по сравнению с показателем *O. niloticus* 1 контрольной группы, в 1,38-1,52 раза.

Уровень нейтрофилов в крови *O. niloticus* 2 группы в процессе опытов также изменялся в сторону незначительного повышения, что свидетельствует о некоторой невысокой степени реактивности этих рыб на *Candida albicans*. Уровень нейтрофилов здесь увеличился, по сравнению с его фоновым значением по группе, на 7, 14, 21 и 30 сут. исследований в 1,04; 1,09; 1,16 и 1,24 раза. Этот процесс был причинно-обусловленным со стороны организма рыб, но свидетельствовал о снижении его иммунных механизмов, на фоне развившихся кандидамикозов и был недостаточным. Внесение в аквариумную воду *O. niloticus* 3 группы прополиса способствовало резкой активизации процесса фагоцитоза в организме, о чем свидетельствует значительное повышение в крови уровня нейтрофилов. На 7, 14, 21 и 30 сут. опыта содержание нейтрофилов в крови *O. niloticus* превысило его показатель у рыб 2 группы в 1,58; 1,53; 1,67 и 1,53 раза. При этом во все сроки опыта уровень нейтрофилов в крови рыб 3 группы был выше, по сравнению с данными 1 контрольной группы, что подтверждает высокие иммуностимулирующие свойства биологически активного продукта пчеловодства - прополиса.

Внесение прополиса в комплексе с метиленовым голубым в аквариумную воду *O. niloticus* 4 группы способствовало еще более значительной активизации фагоцитоза в организме рыб этой группы. Уровень нейтрофилов в крови *O. niloticus* 4 группы был выше показателей рыб 2 группы по срокам исследований, в 1,63; 1,60; 1,81 и 1,67 раза. Этому способствовал разносторонний комплексный химический состав прополиса. Следовательно, самым эффективным препаратом для стимуляции фагоцитоза в организме, зараженных кандидамикозами *O. niloticus*, является комплексное применение прополиса с метиленовым голубым.

Внесение в аквариумную воду *O. niloticus* 5 и 6 групп препаратов профлавин ацетат и фталоцианин цинка в комплексе с прополисом способствовало низкой активизации фагоцитарных реакций в организме *O. niloticus*.

Здесь уровень нейтрофилов повысился, по сравнению с показателями *O. niloticus* 2 группы на 7, 14, 21 и 30 сут. опыта, в 1,44 и 1,35 раза; в 1,41 и 1,35 раза; в 1,31 и 1,29 раза и в 1,17 и 1,20 раза. В целом, показатели нейтрофилов в крови *O. niloticus* 5 и 6 групп не являются низкими, учитывая, что это данные рыб, которые были заражены кандидамикозами. Они приблизились к контрольному уровню *O. niloticus* 1 группы. По сравнению с параметрами, выявленными по 3 и 4 опытным группам, показатели активности фагоцитоза *O. niloticus* 5 и 6 групп значительно уступают им. И учитывая абсолютную безвредность препаратов, использованных в 3 и 4 группах - они являются более благоприятными для рекомендации их в целях повышения фагоцитоза в организме *O. niloticus* на фоне развития кандидамикозов.

Динамика в крови *Oreochromis niloticus* моноцитов на фоне развития кандидамикозов

Моноциты составили самый низкий процент изученных клеток крови *O. niloticus* (рис. 8, таблица 53 в Приложении). Фоновый показатель моноцитов в крови колебался на уровне от 1,7 до 2,4%. Моноциты, после созревания, достигнув зрелости, покидают циркулирующее русло, оседают в органы и ткани, превращаются в макрофаги и выполняют функцию фагоцитоза. Также частично роль прещественников макрофагов у рыб приписывают и лимфоцитам. Макрофаги образуют амёбовидные псевдоподии и выполняют функцию фагоцитоза в органах и тканях (сердце, селезенке, почках). У рыб 1 контрольной группы уровень моноцитов в крови имел тенденцию к не большому повышению и превысил фоновый показатель максимально лишь до 1,2 раза. В крови *O. niloticus* 2 группы содержание моноцитов на период начала исследований (фон) имело самый высокий показатель. Но с развитием кандидамикозов их количество снижалось, что объясняется быстрым заселением ими органов, в т.ч. и желудочно-кишечный тракт и активным фагоцитированием, в том числе и *Candida albicans*.

Уровень моноцитов в крови *O. niloticus* 3-6 групп повышался в процессе опытов. По 3 группе, на фоне внесения в аквариумную воду прополиса,

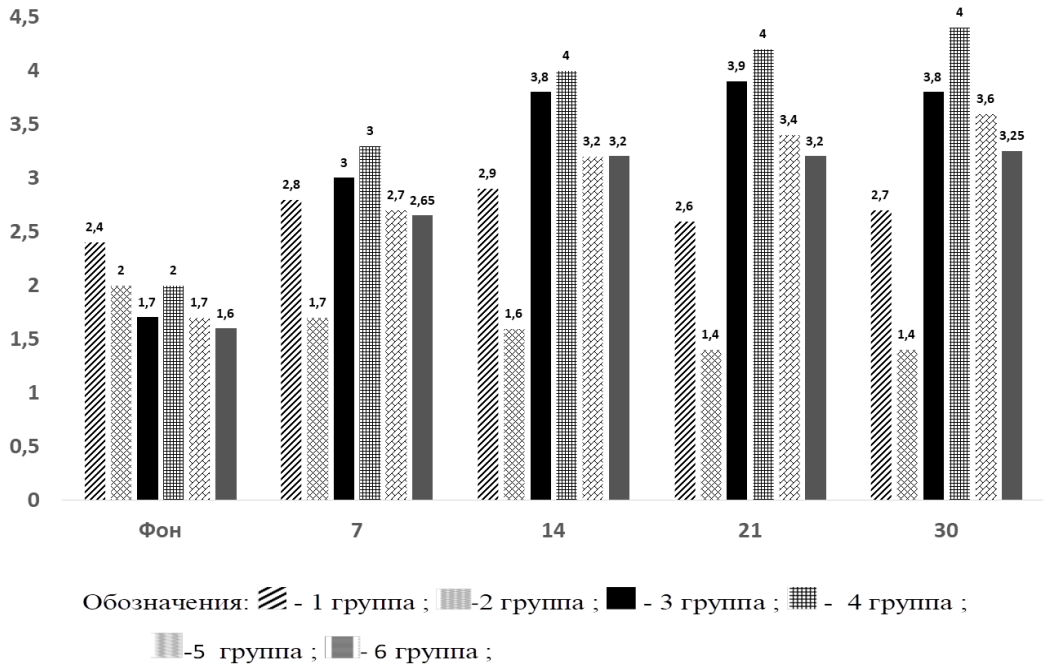


Рис. 8 - Динамика в крови *Oreochromis niloticus* моноциты в (в %)

содержание моноцитов превысило показатель контрольных *O. niloticus* 1 группы и больных рыб 2 группы на 7 сут. опыта- в 1,76 и 1,94 раза, на 14 сут. – в 2,37 и 2,5 раза, на 21сут.- 2,78 и 3,00 раза, на 30 сут.- в 2,37 и 2,75 раза. Более высокая активизация продукции в организме *O. niloticus* моноцитов регистрировалась по 4 опытной группе, на фоне комплексного применения прополиса с метиленовым голубым. Здесь содержание моноцитов было выше, по сравнению с их уровнем в крови *O. niloticus* 1 и 2 групп на 7, сут. опыта в 1,17 и 1,94 раза, на 14 сут.- в 1,38 и 2,5 раза, на 21 сут.- в 1,61 и 3,00 раза, на 30 сут.- в 1,63 и 2,75 раза. Такая активизация обусловлена высокой необходимостью защитных фагоцитарных реакций в организме, на фоне кандидамикозов.

Уровень моноцитов в крови *O. niloticus* 5 и 6 групп также увеличивался активно, но уступая при этом показателям рыб 3 и 4 групп. На 7, 14, 21 и 30 сут. от начала опытов содержание моноцитов в крови *O. niloticus* 5 и 6 групп значительно приблизилось и даже незначительно превысило данные по 1 контрольной группе. При этом уровень моноцитов в крови *O. niloticus* 5 и 6

групп был выше значений их у рыб 2 группы: на 7 сут. опыта в 1,58 и 1,65 раза, на 14 сут.- в 2,00 и 2,06 раза, на 21 сут.- в 2,43 и 2,43 раза, на 30 сут.- в 2,25 и 2,18 раза. Показатели уровня моноцитов в крови *O. niloticus* 5 и 6 групп также свидетельствуют об активной их продукции в организме в связи с развивающимися кандидамикозами и усилением фагоцитарных реакций в организме рыб. Однако показатели выраженности активизации продукции моноцитов в организме *O. niloticus* 5 и 6 групп являются недостаточно выраженными, что объясняется супрессивными влияниями этих сенсibilизаторов в связи с оставшимися в их составе и не инактивированными до необходимого уровня составляющих токсигенности. Следовательно, для восстановления как гуморального, так и клеточного звена иммунитета *O. niloticus* на фоне кандидамикозов эффективным способом является комплексное применение прополиса с метиленовым голубым.

Исходя из анализа данных, представленных в главе диссертации «4.2 Влияние прополиса с сенсibilизаторами на морфологию крови *Oreochromis niloticus*, зараженных *Candida albicans* в условиях аквариумного содержания», можно прийти к заключению, что кандидамикозы приводят к глубоким изменениям в организме *O. niloticus*, в условиях аквариумного содержания, процессов кроветворения, вызванных нарушениями в системах работы жабр, сердца, почек, селезенки, тимуса, лимфоидного органа, лимфоидных образований пищеварительной трубки [21, 35, 36, 65], проявляющихся закономерными нарушениями в организме рыб процессов гемопоэза и лейкопоэза, что проявлялось в реакциях продукции в организме рыб общего уровня лейкоцитов, что потом отражалось на динамике в крови рыб лимфоцитов, нейтрофилов, моноцитов и показателей эритропоэза - проявляющегося в динамике рыб эритроцитов и гемоглобина.

Для обеспечения населения экологичной продукцией необходимы не только эффективные антимикотические препараты, которые попадают с рыбой в пищу человеку, но и средства, которые не наносят вред иммунному

статусу рыб, экологичны, совершенно безвредны для людей. К таким препаратам относится БАПП – прополис, усиливающий процессы лейкопоэза и гемопоэза у рыб.

4.2 Степень повышения механизмов иммунной защиты *Oreochromis niloticus*, на фоне развития кандидамикозов, прополисом в комплексе с сенсibilизаторами

Динамика лизоцимной активности сыворотки крови *O. niloticus*

Результаты исследования динамики изменения лизоцимной активности сыворотки крови (ЛАСК) *Oreochromis niloticus* на фоне развития кандидамикозов, представлены в таблице 54. Активность лизоцима сыворотки крови рыб 2-6 групп, на фоне развития кандидамикозов, была к началу опытов снижена в 1,26-1,49 раза. Показатель лизоцимной активности рыб 1 контрольной группы в процессе опыта повышался, в сравнении с фоновым значением, в возрастном аспекте, на 7, 14, 21 и 30 сут. – в 1,57; 2,48; 4,04 и 3,28 раза.

Показатель ЛАСК *O. niloticus* 2 группы, напротив, в процессе опытов имел тенденцию к активному снижению и уступал показателям рыб 1 контрольной группы, на эти сроки исследований, в 2,63; 5,17; 11,3 и 10,4 раза. Внесение в аквариумную воду *O. niloticus* экстракта прополиса способствовало значительной активизации в сыворотке крови рыб БАСК.

Показатели рыб 3 группы превысили не только их значения у рыб 2 группы, но и 1 контрольной группы. На 7, 14, 21 и 30 сут. исследований от начала опытов лизоцимная активность сыворотки крови рыб 3 группы была выше данных по 1 и 2 группам, в 1,11 и 2,93; в 1,15 и 5,94; в 1,04 и 1,17 и в 1,37 и 14,3 раза, что объясняется антимикотическим и иммуностимулирующим действием прополиса.

Более высокого уровня БАСК достигла у рыб на фоне внесения в аквариумную воду прополиса в комплексе с метиленовым голубым – 4 группа. Здесь показатель БАСК *O. niloticus* превысила данные рыб по 2 группе, на эти сроки опыта, в 4,41; 8,0; 8,8; 13,0 и 19,1 раза. Самое высокое значение БАСК рыб 4 группы объясняется антимикотическим действием метиленового голубого на фоне выраженного иммуностимулирующего действия на

организм *O. niloticus* прополиса. Применение сенсibilизаторов профлавина ацетата и фталоцианина цинка также способствовали определенному повышению БАСК *O. niloticus* 5 и 6 групп. Однако выраженность данного процесса в этих группах была значительно слабее, по срав-

Таблица 54 - Динамика лизоцимной активности сыворотки крови *Oreochromis niloticus* (%)

Группы	Стат. показатель	Фон	Сроки исследований от начала опытов, сут.			
			7	14	21	30
Контроль – здоровые (1)	М	1,46	2,29	3,62	5,90	4,80
	±m	0,08	0,08	0,17	0,30	0,34
	Cv, %	11,94	7,61	10,25	11,24	15,59
	P		***	***	***	***
Контроль зараженные <i>Candida albicans</i> (2)	М	1,12	0,87	0,70	0,52	0,46
	±m	0,03	0,04	0,03	0,03	0,04
	Cv, %	6,68	10,02	9,04	13,51	17,39
Зараженные <i>Candida albicans</i> +прополис 0,5 мл/л (3)	М	1,04	2,55	4,16	6,13	6,58
	±m	0,05	0,18	0,09	0,21	0,18
	Cv, %	9,81	15,49	4,95	7,57	6,18
	P		***	***	***	***
Зараженные <i>Candida albicans</i> +метиленовый голубой 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (4)	М	0,98	3,84	5,60	6,76	8,80
	±m	0,03	0,24	0,22	0,33	0,52
	Cv, %	7,64	13,84	8,75	10,97	13,25
	P	*	***	***	***	***
Зараженные <i>Candida albicans</i> +профлавин ацетат 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (5)	М	1,16	1,38	1,86	2,18	2,62
	±m	0,05	0,06	0,02	0,05	0,05
	Cv, %	8,79	9,61	2,63	5,35	4,45
	P		***	***	***	***
Зараженные <i>Candida albicans</i> +фталоцианин цинка 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (6)	М	1,09	1,44	1,70	2,32	2,50
	±m	0,03	0,07	0,06	0,05	0,10
	Cv, %	6,09	10,39	8,32	5,03	9,12
	P		***	***	***	***

Примечание. Здесь и далее: * $P \geq 0,95$; ** $P \geq 0,99$; *** $P \geq 0,999$ - по сравнению с 2-й группой.

нению с активностью лизоцима в сыворотке крови рыб 3 и 4 групп, что обуславливается с сохранением некоторой токсичности этих сенсibilизаторов даже после применения прополиса. При этом показатели

ЛАСК *O. niloticus* 5 и 6 групп, во все сроки опытов, были выше их значений у рыб 2 группы: на 7 сут.- в 1,58 и 1,65; на 14 сут.- в 2,66 и 2,43; на 21 сут.- в 4,19 и 4,46 раза; на 30 сут.- в 5,69 и 5,43 раза.

Динамика бактерицидной активности сыворотки крови *O. niloticus*

Бактерицидная активность сыворотки крови (БАСК), на фоне развития кандидамикозови разных методах терапии с прополисом и сенсibilизаторами, у рыб *O. niloticus* представлена на рис .9.



Рис. 9 - Динамика бактерицидной активности сыворотки крови *Oreochromis niloticus* (%)

БАСК 1 контрольной группы в процессе опытов не имела высоких показателей. Она изменялась в сторону увеличения возрастном аспекте, но к 30 сут. от начала опытов увеличилась лишь в 1,3 раза от фонового значения. Фоновый показатель БАСК рыб *O. niloticus* 2 – 6 групп, на фоне активизации в организме *Candida albicans*, был ниже его значения у рыб 1 контрольной группы, в 1,36- 1,48 раза. Показатель БАСК рыб 2 группы, не подвергнутых лечебно- профилактическим манипуляциям, в процессе опытов продолжал снижаться и уступал показателям рыб 1 группы на 7, 14, 21 и 30 сут. опыта, в 1,61; 2,48; 3,0 и 3,06 раза. Внесение в аквариумную воду *O. niloticus* 3 группы экстракта прополиса способствовало резкому повышению БАСК рыб. Показатель БАСК рыб увеличился, в этой группе, по сравнению с данными по 2 группе, на 7, 14, 21 и 30 сут. опыта, в 1,19; 2,16; 3,79 и 4,1 раза . При этом на 21и 30 сут. опыта данные БАСК рыб 3 группы были выше контрольных цифр, в 1,26-1,34 раза. Максимального уровня БАСК *O. niloticus* достигла у рыб 4

группы, на фоне комплексного применения прополиса с метиленовым голубым. Здесь на 7, 14, 21 и 30 сут. от начала опытов, описываемый показатель превысил данные по 2 группе, в 1,58; 2,96; 4,23 и 4,78 раза. На 14, 21 и 30 сут исследований данные БАСК *O. niloticus* 4 группы были выше и контрольных цифр рыб 1 группы, в 1,19; 1,4 и 1,56 раза. Внесение в состав воды в аквариум, в котором содержали *O. niloticus* профлавина ацетата и фталоцианина цинка также способствовал некоторому увеличению БАСК рыб. Однако этот процесс в 5 и 6 группах имел более низкую степень проявления и выраженности, по сравнению с данными по 3 и особенно 4 группам. На 7, 14, 21 и 30 сут. опыта уровень БАСК *O. niloticus* 5 и 6 групп превысил показатели рыб 2 группы в 1,15 и 1,11; в 1,96 и 1,9; в 2,27 и 2,36; в 2,38 и 2,25 раза.

Данные, полученные по исследованию показателей гуморального звена иммунитета (ЛАСК и БАСК) *O. niloticus*, свидетельствуют о высокой эффективности, экологичности применения для профилактики и терапии КПП прополиса в комплексе с метиленовым голубым, что подтверждается результатами исследования гематологических показателей и естественного микробиоценоза рыб.

4.3 Влияние прополиса с сенсibilизаторами на восстановление микробной экологии кишечника *Oreochromis niloticus*, зараженных *Candida albicans* в условиях аквариумного содержания

Результаты исследования динамики изменения в содержимом толстого отдела кишечника *Oreochromis niloticus* уровня молочнокислых *Lactobacillus spp.*, представлены в таблице 55.

Содержание в *Lactobacillus spp.* в содержимом толстого отдела кишечника аквариумных *Oreochromis niloticus* (теляпия нильская) 1 контрольной группы, которые находились в условиях, исключающих возможность контаминации воды и рыб грибами из рода *Candida albicans*,

выделялись на уровне от 8,7 до 16,4 x 10⁴ КОЕ/г., увеличиваясь в возрастном аспекте, по сравнению с фоновым уровнем на 7, 14, 21 и 30 сут. от начала опыта, в 1,17; 1,44; 1,64 и 1,88 раза.

Таблица 55 – Экологическое восстановление прополисом с сенсбилизаторами *Lactobacillus spp.* в толстом отделе кишечника *O.niloticus* (КОЕ/г)

Группы	Стат. показатель	Фон	Сроки исследований от начала опытов, сут.			
			7	14	21	30
Контроль – здоровые (1)	М	8,70*10 ³	1,02*10 ⁴	1,26*10 ⁴	1,43*10 ⁴	1,64*10 ⁴
	±m	3,08*10 ²	1,87*10 ²	2,12*10 ²	1,22*10 ²	2,86*10 ²
	Cv, %	5,01%	2,59%	2,38%	1,21%	2,47%
	P					
Контроль зараженные <i>Candida albicans</i> (2)	М	4,90*10 ³	1,40*10 ³	2,70*10 ³	1,50*10 ³	8,80*10 ²
	±m	1,87*10 ²	3,94*10 ¹	2,55*10 ¹	1,06*10 ²	6,22*10 ¹
	Cv, %	5,40%	3,98%	1,34%	9,56%	10,85%
Зараженные <i>Candida albicans</i> +прополис 0,5 мл/л (3)	М	6,40*10 ³	4,50*10 ³	6,60*10 ³	8,40*10 ³	1,40*10 ⁴
	±m	3,54*10 ²	4,42*10 ²	2,45*10 ²	5,94*10 ²	9,90*10 ²
	Cv, %	7,81%	13,88%	5,25%	8,95%	10,52%
	P		***	***	***	***
Зараженные <i>Candida albicans</i> +метиленовый голубой 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (4)	М	6,80*10 ⁴	1,48*10 ⁴	1,69*10 ⁴	1,78*10 ⁴	2,06*10 ⁵
	±m	3,94*10 ³	1,10*10 ³	1,20*10 ³	1,27*10 ³	1,48*10 ⁴
	Cv, %	9,60%	10,50%	10,06%	10,11%	10,19%
	P		*	**	**	***
Зараженные <i>Candida albicans</i> +профлавин ацетат 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (5)	М	5,00*10 ³	3,60*10 ³	3,50*10 ³	1,90*10 ³	9,90*10 ²
	±m	3,54*10 ²	2,55*10 ²	2,12*10 ²	2,55*10 ²	7,04*10 ¹
	Cv, %	8,52%	10,14%	8,57%	9,12%	10,05%
	P		***	***	***	***
Зараженные <i>Candida albicans</i> +фталоцианин цинка 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (6)	М	6,35*10 ³	3,8*10 ³	4,2*10 ³	2,45*10 ³	1,16*10 ²
	±m	7,78*10 ²	2,69*10 ²	5,66*10 ²	1,70*10 ²	8,49
	Cv, %	9,81%	10,23%	12,60%	9,99%	10,34%
	P		***	***	***	***

У рыб 2-6 опытных групп, содержащихся в условиях наличия в воде грибов *Candida albicans*, отмечалось снижение к началу опытов (фон) в содержимом кишечника уровня *Lactobacillus spp.* до 4,9 - 6,8 x 10³ КОЕ/г.

