

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н. Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра микробиологии и физиологии растений

**ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ ВОДНЫХ ФИЛЬТРОВ НА
ОСНОВЕ ПОЛИАЗОЛИДИЛАММОНΙΑ, МОДИФИЦИРОВАННОГО
ГИДРАТ-ИОНАМИ ЙОДА**

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

Студентки 2 курса 241 группы

Направления подготовки 06.04.01 Биология

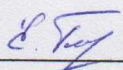
Биологического факультета

Успановой Динары Марзагалеевны

Научный руководитель:

доцент кафедры микробиологии

и физиологии растений, к.б.н


15.06.18 Е. В. Глинская

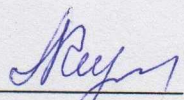
Научный консультант:

начальник вирусологического отделения

микробиологической лаборатории

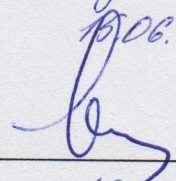
ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии

в Саратовской области»


15.06.18 Л. П. Кириллова

Заведующий кафедрой:

д.б.н., профессор


15.06.18 С. А. Степанов

Саратов 2018

Актуальность темы. Острые кишечные инфекции (ОКИ) являются одной из наиболее распространенных групп инфекционных заболеваний [1, 2]. Поскольку основной путь передачи ОКИ связан с водой, то проблема загрязнения и циркуляции в водной среде возбудителями бактериального и вирусного происхождения является крайне актуальной для многих регионов Российской Федерации [3].

По данным Роспотребнадзора РФ в последние годы в России установлена тенденция роста частоты выявляемости вирусных кишечных инфекций, среди которых лидирующими являются ротавирусная, энтеровирусная инфекции, вирусный гепатит А и др. [3]. Возбудители ОКИ характеризуются высокой устойчивостью к действию факторов внешней среды, поэтому могут проникать в питьевую воду, преодолевая барьеры водоочистных сооружений [2, 4, 5]. Поэтому обеспечение населения России безопасной в эпидемиологическом отношении питьевой водой является одной из приоритетных задач санитарных служб [6].

Сложившаяся ситуация определяет необходимость внедрения новых технологий противовирусной очистки сточных вод. Для этого в настоящее время широкое применение находят фильтрационные технологии [7, 8]. В основе водных фильтров помимо сорбентов необходимо присутствие безопасного биоцидного компонента с широким спектром антимикробной активности. Перспективной в использовании группой химических соединений являются биосовместимые полимеры.

Цель и задачи исследования.

Целью данного исследования явилось изучение противовирусной активности фильтрующих загрузок на основе комплекса ионообменной смолы и биосовместимого полимерного соединения.

Для достижения указанной цели были определены следующие задачи:

1. Изучить противовирусную активность в отношении энтеровирусов фильтрующих загрузок, содержащих различные концентрации полимерного соединения.

2. Проанализировать оценку действия фильтратов на культуру клеток Нер-2 с использованием метода световой и флуоресцентной микроскопии.

3. Провести детекцию нуклеиновых кислот энтеровирусов в составе фильтратов, используя полимеразную цепную реакцию.

Материал и методы исследования.

Работа выполнена на базе микробиологической лаборатории вирусологического отделения в ФБУЗ «Центр Гигиены и Эпидемиологии».

Для проведения исследования был сконструирован биоцидный фильтр на основе ионообменной смолы, в состав которого было введено полимерное соединение – полиазолидинаммоний, модифицированный гидрат-ионами йода (ПААГ-М) (НПО «Константа», г. Саратов). Ранее было установлено, что ПААГ-М характеризуется широким спектром антимикробной активности в отношении стандартных и клинических штаммов условно-патогенных микроорганизмов и относится к IV классу токсичности [68, 69, 70]. Фильтрующие загрузки содержали различные рабочие концентрации ПААГ-М – 0,1%; 0,5 %; 1%.

Входящий в состав фильтрующей загрузки Анионит АВ – 17 – 8 представляет собой нерастворимое в воде высокомолекулярное полимерное соединение трехмерной гелевой и макропористой структуры, содержащий функциональные группы основного характера.

