

місць. — 2007 — Вип. 49. — С. 77-82.

2. Винарська О.І., Ніконова Н.О., Григоренко Л.Є., Кононко І.В., Лук'янчук С.В., Імунотоксичні ефекти за умов підгострого комбінованого впливу пріоритетних забруднень водного середовища // Довкілля та здоров'я. — 2007. — № 4 (43). — С. 3-7.

3. Зоріна О.В., Прокопов В.О. Хлороганічні сполуки у питній воді як гігієнічна проблема // Матеріали науково-практичної конференції "Актуальні питання гігієни та екологічної безпеки України" ДУ "Інститут гігієни та медичної екології ім. О.М. Марзеева". — К., 2007. — С. 16-18.

4. Коробчанский В.А. Системогенез жизнедеятельности: гигиенические и экологические аспекты. — Харьков: Контраст, 2005. — С. 296-330.

5. Крайнюкова А.Н. Биотестирование в охране вод от токсического загрязнения / Проблемы охраны окружающей природной среды: Сб. науч. тр. УкрНЦОВ. — Харьков, 1996. — С. 154-169.

6. Крамаренко В.Ф. Токсикологическая химия. — К.: Высшая школа, 1989. — С. 114, 154-157.

7. Леванова Г.Ф., Юшин А.С., С.Ю. Кашников. Метод сравнительного биотестирования питьевой воды с помощью индикаторных штаммов бактерий // Гигиена и санитария. — 1999. — № 2. — С. 77-79.

8. Селянкина К.П., Борзунова Е.А., Сайченко С.П., Вепринцев В.В. Эффективность биотестирования как экспрессного метода оценки опасности загрязнения окружающей среды для здоровья человека // Гигиена и санитария. — 2007. — № 3. — С. 30-32.

THE ESTIMATION OF PATHOGENIC ACTION OF BIOPREPARATION ON THE BASIS OF *Bacillus thuringiensis* ON WARM-BLOODED ORGANISM

Omelyanets T.G., Golovach T.M.

ОЦІНКА ВПЛИВУ БІОПРЕПАРАТІВ НА ОСНОВІ БАКТЕРІЙ *Bacillus thuringiensis* НА ОРГАНІЗМ ТЕПЛОКРОВНИХ



ОМЕЛЯНЕЦЬ Т.Г., ГОЛОВАЧ Т.М.

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАНУ, м. Київ

УДК:

614.7:615.9:632.937:576.8

*ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ БИОПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ БАКТЕРИЙ *Bacillus thuringiensis* НА ОРГАНИЗМ ТЕПЛОКРОВНЫХ Омелянец Т.Г., Головач Т.М.*

*Проведен анализ результатов токсикологического исследования микробных препаратов на основе штаммов разных вариантов *Bacillus thuringiensis*. Установлено, что эти биопрепараты, независимо от вариантов продуцента, нетоксичны для теплокровных организмов, но могут обладать слабым аллергенным действием. Обосновывается возможность упрощения методической схемы токсикологической оценки и гигиенического регламентирования микробных препаратов на основе *Bac. thuringiensis* в воздухе рабочей зоны.*

еред ентомопатогенних бактерій, що використовуються для боротьби зі шкідниками-комахами найбільше поширення у сільському і лісовому господарствах різних країн отримали спорові бактерії виду *Bacillus thuringiensis* (Bt). Широко відомі вітчизняні і закордонні біопрепарати — ентобактерин, дендробацилін, гомелін, лепидоцид, децимід, інсектин, кристалін, турицид, діпел, новодор та ін., створені на основі різних штамів цих бактерій, постійно пропонуються для використання нові штамми *Bac. thuringiensis*. Накопичено значну кількість інформації щодо результатів токсиколого-гігієнічного дослідження біопрепаратів на основі цих мікроорганізмів.

Для вдосконалення методичних підходів щодо токсикологічної оцінки біопрепаратів на основі *Bac. thuringiensis*, підвищення економічності досліджень при обґрунтуванні ГДК їх у повітрі робочої зони нами проведено порівняльний аналіз результатів вивчення патогенної дії на теплокровні організми таких препаратів та їхніх продуцентів.

