

УДК 615.835.3

**И. А. БЕЛЫХ, С. И. САМОЙЛЕНКО, А. А. ВАРАНКИНА, Н. В. ЛАРИНЦЕВА, И. П. ВЫСЕКАНЦЕВ****ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ЭКЗОГЕННЫХ ВЕЩЕСТВ НА ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ ПРОДУЦЕНТОВ В БИОТЕХНОЛОГИИ**

В данной работе было изучено сочетанное влияние озонида (озонированная среда) и антибиотиков на бактерии *Escherichia coli*, и *Staphylococcus aureus*. В эксперименте использовали антибиотики различных классов (канамицин, эритромицин, бензилпенициллин, цефтриаксон и цефазолин), имеющих разные механизмы повреждающего действия на бактериальные клетки. Интерес к изучению сочетанного влияния озонида и антибиотиков на бактерии основывался на данных литературы и собственных результатах, полученных ранее. Для этой серии экспериментов мы выбрали концентрацию озонида, не вызывающую гибель бактериальных клеток – 0,35–0,57 мг/мл. Концентрация антибиотиков составляла  $10^{-4}$ – $10^{-2}$  г/мл. При инкубировании с озонидом минимальная бактериальная концентрация антибиотиков повышалась, соответственно от  $10^{-3}$  до  $10^{-1}$  г/мл. При изучении сочетанного воздействия антибиотиков и озонида на бактерии, установлено, что озонид частично инактивирует антибиотики, при этом минимальная бактерицидная концентрация антибиотиков повышается в среднем на один порядок.

**Ключевые слова:** озон, озонид, антибиотики, бактерии, микроорганизмы, экзогенные вещества.

**І. А. БЕЛИХ, С. І. САМОЙЛЕНКО, О. О. ВАРАНКИНА, Н. В. ЛАРИНЦЕВА, І. П. ВИСЕКАНЦЕВ**  
**ВПЛИВ ДЕЯКИХ ЕКЗОГЕННИХ СПЛУК НА ПРОЛІФЕРАТИВНУ АКТИВНІСТЬ ПРОДУЦЕНТІВ У БІОТЕХНОЛОГІЇ**

У даній роботі було вивчено сумісний вплив екзогенних речовин (сумісний вплив озоніду та антибіотиків) на бактерії *Escherichia coli* та *Staphylococcus aureus*. В експерименті використовували антибіотики різних класів (канамицин, еритромицин, бензилпеніцилін, цефтриаксон і цефазолін), які мають різні механізми дії, що пошкоджують бактеріальні клітини. Інтерес до вивчення поєднаного впливу озонідів і антибіотиків на бактерії ґрунтувався на даних літератури і власних результатах, одержаних раніше. Для цієї серії експериментів ми вибрали оптимальну концентрацію озоніду, що не викликає загибелі бактеріальних клітин – 0,35–0,57 мг/мл. Збільшення проліферативної активності мікроорганізмів під дією озону можливо використовувати для нарощування їх біомаси та збільшення виходу біологічно-активних речовин. Концентрація антибіотиків становила  $10^{-4}$ – $10^{-2}$  г/мл. При інкубуванні з озонідом мінімальна бактеріальна концентрація антибіотиків підвищувалася, відповідно від  $10^{-3}$  до  $10^{-1}$  г/мл. При вивченні поєднаного впливу антибіотиків і озоніду на бактерії, встановлено, що озонід частково інактивує антибіотики, при цьому мінімальна бактерицидна концентрація антибіотиків підвищується в середньому на один порядок. Інгибуючий вплив озоніду на бактерицидні властивості антибіотиків необхідно враховувати в розробці схем озонування для інактивації патогенних мікроорганізмів, які викликають контамінацію біологічного матеріалу.

**Ключові слова:** озон, озонід, антибіотики, бактерії, мікроорганізми, екзогенні речовини.

**І. А. БЕЛЫХ, С. И. САМОЙЛЕНКО, О. О. ВАРАНКИНА, Н. В. ЛАРИНЦЕВА, И. П. ВЫСЕКАНЦЕВ**  
**INFLUENCE OF SOME EXOGENETIC SUBSTANCES ON PROLIFERATIVE ACTIVITY OF PRODUCERS IN BIOTECHNOLOGY**

