

УДК 613.155 : 615.9

ОБОСНОВАНИЕ ПДК МИКРООРГАНИЗМА *BEAUVERIA BASSIANA* ШТАММ ОРВ-43 В ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ ЗОНЫ И АТМОСФЕРНОМ ВОЗДУХЕ НАСЕЛЕННЫХ МЕСТ

Н.И. Шеина¹, Е.В. Буданова²,
Л.И. Мясина¹, Л.П. Сазонова¹,
В.В. Колесникова¹

¹ФГБОУ ВО «Российский национальный
исследовательский медицинский
университет им. 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 *Beauveria bassiana* ОРВ-43 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: *Beauveria bassiana* штамм ОРВ-43, сенсibiliзация, ПДК.

Введение. Штамм *Beauveria bassiana* ОРВ-43 является патогенным для широкого спектра насекомых-вредителей, патогенез характеризуется попаданием жизнеспособных конидий и/или бластоспор штамма на поверхность тела насекомого с последующим прорастанием мицелия во внутренние ткани насекомого, сопровождаемым гибелью последнего. Штамм не обладает патогенностью в отношении полезных и нейтральных человеку членистоногих в агроценозах.

При попадании на покровы насекомых конидии и бластоспоры прорастают сквозь них, образуя мицелий, и постепенно проникают в гемолимфу, где гриб начинает активно размножаться, распространяясь по всему телу насекомого. При этом гриб потребляет растворенные в гемолимфе питательные вещества и продуцирует токсины, в частности, боверин. В результате насекомое гибнет от истощения и интоксикации. Развивающийся мицелий выходит через покровы насекомого на поверхность, на нем образуются споры, которые при попадании на поверхность следующей генерации насекомых заражают их, и цикл повторяется.

Штамм является активным началом препарата

Биослип БВ, Ж. Инсектицид «Биослип БВ, Ж» состоит из жизнеспособных бластоспор, конидий, остатков мицелия штамма *Beauveria bassiana* ОРВ-43 и культуральной жидкости, представляющей собой водный раствор остатков питательной среды и продуктов жизнедеятельности культуры штамма. Содержание жизнеспособных конидий *Beauveria bassiana* ОРВ-43 в биологическом инсектициде составляет не менее 10^8 КОЕ/мл

Систематическое положение штамма

Царство *Fungi*

Отдел *Coelomycetes* (митоспоровые грибы)

Класс *Hyphomycetes*

Род *Beauveria*

Вид *bassiana*

Штамм ОРВ-43

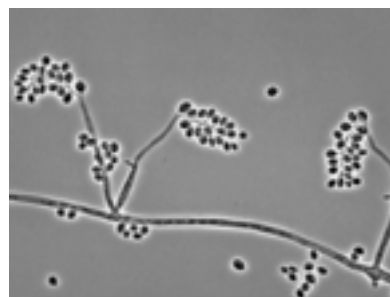


Рис. Внешний вид *Beauveria bassiana* sp.

Шейна 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

Мясина 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

Гриб образует практически одинаковые колонии на среде Сабура и картофельно-декстрозном агаре, достигающие 25-30 мм в диаметре на 10 суток роста при 23°C. Колонии войлочные, плотно прилегающие к поверхности среды, белого цвета, обладают слабым невятым запахом. С возрастом поверхность колоний становится мучнистой. Обратная сторона колонии имеет желтоватую окраску, растворимый пигмент отсутствует.

При микроскопировании обнаруживаются вегетативные гифы септированные, разветвленные, бесцветные, с гладкими стенками шириной 1-2 мкм. Конидиеносцы образуются латерально на воздушных гифах.

Конидиогенные клетки расположены одиночно, парами или пучками с расширенным основанием и тонкой вытянутой вершиной с зигзагообразным недетерминированным рахисом (окончанием), несущим одиночные шаровидные гладкие бесцветные конидии шириной 2-3 мкм. В массе конидии белого цвета, агрегированы в сферические кластеры среди воздушного мицелия.

Штамм *Beauveria bassiana* ОРВ-43 по критериям вирулентности, токсичности, токсигенности и диссеминации относится к непатогенным микроорганизмам для теплокровных животных. 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.

Материалы и методы исследования. В соответствии с «Методическими указаниями по экспериментальному обоснованию ПДК микроорганизмов-продуцентов и содержащих их готовых форм препаратов в объектах производственной и окружающей среды», №5789/1-91 было изучено влияние микроорганизма *Beauveria bassiana* ОРВ-43 на интегральные показатели состояния организма экспериментальных животных (масса тела и массовые коэффициенты внутренних органов), на состав микрофлоры кишечника крыс, его сенсибилизирующие (реакции ГЗТ и ГНТ) и иммунотоксические (антигенность, Т- и В-лимфоциты в крови) свойства и возможность диссеминации во внутренние органы с целью установления лимитирующего критерия вредного действия и обоснования ПДК штамма в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе населенных мест.

Результаты и обсуждение. Обследование экспериментальных животных показало, что воздействие микроорганизма в изучаемых концен-

трациях (5×10^4 и 5×10^5 кл/м³) в течение 1 месяца не приводило к изменению интегральных показателей организма, которое оценивалось по динамике массы тела в процессе эксперимента и восстановительного периода, а также по величине коэффициентов массы внутренних органов (сердце, легкие, печень, почки).