Рыбы 2 – 6 опытных групп находились в одинаковых условиях кормления и содержания с контрольными. В кишечнике рыб 2 группы, в которой никакие дополнительные меры не применялись, в последующие сроки опыта регистрировалось дальнейшее снижение активности размножения лактофлоры и уровень *Lactobacillus spp.* снизился на 7, 14, 21 и 30 сут., по сравнению с данными 1 контрольной группы в 7,28; 4,66; 9,53 и 31,2 раза. Это свидетельствует о значительном снижении на фоне развития кандидамикоза в организме *Oreochromis niloticus* механизмов иммунной защиты, затормаживается функция снижения активности патогенной и условно-патогенной флоры в кишечнике рыб; снижается функция иммуномодулирующего влияния лактофлоры, обусловленная наличием в их клеточной стенке пептидогликанов и тейхоевых кислот; снижается в кишечнике противовоспалительные действия, что подтвердилось нами и в других разделах исследований по изучению у *Oreochromis niloticus* факторов естественной резистентности, гематологической картины.

Внесение в состав аквариумной воды прополиса (3 группа) способствовало выраженной активизации в кишечнике *Oreochromis niloticus* лактобацилл. Они проявлялись в виде увеличения их количественного состава в содержимом кишечника на 7, 14, 21 и 30 сут от первоначального фонового уровня в 1,42; 1,03; 1,31 и 2,18 раз. Это объясняется богатым и разнообразным химическим составом прополиса, удачным сочетанием их компонентов которые не имеют антагонистического взаимодействия, благодаря переработке их секретами мандибулярных желез пчел.

Добавление в аквариумную воду на фоне внесения прополиса изученных нами сенсibilизаторов не оказывало негативного влияния на рост и размножение лактобацилл в кишечнике *Oreochromis niloticus*. Однако активность размножения в кишечнике и уровень *Lactobacillus spp.* в содержимом толстого отдела кишечника лишь только в 4 группе, на фоне комплексного применения метиленовой сини с прополисом, имела более выраженное проявление, по сравнению с контрольной и всеми остальными

опытными группами. По этой группе уровень *Lactobacillus spp.* в кишечнике рыб 4 группы превысил показатель особей 1 контрольной, 2, 3 опытных групп на 7 сут. опыта в 1,45; 10,6 ; 3,29 раза; на 14 сут.- в 1,34; 6,25; 2,56 раза; на 21 сут.- в 1,24; 11,8; 2,12 раза, на 30 сут.- в 1,25; 23,4; 1,47 раза.

Содержание в кишечнике *Oreochromis niloticus* 5 и 6 группы *Lactobacillus spp.* на фоне комплексного применения с прополисом было ниже их уровня у рыб 3 и 4 групп. Однако препараты октакис фталоцианин цинка и профлавин ацетат способствовали увеличению в кишечнике рыб 5 и 6 групп содержания лактобацилл, по сравнению с данными по 2 группе, в которой не проводились никакие лечебные манипуляции в отношении *Candida albicans* и значительно приблизились к контрольным цифрам.

Значительное позитивное действие на нормализацию микробиоценоза рыб 4 группы вызвано хорошим противомикотическим действием в отношении *Candidaalbicans* метиленового голубого и иммуностимулирующими свойствами прополиса, активизировавшим защитные механизмы рыб на фоне действия на организм токсинов и продуктов метаболизма кандид.

Динамика и характер изменения содержания *Bifidobacterium spp.*

Данные по изучению динамики изменения уровня в содержимом толстого отдела кишечника *Bifidobacterium spp.*, представлены в таблице 56.

Роль бифидобактерий в организме велика. Они вырабатывают ряд важных витаминов, в том числе рибофлавин, тиамин, фолиевую кислоту, пиридоксин, ниацин, витамин К. Способствуют улучшению всасывания и биодоступности минералов, в том числе кальция, железа и цинка, способствуя ионизации минералов и улучшению всасывания за счет снижения рН в желудке, обладают широким спектром противомикробного действия, вырабатывая антибиотические вещества, являются мощными иммуностимуляторами для организма, обладает антиоксидантными свойствами, способствует снижению холестерина, стабилизации кишечной микрофлоры.

В содержимом толстого отдела кишечника *Oreochromis niloticus* 1 группы уровень *Bifidobacterium spp.* выделяется в пределах от 2,7 до 14,9 x10 КОЕ³/г.

На фоне действия на организм *Oreochromis niloticus* *Candida albicans* отмечается снижение содержания бифидобактерий в толстом отделе кишечника рыб.

Таблица 56 - Динамика *Bifidobacterium spp.* в содержимом толстого отдела кишечника *O. niloticus* (КОЕ/г)

Группы	Стат. показатель	Фон	Сроки исследований от начала опытов, сут.			
			7	14	21	30
Контроль – здоровые (1)	М	2,70*10 ³	3,90*10 ³	1,26*10 ⁴	1,49*10 ⁴	1,56*10 ⁴
	±m	2,55*10 ²	3,54*10 ²	7,78*10 ²	3,94*10 ²	6,82*10 ²
	Cv, %	13,35	12,82	8,73	3,74	6,18
	P		***	***	***	***
Контроль зараженные <i>Candida albicans</i> (2)	М	9,20*10 ²	6,20*10 ²	4,00*10 ²	1,90*10 ²	1,07*10 ²
	±m	3,94*10 ¹	3,24*10 ¹	3,94*10 ¹	1,87*10 ¹	1,82*10 ¹
	Cv, %	6,05	7,39	13,92	13,93	2,47
Зараженные <i>Candida albicans</i> +прополис 0,5 мл/л (3)	М	8,70*10 ²	2,40*10 ³	9,40*10 ³	8,80*10 ³	6,20*10 ³
	±m	2,83*10 ¹	1,87*10 ³	3,08*10 ³	7,07*10 ²	1,22*10 ³
	Cv, %	4,60	11,02	9,91	1,72	2,79
	P		***	***	***	***
Зараженные <i>Candida albicans</i> +метиленовый голубой 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (4)	М	9,40*10 ²	9,20*10 ³	2,92*10 ⁴	3,61*10 ⁴	1,40*10 ⁴
	±m	3,08*10 ¹	1,87*10 ²	1,10*10 ³	2,64*10 ³	2,55*10 ³
	Cv, %	4,64	2,88	5,34	10,34	7,14
	P		***	***	***	***
Зараженные <i>Candida albicans</i> +профлавин ацетат 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (5)	М	8,90*10 ²	2,90*10 ³	2,40*10 ³	3,90*10 ³	2,60*10 ³
	±m	2,12*10 ¹	3,08*10 ²	1,70*10 ²	7,07*10 ²	4,95*10 ²
	Cv, %	3,37	15,03	10,12	2,56	9,21
	P		***	***	***	***
Зараженные <i>Candida albicans</i> +фталоцианин цинка 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (6)	М	9,20*10 ²	1,41*10 ²	9,10*10 ²	2,55*10 ³	5,35*10 ²
	±m	7,07	3,54*10 ²	1,41*10 ²	3,54*10 ²	4,95*10 ¹
	Cv, %	0,63	8,33	1,67	13,35	6,68
	P		***	***	***	***

Фоновое значение *Bifidobacterium spp.* в толстом отделе кишечника *Oreochromis niloticus* опытных групп, под влиянием *Candida albicans* было снижено в 2,8-3,1 раза. В последующие сроки опыта у рыб 2 группы, не подвергнутых никаким дополнительным манипуляциям, отмечалось дальнейшее снижение содержания в толстом отделе кишечника *Bifidobacterium spp.* и к Концу опыта они выделялись в очень незначительном количестве, уступая показателям *Oreochromis niloticus* 1 контрольной группы в 145,8 раза, составив лишь $10,7 \times 10^1$ КОЕ/г (при контроле $7,6 \times 10^3$).

Внесение в состав аквариумной воды прополиса (3 группа) способствовало значительному восстановлению до высокого физиологического уровня содержания в толстом кишечнике рыб *Bifidobacterium spp.* На 7, 14, 21 и 30 сут. опыта уровень *Bifidobacterium spp.* в содержимом толстой кишки *Oreochromis niloticus* увеличилось, по сравнению с их количеством в кишечнике рыб 2 группы, в 3,87; 23,5; 46,3 и 57,9 раза.

Максимального значения количество *Bifidobacterium spp.* достигло в содержимом кишечника *Oreochromis niloticus* 4 группы, на фоне действия на организм рыб прополиса в комплексе с метиленовым синим. Здесь уровень *Bifidobacterium spp.* увеличился к 7, 14, 21 и 30 сут. опыта, по сравнению с их значением по 2 группе, в 14,8; 72,5; 189,5 и 130,8 раза.

Количество *Bifidobacterium spp.* в содержимом кишечника *Oreochromis niloticus* 5 и 6 групп было во все сроки исследований несколько ниже, по сравнению с данными 3 и особенно 4 групп. Но при этом показатели рыб по уровню *Bifidobacterium spp.* в содержимом толстого отдела кишечника значительно и достоверно превышали их уровень у *Oreochromis niloticus* 2 группы: на 7 сут.- в 4,67 и 1,93 раза, на 14 сут.- в 6,0 и 2,27 раза, на 21 сут.- в 20,5 и 14,2 раза, на 30 сут.- в 24,3 и 50,4 и 5,05 раза.

Экологическое влияние прополиса с сенсibilизаторами на степень снижения активности в кишечнике *Oreochromis niloticus* условно – патогенной микрофлоры

Результаты исследования в содержимом толстого отдела кишечника динамики грибов *Candida albicans* представлены в таблице 57 и рис. 10.

Показатель содержания *Candida albicans* в толстом отделе кишечника рыб 1 контрольной группы до 14 сут. опыта не имел особых количественных изменений.

Таблица 57 – Экологичное восстановление прополисом в комплексе с сенсбилизаторами динамики *Candida albicans* в содержимом толстого отдела кишечника *O.niloticus* (КОЕ/г)

Группы	Стат. показатель	Фон	Сроки исследований от начала опытов, сут.			
			7	14	21	30
Контроль – здоровые (1)	М	$4,20 \cdot 10^2$	$4,60 \cdot 10^2$	$4,08 \cdot 10^2$	$3,66 \cdot 10^2$	$3,02 \cdot 10^2$
	$\pm m$	$1,84 \cdot 10^1$	$1,67 \cdot 10^1$	$1,63 \cdot 10^1$	9,82	$1,13 \cdot 10^1$
	Cv, %	6,20%	5,14%	5,64%	3,80%	5,30%
	P		***	***	***	***
Контроль зараженные <i>Candida albicans</i> (2)	М	$6,45 \cdot 10^3$	$8,70 \cdot 10^3$	$1,09 \cdot 10^4$	$1,78 \cdot 10^4$	$2,36 \cdot 10^4$
	$\pm m$	$1,35 \cdot 10^2$	$1,55 \cdot 10^2$	$8,49 \cdot 10^1$	$1,21 \cdot 10^2$	$4,79 \cdot 10^2$
	Cv, %	2,97%	2,52%	1,10%	0,96%	2,87%
Зараженные <i>Candida albicans</i> +прополис 0,5 мл/л (3)	М	$6,62 \cdot 10^3$	$4,70 \cdot 10^3$	$4,00 \cdot 10^3$	$5,95 \cdot 10^2$	$3,30 \cdot 10^2$
	$\pm m$	$8,03 \cdot 10^1$	$5,52 \cdot 10^1$	$9,51 \cdot 10^1$	6,75	7,38
	Cv, %	1,72%	1,66%	3,36%	1,60%	3,16%
	P		***	***	***	***
Зараженные <i>Candida albicans</i> +метиленовый голубой 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (4)	М	$6,98 \cdot 10^3$	$2,12 \cdot 10^3$	$1,20 \cdot 10^3$	$2,14 \cdot 10^2$	$1,90 \cdot 10^2$
	$\pm m$	$7,97 \cdot 10^1$	$1,11 \cdot 10^2$	$6,75 \cdot 10^1$	4,24	8,69
	Cv, %	1,61%	7,41%	7,95%	2,80%	6,47%
	P		***	***	***	***
Зараженные <i>Candida albicans</i> +профлавин ацетат 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (5)	М	$7,16 \cdot 10^3$	$6,20 \cdot 10^3$	$5,70 \cdot 10^3$	$1,20 \cdot 10^3$	$9,40 \cdot 10^2$
	$\pm m$	$6,48 \cdot 10^1$	$9,97 \cdot 10^1$	$9,72 \cdot 10^1$	$7,38 \cdot 10^1$	$1,07 \cdot 10^1$
	Cv, %	1,28%	2,28%	2,41%	8,70%	1,61%
	P		***	***	***	***

Зараженные <i>Candida albicans</i> +фталоцианин цинка 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (6)	М	6,53 *10 ³	6,00 *10 ³	5,00 *10 ³	3,10 *10 ³	1,16 *10 ³
	±m	9,51*10 ¹	6,48*10 ¹	1,55*10 ²	3,94*10 ¹	7,38
	Сv, %	2,06%	1,53%	4,39%	1,80%	0,90%
	Р		***	***	***	***

На сроки 21 и 30 сут. опыта незначительно снизился – до уровня 3,66 и 3,02 x10² КОЕ/г, что, следует рассматривать как возрастные физиологические изменения и стабилизацию показателя *C. albicans* для *Oreochromis niloticus* нормальным физиологическим статусом, учитывая контаминацию кандидами всех объектов окружающей среды, в том числе и ее попадание на водную среду бассейнов для содержания рыб.

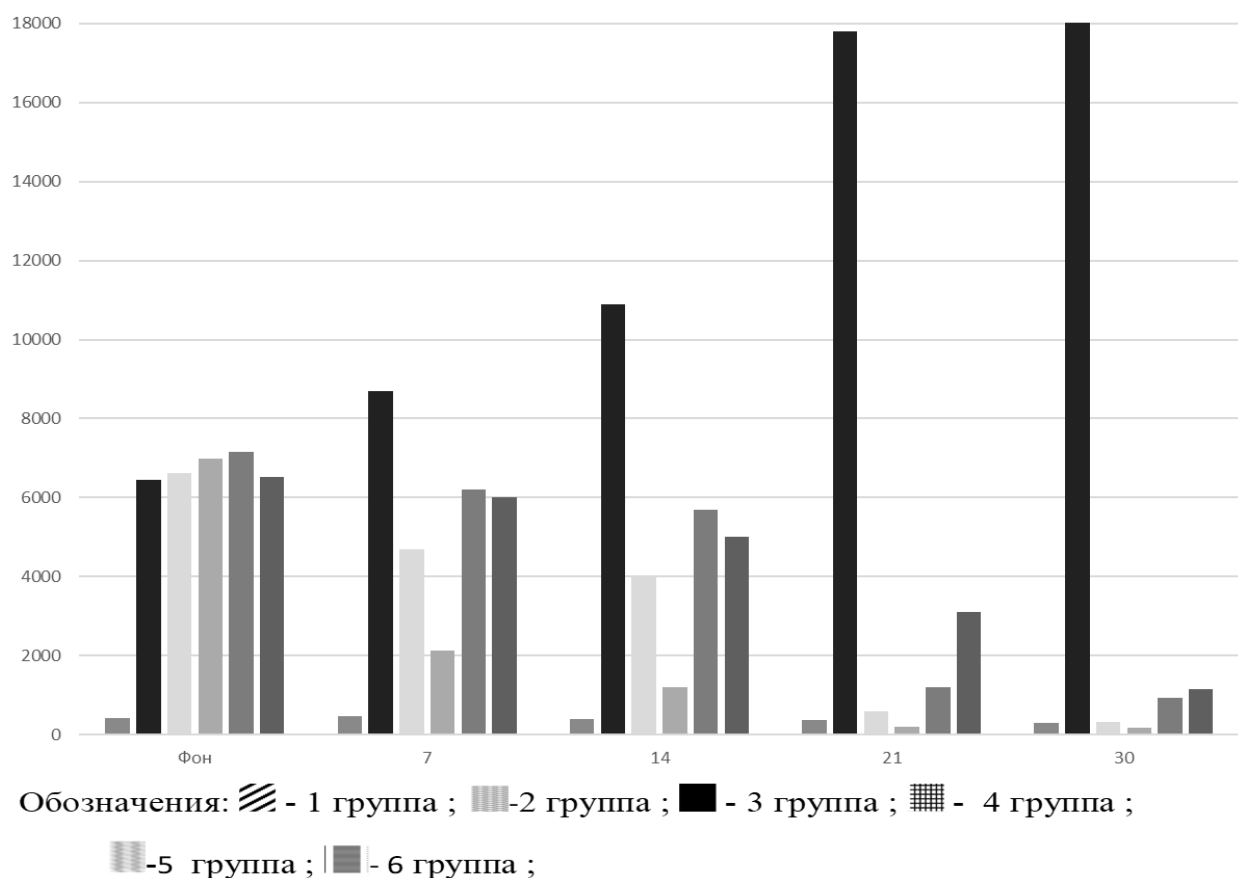


Рис. 10 - Динамика *Candida albicans* в содержимом толстого отдела кишечника *O. niloticus* (КОЕ/г)

Уровень *C. albicans* в содержимом толстого отдела кишечника *Oreochromis niloticus* 2-6 опытных групп к началу исследований был повышен до значений 6,45 – 7,16 x10³ КОЕ/г, т.е. в 15,3 – 17,0 раз. В толстом отделе кишечника *Oreochromis niloticus* 2 группы регистрировалось

дальнейшее увеличение содержания *C. albicans*. На 7, 14, 21 и 30 сут. показатель кандидшечника *Oreochromis niloticus* 2 группы регистрировалось дальнейшее увеличение содержания *C. albicans*. На 7, 14, 21 и 30 сут. показатель кандид в кишечнике рыб 2 группы был выше контрольных цифр в 18,9; 26,7; 48,6 и 78,0 раз.

Внесение в аквариумную воду прополиса способствовало значительному снижению количества *C. albicans* в толстом отделе кишечника. Уровень кандид снижался по срокам исследований, по сравнению с фоновым показателем, на 7, 14, 21, 30 сут. от начала исследований, в 1,4; 1,65; 11,1 и 20,0 раза. К 30 сут. Но при этом он продолжал превышать показатели контроля на эти периоды опыта в 10,2; 9,8; 1,43 и 1,09 раза.

Максимальное снижение уровня *C. albicans* отмечалось в содержимом толстого отдела кишечника *Oreochromis niloticus* 4 группы, на фоне внесения в аквариумную воду прополиса в комплексе с метиленовым голубым. Показатель *C. albicans* по срокам опыта в содержимом толстого кишечника рыб этой группы снижался в 3,29; 5,81; 32,6 и 36,7 раза, соответствуя на 21 и 30 сут. опыта физиологически допустимым значениям. В сериях опытов с применением только метиленового голубого без прополиса эффективность действия его на *C. albicans* была значительно ниже и уступала, во все сроки, показателям прополиса. В этой связи прополис был взят в комплексе с метиленовой синью. Показатели 4 группы свидетельствуют о высокой эффективности действия на кандид данного комплекса. Это обуславливается разносторонними свойствами прополиса, благодаря его уникальному химическому составу: противомикробным, противогрибковым, иммуностимулирующим, противовоспалительным, иммунокорректирующим, гемостимулирующим и другим биологическим свойствам, с одной стороны и выраженными бактериостатическими, бактерицидными и противогрибковыми свойствами метиленовой сини, с другой, а также удачным сочетанием этих препаратов, отсутствием антагонистического

взаимодействия и токсичного действия при совместном применении, что также было установлено в предыдущих разделах диссертации.

В этой связи были проведены исследования с комплексным применением прополиса с другими, исследованными нами в предыдущих разделах работы, сенсбилизаторами: профлавином ацетата и фталоцианином цинка.

Данные по изучению динамики *C. albicans* в содержимом толстого отдела кишечника *Oreochromis niloticus* 5 и 6 групп показали, что на фоне их комплексного применения с прополисом повышается их действие на кандид. На 7 сут. опыта показатели *C. albicans* в кишечнике рыб этих групп были ниже фонового значения в 1,15 и 1,09 раза, на 14 сут.- в 1,25 и 1,3 раза, на 21 сут.- в 5,96 и 2,1 раза, на 30 сут.- в 7,62 и 5,63 раза; показателя *Oreochromis niloticus* 2 группы на 7 сут.- в 1,4 и 1,45; на 14 сут.- в 1,91 и 2,18; на 21 сут.- в 14,8 и 5,74; на 30 сут.- в 25,1 и 20,3 раза. Однако показатели уровня *C. albicans*, не смотря на снижение активности размножения в толстом отделе кишечника рыб 5 и 6 групп, во все сроки исследований, были значительно выше их значений у контрольных *Oreochromis niloticus*. Данные по снижению активности в толстом отделе кишечника *Oreochromis niloticus* 5 и 6 групп, показывают низкую эффективность их применения при кандидамикозах этих рыб.

Самым высокоэффективным методом терапии и действия на *C. albicans* при кандидамикозах *Oreochromis niloticus* является комплексное применение прополиса с метиленовым голубым.

Динамика и характер изменения содержания *Staphylococcus aureus*

Результаты исследования динамики изменения в содержимом толстого отдела кишечника *Oreochromis niloticus* динамики *Staphylococcus aureus* представлены на рисунке 11 и таблице 58 (таблица представлена в Приложении)

Staphylococcus aureus в содержимом толстого отдела кишечника *Oreochromis niloticus* рыб 1 контрольной группы выделялся на уровне (3,2 - 4,3 $\times 10^4$ КОЕ/г), что служит показателем генетической закрепленности и стабильности его содержания в кишечнике *Oreochromis niloticus*. Однако при этом во всех опытных группах и во все сроки исследований регистрировались четкие различия уровня *Staphylococcus aureus* в содержимом толстого отдела кишечника рыб. Фоновое значение количества золотистого стафилококка в содержимом толстого кишечника *Oreochromis niloticus* 2-6 групп колебалось на уровне от 5,2 до 5,9 $\times 10^4$ КОЕ/г.

