

УДК 579.66 : 615.099

ПРОБЛЕМА БИОБЕЗОПАСНОСТИ ПРОМЫШЛЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В РОССИИ: НАСТОЯЩЕЕ И БУДУЩЕЕ

*Н.И. Шеина¹, Э.Г. Скрябина¹, Ю.П. Пивоваров¹,
Е.В. Буданова², Л.И. Мялина¹, В.В. Королик¹,
В.В. Колесникова¹, Л.П. Сазонова¹, Г.Г. Чуб¹*

¹ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
117997, г. Москва, Российская Федерация

²ФГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет» им. И.М. Сеченова
Министерства здравоохранения Российской Федерации, 119991,
г. Москва, Российская Федерация

Проведен анализ современных данных, посвященных использованию и оценке биобезопасности промышленных микроорганизмов. На основе собственных экспериментальных данных по изучению характера вредного действия биотехнологических штаммов предложена классификация их по степени опасности, выявлена зависимость опасности штаммов от их таксономического положения. Обсуждаются перспективы исследования проблемы биобезопасности штаммов микроорганизмов, используемых в биотехнологиях.

Ключевые слова: биобезопасность, биотехнологические штаммы, алергенность, иммуотропность.

Введение. Биотехнология как отрасль промышленности интенсивно развивается не только за рубежом, но и в нашей стране. Издавна «полезные» бактерии и микроскопические грибы использовали в пищевой промышленности: в производстве кисломолочных продуктов и сыра, дрожжевого хлеба, квашеной капусты и т.д.

В настоящее время ассортимент используемых штаммов-продуцентов и производимой продукции значительно расширился. Биотехнологическая промышленность на основе управления жизнедеятельностью мельчайших организмов получает широкий ассортимент продукции, используемый в медицине, ветеринарии, сельском хозяйстве, пищевой и химической промышленности и др.

К биотехнологической продукции относятся антибиотики, витамины, ферменты, вакцины, гормоны, аминокислоты и нуклеотиды, комплемент и препараты крови, иммуномодуляторы и антитела, диагностические препараты, сердечно-сосудистые, противоопухолевые и множество других фармакологических препаратов. С помощью биотехнологий получают пищевые и кормовые белки, биологические средства защиты растений, инсектициды, сахара, спирты, липиды, дрожжи, органические и неорганические кислоты, бутанол, ацетон и многие другие вещества, без которых немислимо существование современного человека.

Методом геной инженерии получены рекомбинантные штаммы-суперпродуценты, многие из которых нашли практическое применение в медицине. С их помощью производят вакцины против гепати-

Шеина Наталья Ивановна (Sheina Natal'ja Ivanovna), доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры гигиены ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, г. Москва, Российская Федерация, ni_sheina@mail.ru

Скрябина Эмилия Григорьевна (Skrjabina Jemilija Grigor'evna), кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела иммунологии ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, г. Москва, Российская Федерация

Пивоваров Юрий Петрович (Pivovarov Jurij Petrovich), академик РАН, доктор медицинских наук, профессор кафедры гигиены ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, г. Москва, Российская Федерация, gigea@rsmu.ru

Буданова Елена Вячеславовна (Budanova Elena Vjacheslavovna), кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии ФГБОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, 119991, г. Москва, Российская Федерация, e.v.budanova@mail.ru

Мялина Любовь Ивановна (Mjalina Ljubov' Ivanovna), кандидат медицинских наук, доцент кафедры гигиены ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, г. Москва, Российская Федерация, gigea@rsmu.ru

Королик Виктор Вячеславович (Korolik Viktor Vjacheslavovich), доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры гигиены ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, г. Москва, Российская Федерация, gigea@rsmu.ru

Колесникова Валентина Васильевна (Kolesnikova Valentina Vasil'evna), кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры гигиены ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, г. Москва, Российская Федерация, gigea@rsmu.ru

Сазонова Любовь Павловна (Sazonova Ljubov' Pavlovna), кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры гигиены ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, г. Москва, Российская Федерация, gigea@rsmu.ru

Чуб Галина Георгиевна (Chub Galina Georgievna), кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры гигиены ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, г. Москва, Российская Федерация, gigea@rsmu.ru

та В, интерлейкины, инсулин, гормоны роста, интерфероны, фактор некроза опухолей, пептиды тимуса, миелопептиды, антигены ВИЧ, фактор свертываемости крови, моноклональные антитела, а также многие антигены для диагностических целей.

Биотехнологические процессы (биодegradация и биоконверсия) используются в оздоровлении окружающей среды, в частности, с их помощью проводят очистку почвы, водоемов и воздуха от загрязняющих веществ.

Ряд принципиальных особенностей промышленной биотехнологии (высокая рентабельность, технологическая простота) позволяет отнести микробиологическую промышленность к одной из наиболее перспективных и экологически безопасных отраслей народного хозяйства, которая может стать первым типом производств, действительно не имеющих отходов, что еще раз подчеркивает актуальность проблемы биобезопасности промышленных микроорганизмов, полученных методами селекции и генной инженерии.

В начальный период использования штаммов микроорганизмов в биотехнологиях полагали, что данные микроорганизмы безопасны для человека и окружающей среды, т.к. они выделены из природной экологической «ниши».

Однако дальнейшие исследования показали, что биотехнология, как и любая промышленная деятельность человека, является источником загрязнения окружающей среды. Медико-экологическая опасность выбросов микробиологических предприятий определяется в первую очередь присутствием в них живых или убитых клеток микроорганизмов. Хотя в биотехнологии имеют дело только с непатогенными формами организмов, но даже попадание их в высоких концентрациях в окружающую среду может вызывать в ней нежелательные и неконтролируемые изменения.

