

БЮЛЛЕТЕНЬ



Российского регистра потенциально опасных химических и биологических веществ

НОВЫЕ СВЕДЕНИЯ О ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

УДК 579.6 :615.9

МИКРООРГАНИЗМ RHODOCOCCLUS JIALINGIAE 1kp ВКПМ Ас-1957

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

¹ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова» МЗ РФ, 117997, г. Москва, Российская Федерация

²ГБОУ ВПО ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» МЗ РФ, 119991, г. Москва, Российская Федерация

Оценена опасность микроорганизма *Rhodococcus. jialingiae* 1kp ВКПМ Ас-1957 для здоровья человека. Рекомендованы для утверждения ПДК_{р.з.} *R. jialingiae* 1kp ВКПМ Ас-1957 5×10^4 кл/м³ и ПДК_{а.в.} 5×10^3 кл/м³.

Ключевые слова: микроорганизм *Rhodococcus. jialingiae* 1kp ВКПМ Ас-1957, опасность, ПДК_{р.з.}, ПДК_{а.в.}

Штамм бактерии выделены из нефтезагрязненных торфяных почв и верховых торфяников Тюменской области, природный изолят. Отобран по способности эффективно снижать содержание нефти в загрязненной ею воде, песке и почвах. Растет на средах с гексадеканом и нефтью

в качестве единственных источников углерода.

Первоначально штамм был изолирован из ила очистных сооружений китайским микробиологом Цзя-Линг Ванг, в честь которого был назван. Планируется использовать для создания био-препарата РЕМИСОЙЛ по биоремедиации почв,

Шеина Наталья Ивановна (Sheina Natalia Ivanovna), доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры гигиены ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» МЗ РФ, 117997, г. Москва, ni_sheina@mail.ru

Скрябина Эмилия Григорьевна (Skrjabina Jemilija Grigor'evna), кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела медицинской химии и токсикологии ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» МЗ РФ, 117997, г. Москва, let@mail.ru

Буданова Елена Вячеславовна (Budanova Elena Vjacheslavovna), кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» МЗ РФ, 119991 г. Москва, e.v.budanova@mail.ru

Мялина Любовь Ивановна (Mjalina Ljubov' Ivanovna), кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры гигиены ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» МЗ РФ, 117997, г. Москва, gigea@rsmu.ru

Сазонова Любовь Павловна (Sazonova Ljubov' Pavlovna), кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры гигиены ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» МЗ РФ, 117997, г. Москва, gigea@rsmu.ru

Колесникова Валентина Васильевна (Kolesnikova Valentina Vasil'evna), кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры гигиены ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» МЗ РФ, 117997, г. Москва, gigea@rsmu.ru

Чуб Галина Георгиевна (Chub Galina Georgievna), кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры гигиены ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» МЗ РФ, 117997, г. Москва, gigea@rsmu.ru

грунтов, водоемов и стоков от нефти и нефтепродуктов.

По результатам изучения культурально-морфологических и биохимических свойств выделенный штамм наиболее близок к виду *Rhodococcus jialingiae*. По анализу секвенсов варибельных участков генов, кодирующих 16S рРНК, тестируемый штамм является *Rhodococcus jialingiae* (99%). Аэроб. Способен к росту на средах, содержащих источники углерода. Хорошо утилизирует фруктозу, сорбит, маннит, инозит, слабее глюкозу, сахарозу, мальтозу, сукцинат, цитрат и бензоат, активно разлагает тирозин.

По систематическому положению относится к группе нокардиоформных актиномицетов к подгруппе бактерий, содержащих миколовые кислоты. Макроскопически колонии микроорганизма круглые, непрозрачные, слизистые, блестящие, плоские, вершина приподнята, края ровные, окраска розовато-кремовая.

