



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

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 штамп мікроорганізму:

***Pseudomonas sp 79-102***

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-8178***

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-8178  
*Pseudomonas sp.*  
79-102



**ЗАТВЕРДЖУЮ**

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

**Микола СПІВАК**

30 жовтня 2025 р.

## **В И С Н О В О К**

**щодо патогенних властивостей штаму *Pseudomonas sp.* 79-102  
за результатами дослідження вірулентності для безпородних білих мишей**

Штам мікроорганізму *Pseudomonas sp.* 79-102 надано для випробувань авторами Гнатуш С. О., Масловська О. Д., Комплікевич С. Я., Перетятко Т. Б., Мороз О. М., депозиторами Львівський національний університет імені Івана Франка та Державна установа Національний антарктичний науковий центр Міністерства освіти та науки України відповідно до Договору №102-2025.

Бактерії *Pseudomonas sp.* 79-102 депоновано у Депозитарії мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України за ідентифікаційним номером IMB B-8178.

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».

*P. putida* зустрічається широко в природі. Метаболізм цієї бактерії дозволяє їй вижити в абсолютно різних умовах і навіть в умовах стресу. Цей представник є не лише індукуючим ріст рослин мікроорганізмом, але також і біовідновлюючим агентом. *P. putida* також використовують у промисловому біовиробництві різних хімікатів, натуральних продуктів, таких як терпеноїди, полікетиди та полімери (Weimer, 2020).

*P. putida* не здатна денітрифікувати, давати реакцію з яєчним жовтком і, що найбільше її відрізняє від *P. aeruginosa* та *P. fluorescens*, не розріджує желатин. До *P. putida* також входить два біовари, із яких біовар А вважається типовим і до нього належить більшість штамів, в той час як до біовару В – меншість. Вони різняться між собою декількома фенотиповими властивостями: штами із біовару В використовують в якості джерела карбону галактозу і можуть метаболізувати триптофан та кінуренін (Palleroni, 2015/Bergey's Manual 2005). Мають флуоресцентний пігмент на середовищі Кінг В (Xiang, 2019).

*P. fluorescens* так само, як і *P. putida*, виробляє флуоресцентний жовто-зелений пігмент, який по своїй природі є сидерофором, якщо культивування відбувається в умовах обмеженого доступу до заліза. В цілому, *P. fluorescens* фенотипово схожий на *P. putida*. Її використання як біологічного агента

контролю росту рослин теж є поширеним. Наприклад, явище використання біодобрив, які засновані на мікробіоті ризосфери, є корисним по відношенню до збереженню родючості ґрунту. Такі бактерії ще називають PGPR (plant growth-promoting rhizobacteria) і вони збільшують проростання насіння, кількість біомаси рослин та врожай (Gamez, 2019). Також *P. fluorescens* показує здатність регенерувати золото з відпрацьованих друкованих плат. Золото відновлювали у вигляді золото-ціанідного комплексу завдяки продукції ціаніду *P. fluorescens* (Li, 2020).

Не дивлячись на його корисні властивості, *P. fluorescens* може забруднювати їжу, часом буває асоційованим із деякими людськими захворюваннями, такими як септицемія, септичний шок та внутрішньосудинне згортання крові (Guo, 2021).

Для виробничих штамів мікроорганізмів *Pseudomonas sp.* 79-102 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].

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 внутрішньочеревино в ін'єкціях [3,7]. Тварини були адаптовані протягом 14 діб до умов утримання [9]. Нагляд за тваринами після ін'єкцій проводили 14 днів. Визначали:

1. Вірулентність суспензії активних клітин, отриманих при культивуванні штамів в аеробних умовах при температурі  $30 \pm 2$  °C. Штам *Pseudomonas sp.* 79-102 вирощували протягом 2 діб на манітно-дріжджовому агарі (МДА) такого складу в г/л:  $K_2HPO_4$  – 0,5,  $MgSO_4$  – 0,2, кухонна сіль – 0,1, маніт - 10, дріжджовий екстракт – 0,5, агар – 15-17, рН 6,8-7,2. Суспензію клітин готували на стерильному фізіологічному розчині, концентрацію клітин визначали за допомогою оптичного стандарту мутності з урахуванням розміру клітин бактерій [10].
2. Інвазивність штаму 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 миші були вбиті дислокацією шийних хребців та проведено їх розтин і дослідження внутрішніх органів. Проводили макроскопічні дослідження зразків тканин внутрішніх органів тварин на висіви їх на живильний агар МДА для виявлення ретрокультур. Паралельно проводили контроль чистої культури штаму.