В качестве экспериментальной модели использовали образцы сточных вод, содержащие вирус Коксаки и вирус ЕСНО, относящиеся к семейству *Picornaviridae*. Для их репродукции использовали линию клеток Нер-2.

Культура клеток Нер-2 получена из эпидермальной карциномы человека. Клетки пассировали в условиях лаборатории примерно 240 раз, используя для этого среду ИГЛА (MEM) с добавлением 15 % сыворотки крови телят. На этом пассажном уровне они были представлены в Американский банк культур клеток (АССС) Институтом медицинских исследований и включены в Национальную коллекцию клеток в 1961 г.

Для определения цитопатического действия вируса методом «цветной пробы» культуру клеток Нер-2 рассеивали в культуральные матрасы и выращивали в термостате при 36 °С.

Посевы культивировали на питательной среде ИГЛА (МЕМ), содержащей 90%-ый раствор Эрла в объеме 15 мл и 10%-ую сыворотку крови плода коровы в объеме 1,5 мл, при температуре 36 °С [71].

Образцы сточных вод, содержащие исследуемые вирусы, пропускали через варианты фильтрующих загрузок в объеме 100 мл. Полученными фильтрами заражали культуры клеток Нер-2, находящиеся на матрасах, в объеме 0,4 мл. После этого матрасы помещали в термостат в специальном штативе под углом 5 °. В качестве контроля использовали не зараженную энтеровирусами культуру клеток Нер-2.

Культуры клеток инкубировали в течение 10-14 дней. Оценка цитопатического действия (ЦПД) вируса проводилась ежедневно с использованием микроскопа Olympus IX73 (США).

ЦПД для всех вирусов кишечной группы характеризуется прекращением митозов, клетка временно набухает, затем деформируется, сморщивается, становится более интенсивно окрашиваемой, и погибает округлением клеток с последующим их отделением от внутренней поверхности матраса. В контрольных культурах клеток не должно происходить никаких морфологических изменений. Результат выделения вируса считают отрицательным, если во время всего периода наблюдения в зараженных культурах клеток не выявляют цитопатических изменений.

Контрольные и опытные линии клеток Нер-2 окрашивали красителем CalceinAM (Thermo fisher, USA). В 1 мл питательной среды ИГЛА (МЕМ) на растворе Эрла, содержащую культуру клеток Нер-2 добавляли 10 мкл раствора красителя и инкубировали в течении 30 минут. Окрашенные образцы культуры клеток Нер-2 микроскопировали с использованием световой и флуоресцентной микроскопии. Флуоресценцию наблюдали при длине возбуждения 488 нм, флуоресценции ghb 510 нм.

Для диагностики РНК вирусов в фильтратах был использован метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени, основанный на принципах молекулярной биологии. Основным принцип метода ПЦР – экспоненциальное увеличение количества копий фрагмента исходной ДНК.

Для проведения исследования отбирали по 100 мкл проб фильтратов и контрольных образцов. Выявление РНК энтеровирусов человека (*Human enterovirus*) методом ПЦР с гибридационно - флуоресцентной детекцией включает в себя три этапа: 1) экстракция РНК из исследуемых образцов, 2) объединенный этап обратной транскрипции РНК и амплификации участка кДНК данного микроорганизма и гибридационно - флуоресцентная детекция В завершении проводят интерпретацию результатов.

Экстракция РНК из биологического материала и концентратов воды проводилась в присутствии внутреннего контрольного образца, который позволяет контролировать выполнение процедуры исследования для каждого образца. В качестве отрицательного контроля экстракции использован реактив ОКО. Пробы РНК использовались для проведения реакции обратной транскрипции и амплификации участка кДНК при помощи специфичных к этому участку кДНК праймеров и фермента Taq - полимеразы. В составе реакционной смеси присутствуют флуоресцентно – меченые олигонуклеотидные зонды, которые гибридизуются с комплементарным участком амплифицируемой кДНК – мишени, в результате чего происходит нарастание интенсивности флуоресценции. Это позволяет регистрировать накопление специфического продукта амплификации путем измерения интенсивности флуоресцентного сигнала. Детекция флуоресцентного сигнала осуществляется непосредственно в ходе ПЦР с помощью амплификатора с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени».

