

И. А. Белых¹, к.б.н., И. П. Высеканцев², к.м.н.,
А. М. Грек¹, к.б.н., А. В. Сакун¹, В. В. Марущенко¹

ТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ОЗОНА НА БАКТЕРИИ *ESCHERICHIA COLI*

¹ Национальный технический университет "Харьковский
политехнический институт"

² Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН
Украины, г. Харьков

Свойство озона оказывать ингибирующее действие на рост микроорганизмов, вплоть до полной их инактивации, считается одним из основных проявлений биологического действия озона [1 — 3, 7, 9, 21]. Это свойство широко используется на практике при обеззараживании питьевой воды [11, 29], при обработке пищевых продуктов и при санитарной обработке помещений [26, 28].

Для полной гибели микроорганизмов необходимо, чтобы озон в определенной концентрации действовал на микроорганизмы в течение достаточного времени [10]. Для разных видов микроорганизмов токсические дозы озона, необходимые для их инактивации, различны. Говоря о высокой токсической дозе озона для микроорганизмов, мы подразумеваем такую дозу, которая приводит к их полной гибели.

В отличие от деструктивного действия больших доз озона, механизм влияния малых токсических доз озона на биологические системы изучен мало. Обнаружено, что малые дозы озона способствуют стимуляции тех или иных функций в биологических системах. Эти дозы озона на много порядков ниже тех, которые применяют для деструкции патогенных микроорганизмов.

Стимулирующее действие малых доз озона на биологические объекты активно изучается, начиная с 1970-х годов. Этот интерес связан с использованием озона как терапевтического средства [30 — 32]. Было показано, что у теплокровных животных озон в малых дозах способствует активации метаболизма, проявляет иммуномодулирующие свой-

ства [24, 25], обнаруживаются антигипоксический и детоксикационный эффекты [22]. В последние годы установлено, что внутривенное введение растворов озона усиливает потребление глюкозы тканями и органами, уменьшает содержание недоокисленных метаболитов в плазме [32]. Показано, что под действием озона увеличивается активность глутатионовой системы, формирующей внутриклеточную антиоксидантную защиту организма против активации свободно-радикальных реакций [23, 31].

Эффекты действия как больших, так и малых доз озона на биологические системы могут представлять интерес с точки зрения изучения токсических свойств, а также для обоснованного применения его в практике, например, в санитарии, медицине, микробиологических и других направлениях.

Целью данной работы явилось изучение токсического действия озона на бактерии *Escherichia coli* в зависимости от его концентрации.

Материалы и методы

Для исследований использовали культуру бактерий *Escherichia coli*, штамм В, полученный из Российской коллекции промышленных микроорганизмов ГНИИ генетики (Москва).

Выбор микроорганизмов был обусловлен, прежде всего, простой модели и удобством оценки биологического действия озона (характеристика показателей роста).

Культуры бактерий *Escherichia coli* выращивали на мясопептонном агаре (МПА) при температуре +37 °С в течение 20 — 22 часов [12].

Жизнеспособность микроорганизмов оценивали "чашечным методом Коха" по числу макроколоний, сформировавшихся на агаризованных средах [12, 16]. Серийные разведения проводили в физиологическом растворе натрия хлорида.

В качестве суспензионных сред использовали физиологический раствор хлорида натрия, дистиллированную воду и мясопептонный бульон (МПБ).

Стандартную солевую среду М9 с добавлением глюкозы готовили следующим образом: Na₂HPO₄ — 6 г, KH₂PO₄ — 3 г, NH₄Cl — 1 г, воды дистиллированной 1 л. После автоклавирования добавляли 10 мл 0,01М раствора CaCl₂, 1 мл 1М раствора MgSO₄, 5 мл 40% раствора глюкозы; pH = 7,0 [14]. Параллельно озонировали среду М9 путем барботирования озono-кислородной смесью с концентрацией озона 6,8 мг/л в течение 10, 20, 60, 90 минут. Наименьшие концентрации получали путем разведения суспензий с исходной концентрацией 6,8 мг/л до 0,0013; 0,013; 0,062; 0,012; 0,035; 0,057 мг/л. В полученные растворы вносили суспензию бактерий из расчета 107 клеток на 50 мл озонированного раствора. После озонирования микроорганизмы высевали на агаризованные среды для определения жизнеспособности. Контролем служили посевы микроорганизмов до начала озонирования.