Контролювали поведінкові реакції та фізіологічний стан мишей. Критеріями авірулентності слугували відсутність інфекційної патології та

загибелі мишей протягом 14 діб при дослідженні рекомендованих концентрацій клітин бактерій для непатогенних мікроорганізмів. Клінічних ознак токсикозу не спостерігалось. Була відсутня достовірна різниця в масі тіла дослідних і контрольних тварин, а також в загальному стані та поведінці. Загибелі тварин не фіксували.

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 тварин. Пероральне і внутрішньочеревне введення суспензії живих клітин культури не спричиняло інвазії бактерій у внутрішні органи тварин – печінку, легені, нирки. Ретрокультури на МДА не виявлені.

Таблиця. Результати дослідження вірулентності штаму

*Pseudomonas sp.79-102*

Матеріал для введення	Кількість мишей	Доза		Шлях введення	Курс введення діб	Кількість мишей		
		мл	млрд. кліт.			Захворіло штук	Загинуло штук	Вижило штук
<b>Дослід:</b>								
Суспензія 3-добових клітин	6	0,5	1,0	в/ч	1	0	0	6
- // -	6	1,0	12	per os	1	0	0	6
<b>Контроль:</b>								
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, після закінчення терміну спостережень, були вбиті дислокацією шийних хребців, проведено їх розтин і дослідження внутрішніх органів [11]. 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 немає;
- \* 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» дослідях результатів та відповідних нормативних матеріалів штам культури *Pseudomonas sp.79-102* є авірулентним не здатним до інвазії у внутрішні органи досліджених теплокровних тварин – білих мишей [3, 4, 6, 7].

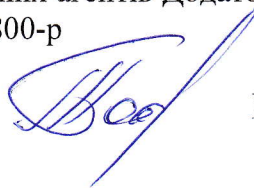
Висновок видано для депонування вищезгаданої культури бактерій у Депозитарії мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України.

#### Література

1. 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. // <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/> Останнє оновлення: 27.10.2020.
2. Категорії біологічних агентів у відповідності до небезпеки та категорії контамінації. ВООЗ, Консультативний комітет небезпеки патогенів, видання 9-те, 2020.
3. Методические указания по гигиенической оценке микробных средств защиты растений от насекомых и болезней на основе неспорообразующих микроорганизмов. Киев, 1982.
4. Безпека роботи з мікроорганізмами I-II груп патогенності. МОЗ України, ДСП 9.9.5.035.99. 1999 р.
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. Кожемякін Ю. М. і ін. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними. МОЗУ, Фармкомітет. Київ-2002. 156 с.
7. Streptomyces: implications and interactions in plant growth promotion/Oluwaseyi Samuel Olanrewaju, Olubukola Oluranti Babalola// Appl Microbiol Biotechnol. 2019.
8. Hisayuki Komaki Recent Progress of Reclassification of the Genus Streptomyces// Microorganisms 2023, 11(4), 831; <https://doi.org/10.3390/microorganisms11040831>
9. Imen Nouioui et al. Genome-Based Taxonomic Classification of the Phylum Actinobacteria Front. Microbiol., 22 August 2018. Sec. Evolutionary and Genomic Microbiology. Vol. 9. 2018. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02007>
10. ПЕРЕЛІК пріоритетних біологічних патогенних агентів Додаток до розпорядження Кабінету Міністрів України від 15 вересня 2023 р. № 800-р

Науковий співробітник, к. м. н.

Інженер



Валентина БОЙКО

Тетяна ЖИЛІХОВСЬКА