При проведении обратной транскрипции и амплификации с детекцией в режиме «реального времени» общий объем реакционной смеси составлял 25 мкл, включая объем пробы РНК – 10 мкл. Компоненты реакционных

смесей смешивались непосредственно перед проведением анализа, согласно расчетной таблице. Было отобрано 5 пробирок с учетом количества исследуемых и контрольных образцов. Для приготовления реакционных смесей в отдельной стерильной пробирке смешали ПЦР-смесь-FL *Enterovirus* / STI, ПЦР-буфер-С, полимеразу (TaqF), а также RT-G-mix-2 и ТМ-Ревертазу. Смеси тщательно перемешивались на вортексе. В отобранные пробирки внесены 15 мкл реакционной смеси. Используя наконечники с фильтрами, в пробирки с реакционной смесью добавлены по 10 мкл РНК-проб, выделенных из исследуемых и контрольных проб этапа экстракции нуклеиновых кислот.

ПЦР проводили с использованием набора реагентов для выявления РНК энтеровирусов человека (*Human enterovirus*) в объектах окружающей среды и биологическом материале методом ПЦР с гибридизационно – флуоресцентной детекцией «АмплиСенс *Enterovirus* – FL» на приборе Rotor - Gene 6000 (Corbett Research. Австралия), запрограммированном для выполнения соответствующей программы амплификации и детекции флуоресцентного сигнала.

Структура и объем работы. Работа изложена на 59 страницах, включает в себя введение, 3 главы, заключение, выводы, список использованных источников. Работа проиллюстрирована 4 таблицами и 7 рисунками. Список использованных источников включает в себя 72 наименования.

Основное содержание работы

В главе «Основная часть» представлены основные возбудители острых кишечных заболеваний, анализ литературных данных о методах обеззараживания воды.

В главе «Результаты исследования» представлены экспериментально полученные данные о противовирусной активности биоцидного компонента исследуемой фильтрующей загрузки методом «цветной пробы, оценке

цитопатического действия энтеровирусов в отношении культуры клеток Нер-2, детекция РНК энтеровирусов в фильтрах сточных вод методом ПЦР.

На первом этапе работы была изучена эффективность обеззараживания образцов сточных вод, содержащих энтеровирусы, с использованием комбинации ионообменной смолы с различными концентрациями полимерного соединения ПААГ-М с применением метода «цветной пробы», который позволяет определить присутствие вируса в культуре клеток за счет блокирования им клеточного метаболизма. Помимо контроля размножения культуры клеток и репродукции вирусов, также использовали фильтрующую загрузку, содержащую только ионообменную смолу без добавления полимерного соединения.

В ходе проведенных исследований было установлено, что при заражении культуры клеток Нер-2 фильтрами сточных вод, содержащими вирусы Коксаки, полученными через фильтрующие загрузки с содержанием ПААГ-М 0,1 % и 0,5 %, цвет питательной среды ИГЛА (МЕМ) не менялся, что свидетельствовало о блокировке клеточного генома и репродукции вирусов. Аналогичные результаты были получены при исследовании фильтратов сточных вод, содержащих вирусы ЕСНО.

Цвет среды, в которой клетки были заражены фильтратом, полученным через фильтрующую загрузку, содержащую 1 %-ый раствор ПААГ-М, изменялся, что свидетельствовало об отсутствии ингибирования размножения культуры клеток Нер-2 вирусами и сохранения ими высокой метаболической активности.

Согласно полученным результатам «цветной пробы» ионообменная смола не ингибировала репродукцию исследуемых энтеровирусов, а также не происходила их задержка, о чем свидетельствовало сохранение цвета среды Нер-2, а, следовательно, репродукция вирусов.

