



Лесотехнически университет



Факултет "ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА"

Катедра: „Инфекциозна патология, хигиена, технология и контрол на храните от животински произход“

Тошка Евгениева Петрова

Антимикробно действие и биологични ефекти на електрохимично активирани водни разтвори

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертационен труд за присъждане на научна и образователна степен

„Доктор“

Област на висше образование: **6. Аграрни науки и ветеринарна медицина**

Професионално направление: **6.4. Ветеринарна медицина**

Научна специалност: **“Епизоотология, инфекциозни болести и профилактика на заразните заболявания по животните”**

Научен ръководител: проф. д.н. Теодора Петрова Попова

СОФИЯ, 2023

Дисертационният труд съдържа 210 страници, включително 38 таблици и 58 фигури, оформени във въведение, литературен обзор, цел и задачи, материали и методи, резултати, обсъждане, изводи, препоръки за практиката, приноси, публикации по дисертационния труд и литературен указател. Последният съдържа общо 348 литературни източника, от които 34 на кирилица и 314 на латиница.

Защитата на дисертационния труд ще се проведе на **30.11.2023 г. от 13.00 ч. в зала „Акад. Мако Даков“** на сграда А на Лесотехническия университет, гр. София, бул. „Климент Охридски“ № 10, на открито заседание на научно жури в състав:

Председател: Доц. д-м Георги Малинов Стоименов

Членове:

Проф. д.н. Даринка Неделчева Илиева

Проф. д.н. Райко Димитров Пешев

Доц. д-м Владимир Светославов Петров

Доц. д-м Илиян Манев Манев

Материалите по защитата (дисертационен труд, автореферат, рецензии и становища на научното жури) са на разположение в Деканата на ФВМ, гр. София, бул. Климент Охридски № 10, стая 104 и са публикувани на сайта на Лесотехническия университет (www.ltu.bg)

“Нито едно вещество не е известно на човечеството толкова отдавна, колкото водата. И до ден днешен никое друго не поднася толкова изненади.”

Василий Латишев (Русия)

„Всички отговори са във водата.”

Масару Емото (Япония)

„Ако разберете свойствата на водата, бихте могли да лекувате с нея всички болести.”

Петър Дънов (България)

СЪДЪРЖАНИЕ

I. ВЪВЕДЕНИЕ.....	4
II. СОБСТВЕНИ ИЗСЛЕДВАНИЯ.....	5
II. 1. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ.....	5
II. 2. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ.....	6
II. 3. РЕЗУЛТАТИ.....	8
II. 4. ИЗВОДИ.....	48
II. 5. ПРЕПОРЪКИ ЗА ПРАКТИКАТА.....	50
II. 6. НАУЧНИ ПРИНОСИ.....	51
III. ПУБЛИКАЦИИ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД.....	53
IV. SUMMARY	54
V. БЛАГОДАРНОСТИ.....	55

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ И ТЕРМИНИ

EABP - електроактивирани водни разтвори – без добавени соли

EXABP - електрохимичноактивирани водни разтвори – с добавени соли в изходния разтвор преди активацията

EBP - електролизирани водни разтвори – сборно понятие за включени в изследването както електро -, така и електрохимичноактивирани водни разтвори (такива без и такива с добавени соли)

ORP - окислително-редукционен потенциал; mV – мили Волта

CFU – colony forming units (колинни образуващи единици - живи клетки)

AV- average – средно статистическа стойност

SD – standard deviation – стандартно отклонение

P = 0,05; 0,01; 0,001 – степен на достоверност 0,05; 0,01; 0,001

ECAWS – electrochemically activated water solutions

I. ВЪВЕДЕНИЕ

Изхранването на населението, общественото здраве и опазването на околната среда са глобални проблеми и основна задача, не само на Европейската, но и на световната научна стратегия.

Един от най-големите проблеми в съвременната медицина е нарастващата устойчивост на патогенните бактерии, както към антимикробни средства, така и към дезинфектанти. Резистентността, която развиват микроорганизмите към използваните срещу тях средства, е сериозен световен проблем, рефлектиращ върху епидемиологията, эпизоотологията и терапията на инфекциите.

Всичко това е предпоставка за търсене на нови ефикасни антимикробни средства, които същевременно да не бъдат опасни за пациентите и околната среда и да не провокират развитието на резистентност към тях. Един от обещаващите модерни подходи в този аспект е обработката на вода с електрически ток, което води до получаване на електро- или електрохимично активирани водни разтвори (католити и анолитни) със специфични физико-химични свойства, постигнати чрез промяна на електрохимичните характеристики на водата.

Електрохимичната активация е не само високоефективна технология за пречистване, дезинфекция, превръщане на водата в подходящо средство за различни технологични цели, но и нова философия за запазване на природата и човешкото здраве, чийто принцип се изразява в желанието за идеален краен резултат: "Има ефект – няма реактив" или глобалната концепцията за „зелена химия“ и по-добрата „медицината на бъдещето“ (Дина Ашбах).

Данните в световната научна литература до този момент се отнасят до проучвания във връзка със същността, механизма на действие, сферите на приложение, както и биологични ефекти най-вече при човека. Оскъдни са научните изследвания на ЕВР във ветеринарната медицина, особено по отношение действието им върху клинични (теренни) патогенни бактериални щамове, както и за терапия

на инфекциозни процеси при животни. Слабо проучени са и биологичните ефекти след прием *per os* от бозайници и птици. Всичко това ни даде основание да предприемем настоящите проучвания.

II. СОБСТВЕНИ ИЗСЛЕДВАНИЯ

II. 1. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

На базата на проучените литературни данни и направения анализ, с оглед на актуалността на проблемите на все по-нарастващата и разнообразна микробна резистентност към антибиотици и дезинфектанти, които прогресивно засилват химизирането на съвременния свят, си поставихме за **цел** да проучим антимикуробното действие и някои биологични ефекти на електро- и електрохимично активирани водни разтвори.

За да постигнем тази цел, си поставихме следните **задачи**:

1. Да проучим антимикуробния ефект на електролизирани водни разтвори - анолити и католити в лабораторни условия ***in vitro*** спрямо патогенни полирезистентни микроорганизми от различни групи и да проследим запазването на ефекта им след различен период на съхранение при стайна температура на тъмно.

2. Да изследваме антимикуробния ефект на електрохимичноактивирани водни разтвори при обработка на естествено наситени с бактерии материали – утайка от градска пречиствателна станция.

3. Да изследваме антимикуробен ефект на анолит при употребата му като дезинфекционно и антисептично средство върху различни повърхности и материали.

4. Да проследим биологичните ефекти на католит, приложен ***per os***, при патици.

5. Да проследим ефекта на анолити и католити при терапии на някои бактериални и микотични инфекциозни процеси при пациенти ***in vivo*** - ***case reports***.

II. 2. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

В настоящата работа са изследвани общо **17 вида електролизирани водни разтвори**, от които **4 - електроактивирани** (анолити и католити) и **13 - електрохимичноактивирани**: 5 вида католити и 8 вида анолити. Действието на различните видове анолити и католити е проучено *in vitro* по класическите микробиологични методи, чрез изолиране и култивиране при съответните условия на селективни хранителни среди, подходящи за съответните бактериални видове. Антимикробен ефект на различни електролизирани водни разтвори е проследен спрямо **4 вида бактерии и общо 7 различни щам** (референтни и теренни, изолирани от животни, пациенти на Университетската клиника за дребни животни при ФВМ на ЛТУ, София); проследен е периодът на запазване антимикробния ефект на изследваните анолити и католити (след съхранението им на тъмно при стайна температура за 7, 21, 28 и 29 дни); изследвано е действието им върху органични и неорганични материали и сравнено (съответно за изследването) с бактерицидния и антисептичен ефект на 3 вида широкоспектърни, фармацевтично и търговски утвърдени дезинфекционни препарата. При *in vivo* проучването сме използвали **общо 66 броя животни**, от които **20 броя птици** от вида Бяла пекинска патица; **21 броя кучета** на случаен принцип от различна порода и възраст за антисептика на лапите с анолит и **25 броя животни с клинични инфекции**, от които: 3 броя кучета с бактериални конюнктивити; 3 кучета с бактериални отити; 10 животни (9 кучета и 1 котка) с инфектирани кожни рани и абсцес; 9 животни с дерматомикози – 5 (вкл. контролата) морски свинчета с трихофития; 2 кучета с микроспория; 2 джербили с микроспория и вторична бактериална инфекция с *P. fluorescens* и 1 куче със смесена кожна инфекция от *C. albicans* и *E. coli*.

Използвани методи:

1. Измерване физичните параметри на използваните в изследванията ЕВР: pH, ORP/mV, t°C.

Методи при *in vitro* изследвания:

2. Оптичен метод (с Mc Farland standard) – за получаване на суспензия от изследваните микроорганизми със съответната гъстота.

3. Суспензионен метод.

4. Количественото определяне на микроорганизмите по класическия метод в серийни десетократно нарастващи разреждания.

Методи при in vivo изследвания:

• Бяла Пекинска патица (Разрешително за използване на животни в опити № 277 / 02.07. 2020, валидно до 20.07.2025):

5. Проследяване тегловно развитие и растеж чрез периодично измерване на жива маса и второстепенни селекционни параметри на изследваните птици от двете групи.

6. Определяне усвояването на хранителните вещества чрез изчисляване разход фураж, суров протеин и енергия.

7. Изследване биохимичен профил на кръвни проби от патиците – чернодробна активност (ALAT, ASAT, ALP); бъбречната функция (CREAT, UREA); състоянието на белтъците в кръвта (TP, ALB); минерален и електролитен профил (Ca, P и K).

• Пациенти:

8. Вземане на проби от клинични пациенти – със стерилни тампони.

9. Идентифициране на изолираните от клинични материали микроорганизми:

А) Микроскопски изследвания.

Б) Културално изследване и отчитане на културалните особености върху твърди и в течни хранителни среди.

В) Идентифициране на изолирани патогенни бактериални щамове чрез MALDI Biotyper Identification – Bruker.

Г) Биохимична идентификация:

1) *Polymicrotest - Staphy Test 24*

2) чрез автоматизирана система за идентификация на микроорганизми и патогенни гъбички *MD Phoenix™ M50*

Д) Определяне на чувствителността на изолираните бактерии към антимикробни средства:

1) по класическия агар-гел дифузионен метод на *Bauer et al. (1966)*

2) чрез *MD Phoenix™ M50*.

10. Статистически анализ на получените данни. За изчисленията е използвана програма Microsoft®Office Professional Plus Excel 2013 (15.0.4569.15060), с права на Лесотехнически университет, София.

II. 3. РЕЗУЛТАТИ

II.3.1. Проучване антибактериалния ефект на електроактивирани и електрохимичноактивирани водни разтвори - анолити и католити *in vitro* спрямо патогенни полирезистентни бактерии и проследяване запазването на ефекта им след различен период на съхранение при стайна температура на тъмно.

II.3.1.1. Изследване на бактерицидната активност на анолит и *Virkon S in vitro* спрямо *E. coli O45*, *P. aeruginosa 318* и *450*, *S. aureus Cowan* и *ATCC 3350*, *S. enterica subsp. enterica ATCC 1304*.

В това изследване е проучен антибактериален ефект (по суспензионния метод) на кисел анолит (получен след електроактивация на 0,3 % воден разтвор на NaCl) и сравнен с този на широкоспектърния антимикробен търговски препарат *Virkon S* спрямо някои клинични и референтни щамове на Грам-положителни и Грам-отрицателни бактерии. Използваният анолит, приложен непосредствено след получаването е със стойности на определящите ефекта му параметри, както следва: pH $2,65 \pm 0,2$; ORP $259 \text{ mV} \pm 12$; $t^{\circ}\text{C}$ $18,2 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5$. Получените резултати на изследваните

щамове микроорганизми, изразени в CFU/10 μ l при действието на различни концентрации на анолита и контролния препарат Vircon S в суспензии с концентрация 10⁶ кл./ml от изследваните щамове са представени в таблици 1 и 2.

Таблица 1. Растеж на изследваните щамове микроорганизми (CFU/10 μ l) след въздействие на различни концентрации на анолит (100; 50; 25 и 12,5 %) и различно време на експозиция (2; 5; 10 min).