The combined influence of ozonide (the ozonized growth medium) and antibiotics on the bacteria of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* was studied in this work. Antibiotics of various classes (kanamycin, erythromycin, benzylpenicillin, ceftriaxone and cefazolin) having different mechanisms of damaging effects on bacterial cells were used in the experiment. Interest in studying the combined effect of ozonide and antibiotics on the bacteria was based on the literature data and own results obtained earlier. The optimal concentration of ozonide (0,35–0,57 мг/мл) which was not causing death of bacterial cells has been chosen for this series of experiments. The increase in the proliferative activity of microorganisms under the ozone influence can be used for biomass increase and biologically active substances producing increase. The concentration of antibiotics was ranged from  $10^{-4}$ – $10^{-2}$  g/ml. When incubated with ozonide, the minimum bacterial concentration of antibiotics was increased, respectively from  $10^{-3}$  to  $10^{-1}$  g/ml. When studying the combined effect of antibiotics and ozonide on the bacteria, it was found that ozonide partially inactivated antibiotics, while the minimum bactericidal concentration of antibiotics increased by an average on one order value. The inhibiting effect of ozonide on the bactericidal properties of antibiotics must be considered in the development of ozonation schemes for the inactivation of pathogenic microorganisms that cause of biological material contamination.

**Key words:** ozone, ozonide, antibiotics, bacteria, microorganisms, exogenetic substances.

**Введение.**

В настоящее время большое внимание уделяется исследованию возможностей применения озона в различных областях биологии, биотехнологии и медицины. На сегодня наибольшее количество исследований посвящено изучению терапевтического эффекта от применения озона при различных патологических состояниях.

Ранее было показано, что озон и продукты озонирования оказывают повреждающее действие на различные виды микроорганизмов – вирусы, бактерии, грибы [1–3]. Однако целый ряд вопросов, таких как механизмы повреждающего действия,

условия, при которых реализуется микробицидный эффект, дозы и время воздействия применительно к различным таксономическим группам микроорганизмов и среды инкубирования изучены крайне мало. Мало исследован механизм стимулирующего действия озона и озонидов на пролиферативные и метаболические процессы в микроорганизмах. Практически не изучено сочетанное влияние озонида и антибиотиков на бактериальные клетки [4, 5].

В связи с вышесказанным целью нашего исследования было изучение сочетанного влияния озонида и антибиотиков различных классов на микроор-

© И. А. Белых, С. И. Самойленко, А. А. Варанкина, Н. В. Ларинцева, И. П. Высеканцев, 2018

ганизмы – продуценты для биотехнологической промышленности.

#### Материалы и методы исследования.

Объектами исследования были культуры бактерий *Escherichia coli* (*E. coli*) штамм *B* и *Staphylococcus aureus* (*St. aureus*) штамм *209* (получены из коллекции Института микробиологии и иммунологии им. И.И. Мечникова Национальной академии медицинских наук Украины). Культура микромицетов *Candida albicans* (*C. albicans*) ATCC 885-653 (штамм получен из коллекции фармацевтической компании «Здоровье»).

*E. coli* – грамтрицательная палочка длиной 0,5–2,0 мкм с закругленными концами, подвижная (перитрих), неспорообразующая, иногда может образовывать капсулу. Эшерихии являются факультативными анаэробами, хорошо растут на простых питательных средах, оптимальное значение pH – 7,2–7,8, а температура – 37 °С. Бактерии очень активны, гидролизуют большинство углеводов до кислот и CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>; белки – до индола и сероводорода; способны восстанавливать нитраты и нитриты. В воде и почве кишечная палочка сохраняет жизнеспособность от нескольких недель до нескольких месяцев, температура 55 °С вызывает гибель бактерии через час, а 60 °С – через 15 минут, также в течение нескольких минут *E. coli* погибает в дезинфицирующих растворах. Иногда способны вызывать заболевание человека – эшерихиоз [6].

*St. aureus* – грамтрицательные бактерии с шаровидной формой клетки, диаметром 0,5–3,5 мкм, делящиеся в разных направлениях, после чего образуют скопления в виде виноградной грозди. Стафилококки неподвижны, неспорообразующие, капсул не образуют, способны трансформироваться в L-формы. Бактерии относятся к факультативным анаэробам, растут на простых питательных средах, оптимум pH – 7,0–7,2. Обладают широким набором ферментов, способны ферментировать различные сахара – глюкозу, лактозу, сахарозу, а также маннит и глицерин; способны восстанавливать нитраты и нитриты, образуют аммиак и сероводород. Бактерии *St. aureus* устойчивы к высушиванию, замораживанию, солнечному свету; нередко обладают множественной резистентностью к антибиотикам. Вызывают воспалительные процессы [6].