Следствием выброса живых клеток микроорганизмов-продуцентов из биореакторов, сброса сточных вод, содержащих значительные концентрации биотехнологических штаммов микроорганизмов, принадлежащих к родам *Pseudomonas*, *Candida*, может быть изменение структуры экологических ниш в окружающих предприятия почве и воде. Результатом этого может быть также и нарушение состава сообществ микроорганизмов, взаимодействующих в этих нишах, а значит, и иная роль в круговороте веществ в природе.

Специфические нарушения здоровья работающих в микробиологической промышленности и населения селитебных зон наблюдаются в виде перестройки иммунобиологической реактивности организма с признаками аллергического повреждения респираторных органов, слизистых верхних дыхательных путей, кожных покровов,

желудочно-кишечного тракта и дисбактериоза кишечника.

В современных биотехнологиях используются около сотни видов микроорганизмов, принадлежащих к различным таксономическим группам микроорганизмов: грамотрицательные и грамположительные спорообразующие и не имеющие спор бактерии, коринеформные бактерии, нокардиоформные актиномицеты и собственно актиномицеты, дрожжеподобные грибы и микровицеты.

Токсикологические и гигиенические исследования промышленных микроорганизмов были начаты примерно в середине прошлого века. Большой вклад в изучение проблемы гигиенического нормирования биотехнологических штаммов внесли сотрудники ряда научно-исследовательских институтов, в том числе института экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н.Сысина, НИЦ антибиотиков, Государственного медицинского университета им. Н.И.Пирогова, НИИ биологического приборостроения и ВНИЦ по безопасности биологически активных веществ. Были сформулированы основные методологические подходы к оценке неблагоприятного действия штаммов-продуцентов, предложена принципиальная схема проведения токсиколого-гигиенических исследований новых биотехнологических штаммов [1-3].

В основу решения проблемы биобезопасности промышленных микроорганизмов в нашей стране положены общие методологические принципы нормирования вредных веществ в объектах окружающей среды – определение порогового уровня биологического воздействия и установление на этой основе гигиенического норматива (ПДК в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе населенных мест) [4].

Согласно принципиальной схеме токсиколого-гигиеническую оценку и санитарную стандартизацию промышленных микроорганизмов целесообразно производить по трем основным этапам [5,6]:

Первый этап исследования включает в себя сбор информации об интересующем исследователя микроорганизме и проведение первичной токсикологической оценки – исследование патогенных свойств нового штамма. Результатом является решение вопроса о возможности использования его в биотехнологиях.

Второй этап предусматривает полную токсикологическую оценку штамма с последующим экспериментальным обоснованием норматива (ПДК в атмосферном воздухе и воздухе рабочей зоны).

На третьем этапе проводят клинико-гигиенические исследования с целью корректировки экспериментально установленных ПДК.

Однако нельзя забывать, что принципиально важным является положение о том, что воздействие биотехнологических штаммов на организм определяется взаимодействием между двумя биологическими системами «микроорганизм – макроорганизм», что определяет специфические особенности нормирования их в объектах окружающей среды.

Исследованиями академика РАН Ю.П. Пивоварова и его сотрудников в однократных опытах выявлена зависимость между степенью потенциальной опасности и количественными характеристиками «ферментов патогенности», установлены количественные критерии оценки потенциальной опасности производственных штаммов, которые позволяют разделить их на три группы: штаммы, не рекомендуемые для использования; штаммы, находящиеся на грани риска их применения; штаммы, рекомендованные для использования их в биотехнологии [2].

При проведении длительных экспериментов было показано, что воздействие биотехнологических штаммов не оказывает токсического действия на функциональное состояние органов и систем животных. Основными проявлениями вредного действия промышленных микроорганизмов являются иммуотропный и сенсибилизирующий эффекты, дисбиотическое действие и снижение неспецифической защиты организма (альвеолярный фагоцитоз) [7].

Важная роль в освобождении организма от попавших в него микроорганизмов принадлежит неспецифическим факторам защиты или неспецифической резистентности организма. Неспецифическая или естественная резистентность к инфекции обусловлена действием множества гуморальных и клеточных факторов неспецифической защиты, к которым относятся физиологические барьеры (кожа, слизистые, вещества, оказывающие бактерицидное действие), гуморальные (лизозим) факторы и фагоцитирующие клетки или фагоциты (полиморфноядерные лейкоциты, моноциты и макрофаги).

При попадании микробов в организм развивается воспалительная реакция, при которой наблюдается усиление фагоцитирующей активности клеток. Образующийся воспалительный экссудат характеризуется повышением бактерицидного действия лизоцима, комплемента, пропердина и фибронектина. Значимым фактором защиты являются интерлейкин-1, интерферон.

Несомненно, наиболее эффективным компонентом защиты от микроорганизмов является фагоцитоз, когда они преодолевают эпителиальные барьеры. При попадании микроорганизмов через органы дыхания важным защитным барьером являются альвеолярные макрофаги и нейтрофилы.

Роль альвеолярных макрофагов при воздействии микроорганизмов-продуцентов и продуктов микробиологического синтеза изучена достаточно хорошо [6].

В основе разработок, посвященных альвеолярным макрофагам, как критериальной мишени неблагоприятного эффекта биологических загрязнителей, лежит сравнительное изучение ферментов различной локализации: ферментов, растворимых в цитозоле (лактатдегидрогеназа) и связанных с субклеточными структурами лизосом (кислые гидролазы, кислая фосфатаза). Определение ферментов производится как в суспензии альвеолярных макрофагов, так и в супернатанте с последующим расчетом распределения активности ферментов внутри клеток и в надосадочной жидкости.