Бактериален вид	<i>E. coli</i>			<i>P. aeruginosa</i>			<i>S. aureus</i>			<i>S. entrica</i>								
Бактериален щам	O45			318			450			Cowan			ATCC 3350			ATCC 1304		
Концентрация: кл./ml	10 ⁶			10 ⁶			10 ⁶			10 ⁶			10 ⁶			10 ⁶		
Време на действие- min	2	5	10	2	5	10	2	5	10	2	5	10	2	5	10	2	5	10
Концентр. на Анолит CFU/ 10 μ l																		
100%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+++	+++	0	+	0	0	0	0	0
50%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+++	+++	0	+	0	0	0	0	0
25%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+++	+++	0	+	+	0	0	0	0
12,5%	++	+	+	0	0	0	0	0	0	+++	+++	0	+	+	0	0	0	0
К бактерии	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p
К Анолит	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

К - контрола; **p** –растеж; **(-)** – липса на растеж; **(+)** - единични; **(++)** – десетки; **(+++)** – много; **(++++)** - обилен растеж.

Анолитът показва подобен бактерициден ефект с този на Virkon S спрямо изпитаните щамове (табл.2).

Таблица 2. Растеж на изследваните щамове микроорганизми (CFU/10µl) след въздействие на различни концентрации на Virkon S (1; 0,5; 0,25 и 0,125 %), с различно време на експозиция (2; 5; 10 min).

Бактериален вид	<i>E. coli</i>			<i>P. aeruginosa</i>			<i>S. aureus</i>			<i>S. enterica</i>									
Бактериален щам	O45			318			450			Cowan			ATCC 3350			ATCC 1304			
Концентр.: кл./ml	10^6			10^6			10^6			10^6			10^6			10^6			
Време на действие-min	2	5	10	2	5	10	2	5	10	2	5	10	2	5	10	2	5	10	
Концентр. Virkon S																			
CFU/ 10µl																			
1%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+++	+++	0	+	0	0	0	0	0	0
0,5%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+++	+++	0	+	0	0	0	0	0	0
0,25%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+++	+++	0	+	0	0	0	0	0	0
0,125%	+	0	0	0	0	0	0	0	0	+++	+++	0	+	0	0	0	0	0	0
К бактерии	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p
К Virkon S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

К - контрола; p -растеж; (-) - липса на растеж; (+) - единични; (++) - десетки; (+++) - много;(++++) - обилен растеж.

Virkon S показва пълен бактерициден ефект при всички изпитани концентрации спрямо щамовете на *P. aeruginosa* и *S. enterica* още на 2 min от въздействието, както и анолита. Това време на действие обаче не е достатъчно за такъв ефект върху *S. aureus* ATCC във всички изпитани концентрации на двете средства, а по отношение инактивирането на *E. coli* за 2 min, концентрацията е от решаващо значение, тъй като най-ниските им изпитани концентрации се оказват

недостатъчни за пълен бактерициден ефект за 2 min. Спрямо щама *S. aureus* Cowan, Vircon S показва еднаква с анолита активност и те проявяват пълен бактерициден ефект след 10 минутно време на въздействие.

II.3.1.2. Изследване на запазването на антибактериална активност на използвания анолит (след престояване 7, 21 и 28 дни) спрямо бактериалните щамове *P. aeruginosa* 450 и *S. enterica subsp. enterica* ATCC 1304 в суспензии с концентрации 10^6 кл./ml и 10^8 кл./ml.

Изследвано е запазването на антибактериалния ефект на анолита (от предходното изследване), но след период на престояване от съответно 7, 21 и 28 дни в условия на тъмно при стайна температура и приложен в същите концентрации и опитна постановка спрямо суспензии с концентрация 10^6 и при по-висока - 10^8 кл./ml спрямо *P. aeruginosa* 450 и *S. enterica* ATCC 1304. Ефектът на изследваните анолити е сравнен с този на прясно приготвен Vircon S - контролен препарат. Физичните показатели pH; ORP/mV при съответната температура на използвания изходен анолит и промяната на параметрите му след 7-, 21- и 28 - дневно съхранение при стайна температура на тъмно са представени в таблица 3.

Таблица 3. Физични показатели на използваните анолити.

Вид на анолита	pH	ORP/ mV	t°C
пресен (изходен) анолит	2,65 ± 0,2	259 ± 12	18,2 ± 0,5
след 7 дни престояване	2,67 ± 0,4	213 ± 17	17,3 ± 0,2
след 21 дни	2,71 ± 0,3	121 ± 19	19,1 ± 0,3
след 28 дни	2,72 ± 0,3	95 ± 15	18,6 ± 0,6

На таблици 4, 5 и 6 са представени получените резултати от съответното проучване на бактерициден ефект спрямо изпитаните щамове и концентрации за използваните анолити (табл.4 и 5) и Vircon S (табл.6).

Таблица 4. Растеж (CFU/ 10 µl) на *P. aeruginosa* 450 с концентрация 10⁶ и 10⁸ кл./ml след различен интервал на действие (min) на анолити, съхранявани за различен период от време.

<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 450																								
Време на съхранение на Анолита	прясно приготвен			на 7 дни			на 21 дни			на 28 дни														
	10 ⁶			10 ⁸			10 ⁶			10 ⁸			10 ⁶			10 ⁸								
Време на действие/min	2	5	10	2	5	10	2	5	10	2	5	10	2	5	10	2	5	10	2	5	10			
	Концентр. на Анолит CFU/ 10 µl																							
100 %	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	0	0	0	+++	+++	++
50 %	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	++	++	+	0	0	0	+++	+++	+++
25 %	0	0	0	+	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	++	++	++	0	0	0	++++	++++	++++
12,5 %	0	0	0	+	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	+++	+++	+++	0	0	0	++++	++++	++++
К бактерии	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p
К Анолит	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

К - контрола; **p** -растеж; **(-)** - липса на растеж; **(+)** - единични колонии; **(++)** - десетки; **(+++)** - много; **(++++)** - обилен растеж.

Резултатите показват, че *P. aeruginosa* 450 в суспензия с гъстота 10⁶ кл./ml загива за 2 min под въздействие на всички изпитани концентрации на изследваните анолити, а в концентрация 10⁸ кл./ml загива за 2 min под въздействие на 100 % пресен анолит и анолит, съхраняван 7 дни. *P. aeruginosa* 450, изпитан във висока концентрация - 10⁸ кл./ml, за разлика от концентрация от 10⁶ кл./ml, проявява

по-висока устойчивост и не загива напълно след максимално изследваното време на въздействие от 10 min дори на 100% анолит, съхраняван 21 дни. Ефектът е значителен, тъй като се постига редуциране на количеството на жизнеспособните клетки в много голяма степен, но единични клетки все пак се запазват жизнеспособни.

Таблица 5. Растеж (CFU/10 µl) на *S. enterica* ATCC 1304 с концентрация 10⁶ и 10⁸ кл./ml след различни интервали на действие на съответните анолити.

<i>Salmonella enterica</i> ATCC 1304																											
време на съхранение на Анолита	прясно приготвен						на 7 дни						на 21 дни						на 28 дни								
	10 ⁶			10 ⁸			10 ⁶			10 ⁸			10 ⁶			10 ⁸			10 ⁶			10 ⁸					
Концентрация кл./ml	2	5	10	2	5	10	2	5	10	2	5	10	2	5	10	2	5	10	2	5	10	2	5	10			
Време на действие-min	2	5	10	2	5	10	2	5	10	2	5	10	2	5	10	2	5	10	2	5	10	2	5	10	2	5	10
Концентр. на Анолит CFU/ 10 µl																											
100 %	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50 %	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25 %	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12,5 %	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
К бактерии	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p
К Анолит	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

К - контрола; **p** -растеж; **(-)** – липса на растеж; **(+)** – единични колонии; **(++)** – десетки; **(+++)** – много; **(++++)** - обилен растеж.

S. enterica ATCC 1304 (табл. 5), показва висока чувствителност към всички изпитани анолити и бактерициден

ефект се наблюдава дори и в суспензиите с концентрация 10^8 кл./ml на този щам в рамките на 2 min.

На таблица 6 са представени резултати, получени след действието на пряко приготвен разтвор на контролния препарат Virkon S спрямо включените в изследването щамове на *P. aeruginosa* и *S. enterica* в суспензии от 10^6 кл./ml и 10^8 кл./ml. Те показват пълния му бактерициден ефект във всички изпитани концентрации в рамките на 2 min въздействие спрямо всеки от двата щама със съответната концентрация на суспензията.

Таблица 6. Растеж (CFU/10 µl) на *P. aeruginosa* 450 и на *S. enterica* ATCC 1304 при концентрации 10^6 кл./ml и 10^8 кл./ml за двата щама след различни интервали на въздействие на Virkon S в съответните концентрации.

Бактериален вид щам	<i>P. aeruginosa</i> 450						<i>S. enterica</i> ATCC 1304					
	10^6			10^8			10^6			10^8		
Концентрация: кл./ml	2	5	10	2	5	10	2	5	10	2	5	10
Време на действие- min												
Концентрация Virkon S CFU/ 10µl												
1%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,5%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,25%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,125%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
К бактерии	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p
К Virkon S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

К - контрола; p -растеж; (-) - липса на растеж; (+) - единични колонии; (++) - десетки; (+++) - много; (++++) - обилен растеж.

II.3.1.3. Изследване антибактериална активност на някои ЕХАВР (анолити и католити), сравнен с този на Virkon S in vitro спрямо клинично изолиран щам на *P. aeruginosa*.

Проучена е антибактериална активност *in vitro* на различни EXABP - анолити и католити и Virkon S спрямо теренен щам на *P. aeruginosa*, изолиран от кон със синусит, полирезистентен към много от широко използваните в практиката антибиотици (показва чувствителност единствено към някои аминогликозиди и хинолони).

Физичните показатели рН и ORP/mV на изследваните EXABP са представени в таблица 7.

Таблица 7. Физични показатели на използваните анолити и атолити.

Изходен състав		рН	ORP / mV	t°C
Воден разтвор на NaCl 0,8 %	преди електролизата	8,92 ± 0,5	218 ± 23	22,1 ± 0,5
	анолит	2,47 ± 0,3	1000 ± 34	20,7 ± 0,7
	католит	11,91 ± 0,6	- 768 ± 28	20,7 ± 0,6
Воден разтвор на NaCl (0,4%) и Na ₂ CO ₃ (0,4%)	Преди електролизата	11,33 ± 0,2	109 ± 18	18,5 ± 0,7
	анолит	10,74 ± 0,4	439 ± 32	20,6 ± 0,5
	католит	11,95 ± 0,6	- 723 ± 26	19,7 ± 0,8
Вода без соли; активация: 12 мин	преди електролизата	9,57 ± 0,1	302 ± 22	18,7 ± 0,4
	анолит	3,55 ± 0,3	743 ± 13	22,5 ± 0,6
	католит	10,03 ± 0,5	- 214 ± 18	22,5 ± 0,7

На таблица 8 са представени получените резултати от извършеното изследване и е отразен растеж със съответните степени на интензивност на *P. aeruginosa* в бульон и върху Cetrimide agar (CFU/10µl) след въздействието на EXABP. Те показват, че анолит, приготвен с 0,8 % NaCl, както и този с комбинация от 0,4 % NaCl и 0,4 % Na₂CO₃, приложени в крайни концентрации 50% и 100 %, имат бактерициден ефект върху изследвания щам. Същите анолити, потенцирани чрез прибавяне на 96° етанол в крайна концентрация 1%, също оказват бързо бактерицидно действие. Аналогични резултати се установяват и при католит с Na₂CO₃.

Таблица 8. Растеж в бульон и върху Cetrimide agar на *P. aeruginosa* след различни интервали на въздействие (min) на ЕХАВР.

Проба №	Вид на активирания разтвор Време на въздействие / min	Растеж на Cetrimide agar CFU/ 10µl				Растеж в бульон
		2	5	10	15	
1	анолит с NaCl	-	-	-	-	-
2	анолит с Na ₂ CO ₃	-	-	-	-	-
3	1% 96° етанол в анолит с NaCl	-	-	-	-	-
4	1% 96° етанол в анолит с Na ₂ CO ₃	-	-	-	-	-
5	1% 96° етанол в дест. вода	++++	++++	++++	++++	р
6	0,5% Virkon S в католит с NaCl	-	-	-	-	-
7	0,5% Virkon S в дест. вода	-	-	-	-	р
8	католит с NaCl	++	+	-	-	р
9	анолит без соли	++	++	++	+	р
10	католит без соли	+++	++	++	+	р
11	католит с Na ₂ CO ₃	-	-	-	-	-
К	нетретирана контрола	р	р	р	р	р

К - контрола; **р** –растеж; **(-)** – липса на растеж; **(+)** – единични колонии; **(++)** – десетки; **(+++)** – много; **(++++)** - обилен растеж.