*C. albicans* – дрожжеподобные грибы, относящиеся к дейтеромицетам, размножающиеся почкованием и формирующие псевдомицелий. Клетки овальные, округлые, овально-вытянутой формы от 2,0–20,0 мкм в диаметре, нередко способны образовывать бластоспоры и хламидоспоры. Микромицеты рода кандиды растут на плотных и жидких питательных средах с добавлением глюкозы в очень широком диапазоне pH – 2,5–6,5, с оптимумом 5,8–6,5 и температуре 30–37 °С. Основными факторами патогенности у грибов данного рода являются эндотоксины и ферменты. Вызывают кандидозы [6].

Культуры бактерий *E. coli* и *St. aureus* выращивали на мясо-пептонном агаре (МПА) при температуре 37 °С в течение 20–22 часов, культуру *C. albicans* – на скошенном агаре Сабуро в течение 40 часов при температуре 30 °С [7].

Жизнеспособность микроорганизмов оценивали «чашечным методом Коха» по числу микроколоний, сформировавшихся на агаризованных средах [7].

Серийные разведения проводили в физиологическом растворе (9 % NaCl). В качестве экзогенных веществ использовали озониды и антибиотики различных таксономических групп.

#### Методика изучения влияния озонированной питательной среды на кинетику роста и отмирание культуры *E. coli*.

Озон для исследований получали из чистого кислорода на экспериментальной установке, собранной в Институте проблем криобиологии и криомедицины Национальной академии наук Украины (г. Харьков). Концентрацию озона измеряли спектрофотометрическим методом по поглощению света на полосе Хартли (длина волны 255 нм). Данный метод применим как для измерения концентрации озона в газовой фазе, так и в жидкости. Исходный концентрат был идентичен во всех экспериментах.

Культуру бактерии *E. coli* выращивали на агаризованной среде МПА, смывали и переносили в стандартную солевую среду М9 с добавлением глюкозы. Состав среды М9 на 1 л дистиллированной воды: Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 6 г, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 3 г, NH<sub>4</sub>Cl – 1 г. После автоклавирования добавляли: 10 мл 0,01М раствора CaCl<sub>2</sub>, 1 мл 1М раствора MgSO<sub>4</sub>, 5 мл 40 % раствора глюкозы [7]. Параллельно озонировали среду М9 путем барботирования озоном. Концентрация озона в среде составляла 6,3 мкг/мл.

В предварительных экспериментах было установлено, что озонированная среда оказывает бактерицидный эффект – бактерии *E. coli*, инкубированные в ней погибали. В данной работе мы исследовали действие нормированных малых доз озона на микроорганизмы. В связи с этим готовили растворы путем разведения исходной озонированной среды в нативной среде. Конечная концентрация озонированной среды составляла: 0,0013; 0,013; 0,062; 0,012; 0,035; 0,057 мкг/мл. В полученные растворы вносили суспензию бактерий из расчета 1·10<sup>7</sup> клеток на 50 мл раствора озонида. Бактерии культивировали в термостатированной качалке при 37 °С, при вращении платформы со скоростью 100 об/мин. Время культивирования после внесения инокулята составляло 6–8 часов до начала стационарной фазы роста культуры. В процессе культивирования отбирали пробы и строили логарифмические кривые роста периодических культур бактерий по их оптической плотности. Оптическую плотность измеряли на фотоэлектроколориметре [8, 9].

### Методика изучения сочетанного действия озонида и антибиотиков на микроорганизмы.

Минимальную бактерицидную концентрацию (МБК) антибиотиков изучали модифицированным методом серийных разведений [9]. Для этого готовили серийные разведения антибиотиков в физиологическом растворе, затем добавляли озон в концентрации 20 %. Контролем служили пробирки с физиологическим раствором без озонида. Затем в пробирки вносили тест-культуры *E. coli* и *St. aureus* в количестве  $10^6$  кл/мл. Пробы инкубировали в термостате при температуре 37 °С в течение двух часов. После чего из каждой пробирки высевали по 0,2 мл суспензии на чашки Петри с МПА. Чашки инкубировали 20 часов в термостате при той же температуре. По окончании инкубирования учитывали наличие или отсутствие роста колоний бактерий на агаризованной питательной среде.

Статистическую обработку полученных результатов проводили по общепринятым в медико-биологических исследованиях методам. Достоверность расчетов составляла 95 % [10].