Таким образом, было установлено, что ПААГ-М в концентрации 0,1 % и 0,5 % не оказывает ингибирующего действия в отношении вирусов Коксаки и ЕСНО. Повышение концентрации полимерного соединения в составе

фильтрующих загрузок до 1 % способствовало эффективному ингибированию репродукции исследуемых энтеровирусов.

Поскольку исследованное полимерное соединение относится к IV классу токсичности, т.е. является малоопасным соединением, это подтверждает безопасность его использования при конструировании фильтрующих загрузок. Полученные результаты позволяют рассматривать фильтрующую загрузку с содержанием полимерного соединения ПААГ-М в концентрации 1 % в качестве перспективной для комплексного обеззараживания сточных вод и вод питьевого назначения.

Для подтверждения действия фильтратов на культуру клеток Нер-2 было проведено микроскопическое исследование их монослоя. В ходе окрашивания и последующего микроскопирования исходной культуры клеток Нер-2 было установлено, что их контрольные образцы имели плотный равномерный монослой из вытянутых клеток.

Установлено, что фильтрующие загрузки, содержащие ПААГ-М в концентрации 0,1 % и 0,5 % не оказывали ингибирующего действия на вирусы Коксаки и ЕСНО, поскольку в монослое культуры клеток Нер-2 наблюдались значительные дегенеративные изменения – клетки приобретали округлые очертания. В полях зрения отчетливо отмечались участки деструкции монослоя, что свидетельствовало о наличии вируса в фильтрате.

При исследовании монослоя культуры клеток Нер-2, который был заражен фильтратом, полученным через фильтрующую загрузку, содержащую 1%-ый раствор ПААГ-М, не было установлено дегенерации клеток, а монослой культуры клеток по основным ростовым показателям соответствовал контрольным образцам – клетки имели вытянутую форму, в них отчетливо просматривались крупные ядра.

Анализ результатов ПЦР проводили с помощью программного обеспечения используемого для прибора Rotor-Gene 6000. Проанализированы кривые накопления флуоресцентного сигнала по двум каналам. По каналу

для флуорофора FAM регистрируется сигнал, свидетельствующий о накоплении продукта амплификации фрагмента кДНК ВКО. По каналу для флуорофора JOE регистрируется сигнал, свидетельствующий о накоплении продукта амплификации фрагмента кДНК *Enterovirus*.

Результаты интерпретировались на основании наличия пересечения кривой флуоресценции с установленной на соответствующем уровне пороговой линией, что определяло наличие для данной пробы значения порогового цикла в соответствующей графе в таблице результатов. Граничное значение порогового цикла по каналу для флуорофора FAM равно 38. Граничное значение порогового цикла по каналу для флуорофора JOE также равно 38. Результаты интерпретировались в соответствии с вкладышем к набору реагентов «АмплиСенс *Enterovirus*-FL».

В результате использования метода ПЦР в режиме реального времени, было установлено, что положительная и отрицательная контрольные пробы соответствовали заданным значениям.

Установлено, что пробы фильтрующих загрузок, содержащих ПААГ-М в концентрации 0,1 %, 0,5 % и 1 % не превысили порог граничного значения по каналу для флуорофора FAM и были меньше граничного значения по каналу для флуорофора JOE. Это свидетельствует о наличии в пробе РНК энтеровируса.

Присутствие РНК энтеровирусов в пробах полученных фильтратов, вероятно, связано с тем, что не происходит межмолекулярных взаимодействий вирусных нуклеиновых кислот с компонентами фильтрующих загрузок, однако данное предположение требует дальнейшего исследования.

Таким образом, полученные результаты показали, что при общем противовирусном эффекте фильтрующей загрузки, содержащей 1 %-ый раствор ПААГ-М, РНК энтеровирусов преодолевает барьер сорбционных материалов.

На основании проведенных исследований можно заключить, что

биоцидный фильтр на основе ионообменной смолы и полимерного соединения ПААГ-М в концентрации 1% характеризуется эффективным противовирусным действием в отношении энтеровирусов Коксаки и ЕСНО, что позволяет рекомендовать данную фильтрующую загрузку для комплексного обеззараживания сточных вод, а также вод питьевого назначения.