Под въздействието на горе изброените ЕХАВР *P. aeruginosa* загива в рамките на 2 минути, както и след приложение на 0,5% Virkon S, разтворен в католит с NaCl. При използване на 0,5% Virkon S, разтворен в дестилирана вода обаче се наблюдава растеж в някои от бульонните култури на *P. aeruginosa*, макар че върху селективната твърда среда не се установяват колонии дори и след 48 h култивиране. Католитът с NaCl в крайна концентрация 100% оказва бактерицидно действие върху *P. aeruginosa* в рамките на 10 min, но в двойно по-малката концентрация (в бульон)

ефектът не е бактерициден. При пробите с анолит без соли, както и с католит без соли, също се установяват колонии и растеж в бульон. Използването на католит с NaCl за разтваряне на Virkon S показва потенциа на бактерицидния ефект (в сравнение с водния му разтвор) при действието му в бульонна култура на изпитания щам.

II.3.1.4. Изследвания за запазване на антибактериалната активност на същите ЕХАВР - анолити и католити (от т. II.3.1.3), след период на съхранение от 29 дни, спрямо клиничния щам на P. aeruginosa.

На таблица 9 са представени в динамика промените във физичните показатели на използваните анолити и католити, както и след тяхното престояване и съхранение на тъмно при стайна температура в продължение на 29 дни. Табличните данни показват, че след съхранение на ЕХАВР при стайна температура в продължение на 29 дни те запазват своята антимикробна активност, като промяната в рН на разтворите за този период е незначителна. Наблюдават се обаче изменения в техния ORP, който намалява почти трикратно спрямо този, измерен веднага след приготвянето им. Дори и след 4 седмично съхранение изследваните ЕХАВР показват висока антимикробна активност. Данните са аналогични с тези, установени непосредствено след приготвянето им, което може да се види от таблица 10. Получените резултати от това изследване (табл. 9 и 10), показват, че след съхранение в продължение на 29 дни изпитаните електрохимично активирани водни разтвори запазват (с малки изменения) не само физичните си параметри, но и в голяма степен антибактериалните си свойства.

Таблица 9. Физични показатели на използваните изходни разтвори (анолити и католити) и след 29 – дневно престояване.

Изходен състав и вид на разтвора		pH	ORP/mV	t°C
Воден разтвор на NaCl (0,8 %)	преди електролизата	8,92 ± 0,5	218 ± 23	22,1 ± 0,5
	анолит 1 ден	2,47 ± 0,3	1000 ± 34	20,7 ± 0,7
	след 29 дни	2,52 ± 0,1	263 ± 23	21,5 ± 0,8
	католит 1 ден	11,91 ± 0,6	- 768 ± 28	20,7 ± 0,6
	след 29 дни	11,42 ± 0,3	- 146 ± 19	20,7 ± 0,4
Воден разтвор на NaCl (0,4%) и Na ₂ CO ₃ (0,4%)	преди електролизата	11,33 ± 0,2	109 ± 25	18,5 ± 0,7
	анолит 1 ден	10,74 ± 0,4	439 ± 32	20,6 ± 0,5
	след 29 дни	10,32 ± 0,3	193 ± 18	21,7 ± 0,5
	католит 1 ден	11,95 ± 0,6	- 723 ± 26	19,7 ± 0,8
	след 29 дни	11,02 ± 0,1	- 238 ± 24	21,3 ± 0,6
Вода без соли (активация 12 min)	преди електролизата	9,57 ± 0,1	302 ± 22	18,7 ± 0,4
	анолит 1 ден	3,55 ± 0,3	243 ± 13	22,5 ± 0,6
	след 29 дни	3,32 ± 0,2	206 ± 15	21,3 ± 0,3
	католит 1 ден	10,03 ± 0,5	- 214 ± 19	22,5 ± 0,7
	след 29 дни	8,24 ± 0,3	- 69 ± 11	21,8 ± 0,5

Аналогично на получените резултати при изпитване на изследваните ЕХАВР веднага след получаването им (табл.8), дори и след 29-дневен престой те показват сходни степени на антибактериален ефект (табл. 10).

Таблица 10. Растеж на *P. aeruginosa* в бульон и върху Cetrимиде агар след различни интервали на въздействие на ЕХАВР, съхранявани 29 дни.

Проба №	Вид на активирания разтвор Време на въздействие / min	Растеж на Cetrимиде агар CFU/ 10µl				Растеж в бульон
		2	5	10	15	
1	анолит с NaCl	-	-	-	-	-
2	анолит с Na ₂ CO ₃	-	-	-	-	-
3	1% 96° етанол в анолит с NaCl	-	-	-	-	-
4	1% 96° етанол в анолит с Na ₂ CO ₃	-	-	-	-	-
5	1% 96° етанол в дестилирана вода	++++	++++	++++	++++	p
6	0,5% Virkon S в католит с NaCl	-	-	-	-	-
7	0,5% Virkon S в дестилирана вода	-	-	-	-	p
8	католит с NaCl	+++	+++	++	-	p
9	анолит без соли	+++	+++	++	+	p
10	католит без соли	++++	++++	+++	++	p
11	католит с Na ₂ CO ₃	-	-	-	-	-
К	нетретирана контрола	p	p	p	p	p

К - контрола; **p** -растеж. **(-)** - липса на растеж; **(+)** - единични колонии; **(++)** - десетки; **(+++)** - много; **(++++)** -обилен растеж.

Анолитите, добити чрез активиране с 0,8 % NaCl, както и с комбинация от 0,4 % NaCl и 0,4 % Na₂CO₃, запазват висока антимикробна активност върху изпитания полирезистентен вирулентен щам на *P. aeruginosa*. Без промяна е ефектът и на 0,5% Virkon S в католит с NaCl, 0,5% Virkon S в дестилирана вода, както и на католит с Na₂CO₃, изпитани след 29 дни на престояване. Промени в

антибактериалния ефект се наблюдават при католит с NaCl, анолит без соли и католит без соли. В сравнение с първоначалното изпитване на пресните разтвори, те показват по-слаб бактерициден ефект след престояване в рамките на 29 дни, като при католит с NaCl се появява растеж и след 10 min от въздействието, а след 2 и 5 min ефектът е понижен и растежът се интензифицира. При 15 минутно въздействие на този разтвор обаче се регистрира запазен пълен бактерициден ефект срещу изпитания щам на *P. aeruginosa*. При анолит без соли и католит без соли, престояли 29 дни, се наблюдава растеж дори и след 15 min на въздействие.

II.3.2. Изследване антибактериална активност на анолит при обработка на обезводнена смесена утайка от градска пречиствателна станция за отпадни води.

В това изследване с анолит са третирани в определени съотношения материали, които се очаква да са с естесвено не само полибактериално наситени, но и богати на органични съставки (белтъци, липиди), които биха могли да повлияят на действието на ЕХАВР и да имат неутрализиращ действието му ефект. В проучването е използван анолит, получен чрез електрохимична активация на дестилирана вода с 0,3% NaCl (3g/l), със следните физични параметри: рН 2,4 ± 0,3; ORP 266 mV ± 29; 19,6°C ± 0,7. Резултатите (като средно аритмитични стойности от трикратно изследване) от проследените количествени изменения на микроорганизмите след третиране с анолит за 24 часово експозиционно време, са представени на таблица 11 за различните видове бактерии (по групи), при съответните количествени съотношения утайка:анолит. Те показват, че 24 часовото въздействие на анолита води до намаляване количествата на микроорганизмите от всички изследвани групи. След третиране с анолит в сравнение с нетретирания контрола, десетократно намаляват общия брой микроорганизми, тези от групата на Грам-отрицателните аероби, както и бактериите от род *Pseudomonas*, като при същите тези групи резултатите показват, че редукцията на бактериите е двукратно по-голяма от нетретирания контрола при количествено съотношение на утайка 1:1 анолит.

Таблица 11. Инактивиране на микроорганизми в утайка от градска пречиствателна станция за отпадни води 24 h след третиране с анолит.

Материал AV; SD	ОБМО CFU/ml	Грам-отрицат. аероби	<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>Enterococcus</i> spp.
Необработена утайка	4,0.10⁶ ±2,45	2,7.10⁴ ±1,2	2,1.10⁴ ±1,5	3,2.10⁴ ±1,5	3,2.10³ ±1,0
Утайка и анолит 2:1	4,2.10⁵ ±0,96	6,5.10³ ±2,4	4,7.10³ ±1,9	2,3.10⁴ ±0,7	2,9.10³ ±1,4
Утайка и анолит 1:1	2,6.10⁵ ±0,98	3,9.10³ ±1,5	2,3.10³ ±0,8	2,1.10⁴ ±0,5	1,6.10³ ±0,3

AV - средна стойност от трикратни изследвания; SD - стандартно отклонение; ОБМО – общ брой микроорганизми.

От утайката не се изолират салмонели и гъби. След въздействието на анолита се постига най-значително намаление на количествата на общия брой на микроорганизмите и на този на Грам-отрицателните аероби спрямо необработената утайка, в по-висока степен при третиране на утайката с равно количество анолит, съответно 0,7 log (1:1) и 0,4 log (2:1). Подобна е и редукцията при бактериите от *Pseudomonas* spp. – с 0,5 log (2:1) и 0,9 log (1:1). Микроорганизмите от групите на *Staphylococcus* spp. и *Enterococcus* spp. показват по-висока устойчивост и по-ниска редукция след действието на анолита. Макар да се наблюдава намаляване на броя им, не се постига десетократност в редукцията им. Намалението на общия брой на микроорганизмите спрямо необработената утайка е статистически достоверно ($P < 0,01$ при утайка:анолит = 2:1; $P < 0,001$ при утайка : анолит = 1:1). Още по-значително е намалението на броя на Грам - отрицателни аеробни и факултативно анаеробни микроорганизми и на видовете от род *Pseudomonas*. Разликите спрямо необработената утайка са с висока статистическа достоверност ($P < 0,001$) и за двата варианта на третиране. При проследяване на измененията на количествата на видовете от род *Staphylococcus* също се

отчита намаление в сравнение с необработената утайка, особено при пробата с приложение на равни количества утайка и анолит (1:1), но разликите не са статистически достоверни ($P > 0,05$) и при двата варианта на третиране. Аналогични резултати се установяват и при количествените изследвания на видовете от род *Enterococcus*. Намалението на броя на ентерококите е статистически достоверно ($P < 0,01$) за утайката, третирана с равно количество анолит (1:1) и недостоверно за пробата с приложение на двойно по-малко анолит (2:1) - $P > 0,05$.

II.3.3. Изпитване на антимикробния ефект на анолит при приложението му като дезинфекционно и антисептично средство върху различни повърхности и материали.

Изследвани са дезинфекционен и асептичен ефект на анолит в два аспекта: върху лабораторни повърхности и върху кожна повърхност.

II.3.3.1. Изследване ефекта на анолит, сравнен с този на хлорхексидин, за дезинфекция на повърхности – лабораторни мивки, лабораторни работни плотове и маси.

Изпитан е ефектът на анолит, получен чрез електрохимична активация за 15 минути на чешмяна вода с добавен NaCl (0,3% или 3g NaCl в 1l чешмяна вода) с физични показатели pH и ORP, представени в таблица 12.

Таблица 12. Физични показатели на използвания анолит.

Изходен състав на разтвора		pH	ORP/ mV	t°C
Воден разтвор на NaCl 0,3%	преди електролизата	8,92 ± 0,5	218 ± 5	22,1 ± 3
	анолит	2,42 ± 0,2	1000 ± 6,5	20,7 ± 2

Резултатите от изследванията, извършени за определяне на ефекта на анолит и хлорхексидин за дезинфекция на работни маси в зала за практически занятия по микробиология, непосредствено след работа на студентите, са обобщени в таблица 13.

Таблица 13. Резултати от дезинфекция в продължение на 10 min на работни маси в зала за практически занятия по микробиология.