При неблагоприятном воздействии промышленных микроорганизмов в легких изменяется абсолютное число альвеолярных макрофагов, способность их к адгезии, количество лизосом и лизосомоподобных структур в них. Присутствие в макрофагах чужеродных микроорганизмов вызывает активацию лизосомальных гидролаз и выход энзимов в цитоплазму.

При изучении влияния промышленных микроорганизмов (бактерии, актиномицеты, дрожжеподобные грибы *Candida*) на количественные и качественные показатели состояния альвеолярных макрофагов установлено, что общая картина реакции неспецифической защиты при ингаляционном поступлении строго подчиняется зависимости концентрация/доза – эффект.

Исследованиями Н.П. Сергеюк проведено сравнение информативности тестов при оценке сенсибилизирующих свойств различных промышленных микроорганизмов. Были определены минимально эффективные уровни сенсибилизирующего действия штаммов-продуцентов по разным тестам: показатель повреждения нейтрофилов (ППН), реакция специфической агломерации лейкоцитов (РСАЛ) и реакция торможения миграции макрофагов (РТММ). При сравнении выраженности эффектов установлено, что наиболее чувствительным оказался тест РСАЛ. Как правило, результаты РТММ соответствовали данным по тесту РСАЛ, а положительные результаты теста ППН были выявлены на более высоких уровнях воздействия биотехнологических штаммов.

Наряду с тем, что принципиальные подходы к проблеме биобезопасности промышленных микроорганизмов были определены, многие аспекты этой проблемы остаются еще не изученными на сегодняшний день: отсутствует классификация промышленных микроорганизмов по степени опасности, которая гармонично учитывала бы международные рекомендации, не выявлены

приоритетные микроорганизмы, в методическом плане не выделены наиболее информативные показатели оценки вредного действия биотехнологических штаммов и, наконец, не разработаны подходы к оценке риска воздействия биологического фактора на здоровье человека.

С учетом прежних научных достижений нами была продолжена исследовательская работа по оценке характера вредного воздействия более 30 новых биотехнологических штаммов, принадлежащих к различным таксономическим группам (бактерии, актиномицеты, микроскопические грибы) (табл.1).

При однократном внутрибрюшинном введении высоких доз биотехнологических штаммов была изучена потенциальная патогенность по таким

показателям как вирулентность, токсигенность, определение скорости проникновения в кровь, а также диссеминация штамма в кровь и внутренние органы.

При длительном ингаляционном воздействии биотехнологических штаммов были изучены общетоксическое действие (динамика массы тела, анализ состава периферической крови, показатели функционального состояния нервной системы, почек, печени) и специфические показатели взаимодействия «микроорганизм – макроорганизм» – раздражающее и дисбиотическое действие, иммунотоксичность и диссеминация во внутренние органы.

Оценка иммунотропной активности штаммов-продуцентов включала количественное изу-

Таблица 1

Изученные штаммы микроорганизмов, их биотехнологическая активность и гигиенический норматив

Штамм	Биотехнологическая активность	Величина гигиенического норматива (ПДК) в воздухе рабочей зоны
<u>1. Грамположительные бактерии</u> Bacillus subtilis 65 Bacillus subtilis 72 Bacillus subtilis 103 Bacillus licheniformis 1001 Bacillus licheniformis 60 Bacillus licheniformis 103_	Продуцент нейтральной протеиназы и амилазы Продуцент щелочной протеазы Продуцент нейтральной протеазы Продуцент бацитрацина Продуцент комплекса амилалитических и протеолитических ферментов Продуцент α -амилазы	40 000 А 50 000 50 000 50 000 А 50 000 А 50 000 А
<u>2. Грамотрицательные бактерии</u> Alcaligenes denitrificans C-32 Pseudomonas caryophyllii 102/1	Продуцент нитриказы Деструктор стирола	4 000 А 5 000 А
<u>3. Нокардиоформные актиномицеты</u> Rhodococcus corallinus Rhodococcus erythropolis	Деструкторы углеводов нефти и нефтепродуктов	50 000 50 000
<u>4. Микромицеты</u> Candida tropicalis Y-456 Aspergillus terreus 44-62 Aspergillus awamori 120/177 Aspergillus awamori Nakazawa ВУД Т-2 Penicillium funiculosum F-149 Penicillium funiculosum 18.2 Penicillium canescens PIPh 33 Trichoderma viride 44-11-62/3	Продуцент ксилита Продуцент ловастатина Продуцент глюкоамилазы Продуцент глюкоамилазы Продуцент декстраназы Продуцент комплекса карбогидраз Продуцент пектинлиазы и фитазы Продуцент комплекса целлюлолитических ферментов	300 А 300 А 2 000 А 2 000 А 2 000 А 2 000 А 2 000 А 2 000 А

Примечание: А - штаммы-продуценты, нормированные по сенсibiliзирующему эффекту

чение показателей клеточного звена иммунной системы (Т- и В-лимфоциты), антигенности, иммуномодулирующего и сенсибилизирующего эффектов. Для оценки дисбиотического эффекта была использована качественная и количественная характеристика аутомикрофлоры кишечника (*E.coli* и другие энтеробактерии, энтерококки, бифидо- и лактобактерии, дрожжеподобные грибы *Candida*).

Наши многолетние исследования показали, что специфическими показателями вредного действия промышленных микроорганизмов при ингаляционном и энтеральном пути введения являются иммуностропный и дисбиотический эффекты, проявление которых зависит от таксономической характеристики биотехнологических штаммов, а выраженности эффектов – от воздействующей концентрации/дозы [8-11].