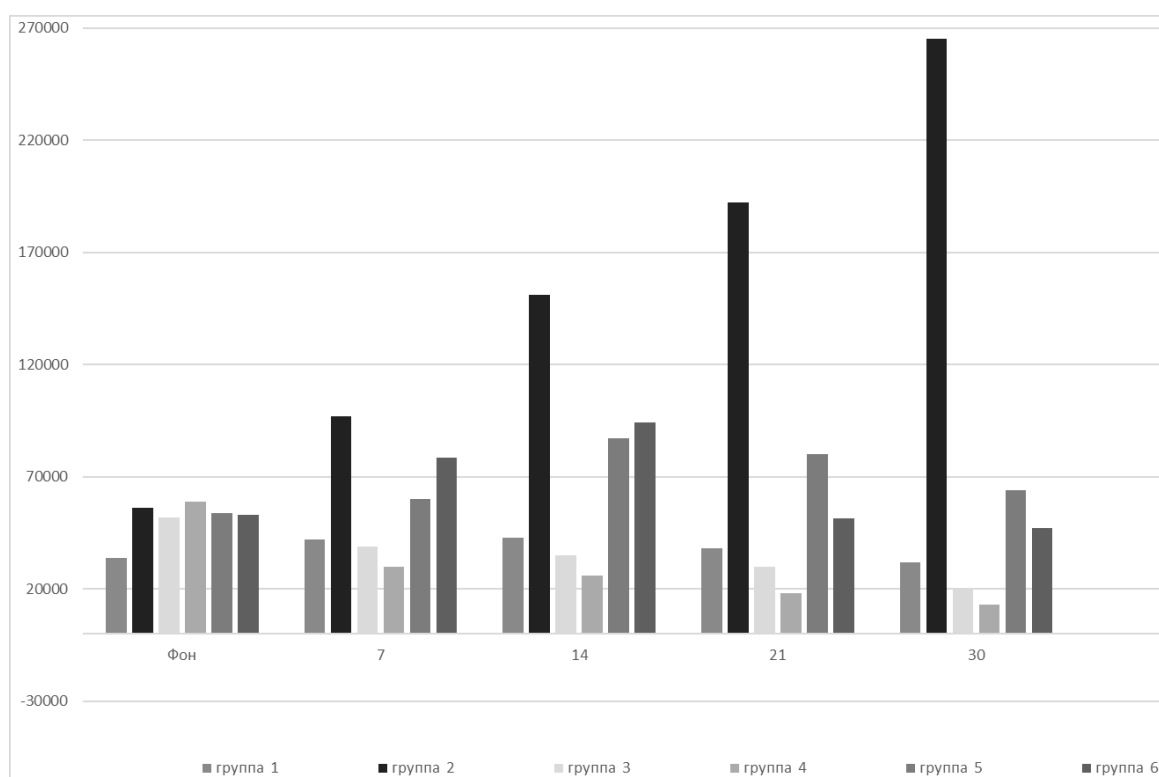


Рис. 11 - Динамика *Staphylococcus aureus* в содержимом толстого отдела кишечника *O. niloticus* (КОЕ/г), тыс/мкл

У *Oreochromis niloticus* 1 контрольной группы в процессе сроков опыта отмечались незначительные колебания этого показателя сначала, до 14 сут. опыта, в сторону небольшого повышения, что видимо связано со стрессовой ситуацией, в связи с перемещением рыб в новые аквариумные условия (на $08-09 \times 10^4$ КОЕ, т.е на 8-9 тыс. КОЕ/г). В последующие сроки по контрольной группе регистрировалось некоторое снижение количества золотистого

стафилококка в содержимом толстого отдела кишечника, но эти изменения были на уровне физиологически допустимых значений.

Фоновое значение количества золотистого стафилококка в содержимом толстого отдела кишечника *Oreochromis niloticus* 2-6 опытных групп, подвергнутых воздействию *Candida albicans* колебалось на уровне от 5,2 до 5,9 x 10⁴ КОЕ/г., что было выше, чем в контроле в 1,53- 1,73 раза. В последующие сроки опыта уровень *Staphylococcus aureus* в толстом отделе кишечника рыб 2 группы имел тенденцию к дальнейшему динамичному выраженному повышению, превысив контрольный показатель на 7, 14, 21 и 30 сут. опыта, в 2,3; 3,51; 5,05 и 8,28 раза.

В содержимом толстого отдела кишечника *Oreochromis niloticus* 3 - 6 опытных групп на фоне проведенных мероприятий, направленных на повышение защитных механизмов рыб в условиях аквариума, зараженного *Candida albicans*, отмечалось снижение активности *Staphylococcus aureus*. Этот процесс имел разную степень выраженности и проявления, в зависимости от использованных сенсibilизаторов с прополисом. На фоне внесения в аквариумную воду прополиса отмечалось полное восстановление содержания *Staphylococcus aureus* в толстом отделе кишечника рыб 3 группы до контрольного уровня. При этом показатели уровня *Staphylococcus aureus* в кишечнике *Oreochromis niloticus* 3 группы даже были ниже их значения в контроле: на 7, 14, 21 и 30 сут – в 1,07; 1,23; 1,26 и 1,6 раза. Особо резко отличалось снижение уровня золотистого стафилококка в сравнении с показателями его уровня в содержимом толстого отдела кишечника *Oreochromis niloticus* рыб 2 группы, не подвергнутых воздействию прополиса (на 7,14, 21 и 30 сут. исследований – в 2,49; 4,31; 6,4 и 13,2 раза).

Значительное бактериостатическое действие на *Staphylococcus aureus* оказывало комплексное применение сенсibilизатора метиленового синего в условиях аквариума с прополисом (4 группа). Здесь уровень *Staphylococcus aureus* в содержимом толстого отдела кишечника *Oreochromis niloticus* был ниже, по сравнению с показателями рыб 1 и 2 групп, на 7 сут. опыта в 1,4 и

3,23 раза, на 14 сут.- в 1,65 и 5,8 раза, на 21 сут.- в 2,11 и 10,6 раза, на 30 сут.- в 2,46 и 20,4 раза.

Сенсибилизаторы профлавин ацетат и фталоцианин цинка в комплексе с прополисом (5 и 6 группы) также проявляли определенное бактериостатическое действие по отношению к золотистому стафилококку, но по выраженности проявления они уступали показателям 4 группы, в которой применяли комплексно сенсибилизатор метиленовую синь с прополисом. При этом содержание *Staphylococcus aureus* в толстом отделе кишечника *Oreochromis niloticus* 5 и 6 групп превысило показатели 1 контрольной группы на 7 сут. опыта в 1,43 и 1,86 раза, на 14 сут.- в 2,02 и 2,16 раза, на 21 сут. – в 2,1 и 1,34 раза, на 30 сут.- в 2,0 и 1,43 раза. Однако и профлавин ацетат и фталоцианин цинка в комплексе с прополисом проявили достаточную эффективность, ибо содержание *Staphylococcus aureus* в содержимом толстого отдела кишечника значительно снизилось, по сравнению с его уровнем у рыб 2 группы: на 7 сут. опыта – в 1,61 и 1,24 раза, на 14 сут.- в 1,73 и 1,62 раза, на 21 сут. – в 2,4 и 3,76 раза, на 30 сут. - в 4,14 и 5,76 раза.

Динамика и характер изменения содержания *Escherichia coli* pss.

Результаты исследования динамики изменения уровня *Escherichia coli* pss. в содержимом толстого отдела кишечника *Oreochromis niloticus* представлены в таблице 59. В содержимом толстого отдела кишечника рыб *Escherichia coli* выделялись на уровне ($n \times 10^5$ КОЕ/г).

В содержимом толстого кишечника *Escherichia coli* не имели резких колебаний в содержании и выделялись в пределах физиологических норм, характерных для *Oreochromis niloticus* данного возрастного периода, имея незначительную тенденцию к повышению к 14 сут. опыта. Их уровень колебался в пределах от 2,7 до 3,6 $\times 10$ КОЕ/г. Однако уже в самом начале опыта в толстом отделе кишечника рыб опытных групп была заметная разница в количестве эшерихий. На фоне воздействия на *Oreochromis niloticus* грибов из рода *Candida albicans* в кишечнике регистрировалось повышение активности *Escherichia coli*. Фоновый уровень эшерихий в толстом отделе

кишечника *Oreochromis niloticus* опытных групп был повышен в 1,85 – 2,14 раза (до 500,0 – 590,0 тыс. КОЕ г).

В толстом отделе кишечника *Oreochromis niloticus* 2 группы уровень кишечной палочки интенсивно повышался по ходу опыта. На 7, 14, 21 и 30 сут. исследований количество их в содержимом кишечника было выше, по сравнению с данными рыб 1 контрольной группы, в 3,41; 6,0; 9,46 и 7,9 раза. Размножение *Escherichia coli* в толстом отделе кишечника *O. niloticus* опытных групп, по срокам опыта, на фоне внесения в аквариумную воду рыб прополисас сенсбилизаторами, изменялось в сторону снижения их активности.

Таблица 59 - Динамика *Escherichia coli* в содержимом толстого отдела кишечника *O. niloticus* (КОЕ/г)

Группы	Стат. показ.	Фон	Сроки исследований от начала опытов, сут.			
			7	14	21	30
Контроль – здоровые (1)	М	2,70*10 ⁵	2,90*10 ⁵	3,60*10 ⁵	3,20*10 ⁵	3,40*10 ⁵
	±m	3,74*10 ⁴	3,94*10 ⁴	2,55*10 ⁴	3,24*10 ⁴	3,08*10 ⁴
	Cv, %	6,42	5,97	10,02	14,32	12,82
Контроль зараженные <i>Candida albicans</i> (2)	М	5,80*10 ⁵	9,90*10 ⁵	2,16*10 ⁶	3,03*10 ⁶	2,68*10 ⁶
	±m	2,83*10 ⁴	3,94*10 ⁴	4,64*10 ⁴	3,94*10 ⁴	4,95*10 ⁴
	Cv, %	6,90	5,62	3,04	1,84	1,61
Зараженные <i>Candida albicans</i> +прополис 0,5 мл/л (3)	М	4,90*10 ⁵	5,20*10 ⁵	7,00*10 ⁵	5,70*10 ⁵	3,90*10 ⁵
	±m	4,30*10 ⁴	4,30*10 ⁴	4,95*10 ⁴	3,24*10 ⁴	3,08*10 ⁴
	Cv, %	12,41	11,70	10,00	8,04	11,18
	P		***	***	***	***
Зараженные <i>Candida albicans</i> +метиленовый голубой 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (4)	М	5,60*10 ⁵	4,00*10 ⁵	3,60*10 ⁵	3,10*10 ⁵	2,00*10 ⁵
	±m	2,12*10 ⁴	1,87*10 ⁴	2,12*10 ⁴	3,08*10 ⁴	3,08*10 ⁴
	Cv, %	5,36	6,61	8,33	14,06	10,00
	P		***	***	***	***
Зараженные <i>Candida albicans</i> +профлавин ацетат 1,0	М	6,17*10 ⁵	7,80*10 ⁵	8,40*10 ⁵	9,30*10 ⁵	8,60*10 ⁵
	±m	1,29*10 ⁵	3,24*10 ⁴	2,55*10 ⁴	2,55*10 ⁴	2,55*10 ⁴

мг/л+прополис 0,5 мл/л (5)	Cv, %	0,71	5,88	4,29	3,88	4,19
	P		***	***	***	***
Зараженные <i>Candida albicans</i> +фталоцианин цинка 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (6)	M	4,60*10 ⁵	6,30*10 ⁵	9,70*10 ⁵	8,60*10 ⁵	7,80*10 ⁵
	±m	4,24*10 ⁴	1,41*10 ⁴	4,24*10 ⁴	4,24*10 ⁴	1,41*10 ⁴
	Cv, %	6,52	5,55	4,63	3,98	4,51
	P		***	***	***	***

Этот процесс имел разную степень проявления и выраженности. В содержимом толстой кишки *O.niloticus* 3 группы, под действием прополиса, уровень *Escherichiacoli* не увеличивался, по сравнению с данными рыб 2 группы, не подвергнутых лечению, и был ниже их показателей на 7 сут. исследований, в 1,9 раза (на 470 тыс. КОЕ /г); на 14 сут. в 3,08 раза (на 1 млн. 460 тыс./ КОЕ г), на 21 сут. в 5,31 раза (на 2 млн. 460 тыс. КОЕ /г), на 30 сут. в 6,87 раза (на 3 млн.300 тыс. КОЕ /г).

Это подтверждает исследования авторов по влиянию их на процессы затормаживания роста и размножения в кишечнике животных и птиц эшерихий [Р.Т. Маннапова с соавт.]. Наши исследования подтверждают эти данные на рыбах *Oreochromis niloticus* .

Значительное затормаживание размножения эшерихий в сторону физиологических значений отмечалось по 4 группе, при комплексном применении прополиса и сенсбилизатора метиленовой сини. Здесь уровень *Escherichia coli* был ниже, по сравнению с его значением по 2 группе, на 7 сут. опыта в 2,25 раза (на 550 тыс. КОЕ/г), на 14 сут.- в 6,0 раз (на 1 млн. 560 тыс. КОЕ/г), на 21 сутки – в 9,77 раза (на 2 млн. 720 тыс. КОЕ /г), на 30 сут – в 13,4 раза (на 2 млн.480 тыс. КОЕ /г).

Показатели уровня эшерихий в кишечнике рыб 5 и 6 групп в процессе опыта изменялись до 21 сут в сторону небольшого повышения, по сравнению с фоновыми уровнями по этим группам. К 30 сут. по 5 и 6 группам регистрировалось не большое снижение кишечных палочек, по сравнению с предыдущим сроком опыта. В целом больших сдвигов в содержании

эшерихий в толстом отделе кишечника рыб 5 и 6 групп не отмечается, но также не наблюдается и резких изменений в сторону их активации.

В целом по динамике *Escherichia coli* в содержимом кишечника *O. niloticus*, учитывая почти генетически заложенные особенности ее контаминации и колонизации в толстом отделе кишечника, высокую устойчивость ко многим препаратам и при этом хорошую чувствительность к продукту пчеловодства прополису, что подтвердилось и в исследованиях на *O. niloticus*, а также хорошее антимикотическое действие на *Candida albicans* прополиса и метиленового синего можно прийти к заключению о целесообразности применения этого комплекса для восстановления уровня эшерихий при нарушении баланса *Escherichia coli* разных этиологий, в том числе и в кишечнике *O. niloticus* для профилактики кандидозов у рыб при аквариумном содержании.

Динамика и характер изменения содержания *Pseudomonas spp.*

Результаты исследования динамики в содержимом толстого отдела кишечника *Oreochromis niloticus* представлены на рисунке 12 и таблице 60 (таблица представлена в Приложении).

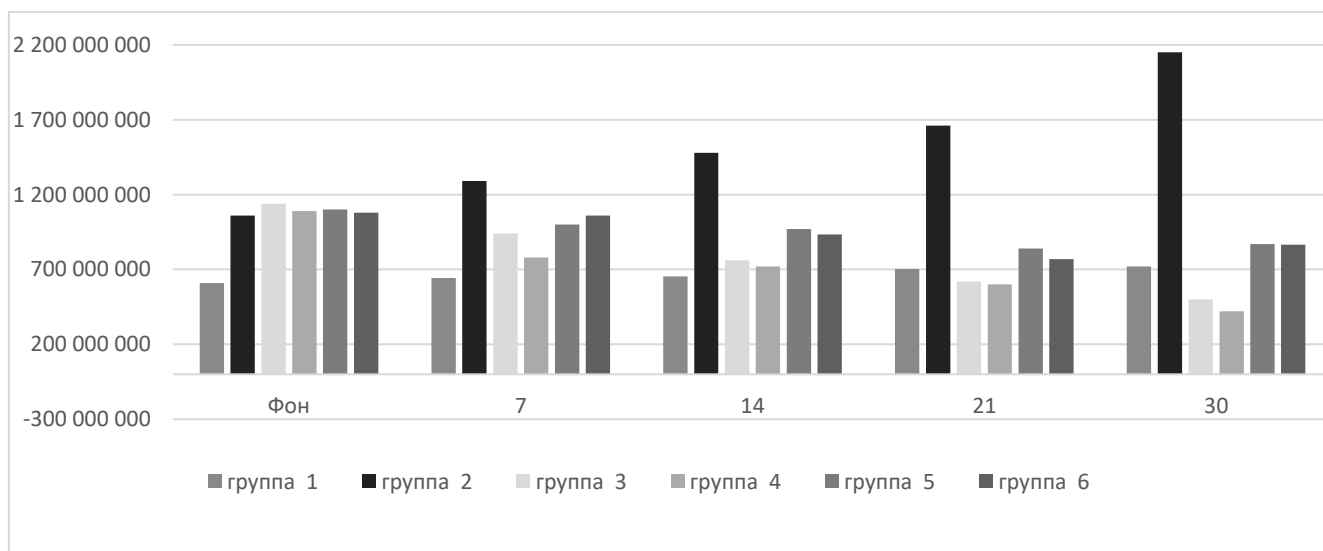


Рис 12 - Динамика *Pseudomonas spp.* в содержимом толстого отдела кишечника *Oreochromis niloticus* (в млн и млрд/мкл)

Псевдомонады широко распространены в водоемах, аквариумах и часто вызывают заболевания у рыб. Они являются условно- патогенными

микроорганизмами кишечника рыб. При нарушении баланса *Pseudomonas* могут служить причиной серьезных болезней рыб. Среди псевдомоносов имеются подвижные и неподвижные формы. Факторами патогенности псевдомоносов являются токсины, ферменты, которые вызывают гемолиз эритроцитов, разрушение клеток, синтез белка, подавляют нормофлору и снижают иммунные механизмы. *Pseudomonas spp.* образуют биопленку и защищены от лекарственных препаратов, вызывают воспаления и некроз тканей, диарею. Разрушают сурфактант, который поддерживает воздушность легких. Выделяют фактор проницаемости, нейраминидазу, протеазу разрушающие соединительную ткань и усиливающие проницаемость в ткани и кровеносные сосуды. При распространении псевдомоносов по всему организму происходит генерализация процесса, развивается бактериемия [Кузнецова М.В. с соавт., 2011; Погорелов А.Г. с соавт., 2014]. *Pseudomonas pss.* выделялся в содержимом кишечника *Oreochromis niloticus* в самом большом количестве, в пределах $n \times 10^8$ КОЕ/г.

Pseudomonas spp. в содержимом толстого отдела кишечника *Oreochromis niloticus* 1 контрольной группы в процессе опыта не имел существенных количественных отличий и выделялся в пределах от 6,3 до 7,2 $\times 10^8$ КОЕ/г. Уровень псевдомоносов на фоне развития кандидозов в организме рыб уже к началу опыта были выше в опытных группах – в 1,68 -1,8 раза (на 430 – 510 млн./г).

Активность *Pseudomonas spp.* в содержимом толстого отдела кишечника *Oreochromis niloticus* 2 группы увеличивалась по срокам исследований, превысив данные рыб 1 контрольной группы на 7 сут опыта в 1,98 раза (на 100 млн. КОЕ/г), на 14 сут. - в 2,2 раза (на 810 млн. КОЕ/г), на 21 сут.- в 2,4 раза (на 970 млн. КОЕ/г), на 30 сут. – в 2,98 (на 1 млрд.430 млн. КОЕ/г).

По 3-6 опытным группам отмечалось постепенное снижение уровня *Pseudomonas spp.* в содержимом толстого отдела кишечника *Oreochromis niloticus* на фоне внесения в аквариумную воду прополиса с сенсibilизаторами. По 3 опытной группе, в которой содержали *Oreochromis*

niloticus в воде с внесением экстракта прополиса наблюдалось заметное снижение в содержимом толстого отдела кишечника рыб уровня *Pseudomonas spp.*, по сравнению с их значением по 2 группе: на 7, 14, 21 и 30 сут. от начала опытов - в 1,37; 1,94; 2,67 и 4,3 раза (на 350 млн.; 720 млн.; 1 млрд..040 млн. и 1 млрд..650 млн. КОЕ / г). При этом с 21 сут. опыта количество псевдомононов в толстом кишечнике рыб 3 группы значительно приблизилось и даже было ниже, чем в 1 контрольной группе на 21 и 30 сут. в 1,11 и 1,44 раза (на 70,0 и 220 млн. КОЕ / г).

Лучшие результаты по бактерицидному и бактериостатическому действию на *Pseudomonas spp* оказывало комплексное внесение в аквариумную воду прополиса и метиленовой сини (4 группа). Здесь уровень псевдомононов снизился по сравнению с данными рыб 2 группы на 7, 14, 21 и 30 сут. опыта в 1,65; 2,05; 2,76 и 4,3 раза (на 510 млн.; 760 млн; 1 млрд.060 млн. и 1 млрд.730 млн. КОЕ/г). При этом содержание *Pseudomonas spp* в содержимом толстого отдела кишечника *Oreochromis niloticus* 1 контрольной группы постепенно и выражено снижалось и к концу опыта (30 сут.) составило $4,2 \times 10^8$ (420 млн.) КОЕ/г.

Применение в комплексе с прополисом сенсibilизаторов профлавина ацетат и фталоцианина цинка (5 и 6 группы) оказывало существенное действие на снижение активности *Pseudomonas spp.*, что видно в сравнении количества их в содержимом толстого отдела кишечника рыб 2 группы. На 7, 14, 21 и 30 сут. от начала опытов уровень псевдомононов в толстой кишке рыб 5 и 6 групп снизилось, по сравнению с данными по 2 группе в 1,29 и 1,23 раза (на 290 и 240 млн. КОЕ/г), в 1,52 и 1,6 раза (на 510 и 560 млн. КОЕ/г), в 2,04 и 1,15 раза (на 850 и 890 млн. КОЕ/г). Однако показатели уровня *Pseudomonas spp.*, в содержимом толстого отдела кишечника *Oreochromis niloticus* 5 и 6 групп, во все сроки опыта, при умеренном снижении в количестве, до конца опытов превышали показатели рыб 1 контрольной группы. На 21 и 30 сут. исследований эта разница составила, в сторону превышения, по этим группам,

в 1,17 и 1,11 раза (на 120 и 80 млн /КОЕ/г) и в 1,2 и 1,19 раза (на 150 и 140 млн. КОЕ/г).

Анализируя материалы, полученные в данном разделе диссертации можно прийти к заключению, что применение в аквариумах при активизации размножения *Candida albicans* и развития кандидамикозов пищеварительной трубки у *O. niloticus*, метиленового голубого в комплексе с экстрактом прополиса способствует восстановлению нарушенного гемопоэза, лейкопоэза и механизмов иммунного статуса. Так в опытной группе где использовался прополис содержание эритроцитов повысилось, по сравнению с зараженными рыбами, в $2,13 \times 10^6$; гемоглобина в 2,06; лейкоцитов в 5,74; лимфоцитов в 1,72; нейтрофилов в 1,67, моноцитов в 2,75 раза, лизоцимной активности сыворотки крови в 19,1 раза, бактерицидной – в 4,78 раза.

Особо значимым результатов исследований следует считать, что метиленовый голубой в комплексе с экстрактом прополиса, на фоне развития кандидамикозов у *O. niloticus*, нивелирует воздействие условно-патогенной микрофлоры и способствует восстановлению нарушенного микробиоценоза в толстом отделе кишечника рыб. Оно проявлялось в виде активизации нормофлоры: *Lactobacillus spp.* в 23,4; *Bifidobacterium spp.* - в 130,8 раза и затормаживания размножения условно- патогенной микрофлоры: *Candida albicans* – в 124,2; *Escherichia coli* – в 13,4; *Staphylococcus aureus*- в 20,4; *Pseudomonas spp.*- в 5,12 раза.