Видове бактерии	Брой CFU/10 cm ² AV; SD		
	Преди дезинфекция	Анолит	Хлорхексидин
<i>E. coli</i>	433.33 ± 80.55	3.33 ± 1.25	3.0 ± 1.25
<i>P. aeruginosa</i>	0	0	0
<i>E. faecalis</i>	716.67 ± 86.54	52.67 ± 10.21	22.67 ± 4.49
<i>S. aureus</i>	0	0	0
Общ брой:	1150.00 ± 83.55	56.00 ± 5.73	25.67 ± 2.87

AV - средна стойност CFU/10 cm²; SD - стандартно отклонение.

Както се вижда от данните в таблицата, количеството на установените микроорганизми е значително, но от представените видове с патогенен потенциал са идентифицирани само *E. coli* и *E. faecalis*. *P. aeruginosa* и *S. aureus* не са изолирани от тези повърхности. Резултатите показват, че ефектът на анолита за обеззаразяване на маси е много висок, близък до този на контролния дезинфектант хлорхексидин. Разликите в ефекта на двете изпитани средства при *E. coli* не са значими ($P > 0.05$), но при *E. faecalis* ефектът на хлорхексидина се оказва по-висок от този на анолита ($P < 0.05$). *E. coli* показва по-голяма чувствителност към действието на анолита и хлорхексидина в сравнение с *E. faecalis*. Резултатите, получени при същото изследване за дезинфекция на работен плот в микробиологичната лаборатория (таблица 14) показват, че в сравнение с работните маси, количеството на установените микроорганизми не е толкова високо. Общият брой на изолираните бактерии от лабораторния работен плот е значително по-малко от този, установени върху работните маси в залата за практически занятия, но от него освен *E. coli* и *E. faecalis*, се изолира и *P. aeruginosa*.

Таблица 14. Резултати от дезинфекция (10 min въздействие) на работен плот в микробиологична лаборатория.

Видове бактерии	Брой CFU/10 cm ² AV; SD		
	Преди дезинфекция	Анолит	Хлорхексидин
<i>E. coli</i>	23.33 ± 80.55	0	0
<i>P. aeruginosa</i>	42.33 ± 29.78	2.60 ± 1.40	3.00 ± 0.82
<i>E. faecalis</i>	7.00 ± 2.94	3.00 ± 1.63	4.00 ± 2.16
<i>S. aureus</i>	0	0	0
Общ брой:	72.66 ± 37.76	5.60 ± 1.52	7.00 ± 1.49

AV - средна стойност CFU/10 cm²; SD - стандартно отклонение.

Резултатите от изследванията за дезинфекция на мивка в зала за практически занятия по микробиология (таблица 15 и някои от тях на фигура 1) показват, че след приложението на анолит и хлорхексидин с експозиция 10 min се установяват най-много жизнеспособни клетки на *E. faecalis*.

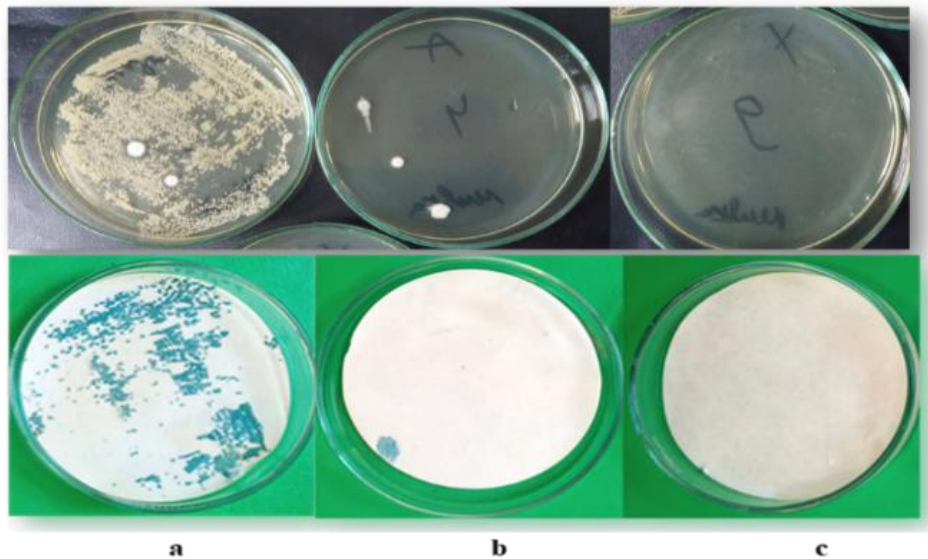
Таблица 15. Резултати от дезинфекция, в продължение на 10 min, на мивка в зала за практически занятия по микробиология.

Видове бактерии	Брой CFU/10 cm ² AV; SD		
	Преди дезинфекция	Анолит	Хлорхексидин
<i>E. coli</i>	313.33 ± 32.99	4.67 ± 4.11	4.00 ± 2.92
<i>P. aeruginosa</i>	90.67 ± 22.00	6.00 ± 4.32	4.75 ± 3.27
<i>E. faecalis</i>	239.33 ± 158.07	21.67 ± 4.19	15.25 ± 10.03
<i>S. aureus</i>	36.33 ± 10.40	1.00 ± 0.82	0
Общ брой:	679.66 ± 55.87	33.34 ± 3.36	24.00 ± 5.41

AV - средна стойност CFU/10 cm²; SD - стандартно отклонение.

От изследваните Грам-положителни и Грам-отрицателни бактерии *E. faecalis* се оказва най-малко податлив на

дезинфекция с анолит и хлорхексидин, като ефектът на последния спрямо него е малко по-висок от този на анолита. Ефектът на анолита за обеззаразяване на мивката е много сходен с този на хлорхексидина. Разликите в ефекта на двете изпитани средства спрямо изолираните бактерии не са значими ($P > 0.05$), което показва, че анолитът може да се прилага за дезинфекция на мивки със същия успех, както и други широко прилагани дезинфектанти като хлорхексидина.



Фигура 1. Резултати от посявки на тампонни проби от повърхността на работни лабораторни плотове – 24-часова култура върху агар на Müller-Hinton (горе), идентификация на микроорганизмите върху дискове DT001 HiDetect™ UTI Identification Disc (долу): а) преди третиране; б) след 10 минутно действие на анолит; с) след 10 минутно действие на хлорхексидин).

II.3.3.2. Изследване на антисептичен ефект на анолит за дезинфекция на лапи на кучета след разходка, сравнен с този на търговския препарат на спиртна основа *Derma intensive+*®.

Използваният за това изследване кисел анолит е приложен върху кожните повърхности на лапичките на изследваните кучета в концентрация 100%. Физичните му показатели са представени на таблица 16.

Таблица 16. Физични показатели на изпитания анолит.

Изходен състав		pH	ORP/ mV	t°C
Воден разтвор на NaCl 0, 3%	преди електролизата	7,79 ± 0,7	221 ±7,1	21,2 ±2
	анолит	2,24 ± 0,3	986 ±5,3	21, 7 ±3

Получените резултати от изследване на антисептичния ефект на анолита и на търговския препарат Derma intensive+® върху лапи на кучета след разходка, са обобщени в таблица 17, като те са представени като брой CFU/отпечатъчна повърхност на лапата в съответни стойности за общ брой микроорганизми, както и по брой бактерии от изолираните видове. Част от получените резултати по време на изследването могат да се видят и на фигура 2.

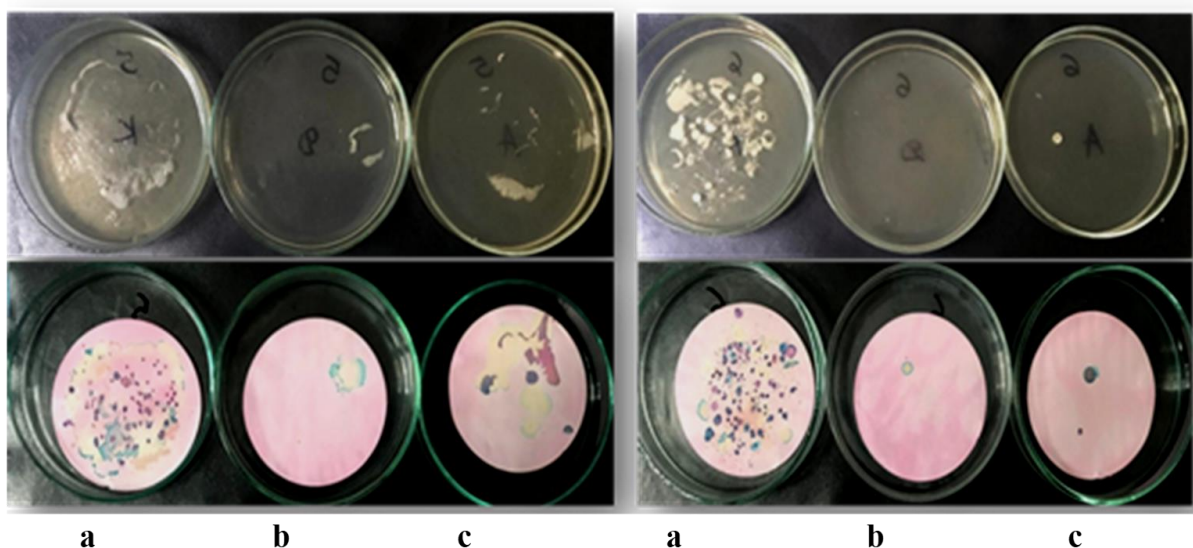
Таблица 17. Резултати от изследване антисептичния ефект на анолит върху лапи на кучета след разходка.

Видове бактерии	Брой CFU/отпечатъчна повърхност на лапата AV; SD		
	нетретирана повърхност	третирана с анолит	третирана с Derma intensive+®
<i>E. coli</i>	59.67 ± 22.29	6.86 ± 1.70	4.62 ± 3.02
<i>P. aeruginosa</i>	40.57 ± 18.43	3.51 ± 1.02	4.81 ± 2.17
<i>E. faecalis</i>	134.38 ± 35.68	15.90 ± 6.29	37.71 ± 9.64
<i>S. aureus</i>	86.28 ± 27.92	35.95 ± 4.77	12.57 ± 8.79
Общ брой:	320.38 ± 88.61	62.29 ± 18.19	59.71 ± 10.21

AV - средна стойност CFU/отпечатъчната повърхност на лапата;
SD - стандартно отклонение.

От данните, обобщени в таблица 17, се вижда значителния антиминобен ефект на приложения анолит, много близък до този на контролния антисептик. Особено чувствителен към анолита се оказва *P. aeruginosa*, който обикновено показва висока устойчивост към химични средства. Анолитът проявява по-добър ефект и срещу *E.*

faecalis, който също се отличава с особено високата си резистентност. Стойностите на получените резултати между анолита и нетретираната контрола са статистически достоверни ($P < 0.05$) за всички видове изолирани бактерии, с изключение на тези от групата на *S. aureus*. Въпреки това резултатите при сравнение на общият брой изолирани бактерии между нетретираната контрола и анолита са с висока достоверност. Разликите между получените резултати при използвания търговски дезинфектант и нетретираната контрола са значими за всички видове изследвани бактерии. И тук изключение правят тези от групата на *S. aureus*. Достоверност се установява също и при резултатите за общия брой бактерии, установени след приложение на дезинфектанта спрямо контролата. Получени резултати при третиране с търговския препарат и тези с анолит показват, че няма достоверност както по видове изолирани бактерии, така и не са статистически значими разликите при общия брой бактерии. Това показва, че двете изследвани средства имат аналогичен антибактериален ефект.



Фигура 2. Резултати от отпечатъчен препарат от лапи на кучета – 24 -часова култура върху агар на Müller-Hinton (горе), идентификация на микроорганизмите върху дискове DT015 HiDetect™ Universal Enviro Identification Disc (долу): а) нетретирана контрола; б) след третиране с дезинфектант; в) след третиране с анолит.

II.3.4. Проучване на биостимулиращ ефект и възможност на католит, приложен *per os*, за подобряване растежните показатели на патета от породата Бяла Пекинска патица.