Было показано, что длительное воздействие большинства штаммов микроорганизмов родов *Candida*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Pseudomonas* и др. приводило к изменению баланса иммунокомпетентных клеток в сторону снижения Т- и увеличения В-лимфоцитов, при этом наиболее информативным показателем явилось соотношение иммунокомпетентных клеток (Т/В-лимфоцитов) [12-14].

Вместе с тем, в периферической крови экспериментальных животных наблюдалось значительное увеличение эозинофилов, которое служит признаком аллергеноопасности штаммов, хотя не исключается непосредственное участие

эозинофилов в сенсибилизации организма, опосредованное через Fc – рецепторы этих клеток к IgE.

При этом происходило формирование гиперчувствительности немедленного типа (ГНТ), опосредованной антителами-реагинами, которая определялась нами в реакции прямой дегрануляции перитонеальных тучных клеток.

Показано, что ингаляция промышленных микроорганизмов родов *Bacillus*, *Alcaligenes*, *Pseudomonas*, *Streptomyces* и др., обладающих сенсибилизирующими свойствами, вызывала значимые изменения секреторной активности тучноклеточной популяции в сторону увеличения числа дегранулированных форм (рис.1).

Наряду с этим было отмечено формирование гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ), опосредованной Т-лимфоцитами.

Регрессионный анализ наиболее информативных показателей иммуностропной активности (Т- и В-лимфоциты, соотношение Т/В, показатели ГЗТ и ГНТ) изученных биотехнологических штаммов, принадлежащих к различным таксономическим группам, выявил статистически значимую связь между показателем дегрануляции тучных клеток и соотношением Т/В-лимфоцитов (рис.2). Данные регрессионного анализа возможно использовать при прогнозировании иммуностропных свойств новых штаммов-продуцентов с учетом их таксономической характеристики.

Дисбаланс микроэкологии кишечника при длительном воздействии

выражался в изменении концентрации и частоты высеваемости *E.coli* и других представителей условно-патогенной микрофлоры, а также в снижении содержания бифидобактерий и лактобацилл, поддерживающих гомеостаз микроэкологии кишечника (табл.2). Наиболее опасным в плане развития дисбактериоза кишечника являются грамотрицательные бактерии (*Pseudomonas*) и микроскопические, включая дрожжеподобные, грибы (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Candida*) [15,16].

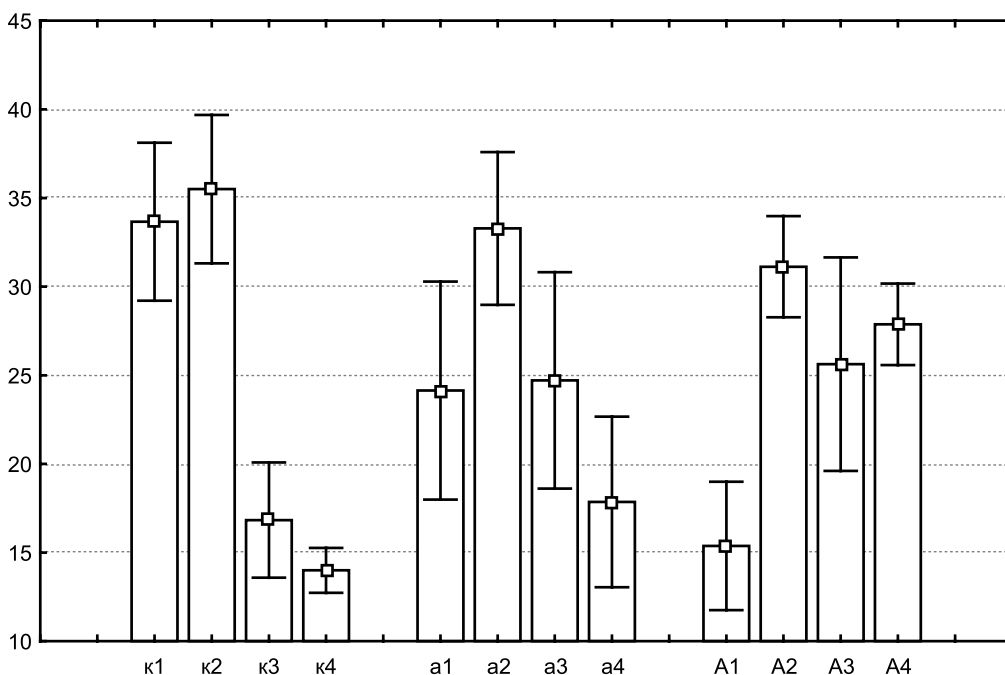


Рис.1. Фазы секреторного цикла тучноклеточной популяции при ингаляции промышленных микроорганизмов. По оси х: к – контроль, а – *A.denitrificans* 4x10⁴, А – *A.denitrificans* 4x10⁵ кл/м³. 1,2, 3, 4 – фазы секреции тучных клеток. По оси у – % тучных клеток