При микроскопическом исследовании культуры представлена кокковидными клетками, встречаются палочки, неравномерными по толщине грамположительными клетками, споры отсутствуют. В молодой культуре палочки проявляют склонность к ветвлению (образование примитивного мицелия), диаметр клеток 0.6-0.8 мк, длина в среднем составляет 4-8 мк, в случае примитивного мицелия до 10-12 мк. Цикл развития хорошо выражен, на ранних стадиях (20-24 часа) наблюдается элементарное ветвление, в дальнейшем (3-4 сут.) происходит распад длинных клеток на палочковидные и кокковидные элементы.

Мезофилы. Рост очень хороший – через 24 часа при 25-28°C образует колонии на глюкозо-пептонном агаре. Выдерживают концентрации хлорида натрия до 1% и немного более.

Штамм растет на жидких и агаризованных средах (МПА, АГВ, картофельный агар). Можно культивировать на ЛВ-агаре и бульоне или глюкозо-минеральной среде.

Штамм *R. jialingiae* *Ikp* депонирован во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов под номером ВКПМ Ас-1957.

В процессе экспериментальных исследований были изучены патогенные свойства микроорганизма, влияние его на интегральные показатели состояния организма и микрофлору кишечника, иммунотоксические свойства и возможность диссеминации его во внутренние органы с целью установления лимитирующего критерия вредного действия (ЛКВД) и обоснования ПДК_{р.з.} и ПДК_{а.в.}.

Результаты экспериментальных исследований свидетельствуют о том, что *R. jialingiae* *Ikp* не обладает патогенными свойствами для теплокровных животных. При внутрибрюшинном введении высоких доз штамма не выявлено вирулентных и токсигенных свойств. «Пороговая

доза» составляет 10^9 кл/мл. Он не обладает способностью к диссеминации в кровь и внутренние органы животных при однократном внутрибрюшинном введении больших доз штамма.

Раздражающее действие суспензии штамма (10^9 кл/мл) при однократном нанесении на слизистые оболочки глаз кролика также отсутствует.

Обследование подопытных животных в хроническом эксперименте показало, что воздействие штамма в двух концентрациях (5×10^6 и 5×10^7 кл/м³) в течение 1 месяца не приводило к изменению интегральных показателей состояния организма экспериментальных животных, которое оценивалось нами по динамике массы тела в течение эксперимента и в восстановительном периоде (через 2 недели), а также по величине коэффициентов массы внутренних органов.

В результате проведенных исследований по изучению иммунотоксических свойств и сенсибилизирующей активности микроорганизма установлено, что коэффициенты массы иммунокомпетентных органов (тимус и селезенка) экспериментальных животных не отличались от таковых у животных контрольной группы.

В периферической крови подопытных животных при воздействии обеих концентраций не выявлено статистически значимого увеличения нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов и эозинофилов. Не обнаружено изменения относительного и абсолютного количества Т- и В-лимфоцитов по сравнению с контрольными значениями этих показателей.

При оценке сенсибилизирующей активности штамма в эксперименте на мышях не выявлено формирования гиперчувствительности замедленного типа, обусловленной клетками-эффекторами ГЗТ.

При оценке способности *R. jialingiae* *Ikp* формировать аллергическую реакцию немедленного типа использована реакция прямой дегрануляции тучных клеток. Результаты реакции могут быть расценены как отрицательные, т.к. полученные данные свидетельствуют об отсутствии достоверной разницы дегранулированных тучных клеток по сравнению с контролем.

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

Иммуномодулирующая активность *R. jialingiae* *Ikp* была оценена по гуморальному ответу на эритроциты барана. В экспериментах на крысах ответ на эритроциты барана, оцениваемого по титрам гуморальных антител-гемагглютининов, был аналогичен таковому в контрольной группе как по средним значениям, так и варибельно-

сти показателя внутри группы. Таким образом, штамм *R. jialingiae* 1kp не обладает сенсibiliзирующей активностью, иммунотоксическим и иммуномодулирующим действием.

Бактериологические исследования микрофлоры кишечника показали, что на фоне хронического воздействия *R. jialingiae* 1kp в большей концентрации происходят изменения микробиоценоза кишечника крыс, которые характеризуются снижением концентрации анаэробной составляющей (бифидобактерии), *S. aureus* и *E. faecalis*, а также увеличением высеваемости отдельных представителей условно-патогенной микрофлоры. По-видимому, наблюдаемые изменения характеризуют пограничные стадии дисбактериоза.

