

НОВЫЕ СВЕДЕНИЯ О ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

УДК 57.063 : 615.099

МИКРООРГАНИЗМ PSEUDOMONAS AUREOFACIENS ВКМ-2391Д

Н.И. Шеина¹, Э.Г. Скрыбина¹, Л.И. Мялина¹,
Е.В. Буданова², Л.П. Сазонова¹, В.В. Колесникова¹,
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

Штамм *Pseudomonas aureofaciens* ВКМ-2391Д выделен из почвы вокруг ризосферы овса, не является генетически модифицированным штаммом. На основании проведенных исследований с учетом коэффициента запаса 10 для воздуха рабочей зоны предложена ПДК_{р.з.} *Pseudomonas aureofaciens* ВКМ-2391Д на уровне 5×10^3 кл/м³, пометка А, 3 класс опасности.

С учетом коэффициента запаса 100 для атмосферного воздуха населенных мест рекомендована ПДК_{а.в.} *Pseudomonas aureofaciens* ВКМ-2391Д на уровне 5×10^2 кл/м³, пометка А, 3 класс опасности.

Рекомендуемая для утверждения величина гигиенического норматива для *Pseudomonas aureofaciens* ВКМ-2391Д находится в соответствии с ранее утвержденными нормативами (ПДК_{р.з.} 5000 кл/м³ и ПДК_{а.в.} 500 кл/м³) для различных штаммов *P.aureofaciens* В-4117, *P.fluorescens* В-6844, *P. fluorescens (denitrificans)* В-99 и др.

Ключевые слова: микроорганизм, токсичность, опасность

Штамм *Pseudomonas aureofaciens* ВКМ-2391Д выделен из почвы вокруг ризосферы овса, не является генетически модифицированным штаммом. *Pseudomonas aureofaciens* ВКМ-2391Д проявляет высокую антагонистическую активность в отношении широкого ряда фитопатогенных грибов, обладает устойчивостью к ряду антибиотиков.

Штамм является активным компонентом микробиологического фунгицида Псевдобактерин-3. Препарат предназначен для предпосевной обработки семян, для обработки сельскохозяйственных культур в период вегетации для защиты растений и посадочного материала от

бактериальных и грибковых заболеваний в сельскохозяйственном производстве и личных подсобных хозяйствах.

Культура представлена клетками палочковидными размером (0,6–0,8 x 1,7–2,2) мкм, подвижными, снабженными перитрихиями, грамтрицательными, спор не образуют.

Штамм хорошо растет на следующих средах: ЛВ (бакто-триптон – 10 г/л, дрожжевой экстракт – 5 г/л, хлористый натрий – 10 г/л, рН 7,2); Кинг Б, триптозо-соевом агаре; минеральной синтетической среде М9 или минеральной синтетической среде М9 с нафталином (1-2 г/л) в качестве единственного источника углерода и энергии.

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, ni_sheina@mail.ru

Скрыбина 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

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

Морфологию колоний на питательных средах определяют после 4-5 сут роста при 28°C. На LB-агаре – колонии круглые с ровными краями, гладкие, слабовыпуклые, непрозрачные, оранжевые, неслизистой консистенции, диаметр 4-5мм, пигмент желто-оранжевый, диффундирующий в среду. На триптозо-соевом агаре колонии крупнее, интенсивнее окрашены, более интенсивная диффузия в среду пигмента. На Кинг Б – колонии желто-зеленые, флюоресцирующие, пигмент интенсивный, зеленый, флюоресцирующий, со временем приобретает желто-оранжевую окраску. На М9 с нафталином – колонии округлые, слабовыпуклые, непрозрачные, матово-белые.

Физиолого-биохимические признаки: облигатный аэроб, температурный оптимум роста 24-30°C, растет при 4°C, растет в пределах рН среды от 5,2 до 8,0. Разжижает желатин. В качестве источника углерода использует глюкозу, сахарозу, декстрозу, глицерин, бензойную кислоту, янтарную кислоту, салициловую кислоту, нафталин, фенантрен, 2-метил-нафталин.