В качестве источников озона использовали генераторы озона с рядными трубками барьерного и безбарьерного типов, разработанные в Институте проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины совместно с Институтом плазменной электроники и новых методов ускорения Национального научного центра "Харьковский физико-технический институт".

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.

Озон получали из кислорода производства Харьковского кислородного завода (ГОСТ 5583-78), который поставлялся в стандартных кислородных баллонах под давлением 150 атм.

Результаты и обсуждение

В большинстве случаев озонотехнологии инактивации микроорганизмов используются либо в водных средах, либо в увлажненных воздушных средах [10]. Влияние озона в газовой фазе на гибель микроорганизмов исследовано недостаточно. Также мало исследовано действие высоких доз озона на микроорганизмы в растворах органических и неорганических веществ. В данной работе исследовали кинетику гибели бактерий *Escherichia coli* под действием озона в газовой фазе в различных суспензионных средах и на поверхности миллипоровых фильтров с удаленной влагой.

В первой серии экспериментов исследовали жизнеспособность микроорганизмов, нанесенных на миллипоровые фильтры с последующим обезвоживанием, после выдерживания их в озono-воздушной смеси в течение различного времени при комнатной температуре. Контролем служили образцы микроорганизмов, нанесенных на миллипоровые фильтры, которые инкубировали в воздушной среде.

В табл. 1 представлены результаты

определения жизнеспособности микроорганизмов, выраженные как число колониеобразующих единиц на мл (КОЕ/мл) после инкубирования их в течение 1, 3 и 6 ч в озono-воздушной смеси с концентрацией озона 6,8 мг/л при температуре 20 °С.

Как видно из представленных результатов, после инкубирования в газовой среде с озоном в течение первого часа жизнеспособность микроорганизмов снижается в среднем на порядок. Число КОЕ/мл после инкубирования в озono-воздушной смеси в течение 3 ч снижается с $1,2 \cdot 10^8$ до $7,6 \cdot 10^4$. Через 6 ч инкубации в озono-воздушной смеси бактерии этого рода погибают.

Подобным образом исследовали воздействие озono-воздушной смеси на указанные выше микроорганизмы, высеченные на агаризованные среды. Для бактерий *Escherichia coli* в качестве среды использовали МПБ.

Образцы в чашках Петри инкубировали в озono-воздушной смеси с концентрацией озона 6,8 мг/л в течение 1, 3 и 6 ч при комнатной температуре. После обработки озono-воздушной смесью микрооргани-

змы инкубировали соответственно в течение 24 и 48 ч и подсчитывали число КОЕ/мл. Результаты этих опытов представлены в табл. 2.

Как видно из табл. 2, инкубирование микроорганизмов, высеченных на поверхность агаризованных сред в озono-воздушной смеси в течение 1 ч при указанных выше условиях не влияет на число КОЕ/мл. После инкубирования в течение 3 ч наблюдается достоверное снижение числа КОЕ/мл.

В последующей серии экспериментов исследовали действие обработки озоном указанных выше микроорганизмов в водных средах — в дистиллированной воде, в физиологическом растворе и питательных средах. В качестве питательных сред для бактерий *Escherichia coli* использовали МПБ. Клетки в водных средах подвергали действию озона двумя способами. Первый способ состоял в том, что жидкие среды с высеченными в них микроорганизмами барботировали озono-кислородной смесью с концентрацией озона 6,8 мг/л при температуре 20 °С в течение 10, 20 и 60 мин, после каждого указанного временного интервала отбирали пробы и высевали их для определения количества жизнеспособных микроорганизмов. При втором способе исследования проводили барботирование жидких сред без микроорганизмов озono-кислородной смесью при тех же условиях, что и в первом способе для растворения озона в жидкости. Далее в среды с озоном вносили микроорганизмы и инкубировали их при температуре 20 °С также 10, 20, 60 мин. В процессе инкубации периодически отбирали пробы и высевали для определения количества жизнеспособных клеток микроорганизмов и для подсчета числа КОЕ/мл.

В табл. 3 представлены результаты определения жизнеспособности бактерий *Escherichia coli*, суспендированных в различных жидких средах после обработки их озono-кислородной смесью путем барботирования.

Из приведенных данных видно, что число КОЕ/мл бактерий *E. coli*, суспендированных в дистиллированной воде, снижается после 10-минутного барботирования озono-кислородной смесью с $2,1 \cdot 10^8$ до $4,8 \cdot 10^3$, после 20-минутного барботирования — до $3,2 \cdot 10^2$. Через 60 мин бактерии погибают.

