

## НОВЫЕ СВЕДЕНИЯ О ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

УДК 592:615.9

### МИКРООРГАНИЗМ KOMAGATAELLA (PICHIA) PASTORIS ВКПМ У-4225

Н.И. Шеина<sup>1</sup>, Э.Г. Скрябина<sup>1</sup>, Л.И. Мясина<sup>1</sup>, Е.В. Буданова<sup>2</sup>,  
Л.П. Сазонова<sup>1</sup>, В.В. Колесникова<sup>1</sup>, Г.Г. Чуб<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 117997, г. Москва, Российская Федерация  
<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет» им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации, 119991, г. Москва, Российская Федерация

**М**икроорганизма *Komagataella (Pichia) pastoris* ВКПМ У-4225. В соответствии с существующими законодательными нормативными документами для родственного в таксономическом плане штамма *Pichia membranifaciens* ВКМ-У-934 продуцента цитохрома С установлена ПДК на уровне  $2 \times 10^3$  кл/м<sup>3</sup>, пометка А для рабочей зоны и на уровне  $2 \times 10^2$  кл/м<sup>3</sup>, пометка А для атмосферного воздуха, что согласуется с рекомендованной величиной норматива для изучаемого штамма.

**Ключевые слова:** микроорганизм, токсичность, опасность.

Штамм *Komagataella (Pichia) pastoris* ВКПМ У-4225 получен трансформацией фрагмента рекомбинентной ДНК, включающего ген фитазы ArrA2, в штамм-реципиент *Komagataella pastoris* ВКПМ У-3489. Предполагается использовать штамм в промышленном производстве фермента фитазы для кормовых целей.

Мезофил. Штамм растет на агаризованных средах – глюкозо-пептон-дрожжевом агаре (YPD), глюкозо-пептонном агаре (ГПА), глицерин-пептон-дрожжевом агаре (YPG), мясо-пептонном агаре (МПА), АГВ среде, картофельный агар (КА).

Рост очень хороший – через 24 часа при 25-28°С образует колонии на глюкозо-пептонном агаре (ГПА).

При росте на агаризованной среде образуются гладкие, круглые колонии с матовой поверхностью светло-кремового цвета, край неровный.

При росте в жидкой среде клетки образуют ровную интенсивную суспензию. Культура имеет характерный запах метилотрофных дрожжей.

На среде YPD штамм образует клетки округлой, слегка овальной формы размером 5-10 мкм, часть клеток имеет на своей поверхности почки или соединена с дочерними клетками.

Штамм *K. (Pichia) pastoris* депонирован во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов под номером ВКПМ У-4225.

В процессе экспериментальных исследований было изучено влияние микроорганизма на интегральные показатели состояния организма экспериментальных животных и микрофлору кишечника, иммуотоксические свойства и возможность диссеминации его во внутренние органы с целью установления лимитирующего критерия вредного действия (ЛКВД) и обоснования ПДК<sub>п.з.</sub> *K. pastoris* ВКПМ У-4225

**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

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

**Мясина 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

Обследование экспериментальных животных показало, что воздействие штамма-продуцента в двух концентрациях ( $3 \times 10^3$  и  $3 \times 10^4$  кл/м<sup>3</sup>) в течение 1 месяца не приводило к изменению интегральных показателей состояния организма экспериментальных животных, которое оценивалось нами по динамике массы тела в процессе эксперимента и в восстановительном периоде. Полученные данные свидетельствуют об отсутствии общего токсического действия штамма-продуцента на организм крыс в течение 1-го месяца его в изученных концентрациях.

В результате проведенных исследований по изучению иммунотоксических свойств микроорганизма установлено, что коэффициенты массы тимуса и селезенки экспериментальных животных при воздействии большей концентрации не различались с животными контрольной группы. В лейкограмме периферической крови подопытных животных выявлена тенденция увеличения общего количества лейкоцитов и увеличение числа эозинофилов в 2 раза у подопытных животных при воздействии штамма-продуцента при воздействии большей концентрации.

При оценке сенсибилизирующей активности штамма в эксперименте не выявлено формирования клеточной реакции замедленного типа (ГЗТ) на мышах. Тучноклеточная реакция немедленного типа (ГНТ) на крысах была показана при воздействии большой концентрации штамма.

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 *K. pastoris* ВКПМ У-4225 в концентрации  $3 \times 10^3$  кл/м<sup>3</sup> не происходило значимого изменения (дисбаланса) микробиоценоза кишечника крыс. Наблюдалось увеличение лактозоположительных эшерихий, снижение числа стафилококков и дрожжеподобных грибов и

некоторое увеличение лактобактерий и бифидобактерий в фекалиях подопытных животных, что, возможно, связано со стимуляцией положительной аутофлоры кишечника.

При воздействии большей концентрации штамма наблюдалось увеличение числа условно-патогенной микрофлоры (стафилококков, энтеробактерий, грибов рода кандиды), которое, по-видимому, не могло компенсироваться некоторой стимуляцией роста лактобактерий и бифидобактерий.

Коэффициент массы слепой кишки не различался у крыс контрольной и подопытных групп. В восстановительном периоде микрофлора кишечника крыс, подвергшихся воздействию микроорганизма в обеих концентрациях, по качественным и количественным показателям не отличался от таковых контрольных животных.

Штамм-продуцент 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 лимитирующим критерием вредного действия микроорганизма на организм теплокровных животных являются сенсибилизирующий и дисбиотический эффекты.

