



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.

Депозитор: Львівський національний університет імені Івана Франка

Поштова адреса: 79001, м. Львів, вул. Університетська, 1

Цим підтверджується, що штаму мікроорганізму:

Sporosarcina sp. Wf13

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:

Sporosarcina sp. IMB B-8127

Супровідна документація, яку одержано від депозитора:

паспорт, договір № 126-2024

Дата первісного депонування

21.11.2024



Директор Інституту мікробіології
і вірусології ім. Д.К. Заболотного

НАН України, академік НАН України  Микола СПИВАК



ІМВ В-8127
Sporosarcina sp. Wf13

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



Микола СПІВАК

21 листопада 2024

В И С Н О В О К

**щодо патогенних властивостей штаму *Sporosarcina sp.* Wf13
за результатами дослідження вірулентності для безпородних білих мишей**

Штам мікроорганізму *Sporosarcina sp.* Wf13 надано для випробувань, авторами Гнатуш С. О., Масловською О. Д., Комплікевич С. Я., Перетятком Т. Б., Мороз О. М., депозитор Львівський національний університет імені Івана Франка, відповідно до договору №126-2024.

Бактерії *Sporosarcina sp.* Wf13 депоновано у Депозитарії мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України за ідентифікаційним номером ІМВ В-8127. 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».

Споросарцини широко розповсюджені в природі. Їх можна знайти в ґрунті, водоймах, харчових продуктах та навіть в екстремальних умовах, таких як гарячі джерела. Завдяки своїм властивостям утворювати спори, вони виживають протягом тривалого часу і легко розповсюджуються. Окремі представники вказаного роду мікроорганізмів включені до переліку небезпечних біологічних об'єктів, які можуть інфікувати людей і тварин, або бути для них токсичними чи алергічними чинниками [1-3, 6,8].

Умовною мірою патогенності мікроорганізмів є їх вірулентність, яка виражається дозою життєздатних мікробних клітин, що спричиняє загибель 50% заражених тварин. Критерієм авірулентності слугує відсутність інфекційної патології та загибелі мишей протягом 14 діб у разі введення рекомендованих граничних концентрацій клітин мікроорганізмів у гострих дослідах. Вірулентними вважаються штами мікроорганізмів, ЛД₅₀ яких при надходженні через шлунок <math><10^8</math> клітин/мишу (<math><10^9</math> /щура) і відповідно при внутрішньочеревних, інтраназальних чи інгаляційних ін'єкціях <math><10^6</math> мишу і <math><10^7</math> щура [7].

З метою депонування мікроорганізмів проводили первинну санітарно-гігієнічну оцінку штамів, а саме визначили у гострих дослідах на моделі білих мишей окремі показники патогенності – вірулентність та інвазивність (інфекційність) культури. Для досліджень брали максимальні дози матеріалу (таблиця).

Таблиця. Результати дослідження вірулентності штаму

Sporosarcina sp. Wf13

Матеріал для введення	Кількість мишей	Доза		Шлях введення	Курс введення	Кількість мишей		
						Захворіло	Загинуло	Вижило
	Гол.	мл	млрд. клітин	в/ч per os	діб	штук	штук	штук
<u>Дослід:</u>								
Суспензія активних 48 годинних клітин бактерій	6	0,5	1,0	в/ч	1	0	0	6
	6	0,5	5,0	в/ч	1	0	0	6
	6	0,5	0,5	per os	1	0	0	6
	6	0,5	1,0	per os	1	0	0	6
	6	0,5	5,0	per os	1	0	0	6
<u>Контроль:</u>								
Фізіологічний розчин	6	0,5	0	в/ч	1	0	0	6
	6	0,5	0	per os	1	0	0	6

За період спостереження після введення суспензій живих бактерій (перорально у дозах від $0,5 \times 10^9$ до 5×10^9 КУО на мишу та внутрішньочеревно у дозах від 1×10^9 до 5×10^9 КУО на мишу [7]) усі тварини добре поїдали корм, мали жвавий вигляд, не було відмічено змін хутряного покриву. Достовірної різниці в масі та температурі тіла дослідних контрольних тварин, а також в загальному стані організму та поведінці не було.