Таблица 1

Жизнеспособность *E. coli*, нанесенных на миллипоровые фильтры, после инкубирования в течение различного времени в озono-воздушной смеси с концентрацией озона 6,8 мг/л при температуре 20 °С

Условия эксперимента	Время инкубирования в озоне, ч	КОЕ/мл, $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	P
Контроль	1	$(4,5 \pm 0,3) \cdot 10^8$	—
Опыт		$(1,2 \pm 0,3) \cdot 10^8$	>0,05
Контроль	3	$(1,2 \pm 0,2) \cdot 10^8$	—
Опыт		$(7,6 \pm 0,3) \cdot 10^4$	<0,05
Контроль	6	$(4,2 \pm 0,4) \cdot 10^7$	—
Опыт		0	—

Таблица 2

Жизнеспособность *E. coli*, высеченных на агаризованные среды, после инкубирования в течение различного времени в озono-воздушной смеси с концентрацией озона 6,8 мг/л при температуре 20 °С

Условия эксперимента	Время инкубирования в озоне, ч	КОЕ/мл, $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	P
Контроль	—	$(4,0 \pm 0,26) \cdot 10^6$	—
Опыт	1	$(4,1 \pm 0,4) \cdot 10^6$	>0,05
	3	$(1,04 \pm 0,3) \cdot 10^5$	<0,05
	6	0	—

**Жизнеспособность *E. coli*, суспендированных в различных жидких средах
после барботирования суспензий в течение различного времени озono-кислородной смесью
с концентрацией озона 6,8 мг/л при температуре 20°C**

Суспензионная среда	Условия эксперимента	Время инкубирования в озоне, ч	КОЕ/мл, $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	P
Дистиллированная вода	Контроль	—	$(2,1 \pm 0,4) \cdot 10^8$	—
	Опыт	10	$(4,8 \pm 0,3) \cdot 10^3$	>0,05
		20	$(3,2 \pm 0,2) \cdot 10^2$	<0,05
		60	0	—
Физ. раствор	Контроль	—	$(2,8 \pm 0,3) \cdot 10^8$	—
	Опыт	10	$(1,0 \pm 0,3) \cdot 10^3$	>0,05
		20	$(16,0 \pm 2)$	<0,05
		60	0	—
МПБ	Контроль	—	$(2,9 \pm 0,4) \cdot 10^8$	—
	Опыт	10	$(3,5 \pm 0,4) \cdot 10^6$	<0,05
		20	$(7,4 \pm 0,3) \cdot 10^5$	<0,05
		60	$(1,6 \pm 0,3) \cdot 10^3$	<0,05

При барботировании озono-кислородной смесью образцов бактерий *E. coli*, суспендированных в физиологическом растворе, бактерицидное действие озона наиболее выражено. Число КОЕ/мл снижается через 10 мин с $2,8 \cdot 10^8$ до $1,0 \cdot 10^3$, через 20 мин — до $1,6 \cdot 10^1$. Через 60 мин барботирования озono-кислородной смесью все бактерии погибают.

Из результатов, представленных в табл. 3, видно, что бактерии *E. coli*, суспендированные в МПБ погибают при барботировании озono-кислородной смесью медленнее, чем в двух предыдущих опытах при тех же условиях барботирования. Число КОЕ/мл в образцах бактерий *E. coli*, суспендированных в МПБ, снижается через 10 мин с $2,9 \cdot 10^8$ до $3,5 \cdot 10^6$, а через 20 мин — до $7,4 \cdot 10^5$. Через 60 мин обработки озонem полной гибели бактерий *Escherichia coli* в среде МПБ не наступает, но снижается число КОЕ/мл с $2,9 \cdot 10^8$ до $1,6 \cdot 10^3$. По нашему мнению, менее эффективное бактерицидное действие озона на бактерии в данном случае связано с тем, что озон активно вступает во взаимодействие с органическими веществами, входящими в состав МПБ, и концентрация свободного озона в системе снижается. Для достижения полной гибели бактерий необходима обработка среды более высокими концентрациями озона или обработка озонem в течение бо-

лее длительного времени. Сопоставляя приведенные в табл. 3 результаты с данными, представленными в табл. 1 и 2, можно сделать вывод, что во всех исследованных нами водных средах темп гибели микроорганизмов более высокий, чем в газообразной озono-воздушной среде при обработке микроорганизмов смесями одинаковой концентрации.