#### Результаты и их обсуждение.

#### Влияние озонированной питательной среды на кинетику роста и отмирания культуры *E. coli*.

В первой серии экспериментов изучали влияние озонированной питательной среды на кинетику роста и отмирания культуры *E. coli*. Для озонирования очень малыми концентрациями использовали метод разведений. Опыт заключался в следующем: в буферный солевой раствор, содержащий глюкозу с микроорганизмами, добавляли дозированное количество того же озонированного буферного раствора, не содержащего глюкозы. При инкубировании микроорганизмов в буфере, содержащем растворенный озон и его продукты окисления (озониды) наблюдали более интенсивный рост микроорганизмов, по сравнению с контролем (Рис. 1). Последующее отмирание бактерий в контроле происходило быстрее. Кинетика роста, и количество бактерий зависели от времени конечного разбавления буферного раствора. Также был определен оптимальный разбавления, когда наблюдалось наибольшее стимулирование. Было установлено, что внесение продуктов озонирования в концентрации 0,013–0,062 мкг/мл не влияло на пролиферативные свойства клеток и время роста периодической культуры в лаг-фазе. При увеличении концентрации озонидов до 0,12–0,35 мкг/мл было отмечено стимулирующее действие озонидов ростовой среды на пролиферативные и метаболические свойства бактерий. При культивировании бактерий в присутствии озонидов в данной концентрации лаг-фаза достоверно увеличивалась, по сравнению с контрольной периодической культурой. Затем клетки начинали интенсивно делиться, кривые логарифмической стадии роста имели больший угол наклона, культуры входили в стационарную фазу роста позже контрольной культуры.

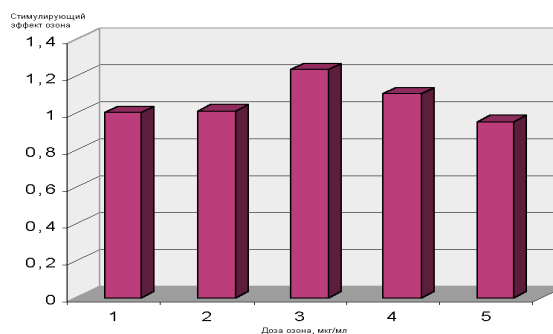


Рис. 1 – Влияние озонида на бактерии к *E. coli*:

1. Контроль (без озона); 2. 0,0013 мкг/мл; 0,013 мкг/мл; 0,062 мкг/мл; 3. 0,35 мкг/мл; 4. 0,12 мкг/мл; 5. 0,57 мкг/мл

Однако концентрация бактерий к моменту перехода в стационарную фазу была достоверно выше, чем в случае контрольной культуры (уровень достоверной вероятности был  $< 0,05$ ) [8].

Увеличение концентрации озонидов в ростовой среде до 0,57 мкг/мл оказывало ингибирующее действие на бактерии. Лаг-фаза увеличивалась, угол кривой уменьшался, концентрация бактерий на момент перехода в стационарную фазу была достоверно ниже контрольной культуры, а время перехода в стационарную фазу увеличивалось [8].

Данные исследований показывают, что малые дозы озонида, не оказывающие бактерицидного действия, также могут взаимодействовать прямо или опосредованно с бактериальными клетками. Нами было впервые показано влияние малых доз на кинетику роста и отмирания периодической культуры *E. coli* в глюкозо-минеральной среде М9 [8]. Установлено, что концентрация продуктов озонирования до 0,062 мкг/мл не влияет на кинетику роста данной периодической культуры. При концентрациях озонидов 0,12–0,35 мкг/мл установлены такие изменения в формировании периодической культуры, как увеличение лаг-фазы, более позднее вхождение в стационарную фазу роста и достоверное повышение концентрации бактерий к моменту перехода в стационарную фазу. Увеличение концентрации озонидов до 0,57 мкг/мл приводило к увеличению лаг-фазы, уменьшению скорости деления и снижению концентрации бактерий на момент перехода в стационарную фазу. Предположительно, в основе выявленного эффекта лежит не прямое действие озона на бактериальные клетки, а опосредованное действие на бактерии продуктов взаимодействия с компонентами питательной среды и продуктами метаболизма бактерий. В случае прямого действия мы имели бы усиливающийся с повышением дозы эффект повышения концентраций бактерий к моменту перехода в стационарную фазу. В наших исследованиях показано, что доза озонидов 0,013–0,062 мкг/мл не влияет на пролиферативные свойства

бактерий. Скорее всего, эти дозы озонидов нейтрализуются компонентами питательной среды и частично самими бактериальными клетками [8].

Таким образом, полученные нами данные показывают, что при действии озонида на микроорганизмы с одной стороны резко уменьшается бактерицидный эффект, а с другой стороны – увеличивается стимулирующее действие на рост микроорганизмов. Стимулирующее действие озонида, возможно, объясняется появлением продуктов реакции при взаимодействии его с компонентами буферного раствора, которые могут определенным образом влиять на кинетику роста и отмирания бактерий. Кинетика гибели бактерий под действием озона зависит от концентрации в озон-воздушной смеси органических примесей и продуктов окисления озона (озонидов).