Таким образом, учитывая более эффективное действие метиленового синего в комплексе с прополисом, на активность размножения и повышения в кишечнике *Oreochromis niloticus* содержания лактобацилл и бифидобактерий, его безвредность в отношении самих *Oreochromis niloticus* считаем, более эффективным применение в аквариумном разведении *Oreochromis niloticus* метиленовой сини с прополисом. В практическом отношении выше представленные материалы данного раздела диссертационной работы позволяют рекомендовать для профилактики заражения и лечения зараженных кандидамикозами *Oreochromis niloticus* при содержании и разведении в

аквариумах вносить в воду прополиса в дозе 0,5 мл/л и метиленового голубого в дозе 1,0 мг/л однократно, выдерживая рыб в растворе препарата в течение 5 дней.

Выводы.

Кандидамикозы приводят к глубоким изменениям в организме *O. niloticus*, в условиях аквариумного содержания, процессов кроветворения, вызванных нарушениями в системах работы жабр, сердца, почек, селезенки, тимуса, лимфоидного органа, лимфоидных образований пищеварительной трубки, проявляющихся закономерными нарушениями в организме рыб процессов гемопоэза и лейкопоэза.

Для обеспечения населения экологичной продукцией необходимы не только эффективные антимикотические препараты, которые попадают с рыбой в пищу человеку, но и средства, которые не наносят вред иммунному

статусу рыб, экологичны, совершенно безвредны для людей. К таким препаратам относится БАПП – прополис, усиливающий процессы лейкопоэза и гемопоэза у рыб.

Внесение в воду при разведении *O. niloticus*, при их аквариумном содержании, прополиса и, особенно, прополиса в комплексе с метиленовым голубым, на фоне развития в организме кандидамикозов, способствует активизации в организме рыб процессов эритропоэза, в виде увеличения продукции эритроцитов и гемоглобина, способствуют максимальной стабилизации в организме *O. niloticus* гуморального звена иммунитета. Результаты исследований, показали также, что положительное влияние на состояние лейкопоэза оказывало комплексное применение прополиса с сенсibilизаторами: профлавин ацетат и фталоцианин цинка. Самым эффективным препаратом для стимуляции фагоцитоза в организме, зараженных кандидамикозами *O. niloticus*, является комплексное применение прополиса с метиленовым голубым.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Используемые в настоящее время методы обеззараживания воды имеют ряд недостатков, оказывающих неблагоприятное воздействие, как на водные экосистемы, так и на человека. Поэтому сегодня остро стоит вопрос о разработке и внедрении новых методов обеззараживания воды. В работе рассмотрены преимущества и недостатки основных применяемых сегодня дезинфектантов. Они сводятся к тому, что-либо обеспечивается достаточный уровень защиты, но при этом наносится значительный вред окружающей среде, либо наоборот. В этой связи представляется целесообразным рассмотреть потенциальные возможности использования в качестве дезинфектантов – фотосенсибилизаторов.

В ходе изучения фотообеззараживающего действия в отношении вирусного загрязнения воды была выявлена зависимость фотообеззараживающего эффекта метиленового голубого, профлавин ацетата и октакиса (холинил) фталоцианина цинка от их концентраций в воде. Метиленовый голубой обладал наибольшим фотообеззараживающим эффектом в концентрации 2,0 мг/л и времени освечивания 30 минут, при которой наблюдалась 100% инаktivация полиовируса. Инаktivация полиовируса после контакта в темноте в течение 1 часа была незначительной.

Профлавин ацетат обладает незначительным фотообеззараживающим эффектом в отношении вирусов. Достаточно высоким фотообеззараживающим эффектом и вирулицидным эффектом (без освечивания водоемов) обладает фталоцианин цинка. Однако отсутствие 100% эффекта после освечивания указывают на необходимость дальнейших исследований по установлению оптимальных параметров фотообеззараживающего эффекта.

В отношении *E. coli* установлено наиболее эффективное воздействие (100%) фталоцианин цинка даже в небольших концентрациях 0,15 и 0,5 мг/л. Метиленовый голубой оказался менее эффективным. В воде модельных водоемов после освечивания в присутствии метиленового голубого в

концентрации 0,5 мг/л обнаружены тысячи клеток кишечных палочек в 100 мл. При освещении воды, инфицированной *E.coli*, в присутствии профлавин ацетата в концентрации 0,5 мг/л остались жизнеспособными десятки тысяч клеток кишечных палочек (снижение исходного уровня *E. coli* кишечных палочек на два порядка, что на порядок ниже, чем в эксперименте с метиленовым голубым).

При использовании методов мембранных фильтров установлен эффект концентрации сенсibilизатора на поверхности мембраны, где располагаются задержанные мембраной бактерии. Тем самым в процессе инкубации существенно увеличивается бактерицидная доза и время контакта с клеткой микроорганизма, что может исказить оценку эффективности обеззараживания.

Под действием фотосенсibilизаторов профлавин ацетата и метиленового голубого наблюдались морфологические изменения, которые проявлялись переходом колоний в R форму. Данный процесс является обратимым, поскольку, попав в благоприятные условия, R форма быстро восстанавливается в первоначальную S форму со всеми присущему виду признаками.

В процессе исследований было обращено внимание на существенное значение в оценке эффективности обеззараживания объема освещаемой пробы и толщины слоя воды (пробирка или флакон). При освещении воды модельного водоема в количестве 25 мл (в пробирке) и 50 мл (во флаконе) эффективность обеззараживания снизилась во втором случае. Так, при концентрации фталоцианин цинка 0,5 мг/л после освещивания воды в пробирке установлена 100% эффективность обеззараживания, а после освещивания воды во флаконе было обнаружено 90 клеток *E.coli* в 100 мл.

Более существенная разница отмечена при освещивании воды водоемов, содержащих 1 мг/л метиленового голубого. При полном отсутствии *E.coli* после освещивания воды в пробирке, тот же самый процесс освещивания во флаконе оказался менее эффективным, в освещенной воде обнаружено 450 клеток *E.coli*.

Также была выявлена закономерность влияния органического загрязнения воды на эффективность фотообеззараживания в отношении *E.coli* в присутствии профлавин ацетата и метиленового голубого при концентрации 0,5 мг/л. Наибольшая эффективность действия этих сенсibilизаторов на кишечную палочку (99,99-100 %) наблюдалась при высоком уровне органического загрязнения (перманганатная окисляемость 22,0 мг/л), при существенно меньшей эффективности обеззараживания при более низких уровнях (2,56 и 6,56 мгО₂/л) органического загрязнения.

Наибольшая эффективность инаktivации в отношении *E.coli* (100%) установлена при действии сенсibilизатора фталоцианин цинка в концентрации 0,15 и 0,5 мг/л при времени освечивания 30 минут. Выявлена действующая концентрация 1 мл/л сенсibilизаторов профлавин ацетата и метиленового голубого в процессе фотообеззараживания.

Закономерного влияния различных концентраций органического вещества на эффективность действия трех изученных сенсibilизаторов в отношении грамположительных бактерий *S. aureus* и *Ent. faecalis* не выявлено.

Результаты исследований по возможности реактивации бактерий в процессе фотообеззараживания показали, что метиленовый голубой более эффективен в отношении бактерий *E. coli*, чем профлавин ацетат при одинаковых концентрациях и одном и том же уровне заражения.

Сравнение двух изученных концентраций показало, что полный бактерицидный эффект был достигнут при концентрации 1,0 мг/л сразу же после освечивания, в то время как при внесении профлавин ацетата в этой же концентрации только через 24 часа. При концентрации метиленового голубого 0,5 мг/л реактивация жизнеспособных бактерий *E. coli* произошла через 6 суток после освечивания. Действие профлавин ацетата при изученных концентрациях 0,5 мг/л и 1 мг/л не сопровождалось восстановлением жизнеспособности бактерий.

Помимо изучения фотообеззараживающего воздействия на индикаторные микроорганизмы, важнейшим условием для внедрения новых видов дезинфектантов является их экологическая безопасность.

Проведение ряда экспериментов с биологическими тест-системами показало, что из всех изученных фотосенсибилизаторов метиленовый голубой является наиболее безопасным для бактерий, инфузорий, дафний, высших растений и животных. При этом обеззараживающие свойства в отношении санитарно-показательных микробов сохраняются.

Для профлавина ацетата и фталоцианина цинка были выявлены токсическое воздействие при биотестировании, а также слабый мутагенный эффект.

Экономические расчеты показали, что даже при применении более дорогих синтерированных фотосенсибилизаторов профлавина ацетата и фталоцианина цинка достигается значительное удешевление (в 2-3 раза) обеззараживания за счет более низкого расхода реагентов, в сравнении с хлорированием воды, необходимого для обеззараживания единицы сточной воды. В случае метиленового голубого эффективность еще выше – в 4 раза.

Таким, образом, из трех изученных фотосенсибилизаторов наиболее эффективным и экологичным для внедрения в практику обеззараживания воды является метиленовый голубой в концентрации 2,0 мг/л, т.к. он одинаково эффективен в отношении вирусов и бактерий и при этом не представляет угрозы для окружающей среды. Применение его в комплексе с прополисом полностью снимает его незначительное токсическое действие.

Анализа данных, представленных в главе диссертации «Степень активизации прополисом с сенсибилизаторами при содержании в условиях аквариума *Oreochromis niloticus*, зараженных *Candida albicans*, процессов кроветворения, иммунного статуса и микробиоценоза» показал, что кандидамикозы приводят к глубоким изменениям в организме *O. niloticus* в виде нарушения функции кроветворения, вызванного изменениями в системах работы жабр, сердца, почек, селезенки, тимуса, лимфоидного

органа, лимфоидных образований пищеварительной трубки, проявляющихся закономерными нарушениями процессов гемопоэза и лейкопоэза. На фоне развития кандидамикозов, под влиянием факторов патогенности *C. albicans* (белки адгезины, инвазины; энзимы гидролазы, формирование биопленок и др.), начинается быстрое размножение, ускоренная и массивная атака и колонизация *C. albicans* слизистых оболочек [20, 83,122]. Это бьясняет затормаживание в организме рыб *O. niloticus* 2-6 групп (фон) механизмов иммунной защиты организма, нарушения колонизационной резистентности кишечника. Комплексное применение сенсibilизатора метиленового голубого с прополисом путем внесения раствора в воду аквариума с *O. niloticus* способствовало полному восстановлению содержания в крови рыб 4 группы уровня эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов, лимфоцитов, нейтрофилов, моноцитов, повышения лизоцимной и бактерицидной активности сыворотки крови и восстановления в толстом отделе кишечника баланса норма флоры (*Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*) и условно-патогенных микроорганизмов (*Candida albicans*, *Escherichiacoli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas spp.*).

Таким, образом, обобщение результатов исследований позволяет сделать нижеследующие выводы:

1. Предложен усовершенствованный экологический безопасный способ сочетанного применения фотообеззараживающего действия сенсibilизаторов и биологически активного продукта пчеловодства – прополиса, позволяющего осуществить экологическое оздоровление, санацию водных объектов, рационального использования и охрану водных ресурсов.

2. Фотообеззараживающее действие сенсibilизаторов - октакис фталоцианин цинка, метиленового голубого и профлавин ацетата на энтеробактерии и вирусы, санитарно-показательные Гр-, Гр+ микроорганизмы, повышается с понижением уровня их органического загрязнения, что способствует оздоровлению и экологическому

восстановлению планктона, определяющего экологическую безопасность и сохранение биоресурсного потенциала поверхностных водоемов.

3. Устойчивое сохранение биоразнообразия и стабильное экологическое состояние водной среды обеспечивается подбором концентраций сенсibilизаторов. Метиленовый голубой в концентрации 0,5-2,0 мг/л обладает вирулицидным действием и фотообеззараживающим эффектом в отношении колифага *MS2*, полиовируса типа *PV-1*, проявляет бактерицидные свойства к санитарно-показательным микробам *E. coli*, *S. aureus*, *Ent. faecalis* и является безопасным, не представляющим угрозы для окружающей среды фотосенсibilизатором для очистки поверхностных водоемов, способствующий сохранению экологического биобаланса, не оказывающий вредное влияние для составляющих планктона. Профлавин ацетат и фталоцианин цинка оказывают токсическое и слабое мутагенное воздействие на биологические тест-системы.

4. Увеличение концентрации профлавина ацетата не способствует росту эффективности фотообеззараживания, а сенсibilизатор метиленовый голубой в концентрации 0,5 мг/л при кислых и нейтральных значениях рН воды обладает максимальным фотообеззараживающим эффектом в отношении колифага *MS2* и полиовируса типа *PV-1* (100-99,99%). При сдвиге рН воды к щелочным значениям (9,0) – полная инактивация колифага *MS2* отмечается после контакта с фотосенсibilизатором в течение 1 часа в темноте, что доказывает влияние рН среды на колифаг.

5. В поверхностных водоемах экологический позитивный и максимальный бактерицидный эффект метиленовый голубой оказывает в дозе 1,0 мг/л сразу после освечивания, а профлавин ацетат в этой же концентрации - через 24 часа. При дозе метиленового голубого 0,5 мг/л реактивация жизнеспособных бактерий *E. coli* 1257 происходит через 6 суток после освечивания. Профлавин ацетат проявляет фотообеззараживающее действие при концентрациях 0,5 мг/л и 1 мг/л (отсутствием реактивации бактерий); фталоцианин цинка в концентрации 0,5 мг/л обладает высоким вирулицидным действием,

выраженность которого не зависит от рН воды. При кислых значениях рН воды фталоцианин цинка сохраняет фотообеззараживающий эффект.

6. Комплексная оценка активизации размножения *Candida albicans*, развития кандидамикозов пищеварительной трубки у *O. niloticus*, в условиях аквариумного содержания, под влиянием метиленового голубого с экстрактом прополиса, показала экологичное оздоровление и восстановление нарушенного гемопоэза, лейкопоэза, механизмов иммунного статуса в организме рыб: содержание эритроцитов повысилось, по сравнению с зараженными рыбами, в $2,13 \times 10^6$; гемоглобина в 2,06; лейкоцитов в 5,74; лимфоцитов в 1,72; нейтрофилов в 1,67, моноцитов в 2,75 раза, лизоцимной активности сыворотки крови в 19,1 раза, бактерицидной – в 4,78 раза.

7. Метиленовый голубой в комплексе с экстрактом прополиса, на фоне развития кандидамикозов у *O. niloticus*, способствуют восстановлению нарушенной микробной экологии толстого отдела кишечника рыб, в виде активизации нормофлоры: *Lactobacillus spp.* в 23,4; *Bifidobacterium spp.* в 130,8 раза и затормаживания размножения условно- патогенной микрофлоры: *Candida albicans* – в 124,2; *Escherichia coli* – в 13,4; *Staphylococcus aureus* в 20,4; *Pseudomonas spp.* в 5,12 раза.

Практические предложения

1. Для поддержания экологии очищаемых сточных вод, повышения качества водных ресурсов поверхностных водоемов предлагается добавлять в водную среду, предназначенную для обеззараживания, метиленовый голубой из расчета 2,0 мг/л.
2. С целью профилактики активизации и лечения кандидамикозов *Oreochromis niloticus*, при содержании и разведении в аквариумах, экологичным, безвредным методом является внесение в воду экстракта прополиса в дозе 0,5 мл/л и метиленового голубого в дозе 1,0 мг/л (однократно, выдерживать рыб в растворе препаратов в течение 5-ти дней).

Перспективы дальнейших исследований

Дальнейшие исследования будут направлены на разработку мероприятий по внедрению метиленового голубого в систему способов обеззараживания и очистки сточных вод и поверхностных водоемов в разных производственных и географических условиях субъектов РФ, как экологически чистый и экономически эффективный способ, а также на исследования влияния экстракта прополиса в комплексе с метиленовым голубым по профилактике и терапии кандидамикозов, при разведении других видов рыб в УЗВ и аквариумах (форель, семга и др.), особо чувствительных к активизации *Candida albicans*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдуллаева Н.М., Рабаданова А.И., Габиров М.М., Исмаилов О.А. Состояние периферической крови сеголетков карпа (*Cyprinus carpio* L. при загрязнении водной среды ацетатом свинца // Труды Междунар. форума по проблемам науки, техники и образования под ред В.П. Савиной В.П Вишневецкого. Тез. докл. - Москва 2006 г. - С. 141- 142. - 0,062 п.л., личный вклад 60%.
2. Аблеев Д.Р., Пономарев С.В., Ахмеджанова А.Б., Хамад Х.А. 2018. Влияние пробиотика «*Olin*» на функциональное состояние производителей тилапии. Вестник АГТУ. Серия: Рыбное хозяйство, 20Бахир с соавт18.- №3: 70–77.
3. Ажгиревич А.И., Гутенев В.В., Преображенский А.В. Обеззараживание питьевой воды ультрафиолетовым облучением с последующим внесением ионов серебра / А.И. Ажгиревич В.В. Гутенев, А.В. Преображенский // Экологические приборы и системы. – 2002. – №12. – С. 26-30.
4. Александрова У.С., Ковалева А.В., Матишов К.Д. 2018. Выращивание нетрадиционных объектов аквакультуры в условиях установок с замкнутым водоиспользованием. Наука Юга России, 2018.-14(4): 74–81.
5. Амвросьева Т.В. Современные подходы к изучению и оценке вирусного загрязнения питьевых вод / Т. В. Амвросьева, В. И. Вотяков, О. В. Дьяконова и др. // Гигиена и санитария. – 2002. – № 1. – С. 76-79.
6. Артеменко, С. В. Биоэкологическое исследование воды урбанозависимых участков реки Туры / С. В. Артеменко, Г. А. Петухова // Вестник Тюменского государственного университета. – 2013. – № 12. – С. 199-203.
7. Бабо Жен Жефис, Кадиев А.К. 2021. Тилапия (*Oreochromis niloticus*) - эффективный объект марикультуры. Мат. Всерос. науч.- прак. конф. "Состояние и перспективы научно-технологического развития рыбопромышленного комплекса Российской Федерации", с. 8-13

8. Баринаова, Л. Н. Технологический комплекс Международного центра данных ВМО по гидрологии озёр и водохарнилиц / Л. Н. Баринаова, Г. С. Баринаова // Вторая научно-практическая конференция «Современные информационные технологии в гидрометеорологии и смежных с ней областях». Тезисы доклада и стенд. Секция 1 «Информационные технологии в гидрометеорологии и смежных с ней областях», ВНИИГМИ-МЦД, 21-23 ноября 2017.
9. Баснакьян И.А. Стресс у бактерий / И. А. Баснакьян - М.: Медицина, 2003.- 136 с.
10. Бахир В. Химический состав и функциональные свойства хлорсодержащих дезинфицирующих растворов / В. Бахир, Б. И. Леонов и др. // Вестник новых медицинских технологий. – 2003. – №. 4, С.36-39.
11. Безверхий В.А., Коваленко М.В., Сусь П.П., Абсалямов Р.Б. 2017. Влияние температурного градиента на рост тилапии *Tilapia*. Мат. Всерос. науч. конф. "Аквакультура: мировой опыт и российские разработки", 2017.- с. 513–515.
12. Бивалькевич А. И. Ультрафиолетовая технология – самый актуальный способ обеззараживания сточных вод / А. И. Бивалькевич, А. Д. Смирнов // Водоснабжение и канализация. – 2015. – № 1.
13. Боронецкая О.И. 2012. Использование тилапии (*Tilapia*) в мировой и отечественной аквакультуре. Известия ТСХА, 1: 164–173.
14. Боронецкая О.И., Привезенцев Ю.А. 2011. Биологические особенности и продуктивные качества рыб тилапии породы тимирязевская. Известия ТСХА, 4: 131–137.
15. Боронецкая О.И., Тетдоев В.В. 2008. Рыбоводная и морфофизиологическая характеристика нильской тилапии (*Oreochromis niloticus L.*). Вестник РУДН, Серия: Агрономия и животноводство, 1: 12–15.
16. Васильева Е.Г., Мельник И.В. 2021. Оптимизация этапов преднерестового содержания и нереста тилапии при товарном выращивании. Вестник АГТУ. Серия: Рыбное хозяйство, 3: 120–126.

17. Вишневецкий В. Ю. Принципы построения системы экологического мониторинга водной среды / В. Ю. Вишневецкий, В. С. Ледяева, И. Б. Старченко // Технические науки. – 2012. – Т. – 9. – № 134. – С. 195-200.
18. Вуглинский В.С. Международный центр данных ВМО по гидрологии озёр и водохранилищ. Становление, текущая деятельность, развитие / С.И. Гусев, Л.Н. Барина, Г.С. Барина, Е.И. Куприёнок, С.С. Базанова // Тезисы доклада. Секция 5. Состояние и развитие системы гидрологических наблюдений, информационное обеспечение потребителей, 2013.
19. Вялов С. С. Синдром избыточного бактериального роста: особенности патогенеза иммунных нарушений / С. С. Вялов // Российский медицинский журнал. – 2014. – №15. – С. 1083.
20. Гаффарова А.С. Факторы патогенности *Candida albicans* и их ПЦР идентификация / А.С. Гаффарова, А.И. Хайтович // Успехи медицинской микологии.-2017, том XV11.-С.130-133.
21. До Хыу Кует Компенсаторно-приспособительные реакции эритроцитов и лейкоцитов рыб на действие температурного фактора: дис. канд. биол. наук. – Белгород, 2016. – 129 с.
22. Долина Л. Ф. Новые методы и оборудование для обеззараживания сточных вод и природных вод / Л. Ф. Долина // Континент. – 2003. – 218 с.
23. Жаркенов Д.К., Исбеков К.Б., Асылбекова С.Ж., Койшыбаева С.К., Бадрызлова Н.С., Федоров Е.В. 2017. Опыт выращивания товарной продукции тилипии в прудах ТОО «Чиликское прудовое хозяйство» Алматинской области. Вестник АГТУ. Серия: Рыбное хозяйство, 2: 86–95.
24. Жданова О. С. Чувствительность возбудителей госпитальных инфекций к ультрафиолетовому излучению с длиной волны 283 нм / О. С. Жданова, Э. А. Соснин, Е. П. Красноженов, С. М. Авдеев, В. Ф.Тарасенко, А. В. Грицута // Журнал инфекционной патологии. – 2010. – Т. 17. – № 3. – С. 62-64.
26. Иванова Л.В. Итоги и перспективы научных исследований по бактериологическому мониторингу качества питьевой воды и водных объектов / Л. В. Иванова, Ю. Г. Талаева, Т. З. Артемова, Е. К. Гипп, А. В.