Штамм *Pseudomonas aureofaciens* депонирован во Всероссийской коллекции микроорганизмов под номером ВКМ-2391Д.

В процессе экспериментальных исследований с целью установления лимитирующего критерия вредного действия (ЛКВД) и обоснования ПДК в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе населенных мест были изучены влияния микроорганизма на интегральные показатели состояния организма экспериментальных животных и микрофлору кишечника, иммунотоксические свойства и возможность диссеминации его во внутренние органы.

Обследование экспериментальных животных показало, что воздействие микроорганизма в двух концентрациях (5×10^3 и 5×10^4 кл/м³) замедляло темп прироста массы тела в первые 2 недели. В дальнейшем прирост массы тела подопытных животных был сравним с контрольным уровнем.

В результате проведенных исследований по изучению иммунотоксических свойств микроорганизма установлено, что коэффициенты массы тимуса и селезенки экспериментальных животных не отличались по сравнению с таковыми у животных контрольной группы. В лейкограмме периферической крови подопытных животных не обнаружено достоверных изменений всех показателей. Отмечается 2-х кратное увеличение числа эозинофилов у подопытных животных при воздействии штамма в большей концентрации по сравнению с контрольными животными, что можно рассматривать как косвенный неспецифический признак sensibilization организма.

При оценке sensibilization активности штамма в эксперименте не выявлено формирова-

ния клеточной реакции замедленного типа (ГЗТ) на мышцах. Зарегистрировано формирование состояния гиперчувствительности немедленного типа (ГНТ) у крыс, которое оценивалась в реакции непрямо́й дегрануляции тучных клеток перитонеальной жидкости по показателям: процент дегранулированных тучных клеток, показатель дегрануляции и вариабельность процента дегранулированных клеток по группам животных.

Изучаемый микроорганизм не проявляет антигенной активности при используемом способе исследования на изучаемых уровнях воздействия. Не обнаружено образования специфических антимикробных антител (агглютининов) в сыроворотке подопытных животных обеих групп.

В экспериментах на крысах ответ на эритроциты барана, оцениваемый по титрам гуморальных антител (гемолизинов и гемагглютининов), при воздействии большей концентрации штамма был достоверно ниже по сравнению с таковым в контрольной группе животных, что свидетельствует об иммуномодулирующем (иммуносупрессорном) действии штамма на иммунокомпетентные клетки. Это согласуется со снижением Т-лимфоцитов и увеличением В-лимфоцитов, хотя и не достоверно значимым, и снижением соотношения Т/В, особенно выраженное при воздействии штамма в большей концентрации.

Бактериологические исследования микрофлоры кишечника показали, что на фоне субхронического воздействия *Pseudomonas aureofaciens* ВКМ-2391Д в большей концентрации наблюдались признаки компенсированного дисбактериоза 1-2 степени, которые нивелировались в восстановительном периоде через 2 недели. Коэффициент массы слепой кишки после окончания введения штамма не различался у крыс контрольной и подопытных групп.

Штамм при субхроническом воздействии в обеих концентрациях не обладает способностью к диссеминации в кровь и внутренние органы (легкие, печень, почки, селезенка) экспериментальных животных ни через 1 месяц введения микроорганизма, ни через 2 недели восстановительного периода.

На основании полученных данных установлено, что лимитирующим критерием вредного действия микроорганизма на организм теплокровных животных является sensibilization, иммуномодулирующий и дисбиотический эффекты.

С учетом коэффициента запаса 10 для воздуха рабочей зоны предложена ПДК_{п.з.} *Pseudomonas aureofaciens* ВКМ-2391Д на уровне 5×10^3 кл/м³, пометка А, 3 класс опасности.

С учетом коэффициента запаса 100 для атмосферного воздуха населенных мест рекомендована ПДК_{а.в.} *Pseudomonas aureofaciens* ВКМ-2391Д

на уровне 5×10^2 кл/м³, пометка А, 3 класс опасности.