Опитната група животни е поена с католит – електроактивирана питейна вода от водопроводната мрежа със средни дневни параметри за периода: рН 9.29 ($\pm 0,03$), ORP -139 (± 10) mV, установени на базата на средни стойности от контролно трикратно измерване на всеки параметър 3 дни през всяка седмица от експерименталния период. Контролната група животни при същите условия (*ad libitum*) са приемали питейна вода от водопроводната мрежа (рН $7 \pm 0,01$, ORP 243 ± 8). На таблици 18, 19 и 20 са представени получените за периода на експеримента резултати, както следва: консумация на фураж, енергия и суров протеин – средно дневно на птица от експерименталната и контролната група; динамика на прираста на птиците от опитна и контролна група; разход на фураж, енергия и суров протеин за килограм прираст за птица, като изчисленията в представените таблици са направени съобразно промените в броя на животните (по 8 броя птици след средата на периода, при заложи по 10 броя за двете групи в началото на експеримента).

Таблица 18. Консумация на фураж, енергия и суров протеин средно дневно на птица.

Показатели <i>средно дневно количество/ патица за периода</i>	Католит <i>опитна група</i>	Вода <i>контролна група</i>
Приет фураж (g)	363 g * $\pm 23,82$ **	354 g $\pm 39,16$
Приета енергия (kcal)	1110 kcal	1082 kcal
Приет суров протеин (g)	60,8 g	59,4 g

* Средна стойност; ** Стандартно отклонение.

Изчислените средни стойности на среден дневен прием на фураж за птица от опитната и от контролната група (на

база получени резултати на средни стойности от отчетените ежедневно за опитния период данни заложен фураж/остатък за всяка клетка с птици), са съответно 362,57 g ± 23,82 приет фураж средно дневно на птица за периода за патиците от опитната група и 353,55 g ± 39,16 фураж средно дневно/птица за периода за патиците от контролната група (P>0,05). Резултатите показват незначителна разлика от 9 g в количествата на среден дневен прием на фураж/птица за птиците от двете групи. Аналогично и изчислените на база приет фураж средни стойности на приета енергия и суров протеин за всяка от двете групи птици са изключително близки (разлика от 28 kcal за енергията и 1,4 g суров протеин). Тези незначителни разлики при равни условия на залагане на фуража и за двете групи патици през целия период на изследването, показват, че птиците от контролната група са приемали фураж, енергия и суров протеин в еднакви количества с патиците от експерименталната група.

Таблица 19. Тегловно развитие и прираст.

Показатели /kg/	Католит опитна група	Вода контролна група
Живо тегло 1-ви ден (n=10)	1,636 kg* ± 92 g**	1,691 kg ± 102 g
Живо тегло 15-ти ден (n=10)	2,83 kg ± 199 g	2,75 kg ± 161 g
Живо тегло 30-ти ден (n=8)	2,88 kg ± 166 g	2,76 kg ± 125 g
Прираст за периода (n=8)	1,26 kg ± 187 g	1,07 kg ± 86 g
Трупно тегло *** (n=8)	2,55 kg ± 148g	2,47 kg ±122g

* Средна стойност; ** Стандартно отклонение; Трупно тегло *** - труп след клане – обезкървен цял труп без перата; n – брой патици.

От таблицата се вижда, че в началото на опитния период има лек превес в средните стойности на живото тегло за животните от контролната група, докато в края на периода средните стойности за живо тегло при патиците от опитната група показват не само наваксване, но и се покачват спрямо тези при контролната група (резултатите са статистически недостоверни, P>0,05). Трупното тегло също е с по-високи средни стойности при експерименталната група (P>0,05). На

база на живото тегло в началото и края на опитния период, птиците, пили католит, дават по-високи стойности на среден дневен прираст за периода – средно 42 g/ден, докато тези от контролната група (пили вода) – средно 36 g /ден прираст, като резултати са статистически достоверни ($P < 0,05$).

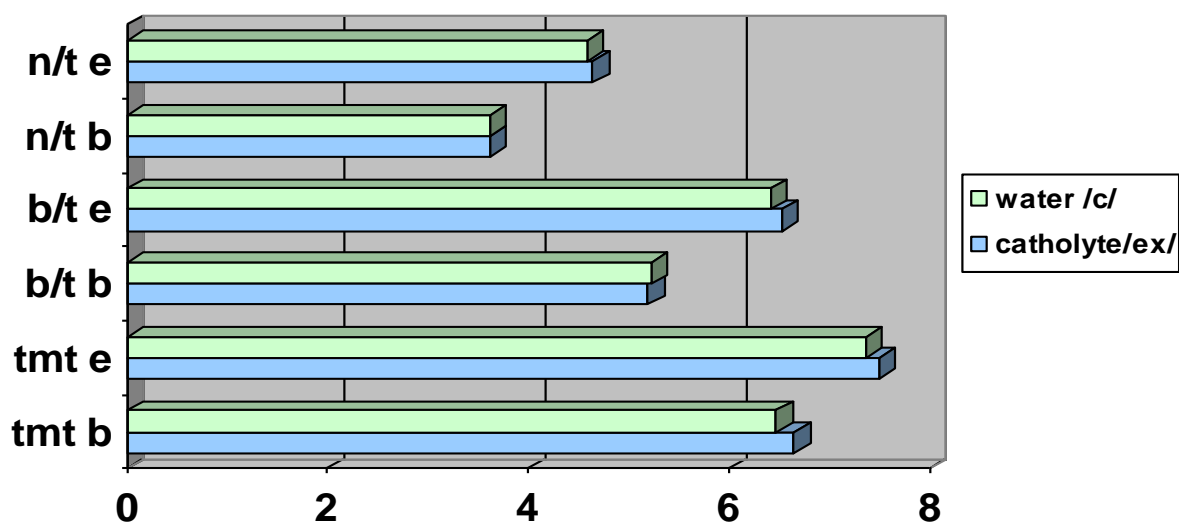
Таблица 20. Оползотворяване на фуража, енергията и протеина.

Показатели	Католит опитна група (n=8)	Вода контролна група (n=8)
Разход на фураж (kg/kg прираст)	8,6 kg	9,8 kg
Разход на енергия (kcal/kg прираст)	26 417 kcal	30 052 kcal
Разход на протеин (g/kg прираст)	1448 g	1650 g

Обобщено, данните от таблици 19 и 20 показват, че при равен прием на фураж, енергия и суров протеин (таблица 18) и при еднакви условия на отглеждане, птиците от опитната група (пили католит) дават по-голям среден прираст за периода при по-малък с 1,188 kg разход на фураж от разхода на фураж за килограм прираст на птиците от контролната група (пили вода). Съответно и стойностите разход на енергия и разход на суров протеин за килограм прираст са по-големи при птиците от контролната група. Анализът на данните от трите таблици показва, че патиците, пили католит (при равни други условия) усвояват по-пълноценно (по-голям прираст) и по-ефективно (по-малък разход на фураж/kg прираст) приетия фураж.

На фигура 3 са представени графично средните стойности на второстепенни селекционни параметри – дължина на тарзо-метатарзална кост; дължина човка основа/връх и дължина човка ноздра/връх в началото и края на опитния период за животните от опитната и контролната група. Получените резултати, показват по-високи средни стойности на дължината на тарзо-метатарзалната кост в края на периода при птиците от опитната група. Подобно е нарастването и при тези на дължина на човката от основата

до върха и дължина на човката от ноздрата до върха, като няма статистическа достоверност на данните в отчетените резултати ($P > 0,05$).



tmt - тарзо-метатарзална кост; *b/t* дължина на човката от основата до върха; *n/t* – дължина на човката от ноздрата до върха; *b* – начало ; *e* –край.

Фигура 3. Средни стойности за дължина на тарзо-метатарзална кост (tmt), дължина на човката от основата до върха (b/t), дължина на човката от ноздрата до върха (n/t) на опитна и контролна група в началото (b) и края (e) на изследването.

Резултатите от тестваните биохимични параметри на кръвни проби, взети от изследваните птици, са представени в таблица 21. Биохимичният анализ на кръвните показатели на птиците и от двете групи на 12-тия ден от периода показва незначителни разлики. Тази тенденция остава стабилна през целия експериментален период. От таблицата се вижда, че нивата на урея, креатинин, албумин и общ протеин са увеличени на 30-тия ден и в двете групи, но остават в референтния диапазон. Вариации в ензимната активност между групите в зависимост от деня на вземане на проби също са видими – увеличава се аланин аминотрансферазата и намалява алкалната фосфатаза при ден 30-ти в сравнение с ден 12-ти. Наблюдава се и леко увеличение на стойностите на фосфор в кръвта. Експерименталната група показва малко по-високо ниво на ALP при ден 12-ти и ден 30 -ти, докато нивата на ALAT и ASAT са сходни. Прегледът на наличната

литература не откри данни за обяснение на наблюдаваните колебания в рамките на или между групите.

Таблица 21. Серумни стойности на биохимичните показатели на кръвта на патиците от експериментална и контролна група, отчетени на 12-ия ден (D12) и на 30-ия ден (D30) от експерименталния период.

Показател <i>Units</i>	Католит (n=10) D12	Вода (n=10) D12	P <0.05	Католит (n=8) D30	Вода (n=8) D30	P <0.05
UREA <i>mmol/l</i>	1.35* ±0.44**	1.3 ±0.57	0.830	2.83 ±0.52	2.55 ±0.77	0.399
CREAT <i>µg/l</i>	18.32 ±8.69	15.64 ±8.88	0.373	23.3 ±10.11	24.78 ±5.94	0.726
ASAT <i>U/l</i>	10.63 ±7.87	11.87 ±19.86	0.692	13.77 ±8.27	16.21 ±3.92	0.468
ALAT <i>U/l</i>	31.03 ±19.49	27.90 ±19.86	0.726	29.06 ±15.42	31.42 ±8.3	0.710
ALP <i>U/l</i>	401.51 ±178.85	355.11 ±234.77	0.625	176.33 ±97.31	154.92 ±48.04	0.589
ALB <i>g/l</i>	13.00 ±6.61	12.61 ±7.43	0.902	15.71 ±1.02	14.96 ±1.16	0.192
TP <i>g/l</i>	24.87 ±13.14	28.99 ±15.50	0.634	29.01 ±11.38	31.38 ±1.78	0.577
Ca <i>mmol/l</i>	2.39 ±1.17	2.32 ±1.22	0.960	2.46 ±0.75	2.72 ±0.1	0.354
P <i>mmol/l</i>	1.84 ±0.96	1.57 ±0.89	0.523	2.34 ±0.44	1.93 ±0.32	0.048
K <i>mmol/l</i>	5.40 ±2.81	5.72 ±2.95	0.806	4.25 ±2.98	3.97 ±0.48	0.804

* Средна стойност; ** Стандартно отклонение; P <0.05 – статистическа достоверност; n – брой патици; CREAT – Креатинин; ASAT – Аспартат аминотрансфераза; ALAT – Аланин аминотрансфераза; ALP – Алкална фосфатаза; ALB – Албумин; TP – Общ белтък; Ca – Калций; P – Фосфор; K – Калий.

II.3.5. Изследване на ефекта на анолити и католити при лечение на някои бактериални и микотични инфекциозни заболявания при пациенти (*in vivo*).

Изследван е терапевтичният ефект на ЕАВР и ЕХАВР - католити и анолити, използвани самостоятелно или последователно в комбинация, но приложени като единствено терапевтично средство за лечение на изследваните клинични случаи. Терапията е приложена на кучета от различни породи с етиологично диагностицирани клинични форми на дерматит, отит, офталмологични и раневи инфекции, при някои от които представеното като изходно състояние, е след приложена терапия с други терапевтични средства без задоволителен и дълготраен ефект. Изолирани и идентифицирани са редица клинични бактериални щамове с доказана резистентост към различни широко прилагани в практиката антибиотици. Проследен е терапевтичният процес при съответните клинични състояния, като не са използвани експериментално заразени животни. Физико-химичните параметри на използваните електролизирани водни разтвори са представени в таблица 22.

Таблица 22. Средни стойности на параметрите pH, ORP и t°C на приложените електрохимично активирани водни разтвори.