- Загайнова, и др. // Итоги и перспективы научных исследований по проблеме экологии человека и гигиены окружающей среды (под ред. Ю.А. Рахманина). – М, 2011. – С.124-149.
27. Идрисова Д.Т. Микробиологическое изучение прибрежных морских вод, донных отложений зоны северо-восточного прикаспия / Д. Т. Идрисова, Ж. Ш. Жумадилова, Е. Ж. Шорабаев // Успехи современного естествознания. – 2015. – Т. 9. – № 1. – С. 110-112.
28. Кабанова Ю.Л. Энергоэффективное обеззараживание питьевой воды с применением оптических технологий в АПК / Ю.Л. Кабанова, П.П. Долгих // Сиб. энергет. форум: сб. мат-лов. – Красноярск 2013. – 140 с.
29. Кику П.Ф. Гигиеническая оценка качества питьевой воды и риски для здоровья населения Приморского края / П.Ф. Кику, Л.В. Кислицына, В.Д. Богданова, К.М. Сабирова // Гигиена и санитария. – 2019. – Т. 98, № 1. – С. 94-101.
30. Кольман Т. Я. Сравнительная характеристика методов обеззараживания сточных вод / Т. Я. Кольман // Молодёжь и наука: Сборник материалов VI Всероссийской научно-технической конференции студентов, аспирантов и молодых учёных. – Красноярск: Сибирский федеральный ун-т, 2011.
31. Ковалева А.В., Александрова У.С., Кузов А.А. 2018. Запуск производства тилипии в Астраханской области. Мат. III нац. науч.-прак. конф. " Состояние и пути развития аквакультуры в Российской Федерации в свете импортозамещения и обеспечения продовольственной безопасности страны", С. 161–166.
32. Кузнецов В. В. Использование фотодинамической терапии в отечественной онкологии (обзор литературы) / В. В. Кузнецов // Исследования и практика в медицине. – 2015. – Т. –2. – № 4. – С. 98-105.
33. Кульский Л.А. Основы химии и технологии воды / Л. А. Кульский. – Киев: Наук. думка, 1991. – 568 с.

34. Кутковский К. А. Виды сточных вод и основные методы анализа загрязнителей / К. А. Кутковский // Молодой ученый. – 2013. – № 9. – С. 119-122.
35. Кузина Т.В. Изменения структуры ядра эритроцитов периферической крови промысловых рыб Волго-Каспийского канала. / Т.В. Кузина // Вестник Московского государственного областного университета. Серия «Естественные науки». - М. : Изд-во МГОУ, 2011-№2.- С.50-57.
36. Кузина Т.В. Гематологические показатели судака *Stizostedion luciperca* ВолгоКаспийского канала / Т.В. Кузина // Материала за 6-а международна научна практична конференция, «Научният потенциал на света». - София: «Бял ГРАД-БГ» ООД. – 2010
37. Лобзин Ю. В. Динамика инфекционной заболеваемости у детей в российской федерации в 2017–2018 годах / Ю. В. Лобзин, С. В. Рычкова, Н. В. Скрипченко, А. Н. Усков, В. В. Федоров // Медицина экстремальных ситуаций. – 2019. – Т–21. – № 3. – С. 340-350.
38. Лукьянов В. И. Станция очистки сточных вод и устройство для обеззараживания проточной воды / В. И. Лукьянов, В. Н. Тюкин, Е. В. Лукьянов // Матер. I Всеросс. конф. «Озон и другие экологически чистые окислители. Наука и технологии». – 2005. – С. 174-178.
39. Малышева А. Г. Совершенствование химико-аналитического контроля качества и безопасности окружающей среды / А. Г. Малышева, Н. Ю. Козлова, Е.Г. Абрамов // Итоги и перспективы научных исследований по проблеме экологии человека и гигиены окружающей среды (под ред. Ю.А. Рахманина). - М. – 2011. – С.104-115.
40. Маслова Т.Ф., Кулакова Т.С., Фомина Л.Л., Кулакова И.Е. 2021. Рост и развитие мальков нильской тилапии (*Oreochromis niloticus* L.) при использовании кормовой добавки Энзимспорин. Молочнохозяйственный вестник, -2021.- №3: 68-76.

41. Медведева В.М. Инновационные технологии очистки воды / В. М. Медведева, Е. Н. Пирогов, В. А. Семеновых // Безопасность жизнедеятельности на транспорте. – 2015. – № 1. – С. 32-38.
42. Мельников В. Л. Эпидемиологическая и клиническая характеристика ОКИ на территории Пензенской области / В. Л. Мельников, Н. Н. Митрофанова, Е. П. Балашова // Современные проблемы инфекционной патологии человека: сб. науч. тр. / Министерство здравоохранения Республики Беларусь, Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии; под ред. Л. П. Титова. – Минск: ГУ РНМБ, 2012. – Вып. 6. – С. 61-65.
43. Мишурина О. А. Химические превращения кислородсодержащих ионов хлора растворов при разных значениях диапазона рН / О. А. Чупрова, Л. В., Муллина Э.Р. // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2014. – № 22. – С. 43-46.
44. Мокиенко А.В. Обеззараживание воды. Гигиенические и медико-экологические аспекты // А.В. Мокиенко, Н.Ф. Петренко, А.И. Гоженко // Одесса: Фенікс. – 2017. – 322 с.
45. Муллина Э.Р. Химические аспекты процесса хлорирования воды / Э. Р. Муллина // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2016. – Т. 12. – № 4. – С. 609-613.
46. Недачин А. Е. Показательное значение отдельных индикаторов и маркеров в отношении вирусного загрязнения воды / А. Е. Недачин, Р. А. Дмитриева, Т. В. Доскина, В. А. Долгин // Гигиена и санитария. – 2015. – Т. 94. – № 6. – С. 54-58.
47. О состоянии и об охране окружающей среды Российской Федерации в 2012 году: Государственный доклад. – Москва, МПР, 2013. – 475 с.
48. Никитина Ю. Н. Исследование химических свойств гетероциклических соединений, используемых в качестве биологически активных веществ / Ю. Н. Никитина, Г. Ю. Колчина // Научный альманах. – 2016. – Vol. 3. – № 10. – С. 495-498.

49. О санитарно-эпидемиологической обстановке в Российской Федерации в 2010 году: Государственный доклад. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011. – 431 с.
50. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2011 году: Государственный доклад. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2012. – 316 с.
51. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2012 году: Государственный доклад. – М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2013. – 176 с.
52. Озиранский Ю., Колесник Н.Л., Симон М.Ю., Щербак С.Д. и др. 2018. Тиляпия (Tilapia) как один из основных объектов современной аквакультуры. Опыт культивирования в Израиле (обзор). Рибогосподарська наука України, - 2018- №3: 50–88
53. Пальчун В.Т. Современный взгляд на антимикробную фотодинамическую терапию / В. Т. Пальчун, А. С. Лапченко, А. А. Лапченко, А. В. Гуров, А. Г. Кучеров. // Вестник оториноларингологии. – 2007. – № 3. – С. 4-6.
54. Панов Ю.Т. Полиамидные микрофльтрационные мембраны с улучшенными порометрическими и прочностными свойствами / Тарасов А.В., Лепешин С.А., Ермолаева Е.В. // Современные наукоемкие технологии. – 2015. – № 12-2. – С. 258-262.
55. Пантюшенко И.В. Разработка наноструктурированных ИК-фотосенсибилизаторов на основе производных бактериохлорофилла, а и наночастиц золота для фотодинамической терапии рака / И.В. Пантюшенко, П.Г. Рудаковская, А.В. Старовойтова, А.А. Михайловская, М.А. Абакумов, М.А. Каплан, А.А. Цыганков, А.Г. Мажуга, М.А. Грин, А.Ф. Миронов. // Биохимия. – 2015. – №80. – С. 891-902.
56. Пономарев С.В., Федоровых Ю.В., Баканева Ю.М., Нгуен Конг Тхьет 2014. Тиляпия в российской и мировой аквакультуре. Мат. межд. науч.

конф. "Актуальные вопросы рыбного хозяйства и аквакультуры бассейнов южных морей России", С. 216–219.

57. Поняев А. И. Фотосенсибилизаторы для фотодинамической терапии (обзор) / А. И. Поняев, Я. С. Глухова, Я. С. Черных // Известия Санкт – Петербургского государственного технологического института. – 2017. – № 4.1 (67) – С. 71-78.

58. Попова Е.И. Определение фитотоксичности почв города тобольска методом биотестирования / Е.И. Попова // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 4.

59. Рахманин Ю.А. Значение санитарно-микробиологических показателей при оценке эпидемической безопасности водопользования в условиях химического загрязнения водоемов / Ю. А. Рахманин, Л. В. Иванова, Т. З. Артемова, Е. К. Гипп, А. В. Загайнова // Гигиена и санитария. – 2016. – Т.-95. – № 10. – С. 934-938.

60. Рахманин Ю. А. Научно-методические основы изучения, оценки и регламентирования биологических факторов в гигиене окружающей среды / Ю. А. Рахманин // Итоги и перспективы научных исследований по проблеме экологии человека и гигиены окружающей среды. – 2011. – С. 3-9

61. Рахманин Ю.А. Стратегические подходы управления рисками для снижения уязвимости человека вследствие изменения водного фактора / Ю. А. Рахманин, О. Д. Доронина // Гигиена и санитария. – 2010. – № 2. – С. 8-13.

62. Руководство по медицинской микробиологии. Общая и санитарная микробиология / Под ред. А. С. Лабинской, Е. Г. Волиной. – М.: БИНОМ, 2008. – 1077 с.

63. СанПиН 2.14.1074-01 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества» : Минздрав России. – М, 2002.

64. Соколовская И.И. О значении акросомы в оценке семени самцов / И.И. Соколовская, Р. Ойвадис, А.В. Абилов, Усман Белко Туре // Животноводство. – 1981.- №9.- С. 46-47.

65. Солдатов А.А. Эритроциты циркулирующей крови морского ерша *Scorpaena porcus* L. 1758 в условиях острой экспериментальной гипоксии / А.А. Солдатов, Т.А. Кухарева, А.Ю. Андреева, И.А. Парфенова // Морской биологический журнал. – 2018. – Т. 3, № 4. – С. 92-100.
66. Солдатов А.А. Микроядерные включения в эритроцитах бычка-кругляка при различной интенсивности эритропоэтических процессов / А.А. Солдатов, Е.В. Пашкова, Т.А. Кухарева // Гидробиологический журнал. – 2012. – Т. 48, № 4. – С. 75-80.
67. Соляников А. В. Микроорганизмы в почве / А. В. Соляников // Молодой ученый. – 2018. – №50. – С. 75-77.
68. Состояние мембран эритроцитов при экспериментальном желчном перитоните / А.А. Боташев, О.А. Терещенко, В.В. Иванов [и др.] // Кубанский научный мед. вестник. – 2010. – № 3-4 (117-118). – С. 36-39.
69. Сравнительная характеристика функциональных параметров эритроцитов крови больных хроническим пиелонефритом и гломерулонефритом / Л.Е. Муравлёва, В.Б. Молотов-Лучанский, Д.А. Ключев [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2011. – № 2. – С. 30- 34.
70. Сташевский А.С. Водорастворимые катионные пиридинные порфирины: флуоресцентные характеристики и фотосенсибилизированное образование синглетного кислорода / А.С. Сташевский, В.А. Галиевский, В.Н. Кнюкшто, Р.К. Казарян, А.Г. Гюльханданян, Г.В. Гюльханданян, Б.М. Джагаров // Журнал прикладной спектроскопии. – 2013. – Т. 80(6). – С. 823-833.
71. Степанов Н.А. Характеристика влияния качественного состава питьевой воды на здоровье человека / Н.А. Степанов, Е. И. Заводова // Медицина труда и экология человека. – 2015. – № 3. – С. 207-212.
72. Столяров В.П. 2018. Выращивание товарной тилапии в установке замкнутого водоснабжения. Актуальные вопросы сельскохозяйственной биологии, 2: 41–47.
73. Столяров В.П., Кулаченко И.В., Кулаченко В.П. 2020. Химический состав и свойства мяса тилапии нильской при выращивании в УЗВ на комбикормах

для разных видов рыб. Актуальные вопросы сельскохозяйственной биологии, 4: 140–146.

74. Сутурин А.Н., Роль антропогенных факторов в развитии экологического стресса в литорали оз. Байкал / А.Н. Сутурин, Е.П. Чебыкин, В.В. Мальник, И.В. Ханаев и др. // География и природные ресурсы. – 2016. – № 6. – С. 34-53.

75. Сычева Л. П. Анализ цитогенетической активности профлавина ацетата и продуктов его фотодеструкции в полиорганном микроядерном тесте на крысах / Л. П. Сычева, С. М. Шереметьева, В. В. Юрченко, Е. К. Кривцова, В. С. Журков // Токсикологический вестник. – 2007. – № 3. – С. 26-28.

76. Сычева, Л.П. Оценка цитогенетической активности метиленового голубого и продуктов его фотодеструкции в полиорганном микроядерном тесте на крысах / Л. П. Сычева, С. М. Шереметьева, Е. К. Кривцова, В. С. Журков, Е. Н. Головач // Токсикологический вестник. – 2016. – № 1. – С. 18-21.

77. Тарасов А.В. Исследование бактерицидных свойств модифицированных полиамидных мембран/ А. В. Тарасов, С. А. Лепешин, Ю. А. Федотов, О. В. Прунтова, А. И. Федотова и др. // Мембраны и мембранные технологии. – 2013. – Т.3. – №1. – С. 69 - 74.

78. Технический регламент «О безопасности питьевой воды». Проект: Федеральный закон – Питьевая вода, 2010. – № 1.

79. Ушакова И.Г. Санитарно-бактериологическое исследование качества воды / И. Г. Ушакова, А. М. Геселько, О. В. Широченко, С. А. Анисимова // Вестник Омского государственного аграрного университета. – 2013. – С. 29-32.

80. Федоров Б.Г. Поглощающая способность лесов России и выбросы углекислого газа энергетическими объектами / Б.Г. Федоров, Б. Н. Моисеев, Ю. В. Синяк // Проблемы прогнозирования. – 2011. – № 3. – С. 127-142.

81. Филоненко Е.В. Флюоресцентная диагностика и фотодинамическая терапия - обоснование применения и возможности в онкологии // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. – 2014. – №1. – С. 3-7.

82. Фролова И. В. Охрана поверхностных и подземных вод / И. В. Фролова, В. А. Картавец // Современные технологии обеспечения гражданской обороны и ликвидации последствий чрезвычайных ситуаций. – 2012. – С. 146-148.
83. Хайтович А.Б. Факторы патогенности *Candida albicans* и определение их генных детерминант / А.Б. Хайтович, А.С. Гаффарова // Таврический медико-биологический вестник. – 2016, том 19, № 3. – С. 121-126.
84. Чеботарев А.И. Гидрологический словарь / А. И. Чеботарев. – Ленинград: Гидрометиздат, 1978. – 308 с.
85. Шабунин С. В. Ветеринарно-санитарные аспекты предупреждения рисков возникновения инфекционных заболеваний / С. В. Шабунин, Л. П. Бессонова, П. А. Паршин и др. // Достижения науки и техники. – 2019. – Т. 33 – № 1. – С. 34-37.
86. Шабунин С. В. Обеспечение биологической безопасности в животноводстве и птицеводстве на основе инновационных технологий, предупреждающих факторы риска / С. В. Шабунин, Л. П. Бессонова, П. А. Паршин и др. // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2018. – № 3. – С. 147-151.
87. Шинкаревич Е.Д. 2018. Выращивание красной нильской тилапии в условиях замкнутого водоснабжения. Мат. межд. науч.-прак. конф. "Научное обеспечение развития АПК в условиях импортозамещения", ч. 1, С. 298–302.
88. Юсупхужаева А. М. Применение озона для доочистки промышленных сточных вод, прошедших биологическую очистку / А. М. Юсупхужаева // Молодой ученый. – 2017. – №23.2. – С. 14-16.
89. Яворовский Н. А. Очистка воды с применением электроразрядной обработки / Н. А. Яворовский, В. Д. Соколов, Ю. А. Сколубович, И. С. Ли // Водоснабжение и сантехника. – 2000. – №1. – С. 12-14.
90. Abou-Yousef H. Novel cellulose-based halochromic test strips for naked-eye detection of alkaline vapors and analytes / H. Abou-Yousef, T. A. Khattab, Y. A. Youssef, N. AlBalakocy, S. Kamel // Talanta. – 2017. – № 170. – P. 137-45.

91. Ali H. Metal complexes as photo- and radiosensitizers / H. Ali, J. E. van Lier // *Chem. Rev.* – 1999. – Vol. 99. – P. 2379-2450.
92. Altintas Z. Biosensors for waterborne viruses: detection and removal / Z. Altintas, M Gittens, J Pocock, I. E. Tothill // *Biochimie.* – 2015. – № 115. – P. 144-154.
93. Amaut L.G., Pereira M.M., D[^]browski J.M., Silva E.F., Schaberle F.A., Abreu A.R., Rocha L.B., Barsan M.M., Urbanska K., Stochel G., Brett C.M. Photodynamic therapy efficacy enhanced by dynamics: the role of charge transfer and photostability in the selection of photosensitizers // *Chemistry.* – 2014. – Vol. 20. – № 18. – P. 5346-57.
94. Amin N. Field trial of an automated batch chlorinator system at shared water points in an urban community of Dhaka, Bangladesh / N. Amin, Y. S. Crider, L. Unicomb, K. K. Das, P. S. Gope, et al // *J Water Sanit Hyg Dev.* – 2016. – № 6. – P. 32-41.
95. Araújo C.V. In situ and laboratory bioassays using *Poecilia reticulata* Peters, 1859 in the biomonitoring of an acidic lake at Camaçari, BA, Brazil / C. V. Araújo, S. J. Cohin-de-Pinho, da S. J. Santos, F. Delgado, L.C. Santana // *Chemosphere.* – 2006. – Vol. 65. – № 4. – P.599-603.
96. Arnold B. F. Colford Brief report: negative controls to detect selection bias and measurement bias in epidemiologic studies / B. F. Arnold, A Ercumen, J Benjamin-Chung // *Epidemiology.* – 2016. – № 27. – P. 637-641.
97. Bacellar I.O.L. Photodynamic Efficiency: from molecular photochemistry to cell death / I.O.L. Bacellar, T.M. Tsubone , C. Pavani, Baptista M.S. // *Int J Mol Sci.* – 2015. – V. 16(9). – P.20523-20559.
98. Baldrige M. T. Commensal microbes and interferon- λ determine persistence of enteric murine norovirus infection / M. T. Baldrige, T. J. Nice, B. T. McCune, C. C. Yokoyama, A. Kambal, et al // *Science.* – 2015. – № 347. – P. 266-269.
99. Beck S. E. Wavelength-Dependent Damage to Adenoviral Proteins Across the Germicidal UV Spectrum / S. E. Beck, N. M.Hull, C. Poepping, K. G. Linden // *Environ. Sci. Technol.* – 2018. – № 52. – P. 223-229.

100. Behera B. K. Analysis of the effect of industrial effluent on growth and development of rice seedlings / B. K. Behera, B. N. Misra // Environ Res. – 1982 – № 28. – P. 10-20.
101. Benjamin L.A. Risk factors for *Escherichia coli* O157 on beef cattle ranches located near a major produce production region / L.A. Benjamin, M.T Jay-Russell, E.R Atwill, M.B Cooley, D. Carychao, R.E Larsen, et al // Epidemiol Infect. – 2014. - Vol. 143. - № 1. - P. 81-93.
102. Berger A. K. Bacteria and bacterial envelope components enhance mammalian reovirus thermostability / A. K. Berger, H. Yi, D. B. Kearns, B. A Mainou // PLoS Pathog. – 2017. – Vol. 13. – № 12. – P. 67-68.
103. Bergman P. Drosophila as a Model for Human Diseases-Focus on Innate Immunity in Barrier Epithelia / P. Bergman, S. Seyedoleslami Esfahani, Y. Engström // Curr Top Dev Biol.– 2017. – № 121. – P. 29-81.
104. Bonito Di. P. Detection of oncogenic viruses in water environments by a Luminex-based multiplex platform for high throughput screening of infectious agents / Di. P. Bonito, M. Iaconelli, T. Gheit, M. Tommasino, S. Della Libera, et al // Water Res. – 2017. – № 123. – P. 549-555.
105. Bonnett R. Water disinfection using photosensitizers immobilized on chitosan / R. Bonnett, M. A. Krysteva, I. G. Lalov, S. V. Artarsky // Water Res. – 2006. –Vol 40. – № 6. – P. 1269-1275.
106. Bordalo A.A. Survival of fecal indicator bacteria in tropical estuarine waters (Bangpakong River, Thailand) / A. A. Bordalo, R. Onrassami, C. Dechsakulwatana // J. Appl. Microbiol. – 2002. – № 93. – P. 864-871.
107. Bounty S. Inactivation of adenovirus using low-dose UV/H₂O₂ advanced oxidation / S. Bounty, R. A. Rodriguez, K. G. Linden // Water Res. – 2012. – Vol. 46. – № 19. – P. 6273-6281.
108. Cabral JP. Water microbiology. Bacterial pathogens and water / J.P. Cabral // Int J Environ Res Public Health. – 2010. № 7. – P. 3657-3703.

