



НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ МІКРОБІОЛОГІЇ І ВІРУСОЛОГІЇ ІМ. Д.К.ЗАБОЛОТНОГО

вул. Ак.Заболотного, 154, м. Київ, 03143,
Тел.: +380 44 526-11-79, +380 44 526-23-89, e-mail: secretar@imv.org.ua

СВІДОЦТВО

про первісне депонування штаму мікроорганізму
в Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України

Автори: Гнатуш С. О., Масловська О. Д., Комплікевич С. Я.,
Перетятко Т. Б., Мороз О. М.

Депозитори: Львівський національний університет імені Івана Франка,
Державна установа Національний антарктичний науковий центр
Міністерства освіти та науки України.

Поштова адреса: 79001, м. Львів, вул. Університетська, 1;
01601, м. Київ, бул. Тараса Шевченка, 16.

Цим підтверджується, що штам мікроорганізму:

Pseudomonas sp. 3B-In-57

первісно депонований відповідно до «Інструкції про порядок депонування в Україні штамів мікроорганізмів з метою здійснення патентної процедури» в Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України.

Реєстраційний номер, наданий штаму мікроорганізму Депозитарієм:

Pseudomonas sp. IMB B-8177

Супровідна документація, яку одержано від депозитора: паспорт, договір № 102-2025

Дата первісного депонування: **28.10.2025 р.**



Директор Інституту мікробіології
і вірусології ім. Д. К. Заболотного
НАН України, академік НАН України *Микола СПІВАК*



IMB B-8177
Pseudomonas sp.
3B-In-57



Директор Інституту мікробіології
і вірусології ім. Д. К. Заболотного
НАН України, академік НАН України

Микола СПИВАК

30 жовтня 2025 р.

В И С Н О В О К

щодо патогенних властивостей штаму *Pseudomonas sp.* 3B-In-57
за результатами дослідження вірулентності для безпородних білих мишей

Штам мікроорганізму *Pseudomonas sp.* 3B-In-57 надано для випробувань авторами Гнатуш С.О., Масловською О. Д., Комплікевич С. Я., Перетятко Т.Б., Мороз О.М., депозитори Львівський національний університет імені Івана Франка, Державна установа Національний антарктичний науковий центр Міністерства освіти та науки України. відповідно до договору №102-2025. Бактерії *Pseudomonas sp.* 3B-In-57 депоновано у Депозитарії мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України за ідентифікаційним номером IMB B-8177.

Депонування штаму здійснено згідно змін постанови КМУ №1076 від 23.10.2019 щодо «Порядку проведення державних випробувань, державної реєстрації та перереєстрації, видання переліків пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні» і «Порядку проведення еколого-експертної оцінки матеріалів, поданих для реєстрації пестицидів і агрохімікатів».

Бактерії роду *Pseudomonas* – це прямі або трохи зігнуті Грам-негативні рухливі палички. Більшість з них не здатні накопичувати гранули полігідроксибутирату, але замість них можуть спостерігатись гранули полігідроксиалканатів (Palleroni, 2015/Bergey's Manual 2005). Аероби, мають суворий тип дихання із киснем як термінальним акцептором електронів. В деяких випадках в якості альтернативного акцептора може виступати нітрат-йон, що робить можливим ріст за анаеробних умов. Оксидаза може бути варіабельною. Властивий хемоорганотрофний тип живлення. Серед роду присутні патогенні для людей, тварин та рослин види.

P. fluorescens and *P. putida* мають перевагу у використанні у виробництві та як біологічні агенти контролю росту рослин. Деякі їх штами можуть покращувати результат росту рослин, який спричиняється ефектом селективного інгібування інших бактерій та грибів, що можуть бути патогенними для рослини. Зокрема, це може бути вплив сидерофорів, наприклад псевдобактин 358, який продукується *P. putida* WCS358 і інгібував бактеріальне в'янення в евкالیпту (Sánchez Carrillo, 2022).