Полученные данные свидетельствуют об отсутствии общего токсического действия штамма на организм экспериментальных животных при субхронической экспозиции в изученных концентрациях.

В результате проведенных исследований по изучению иммунотоксических свойств микроорганизма установлено, что воздействие штамма в 2-х концентрациях не приводило к изменению коэффициентов массы иммунокомпетентных органов: тимуса и селезенки, а также количества форменных элементов в лейкограмме периферической крови экспериментальных животных.

В экспериментах на мышах не обнаружено формирования реакции гиперчувствительности замедленного типа, обусловленной клетками-эффекторами ГЗТ.

Результаты реакции прямой дегрануляции тучных клеток также не могут быть расценены как положительные, т.к. не выявлено увеличения процента дегранулированных клеток при воздействии обеих концентраций микроорганизма. Поскольку дегрануляция тучных клеток обусловлена антителами-реагинами, то можно сделать заключение об отсутствии у штамма *Beauveria bassiana* ОРВ-43 сенсибилизирующей активности, способной формировать гиперчувствительность немедленного типа (ГНТ).

Не установлено изменений количественных показателей основных (Т- и В-лимфоцитов) лимфоцитов периферической крови, соотношения Т/В, а также вариабельности числа Т- и В-лимфоцитов у подопытных животных по сравнению с контрольной группой.

Изучаемый микроорганизм в представленных условиях эксперимента не проявлял антигенной активности: не приводит к образованию специфических антимикробных антител – агглютининов.

Иммунотоксическая активность *Beauveria bassiana* ОРВ-43, оцениваемая по титру гемоглобулинов при иммунизации животных эритроцитами барана, независимо от используемой концентрации была аналогичной таковой в контрольной группе животных, как по средним значениям, так и по их индивидуальной вариабельности. Известно, что ответ на эритроциты барана – тимусзависимый антиген, который обусловлен кооперативным взаимодействием макрофагов – Т- и В-лимфоцитов.

Полученные данные свидетельствуют об от-

сутствии как иммунотоксического на основные иммунокомпетентные клетки, так и иммуностимулирующего или иммуносупрессивного действия изучаемого микроорганизма на иммунный ответ.

Бактериологические исследования микрофлоры кишечника показали, что на фоне субхронического воздействия *Beauveria bassiana* OPB-43 в обеих концентрациях не наблюдались значимые изменения микроценоза кишечника у подопытных животных.

Штамм не оказывал ощутимого влияния на показатели анаэробной составляющей (бифидобактерии и лактобациллы) микробиоценоза кишечника. Не происходило также существенного изменения количественного и качественного состава условно-патогенной микрофлоры (лакто-негативные энтеробактерии, стафилококки, энтерококки и грибы рода *Candida*). Коэффициент массы слепой кишки не различался у крыс контрольной и подопытных групп.

В восстановительном периоде (2 недели) микрофлора кишечника крыс, подвергшихся воздействию *Beauveria bassiana* OPB-43 в концентрациях 5×10^5 и 5×10^4 кл/м³, по качественным и количественным показателям практически не отличалась от таковых контрольных животных.

Штамм при субхроническом воздействии (1 месяц) в концентрациях 5×10^4 и 5×10^5 кл/м³ 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 пороговая концентрация субхронического воздействия штамма *Beauveria bassiana* OPB-43 не была достигнута.

Заключение. 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 рекомендованы для утверждения в МЗ РФ величины гигиенического норматива: для штамма *Beauveria bassiana* OPB-43 в воздухе рабочей зоны ПДК_{р.з.} на уровне 5×10^4 кл/м³ и в атмосферном воздухе населенных мест ПДК_{а.в.} на уровне 5×10^3 кл/м³.

Разработаны методы микробиологического контроля штамма *Beauveria bassiana* OPB-43 в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе по культурально-морфологическим признакам штамма.

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 экспериментальному

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

3. Шеина Н.И., Скрыбина Э.Г., Пивоваров Ю.П.

и др. Проблема биобезопасности промышленных микроорганизмов в России: настоящее и будущее. // Токсикологический вестник. – 2016. – №4. – С.2-10

REFERENCES:

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

2. Sheina N.I., Scriabina 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. Mjalina¹, L.P. Sazonova¹, V.V. Kolesnikova¹

JUSTIFICATION OF THE MAXIMUM PERMISSIBLE CONCENTRATION OF MICROORGANISM *Beauveria bassiana* OPB-43 IN THE AIR OF WORKING AREA AND ATMOSPHERIC AIR OF POPULATED AREAS

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

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

Beauveria bassiana strain OPB-43 has no sensitizing properties, does not affect the cellular and humoral parts of the immune system, the intestinal microflora. The MPC of the strain in the air of working area is recommended at 5×10^4 mg/m³, in the atmospheric air of populated areas - 5×10^3 mg/m³.

Keywords: *Beauveria bassiana* strain OPB-43, sensitization, MPC.

Переработанный материал поступил в редакцию 09.07.2018 г.