Учитывая имеющиеся единичные сообщения [11] о выраженном влиянии озонидов на мембраны бактериальных клеток, можно предположить, что установленный в данной серии экспериментов эффект стимуляции пролиферативной активности клеток малыми дозами озонида, помимо воздействия на ростовую среду, носит также и опосредованный характер. При этом происходит активация энергетического статуса клеток путем изменения структурно-функционального состояния цитоплазматических мембран бактерий и активация энергетического метаболизма за счет повышения активности энерго-сопряженных реакций, связанных с АТФазой. Скорее всего, озониды стимулируют выброс протонов АТФазой или за счет модификации самого фермента, либо его микроокружения, т.к. известно, что белки и липиды высокочувствительны к озону [11]. Нельзя исключить и стимуляцию под воздействием озонида синтеза эндогенных предшественников АТФ. Несомненно, реальный механизм стимулирующих эффектов озонида более сложный, но для построения концепции об его развитии нужны экспериментальные данные.

Установленный нами эффект стимулирующего действия определенных концентраций озонида на пролиферативную активность бактериальных клеток может быть использован для разработки технологий повышения продуктивности микроорганизмов и увеличения выхода биологически-активных веществ. Эти данные послужат также для объяснения возможных механизмов репаративного действия озона на ткани микроорганизмов.

**Влияние озона на дрожжеподобные грибы *C. albicans*.** В опытах с дрожжеподобными грибами *C. albicans* обнаружена иная реакция клеток на присутствие озонида в среде в концентрации 0,013 – 0,57 мкг/мл. Клетки грибов оказались более устойчивы к повреждающему действию озонида и продуктам его взаимодействия, по сравнению с бактериальными клетками, что связано с различием в строении клеток, механизмах окислительно-восстановительных реакций и систем репарации бактерий и микромитозов [3].

Учитывая высокую реакционную способность озонида, логично предположить, что плазматическая мембрана клеток *C. albicans*, благодаря химическому составу и плотной упаковке компонентов, представляет собой труднопреодолимый химический барьер для молекул озона [11].

**Сочетанное влияние озонида и антибиотиков на микроорганизмы.** В следующей серии экспериментов было изучено сочетанное влияние озонида и антибиотиков на бактерии *E. coli* и *St. aureus*. В эксперименте использовали антибиотики различных классов (канамицин, эритромицин, бензилпенициллин, цефтриаксон и цефазолин), имеющих разные механизмы повреждающего действия на бактериальные клетки [6, 12].

Например, антибиотик канамицин относящийся к группе аминогликозидов, образуется в природе актиномицетами, является антибиотиком широкого спектра действия, оказывающий бактерицидное влияние на грамположительные и особенно на грамотрицательные бактерии, а также на кислотоустойчивые бактерии (включая, микобактерии туберкулеза) [12]. Эритромицин, относящийся к группе макролидов, является антибактериальным веществом и по спектру антимикробного действия активен в отношении грамположительных и грамотрицательных кокков (стафилококков, стрептококков). В терапевтических дозах эритромицин действует бактериостатически. Устойчивость к антибиотику развивается быстро [12]. Бензилпенициллин является антимикробным веществом, продуцируемым различными видами пенициллиев. Этот антибиотик оказывает бактерицидное действие на микроорганизмы, находящиеся в фазе активного роста. Антибактериальный эффект связан со специфической способностью пенициллинов ингибировать синтез клеточной стенки микроорганизмами [12].

Цефазолин и цефтриаксон относятся к группе цефалоспоринов, проявляют выраженное бактерицидное действие. Механизм их действия связан с повреждением клеточной мембраны бактерий, находящихся в стадии размножения, что обусловлено специфическим ингибированием ферментов клеточных мембран [6, 12].

Интерес к изучению сочетанного влияния озонида и антибиотиков на бактерии основывался на данных литературы и наших собственных результатах, полученных ранее, в прямом бактерицидном и фунгицидном действии достаточно больших доз озона. Для этой серии экспериментов мы выбрали концентрацию озонида, не вызывающую гибель бактериальных клеток [8]. Предположительно, такая доза не должна оказывать выраженного повреждающего действия и на клетки эукариот. Поскольку, по данным литературы [13], озон в любых концентрациях вступает во взаимодействие с клетками, нами было высказано предположение о том, что в результате взаимодействия бактериальных клеток с озонидом,

их чувствительность к бактерицидному действию антибиотиков повысится. С целью проверки этого предположения, которое могло бы иметь практический выход в виде разработки новых биотехнологий, были проведены следующие эксперименты. С помощью модифицированного нами метода серийных разведений бактерии инкубировали в растворах указанных выше антибиотиков с добавлением озонида в концентрации 20 %. После инкубирования и посева образцов из пробирок на чашки Петри с МПА было установлено, что для кишечной палочки в контрольных образцах МБК канамицина, эритромицина, цефтриаксона и