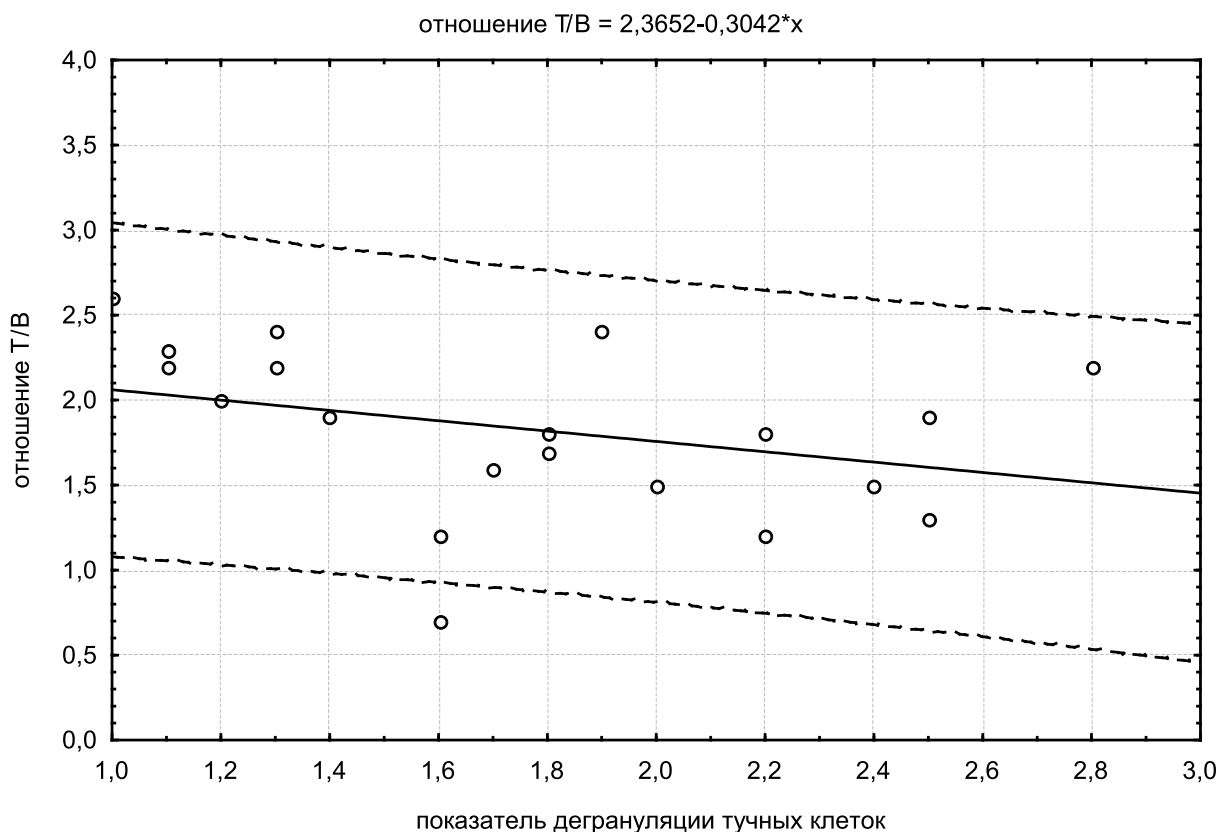


Рис.2. Связь между показателем дегрануляции тучных клеток и соотношением T/B-лимфоцитов при ингаляционном воздействии биотехнологических штаммов на минимально эффективных уровнях в зависимости от их таксономической характеристики

Таблица 2

Характеристика микробиологических изменений кишечника животных при воздействии биотехнологических штаммов

Группа промышленных микроорганизмов	Минимально эффективные уровни воздействия, кл/м ³	Степень выраженности микробиологических изменений (дисбактериоз)	Ассоциации измененной микрофлоры
Дрожжеподобные грибы Candida	10 ³ -10 ⁴	Выраженный	↓ E.coli, ↑ стафилококки, ↑ стрептококки, ↓ лактобациллы
Микромицеты (Aspergillus, Penicillium)	10 ⁴	Выраженный или умеренно выраженный	↓ E.coli, ↑ энтеробактерии, ↑ стафилококки, ↓ лактобациллы ↓ бифидобактерии
Грамотрицательные бактерии	10 ⁴	Умеренно выраженный (1 степень)	↓ лактозоположительные E.coli, ↑ лактозонегативные E.coli, ↑ энтеробактерии, ↑ стафилококки, ↑ стрептококки
Грамположительные бактерии	10 ⁵	Начальные признаки	↓ E.coli, ↑ энтеробактерии
Нокардиоформные актиномицеты	10 ⁴ -10 ⁷	Отсутствует	нормофлора

Примечание: ↑ – увеличение показателя по сравнению с контролем или физиологической нормой
↓ – снижение показателя по сравнению с контролем или физиологической нормой

Анализ полученных результатов многолетних экспериментальных исследований позволил усовершенствовать программу исследования на основе гигиенически значимых показателей вредного действия промышленных микроорганизмов, разработать классификацию промышленных микроорганизмов и обосновать величины гигиенических нормативов как основной критерий биобезопасности их в объектах окружающей среды.

Мы полагаем, что программа экспериментальных исследований по установлению гигиенических нормативов промышленных микроорганизмов в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе в целом определяется их таксономическим положением.

Для представителей родов микроорганизмов *Lactobacillus*, *Micrococcus*, *Rhodococcus* и др., не проявляющих неблагоприятных свойств на высоких уровнях воздействия, рекомендуется групповое (родовое) нормирование на уровне максимально безвредных концентраций, т.е. на уровне 5×10^4 и 5×10^3 кл/м³ в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе населенных мест соответственно.

Для представителей родов *Bacillus*, *Streptomyces*, *Trichoderma*, обладающих слабо выраженными сенсибилизирующими свойствами, возможно сокращение программы экспериментальных исследований за счет оценки только иммуотропной и сенсибилизирующей активности.

Наиболее аллергеноопасными являются грамотрицательные бактерии родов *Pseudomo-*

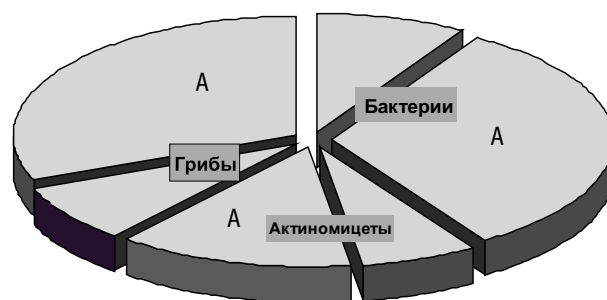


Рис.3. Структура массива (%) промышленных микроорганизмов в зависимости от таксономического положения и лимитирующего показателя вредного действия.