С учетом коэффициента запаса 10 для воздуха рабочей зоны рекомендована для утверждения ПДК<sub>р.з.</sub> *K. pastoris* ВКПМ У-4225 на уровне  $3 \times 10^3$  кл/м<sup>3</sup>, пометка А.

С учетом коэффициента запаса 100 для атмосферного воздуха населенных мест рекомендована для утверждения ПДК<sub>а.в.</sub> *K. pastoris* ВКПМ У-4225 на уровне  $3 \times 10^2$  кл/м<sup>3</sup>, пометка А.

В соответствии с существующими законодательными нормативными документами для родственного в таксономическом плане штамма *Pichia membranifaciens* ВКМ-У-934 продуцента цитохрома С установлена ПДК на уровне  $2 \times 10^3$  кл/м<sup>3</sup>, пометка А для рабочей зоны и на уровне  $2 \times 10^2$  кл/м<sup>3</sup>, пометка А для атмосферного воздуха, что согласуется с рекомендованной величиной норматива для изучаемого штамма.

Разработаны методы микробиологического определения штамма *K. pastoris* ВКПМ У-4225 в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

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

## 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. Методические указания по экспериментальному обоснованию ПДК микроорганизмов-продуцентов и содержащих их готовых форм препаратов в объектах производственной и окружающей среды. №5789/1-91.- М., 1991. – 22с.

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).

N.I. Sheina<sup>1</sup>, J.G. Skryabina<sup>1</sup>, L.I. Myalina<sup>1</sup>, E.V. Budanova<sup>2</sup>, L.P. Sazonova<sup>1</sup>, V.V. Kolesnikova<sup>1</sup>, G.G. Chub<sup>1</sup>.

**MICROORGANISM *BACILLUS KOMAGATAELLA (PICHIA) PASTORIS* ВКПМ Y-4225**

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

<sup>2</sup> I.M. Sechenov Moscow State Medical University , RF Ministry of Health, 119991 Moscow, Russian Federation

Hazard and toxicity assessment of the microorganism *Bacillus Komagataella (Pichia) pastoris* ВКПМ Y-4225 was performed. In accordance with legislative regulatory documents in force for its congener in taxonomic aspect of cytochrome C producer strain *Pichia membranifaciens* ВКПМ Y-934, MAC<sub>occupational air</sub> on the level of 2x10<sup>3</sup> cells/m<sup>3</sup> mark A and MAC<sub>atmospheric air</sub> on the level of 2x10<sup>2</sup> cells/m<sup>3</sup> mark A in residential settings are recommended for the microorganism *Bacillus Komagataella (Pichia) pastoris* ВКПМ Y-4225.

**Keywords:** microorganism, toxicity, hazard.

Материал поступил в редакцию 29.02.2016 г.

**НЕКРОЛОГ**

**ПАМЯТИ ЮРИЯ ИЛЬИЧА КУНДИЕВА**



17 января 2017 г., в Киеве, на 90-м году жизни скончался Юрий Ильич Кундиев – советский и украинский учёный в области гигиены труда, профессор, член-корреспондент АМН СССР и РАН, Вице-президент АМН Украины, советник Президиума НАН Украины, член комитета экспертов ВОЗ по профессиональному здоровью. Почётный член Чехословацкого медицинского общества им. Я. Пуркине.

Ю.И. Кундиев родился 2 октября 1927 г. в селе Трояны Добровеличковского района Кировоградской области. В 1951 г. окончил санитарно-гигиенический факультет Киевского медицинского института им. Акад. А.А. Богомольца.

После окончания аспирантуры по специальности «Физиология труда» в Киевском НИИ гигиены труда и профзаболеваний Ю.И. Кундиев навсегда связал свою судьбу с этим институтом. В 1955 году защитил кандидатскую диссертацию и включился в разработку проблемы токсикологии и гигиены применения пестицидов, возглавив лабораторию индивидуальных защитных приспособлений. В 1963 г. Ю.И. Кундиев был утвержден в должности заместителя директора института по научной работе, а с 1964 г. – возглавил институт. В 1967 году защитил докторскую диссертацию на тему «Гигиеническое значение проблемы всасывания фосфорорганических пестицидов через кожу». В 1969 г. ему было присво-

ено звание профессора, а в 1977 г. – «Заслуженный деятель науки УССР». В 1974 г. был избран членом-корреспондентом АМН СССР, а в 1979 г. – академиком АН УССР.

Ю.И. Кундиев был ученым-гигиенистом с широкой мировой известностью. Направления его научных исследований охватывали наиболее актуальные проблемы, основными среди которых были: гигиена и физиология труда, токсикология пестицидов и их безопасное использование, комбинированное действие факторов производственной среды, изучение профессионального риска здоровью, гигиенические проблемы ликвидации последствий аварий на Чернобыльской АЭС.

Ю.И. Кундиевым опубликовано около 600 научных работ, среди которых монографии, руководства и учебники. Под его руководством и при консультации подготовлено и успешно было защищено более 50 докторских и кандидатских диссертаций.

Ю.И. Кундиев являлся членом Постоянного Комитета экспертов ВОЗ по безопасному применению пестицидов, членом бюро Европейского форума по биоэтике.

**Всероссийская общественная организация токсикологов, редакция журнала «Токсикологический вестник», ФБУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора скорбят и выражают соболезнование родным, близким и коллегам Юрия Ильича Кундиева.**