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

Штамм при хроническом 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.

Анализ совокупности полученных экспериментальных данных свидетельствует о том, что «пороговым» уровнем воздействия в хроническом эксперименте является 5×10^6 кл/м³. Данные о низкой токсичности и опасности штамма *R. jialingiae* 1kp, полученные нами в однократных и хроническом экспериментах, согласуются в целом с исследованиями других авторов о влиянии микроорганизмов рода *Rhodococcus* на экспериментальных животных (Сергеюк Н. П., Багдасарьян Г. А., 1995, Шеина Н. И. и соавт., 2004, 2005).

Действующими методическими документами (МУК №5789/1-91) максимальная величина ПДК для производственных штаммов в воздухе рабочей зоны ограничивается 5×10^4 кл/м³, а в атмосферном воздухе – 5×10^3 кл/м³. Согласно этому положению рекомендуем ПДК *R. jialingiae* 1kp ВКПМ Ас-1957 на уровне 5×10^4 кл/м³ и ПДК_{а.в.} – на уровне 5×10^3 кл/м³. Величина гигиенического норматива для *R. jialingiae* 1kp ВКПМ Ас-1957 находится в соответствии с ранее утвержденными нормативами (ПДК_{п.з.} 50000 кл/м³, ПДК_{а.в.} 5000 кл/м³) для различных штаммов *R. erythropolis*, *R. maris*, *R. rhodochrous*, *R. corallinus* (ГН 2.1.6.2177-07, ГН 2.2.6.2178-07, утверждены постановлением Главного государственного врача Российской Федерации от 06.03.2007, № № 9, 10).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Критерии оценки патогенных свойств штаммов-продуцентов, предлагаемых для использования в промышленности микробиологического синтеза. Мет. реком., РГМУ, М., 1992, 22 с.
2. Методические указания по экспериментальному обоснованию ПДК микроорганизмов-продуцентов и содержащих их готовых форм препаратов в объектах

1. производственной и окружающей среды. N5789/1-М., 1991, 22 с.
3. Определитель бактерий Берджи. Под ред. Дж.Холта, Н.Крига, Дж.Снита и др. -Девятое изд. -М., «Мир», 1997.- 2т.
4. Wang Z., Xu J., Li Y., Wang K e.a. Int. J. Syst. Evol. Microbiologie. – 2010.- №60.- P.378-381.

REFERENCES:

1. Criteria of assessment the pathogenic properties of producer strains proposed for use in industrial microbiological synthesis. Methodical. recommendations, Medical University, Moscow, 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

1. objects . N5789/1-91. – М., 1991.- 22 p. (in Russian)
3. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Ninth Ed. J. G. Holt, N. R. Krieg, P.H.A. Sneath et al. -M., «Mir». -1997. – 2v. (in Russian)
4. Wang Z., Xu J., Li Y., Wang K e.a. Int. J. Syst. Evol. Microbiologie. – 2010.- №60.- P.378-381

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

MICROORGANISM *Rhodococcus jialingiae* 1 kp ВКПМ Ас-1957

¹State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education «N.I. Pirogov Russian National Research Medical University», 117997, Moscow, Russian Federation

²State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education «I.M. Sechenov Moscow State Medical University», RF Ministry of Healthcare, 119991 Moscow, Russian Federation

Hazard assessment of the microorganism *Rhodococcus jialingiae* 1 kp ВКПМ Ас-1957 to human health was carried out. TLV/TWA_{working zone 1} on the level of 5×10^4 cells/m³ and TLV/TWA_{atmospheric air} on the level of 5×10^3 cells/m³ for *R. jialingiae* 1kp ВКПМ Ас-1957 are recommended for approval.

Keywords: microorganism, *Rhodococcus jialingiae* 1 kp ВКПМ Ас-1957, hazard, TLV/TWA_{working zone}, TLV/TWA_{atmospheric air}.

Материал поступил в редакцию 12 ноября 2014 г.