Обозначения: А – микроорганизмы, нормированные по аллергенному эффекту

nas, *Alcaligenes* и микромицеты родов, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Candida*, исследования которых необходимо проводить по полной программе, включающей оценку всех неблагоприятных эффектов [17].

Нами разработана и предложена классификация микроорганизмов по степени опасности воздействия на организм. Она включает комплекс гигиенически значимых показателей, характеризующих патогенные свойства микроорганизмов, пороговые концентрации при хроническом ингаляционном воздействии по иммуотропному, сенсибилизирующему и дисбиотическому эффектам, ПДК_{р.з.} и ПДК_{а.в.} (табл.3).

Таблица 3

Гигиеническая классификация микроорганизмов по степени опасности воздействия на организм

показатели	1 класс (особо опасные инфекции)	2 класс (опасные микроорганизмы, возбудители других инфекционных заболеваний)	3 класс (умеренно опасные микроорганизмы)	4 класс (мало опасные микроорганизмы)
Показатели патогенности - пороговая доза, кл/жив.	$\leq 10^7$	$\leq 10^7$	$> 10^7$	$> 10^7$
-минимальная доза высеваания, кл/жив.	$\leq 10^7$	$\leq 10^7$	$> 10^7$	$> 10^7$
-диссеминация в кровь и органы, дни	Диссеминация 1-30 дней		Персистирование 1-15 дней	
ПДК _{р.з.} , кл/м ³	Не рекомендуются к использованию в биотехнологической промышленности		$\leq 5 \times 10^3$	$> 5 \times 10^3$
ПДК _{а.в.} , кл/м ³			$\leq 5 \times 10^2$	$> 5 \times 10^2$
Lim _{ch sens} , кл/м ³			$\leq 5 \times 10^4$	$> 5 \times 10^4$
Lim _{ch imm} , кл/м ³			$\leq 5 \times 10^4$	$> 5 \times 10^4$
Lim _{ch dis} , кл/м ³			$\leq 5 \times 10^5$	$> 5 \times 10^5$

В целом, предложенная классификация находится в гармоничном соответствии с классификацией микроорганизмов по степени риска Европейской Федерации Биотехнологии и OECD (Organization of economical cooperation & development). Согласно последней микроорганизмы, используемые в биотехнологии, подразделяют на 4 класса – безвредные, мало опасные, умеренно опасные и высоко опасные микроорганизмы, причем микроорганизмы 1 и 2 классов опасности не рекомендуются к использованию в биотехнологической промышленности.

В результате длительных и многосторонних исследований, проведенных нами и другими российскими учеными, в настоящее время создан информационный банк данных по оценке токсичности и опасности штаммов-продуцентов. За весь период изучения проблемы биобезопасности микроорганизмов было разработано и законодательно утверждено около 200 ПДК штаммов-продуцентов и микробиологических препаратов на их основе в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе населенных мест.

Проведенный анализ банка данных о характере вредного действия штаммов-продуцентов показал, что большинство штаммов-продуцентов (около 80 %), принадлежащих к различным таксономическим группам (грибы, бактерии, актиномицеты), обладают аллергенными свойствами. С учетом таксономической характеристики биотехнологических штаммов среди бактерий аллергенными свойствами обладали 75%, среди актиномицетов – 67%, среди грибов – 80 % (рис.3).

Указанное еще раз подчеркивает актуальность обсуждаемой проблемы биобезопасности штаммов, используемых в биотехнологиях, и необходимость их регламентирования в объектах окружающей среды.

Несмотря на определенные научно-практические достижения в области биобезопасности промышленных микроорганизмов, целый ряд вопросов требует дальнейшего изучения. Особенно актуален вопрос о развитии нормативно-правовой базы в области обеспечения

биобезопасности генно-инженерных-модифицированных микроорганизмов (ГММ), которые используются в биотехнологической промышленности Российской Федерации.

Основой нормативной базы Российской Федерации в области контроля генно-инженерной деятельности являются Федеральный закон № 86 от 5.06.1996 г., а также Постановления Правительства РФ № 120 от 16.02.2001 г. [18,19] «О государственной регистрации генно-инженерно-модифицированных организмов» и № 26 от 18.01.2002 г. [20] «О государственной регистрации кормов, полученных из генно-инженерно-модифицированных организмов», которые впервые в Российской Федерации вводили государственную регистрацию ГММ. Однако по ряду причин данные Постановления Правительства не привели к созданию эффективной нормативной базы для промышленного использования ГММ.

В настоящее время законодательство РФ не располагает действенными нормативными документами, формулирующими принципы проведения экспертизы биобезопасности ГММ, отсутствуют правила ее проведения, требования к конструированию ГММ, в том числе требования к штамму-реципиенту и вносимому генетическому материалу, а также стандарты обеспечения биобезопасности производства. Вместе с тем, в США и других зарубежных странах существуют полные и подробные правила создания ГММ и их экспертизы при проведении государственной регистрации для использования в биотехнологическом производстве [21].