цефазолина составляла, соответственно,  $10^{-4}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-3}$  г/мл (Рис. 2а). В опытных образцах МБК повышалась, соответственно, до  $10^{-2}$ ,  $10^{-1}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-2}$  г/мл (Рис. 2а). Аналогичные результаты были получены и в экспериментах со стафилококком. МБК контрольных образцов для канамицина, эритромицина, бензилпенициллина, цефтриаксона и цефазолина составляла, соответственно,  $10^{-2}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-2}$  г/мл (Рис. 2б). При инкубировании с озонидом МБК антибиотиков повышалась, соответственно до  $10^{-1}$ ,  $10^{-1}$ ,  $10^{-1}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-1}$  г/мл (Рис. 2б).

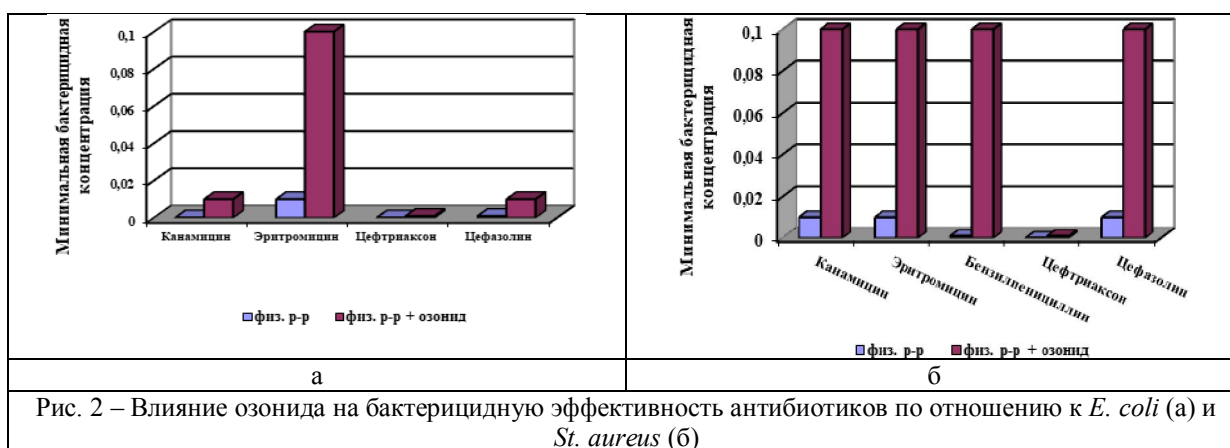


Рис. 2 – Влияние озонида на бактерицидную эффективность антибиотиков по отношению к *E. coli* (а) и *St. aureus* (б)

Представленные результаты свидетельствуют о том, что озонид, в концентрациях нелетальных для бактериальных клеток оказывает инактивирующее действие на антибиотики с различным химическим строением, и имеющие соответственно, различные механизмы бактерицидного действия.

Инактивирующее действие озонида на антибиотики более выражено, чем вероятное взаимодействие с клеточными структурами, которое могло бы повысить чувствительность бактерий к антибиотикам. В результате МБК антибиотиков в присутствии озонида не снижалась, а повышалась в среднем в 10 раз. Механизмы инактивирующего действия озонида на антибиотики требуют отдельных исследований с использованием физико-химических методов анализа. По-видимому, озонид и продукты взаимодействия с ним не повреждают специфическую мишень в химической структуре антибиотиков, т.к. нами исследовались препараты с различным химическим строением. Учитывая различия в химической структуре препаратов, озонид и продукты взаимодействия с ним реагируют в первую очередь, с определенными химическими соединениями, чувствительными к окисляющему действию озонида. В результате этого действия активные центры антибиотиков восстанавливаются и бактерицидное действие антибиотиков снижается. В пользу такой гипотезы свидетельствует ряд работ [4, 5, 14], в которых описывается возможность окислительной инактивации в функциональной

группе ферментов озонидом. Не совсем понятным является то, что в этих экспериментах не выявлено повышение чувствительности бактерий к антибиотикам. Озонид даже в малых дозах, по-видимому, должен вызывать структурную химическую модификацию плазматических мембран в соответствии с концепцией С.В. Конева [15] о структурных перестройках мембран как экспрессном механизме регуляции клеточной активности. По-видимому, комплексный эффект от инактивации активных центров антибиотиков во много раз превышает механизм озонной токсичности на клетки микроорганизмов.