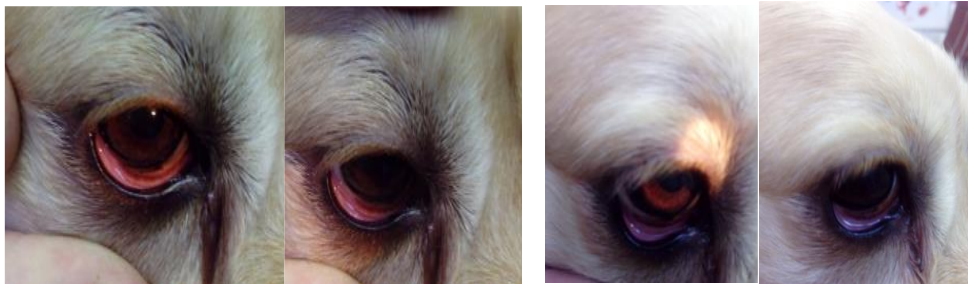
Вид ЕВР	pH	ORP/ mV	t°C
Анолит без сол	3,52 ± 0,6	143 ± 17,5	18,5 ± 3,5
Анолит с NaCl	2,4 ± 0,2	266 ± 6,5	14 ± 5,3
Католит с NaCl	11,8 ± 0,18	- 272 ± 12,3	19 ± 4,6
Католит без сол	9,6 ± 0,12	- 144 ± 11,5	16 ± 6,1

II.3.5.1. Клинични конюнктивити. Тази група е представена само от 1 вид животни – кучета, при които е проследен терапевтичният ефект на електроактивиран или електрохимичноактивиран анолит.

Пациент 1. Клинична диагноза: **Conjunctivitis serosa** с неизследван бактериален причинител (фиг. 4).

Изходно състояние:

7-ми ден:



Фигура 4. Пациент 1: ляво - преди терапията; дясно - след едноседмично приложение на анолит (без NaCl).

Пациент 2. Клинична диагноза: **Conjunctivitis purulenta**, причинен от *Staphylococcus warneri* (фиг. 5).

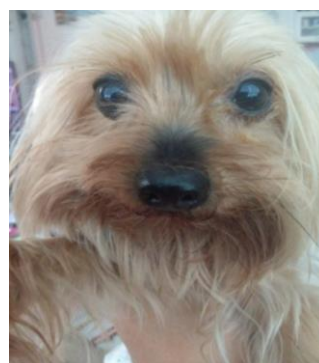
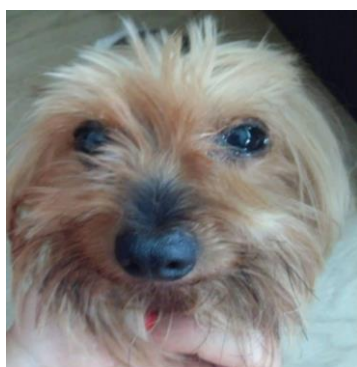
Изходно състояние:

а)



1-ви ден:

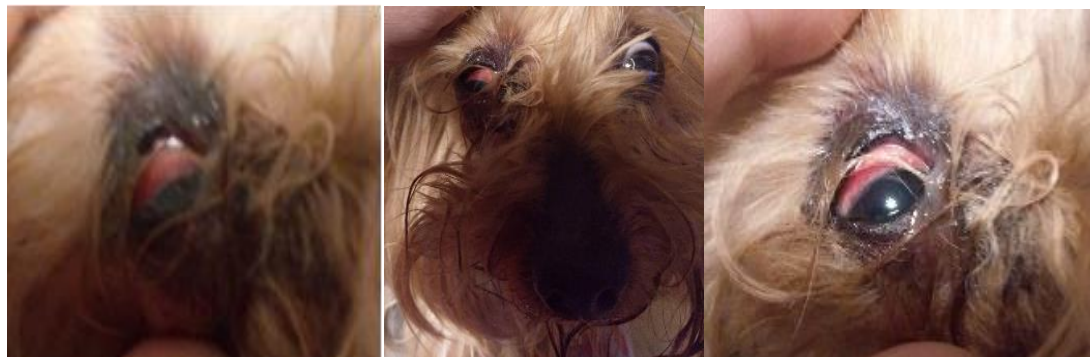
2-ри ден:



Фигура 5. Пациент 2: горе вляво - преди третиране; горе вдясно а) чуждо тяло, извадено от долния ляв клепач; долу - на първия и на втория ден от третирането с анолит (с 0,3% NaCl).

Пациент 3. Клинична диагноза: **Conjunctivitis purulenta**, изолиран е *Streptococcus agalactiae* gr. B (фиг. 6).

Изходно състояние:

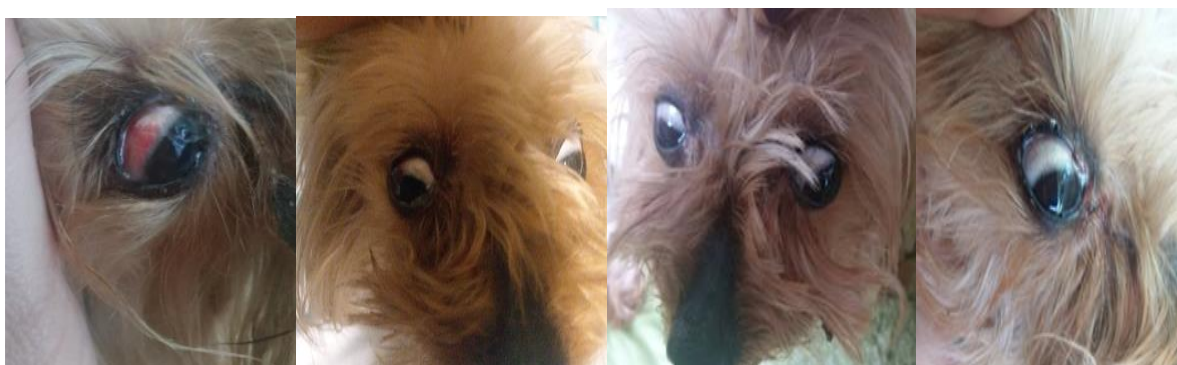


1-ви ден:

2-ри ден:

3-ти ден:

4-ти ден:



Фигура 6. Пациент 3: горе - преди терапията; долу от ляво на дясно: на първи, втори, трети и четвърти ден от третирането с анолит (с 0,3% NaCl).

II.3.5.2. Полибактериални отити. Проследени са клинични случаи на силно усложнени отити (с обтурация на ушния канал) при кучета с различна породна предразположеност към хронични отити. Терапията е проведена с приложение на ЕХАВР католит и анолит (с 0,3% NaCl).

Пациент 4. Клинична диагноза: **Otitis purulenta bilateralis cum obturatio canalia auricularia externa.** Изолирани бактерии: *Streptococcus* spp, *Staphylococcus* spp., *E. faecalis* и *E. coli* (фиг. 7).

Изходно състояние:

7-ми ден:

20-ти ден:



Фигура 7. Пациент 4: вляво - изходно състояние; в средата - след 1-седмично- и вдясно след 20-дневно третиране с католит и анолит.

Пациент 5. Клинична диагноза: **Otitis purulenta chronica bilateralis**, полибактериална стафилококова, ентерококова инфекция с участието и на *E. coli* (фиг. 8).

Изходно състояние:

10-ти ден:

20-ти ден:

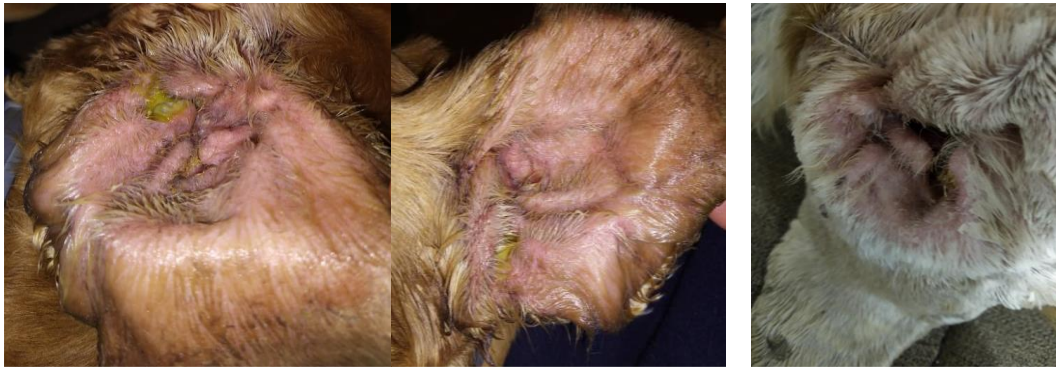


Фигура 8. Пациент 5: от ляво на дясно - изходно състояние, на 10-ти ден и след 20-дневно третиране с католит и анолит.

Пациент 6. Клинична диагноза: **Otitis purulenta chronica bilateralis**. Полибактериална инфекция от *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp. и *Pseudomonas* spp. (фиг. 9).

Изходно състояние:

20-ти ден:



Фигура 9. Пациент 6: вляво и в средата - изходно състояние (след третиране с „Алотрифин“ в продължение на 1 месец) и след 20-дневно третиране с католит и анолит (вдясно).

II.3.5.3. Инфектирани кожни рани с различен произход. В тази група са включени пациенти (9 кучета и една котка) с различни по етиология и усложненост инфектирани кожни възпалителни процеси. При всички пациенти от тази група е прилаган електрохимичноактивиран анолит, получен след електролиза на воден разтвор с 0,3% NaCl.

Пациент 7. Клинична диагноза: **Vulnus infectum corporis aliena regio palmaris dextra** (фиг.10).

Изходно състояние:

3-ти ден:

5-ти ден:

7-ми ден:



Фигура 10. Пациент 7: изходно състояние и динамика на оздравителния процес след третиране с анолит.

Пациент 8. Клинична диагноза: **Vulnus purulenta regio articulatio tarsi dextra** (фиг. 11).

Изходно състояние:

3 -ти ден:

5-ти ден:



Фигура 11. Пациент 8: изходно състояние и след третиране с анолит.

Пациент 9. Клинична диагноза:

9.А. **Vulnus purulenta postoperationem** (фиг. 12);

9.Б. **Vulnus purulenta regio dorsi** (фиг. 13).

Изходно състояние:

3-ти ден:

5-ти ден:

7-ми ден:



Фигура 12. Пациент 9.А. от ляво на дясно: изходно състояние и динамика на процеса на зарасване на раната по дни след третиране само с анолит.

Изходно състояние:

3-ти ден:

5-ти ден:



Фигура 13. Пациент 9.Б: изходно състояние и след третиране с анолит.

Пациент 10. Клинична диагноза: **Vulnus infectum post medicamentorum regio dorsi** (фиг. 14).

Изходно състояние:

3-ти ден:

5-ти ден:



Фигура 14. Пациент 10: изходно състояние и след третиране с анолит.

Пациент 11. Клинична диагноза: **Vulnus infectum post morbi a parasita regio dorsi** (фиг. 15).

Изходно състояние:



5-ти ден:



Фигура 15. Пациент 11: изходно състояние (рана с главичка и хоботче на кърлеж, останали в мястото на ухапване) и след третиране с анолит.

Пациент 12. Клинична диагноза: **Vulnus infectium post morbi a parasita regio abdomini** (фиг. 16).

Изходно състояние:



7-ми ден:



Фигура 16. Пациент 12: изходно състояние на раната и след третиране с анолит.

Пациент 13. Клинична диагноза: **Vulnus infectium post morbi a parasita dorsalis regio auricularis sinistra** (фиг. 17).

Изходно състояние:

3-ти ден:

7-ми ден:



Фигура 17. Пациент 13: изходно състояние на раната и след третиране с анолит.

Пациент 14. Клинична диагноза: **Vulnus infectium post morbi a parasita regio occipitalis** (фиг. 18).

Изходно състояние:

5-ти ден:



Фигура 18. Пациент 14: изходно състояние и след третиране 5 дни с анолит по предписание.

Пациент 15. Клинична диагноза: **Dermatitis infectiosa post sectione regio auricularis medialis sinistra** (фиг. 19).

Изходно състояние:

10-ти ден:



Фигура 19. Пациент 15: изходно състояние (вляво) и след третиране с анолит (вдясно).