Выводы

1. Фильтрующая загрузка на основе ионообменной смолы и 1 %-го раствора полимерного соединения – полиазолидинаммония, модифицированного гидрат - ионами йода, проявляет эффективную противовирусную активность в отношении представителей энтеровирусов Коксаки и ЕСНО.

2. Фильтрат сточных вод, полученный через фильтрующую загрузку, содержащую 1 %-ый раствор ПААГ-М, не оказывает цитопатического действия в отношении монослоя культуры клеток Нер-2 с сохранением исходных морфологических характеристик клеток.

3. Фильтраты сточных вод, полученные через фильтрующие загрузки с различными концентрациями ПААГ-М, содержат РНК исследуемых энтеровирусов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Воробьев, А. А. Медицинская и санитарная микробиология / А. А. Воробьев, Ю. С. Кривошеин, В.П. Широбоков. М.: Издательский центр «Академия». 2003. 464 с.
2. Загайнова, А. В. Проблема оценки риска возникновения кишечных инфекций связанных с питьевым водопользованием населения / А. В. Загайнова, Н. Н. Буторина // Сборник Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Окружающая среда и здоровье». 2005. № 5. С. 217 - 219.
3. Семенова, Е. С. Влияние окружающей среды и ее загрязнения на здоровье человека / Е. С. Семенова, С. А. Карпунина, Н. В. Козлова // Вестник научных конференций, 2017. № 6. С. 95 -96.
4. Амвросьева, Т. В. Вирусное загрязнение питьевой воды и его эпидемическая значимость / Т. В. Амвросьева, З. Ф. Богуш // Питьевая вода. 2009. № 6. С. 19 - 23.
5. Сезонный подъем заболеваемости энтеровирусным менингитом в Новгородской области / М. А. Бичурина [и др.] // Инфекция и иммунитет. 2012. Т. 2, № 4. С. 747 - 752.
6. Ахапкина, Е. Н. Действующие нормативные документы в области санитарно - микробиологического контроля качества воды / Е. Н. Ахапкина // Водоснабжение и санитарная техника. 2003. № 1. С. 2 - 7.
7. Малышев, В. В. Мембраны в водоподготовке и очистке сточных вод. Медико - экологическая эффективность мембранных технологий / В. В. Малышев, Е. Е. Каталевский, С. В. Кононова // Научно - практический семинар. 2009. С. 154 - 155.
8. Очистка поверхностных вод с использованием инновационных фильтрующих загрузок комплексного действия / Е. И. Тихомирова [и др.] // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2016. Т. 18, № 2 - 3. С. 812 - 816.

9. Совершенствование контроля качества воды с использованием мембранных технологий и специфических методов детекции / Т. А. Змеева [и др.] // Вестник российской военно - медицинской академии. 2017. № 1. С. 142 – 146.

10. Сергевнин, В. И. Внутригодовая динамика эпидемического процесса острых кишечных инфекций и причины, обуславливающие ее характер / В. И. Сергевнин, Е. Ж. Кузовникова , М. А. Трясолобова // ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е. А. Вагнера» Минздрава России. 2017. Т. 2, № 18. С. 32 – 33.

11. Молекулярная эпидемиология энтеровирусов, вызывающих тяжелые неврологические формы инфекции / Н. В. Поклонская [и др.] // Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии. 2017. № 3. С. 29 – 36.

12. Сточные воды как резервуар возбудителей кишечных вирусных инфекций / А. Е. Недачин [и др.] // Гигиена и санитария. 2015. № 94. С. 37 – 40.

13. Сравнительная оценка методов концентрации кишечных вирусов в сточной воде / В. И. Резник [и др.] // Медицинская экология. 2015. № 34. С. 1 – 4.

14. Клинико - иммунологическая характеристика больных острыми кишечными инфекциями различной этиологии / Н. Ю. Кораблева [и др.] // Инфекционные болезни: Новости. Мнения. Обучение. 2017. № 5. С. 56 – 60.

15. Яковлев, С. А. Инфекционные заболевания как глобальная проблема современности / С. А. Яковлев // Территория науки. 2017. № 1. С. 20 – 24.