Мы полагаем, что развитие дальнейших исследований по обеспечению безопасности населения РФ при контакте с промышленными микроорганизмами связано с совершенствованием гигиенического нормирования, развитием методологии оценки риска микробиологического фактора, гармонизацией научных результатов, полученных российскими учеными, с международными рекомендациями и развитием собственной нормативно-правовой базы в отношении ГММ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Методические указания по экспериментальному обоснованию ПДК микроорганизмов-продуцентов и содержащих их готовых форм препаратов в объектах производственной и окружающей среды. № 5789/1-91 от 11 июня 1991 г. М.: МЗ СССР. – 1991. – 22 с.
2. Пивоваров Ю.П., Мялина Л.И., Королик В.В. Критерии оценки патогенных свойств штаммов-продуцентов, предлагаемых для использования в промышленности микробиологического синтеза. // Методические рекомендации. – М., 1992. – 20 с.
3. Пивоваров Ю.П., Шеина Н.И., Иванов Н.Г. и др. Проблемы и перспективы гигиенического нормирования биотехнологических штаммов микроорганизмов. // Гигиена и санитария. – 2010. – № 5. – с. 9-12
4. Предельно допустимые концентрации (ПДК) микроорганизмов-продуцентов, бактериальных препаратов и их компонентов в атмосферном воздухе и воздухе рабочей зоны. Сборник гигиенических нормативов. Иванов Н.Г., Далин М.В., Сергеюк Н.П., Шеина Н.И. и др. – М., Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2007. – 26 с.
5. Рахманин Ю.А., Багдасарьян Г.А., Немыря В.И., Сергеюк Н.П. Принципиальные подходы к нормированию биологических загрязнителей. // Гигиена и санитария. – 2001. – № 1. – С. 12-15
6. Сергеюк Н.П., Супрун И.П., Буянов В.В. Санитарно-эпидемиологическое нормирование промышленных микроорганизмов. – М.: Черноголовка, 2003. – 284 с.
7. Трахтенберг И.М., Тимофеевская Л.А., Квятковская И.Я. Методы изучения хронического действия химических и биологических загрязнителей – Рига: Зинатне. – 1987. – 172 с.
8. Шеина Н.И. Критерии дисбаланса микробиологии кишечника в системе гигиенического нормирования и оценки риска воздействия промышленных микроорганизмов. // Медицина труда и промышленная экология. – 2007. – № 11. – С. 21-26
9. Шеина Н.И. Токсиколого-гигиеническая оценка биотехнологических штаммов микроорганизмов. // Вест-

ник Российского государственного медицинского университета. – 2007. – №3 (56). – С.66-71

- 10.** *Шейна Н.И.* Гигиенические аспекты изучения характера биологического действия промышленных микроорганизмов. Материалы IV Всероссийского конгресса «Профессия и здоровье», 2005. – С. 164-165.
- 11.** *Шейна Н.И., Буданова Е.В.* Оценка микробиологического дисбаланса кишечника животных при воздействии промышленных микроорганизмов в токсиколого-гигиенических исследованиях. // Токсикологический вестник. - 2005. - №5. - С. 23-27.
- 12.** *Шейна Н.И., Буданова Е.В., Скрябина Э.Г.* и др. Новые сведения о токсичности и опасности химических

- и биологических веществ. Микроорганизм *Penicillium funiculosum* BKM F3668D // Токсикологический вестник. - 2006. - №6. - С. 31-33.
- 13.** *Шейна Н.И., Буданова Е.В., Скрябина Э.Г.* и др. Микроорганизм *Aspergillus awamori* Nakazawa ВУД Т-2 1000-У. // Токсикологический вестник. - 2006. - №6. - С. 33-34.
- 14.** *Шейна Н.И., Жолдакова З.И., Иванов Н.Г.* Проблема гигиенического нормирования биотехнологических штаммов в воде водоемов. // Гигиена и санитария. 2010. – №5. – с.39-42
- 15.** *Шейна Н.И., Скрябина Э.Г., Буданова Е.В.* и др. *Aspergillus terreus* 44-62, штамм-продуцент лавостатина. // Токсикологический вестник. – 2003. – №3. – С. 48-49.

- 16.** *Шейна Н.И., Скрябина Э.Г., Буданова Е.В.* и др. *Candida tropicalis* Y-456, штамм-продуцент ксилита. // Токсикологический вестник. – 2003. – №4. – С. 47-49.
- 17.** *Шейна Н.И., Скрябина Э.Г., Иванов Н.Г.* Сравнительная характеристика иммунотропной активности промышленных микроорганизмов при гигиеническом нормировании. // Токсикологический вестник. – 2005. – №3. – С.12-15.
- 18.** Федеральный закон № 86 от 5.06.1996 «О государственном регулировании в области генно-инженерной деятельности» (Собрание законодательства Российской Федерации, 1996, N 28, ст. 3348;)
- 19.** Постановление Правительства РФ

- № 120 от 16.02.2001 «О государственной регистрации генно-инженерно-модифицированных организмов» (Собрание законодательства Российской Федерации, 2001, N 9, ст. 860)
- 20.** Постановление Правительства РФ № 26 от 18.01.2002 «О государственной регистрации кормов, полученных из генно-инженерно-модифицированных организмов» (Собрание законодательства Российской Федерации, 2002, N 4, ст. 323; 2006, N 30, ст. 3389)
- 21.** Скоординированная программа в области регуляции биотехнологии. (Coordinated Framework of the Regulation of Biotechnology) (<http://www.epa.gov/scipoly/biotech/pubs/framework.htm>)

REFERENCES:

- 1.** Guidelines for the experimental justification of MAC microorganisms-producing and containing their formulations of drugs in the production and the environment facilities. № 5789 / 1-91 from 11 June 1991 M.: USSR Ministry of Health. – 1991 – 22p. (in Russian)
- 2.** *Pivovarov Yu.P., Y.P. Mjalina L.I., Korolik V.V.* Assessing Criteria for the pathogenic properties of producer strains proposed for use in industrial microbiological synthesis. // Guidelines. – M., 1992. – 20p. (in Russian)
- 3.** *Pivovarov Yu.P., Sheina N.I., Ivanov N.G., et al.* The problems and prospects of hygienic biotechnological strains of microorganisms regulation. // Hygiene and sanitation. – 2010. – № 5. – P. 9-12 (in Russian)
- 4.** Maximum permissible concentration (MPC) of microorganisms-producers, bacterial preparations and their components in the atmosphere air and the air of the working area. Collection. hygienic standards. *Ivanov N.G., Dalin M.V., Sergejuk N.P., Sheina N.I.* et al. – M., Federal Center of Hygiene and Epidemiology, 2007. – 26 p. (in Russian)
- 5.** *Rahmanin Yu.A., Bagdasarjan G.A., Nemyria V.I., Sergejuk N.P.* The principal approaches to the valuation of biological contaminants. // Hygiene and sanitation. – 2001. – №1. – P.12-15 (in Russian)
- 6.** *Sergejuk N.P., Suprun I.P., Buyanov V.V.* Hygienic rationing industrial microorganisms. – M.: Chernogolovka, 2003. – 284 p. (in Russian)
- 7.** *Trachtenberg I.M., Timofeevskaya L.A., Kyatkovskaya I.I.* Methods of study of chronic effects of chemical and biological contaminants – Riga: Zinatne. – 1987. – 172 p. (in Russian)
- 8.** *Sheina N.I.* Imbalance Criteria of microecology intestinal imbalance in the hygiene regulation and risk assessment of industrial microorganisms. // Medicine of work and industrial ecology. – 2007. – № 11. – P.21-26 (in Russian)
- 9.** *Sheina N.I.* Toxicological-hygienic assessment of biotechnological strains of microorganisms. // Bulletin of the Russian State Medical University. – 2007. – №3 (56). – P.66-71 (in Russian)
- 10.** *Sheina N.I.* Hygienic aspects of the study of the nature of the biological effect of industrial microorganisms. Materials IV All-Russian Congress "Profession and Health", 2005. – S. 164-165 (in Russian)
- 11.** *Sheina N.I., Budanova E.V.* Microecological imbalance intestines of animals evaluation under the influence of microorganisms in industrial toxicological and hygienic studies. // Toxicological vestnik. – 2005. – №5. – S. 23-27 (in Russian)
- 12.** *Sheina N.I., Budanova E.V., Scryabina E.G., et al.* The new information on the toxicity and hazards of chemical and biological substances. The microorganism *Penicillium funiculosum* BKM F3668D // Toxicological vestnik. – 2006. – №6. – С. 31-33 (in Russian)
- 13.** *Sheina N.I., Budanova E.V., Scryabina E.G., et al.* microorganism *Aspergillus awamori* Nakazawa WUD T-2 1000-V. // Toxicological vestnik. – 2006. – №6. – P. 33 (in Russian)
- 14.** *Sheina N.I., Zholdakova Z.I., Ivanov N.G.* The problem of hygienic regulation of biotech strains in water reservoirs. // Hygiene and sanitation. – 2010. – №5. – P.39-42 (in Russian)
- 15.** *Sheina N.I., Scryabina E.G., Budanova E.V., et al.* *Aspergillus terreus* 44-62, lavostatina-producing strain. // Toxicological Vestnik. – 2003. – №3. – P. 48-49 (in Russian)
- 16.** *Sheina N.I., Scryabina E.G., Budanova E.V.* et al. *Candida tropicalis* Y-456 producing strain of xylitol. // Toxicological Vestnik. – 2003. – №4. – P. 47-49 (in Russian)
- 17.** *Sheina N.I., Scryabina E.G., Ivanov N.G.* Comparative characteristics of industrial microorganisms immunotropic activity in hygienic rationing. // Toxicological Vestnik. – 2005. – №3. – P.12-15 (in Russian)
- 18.** Federal Law № 86 of 05.06.1996 "On state regulation in the field of genetic engineering" (Collection of legislation of the Russian Federation, 1996, N 28, p. 3348) (in Russian)
- 19.** A coordinated program in the field of regulation of biotechnology (Coordinated Framework of the Regulation of Biotechnology) (<http://www.epa.gov/scipoly/pubs/framework.htm>) (in Russian)
- 20.** Russian Federation Government Resolution № 120 of 16.02.2001 "On state registration of genetically modified organisms" (Collection of legislation of the Russian Federation, 2001, № 9, Art. 860) (in Russian)
- 21.** Russian Federation Government Resolution № 26 dated 18.01.2002 "On state registration of feed derived from genetically modified organisms" (Collection of legislation of the Russian Federation, 2002, № 4, p. 323; 2006, № 30, p. 3389) (in Russian)

N.I. Sheina¹, E.G. Skryabina¹, Yu.P. Pivovarov¹, E.V. Budanova², L.I. Myalina¹, V.V. Korolik¹, V.V. Kolesnikova¹, L.P. Sazonova¹, G.G. Chub¹.

INDUSTRIAL MICROORGANISMS BIOSAFETY PROBLEM IN RUSSIA: PRESENT AND FUTURE

¹N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Russian Ministry of Healthcare, 117997 Moscow, Russian Federation
²I.M. Sechenov Moscow State Medical University, RF Ministry of Healthcare, 119991 Moscow, Russian Federation

An analysis of recent data on the use and evaluation of industrial microorganisms biosafety was conducted. On the basis of our own experimental data from the study of the nature of biotechnological strains harmful effects, a classification of their hazard degrees was proposed; the strains hazard dependency on their taxonomic position was identified. Prospects for studies on problems of microorganisms strains biosafety used in biotechnology are discussed.

Keywords: biosafety, biotechnology strains, allergenicity, immunotrophicity

Переработанный материал поступил в редакцию 20.06.2016 г.