109. Christenson E. Examining the influence of urban definition when assessing relative safety of drinking-water in Nigeria / E. Christenson, R. Bain, J. Wright, S. Aondoakaa, R. Hossain // *Total Environ.* – 2014. – № 490. – P. 301-312.
110. Cox P. Concentrations of pathogens and indicators in animal feces in the Sydney watershed / P. Cox, M. Griffith, M. Angles, D. Deere, C. Ferguson // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2005. – № 71: – P. 5929-5934.
111. Crider Y. Can you taste it? Taste detection and acceptability thresholds for chlorine residual in drinking water in Dhaka, Bangladesh / Y. Crider, S. Sultana, L. Unicom, J. Davis, S. P. Luby // *Sci Total Environ.* – 2018. – №. 613–614. – P. 840-846.
112. Cromeans T. L. Inactivation of adenoviruses, enteroviruses, and murine norovirus in water by free chlorine and monochloramine / T. L. Cromeans, A. M. Kahler, V. R. Hill // 2010. *Appl. Environ. Microbiol.* – 2010. – № 76. – P. 1028-1033.
113. De Luca G. Removal of indicator bacteriophages from municipal wastewater by a full-scale membrane bioreactor and a conventional activated sludge process: Implications to water reuse / G. De Luca, R. Sacchetti, E. Leoni, F. Zanetti // *Bioresour Technol.* – 2013. – № 129. – P. 526-531.
114. Dougherty T.J. Photodynamic therapy / T. J. Dougherty, C. J. Gomer, B. W. Henderson, G. Jori, D. Kessel, et al // *J Natl Cancer Inst.* – 1998. – Vol. 90. – № 12. – P. 889-905.
115. Einhelling F. Use of *Lemna minor* L. as bioassay on allelopathy / F. Einhelling, G. Leather, L. Hobbs // *J. Chem. Ecol.* – 1985. – Vol. 11. – P. 65-92.
116. Elapasery M. Synthesis of some azo disperse dyes based on pyridone moiety and their application on polyester fabrics / M. Elapasery, S. Shakra, D. Abbas, H. Gaffer, E. Allam // *Egyptian Journal of Chemistry.* – 2017. – № 60. – P. 97-102.
117. Erickson A. K. Bacteria facilitate enteric virus co-infection of mammalian cells and promote genetic recombination / A. K. Erickson, P. R. Jesudhasan, M. J. Mayer, A. Narbad, S. E. Winter, et al // *Cell Host Microbe.* – 2018. – № 23. – P. 77-88.

118. Faraon V., Ion R.M. Ship-in-bottle porphyrin – zeolite nanomaterials // Optoelectron. Adv. Mat. – 2010. – Vol. 4(8). – P. 1135-1140.
119. Farnleitner AH. Escherichia coli and enterococci are sensitive and reliable indicators for human, livestock and wildlife faecal pollution in alpine mountainous water resources / A. H. Farnleitner, G. Ryzinska-Paier, G.H. Reischer, M.M. Burtscher, S. Knetsch, et al // J. Appl. Microbiol. – 2010. – № 109. – P. 1599-1608.
120. Ferrer O. Direct ultrafiltration performance and membrane integrity monitoring by microbiological analysis / O. Ferrer, S. Casas, C. Galvañ, F. Lucena, A. Bosch, et al // Water Res. – 2015. – № 83. – P. 121-131.
121. Fisher D.J. The acute effects of continuous and intermittent application of chlorine dioxide and chlorite on *Daphnia magna*, *Pimephales promelas*, and *Oncorhynchus mykiss* / D. J. Fisher, D. T. Burton. – WREC-93-b4, University of Maryland, Wye Research and Education Center, Queenstown, MD, 1993.
122. Franyois L. Mayer. Duncan Wilson. Bernhard Hube, *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. 1996. doi:10.4161/viru.22913.
123. Free flow: reaching water security through cooperation / UNESCO. Director-General. – Unesco publishing, 2013. – 12 p.
124. Friedman S.D. Genomic Sequences of two Novel *Levivirus* Single-Stranded RNA Coliphages (Family Leviviridae): Evidence for Recombination in Environmental Strains / S. D. Friedman, W. C. Snellgrove, F. J. Genthner // Viruses. – 2012. – Vol. 4. – № 9. – P. 1548-1568.
125. Gaffer H. Synthesis and characterization of some azo-heterocycles incorporating pyrazolopyridine moiety as disperse dyes / H. Gaffer, T. Khattab // Egyptian Journal of Chemistry. – 2017. – № 60. – P. 41-47.
126. GBD Diarrhoeal Diseases Collaborators. Estimates of global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of diarrhoeal diseases: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study / GBD Diarrhoeal Diseases Collaborators // Lancet Infect Dis. – 2017. – № 17. – P. 909-948.

127. Graham J. P. Pit Latrines and Their Impacts on Groundwater Quality: A Systematic Review. *Environ / J. P. Graham, M. L. Polizzotto // Health Perspect.* – 2013. – № 121. – P. 521-530.
128. Grin M.A. Click chemistry" in the synthesis of the first glycoconjugates of bacteriochlorin series / M.A. Grin, I.S. Lonin, L.M. Likhosherstov, O.S. Novikova, A.D. Plyutinskaya, E.A. Plotnikova, V.V. Kachala, R.I. Yakubovskaya, A.F. Mironov// *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines.* – 2012. – Vol. 16. – P. 1094-1109.
129. Guidelines for Drinking-Water Quality / WHO. – World Health Organization, Geneva, 2011. – Vol 4.
130. Guo Y. Rose Bengal-decorated silica nanoparticles as photosensitizers for inactivation of gram-positive bacteria / Y. Guo, S. Rogelj, P. Zhang // *Nanotechnology.* – 2010. – Vol. 21. – № 6. – P. 65-102.
131. Gusev S. Database of the International Data Centre on Hydrology of Lakes and Reservoirs / S. Gusev, E. Kuprienok // *Lakes: The Mirrors of the Earth Balancing Ecosystem Integrity and Human Wellbeing. Proceedings of 15th World Lake Conference 1 – 5 September 2014 Perugia, Italy.*
132. Hamblin M. R. Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease? / M. R. Hamblin, T. Hasan // *Photochem Photobiol Sci.* – 2004. – Vol. 3. – № 5. – P. 436-50.
133. Huang Y.-Y., Balasubramanian T., Yang E., Luo D., Diers J.R., Bocian D.F., Lindsey J.S., Holten D., Hamblin M.R. Stable Synthetic Bacteriochlorins for Photodynamic Therapy: Role of Dicyano Peripheral Groups, Central Metal Substitution (2H, Zn, Pd), and Cremophor EL Delivery // *ChemMedChem.* – 2012. – №7. – P. 2155-2167.
134. Jancula D. In search of the main properties of phthalocyanines participating in toxicity against cyanobacteria / D. Jancula, B. Marsalek, Z. Novotna, J. Cerny, M. Karaskova // , Rakusan J., 2009. *Chemosphere.* – 2009. – Vol. 77.– P. 1520-1525.

135. Jančula D. The toxicity of phthalocyanines to the aquatic plant *Lemna minor* (duckweed) — testing of 31 compounds / D. Jančula, B. Maršálek // *Chemosphere*. – 2012. – Vol. 88. – № 8. – P. 962-965.
136. Kal A. The protective effect of prophylactic ozone administration against retinal ischemia-reperfusion injury / A. Kal, O. Kal, I. Akillioglu, et al. // *Cutan Ocul Toxicol.* – 2017. – № 36. – P. 39-47.
137. Kang J. H. et al. Linking land-use type and stream water quality using spatial data of fecal indicator bacteria and heavy metals in the Yeongsan river basin / J. H. Kang, S. W. Lee, K. H. Cho, S. J. Ki, S. M. Cha, et al // *Water Research*. – 2010. – № 44. – P. 4143-4157.
138. Kelly S. The effect of chlorine in water on enteric viruses / S. Kelly, W. W. Sanderson // *Am J Public Health*. – 1958. – № 48. – P. 1323-1334
139. Kim D. Inactivation modeling of human enteric virus surrogates, MS2, Q β , and Φ X174, in water using UVC-LEDs, a novel disinfecting system / D. Kim, K.; Kim, S.-J.; D.-H. Kang // *Int.* – 2017. – № 91. – P. 115-123.
140. Khattab T. A. Microwave- Assisted Synthesis of Arylazoaminopyrazoles as Disperse Dyes for Textile Printing. / T. A. Khattab, K. M. Haggag, M. H. Elnagdi, A. A. Abdelrahman, Aly S. Abdelmoez // *Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie.* – 2016. – Vol. 642. – № 13. – P. 766-72.
141. Khattab T. A. Novel solvatochromic and halochromic sulfahydrazone molecular switch / T. A. Khattab // *Journal of Molecular Structure*. – 2018. – № 1169. – P. 96-102.
142. Khattab T. A. Smart textile framework: Photochromic and fluorescent cellulosic fabric printed by strontium aluminate pigment / T. A. Khattab, M. Rehan, T. Hamouda, *Carbohydrate Polymers*. – 2018. – № 195. – P. 143-152.
143. Laplace J. M. Sodium Hypochlorite stress in *Enterococcus faecalis*: influence of antecedent growth conditions and induced proteins / J. M. Laplace, M. Thuault, A. Hartke, P. Boutibonnes, Y. Auffray // *Current Microbiology*. – 1997. – Vol. 34. – P. 284-289.

144. Lee Y. Prediction of micropollutant elimination during ozonation of municipal wastewater effluents: Use of kinetic and water specific information / Y. Lee // *Environ. Sci. Technol.* – 2013. – № 47. – P. 5872-5881.
145. Li G. An introduction to multiplicity issues in clinical trials: the what, why, when and how / G. Li, M Taljaard, ER Van den Heuvel // *Int J Epidemiol.* – 2017. – № 46. – P. 746-755.
146. Li J. A swimming pool-associated outbreak of pharyngoconjunctival fever caused by human adenovirus type 4 in Beijing, China / J. Li, X. Lu, Y. Sun, C. Lin, F. Li, et al // *Int J Infect Dis.* – 2018. – № 75. – P. 89-91.
147. Liang L. Alternative fecal indicators and their empirical relationships with enteric viruses, *Salmonella enterica*, and *Pseudomonas aeruginosa* in surface waters of a tropical urban catchment / L. Liang, S. G. Goh, G. G. Vergara, H. M. Fang, S. Rezaeinejad, et al // *Appl Environ Microbiol.* – 2015. – Vol. 81. – № 3. – P. 850-860.
148. Lin R.H. Property study of a new silica nanoparticle delivery system of hydrophobic phthalocyanine using spectroscopic method / R. Lin , L. Zhou L, Y. Lin, A. Wang, J.H.Zhou, S. Wei // *Spectroscopy.* – 2011. – Vol. 26. – P. 179-185.
149. Liu G. Genome chaos: Survival strategy during crisis / G. Liu, J. B. Stevens, S. D.Horne, B. Y. Abdallah, K. J. Ye // *Cell Cycle.* – 2014. – Vol. 13. – № 4. – P. 528-537.
150. Lleò M. d. M. Survival of enterococcal species in aquatic environments / M. d. M. Lleò, B. Bonato, D. Benedetti, P. Canepari // *FEMS Microbiology Ecology.* – 2005. – № 54. – P. 189-196.
151. Lugli G. A. Ancient bacteria of the Otzi's microbiome: a genomic tale from the Copper Age / G. A. Lugli, Ch. Milani, L. Mancabelli, F. Turrone, Ch. Ferrario, et al // *Microbiome.* – 2017. – № 5. – 5 p.
152. Mahmoud M. Synthesis of Novel 2, 3-Disubstituted Quinazolin-4-(3H)-ones and Their Antibacterial Activity on the Ultra-structure of Some Pathogenic Microorganisms / M. Mahmoud, S. S. Abdelwahab, K. Saied // *Egyptian Journal of Chemistry.* – 2017. – Vol. 60. – № 6. – P. 137-145.

153. Makowski A. Photocatalytic degradation of toxins secreted to water by cyanobacteria and unicellular algae and photocatalytic degradation of the cells of selected microorganisms / A. Makowski, W. Wardas // *Curr Top Biophys.* – 2001. – P. 19-25.
154. McMinn B.R. Evaluation of *Bacteroides fragilis* GB-124 bacteriophages as novel human-associated faecal indicators in the United States / B.R. McMinn, A. Korajkic, N.J. Ashbolt // *Letters in Applied Microbiology.* – 2014. – № 59. – P. 115-121.
155. McQuaig S. M. The association of fecal indicator bacteria with human viruses and microbial source tracking markers at coastal beaches impacted by nonpoint source pollution / S. M. McQuaig, J. Griffith, V. J. Harwood // *Applied Environmental Microbiology.* – 2012. – Vol. 78. – № 18. – P. 6423-6432.
156. Mote B.L. Persistence and growth of the fecal indicator bacteria enterococci in detritus and natural estuarine plankton communities / B. L. Mote, J. W. Turner, E. K. Lipp // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2012. – № 78. – P. 2569-2577.
157. Nafisi S. Stability and structural features of DNA intercalation with ethidium bromide, acridine orange and methylene blue / S. Nafisi, A. A. Saboury, N. Keramat, J. F. Neault, H. A. Tajmir-Riahi // *Journal of Molecular Structure.* – 2007. – Vol. 827. – № 1–3. – P. 35-43.
158. Nguyen K.H. Determination of wild animal sources of fecal indicator bacteria by microbial source tracking (MST) influences regulatory decisions / K.H. Nguyen, C. Senay, S. Young, B. Nayak, A. Lobos // *Water Res.* – 2018. – № 144. – P. 424-434.
159. Ngwenya N. Recent advances in drinking water disinfection: successes and challenges / N. Ngwenya, E. J. Ncube, J. Parsons // *Rev Environ Contam Toxicol.* – 2013. – № 222. – P. 111-70.
160. Norman J. M. Kingdom-agnostic metagenomics and the importance of complete characterization of enteric microbial communities / J. M. Norman, S. A. Handley, H. W. Virgin // *Gastroenterology.* – 2014. – № 146. – P. 1459-1469.

161. Onal O. Prophylactic ozone administration reduces intestinal mucosa injury induced by intestinal ischemia-reperfusion in the rat / O. Onal, F. Yetisir, A. E Sarer, et al. // *Mediators Inflamm.* – 2015.
162. Orth K. Methylene blue mediated photodynamic therapy in experimental colorectal tumors in mice / K. Orth, G. Beck, F. Genze, A. Rück // *J Photochem Photobiol.* – 2000. – Vol. 57. – № 2-3. – P. 186-192.
163. Parvez S. A review on advantages of implementing luminescence inhibition test (*Vibrio fischeri*) for acute toxicity prediction of chemicals / S. Behera, C. Venkataraman, S. Mukherji // *Environ. Int.* – 2006. – № 32. – P. 265-268.
164. Payment P. Poor efficacy of residual chlorine disinfectant in drinking water to inactivate waterborne pathogens in distribution systems / P. Payment // *Can. J. Microbiol.* – 1999. – № 45. – P. 709-715.
165. Penn J. Values for recreational beach quality in Oahu, Hawaii / J. Penn, W. Hu, L. Cox, L. Kozloff // *Mar. Resour. Econ.* – 2016. – № 31. – P. 31-47.
166. Pinto B. Characterization of “faecal streptococci” as indicators of faecal pollution and distribution in the environment / B. Pinto // *Letters in Applied Microbiology.* – 1999. – № 29. – P. 258-263.
167. Polcaro A. M. Characterization of a stirred tank electrochemical cell for water disinfection processes / A. M. Polcaro, A. Vacca, M. Mascia, S. Palmas, R. Pompei // *Electrochim Acta* – 2007. – № 52. – P. 2595-2602.
168. Progress on Drinking Water and Sanitation: 2012 Update / WHO and UNICEF. – World Health Organization, Geneva, 2012.
169. Pusch D. Detection of enteric viruses and bacterial indicators in German environmental waters / D. Pusch, D.Y. Oh, S. Wolf, R. Dumke, U. Schroter-Bobsin // *Arch. Virol.* – 2005. – Vol. 150 – № 5. – P. 929-947.
170. Purnell S. Bacteriophage removal in a full-scale membrane bioreactor (MBR)- Implications for wastewater reuse / S. Purnell, J. Ebdon, A. Buck, M. Tupper, H. Taylor // *Water Res.* – 2015. – Vol.73. – P. 109-117.

171. Radić S. Duckweed *Lemna minor* as a tool for testing toxicity and genotoxicity of surface waters / S. Radić, D. Stipaničev, P. Cvjetko, R. M Marijanović, S. Sirac, et al // *Ecotoxicol Environ Saf.* – 2011. – Vol. 74. – № 2. – P. 182-197.
172. Ravva S. V. Male-specific coliphages for source tracking fecal contamination in surface waters and prevalence of Shiga-toxigenic *Escherichia coli* in a major produce production region of the Central Coast of California / S. V. Ravva, C. Z. Sarreal, M. B. Cooley // *Environ Sci Process Impacts.* – 2015. – Vol. 17. – № 7. – P. 1249-1256.
173. Revitt-Mills S. A. *Clostridium perfringens* extracellular toxins and enzymes: 20 and counting / S. A. Revitt-Mills, J. I. Rood, V. Adams // *Microbiology.* – 2015. – P. 114-117.
174. Romero-Martinez L. Evaluation of ultraviolet disinfection of microalgae by growth modeling: application to ballast water treatment / L. Romero-Martinez, J. Moreno-Andres, A. Acevedo-Merino, E. Nebot // *Journal of applied phycology.* – 2016. – Vol. 28. – № 5. – P. 2831-2842.
175. Rood J. I. Expansion of the *Clostridium perfringens* toxin-based typing scheme / J. I. Rood, V. Adams, J. Lacey, D. Lyras, B. A. McClane, et al // *Anaerobe.* – 2018. – № 53. – P. 5-10.
176. Schmidt M. H. Evaluation of photodynamic therapy near functional brain tissue in patients with recurrent brain tumors / M. H. Schmidt, Meyer G. A., Reichert K.W. et al // *J. Neurooncol.* – 2004. – № 67. – P. 201-207.
177. Signoretto C. Persistence of *Enterococcus faecalis* in aquatic environments via surface interactions with copepods / C. Signoretto, G. Burlacchini, C. Pruzzo, P. Canepari // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2005. – № 71. – P. 2756-2761.
178. Sinclair R. G. Viruses in recreational water-borne disease outbreaks: a review / R. G. Sinclair, E. L. Jones, C. P. Gerba // *Journal of Applied Microbiology.* – 2009. – Vol. 107. – № 6. – P. 1769-1780.
179. Sirikanchana K. The capability of non-native strains of *Bacteroides* bacteria to detect bacteriophages as faecal indicators in a tropical area / K. Sirikanchana, B.

- Wangkahad, S. Mongkolsuk // *Journal of Applied Microbiology*. – 2014. – № 117. – P. 1820-9.
180. Song K. Mechanisms investigation on bacterial inactivation through combinations of UV wavelengths / K. Song, M. Mohseni, F. Taghipour // *Water Res.* – 2019. – № 163. – P. 1148-1175.
181. Symonds E.M. Reduction of nutrients, microbes, and personal care products in domestic wastewater by a benchtop electrocoagulation unit / E. M. Symonds, M. M. Cook, S. M. McQuaig. R. M. Ulrich, R.O. Schenck, et al // *Sci. Rep.* – 2015. – № 5. – P. 1-8.
182. Taylor P.A. An evaluation of the toxicity of various forms of chlorine to *Ceriodaphnia dubia* / P. A.Taylor // *Environ Toxicol Chem.* – 1993. – № 12. – P. 925-930.
183. Tucker J. D. Sister-chromatid exchange: Second report of the Gene-Tox Programe / J. D. Tucker, A. E. Auletta, M. S. Cimino // *Mutation Res.* – 1993. – V. 297. – № 2. – P. 101-186.
184. Turko P. Parasites driving host diversity: incidence of disease correlated with *Daphnia* clonal turnover / P. Turko, C. Tellenbach, E. Keller, N. Tardent, B. Keller // *Evolution*. – 2018. – Vol. 72. – № 3. – P. 619-29.
185. Usacheva M. N. The interaction of lipopolysaccharides with phenothiazine dyes / M. N. Usacheva, M. C. Teichert, M. A. Biel // *Lasers Surg Med.* – 2003. – Vol. 33. – № 5. – P. 311-319.
186. Valenti T.W. Chlorine toxicity to early life stages of freshwater mussels (*Bivalvia: Unionidae*) / T. W. Valenti, D. S. Cherry, R. J. Currie, R. J. Neves, J. W. Jones, et al // *Environ Toxicol Chem.* – 2006. – Vol. 25. – № 9. – P. 2512-2518.
187. Vardevanyan P.O. Thermodynamic analysis of DNA complexes with methylene blue, ethidium bromide and Hoechst 33258 / P. O. Vardevanyan, A. P. Antonyan, L. A. Hambardzumyan, M. A. Shahinyan, A. T. Karapetian // *Biopolym. Cell.* – 2013. – Vol. 29. – № 6. – P. 515-520.
188. Vierheilig J. *Clostridium perfringens* Is Not Suitable for the Indication of Fecal Pollution from Ruminant Wildlife but Is Associated with Excreta from

Nonherbivorous Animals and Human Sewage / J. Vierheilig, C. Frick, R.E. Mayer, A.K.T. Kirschner, G.H. Reischer, et al // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2013. – Vol. 79. – № 16. – P. 5089-5092.

189. Vuglinskii S. The system of hydrometeorological observations on lakes and reservoirs of the Russian Federation / S. Vuglinskii, T. Gusev // *Lakes: The Mirrors of the Earth Balancing Ecosystem Integrity and Human Wellbeing. Proceedings of 15th World Lake Conference 1 – 5 September 2014 Perugia, Italy*.

190. Whitman R.L. Occurrence of *Escherichia coli* and enterococci in *Cladophora* (Chlorophyta) in nearshore water and beach sand of Lake Michigan Shively / R. L. Whitman, D. A. Pawlik, H. Nevers, M. N. Byappanahalli // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2003. – № 69. – P. 4714-4719.

191. Wilkes G. Long-term monitoring of waterborne pathogens and microbial source tracking markers in paired agricultural watersheds under controlled and conventional tile drainage management / G. Wilkes, J. Brassard, T. A. Edge, V. Gannon, N. Gottschall, C. C. Jokinen, et al // *Appl Environ Microbiol.* – 2014. – Vol. 80. – № 12. – P. 3708-20.

192. Wöhrle D. Practical Applications of Phthalocyanines – from Dyes and Pigments to Materials for Optical, Electronic and Photo-electronic Devices / D. Wöhrle, G. Schnurpfeil, S. G.Makarov, A. Kazarin, O. N. Suvorova // *Macroheterocycles.* – 2012. – V. 5. – № 3. – P. 191-201.

193. Yahya M. Bacteriophages as indicators of human and animal faecal contamination in raw and treated wastewaters from Tunisia / M. Yahya, F. Hmaied, S. Jebri, J. Jofre, M. Hamdi // *J. Appl. Microbiol.* – 2015. – № 118, – P. 1217-1225.