Таким образом, рекомендуемая для утверждения в МЗ РФ величина гигиенического норматива для *Pseudomonas aureofaciens* ВКМ-2391Д

находится в соответствии с ранее утвержденными нормативами (ПДК_{р.з.} 5000 кл/м³ и ПДК_{а.в.} 500 кл/м³) для различных штаммов *P.aureofaciens* В-4117, *P.fluorescens* В-6844, *P. fluorescens (denitrificans)* В-99 и др. (табл.).

Таблица

ПДК микроорганизмов рода *Pseudomonas*, утвержденных Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации

Название штамма	ПДКр.з., кл/м ³	ПДКа.в., кл/м ³	класс опасности	Ссылка на источник
<i>P.aureofaciens</i> В-4117	5000, А	500, А	3	ГН 2.2.6-709-98
<i>P.fluorescens</i> В-6844	5000,А	500, А	3	ГН2.2.6.2178-07 ГН2.1.6.2177-07
<i>P. fluorescens (denitrificans)</i> В-99	2000	200	3	ГН2.2.6.2178-07 ГН2.1.6.2177-07
<i>P.fluorescens</i> К-36	5000,А	500, А	3	ГН2.2.6.2178-07 ГН2.1.6.2177-07
<i>P.caryophyllii</i> КМ92-102/1	5000, А	500, А	3	ГН2.2.6.2178-07 ГН2.1.6.2177-07
<i>P. aureofaciens</i> ВКМ-2391Д	5000, А	500, А	3	рекомендовано

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Критерии оценки патогенных свойств штаммов-продуцентов, предлагаемых для использования в промышленности микробиологического синтеза. Методические рекомендации РГМУ, М., 1992. – 22с.

2. Методические указания по экспериментальному обоснованию ПДК микроор-

ганизмов-продуцентов и содержащих их готовых форм препаратов в объектах производственной и окружающей среды. №5789/1-91.- М., 1991. – 22с.

3. Определитель бактерий Берджи. Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига и др. – 9-ое издание в 2-х томах. – М., «Мир», 1997. – Т.2.

REFERENCES:

1. Criteria of assessment the pathogenic properties of producer strains proposed for use in industrial microbiological synthesis. Method. Recommendations, Medical University. – Moscow, 1992. – 22p.(in Russian)

2. Guidelines on experimental justification of the limit permitted concentration of

producing microorganisms and their containing strains products in industrial and environmental objects. №5789/1-91.- M., 1991. – 22p. (in Russian)

3. The determinant of bacteria Bergey. Ed. J. Hoult, N. Krig et al. – M., "Mir". – 1997. – V.2 (in Russian)

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

MICROORGANISM *Pseudomonas aureofaciens* ВКМ-2391Д

¹N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, 117997 Moscow, RF Ministry of Healthcare, Russian Federation

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, RF Ministry of Health, 119991 Moscow, Russian Federation

Strain *Pseudomonas aureofaciens* ВКМ-2391Д recovered from the soil around oat rhizosphere is not a genetically modified strain. Based on investigations performed, the following hygiene norms are recommended for the strain *Pseudomonas aureofaciens* ВКМ-2391Д: MAC_{occupational air} Mark A on the level of 5×10^3 , hazard class 3 taking into account safety coefficient of 10 for occupational air; MAC_{atmospheric air} Mark A on the level of 5×10^2 cells/m³, Mark A, hazard class 3 taking into account safety coefficient of 100 for residential areas. These values of hygiene standards recommended for approval are in compliance with previously approved standards (MAC_{occupational air} 5000 cells/m³, MAC_{atmospheric air} 500 cells/m³ for various strains *P.aureofaciens* В-4117, *P.fluorescens* В-6844, *P. fluorescens (denitrificans)* В-99 and others.

Keywords: microorganism, toxicity, hazard.

Материал поступил в редакцию 29.02.2016 г.