Сравнительная оценка действия озона на жизнеспособность микроорганизмов в различных средах про-

водилась на основании анализа кинетики гибели микроорганизмов. Для такой оценки, использовали измерения чисел КОЕ/мл в описанных экспериментах и строили кинетические кривые гибели микроорганизмов в виде зависимостей

$\lg N_t/N_0 = f(t)$, где N_t и N_0 — число КОЕ/мл после обработки и до обработки озонem, соответственно, и t — время [5, 18] (рис. 1).

Наклон кинетической кривой является мерой скорости гибели

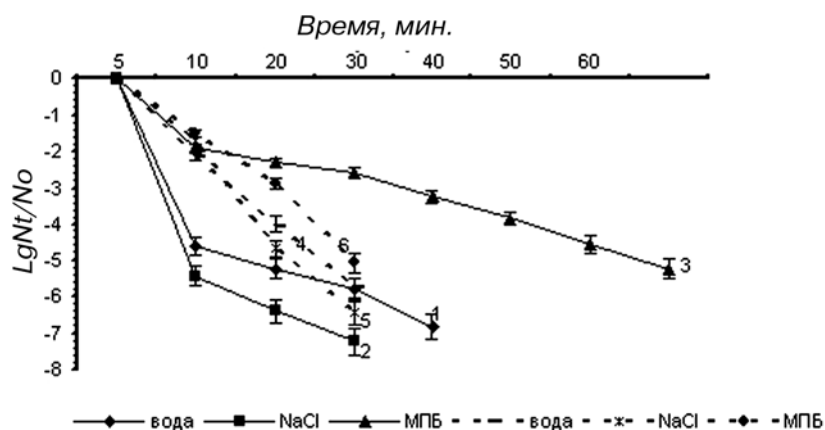


Рис. 1. Кинетические кривые гибели бактерий *Escherichia coli* при обработке озono-кислородной смесью.

Сплошные линии — при барботировании суспензий бактерий в дистиллированной воде (1), в 0,9% растворе хлористого натрия (2) и в МПБ (3) озono-кислородной смесью с концентрацией озона 6,8 мг/л при температуре 20°C. Пунктир — при инкубации микроорганизмов, высеванных в те же среды: дистиллированная вода (4), 0,9% раствор хлористого натрия (5) и МПБ (6), обработанные предварительно в течение 30 мин барботированием озono-кислородной смесью с концентрацией озона 6,8 мг/л при температуре 20°C.

микроорганизмов. Как видно из рис. 1, на кинетической кривой можно выделить две фазы изменения популяции микроорганизмов под воздействием озона. На начальной фазе обработки озоном гибель микроорганизмов не наблюдается. Этот период характеризуется временем накопления дозы растворенного озона и его поглощением микроорганизмами. Далее начинается фаза быстрой гибели по принципу "доза-эффект", причем наклон кинетической кривой изменяется со временем. Процесс гибели бактерий под воздействием озона и продуктов озонирования может иметь несколько механизмов. Популяция бактерий, скорее всего, неоднородна по чувствительности к озону, что приводит к разной скорости гибели. В начале обработки озоном погибает субпопуляция более чувствительных к озону клеток. Далее, когда в образцах микробная биомасса состоит из живых и погибших клеток, часть озона реагирует с погибшими клетками, что уменьшает концентрацию озона, поглощаемую более резистентными к озону клетками. Скорость гибели этой субпопуляции микроорганизмов замедляется. Бактерицидный и фунгицидный эффект растворов, содержащих растворенный озон, становится менее выраженным по сравнению с прямым барботированием озоно-кислородной смесью микробных суспензий в этих растворах, т.е. барботирование озоно-кислородной смесью суспензии бактерий приводит к более быстрой и значительной их гибели по сравнению с инкубацией клеток в озонированной среде (рис. 1). Это можно объяснить сохранением постоянной концентрации озона в первом случае, и уменьшением его концентрации во втором случае, соответственно. Наибольшую скорость гибели микроорганизмов всех видов на всем протяжении эксперимента наблюдали при использовании физиологического раствора в качестве суспензионной среды.

