

НОВЫЕ СВЕДЕНИЯ О ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

УДК 613.636 : 615.015.3

МИКРООРГАНИЗМ *BACILLUS THURINGIENSIS* *SSP. TOUMANOFFI 25*

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

¹ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, 117997, г. Москва, Российская Федерация

²ФГБОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России, 119991, г. Москва, Российская Федерация

Штамм *Bacillus thuringiensis ssp. toumanoffi 25* не обладает сенсibiliзирующими свойствами, не оказывает влияния на клеточное и гуморальное звенья иммунной системы, на микрофлору кишечника. ПДК штамма в воздухе рабочей зоны рекомендована на уровне 5×10^4 мг/м³, в атмосферном воздухе населенных мест – 5×10^3 мг/м³.

Ключевые слова: *B. thuringiensis ssp. toumanoffi 25*, сенсibiliзация, ПДК

Штамм представляет собой грамположительные, подвижные, образующие жгутики палочки размером 0,7-1,2×2,5-4,0 мкм. Через 48 часов роста на МПА образуют овальные споры размером 0,6-0,8×1,2-2,0 мкм. Одновременно со спорой образуются параспоральные тельца ромбовидной формы разных размеров. На среде «А» образуют серые полупрозрачные колонии с ровным краем. Оптимальная температура роста +28-31°С.

Штамм образует ацетилметилкарбинол, образует кислоту из маннозы; не образует кислоту при росте на салицине и сахарозе, не гидролизует эскулин, образует уреазу на среде с мочевиной, гидролизует крахмал, пептонизирует молоко, на желточной среде лецитин-вителлиновая реакция положительная, ДНКазная активность отсутствует.

Культура хранится на скошенном агаре со средой «А» состава, г/л: пептон – 7,0, натрий хлористый – 5,0, рыбный гидролизат – 4,0, агар-агар – 15,0, можно использовать картофельно-глюкозную среду (КГ среда).

Штамм *B. thuringiensis ssp. toumanoffi 25* по критериям вирулентности, токсичности, токсигенности и диссеминации относится к непатогенным для теплокровных животных микроорганизмов. Он не является фитопатогенным, а также не входит в состав 4-х групп патогенности в соответствии с Санитарно-эпидемиологическими правилами СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами» в редакции Дополнений и изменений № 2, утвержденных Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 29.06.2011 № 86.

Систематическое положение микроорганизма
Царство *Procarvota*
Класс *Schizomycetes*
Отряд *Eubacteriales*
Семейство *Bacillaceae*
Род *Bacillus*
Вид *thuringiensis*
Штамм *ssp. toumanoffi 25*

На основе штамма энтомопатогенной бактерии *B. thuringiensis ssp. toumanoffi 25* создан

Шеина Наталья Ивановна (Sheina Natal'ja Ivanovna), доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры гигиены ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, г. Москва, ni_sheina@mail.ru

Буданова Елена Вячеславовна (Budanova Elena Vjacheslavovna), кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, г. Москва, e.v.budanova@mail.ru

Мялина Любовь Ивановна (Mjalina Ljubov' Ivanovna), кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры гигиены ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, г. Москва, rsmu.ru

Сазонова Любовь Павловна (Sazonova Ljubov' Pavlovna), кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры гигиены ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, г. Москва, rsmu.ru

Колесникова Валентина Васильевна (Kolesnikova Valentina Vasil'evna), кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры гигиены ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, г. Москва, rsmu.ru

инсектицид «Биослип БТ, П», который обладает широким спектром действия в отношении насекомых-вредителей сельского хозяйства, относящихся к отрядам Чешуекрылые и Двукрылые. Он активен в отношении личинок бабочек из семейств Белянки, Совки, Настоящие моли, Выемчатокрылые моли, Огневки, Плодожорки, а также в отношении насекомых из отряда Двукрылые: журчалок, галлиц, серебрянок.

Действующей основой препарата являются кристаллы белкового -эндотоксина и жизнеспособные споры штамма *B. thuringiensis ssp. toumanoffi* 25. Содержание жизнеспособных спор в инсектициде «Биослип БТ, П» составляет не менее 1×10^{10} КОЕ/г, количество кристаллов токсина равно общему количеству спор в препарате. В качестве вспомогательных веществ инсектицид содержит остатки защитной среды для сублимационной сушки – неорганические фосфаты, сухое молоко, желатин. Инсектицид представляет собой водорастворимый порошок

Кристаллы токсина действуют в кишечнике насекомого при поедании, белковый токсин растворяется в кишечном соке насекомого при pH 9,5-10,5 и переходит в активную форму под действием протеолитических ферментов кишечного сока. В активном состоянии токсины формируют поры в клетках эпителия кишечника, что в дальнейшем приводит к гибели насекомого.

В процессе экспериментальных исследований было изучено влияние микроорганизма *B. thuringiensis ssp. toumanoffi* 25 (активное начало инсектицида «Биослип БТ, П») на интегральные показатели состояния организма экспериментальных животных и микрофлору кишечника, иммунотоксические свойства и возможность диссеминации его во внутренние органы с целью установления лимитирующего критерия вредного действия (ЛКВД).