Всі миші і контрольні в тому числі, які залишились живими після закінчення терміну спостережень, були вбиті, проведено їх розтин і дослідження внутрішніх органів. 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 одна від одної, поверхні гладенькі, спайок не відмічено;
- шлунок, петлі тонкого і товстого кишечника зовні є звичайними, на розрізі малюнок слизової незмінений;
- печінка вишневого 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.

Мікробіологічні дослідження внутрішніх органів дослідних тварин після 14 діб після початку досліджень показали, що даний штам мікроорганізмів не інфективний, не дисемінує і не розмножується в організмі теплокровних.

Пероральне та внутрішньочеревне введення суспензій живих клітин культур клітин не спричинило інвазій бактерій у внутрішні органи тварин. Ретрокультури не виявлені. Отримані результати свідчать про авірулентність штаму для дослідження теплокровних тварин (LD_{50} в/ч > 5 млрд. клітин/мишу, LD_{50} PER OS > 5 млрд. клітин/мишу)

Таким чином, згідно отриманих результатів та відповідних нормативних документів [4,5,6, 8-11], штам *Sporosarcina sp. Wf13* належить до групи авірулентних мікроорганізмів, не здатних до інвазії у внутрішні органи досліджених теплокровних тварин. Згідно даних щодо вірулентності, без урахування рівнів токсичності, токсигенності, алергенності, дисбіотичної дії штам *Sporosarcina sp. Wf13* може вважатися непатогенним.

Висновок видано для депонування вищезгаданої культури бактерій.

Література


1. Директива 90/679 Ради Європейської економічної співдружності.
2. Категорії біологічних агентів у відношенні до небезпеки та категорії контамінації. ВООЗ, Консультативний комітет небезпеки патогенів, видання 4-те, 1995 р.
3. Безпека роботи з мікроорганізмами I-II груп патогенності. ДСП МОЗ України, ДСП 9.9.5.035.99. 1999 р.
4. 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/>.
5. Кожемякин Ю.М і ін. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними. МОЗУ, Фармкомітет. Київ-2002. 156 С.
6. Медико-біологічні дослідження виробничих штамів мікроорганізмів і токсико-гігієнічна оцінка мікробних препаратів, визначення їх безпеки та обґрунтування гігієнічних нормативів і регламентів. Методичні вказівки МОЗ України. Київ, 2004.
7. 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, стор.70-75.
8. Смирнов В.В, Резник С.Р., Василевская И.А. Спорообразующие аэробные бактерии – продуценты биологически активных веществ. Киев: Наукова думка, 1982.
9. The safety of two *Bacillus* probiotic strains for human use/ Iryna B Sorokulova et al. // Dig Dis Sci. 2008 Apr; 53(4). P.954-63.
10. Категорії біологічних агентів у відношенні до небезпеки та категорії контамінації. ВООЗ, Консультативний комітет небезпеки патогенів, видання 9-те, 2020.
11. Anne de Boer Sietske, A., Diderichsen, B. On the safety of *Bacillus subtilis* and *B. Amyloliquefaciens*: a review. *Appl Microbiol Biotechnol* 36, 1-4 (1991). <https://doi.org/10.1007/BF00164689>.
12. Ammar Algburi et al. Safety Properties and Probiotic Potential of *Bacillus subtilis* KATMIRA1933 and *Bacillus amyloliquefaciens* B-1895// *Advances in Microbiology* January 2016, 06:432-452.

13. Promising bacterial genera for agricultural practices: An insight on plant growth-promoting properties and microbial safety aspects// Carlos M.H. Ferreira et al.// Випуск 682, 10 вересня 2019 р., сторінки 779—799, www.sciencedirect.com/journal.
14. Перелік пріоритетних біологічних патогенних агентів. Розпорядження Кабінету Міністрів України від 15.09.2023 р. № 800-р.

Науковий співробітник, к.м.н.

Інженер


21 листопада 2024


Валентина БОЙКО

Тетяна ЖИЛІХОВСЬКА