

Мерзлякова Юлия Алексеевна

магистрант

Григорьян Леонтий Рустемович

канд. физ.-мат. наук, доцент

Гордин Максим Иванович

старший преподаватель

Тяжолова Екатерина Валерьевна

преподаватель

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет»

г. Краснодар, Краснодарский край

DOI 10.31483/r-167392

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ОЗОНИРОВАННОЙ ВОДЫ НА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ОБЪЕКТЫ

Аннотация: в статье представлены результаты действия озоносодержащей воды на микроорганизмы. Метод исследования позволяет выявлять дезинфицирующие свойства озонированной воды. Представлены результаты влияния озона в водной среде на разрушение клеточных структур микроорганизмов и инактивацию вирусных частиц.

Ключевые слова: озонированная вода, неинвазивная дезинфекция, чаши Петри, инактивация микроорганизмов.

Современное развитие биотехнических систем в Российской Федерации характеризуется повышенным интересом к методам неинвазивной дезинфекции и антимикробной обработки, основанным на применении активных форм кислорода. Технологии озонирования водных сред занимают особое место в структуре медицинских и санитарно-гигиенических процедур благодаря выраженному бактерицидному, вирулицидному и спороцидному действию.

Актуальность исследования влияния озонированной воды на микробиологические объекты обусловлена необходимостью совершенствования биотехнических систем дезинфекции в условиях роста антибиотикорезистентности мик-

роорганизмов и ужесточении санитарно-эпидемиологических требований. Применение озонированных сред позволяет минимизировать использование химических реагентов, сократить сроки обработки и обеспечить экологическую безопасность процесса.

Для проведения опыта по исследованию влияния озонированной воды на микробиологические объекты с целью выявления ее дезинфицирующего действия в чашки Петри заливался раствор на основе картофельного отвара, дополненный сахаром (источник углеводов для микроорганизмов) и агаром (желирующий агент). Данная среда является полусинтетической, богатой для роста широкого спектра бактерий, микроэлементам и крахмалом, что делает ее пригодной для роста широкого спектра бактерий, включая факультативную и аэробную микрофлору. После разлива среды по чашкам Петри и ее застывания, чашки выдерживались под ультрафиолетовой лампой. Целью этого этапа является поверхностная стерилизация среды и уничтожение возможных контаминантов, попавших при разливе. УФ-облучение не проникает глубоко в толщу агара, но достаточно эффективно для обеззараживания поверхности, что важно для последующего равномерного роста колоний только от нанесенного материала [1].

В качестве микробной нагрузки были использованы смывы с поверхности медицинских изделий после операции. Эти смывы содержат клинически значимую микрофлору: остатки биологических жидкостей, патогенные и условно-патогенные бактерии, попавшие на инструменты во время вмешательства. Взятые смывы помещались в физиологический раствор (0,9% NaCl), который сохраняет жизнеспособность микробов, не оказывая на них бактерицидного действия. Части образца, кратные ему по объему (аликвоты) полученных смывов погружались в воду с содержанием озона 1,2 мг/л с разной временной экспозицией:

- 30 секунд;
- 60 секунд;
- 120 секунд;

- 180 секунд;
- 240 секунд;
- 300 секунд.

Концентрация озона 1,2 мг/л является высокой – значительно превышает остаточные концентрации для воды, которую используют для лечения (0,3–0,5 мг/л). Такой уровень обеспечивает мощное окислительное действие на клеточные стенки бактерий, вирусные капсиды и споры.

После каждой экспозиции из обработанного озонированной водой смыва делали мазки на поверхность питательной среды в чашках Петри. Один образец со смывами без экспозиции озонированной водой был нанесен на чашку Петри для выявления наличия микроорганизмов и дальнейшего сравнения с другими образцами. Важное условие: подселение происходило в камере с небольшим содержанием озона. Это значит, что в атмосфере посевной камеры присутствует низкая концентрация O_3 для предотвращения вторичного обсеменения из воздуха. Учитывается, что выбранный способ может оказывать дополнительное слабое бактерицидное действие в процессе посева, что следует учитывать как фактор, сработавший одинаково для всех образцов. Чашки Петри после посева инкубируются в термостате при 36,5 °С в течение также 72 часов. Затем подсчитывается количество выросших колоний (КОЕ/мл). Сравняется рост в зависимости от времени экспозиции в озонированной воде [2].

Для проверки полученных результатов в ходе исследования чашки Петри прошли лабораторные исследования на базе лаборатории.

В изначальном образце типичная концентрация колоний на медицинских изделиях после операции ≈ 1500000 КОЕ/мл.

Использовалась методика КОЕ/мл, где общая формула выглядит следующим образом:

$$\text{КОЕ/мл} = (N \times D) / V \quad (1)$$

где:

N – число колоний в чашке,

D – разведение образца,

V – объем посева в мл.

В изначальном образце типичная концентрация колоний на медицинских изделиях после операции ≈ 1500000 КОЕ/мл. Для удобства подсчетов было принято решение высевать образцы с разведением, чтобы добиться количества колоний в пределах 150 – 200 колоний. Разведение – это степень разбавления исходного смыва стерильным физиологическим раствором перед нанесением на питательную среду (например, разведение 10^{-3} означает, что 1 мл исходного смыва смещали с 999 мл физраствора, отобрали 0,1 мл и высеяли на чашку). Для разного времени экспозиции озонированной водой подбиралось различное разведение при посеве так, чтобы после обработки озоном получить удобное для подсчета количество колоний [3].

Из полученных результатов видно, что дезинфицирующее действие озонированная вода при концентрации 1,2 мг/л оказывает уже через 30 секунд. Наиболее интенсивное снижение микробной нагрузки наблюдается в первые 120 секунд. Далее количество колоний медленнее инактивируется, это связано с наличием устойчивых форм микроорганизмов. Но достигнутые показатели являются достаточными для практической стерилизации медицинских изделий. Для безопасности рекомендованное время экспозиции 20–30 минут.

Таблица 1

Результаты микробиологического исследования озонированной воды
на микробиологические объекты

Время экспозиции, с	Кол-во колоний на чашке после посева	Разведение при посеве	КОЕ/мл (после обработок)	Бактерицидное действие, %
0 (контроль)	164	10^{-5}	$1,64 \cdot 10^8$	0
30	91	10^{-4}	$9,10 \cdot 10^6$	94,45
60	76	10^{-3}	$7,60 \cdot 10^5$	99,54
120	48	10^{-2}	$4,80 \cdot 10^4$	99,97
180	14	1	$1,40 \cdot 10^2$	99,99
240	2	1	$2,00 \cdot 10^1$	99,99
300	1	1	$1,00 \cdot 10^1$	99,99

Список литературы

1. Васильев Е.И. Активные формы кислорода и их роль в инактивации микроорганизмов / Е.И. Васильев // Биомедицинская радиоэлектроника. – 2022. – №3. – С. 78–85.

2. Озонотерапия: медицинские и технические аспекты / под ред. А.Б. Самойлова. – М.: Практическая медицина, 2023. – 440 с.