16. Малышев, В. В. Антропонозы и вирусный гепатит а / В. В. Малышев, Т. А. Змеева, А. В. Семена // Военно - медицинская академия имени С. М. Кирова. 2017. № 3. С. 53 – 56.

17. Возможные пути распространения ротавирусной инфекции в организованных коллективах / Б. Я. Васильев [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. 1998. № 4. С. 31.
18. Букринская, А. Г. Ротавирусная инфекция / А. Г. Букринская, Н. М. Грачева, В. И. Васильева // Клинический вестник. 1989. С. 223 – 224.
19. Васильев, Б. Я. Острые кишечные заболевания. Ротавирусы и ротавирусная инфекция / Б. Я. Васильев, Р. И. Васильева, Ю. В. Лобзин // Острые кишечные заболевания. 2000. № 6. С. 272.
20. Демина, А. В. Энтеровирусы. Часть 1: история открытия, таксономия, строение генома, эпидемиология / А. В. Демина, Н. А. Маркович, С. В. Нетесов // Сибирский научный медицинский журнал. 2008. № 1. С. 92 - 101.
21. Слободенюк, В. К. Echo и коксаки b - энтеровирусы как возбудители эпидемически значимых и персистентных инфекций / В. К. Слободенюк [и др.] // Екатеринбургский научно - исследовательский институт вирусных инфекций Роспотребнадзора. 2011. № 5. С. 38 - 42.
22. Демина, А. В. Энтеровирусы. Часть 2. Энтеровирусные инфекции: многообразие клинических проявлений / А. В. Демина, С. В. Нетесов // Сибирский научный медицинский журнал. 2009. № 6. С. 116 – 127.
23. Канаева, О. И. Энтеровирусная инфекция: многообразие возбудителей и клинических форм / О. И. Канаева // Инфекция и иммунитет. 2014. Т. 4, № 1, С. 27 – 36.
24. Kunin, C. M. Cellular susceptibility to Enteroviruses / C. M. Kunin // Bacteriol. 1964. Vol. 28. P. 382 – 390.
25. Ворошилова, М. К. Энтеровирусные инфекции человека / М. К. Ворошилова // Медицина. 1979. № 8. С. 48 – 51.
26. Pallansch, M. Enteroviruses: Polioviruses, Coxsackieviruses, Echoviruses, and Newer Enteroviruses // M. Pallansch, R. Roos // Fields Virology. 2007. Vol. 12. P. 840 – 893.

27. Изучение биологических и морфологических свойств вирусов ЕСНО1 и ЕСНО12 / М. К. Ворошилова [и др.] // Энтеровирусные инфекции. 1970. № 3. С. 269 – 274.
28. Дроздов, С. Г. Полиомиелит / С. Г. Дроздов, О. Е. Иванова // Вопросы вирусологии. 2012. № 6. С. 76 – 90.
29. Вирусологический контроль качества питьевой воды как важный этап обеспечения ее эпидемиологической безопасности / Т. В. Амвросьева [и др.] // Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья. 2018. № 127. С. 42 – 46.
30. Клинические проявления энтеровирусного менингита у детей и подростков / А. С. Широкова [и др.] // Дальневосточный государственный медицинский университет. 2017. № 4. С. 44 – 47.
31. Вирусный гепатит а: особенности клинического течения у взрослых / Э. Н. Калинина [и др.] // Сибирский медицинский журнал. 2017. № 2. С. 39 – 41.
32. Гепатит а: эпидемиология и профилактика / О. А. Игнатова [и др.] // Санитарный врач. 2011. № 10. С. 22 – 34.
33. Карцев, А. Д. Цикличность и сезонность заболеваемости вирусным гепатитом а / А. Д. Карцев, К. В. Блохин // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2001. № 6. С. 26 – 30.
34. Балаян, М. С. Гепатит а: вчера, сегодня, завтра / М. С. Балаян // Медицина для всех. 1999. № 2. С. 32 – 43.
35. Маянский, А. Н. Ротавирусная инфекция: эпидемиология, патология, вакцинопрофилактика / Н. А. Маянский, А. М. Куличенко // Вестник российской академии медицинских наук. 2015. № 1. С. 67 -70.
36. Клинико - эпидемиологические особенности ротавирусной инфекции у детей / М. В. Краснов [и др.] // Медицинский альманах. 2016. № 5. С. 45 – 47.