#### Выводы и перспективы дальнейшего развития направления.

1. Периодическая культура *E. coli* в присутствии озонида в количестве 0,12–0,35 мкг/мл входит в стационарную фазу роста при более высоких исходных концентрациях клеток.

2. Концентрация озонида 0,35 мкг/мл вызывает повышение пролиферативной активности бактерий *E. coli*, что может быть использовано в биотехнологии для наращивания биомассы микроорганизмов и дальнейшего получения биологически-активных веществ.

3. Действие озонида зависит от морфо-функциональных особенностей микроорганизмов.

4. При изучении сочетанного воздействия антибиотиков и озонида на бактерии, установлено, что озонид частично инактивирует антибиотики, при этом минимальная бактерицидная концентрация

антибиотиков повышалась в среднем на один порядок.

5. Ингибирующее влияние озонида на бактерицидные свойства антибиотиков необходимо учитывать в разработке схем озонирования для инактивации патогенных микроорганизмов, вызывающих контаминацию биологического материала.

#### Список литературы

1. Achen M., Yousef A. E. Efficacy of ozone against *Escherichia coli* O157:H7 on apples. *J Food Sci.* 2001. Vol. 66, № 9, pp. 1380–1384.
2. Бельх И. А., Высеканцев И. П., Грек А. М., Сакур А. В., Марушенко В. В. Токсическое действие озона на бактерии *Escherichia coli*. *Современные проблемы токсикологии.* 2009. № 1. С. 48–53.
3. Бельх И. А., Высеканцев И. П., Грек А. М., Сакур А. В., Марушенко В. В. Токсическое действие озона на микроорганизмы *Staphylococcus aureus*, дрожжеподобные грибы *Candida albicans* и споровые формы *Bacillus subtilis*. *Современные проблемы токсикологии.* 2010. № 2–3. С. 45–49.
4. Гречко В. Н., Кожухов М. В., Решетников А. С. Влияние газообразного озона на чувствительность раневой микрофлоры к антибактериальным препаратам. *Вестник физиотерапии и курортологии.* 2008. № 5. С. 82–83.
5. Белянин И. И., Мартынова Л. П., Шмелев Е. И. Изменение устойчивости к изониазиду и рифампицину полирезистентного штамма микобактерии туберкулеза после обработки растворенным озоном. *Проблемы туберкулеза.* 2002. № 1. С. 46–48.
6. Дикий И. Л., Холупяк И. Ю., Шевелева Н. Е., Стегний М. Ю. *Микробиология.* Харьков: Прапор, 1999. 417 с.
7. Лабинская В.С. *Микробиология с техникой микробиологических исследований.* М.: Медицина, 1978. 394 с.
8. Бельх И. А., Зинченко В. Д., Высеканцев И. П. Стимулирующее действие малых доз озона на рост микроорганизмов. *Проблемы криобиологии.* № 4. 2004. С. 41–45.
9. Поздеев О.К. *Медицинская микробиология /* Под ред. акад. РАМН Покровского В.И. – М.: ГЭОТАР МЕД., 2001. 768 с.
10. Лакин Г.Ф. *Биометрия.* М.: Высшая школа, 1980. 234 с.
11. Матус В. К., Мартынова М. А., Скоринко Е. В., Мельникова А. М., Конев С. В. *Биологические мембраны.* 1999. Т. 16. С. 50–56.
12. Машковский М. Д. *Лекарственные средства,* 16-е издание. М.: Новая волна, 2012. 1216 с.
13. Разумовский С.Д., Заиков Г.Е. *Озон и его реакции с органическими соединениями.* М.: Наука, 1974. 322 с.
14. De Morini D. M., Abu-Shakra A., Felton C. F. et al. Mutation spectra in salmonella of chlorinated, or ozonated drink-

inh water extracts: comparison to MX. *Environmental and molecular Mutagenesis.* 1995. Vol. 26, № 4, pp. 270–285.

15. Конев С. В. *Структурная лабильность мембран и регуляторные процессы.* Минск: Наука и техника, 1987. 240 с.