Таким образом, выраженность бактерицидного действия озона в значительной степени зависит от среды, в которой находятся микроорганизмы. Среди исследованных в работе сред, летальное действие газообразного озона на микробные клетки более всего выражено при непосредственном контакте озона с

клетками микроорганизмов, нанесенных на миллипоровые фильтры. Число КОЕ/мл в данных условиях через 3 ч контакта с газообразной озоно-воздушной средой снижается на 4 порядка. Полная гибель микроорганизмов, нанесенных на миллипоровые фильтры, происходит между 3 — 6 ч инкубации в атмосфере, содержащей газообразный озон в концентрации 6,8 мг/л при температуре 20 °С (табл. 1).

При действии озона на микроорганизмы, высеченные на поверхность агаризованных сред, их полная гибель происходит через 6 часов. Однако темп снижения жизнеспособности микроорганизмов в процессе обработки газообразным озоном в данном случае меньше, чем в рассмотренном выше случае с микроорганизмами, нанесенными на миллипоровые фильтры. Об этом свидетельствует меньший наклон кинетических кривых (рис. 1).

По-видимому, озон вступает во взаимодействие с компонентами питательных сред, содержащих различные органические макромолекулы (белки, аминокислоты, углеводы), а также агар-агар в коллоидном состоянии и соли. В результате концентрация озона, контактировавшего с микробными клетками, существенно снижается. Нельзя исключить и образование вокруг микробных клеток своеобразных защитных зон из компонентов ростовых сред, контактирующих с поверхностью микробных клеток. На возможность существования такого механизма указывают данные [8, 17] о снижении летального действия озона за счет органических соединений.

Гораздо более выраженный эффект инактивации микроорганизмов наблюдался в серии экспериментов, в которых клетки, суспендированные в жидких средах, подвергались интенсивному барботированию озоном. В таких условиях гибель вегетативных форм бактерий *E. coli* наблюдается уже через 10 мин, а полная гибель происходит между 20 — 60 мин барботирования.

В этой серии экспериментов также было установлено, что выраженность летального действия барботирования озоно-кислородной смесью зависит от состава суспензионных сред. Наиболее выраженный летальный эффект наблюдается при барботировании суспензии микро-

организмов в физиологическом растворе. При барботировании суспензий микроорганизмов в дистиллированной воде количество погибших микробных клеток несколько меньше. Это видно из наклона соответствующих кинетических кривых на рис. 1. В МПБ количество КОЕ/мл снижается через 60 мин на 5 порядков, но полной гибели не происходит. По-видимому, в этих условиях белки, аминокислоты, углеводы и другие соединения, входящие в состав МПБ, ослабляют повреждающее действие озона путем химических реакций с озоном или препятствуя контакту озона с поверхностью микробных клеток.

Полученные результаты о микробицидном действии озона показывают, что время полной инактивации исследованных микроорганизмов при использовании озоно-воздушной смеси с концентрацией озона 6,8 мг/л при температуре 20 °С составляет 6 ч. Для сравнения: время холодной стерилизации медицинского инструментария при помощи фосгена в установке 5XL и 8XL производства фирмы Steri Vac при температуре 37 °С составляет 7,5 ч [19]. В методе холодной стерилизации с помощью озона время полной инактивации микроорганизмов может быть уменьшено за счет использования более высоких концентраций озона. При этом преимущество озона состоит в том, что он является более безопасным агентом, чем другие газы, используемые для холодной стерилизации медицинского оборудования. Это позволяет рекомендовать озон для разработки технологий дезинфекции и стерилизации криобиологического и медицинского оборудования и др.

При воздействии малых доз озона на *E. coli* впервые экспериментально был установлен эффект стимуляции роста бактерий озоном и показано, что этот эффект носит дозовый характер.

Малые дозы озона, вызывающие эффекты стимуляции биологических систем, на много порядков ниже тех доз, которые использовались в описанных выше исследованиях деструктивного действия озона на микроорганизмы.

На рис. 2 показаны кинетические кривые роста бактерий *E. coli* при добавлении в ростовую среду различных доз озона. Концентра-

ции озона указаны в расчете на единицу объема ростовой среды.

Установлено, что при малых дозах озона (0,062 мг/л и меньше) кинетические кривые роста бактерий в пределах погрешности эксперимента не отличаются от кинетической кривой контрольного образца бактерий, необработанных озоном. Эффект стимуляции роста бактерий, максимально выраженный в стационарной фазе роста, наблюдается при дозах озона 0,12 и 0,35 мг/л. Доза озона 0,57 мг/л вызывает ингибирование роста бактерий [4, 5, 15].

На основании данных, представленных на рис. 2, был проведен расчет величины эффекта действия разных доз озона на рост бактерий *E. coli* в логарифмической фазе роста. Полученные результаты представлены на рис. 3.