Обследование экспериментальных животных показало, что воздействие штамма в двух концентрациях (5×10^5 и 5×10^4 кл/м³) в течение 1 месяца не приводило к изменению интегральных показателей состояния организма экспериментальных животных, которое оценивалось по динамике массы тела в процессе эксперимента и в восстановительном периоде. Полученные данные свидетельствуют об отсутствии общего токсического действия штамма на организм крыс при субхронической экспозиции его в изученных концентрациях.

В результате проведенных исследований по изучению иммунотоксических свойств микроорганизма установлено, что коэффициенты массы тимуса и селезенки экспериментальных животных не отличались по сравнению с животными контрольной группы.

В лейкограмме периферической крови подопытных животных не обнаружено достоверных изменений всех изучаемых показателей (лейкоцитов, лимфоцитов, нейтрофилов, эозинофилов и моноцитов).

При оценке сенсибилизирующей активности штамма в эксперименте не выявлено формирования клеточной реакции замедленного типа (ГЗТ) на мышцах и клеточной реакции немедленного типа (ГНТ) на крысах.

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

В экспериментах на крысах ответ на эритроциты барана, оцениваемого по титрам гуморальных антител-гемагглютининов, был аналогичен таковому в контрольной группе животных, как по средним значениям, так и вариабельности показателя внутри группы.

Бактериологические исследования микрофлоры кишечника показали, что на фоне субхронического воздействия *B. thuringiensis ssp. toumanoffi* 25 не происходило значимого изменения (дисбаланса) микробиоценоза кишечника крыс.

Штамм не оказывал существенного влияния на показатели анаэробной составляющей (бифидобактерии, лактобациллы) микробиоценоза кишечника. Не изменялась высеваемость и условно-патогенной микрофлоры (протеев, энтерококков и грибов *Candida*) у подопытных животных. Коэффициент массы слепой кишки не различался у крыс контрольной и подопытных групп.

В восстановительном периоде микрофлора кишечника крыс, подвергшихся воздействию штамма в обеих концентрациях, по качественным и количественным показателям не отличалась от таковых контрольных животных.

Штамм при субхроническом воздействии в обеих концентрациях не обладал 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 лимитирующий критерий вредного действия микроорганизма на организм теплокровных животных не установлен при изучении характера биологического действия в концентрациях 5×10^4 кл/м³ и 5×10^5 кл/м³.

Согласно «Методическим указаниям по экспериментальному обоснованию ПДК микроорганизмов-продуцентов и содержащих их готовых форм препаратов в объектах производствен-

ной и окружающей среды» (N5789/1-91), величина ПДК в воздухе рабочей зоны ограничивается концентрацией 5×10^4 кл/м³ в случае, если не установлен порог вредного действия изучаемого штамма на организм на более высоких уровнях воздействия. В связи с этим для воздуха рабочей зоны предложена ПДК *B. thuringiensis ssp. toumanoffi* 25 на уровне 5×10^4 кл/м³ (4 класс опасности).

С учетом коэффициента запаса 10 для атмосферного воздуха населенных мест рекомендована ПДК_{аб.} штамма *B. thuringiensis ssp. toumanoffi* 25 на уровне 5×10^3 кл/м³ (4 класс опасности).

Разработаны методы микробиологического контроля штамма *B. thuringiensis ssp. toumanoffi* 25 по культурально-морфологическим признакам в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

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

2. Методические указания по

экспериментально обоснованию ПДК микроорганизмов-продуцентов и содержащих их готовых форм препаратов в объектах производственной и окружающей среды. N5789/1-М., 1991-22 с.

3. Определитель бактерий Берджи. Под ред. Дж.Хоулта, Н.Крига и др. -Девятое изд. в двух томах.-М., «Мир», 1997.

4. Шеина Н.И., Скрябина Э.Г., Пивоваров Ю.П. и др. Проблема биобезопасности промышленных

микроорганизмов в России: настоящее и будущее. // Токсикологический вестник. - 2016. - №4.- С.2-

REFERENCES:

1. Criteria of assessment the pathogenic properties of producer strains proposed for use in industrial microbiological synthesis. Methodical. Recommendations. M., Medical University, 1992.- 22 p. (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 . N5789/1-91. -

M., 1991.- 22 p. (in Russian)

3. The determinant of bacteria Bergey. Ed. J. Hoult, N. Krig et al. -M., „Mir“.-1997. - 2v. (in Russian)

4. Sheina N.I., Scryabina E.G., Pivovarov Yu.P. and others. The

problem of biosafety of industrial microorganisms in Russia: the present and the future. // Toxicological bulletin. - 2016. - №4.- P.2-10 (in Russian)

N.I. Sheina¹, E.V. Budanova², L.I. Myalina¹, L.P. Sazonova¹, V.V. Kolesnikova¹

MICROORGANISM BACILLUS THURINGIENSIS SSP. TOUMANOFFI 25

¹ N.N.Pirogov Russian National Research Medical University, 117997, Moscow, Russian Federation

² I. M. Sechenov 1st Moscow State Medical University, 119991, Moscow, Russian Federation

Strain *B. thuringiensis ssp. toumanoffi* 25 does not have sensitizing properties, does not affect the cellular and humoral parts of the immune system, the intestinal microflora. The MAC of the strain in the air of the working area is recommended at 5×10^4 mg/m³, in the atmospheric air of residential areas it is 5×10^3 mg/m³.

Keywords: *B. thuringiensis ssp. toumanoffi* 25, sensibilization, MAC.

Материал поступил в редакцию 9.11.2017 г.