Для виробничих мікроорганізмів та штамів, що інтродукуються у екологічне середовище України як біопрепарати, необхідно дослідно підтвердити

їх безпечність. Рівень патогенності конкретного промислового мікроорганізму базується на встановленні у гострих, субхронічних та хронічних дослідах на різних видах тварин ряду токсико-гігієнічних показників: вірулентності (оральна, інгаляційна, дермальна), інвазивності, токсичності, токсигенності, імунотоксичності (алергенності), дисбіотичної та подразнюючої дії тощо [3, 4, 6, 7, 8].

Штами мікроорганізмів, що дозволяються МОЗ України до використання у виробництві та до інтродукції у зовнішнє середовище, відносяться до непатогенних і/або в окремих випадках умовно-патогенних [4, 7]. Це непатогенні мікроорганізми III чи IV класу небезпеки по ГОСТ 12.1.007-76 [2, 4, 6, 7]. Згідно рекомендацій МОЗУ необхідно встановити непатогенність штаму мікроорганізму, який планується до використання у біопрепараті. «Якщо в експериментальних дослідженнях не виявлено будь-яких клінічних симптомів і відхилень в загальному стані лабораторних тварин, мікроорганізми не інвазивні (тобто не здатні проникати в клітини організму) і не інфекційні (невірулентні), слід вважати такі мікроорганізми непатогенними» [7]. Умовною мірою патогенності мікроорганізмів є їх вірулентність, яка виражається дозою життєздатних мікробних клітин, що спричиняє загибель 50% заражених тварин. Критерії визначення у «гострих» дослідах вірулентності та класу небезпеки штамів мікроорганізмів наведені нижче.

З метою депонування даного штаму проводили його первинну санітарно-гігієнічну оцінку, а саме досліджували у гострих дослідах на моделі білих мишей окремі показники патогенності – вірулентність та інвазивність суспензії культури [4, 5]. Перевірку вірулентних властивостей штаму виконано з використанням статевозрілих безпородних білих мишей вагою 18-20 г шляхом введення суспензій клітин перорально через зонд та внутрішньочеревинно в ін'єкціях [3, 7]. Тварини були адаптовані протягом 14 діб до умов утримання [9]. Нагляд за тваринами після ін'єкцій проводили протягом 14 днів. Визначали:

- Вірулентність суспензії клітин, отриманих при культивуванні штаму в аеробних умовах при температурі $27 \pm 1^{\circ}\text{C}$ протягом 2 діб на манітно-дріжджовому агарі (МДА). Штам *Pseudomonas sp. 3B-In-57* вирощували протягом 4 діб на манітно-дріжджовому агарі (МДА). Суспензію клітин готували на стерильному фізіологічному розчині, концентрацію клітин визначали за допомогою оптичного стандарту мутності з урахуванням розміру клітин бактерій [10] та за допомогою камери Горяєва.
- Інвазивність штаму *Pseudomonas sp. 3B-In-57* визначали за можливих природних шляхів поступлення останніх в організм, а саме по спроможності культури проникати і зберігатися в тканинах органів тварин на 14 добу після пероральної затравки. Мишам вводили одноразово *per os* активну культуру бактерій в достатньо великих дозах, які не призводили до загибелі тварин. Через 14 діб після зараження мишей вбивали дислокацією шийних хребців та проводили їх розтин. Проводили макроскопічні дослідження зразків тканин внутрішніх органів тварин на висіві їх на живильний агар для виявлення ретрокультур. Паралельно проводили контроль чистої культури штаму.

Мікробіологічні дослідження зразків тканин внутрішніх органів дослідних тварин через 14 діб після початку досліду показали, що даний штам не інфективний, не дисемінує і не розмножується в організмі теплокровних. Пероральне введення суспензії живих клітин культури не спричиняло інвазії бактерій у внутрішні органи тварин – печінку, легені, нирки. Ретрокультури на живильному агарі МДА не виявлені.