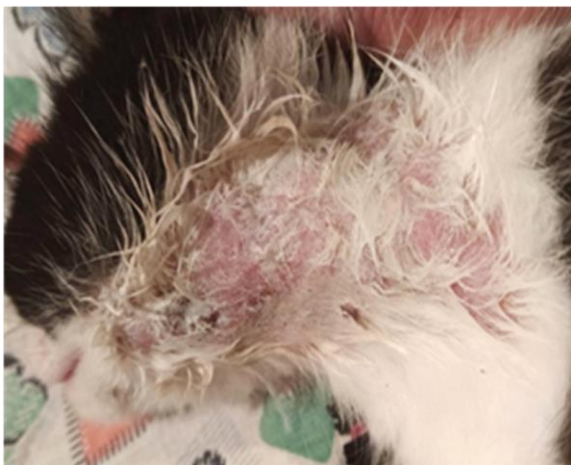
Пациент 16. Клинична диагноза:

16.А. Dermatitis post combustio medicamentorum
(фиг. 20)

16.Б. Abscessus regio colli medialis (фиг. 21).

Изходно състояние

14-ти ден



Фигура 20. Пациент 16.А: изходно състояние и след 14-дневно третиране с анолит.

Изходно състояние

а)

14-ти ден



Фигура 21. Пациент 16.Б: изходно състояние (вляво) – самоотворил се абсцес; в средата - а) гнойни изтечения от абсцеса; вдясно - състояние на мястото на абсцеса след 14-дневно третиране с анолит.

II.3.5.4. Дерматомикози. В тази група, за проследяване на терапевтичния ефект на електролизирани водни разтвори, са включени 4 морски свинчета и 2 кучета. Терапията при всички пациенти е проведена чрез външно третиране с ЕХАВР анолит (0,3% NaCl). При морските свинчета с трихофития е включен и *per os* прием на католит (без сол). С оглед на същността на този ЕАВР и данните от научната литература за механизма му на действие, включването на католит в терапията на трихофитията при морските свинчета е с цел проследяване на вероятен потенциален негов ефект при овладяване на токсичния шок, който е характерен с бързо ескалиране и с летални последици при тези гризачи със заболяване от трихофития.

Пациенти 17, 18, 19, 20. Клинична диагноза: **Trichophytia** с изолиран и доказан причинител *T. mentagrophytes* (фиг. 22, 23, 24 и 25).

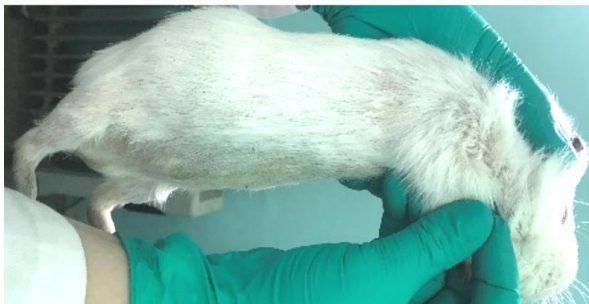
Изходно състояние:

15-ти ден:



30-ти ден:

45-ти ден:



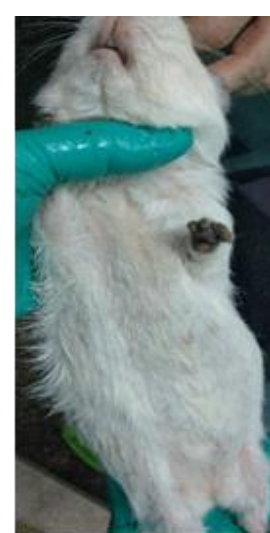
Фигура 22. Пациент 17: преди терапия (горе ляво), 15 – ти ден (горе дясно), 30 – ти ден (долу ляво) и 45 – ти ден (долу вдясно) от третиране външно с анолит и прием на католит *per os*.

Изходно състояние:

15 -ти ден:

30-ти ден:

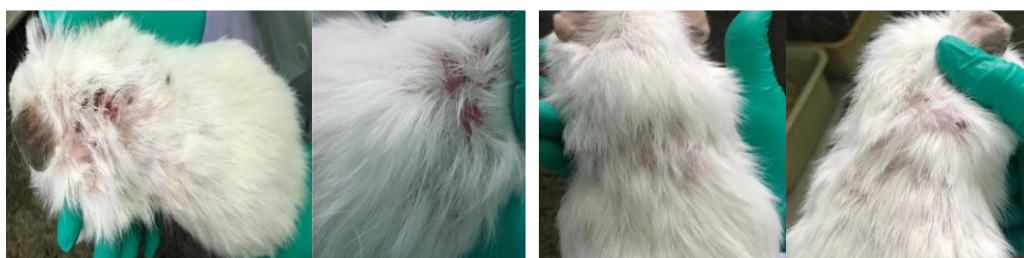
45-ти ден:



Фигура 23. Пациент 18 от ляво на дясно: първоначално състояние, 15 - ти, 30 - ти и 45 – ти ден от третиране външно с анолит и прием на католит *per os*.

Изходно състояние:

15-ти ден:



30-ти ден:

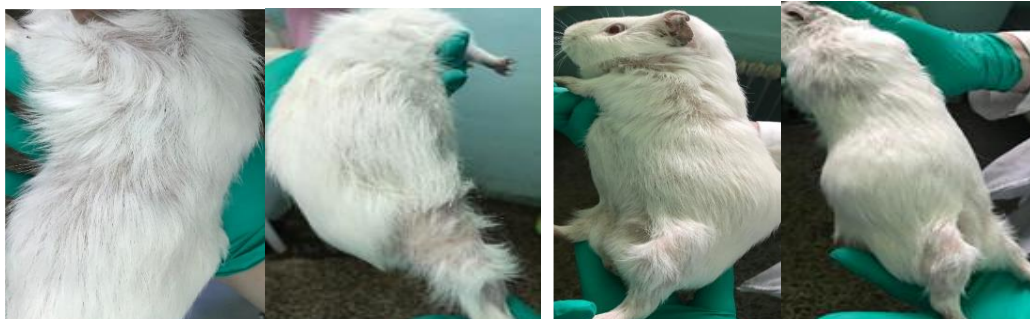
45-ти ден:



Фигура 24. Пациент 19: преди терапията (горе вляво), 15 – ти (горе дясно), 30 – ти (долу вляво) и 45 – ти (долу вдясно) ден от третиране външно с анолит и прием на католит *per os*.

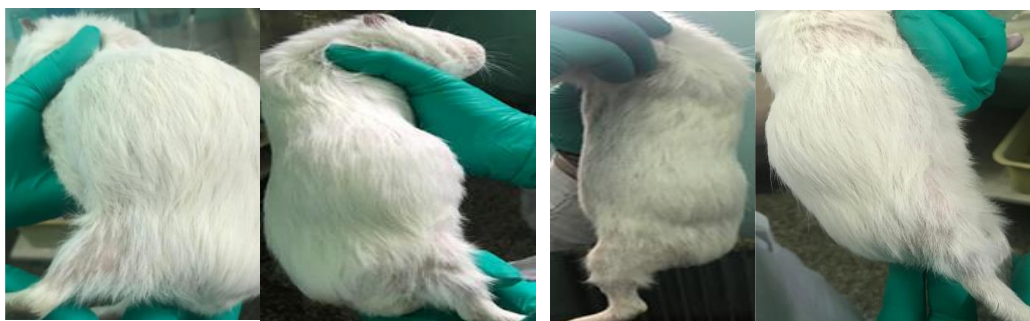
Изходно състояние:

15-ти ден:



30-ти ден:

45-ти ден:



Фигура 25. Пациент 20: изходно състояние, 15 - ти, 30 - ти и 45 – ти ден от третиране външно с анолит и прием на католит *per os*.

Пациент 21. Клинична диагноза: **Microsporia**, изолиран причинител - *M. canis* (фиг. 26).

Исходно състояние:



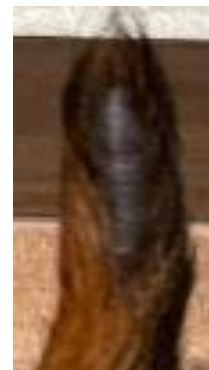
2-ри ден:



5-ти ден



15-ти ден:



Фигура 26. Пациент 21 от ляво на дясно: първоначално състояние, на 2 - ри, 5 - ти и 15 – ти ден от третиране външно с анолит.

Пациент 22. Клинична диагноза: **Microsporia**, изолиран причинител - *M. canis* (фиг. 27).

Исходно състояние:



7- ми ден:



10-ти ден:



Фигура 27. Пациент 22 от ляво на дясно: изходно състояние; на 7 - ми и 10 – ти ден от третирането външно с анолит.

II.3.5.5. Смесени бактериални и микотични кожни инфекции.

Пациенти 23 и 24. Клинична диагноза: **Dermatitis infectiosa regio nasi**, причинен от смесена бактериална и микозна инфекция: *S. epidermidis*, *P. fluorescens* и *M. nanum* (фиг. 28 и 29). Приложени са външно анолит и католит, получени без добавяне на сол в разтвора за активация.

Изходно състояние:



7-ми ден:



Фигура 28. Пациент 23 преди терапията и след едноседмично приложение на анолит и католит.

Изходно състояние:



7-ми ден:



Фигура 29. Пациент 24 преди терапията и след едноседмично приложение на анолит и католит.

Пациент 25. Клинична диагноза: **Dermatitis infectiosa regio perinealis**. От взетия материал за лабораторно

изследване (тампонна проба) са изолирани *E. coli* и *S. albicans* (фиг.30).

Изходно състояние:

3 - ти ден:



Фигура 30. Пациент 25 преди терапията (вляво) и вдясно - след тридневно третиране с анолит (0,3% NaCl).

II. 4. ИЗВОДИ

1. Анолит (получен при активация на 0,3% воден разтвор на NaCl) показва бърз бактерициден ефект, сходен с този на широкоспектърния препарат Virkon S, при действие в суспензии на *S. aureus*, *E. coli*, *S. enterica*, *P. aeruginosa* с концентрации от 10^6 кл./ml. Този ефект се запазва и след 4-седмично съхранение на тъмно при стайна температура като престоялият анолит проявява висока бактерицидна активност по отношение на патогенни Грам-отрицателни бактерии от видове, които се отличават с особено висока устойчивост към антибактериални средства, като *P. aeruginosa* и *S. enterica* със значителна гъстота на изпитаните суспензии (10^8 кл./ml).

2. Анолити, получени при активиране с 0,8 % NaCl, както и с комбинация от 0,4 % NaCl и 0,4 % Na₂CO₃, проявяват висока бактерицидна активност върху полирезистентен вирулентен щам на *P. aeruginosa*. Анолитът без соли не оказва такова действие. При потенциране на анолитите чрез прибавяне на 96° етанол в крайна концентрация 1% се съкращава времето на бактерицидна

активност в рамките на 2 min. Използването на католит с NaCl за разтваряне на Virkon S има за резултат повишаване на ефекта му в сравнение с използването му като воден разтвор.

3. От изследваните католити най-висока бактерицидна активност проявява този, получен при активиране с комбинация от 0,4 % NaCl и 0,4 % Na₂CO₃. Католитът, получен с NaCl, проявява бактерицидна активност, но при концентрация 100% за експозиционно време 10-15 min. При получаване на EXABP без добавяне на соли не се наблюдава бактерицидно действие срещу мултирезистентен щам на *P. aeruginosa*. След съхранение в продължение на 29 дни изпитаните електрохимично активирани водни разтвори запазват в максимална степен бактерицидните си свойства спрямо изследвания щам на *P. aeruginosa*.

4. Електрохимично активиран анолит, прибавен в равно количествено съотношение към обезводнена утайка от градска пречиствателна станция, води до 20 пъти редуция на количествата на микроорганизмите след 24 часово въздействие.

5. Анолитът, приготвен чрез електролиза на вода с 0,3% NaCl, е ефикасно средство за дезинфекция на работни плотове, маси и мивки в микробиологична учебна лаборатория, като действието му е подобно на това на хлорхексидина, както и на този на търговски дезинфектант на спиртна основа (с 99,9% бактерициден ефект, разработен и изпитан във връзка с пандемията от Covid-19) при почистване на лапите на кучета след разходка.

6. Електроактивирана алкална вода католит, приемана в продължение на един месец като единствена вода за пиене от патета на 8-седмична възраст, има стимулиращ ефект върху растежа и развитието им по отношение на продуктивните и вторично селективните растежни показатели. Приеманият католит не показва токсичен ефект и отрицателно влияние за черния дроб и бъбреците за изследвания период на прием.