Видно, что при дозе 0,12 и 0,35 мг/л озона в ростовой среде наблюдается увеличение количества бактерий в среде в логарифмической фазе роста. Величина эффекта стимуляции составляет 20 — 22%. Максимально стимулирующее действие на рост бактерий оказывает доза

озона 0,35 мг/л. При дозе 0,57 мг/л наблюдается эффект угнетения роста клеток.

Этот эффект, вероятно, можно объяснить следующим образом. Известно, что в аэробных условиях *E. coli* хорошо растут на обычных питательных средах, азотистые компоненты которых (аминокислоты и пептиды) обеспечивают их окисляемыми субстратами [18, 20]. Возможно, при оптимальном содержании растворенного озона в среде инкубации увеличивается число окисляемых субстратов для дыхательного метаболизма *E. coli*, что в конечном итоге приводит к увеличению роста бактерий.

С другой стороны, возможно и непосредственное действие озона, по аналогии с анестезирующими газами [27] на особые мицеллы *E. coli* с высокой чувствительностью и специфичностью.

Можно предположить, что одним из возможных механизмов стимулирующего действия малых доз озона на рост бактерий в периодических культурах является активирующее действие озона на дыхательную систему бактериальных клеток. Основанием для такой гипотезы явились эксперименты, в которых было установлено, что низкие дозы увеличивают скорость закисления среды клетками, т.е. активируют АТФазу, причем стимуляция выброса протонов АТФазой является результатом O_3 -индуцированной модификации либо самого фермента, либо его микроокружения [13].

Представленные выше данные свидетельствуют о мембранотропной природе действия озона на клетки независимо от его концентрации. По-видимому, действие низких доз озона, способных стимулировать функциональную активность клеток, связано с плазматической мембраной через известные механизмы регуляции метаболизма. Так, например, для дрожжей было установлено, что низкие дозы озона увеличивали скорость закисления среды клетками, т.е. активировали АТФазу. Следовательно, стимуляция выброса протонов АТФазы являлась результатом O_3 -индуцированной модификации либо самого фермента, либо микроокружения. Высокие концентрации озона, наоборот, оказывают токсическое действие на функциональную активность мик-

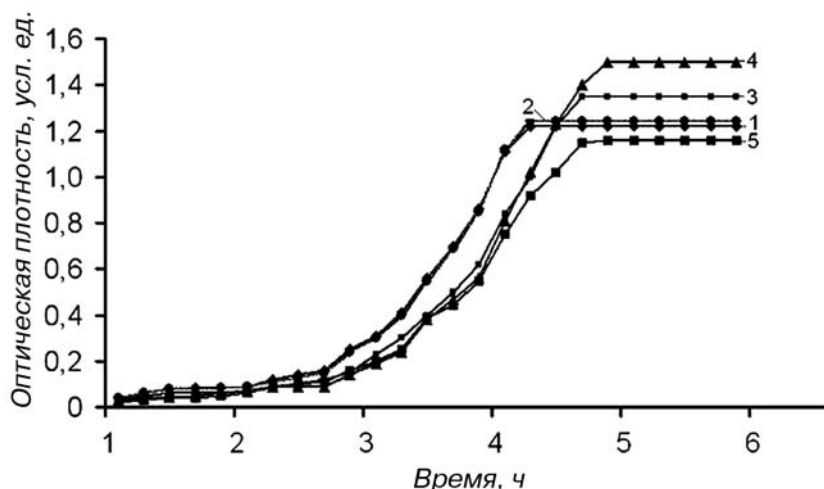


Рис. 2. Кинетические кривые роста бактерий *Escherichia coli* при добавлении в ростовую среду различных доз озона.
1 — контроль (без озона); 2 — 0,0013 мг/л; 0,013 мг/л; 0,062 мг/л; 3 — 0,12 мг/л; 4 — 0,35 мг/л; 5 — 0,57 мг/л.

Различие оптической плотности между кривой 1 и кривыми 3, 4, 5 достоверны, между кривой 1 и кривой 2 недостоверно.