Таблиця. Результати дослідження вірулентності штаму
Pseudomonas sp. 3B-In-57

Матеріал для введення	Кількість мишей	Доза		Шлях введення	Курс введення	Кількість мишей		
						Захворіло	Загибло	Вижило
	штук	мл	млрд. кліт.		діб	штук	штук	Штук
Дослід:								
Суспензія 2-добових клітин	6	0,5	1,0	в/ч	1	0	0	6
- // -	6	1,0	12	per os	1	0	0	6
Контроль:								
Фізіологічний розчин	6	0,5	0	в/ч	1	0	0	6
- // -	6	1,0	0	per os	1	0	0	6

*Примітка: в/ч - внутрішньочеревинні ін'єкції, per os - введення в шлунок з допомогою зонда.

Всі миші, у тому числі і контрольні, які залишились живими після закінчення терміну спостережень, були вбиті дислокацією шийних хребців, проведено їх розтин і дослідження внутрішніх органів [7]. Відсутність інфекційної патології і ознак ураження дослідних тварин було підтверджено при макроскопічному вивченні внутрішніх органів.

Результати розтину показали:

- * серце звичайної форми і розміру;
- * легені в об'ємі не збільшені, долі легко відокремлюються одне від одного, поверхні гладенькі, спайок не спостерігалось;
- * шлунок, петлі тонкого і товстого кишечника зовні є звичайними, на розрізі малюнок слизової незмінений;
- * печінка темно-червоного кольору, нормальної консистенції, середнього кровонаповнення, не збільшена, поверхня гладенька;
- * нирки звичайних розмірів і форми, поверхні гладенькі, на розрізі чіткий малюнок коркової і мозкової речовини;
- * селезінка не збільшена, консистенція туга, на розрізі пульпа помірно повнокровна і темного кольору.

Таким чином, згідно отриманих у «гострих» дослідах результатів та відповідних нормативних матеріалів штам ***Pseudomonas sp. 3B-In-57*** є

авірулентним не здатним до інвазії у внутрішні органи досліджених теплокровних тварин – білих мишей, і належить до **IV класу небезпеки мікроорганізмів**: “*малонебезпечних, практично без алергенної та загальнотоксичної дії*” [3, 4, 6, 7].

Висновок видано для депонування вищезгаданої культури бактерій у Депозитарії мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України.

Література

1. Безпека роботи з мікроорганізмами I-II груп патогенності. МОЗ України, ДСП 9.9.5.035.99. 1999 р.
2. DIRECTIVE 2000/54/EC OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work. 27/10/2020.
3. Методические указания по гигиенической оценке микробных средств защиты растений от насекомых и болезней на основе неспорообразующих микроорганизмов. Киев, 1982.
4. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL), U.S. Department of Health and Human Services.
5. Медико-біологічні дослідження виробничих штамів мікроорганізмів і токсико-гігієнічна оцінка микробних препаратів, визначення їх безпеки та обґрунтування гігієнічних нормативів і регламентів. Методичні вказівки МОЗ України. Київ, 2004.
6. Azotobacter Group. From: Microbial Inoculants, 2023.
7. Кожемякин Ю. М., Хромов О. С., Філоненко М. А., Сайфетдінова Г. А. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними. МОЗУ, Фармкомітет. Київ-2002. 156 с.
8. Шаповалова О. В. і ін. Стандартизація методу виготовлення суспензій мікроорганізмів // Збірка «Методи одержання чистих культур мікроорганізмів та їх довгострокового зберігання в колекціях». Київ: «Знання України», 2004, С.70-75
9. Promising bacterial genera for agricultural practices: An insight on plant growth-promoting properties and microbial safety aspects// Carlos M.H. Ferreira, Helena M.V.M. Soares, Eduardo V. Soares // Випуск 682, 10 вересня 2019 р. С. 779—799, www.sciencedirect.com/journal.
10. Омелянець Т. Г., Головач Т. М. Токсикологічна оцінка біопрепаратів на основі азотфіксуючих бактерій // Мікроб. журн., 2009. 71. 6, С. 21-27.

Науковий співробітник, к.м.н.

Інженер



Валентина БОЙКО

Тетяна ЖИЛІХОВСЬКА