194. Yang Y. Bayesian population PBPK model for multiroute chloroform exposure / Y. Yang, X. Xu, P. G. Georgopoulos // *A Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology.* – 2010. – Vol. 20. – № 4. – P. 326-341.

195. Zacharsky K. A. Evaluation of an Environmental Monitoring Program for the Microbial Safety of Air and Surfaces in a Dairy Plant Environment. / K. A. Zacharsky, M. Southern, A. Ryan // *Journal of Food Protection.* – 2018. – Vol. 81. – № 7. – P. 1108-1116.

196. HHS forms strategic alliance to develop new antibiotics approach provides a pipeline of new drugs rather than a single medical countermeasure: web. – URL: <http://www.phe.gov/Preparedness/news/Pages/strategic-alliance-130522.aspx>(last accessed: 10.01.2020). – Text: web.
197. Whitman R.L. Occurrence of *Escherichia coli* and enterococci in *Cladophora* (Chlorophyta) in nearshore water and beach sand of Lake Michigan Shively / R. L. Whitman, D. A. Pawlik, H. Nevers, M. N. Byappanahalli // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2003. – № 69. – P. 4714-4719.
198. Wilkes G. Long-term monitoring of waterborne pathogens and microbial source tracking markers in paired agricultural watersheds under controlled and conventional tile drainage management / G. Wilkes, J. Brassard, T. A. Edge, V. Gannon, N. Gottschall, C. C. Jokinen, et al // *Appl Environ Microbiol.* – 2014. – Vol. 80. – № 12. – P. 3708-20.
199. Wöhrle D. Practical Applications of Phthalocyanines – from Dyes and Pigments to Materials for Optical, Electronic and Photo-electronic Devices / D. Wöhrle, G. Schnurpfeil, S. G.Makarov, A. Kazarin, O. N. Suvorova // *Macroheterocycles.* – 2012. – V. 5. – № 3. – P. 191-201.
200. Xue, Y. Y., Chen, H. H., Yang, J. R., Liu, M., Huang, B. Q., and Yang, J. (2018). Distinct patterns and processes of abundant and rare eukaryotic plankton communities following a reservoir cyanobacterial bloom. *ISME J.* 12, 2263–2277.
201. Yahya M. Bacteriophages as indicators of human and animal faecal contamination in raw and treated wastewaters from Tunisia / M. Yahya, F. Hmaied, S. Jebri, J. Jofre, M. Hamdi // *J. Appl. Microbiol.* – 2015. – № 118, – P. 1217-1225.
202. Yang Y. Bayesian population PBPK model for multiroute chloroform exposure / Y. Yang, X. Xu, P. G. Georgopoulos // *A Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology.* – 2010. – Vol. 20. –№ 4. – P. 326-341.
203. Yan, M. M., Chen, S. N., Huang, T. L., Li, B. Q., Li, N., Liu, K. W., et al. (2020). Community compositions of phytoplankton and eukaryotes during the mixing periods of a drinking water reservoir: dynamics and interactions. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 17:1128. doi: 10.3390/ijerph17041128

204. Zacharsky K. A. Evaluation of an Environmental Monitoring Program for the Microbial Safety of Air and Surfaces in a Dairy Plant Environment. / K. A. Zacharsky, M. Southern, A. Ryan // Journal of Food Protection. – 2018. – Vol. 81. – № 7. – P. 1108-1116.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АФК	активные формы кислорода
БГКП	бактерии группы кишечных палочек
КОЕ	колониобразующие единицы
ММК	микропористая мембрана капроновая
ОКБ	общие колиформные бактерии
Т	коэффициент Стьюдента
УФ	ультрафиолетовый
ФДТ	фотодинамическая терапия
ФС	Фекальные стрептококки
ТКБ	термотолерантные колиформные бактерии
ТЦД	токсическое цитопатическое действие
НАДФ	никотинамидадениндинуклеотид фосфат
ДИАМ	2,7-диамино-4,9-диокси-5,10-диоксо-4,5,9,10-тетрагидро-4,9- диазопирен
ЭСП	электронные спектры поглощения

ПРИЛОЖЕНИЯ

К диссертации приложены:

- Разрешение на проведение экспериментов с микроорганизмами III-IV групп патогенности в лаборатории микробиологии ООО «ВЕЛЕС».
- О внедрении результатов исследования в учебный процесс ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева
- Таблицы

Приложение 1

Разрешение на проведение экспериментов с микроорганизмами III-IV групп патогенности в лаборатории микробиологии ООО «ВЕЛЕС».

Ген. директору ООО «Велес» Майструку И.В.,
заведующему лабораторией микробиологии
Снегиреву Д.В.
от заведующий кафедрой
микробиологии и иммунологии
РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева
к.б.н. доц. Селицкой О.В.

служебная записка.

Уважаемый Игорь Витальевич!

Прошу разрешить проведение экспериментов с микроорганизмами (III IV группы патогенности) в лаборатории микробиологии ООО «ВЕЛЕС» аспиранту-соискателю нашей кафедры Снегиреву Д.В.

Зав. кафедрой микробиологии и иммунологии
РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева

 Селицкая О.В.

Научный руководитель



Карепина Т.А.


Соискатель



Снегирев Д.В.

Разрешаю проведение указанных
экспериментов, при условии
соблюдения установленных
требований и правил обращения
с микроорганизмами (III, IV группы
патогенности)



Ген. директор ООО «Велес»
Майструку И.В. 

Приложение 2.

О внедрении результатов исследования в учебный процесс ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева



АКТ

о внедрении результатов диссертации Снегирева Дмитрия Владимировича в учебный процесс кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева.

Мы, нижеподписавшиеся, подтверждаем, что основные научные положения, выводы и рекомендации кандидатской диссертации Снегирева Дмитрия Владимировича на тему «Изучение фотообеззараживающего действия сенсibilизаторов в отношении различных микроорганизмов» внедрены в учебный процесс кафедры микробиологии и иммунологии при изучении дисциплин «Пищевая микробиология», «Общая микробиология и общая санитарная микробиология», «Промышленная микробиология», «Методы микробиологических исследований» читаемых студентам по направлению подготовки: 19.04.01 Биотехнология, 35.03.03 Агрохимия и агропочвоведение, 19.03.02 Продукты питания из растительного сырья, 19.03.03 Продукты питания животного происхождения.

СОГЛАСОВАНО

Проректор по УМР

Золотарев С.В. /Золотарев С.В./

Начальник УМУ

Ещин А.В. /Ещин А.В./

Начальник ОУ

Сашина Л.М. /Сашина Л.М./

Заведующий кафедрой
микробиологии и иммунологии

Селицкая О.В. /О.В. Селицкая/

Приложение 3

Таблица 49 - Динамика в крови *Oreochromis niloticus* гемоглобина (г%)

Группы	Сроки начала исследований от опытов (сут.)					
	Статистические показатели	Фон	7	14	21	30
Контроль здоровые (1)	Повторности	7,60	8,00	8,60	8,90	9,30
		7,90	7,80	8,30	8,70	9,00
		7,60	7,90	8,60	9,10	9,00
	Ср.значение	7,70	7,90	8,50	8,90	9,10
	Ошибка среднего	0,12	0,07	0,12	0,14	0,12
	Ст.отклонение	0,17	0,10	0,17	0,20	0,17
	Ср.отклонение	0,10	0,05	0,10	0,10	0,10
	Дисперсия выборки	0,03	0,01	0,03	0,04	0,03
	Левая граница дов. интервала, уровень доверия 97%	7,14	7,57	7,94	8,25	8,54
	Правая граница дов.интервала, уровень доверия 97 %	8,23	8,05	8,96	9,55	9,22
	Коэффициент вариации	2,25%	1,27%	2,04%	2,25%	1,90%
Контроль зараженные <i>Candida albicans</i> (2)	Повторности	6,30	6,20	6,40	6,20	6,00
		6,10	6,50	6,10	5,90	5,80
		6,20	6,50	6,70	6,50	6,20
	Ср.значение	6,20	6,40	6,40	6,20	6,00
	Ошибка среднего	0,07	0,12	0,21	0,21	0,14
	Ст.отклонение	0,10	0,17	0,30	0,30	0,20
	Коэффициент вариации, %	1,61%	2,71%	4,69%	4,84%	3,33%
	Ср.отклонение	0,05	0,10	0,15	0,15	0,10
	Дисперсия выборки	0,01	0,03	0,09	0,09	0,04

	Левая граница дов. интервала, уровень доверия 97%	5,87	5,84	5,42	5,22	5,35
	Правая граница дов. интервала, уровень доверия 97 %	6,35	6,65	7,38	7,18	6,65
Зараженные <i>Candida albicans</i> +прополис 0,5 мл/л (3)	Повторности	7,10	8,90	9,10	10,60	11,70
		6,90	8,60	9,40	10,30	11,50
		7,00	8,90	9,10	10,60	11,60
	Ср. значение	7,00	8,80	9,20	10,50	11,60
	Ошибка среднего	0,07	0,12	0,12	0,12	0,07
	Ст.отклонение	0,10	0,17	0,17	0,17	0,10
	Коэффициент вариации, %	1,43%	1,97%	1,88%	1,65%	0,86%
	Ср.отклонение	0,05	0,10	0,10	0,10	0,05
	Дисперсия выборки	0,01	0,03	0,03	0,03	0,01
	Левая граница дов. интервала, уровень доверия 97%	6,67	8,24	8,64	9,94	11,27
	Правая граница дов. интервала, уровень доверия 97 %	7,15	9,26	9,73	10,96	11,75
Зараженные <i>Candida albicans</i> +метиленовый голубой 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (4)	Повторности	7,30	9,50	9,90	11,00	12,50
		7,10	9,20	10,10	10,90	12,20
		7,20	9,20	9,70	11,10	12,50
	Ср. значение	7,20	9,30	9,90	11,00	12,40
	Ошибка среднего	0,07	0,12	0,14	0,07	0,12
	Ст.отклонение	0,10	0,17	0,20	0,10	0,17
	Коэффициент вариации, %	1,39%	1,86%	2,02%	0,91%	1,40%
	Ср.отклонение	0,05	0,10	0,10	0,05	0,10
	Дисперсия выборки	0,01	0,03	0,04	0,01	0,03
	Левая граница дов. интервала, уровень доверия 97%	6,87	8,74	9,25	10,67	11,84

	Правая граница дов.интервала, уровень доверия 97 %	7,35	9,42	10,55	11,33	12,86
Зараженные <i>Candida albicans</i> +профлавин ацетат 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (5)	Повторности	7,00	8,40	8,90	9,70	9,50
		6,90	8,20	8,70	9,50	9,10
		7,40	8,30	9,10	9,90	9,60
	Ср.значение	7,10	8,30	8,90	9,70	9,40
	Ошибка среднего	0,19	0,07	0,14	0,14	0,19
	Ст.отклонение	0,26	0,10	0,20	0,20	0,26
	Коэффициент вариации, %	3,73%	1,20%	2,25%	2,06%	2,81%
	Ср.отклонение	0,15	0,05	0,10	0,10	0,15
	Дисперсия выборки	0,07	0,01	0,04	0,04	0,07
	Левая граница дов. интервала, уровень доверия 97%	6,24	7,97	8,25	9,05	8,54
	Правая граница дов.интервала, уровень доверия 97 %	7,95	8,45	9,55	10,35	10,19
Зараженные <i>Candida albicans</i> +фталоцианин цинка 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (6)	Повторности	7,10	8,20	8,60	8,60	9,00
		7,30	7,90	8,30	8,40	8,80
		7,20	7,90	8,60	9,10	8,90
	Ср.значение	7,15	8,25	8,90	9,70	9,35
	Ошибка среднего	0,35	0,07	0,28	0,28	0,35
	Ст.отклонение	0,35	0,07	0,28	0,28	0,35
	Коэффициент вариации, %	1,39%	2,17%	2,04%	4,14%	1,12%
	Ср.отклонение	3,22	3,73	3,98	4,25	4,16
	Дисперсия выборки	0,12	0,01	0,08	0,08	0,13
	Левая граница дов. интервала, уровень доверия 97%	6,24	7,97	8,25	9,05	8,54
	Правая граница дов.интервала, уровень доверия 97 %	6,93	7,89	8,48	9,07	8,92

Таблица 51 - Динамика в крови *Oreochromis niloticus* лимфоцитов (в %)

Группы	Сроки начала исследований от опытов (сут.)					
	Статистические показатели	Фон	7	14	21	30
Контроль здоровые (1)	Повторности	48,40	58,20	62,80	69,60	70,40
		47,90	58,00	61,80	68,00	70,95
		48,90	58,40	63,80	71,20	69,85
	Ср.значение	48,40	58,20	62,80	69,60	70,40
	Ошибка среднего	0,35	0,14	0,71	1,13	0,39
	Ст.отклонение	0,50	0,20	1,00	1,60	0,55
	Коэффициент вариации, %	1,03%	0,34%	1,59%	2,30%	0,78%
	Ср.отклонение	0,33	0,13	0,67	1,07	0,37
	Дисперсия выборки	0,25	0,04	1,00	2,56	0,30
	Левая граница дов. интервала, уровень доверия 97%	46,77	57,55	59,54	64,39	68,61
	Правая граница дов. интервала, уровень доверия 97 %	50,03	58,85	66,06	74,81	72,19
	Контроль зараженные <i>Candida albicans</i> (2)	Повторности	39,00	42,30	46,70	50,30
38,80			42,00	46,40	49,10	51,90
39,20			42,60	47,00	51,50	52,70
Ср.значение		39,00	42,30	46,70	50,30	52,30
Ошибка среднего		0,14	0,21	0,21	0,85	0,28
Ст.отклонение		0,20	0,30	0,30	1,20	0,40
Коэффициент вариации, %		0,51%	0,71%	0,64%	2,39%	0,76%
Ср.отклонение		0,13	0,20	0,20	0,80	0,27
Дисперсия выборки	0,04	0,09	0,09	1,44	0,16	

	Левая граница дов. интервала, уровень доверия 97%	38,35	41,32	45,72	46,39	51,00
	Правая граница дов. интервала, уровень доверия 97 %	39,65	43,28	47,68	54,21	53,60
Зараженные <i>Candida albicans</i> +прополис 0,5 мл/л (3)	Повторности	37,40	70,50	77,90	81,40	85,20
		38,20	69,80	76,80	81,00	84,92
		36,60	70,60	79,00	81,80	85,48
	Ср. значение	37,40	70,30	77,90	81,40	85,20
	Ошибка среднего	0,57	0,31	0,78	0,28	0,20
	Ст.отклонение	0,80	0,44	1,10	0,40	0,28
	Коэффициент вариации, %	2,14%	0,62%	1,41%	0,49%	0,33%
	Ср.отклонение	0,53	0,33	0,73	0,27	0,19
	Дисперсия выборки	0,64	0,19	1,21	0,16	0,08
	Левая граница дов. интервала, уровень доверия 97%	34,79	68,88	74,32	80,10	84,29
	Правая граница дов. интервала, уровень доверия 97 %	40,01	71,72	81,48	82,70	86,11
Зараженные <i>Candida albicans</i> +метиленовый голубой 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (4)	Повторности	38,40	74,00	80,10	85,70	89,80
		38,80	73,20	79,60	85,00	88,20
		38,60	74,80	80,60	86,40	91,40
	Ср. значение	38,60	74,00	80,10	85,70	89,80
	Ошибка среднего	0,14	0,57	0,35	0,49	1,13
	Ст.отклонение	0,20	0,80	0,50	0,70	1,60
	Коэффициент вариации, %	0,52%	1,08%	0,62%	0,82%	1,78%
	Ср.отклонение	0,13	0,53	0,33	0,47	1,07
	Дисперсия выборки	0,04	0,64	0,25	0,49	2,56
	Левая граница дов. интервала, уровень доверия 97%	37,95	71,39	78,47	83,42	84,59

	Правая граница дов.интервала, уровень доверия 97 %	39,25	76,61	81,73	87,98	95,01
Зараженные <i>Candida albicans</i> +профлавин ацетат 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (5)	Повторности	37,90	69,80	68,70	70,00	72,30
		38,40	68,60	69,50	70,90	71,60
		37,40	70,70	67,90	69,10	73,00
	Ср.значение	37,90	69,70	68,70	70,00	72,30
	Ошибка среднего	0,35	0,74	0,57	0,64	0,49
	Ст.отклонение	0,50	1,05	0,80	0,90	0,70
	Коэффициент вариации, %	1,32%	1,51%	1,16%	1,29%	0,97%
	Ср.отклонение	0,33	0,73	0,53	0,60	0,47
	Дисперсия выборки	0,25	1,11	0,64	0,81	0,49
	Левая граница дов. интервала, уровень доверия 97%	36,27	66,27	66,09	67,07	70,02
	Правая граница дов.интервала, уровень доверия 97 %	39,53	73,13	71,31	72,93	74,58
Зараженные <i>Candida albicans</i> +фталоцианин цинка 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (6)	Повторности	36,00	66,25	47,50	51,30	58,90
		36,70	65,84	48,56	52,00	58,15
		37,40	66,66	46,44	50,60	59,65
	Ср.значение	36,70	66,25	47,50	51,30	58,90
	Ошибка среднего	0,49	0,29	0,75	0,49	0,53
	Ст.отклонение	0,70	0,41	1,06	0,70	0,75
	Коэффициент вариации, %	1,91%	0,62%	2,23%	1,36%	1,27%
	Ср.отклонение	0,47	0,27	0,71	0,47	0,50
	Дисперсия выборки	0,49	0,17	1,12	0,49	0,56
	Левая граница дов. интервала, уровень доверия 97%	34,42	64,91	44,05	49,02	56,46
	Правая граница дов.интервала, уровень доверия 97 %	38,98	67,59	50,95	53,58	61,34

Таблица 53 - Динамика в крови *Oreochromis niloticus* моноциты в (в %)

Группы	Сроки начала исследований от опытов (сут.)					
	Статистические показатели	Фон	7	14	21	30
Контроль здоровые (1)	Повторности	2,2	2,6	2,7	2,4	2,5
		2,5	2,9	3	2,7	2,8
		2,5	2,9	3	2,7	2,8
	Ср.значение	2,40	2,80	2,90	2,60	2,70
	Ошибка среднего	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12
	Ст.отклонение	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17
	Коэффициент вариации, %	7,22%	6,19%	5,97%	6,66%	6,42%
	Ср.отклонение	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13
	Дисперсия выборки	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
	Левая граница дов. интервала, уровень доверия 97%	1,84	2,24	2,34	2,04	2,14
	Правая граница дов.интервала, уровень доверия 97 %	2,96	3,36	3,46	3,16	3,26
	Контроль зараженные <i>Candida albicans</i> (2)	Повторности	2	1,7	1,6	1,4
1,8			1,5	1,4	1,5	1,5
2,2			1,9	1,8	1,3	1,3
Ср.значение		2,00	1,70	1,60	1,40	1,40
Ошибка среднего		0,14	0,14	0,14	0,07	0,07
Ст.отклонение		0,20	0,20	0,20	0,10	0,10
Коэффициент вариации, %		10,00%	11,76%	12,50%	7,14%	7,14%
Ср.отклонение		0,13	0,13	0,13	0,07	0,07
Дисперсия выборки	0,04	0,04	0,04	0,01	0,01	

	Левая граница дов. интервала, уровень доверия 97%	1,35	1,05	0,95	1,07	1,07
	Правая граница дов. интервала, уровень доверия 97 %	2,65	2,35	2,25	1,73	1,73
Зараженные <i>Candida albicans</i> +прополис 0,5 мл/л (3)	Повторности	1,7	3	3,8	3,9	3,8
		1,6	2,8	3,5	4,2	4,1
		1,8	3,2	4,1	3,6	3,5
	Ср. значение	1,70	3,00	3,80	3,90	3,80
	Ошибка среднего	0,07	0,14	0,21	0,21	0,21
	Ст.отклонение	0,10	0,20	0,30	0,30	0,30
	Коэффициент вариации, %	5,88%	6,67%	7,89%	7,69%	7,89%
	Ср.отклонение	0,05	0,10	0,15	0,15	0,15
	Дисперсия выборки	0,01	0,04	0,09	0,09	0,09
	Левая граница дов. интервала, уровень доверия 97%	1,37	2,35	2,82	2,92	2,82
	Правая граница дов. интервала, уровень доверия 97 %	2,03	3,65	4,78	4,88	4,78
Зараженные <i>Candida albicans</i> +метиленовый голубой 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (4)	Повторности	2	3,3	4	4,2	4,4
		1,85	3,1	4,2	3,9	4,1
		2,15	3,5	3,8	4,5	4,7
	Ср.значение	2,00	3,30	4,00	4,20	4,40
	Ошибка среднего	0,11	0,14	0,14	0,21	0,21
	Ст.отклонение	0,15	0,20	0,20	0,30	0,30
	Коэффициент вариации, %	7,50%	6,06%	5,00%	7,14%	6,82%
	Ср.отклонение	0,10	0,13	0,13	0,20	0,20
	Дисперсия выборки	0,02	0,04	0,04	0,09	0,09
	Левая граница дов. интервала, уровень доверия 97%	1,51	2,65	3,35	3,22	3,42

	Правая граница дов.интервала, уровень доверия 97 %	2,49	3,95	4,65	5,18	5,38
Зараженные <i>Candida albicans</i> +профлавин ацетат 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (5)	Повторности	1,8	2,7	3,2	3,4	3,6
		1,5	2,5	3	3,1	3,8
		1,8	2,9	3,4	3,7	3,4
	Ср.значение	1,70	2,70	3,20	3,40	3,60
	Ошибка среднего	0,12	0,14	0,14	0,21	0,14
	Ст.отклонение	0,17	0,20	0,20	0,30	0,20
	Коэффициент вариации, %	10,19%	7,41%	6,25%	8,82%	5,56%
	Ср.отклонение	0,13	0,13	0,13	0,20	0,13
	Дисперсия выборки	0,03	0,04	0,04	0,09	0,04
	Левая граница дов. интервала, уровень доверия 97%	1,14	2,05	2,55	2,42	2,95
	Правая граница дов.интервала, уровень доверия 97 %	2,26	3,35	3,85	4,38	4,25
Зараженные <i>Candida albicans</i> +фталоцианин цинка 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (6)	Повторности	1,55	2,7	3,2	3,2	3,25
		1,7	2,55	3,05	3	3,5
		1,55	2,7	3,35	3,4	3
	Ср.значение	1,60	2,65	3,20	3,20	3,25
	Ошибка среднего	0,06	0,06	0,11	0,14	0,18
	Ст.отклонение	0,09	0,09	0,15	0,20	0,25
	Коэффициент вариации, %	5,41%	3,27%	4,69%	6,25%	7,69%
	Ср.отклонение	0,07	0,07	0,10	0,13	0,17
	Дисперсия выборки	0,01	0,01	0,02	0,04	0,06
	Левая граница дов. интервала, уровень доверия 97%	1,32	2,37	2,71	2,55	2,44
	Правая граница дов.интервала, уровень доверия 97 %	1,88	2,93	3,69	3,85	4,06