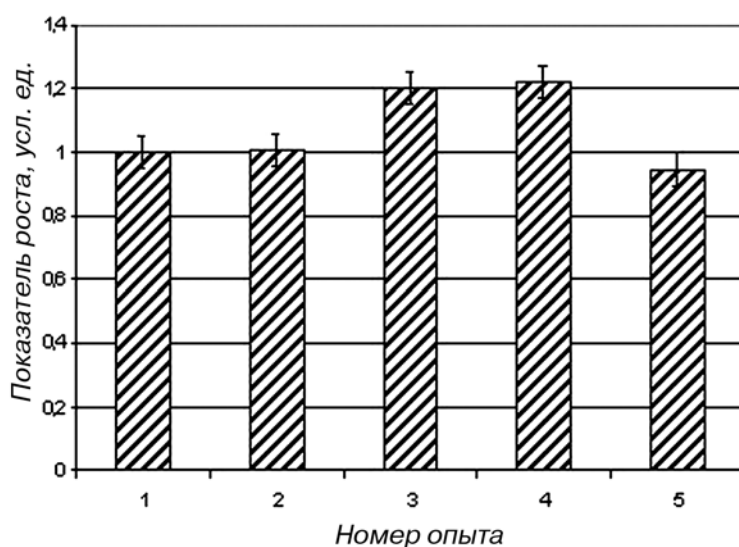


Рис. 3. Показатели роста бактерий *Escherichia coli* в ростовой среде без добавления озона (1, контроль) и в присутствии различных доз озона (мг/л): 2 — 0,0013; 0,013 и 0,062; 3 — 0,12; 4 — 0,35; 5 — 0,57.

роорганизмов, приводя их к гибели.

Помимо определенного теоретического интереса, полученные результаты могут быть применены на

практике и использоваться в двух направлениях: для стерилизации помещений, медицинского оборудования, инструментария и в био-