#### References (transliterated)

1. Achen M., Yousef A. E. Efficacy of ozone against *Escherichia coli* O157:H7 on apples. *J Food Sci.* 2001. Vol. 66, № 9, pp. 1380–1384.
2. Belykh I. A., Vysekantsev I. P., Grek A.M., Sakun A.V., Maruschenko V.V. Toksicheskoe devstvie ozona na bakterii *Escherichia coli*. *Sovremennyye problemy toksikologii.* 2009. no. 1, pp. 48–53.
3. Bielvykh I. A., Vysekantsev I. P., Grek A. M., Sakun A. V., Maruschenko V. V. Toksicheskoe devstvie ozona na mikroorganizmy *Staphylococcus aureus*, drozhzhopodobnyye griby *Candida albicans* i sporovyye formy *Bacillus subtilis*. *Sovremennyye problemy toksikologii.* 2010. no. 2–3, pp. 45–49.
4. Grechko V. N., Kozhuhov M. V., Reshetnikov A. S. Vliyaniye gazoobraznogo ozona na chuvstvitel'nost' raneyov mikroflory k antibakterial'nym preparatam. *Vestnik fizioterapii i kurortologii.* 2008. no. 5, pp. 82–83.
5. Belvanin I. I., Martynova L. P., Shmelev E. I. Izmeneniye ustoychivosti k izoniazidu i rifampitsinu polirezistentnogo shtamma mikobakterii tuberkuleza posle obrabotki rastvorennym ozonom. *Problemy tuberkuleza.* 2002, no. 1, pp. 46–48.
6. Dikiy I. L., Holupyak I. Yu., Sheveleva N. E., Stegnyy M. Yu. *Mikrobiologiya.* Kharkov: Prapor, 1999. 417 p.
7. Labinskaya V.S. *Mikrobiologiya s tehnikoy mikrobiologicheskikh issledovaniy.* M.: Meditsina, 1978. 394 p.
8. Bielykh I. A., Zinchenko V. D., Vysekantsev I. P. Stimuliruyuschee devstvie malvih doz ozona na rost mikroorganizmov. *Problemy kriobiologii.* № 4. 2004. pp. 41 – 45.
9. Pozdeev O. K. *Meditsinskaya mikrobiologiya* Pod red. akad. RAMN Pokrovskogo V.I. M.: GEOTAR MED., 2001. 768 p.
10. Lakin G. F. *Biometriya.* M.: Vysshaya shkola. 1980. 234 p.
11. Matus V. K., Martynova M. A., Skorinko E. V. *Biologicheskie membrany.* 1999. T. 16. pp. 50–56.
12. Mashkovskiy M. D. *Lekarstvennyye sredstva,* 16-e M.: Novaya volna. 2012. 1216 p.
13. Razumovskiy S. D., Zaikov G. E. *Ozon i ego reaktsii s organicheskimi soedineniyami.* M.: Nauka, 1974. 322 p.
14. De Morini D. M., Abu-Shakra A., Felton C. F. et al. Mutation spectra in salmonella of chlorinated, or ozonated drinkinh water extracts: comparison to MX. *Environmental and molecular Mutagenesis.* 1995. Vol. 26. no. 4. pp. 270–285.
15. Konev S. V. *Strukturnaya labilnost' membran i regulatorynyye protsessy.* Minsk: Nauka i tehnika, 1987. 240 p.

Поступила (received) 23.06.2018

#### Відомості про авторів / Сведения об авторах / About the Authors

**Бельх Ірина Анатоліївна (Бельх Ирина Анатольевна, Bielykh Iryna)** – кандидат біологічних наук, доцент кафедри біотехнології, біофізики та аналітичної хімії, Національний технічний університет «Харківський політехнічний інститут»; м. Харків, Україна; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6637-2232>; e-mail: [ibelvh74@gmail.com](mailto:ibelvh74@gmail.com)

**Самойленко Сергій Іванович (Самойленко Сергей Иванович, Samoilenko Serhii)** – кандидат технічних наук, доцент кафедри біотехнології, біофізики та аналітичної хімії, Національний технічний університет «Харківський політехнічний інститут»; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4742-7303>; e-mail: [samojlenko1955@gmail.com](mailto:samojlenko1955@gmail.com)

**Варанкіна Олександра Олександрівна (Варанкина Александра Александровна, Varankina Oleksandra)** – кандидат технічних наук, доцент кафедри біотехнології, біофізики та аналітичної хімії, Національний технічний університет «Харківський політехнічний інститут»; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6117-7091>; e-mail: [avarankina@gmail.com](mailto:avarankina@gmail.com)

**Ларінцева Надія Вікторівна (Ларинцева Надежда Викторовна, Larintseva Nadia)** – старший викладач кафедри біотехнології, біофізики та аналітичної хімії, Національний технічний університет «Харківський політехнічний інститут»; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5169-2682>; e-mail: [nadyaelen2111@gmail.com](mailto:nadyaelen2111@gmail.com)

**Высеканцев Игорь Павлович (Высеканцев Игорь Павлович, Vysekantsev Igor)** – старший науковий співробітник; Інститут проблем криобіології і криомедицини Національної академії наук України; <https://scholar.google.com.ua>; e-mail: [agi74@meta.ua](mailto:agi74@meta.ua)