Таблица 58 - Динамика *Staphylococcus aureus* в содержимом толстого отдела кишечника *O.niloticus* (КОЕ/г)

Группы	Статистические показатели	Фон	7	14	21	30
Контроль здоровые	Повторности	3,20*10 ⁴	4,00*10 ⁴	4,30*10 ⁴	3,80*10 ⁴	3,20*10 ⁴
		3,70*10 ⁴	4,50*10 ⁴	4,70*10 ⁴	4,00*10 ⁴	3,50*10 ⁴
		3,30*10 ⁴	4,10*10 ⁴	3,90*10 ⁴	3,60*10 ⁴	2,90*10 ⁴
	Ср.значение	3,40*10⁴	4,20*10⁴	4,30*10⁴	3,80*10⁴	3,20*10⁴
	Ошибка среднего	1,87*10³	1,87*10³	2,83*10³	1,41*10³	2,12*10³
	Ст.отклонение	2,65*10 ³	2,65*10 ³	4,00*10 ³	2,00*10 ³	3,00*10 ³
	Коэффициент вариации, %	7,78	6,30	9,30	5,26	9,38
	Ср.отклонение	1,50*10 ³	1,50*10 ³	2,00*10 ³	1,00*10 ³	1,50*10 ³
	Дисперсия выборки	7,00*10 ⁶	7,00*10 ⁶	1,60*10 ⁷	4,00*10 ⁶	9,00*10 ⁶
	Левая граница дов. интервала, уровень доверия 97 %	2,54*10 ⁴	3,34*10 ⁴	3,00*10 ⁴	3,15*10 ⁴	2,22*10 ⁴
	Правая граница дов.интервала, уровень доверия 97	4,14*10 ⁴	4,94*10 ⁴	5,60*10 ⁴	4,45*10 ⁴	4,18*10 ⁴
Контроль зараженные <i>Candida albicans</i> (2)	Повторности	5,40*10 ⁴	9,60*10 ⁴	1,50*10 ⁵	1,90*10 ⁵	2,66*10 ⁵
		5,70*10 ⁴	9,90*10 ⁴	1,56*10 ⁵	1,93*10 ⁵	2,65*10 ⁵
		5,70*10 ⁴	9,60*10 ⁴	1,47*10 ⁵	1,93*10 ⁵	2,64*10 ⁵
	Ср.значение	5,60*10⁴	9,70*10⁴	1,51*10⁵	1,92*10⁵	2,65*10⁵

	Ошибка среднего	1,22*10³	1,22*10³	3,24*10³	1,22*10³	7,07*10²
	Ст.отклонение	1,73*10 ³	1,73*10 ³	4,58*10 ³	1,73*10 ³	1,00*10 ³
	Коэффициент вариации, %	3,09	1,79	3,03	0,90	0,38
	Ср.отклонение	1,00*10 ³	1,00*10 ³	2,50*10 ³	1,00*10 ³	5,00*10 ²
	Дисперсия выборки	3,00*10 ⁶	3,00*10 ⁶	2,10*10 ⁷	3,00*10 ⁶	1,00*10 ⁶
	Левая граница дов. интервала, уровень доверия 97 %	5,04*10 ⁴	9,14*10 ⁴	1,36*10 ⁵	1,86*10 ⁵	2,62*10 ⁵
	Правая граница дов.интервала, уровень доверия 97	5,85*10 ⁴	1,02*10 ⁵	1,66*10 ⁵	1,95*10 ⁵	2,67*10 ⁵
	Зараженные <i>Candida albicans</i> +прополис 0,5 мл/л (3)	Повторности	4,90*10 ⁴	4,30*10 ⁴	3,50*10 ⁴	2,80*10 ⁴
5,10*10 ⁴			3,90*10 ⁴	3,70*10 ⁴	2,80*10 ⁴	2,20*10 ⁴
5,60*10 ⁴			3,50*10 ⁴	3,30*10 ⁴	3,40*10 ⁴	2,00*10 ⁴
Ср.значение		5,20*10⁴	3,90*10⁴	3,50*10⁴	3,00*10⁴	2,00*10⁴
Ошибка среднего		2,55*10³	2,83*10³	1,41*10³	2,45*10³	1,41*10³
Ст.отклонение		3,61*10 ³	4,00*10 ³	2,00*10 ³	3,46*10 ³	2,00*10 ³
Коэффициент вариации, %		6,93	10,26	5,71	11,55	10,16
Ср.отклонение		2,00*10 ³	2,00*10 ³	1,00*10 ³	2,00*10 ³	1,00*10 ³
Дисперсия выборки		1,30*10 ⁷	1,60*10 ⁷	4,00*10 ⁶	1,20*10 ⁷	4,00*10 ⁶
Левая граница дов. интервала, уровень доверия 97 %		4,03*10 ⁴	2,60*10 ⁴	2,85*10 ⁴	1,87*10 ⁴	1,35*10 ⁴

	Правая граница дов.интервала, уровень доверия 97	6,16*10 ⁴	4,52*10 ⁴	4,15*10 ⁴	4,06*10 ⁴	2,44*10 ⁴
Зараженные <i>Candida albicans</i> +метиленовый голубой 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (4)	Повторности	5,40*10 ⁴	3,00*10 ⁴	2,40*10 ⁴	1,80*10 ⁴	1,20*10 ⁴
		5,90*10 ⁴	2,90*10 ⁴	2,80*10 ⁴	1,60*10 ⁴	1,50*10 ⁴
		6,40*10 ⁴	3,10*10 ⁴	2,60*10 ⁴	2,00*10 ⁴	1,20*10 ⁴
	Ср.значение	5,90*10⁴	3,00*10⁴	2,60*10⁴	1,80*10⁴	1,30*10⁴
	Ошибка среднего	3,54*10³	7,07*10²	1,41*10³	1,41*10³	1,22*10³
	Ст.отклонение	5,00*10 ³	1,00*10 ³	2,00*10 ³	2,00*10 ³	1,73*10 ³
	Коэффициент вариации, %	8,47	3,33	7,69	11,11	13,32
	Ср.отклонение	2,50*10 ³	5,00*10 ²	1,00*10 ³	1,00*10 ³	1,00*10 ³
	Дисперсия выборки	2,50*10 ⁷	1,00*10 ⁶	4,00*10 ⁶	4,00*10 ⁶	3,00*10 ⁶
	Левая граница дов. интервала, уровень доверия 97 %	4,27*10 ⁴	2,67*10 ⁴	1,95*10 ⁴	1,15*10 ⁴	7,36*10 ³
	Правая граница дов.интервала, уровень доверия 97	7,01*10 ⁴	3,33*10 ⁴	3,04*10 ⁴	2,45*10 ⁴	1,83*10 ⁴
Зараженные <i>Candida albicans</i> +профлавин ацетат 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (5)	Повторности	5,20*10 ⁴	5,80*10 ⁴	8,60*10 ⁴	7,80*10 ⁴	6,10*10 ⁴
		5,10*10 ⁴	6,20*10 ⁴	8,90*10 ⁴	8,20*10 ⁴	6,30*10 ⁴
		5,90*10 ⁴	6,00*10 ⁴	8,60*10 ⁴	8,00*10 ⁴	6,80*10 ⁴
	Ср.значение	5,40*10⁴	6,00*10⁴	8,70*10⁴	8,00*10⁴	6,40*10⁴
	Ошибка среднего	3,08*10³	1,41*10³	1,22*10³	1,41*10³	2,55*10³
	Ст.отклонение	4,36*10 ³	2,00*10 ³	1,73*10 ³	2,00*10 ³	3,61*10 ³

	Коэффициент вариации, %	8,07	3,33	1,99	2,50	5,63
	Ср.отклонение	$2,50 \cdot 10^3$	$1,00 \cdot 10^3$	$1,00 \cdot 10^3$	$1,00 \cdot 10^3$	$2,00 \cdot 10^3$
	Дисперсия выборки	$1,90 \cdot 10^7$	$4,00 \cdot 10^6$	$3,00 \cdot 10^6$	$4,00 \cdot 10^6$	$1,30 \cdot 10^7$
	Левая граница дов. интервала, уровень доверия 97 %	$3,98 \cdot 10^4$	$5,35 \cdot 10^4$	$8,14 \cdot 10^4$	$7,35 \cdot 10^4$	$5,23 \cdot 10^4$
	Правая граница дов.интервала, уровень доверия 97	$6,78 \cdot 10^4$	$6,44 \cdot 10^4$	$9,23 \cdot 10^4$	$8,44 \cdot 10^4$	$7,36 \cdot 10^4$
Зараженные <i>Candida albicans</i> +фталоцианин цинка 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (6)	Повторности	$5,30 \cdot 10^4$	$7,70 \cdot 10^4$	$9,10 \cdot 10^4$	$5,00 \cdot 10^4$	$4,40 \cdot 10^4$
		$5,60 \cdot 10^4$	$7,90 \cdot 10^4$	$9,30 \cdot 10^4$	$5,30 \cdot 10^4$	$4,60 \cdot 10^4$
		$5,00 \cdot 10^4$	$7,80 \cdot 10^4$	$9,50 \cdot 10^4$	$5,00 \cdot 10^4$	$4,80 \cdot 10^4$
	Ср.значение	$5,30 \cdot 10^4$	$7,85 \cdot 10^4$	$9,40 \cdot 10^4$	$5,15 \cdot 10^4$	$4,70 \cdot 10^4$
	Ошибка среднего	$4,24 \cdot 10^3$	$7,07 \cdot 10^2$	$1,41 \cdot 10^3$	$2,12 \cdot 10^3$	$1,41 \cdot 10^3$
	Ст.отклонение	$4,24 \cdot 10^3$	$7,07 \cdot 10^2$	$1,41 \cdot 10^3$	$2,12 \cdot 10^3$	$1,41 \cdot 10^3$
	Коэффициент вариации, %	5,66	1,28	2,15	3,40	4,35
	Ср.отклонение	$2,00 \cdot 10^3$	$3,33 \cdot 10^2$	$6,67 \cdot 10^2$	$1,00 \cdot 10^3$	$6,67 \cdot 10^2$
	Дисперсия выборки	$1,80 \cdot 10^7$	$5,00 \cdot 10^5$	$2,00 \cdot 10^6$	$4,50 \cdot 10^6$	$2,00 \cdot 10^6$
	Левая граница дов. интервала, уровень доверия 97 %	$4,32 \cdot 10^4$	$7,47 \cdot 10^4$	$8,65 \cdot 10^4$	$4,54 \cdot 10^4$	$3,95 \cdot 10^4$
	Правая граница дов.интервала, уровень доверия 97	$6,28 \cdot 10^4$	$8,01 \cdot 10^4$	$9,73 \cdot 10^4$	$5,64 \cdot 10^4$	$5,03 \cdot 10^4$

Таблица 60 - Динамика *Pseudomonas spp.* в содержимом толстого отдела кишечника *O.niloticus* (КОЕ/г)

Группы	Сроки начала исследований от опытов (сут.)					
	Статистические показатели	Фон	7	14	21	30
Контроль здоровые	Повторности	6,10*10 ⁸	6,50*10 ⁸	6,20*10 ⁸	7,20*10 ⁸	7,60*10 ⁸
		5,80*10 ⁸	6,10*10 ⁸	6,50*10 ⁸	6,80*10 ⁸	6,80*10 ⁸
		6,40*10 ⁸	6,70*10 ⁸	6,90*10 ⁸	7,10*10 ⁸	7,20*10 ⁸
	Ср.значение	6,10*10⁸	6,43*10⁸	6,53*10⁸	7,03*10⁸	7,20*10⁸
	Ошибка среднего	2,12*10⁷	2,16*10⁷	2,48*10⁷	1,47*10⁷	2,83*10⁷
	Ст.отклонение	3,00*10 ⁷	3,06*10 ⁷	3,51*10 ⁷	2,08*10 ⁷	4,00*10 ⁷
	Коэффициент вариации, %	4,92	4,75	5,38	2,96	5,56
	Ср.отклонение	1,50*10 ⁷	1,67*10 ⁷	1,83*10 ⁷	1,17*10 ⁷	2,00*10 ⁷
	Дисперсия Выборки	9,00*10 ¹⁴	9,33*10 ¹⁴	1,23*10 ¹⁵	4,33*10 ¹⁴	1,60*10 ¹⁵
	Левая граница дов. интервала, уровень доверия 97 %	5,12*10 ⁸	5,44*10 ⁸	5,39*10 ⁸	6,36*10 ⁸	5,90*10 ⁸
	Правая граница дов.интервала, уровень доверия 97	7,08*10 ⁸	7,39*10 ⁸	7,37*10 ⁸	7,49*10 ⁸	7,82*10 ⁸
Контроль зараженные <i>Candida albicans</i> (2)	Повторности	1,02*10 ⁹	1,29*10 ⁹	1,47*10 ⁹	1,65*10 ⁹	2,18*10 ⁹
		1,07*10 ⁹	1,31*10 ⁹	1,50*10 ⁹	1,69*10 ⁹	2,12*10 ⁹
		1,09*10 ⁹	1,27*10 ⁹	1,47*10 ⁹	1,64*10 ⁹	2,15*10 ⁹
	Ср.значение	1,06*10⁹	1,29*10⁹	1,48*10⁹	1,66*10⁹	2,15*10⁹

	Ошибка среднего	2,55*10⁷	1,41*10⁷	1,22*10⁷	1,87 *10⁷	2,12*10⁷
	Ст.отклонение	3,61 *10 ⁷	2,00*10 ⁷	1,73*10 ⁷	2,65*10 ⁷	3,00*10 ⁷
	Коэффициент вариации, %	3,40	1,55	1,17	1,59	1,40
	Ср.отклонение	2,00*10 ⁷	1,00*10 ⁷	1,00*10 ⁷	1,50*10 ⁷	1,50*10 ⁷
	Дисперсия выборки	1,30*10 ¹⁵	4,00*10 ¹⁴	3,00*10 ¹⁴	7,00*10 ¹⁴	9,00*10 ¹⁴
	Левая граница дов. интервала, уровень доверия 97 %	9,43*10 ⁸	1,22*10 ⁹	1,42*10 ⁹	1,57*10 ⁹	2,05*10 ⁹
	Правая граница дов.интервала, уровень доверия 97	1,12*10 ⁹	1,36*10 ⁹	1,53*10 ⁹	1,75*10 ⁹	2,20*10 ⁹
Зараженные <i>Candida albicans</i> +прополис 0,5 мл/л (3)	Повторности	1,10*10 ⁹	9,80*10 ⁸	7,40*10 ⁸	6,40*10 ⁸	4,90*10 ⁸
		1,15*10 ⁹	9,30*10 ⁸	7,60*10 ⁸	6,30*10 ⁸	5,20*10 ⁸
		1,17*10 ⁹	9,10*10 ⁸	7,80*10 ⁸	5,90*10 ⁸	4,90*10 ⁸
	Ср.значение	1,14*10⁹	9,40*10⁸	7,60*10⁸	6,20*10⁸	5,00*10⁸
	Ошибка среднего	2,55*10⁷	2,55*10⁷	1,41 *10⁷	1,87*10⁷	1,22*10⁷
	Ст.отклонение	3,61 *10 ⁷	3,61 *10 ⁷	2,00*10 ⁷	2,65*10 ⁷	1,73*10 ⁷
	Коэффициент вариации, %	3,16	3,84	2,63	4,27	3,46
	Ср.отклонение	2,00*10 ⁷	2,00*10 ⁷	1,00*10 ⁷	1,50*10 ⁷	1,00*10 ⁷
	Дисперсия выборки	1,30*10 ¹⁵	1,30*10 ¹⁵	4,00*10 ¹⁴	7,00*10 ¹⁴	3,00*10 ¹⁴
	Левая граница дов. интервала, уровень доверия 97 %	1,02*10 ⁹	8,23*10 ⁸	6,95*10 ⁸	5,34*10 ⁸	4,44*10 ⁸

	Правая граница дов.интервала, уровень доверия 97	1,20*10 ⁹	9,76*10 ⁸	8,04*10 ⁸	6,81*10 ⁸	5,53*10 ⁸
Зараженные <i>Candida albicans</i> +метиленовый голубой 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (4)	Повторности	1,12*10 ⁹	7,60*10 ⁸	7,10*10 ⁸	5,70*10 ⁸	4,10*10 ⁸
		1,09*10 ⁹	8,00*10 ⁸	7,60*10 ⁸	6,40*10 ⁸	4,40*10 ⁸
		1,06*10 ⁹	7,80*10 ⁸	6,90*10 ⁸	5,90*10 ⁸	4,10*10 ⁸
	Ср.значение	1,09*10⁹	7,80*10⁸	7,20*10⁸	6,00*10⁸	4,20*10⁸
	Ошибка среднего	2,12*10⁷	1,41*10⁷	2,55*10⁷	2,55*10⁷	1,22*10⁷
	Ст.отклонение	3,00*10 ⁷	2,00*10 ⁷	3,61*10 ⁷	3,61*10 ⁷	1,73*10 ⁷
	Коэффициент вариации, %	2,75	2,56	5,01	6,01	4,12
	Ср.отклонение	1,50*10 ⁷	1,00*10 ⁷	2,00*10 ⁷	2,00*10 ⁷	1,00*10 ⁷
	Дисперсия выборки	9,00*10 ¹⁴	4,00*10 ¹⁴	1,30*10 ¹⁵	1,30*10 ¹⁵	3,00*10 ¹⁴
	Левая граница дов. интервала, уровень доверия 97 %	9,92*10 ⁸	7,15*10 ⁸	6,03*10 ⁸	4,83*10 ⁸	3,64*10 ⁸
	Правая граница дов.интервала, уровень доверия 97	1,14*10 ⁹	8,24*10 ⁸	8,38*10 ⁸	6,96*10 ⁸	4,73*10 ⁸
Зараженные <i>Candida albicans</i> +профлавин ацетат 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (5)	Повторности	1,09*10 ⁹	1,01*10 ⁹	9,60*10 ⁸	8,00*10 ⁸	8,50*10 ⁸
		1,12*10 ⁹	1,00*10 ⁹	9,90*10 ⁸	8,30*10 ⁸	8,70*10 ⁸
		1,09*10 ⁹	9,90*10 ⁸	9,60*10 ⁸	8,90*10 ⁸	8,90*10 ⁸
	Ср.значение	1,10*10⁹	1,00*10⁹	9,70*10⁸	8,40*10⁸	8,70*10⁸
	Ошибка среднего	1,22*10⁷	7,07*10⁶	1,22*10⁷	3,24*10⁷	1,41*10⁷
	Ст.отклонение	1,73*10 ⁷	1,00*10 ⁷	1,73*10 ⁷	4,58*10 ⁷	2,00*10 ⁷

	Коэффициент вариации, %	1,57	1,00	1,79	5,46	2,30
	Ср.отклонение	$1,00 \cdot 10^7$	$5,00 \cdot 10^6$	$1,00 \cdot 10^7$	$2,50 \cdot 10^7$	$1,00 \cdot 10^7$
	Дисперсия выборки	$3,00 \cdot 10^{14}$	$1,00 \cdot 10^{14}$	$3,00 \cdot 10^{14}$	$2,10 \cdot 10^{15}$	$4,00 \cdot 10^{14}$
	Левая граница дов. интервала, уровень доверия 97 %	$1,04 \cdot 10^9$	$9,67 \cdot 10^8$	$9,14 \cdot 10^8$	$6,91 \cdot 10^8$	$8,05 \cdot 10^8$
	Правая граница дов. интервала, уровень доверия 97	$1,15 \cdot 10^9$	$1,02 \cdot 10^9$	$1,02 \cdot 10^9$	$9,58 \cdot 10^8$	$9,14 \cdot 10^8$
Зараженные <i>Candida albicans</i> +фталоцианин цинка 1,0 мг/л+прополис 0,5 мл/л (6)	Повторности	$1,05 \cdot 10^9$	$1,04 \cdot 10^9$	$8,90 \cdot 10^8$	$7,70 \cdot 10^8$	$8,50 \cdot 10^8$
		$1,07 \cdot 10^9$	$1,08 \cdot 10^9$	$9,20 \cdot 10^8$	$7,90 \cdot 10^8$	$8,40 \cdot 10^8$
		$1,09 \cdot 10^9$	$1,03 \cdot 10^9$	$9,50 \cdot 10^8$	$7,50 \cdot 10^8$	$8,90 \cdot 10^8$
	Ср.значение	$1,08 \cdot 10^9$	$1,06 \cdot 10^9$	$9,35 \cdot 10^8$	$7,70 \cdot 10^8$	$8,65 \cdot 10^8$
	Ошибка среднего	$1,41 \cdot 10^7$	$3,54 \cdot 10^7$	$2,12 \cdot 10^7$	$2,83 \cdot 10^7$	$3,54 \cdot 10^7$
	Ст.отклонение	$1,41 \cdot 10^7$	$3,54 \cdot 10^7$	$2,12 \cdot 10^7$	$2,83 \cdot 10^7$	$3,54 \cdot 10^7$
	Коэффициент вариации, %	1,87	2,52	3,26	2,60	3,08
	Ср.отклонение	$6,67 \cdot 10^6$	$1,67 \cdot 10^7$	$1,00 \cdot 10^7$	$1,33 \cdot 10^7$	$1,67 \cdot 10^7$
	Дисперсия выборки	$2,00 \cdot 10^{14}$	$1,25 \cdot 10^{15}$	$4,50 \cdot 10^{14}$	$8,00 \cdot 10^{14}$	$1,25 \cdot 10^{15}$
	Левая граница дов. интервала, уровень доверия 97 %	$1,00 \cdot 10^9$	$9,64 \cdot 10^8$	$8,22 \cdot 10^8$	$7,05 \cdot 10^8$	$7,74 \cdot 10^8$
	Правая граница дов. интервала, уровень доверия 97	$1,11 \cdot 10^9$	$1,14 \cdot 10^9$	$9,84 \cdot 10^8$	$8,35 \cdot 10^8$	$9,46 \cdot 10^8$