технологии с целью интенсификации выращивания бактериальной биомассы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абубакирова А. М., Федорова Т. А., Фотеева Т. С. и др. Применение медицинского озона в клинике акушерства и гинекологии // Акушерство и гинекология. — 2002. — № 1. — С. 54 — 57.
2. Андоус В. Н. Эффективность озона против микроорганизмов на тестповерхностях / Эколого-эпидемиологический надзор за природно-очаговыми инфекциями в Северном Прикаспии. Сб. науч. трудов. — Астрахань, 1996. — С. 154.
3. Ансатаров Э. А., Жамалов С. А., Алимжанов А. К. Озонотерапия хирургических инфекций / Актуальные вопросы хирургической инфекции. Матер. науч.-практ. конф. — Семипалатинск, 1991. — С. 16 — 17.
4. Бельх И. А., Висеканцев И. П., Зинченко В. Д., Казанжан С. В. Влияние озонированной питательной среды на кинетику роста и отмирания культуры *Escherichia coli* // Збірник наукових робіт III Української науково-практичної конференції з міжнародною участю "Місцеве та парентеральне використання озонотерапії в медицині". — Харків, 2003. — С. 42.
5. Бельх И. А. Влияние озонированных сред инкубирования и культивирования на кинетику роста и отмирания периодической культуры *Escherichia coli* // Актуальные проблемы медицины и биологии. — 2004. — № 1. — С. 397 — 402.
6. Бельх И. А., Зинченко В. Д., Висеканцев И. П. Стимулирующее действие малых доз озона на рост микроорганизмов // Проблемы криобиологии. — 2004. — № 4. — С. 41 — 45.
7. Васильев И. Т., Марков И. Н., Мумладзе Р. Б. Антибактериальное и иммунокоррегирующее действие озона при перитоните // Вестник хирургии. — 1995. — №3. — С. 56 — 60.
8. Емельянова Г. Н., Страхов Б. В. К вопросу о кинетике и механизме некоторых реакций концентрирования озона. / Современные проблемы физической химии. Вопрос о кинетике химических реакций. М.: МГУ, 1968. — С. 149 — 172.
9. Закладной Г. А., Сауд Емад Ф. Мохаммад, Когтева Е. Ф. Биологическая активность озона в отношении вредителей зерна — рисового долгоносика и амбарного долгоносика // Хранение и переработка сельхозсырья. — 2003. — № 4. — С. 59 — 61.
10. Кожин В. Ф. Очистка питьевой и технической воды. — М.: Стройиздат, 1971. — 301 с.
11. Кульский Л. А. Теоретические основы и технология кондиционирования воды. — К.: Наук. думка, 1971. — 642 с.
12. Лабинская В. С. Микробиология с техникой микробиологических исследований. — М.: Медицина, 1978. — 394 с.
13. Матус В. К., Мартынова М. А., Скоринко Е. В. и др. // Биологические мембраны. — 1999. — Т. 16. — С. 50 — 56.
14. Миллер Дж. Эксперименты в молекулярной генетике. — М.: Мир, 1976. — 436 с.
15. Пат. України № 8660 / Спосіб підвищення проліферативної активності мікроорганізмів. Грищенко В. І., Висеканцев І. П., Зінченко В. Д., Бельх І. А., Мусіна І. А. — Опубл. 15.08.2005. Бюл. № 8.
16. Поздеев О. К. Медицинская микробиология / Под ред. В. И. Покровского. — М.: ГЭОТАР МЕД, 2001. — 768 с.
17. Разумовский С. Д., Заиков Г. Е. Озон и его реакции с органическими соединениями. — М.: Наука, 1974. — 322 с.
18. Стейниер Р., Эдельберг Э., Ингрэм Дж. Мир микробов. — М.: Мир, 1979. — 486 с.
19. Стерилизатор/Аэрактор 3МТМ Стери-Вак (Steri-Vac™) Модели 5XL и 8XL. Рекламный проспект фирмы Steri-Vac, США, 2004. — 2 с.
20. Шлегель Г. Общая микробиология. — М.: Мир, 1987. — 567 с.
21. Achen M., Yousef A. E. Efficacy of ozone against *Escherichia coli* 0157:H7 on apples // J. Food Sci. — 2001. — V. 66, № 9. — P. 1380 — 1384.
22. Bocci V. Ozone as bioregulator. Pharmacology and toxicology of ozonotherapy today. // J. Biol. Regulators and Homeostatic Agents. 1997. — V. 10, N 2/3. — P. 31 — 53.
23. Chow C. K., Ploppe C., Chia M. Dietary vitamin E and pulmonary and morphological alteration of rats exposed to 0.1 ppm ozone // Environmental Res. 1981. — V. 24. — P. 315 — 324.
24. Fahmy Z. Immunological effect of ozone in rheumatic diseases / Ozone in Medicine. Proceedings Eleventh World Congress. San Francisco, 1993. — P. 3 — 22.
25. Fahmy Z. Ozon-Sauerstoff-Therapie in der Rheumatologie // Ozo Nachrichten. 1982. — N 1. — P. 56.
26. Gracham D. V. Use of ozone for food processing // Food Technology. — 1977. — V. 51, N 6. — P. 72 — 75.
27. Hamelin C., Chung Y. S. Optimal conditions for mutagenesis by ozone in *Escherichia coli* K12 // Mutat. Res. — 1974. — V. 24, N 3. — P. 271 — 279.
28. Kirn J.-G., Yousef A. E., Dave S. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods // J. Food Protection. — 1999. — V. 62, N 9. — P. 1071 — 1080.
29. Langlais B., Reckhow D., Brink D. Ozone in water treatment and engineering. NY: Lewis Publ. Chelsea, 1991. — 655 p.
30. Rokitansky O. Die Ozon-Therapie bei peripheren arteriellen Durchblutungsstörungen // Dr. Med. 1977. — N 4. — P. 12.
31. Rokitansky O. Klinik und Biochemie der Ozonotherapie // Hospitalis. 1982. — N 52. — P. 711.
32. Viebahn-Haensler R. The use of ozone in medicine. Heidelberg: K.F. Haug Publishers, 1999. — P. 17 — 20.

І. А. Бєлєх, І. П. Висєканцєв, А. М. Грєк,
О. В. Сакун, В. В. Марущєнко

ТОКСИЧНА ДІЯ ОЗОНУ НА БАКТЕРІЇ *ESCHERICHIA COLI*

Культивування бактерій *Escherichia coli* в озонованому середовищі М9 при дозах озону 0,12 — 0,35 мг/л призводить до росту швидкості поділу бактерій у другій половині логарифмічної фази і до виходу в стаціонарну фазу росту при більш високій концентрації бактерій у порівнянні з контролем.

I. A. Belykh, I. P. Vysekancev, A. M. Grek,
A. V. Sakun, V. V. Maruschenko

THE TOXIC ACTION OF OZONE ON BACTERIUM *ESCHERICHIA COLI*

The cultivation of bacterias *Escherichia coli* in ozonized medium M9 at a dose of ozone of 0,12 — 0,35 mg/l results in growth of a velocity of division of bacterias in the second half of logarithmic phase and entrance in to a fixed phase at higher concentration of bacterias in comparison with control.