37. Крамарев, С. А. Ротавирусная инфекция: эпидемиология и профилактика / С. А. Крамарев, Л. В. Закордонец // Здоровье ребенка. 2011. № 1. С 53 – 59.
38. Мониторинг биологического загрязнения объектов хозяйственно - питьевого водоснабжения / М. И. Чубирко [и др.] // Гигиена и санитария. 2011. № 3. С. 80 - 81.
39. Бахир, В. М. К проблеме поиска путей повышения промышленной и экологической безопасности объектов водоподготовки и водоотведения ЖКХ / В. М. Бахир // Водоснабжение и канализация. 2009. № 5. С. 80 - 83.
40. Кожевников, А. Б. Сравнительный анализ систем нейтрализации аварийных выбросов хлора / А. Б. Кожевников, О. П. Петросян, А. А. Баранов // Водоснабжение и канализация. 2009. № 1. С. 56 - 62.
41. Лихота, Е. В. Обеззараживание питьевых вод / Е. В. Лихота, В. И. Орехова // Научное обеспечение агропромышленного комплекса. 2017. С. 1100 - 1101.
42. Корпачев, В. П. Водные ресурсы и основы водного хозяйства / В. П. Корпачев // Лань. 2012. № 3. С. 320 -322.
43. Richardson, S. D. Occurrence, genotoxicity, and carcinogenicity of regulated and emerging disinfection by - products in drinking water: a review and roadmap for research / S. D. Richardson [et al.] // Mutat Res. 2007. Vol. 636. P. 178 – 242.
44. Sharma, V. K. Formation and toxicity of brominated disinfection byproducts during chlorination and chloramination of water: a review / V. K. Sharma [etal.] // Environ Sci Health. 2014. Vol. 49. P. 212 – 228.
45. Мокиенко, А. В. Фундаментальные и прикладные проблемы выбора окислителя для обеззараживания воды: сравнительный анализ хлора, диоксида хлора и озона / А. В. Мокиенко, Н. Ф. Петренко, А. И. Гоженко // Вестник Тюменского Государственного Университета. 2005. Т. 9, № 1. С. 209 - 218.

46. Микаева, С. А. Установки для обеззараживания воздуха и воды / С. А. Микаева // Сборка в машиностроении, приборостроении. 2012. № 5. С. 41 – 46.
47. Славинская, О. В. Влияние озона на органические примеси природных вод / О. В. Славинская, Г. В. Куренкова // Научный вестник воронежского государственного архитектурно - строительного университета. 2014. С. 141 - 162.
48. Stopka, K. Ultrapure water by ozonation / K. Stopka // Amer. Coll. Surg. 1988. Vol. 31, P. 22 - 26.
49. Sozanski, M. M. Model examining of surface water disinfection by ozone / M. M. Sozanski // Pathol. 1979. Vol. 5. № 2. P. 163 – 173.
50. Драгинский, В. А. Очистка природных цветных вод / В. А. Драгинский, И. И. Демин // Водоснабжение и санитарная техника. 1985. № 1. С. 4 - 6.
51. Разумовский, С. Л. Озон и его реакции с органическими соединениями / С. Л. Разумовский, Г. Е. Заикова // Наука. 1973. С. 212 - 214.
52. Карлина, А. И. Анализ современных и перспективных способов воздействия на природные и сточные воды / А. И. Карлина // Вестник иркутского государственного технического университета. 2015. № 5. С. 145 – 149.
53. Комплексная технология обеззараживания воды и стоков и установка для ее промышленной реализации / Е. Н. Аракчеев [и др.] // Установки обеззараживания питьевых и сточных вод. 2017. № 2. С. 137 – 143.
54. Ефимов, В. И. Обеззараживание сточных вод с помощью полимерных реагентов / В. И. Ефимов, Т. В. Корчагина, С. А. Свиноаренко // Уголь. 2017. № 2. С. 63 – 67.
55. Алешин, А. В. Обеззараживание сточных вод кавитационной обработкой / А. В. Алешин, М. М. Колесникова // Вестник Тамбовского государственного технического университета. 2015. Т. 21, № 1. С. 105 – 112.