7. Анолитът проявява терапевтичен и широкоспектърен бактерициден ефект към редица бактериални щамове с доказана полирезистентност към различни клинично

прилагани антибиотици, когато е приложен за лечение на полибактериални инфекции при кучета – гнойни конюнктивити, отити и кожни рани. Анолитът показва и противогъбичен терапевтичен ефект, приложен външно при лечение на дерматомикози, причинени *T. mentagrophytes* и *M. canis*, както и при смесени кожни инфекции с участието на *Microsporium nanum*, *S. epidermidis* и *P. fluorescens*; *C. albicans* и *E. coli*, като същевременно благоприятства и заздравяването на кожни рани и раздразнения, причинени от тях.

8. Електрохимично активиран католит (от воден разтвор на 0,3% NaCl), приложен в комбинирана схема преди електрохимично активиран анолит, има за резултат постигане на по-добър терапевтичен ефект при хронични бактериални отити. Електроактивиран католит(без соли), приеман *per os* по време на терапия външно с електрохимично активиран анолит при морски свинчета с тежка форма на трихофития, има благоприятен ефект в овладяването на последиците от токсичен шок.

9. Анолитът не дразни кожата, лигавиците и конюнктивите на очите; не предизвиква странични нежелани алергични и други реакции на кожата (парене, еритем, лющене и напукване на кожата), няма остра дразнеща миризма.

II. 5. ПРЕПОРЪКИ ЗА ПРАКТИКАТА

1. Препоръчва се приложението на електрохимично активиран анолит (от 0,3% воден разтвор на NaCl) като бактерицидно средство, където и когато е възможно и достатъчно, с цел избягване на прекомерната употреба на антибактериални и дезинфекционни препарати, като подход за овладяване на един сериозен проблем на световно ниво.

2. Препоръчва се електроактивиран католит (без сол; рН 9,5 - 9,6) за вътрешен прием без ограничения, като профилактично и положително стимулиращо организма средство, ефикасно и при справяне с неблагоприятните последици от токсичен шок при морски свинчета с трихофития.

3. Електрохимично активираният католит (с 0,3%NaCl) се препоръчва за външно третиране, особено на повърхности, замърсени с органични секрети, с цел обезмасляване, измиване и подготовка на средата за действието на последващо приложено дезинфекционно и/или терапевтично средство, а отделилият се успоредно с него анолит, може да се използва за почистване и дезинфекция на различни полибактериално замърсени повърхности като работни плотове и маси, мивки, кучешки лапи.

4. При бактериални инфекции (конюнктивити, отити, кожни рани) причинени от устойчиви и резистентни бактериални щамове, както и при дерматомикози (трихофития, микроспория и смесени бактериално-микотични инфекции на кожата), се препоръчва приложение на електрохимично активиран анолит (от електролиза на воден разтвор на NaCl), тъй като проявява по-силно изразен антимикробен ефект (в сравнение с електроактивирания), който се запазва непроменен и след по-дълго време на съхранение.

5. С оглед на широкия спектър на приложение на електролизираните водни разтвори, препоръчваме те да се популяризират сред ветеринарномедицинските специалисти в България. Католити и анолити могат да се използват при редица патологични процеси при животни, особено при безстопанствени такива, за които не би могло да се заплати цената на лекарствени препарати, тъй като са средства с ниска ценова себестойност (след закупуване на електролизер) и показват добри антибактериални и терапевтични качества.

II. 6. НАУЧНО-ПРИЛОЖНИ ПРИНОСИ

II.6.1. Оригинални приноси.

1. За пръв път е сравнен бактерицидният ефект *in vitro* на електрохимично активиран анолит с този на широкоспектърен, стандартизиран и често използван в практиката дезинфекционен препарат Virkon S спрямо референтни и теренни, полирезистентни бактериални щамове на Грам-положителни и Грам-отрицателни бактерии

с екологично и эпизоотично значение като *S. aureus*, *E. coli*, *S. enterica*, *P. aeruginosa*.

2. За пръв път е проследен процеса на запазване ефекта на изходни анолити и католити, след престояване на тъмно при стайна температура за 7, 14, 21, 28 и 29 дни.

3. За пръв път е изследван и доказан ефект на потенциране действието на регистриран търговски дезинфектант Virkon S в прахообразно състояние, след разреждането му в съответната концентрация с електрохимично активиран католит, в сравнение с водния му разтвор.

4. За пръв път е изследван ефекта на електрохимично активиран анолит за обезвреждане на обезводнена утайка от градска пречиствателна станция.

5. За пръв път е сравнен бактерициден ефект на електрохимичноактивиран анолит с този на хлорхексидин за третиране на лабораторни маси, плотове и мивки в микробиологична лаборатория.

6. За пръв път е доказан аналогичен бактерициден ефект на електрохимичноактивиран кисел анолит с този на широкоспектърен препарат на спиртна основа (разработен за дезинфекция на ръцете във връзка с Covid – пандемията) при третиране на лапи на кучета след разходка.

7. За пръв път е изпитан биостимулиращ ефект на католит, приеман като единствена вода за пиене в продължение на един месец и е доказана липса на токсичност чрез проследяване на биохимичните показатели на кръвта при патици.

8. За пръв път е приложен електрохимично активиран анолит като единствена терапия за успешно лечение на гнойни конюнктивити, някои усложнени с хеморагии на склерата и хематоми на клепача при кучета.

9. За пръв път е постигнато успешно лечение на полибактериални хронични отити с obturation на ушния канал при кучета с комбинирано приложение последователно на електрохимично активиран католит и електрохимично активиран анолит.

10. За пръв път е изследван ефект на анолит за успешно лечение и бързо заздравяване на инфектирани кожни рани с различен произход при кучета.

11. За пръв път е изследван ефекта на електрохимично активиран анолит за успешно лечение след промивки на кухината на гноен абсцес.

12. За пръв път като единствено терапевтично средство е приложен електрохимично активиран анолит за успешно лечение на трихофития при морски свинчета и микроспория при кучета, както и при смесени бактериални и микотични кожни инфекции.

III. ПУБЛИКАЦИИ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. Petrova, T., A. Kurtenkov, Z. Shindarska, S. Radanski, S. Ivanov. **2022.** Study of the effect of electrolyzed reduced water (catholyte) on the indices productivity of ducks, Tradition and modernity in veterinary medicine, Scientific Journal of the Faculty of Veterinary Medicine of University of Forestry, Sofia, Bulgaria, Vol. 7, № 2 (13): 57 - 63. ISSN 2534-9333 e-ISSN 2534-9341.

2. Petrova, T., A. Kurtenkov, I. Manev, M. Petrov, V. Marincheva, K. Genova. **2022.** Influence of electroactivated reduced water on the blood biochemical profiles of White Pekin duck. Tradition and modernity in veterinary medicine, Scientific Journal of the Faculty of Veterinary Medicine of University of Forestry, Sofia, Bulgaria, Vol. 7, № 2 (13): 104 - 107. ISSN 2534-9333 e-ISSN 2534-9341.

3. Petrova, T., T. Popova. **2022.** Investigation of the effect of anolyte for surface disinfection, Bulgarian Journal of Soil Science, Agrochemistry and Ecology, 56 (3), 24-32. ISSN 0861-9425.

4. Popova, T. P., T. Petrova, S. Karadzhov, G. Krustanova. **2016.** Investigation of the biocidal effect of electrochemically activated aqueous sodium chloride solution on Staphylococcus aureus. Traditions and modernity in veterinary medicine, Scientific Journal of the Faculty of Veterinary Medicine of University of Forestry, Sofia, 1, 1, 67-72. ISSN 2534-9333, e-ISSN 2534-9341.

IV. SUMMARY

Antimicrobial action and biological effects of electrochemically activated water solutions

Toshka Evgenieva Petrova

Population nutrition, public health and environmental protection are global issues. An extreme problem in modern medicine is the increasing resistance of pathogenic bacteria to both antimicrobials and disinfectants. This is a prerequisite for the search for new effective antimicrobial agents, which at the same time are not dangerous for patients and the environment, as well as do not provoke the development of resistance to them. One of the promising modern approaches in this aspect is the treatment of water with electric current, which leads to the production of electro- or electrochemically activated aqueous solutions (catholytes and anolytes).

In the current scientific work, the antimicrobial effect of electroactivated and electrochemically activated aqueous solutions - anolytes and catholytes *in vitro* against pathogenic bacteria was studied and the period of preservation of their effect after storage at room temperature in the dark was followed. Their effect was compared with that of a standardized preparation Virkon S. The obtained results show an antimicrobial effect of the investigated ECAWS, which is like that of the control preparation, as they retain their effect even after 4 weeks of storage. Studies have been carried out to determine the effect of a Cl⁻ containing anolyte obtained by electrochemical activation of sterile distilled water with 3% NaCl to evaluate its application as an antimicrobial agent against dewatered sludge from a municipal sewage treatment plant. The antimicrobial effect of anolyte when used as a disinfectant and antiseptic agent on various surfaces and materials of inorganic and organic matter was studied. When examining the disinfection effect of anolyte on surfaces from laboratory sinks, laboratory worktops and tables after 10 min of exposure, it showed a similar antimicrobial effect to that of the control preparation chlorhexidine. In the study of skin surfaces - antiseptic of dogs' paws after a walk, the effect of acidic anolyte is completely the same as a broad-spectrum alcohol-based disinfectant - a commercial product with

a 99.9% bactericidal spectrum of action. The biostimulating effect of catholyte taken *per os, ad libitum* to improve the productivity and growth indicators of ducklings of the White Pekin duck breed from 8 weeks of age was monitored for a period of one month. The analysis of the results shows higher values of the indices productivity of ducks from the experimental group and higher secondary growth selection indicators, with values of serum biochemical indicators of blood preserved within the physiological range for both groups of ducks - experimental and control. Studies have been carried out to determine the therapeutic effect of electro- and electrochemically activated aqueous solutions - anolytes and catholytes *in vivo*, administered alone or in combination, in patients with various infections: clinical conjunctivitis; polybacterial otitis; infected skin wounds of various origins; dermatomycoses; mixed bacterial and mycotic skin infections – case reports.

Keywords: *electrolyzed aqueous solutions, electrochemically activated aqueous solutions, anolytes, catholytes, antimicrobial action, biostimulatory effect.*

V. БЛАГОДАРНОСТИ

На първо място огромни благодарности на **научния ми ръководител проф. Теодора Попова**, която първа ме запозна с електролизираната вода и с която, чрез усърден съвместен труд, успяхме да разработим настоящия дисертационен труд.

Част от настоящите разработки са финансирани от ЛТУ със средства, отпуснати целево от Държавния бюджет в резултат на изпълнение на **Договор № Б25/07.03.2018 г.** за научен проект на тема „Изпитване антимикробната активност на електрохимично активиран воден разтвор анолит“ с ръководител проф. Теодора Попова и в резултат на изпълнение на **Договор № Б-1004/ 26.03.2019 г.** за научен проект на тема „Ефект на приложение на електрохимично активирани водни разтвори върху селекционни параметри и здравословен статус при селскостопански птици и зайци“ с ръководител доц. Андрей Куртенков.

Особени благодарности към секция „Инфекциозна микробиология“ към „Институт по Микробиология Стефан Ангелов“, БАН, ул. „Акд. Георги Бончев“26, София, 1113 и

ръководителят ѝ **чл. кор. Христо Найденски** за научните консултации и за предоставената възможност да използваме апаратурата и лабораторните животни на Департамента.

Благодарности на Ветеринарен кабинет „Д-р Милко Петров“ София-център, ул. „Врабча 12А, София 1000, ветеринарен лекар **д-р Милко Петров**, който с клиничната си дейност участва при приложението на електролизирани водни разтвори на пациенти от кабинета.

Благодарим на Ветеринарен кабинет “Union Vet”, ул. „Буенос Айрес“ 5, София, 1172, ветеринарен лекар **д-р Мила Калева**, която участва в работата с лабораторните животни на БАН и пациенти от кабинета.

Искрени благодарности и към колегите, с които работихме и се учихме през всички тези години: **проф. Стоил Караджов, проф. Игнат Игнатов, проф. Запрянка Шиндарска, проф. Мария Игнатова, проф. Георги Славчев, доц. Красимира Генова, доц. Андрей Куртенков, доц. Станислав Радански, доц. Илиян Манев, д-р Виктория Маринчева, д-р Светлин Иванов.**

Изказваме нашите благодарности и **към стопаните на домашни любимци**, които ни се довериха и стриктно спазваха предписаната им схема на приложение на електролизираните водни разтвори.