56. Оценка возможности использования комплексных методов обеззараживания воды в пищевой промышленности / Ф. М. Гимранов [и др.] // Вестник Казанского технологического университета. 2012. № 9. С. 289 – 301.
57. Марченко, А. Н. Эпидемиологические аспекты изменчивости бактерий под влиянием дезинфектантов / А. Н. Марченко, Л. Б. Козлов, В. В. Ефимов // Медицинская наука и образование урала. 2011. Т. 12, № 3. С. 38 – 39.
58. Комбинированный способ очистки и обеззараживания сточных вод / Ю. С. Саркисов [и др.] // Вестник ТГАСУ. 2007. № 3. С. 220 - 225.
59. Способ обезвоживания осадков / Я. К. Абрамов [и др.] // Вестник Казанского технологического университета. 2005. № 5. С. 13 – 14.
60. Гафуров, Н. М. Общие сведения о мембранной технологии очистки воды / Н. М. Гафуров, Н. Е. Кувшинов // Инновационная наука. 2016. № 4. С. 35 – 37.
61. Перспективы ультразвукового обеззараживания биологически очищенных сточных вод / Ф. Ю. Ахмадуллина [и др.] // Вестник казанского технологического университета. 2016. Т. 19, № 6, С. 134 - 137.
62. Оценка качества питьевой воды по результатам расширенных мониторинговых исследований и ее химической безвредности / М. Ю. Вожаева [и др.] // Гигиена и санитария. 2018. Т. 97, № 2. С. 117 – 124.
63. Герасимов, Н. Г. Обеззараживание коммунальных питьевых вод: необходимость и возможность / Н. Г. Герасимов, В. Е. Бажов // Водоснабжение и санитарная техника. 2000. № 10. С. 32 – 36.
64. Петухова, Е. О. Методы обеззараживания воды в плавательном бассейне / Е. О. Петухова [и др.] // Вестник Пермского национального исследовательского политехнического университета. 2017. Т. 8, № 2. С. 36 - 51.

66. Яковлев, С. В. Водоотведение и очистка сточных вод / С. В. Яковлев, Ю. В. Воронов. М.: Издательский центр АСВ. 2002. 704 с.
67. Сличенко, А. В. Современное состояние методов окисления примесей воды и перспективы хлорирования / А. В. Сличенко, Л. А. Кульский, Е. С. Мацкевич // Химия и технология воды. 1990. Т. 12, № 4. С. 23 – 25.
68. Карюхина, Т. А. Химия воды и микробиология / Т. А. Карюхина, И. Н. Чурбанова. М.: Издательский центр Стройиздат. 1983. 325 с.
69. Нечаева, О. В. Комплексная оценка токсичности полимерного соединения, обладающего антимикробной активностью / О. В. Нечаева, Н. В. Веденеева, М. М. Вакараева // Известия Саратовского университета. 2016. Т. 16, № 2. С. 160 - 164.
70. Нечаева, О. В. Оценка антимикробной активности биосовместимого полимерного соединения в отношении возбудителей оппортунистических микозов / О. В. Нечаева [и др.] // Известия Саратовского университета. 2014. Т. 14, № 4. С. 80 - 83.
71. Шуршалова, Н. Ф. Изучение антибактериальной активности новых препаратов на основе модифицированного биосовместимого полимера / Н.Ф. Шуршалова[и др.] // Наука и образование в жизни современного общества. 2015. № 6. С. 156 - 159.
72. Диагностика энтеровирусной инфекции методом полимеразной цепной реакции / А. А. Мухина [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2002. № 2. С. 42 – 51.

Нечаева