Характерною особливістю ентомопатогенних *Bac. thuringiensis* є утворення кристалів білок-вмісного δ-(дельта)-ендотоксину у спорулюючій клітині. Кристали нерозчинні у воді та органічних розчинниках. Для їх розчинення необхідне лужне середовище (рН 10-12), властиве кишечнику комах. Білок кристалів δ-ендотоксину є протоксином, який розщеплюється у лужному середовищі кишечника комах під дією ферментів, утворюючи активізований токсин, який викликає токсичні враження комах. Наприклад, при обробках рослин біопрепаратом "новодор" у комах (колорадського жука) настає парез кишечника. Вони перестають харчуватися і невдовзі гинуть. При використанні "ентобактерину" у комах порушується стан тканин кишечника, слабшають бар'єри, які стримують проникнення кишкової мікрофлори в інші тканини організму, розвивається септицемія, і комага гине. Білку-токсину штамів різних варіантів Bt властива вибіркова специфічна дія. Кожний штам виявляє інсектицидну активність проти певних груп шкідливих комах залежно від рН середовища їхнього кишечника [1, 2].

Кристалічні білки-ендотоксини розглядаються як головні токсичні компоненти біопестицидів на основі *Bac. thuringiensis*, хоча ці бактерії продукують ще й інші

фактори активності щодо шкідників. Так, деякі штами *Bac. thuringiensis* продукують термостабільний водорозчинний β -екзотоксин нуклеотидної природи, що справляє виражену токсичну дію на комах. Інші штами *Bt* продукують фосфоліпази — α - і γ -екзотоксини, екзоферменти — лецитинази, VIP-токсини (білки, що утворюються під час вегетативного росту клітин *Bac. thuringiensis*) [1, 3, 4].

До основних вимог, що висуваються в усьому світі (у тому числі й в Україні) до препаратів мікробного синтезу при їх впровадженні, як і до всіх інших препаратів, належать їхня ефективність і безпека для людини та довкілля [5-7]. При вивченні впливу біопрепаратів на організм теплокровних одним з пер-

шочергових питань є визначення їхньої патогенності, яка досліджується при використанні лабораторних тварин-ссавців.

Багаторічними токсикологічними дослідженнями значної кількості штамів *Bac. thuringiensis* різних варіантів (*var. thuringiensis*, *var. dendrolimus*, *var. galleriae*, *var. kurstaki*, *var. israelensis*, *var. tenebrionis*, *var. caucasicus*) як діючого інгредієнта біопрепаратів доведено, що ці мікроорганізми невірулентні для теплокровних організмів. За нашими даними, LD_{50} колонійутворюючих одиниць (КУО) *Bac. thuringiensis* для білих мишей і щурів незалежно від того, до якого варіанту належить штам, при пероральному надходженні $>10^9$ КУО/тварину, при внутрішньочеревному — $>10^8$

КУО/тварину, при надходженні через верхні дихальні шляхи — $>10^8$ КУО/тварину. Ці мікроорганізми нетоксигенні: LD_{50} фільтрату 3-добової культуральної рідини для будь-якого штаму $>1,0$ мл/тварину.

Встановлено, що *Bac. thuringiensis* неінвазивні, не здатні проникати у тканини внутрішніх органів. В організмі теплокровних ссавців ці бактерії не здатні приживлятися та розмножуватися, не здатні викликати інфекційний процес.

Білковий δ -ендотоксин *Bac. thuringiensis* не справляє на ссавців токсичної дії при надходженні через шлунково-кишковий тракт, середовище якого у ссавців є кислим на відміну від комах з лужним середовищем кишечника. Термостабільний водорозчинний δ -екзотоксин *Bt* при надходженні до шлунково-кишкового тракту лабораторних тварин теж малотоксичний, а у разі парентерального проникнення в організм (внутрішньочеревно) може проявляти токсичну дію, як структурний аналог АТФ спричиняти порушення обміну речовин.

Біопрепарати на основі *Bac. thuringiensis* і продуктів їхньої життєдіяльності малотоксичні при введенні їх через рот, їм не властиві кумулятивні якості. Біопрепарати, до складу яких входить термостабільний δ -екзотоксин та деякі технологічні хімічні добавки, можуть проявляти слабо виражену токсичність за внутрішньочеревного надходження (табл. 1).

При вивченні впливу токсинів *Bac. thuringiensis* на репродуктивну функцію білих щурів не виявлено ембріотоксичної, гонадотоксичної і тератогенної дії (досліджували лепідоцид, дендробацилін, бітоксидацилін). При використанні методу хромосомного аналізу кісткового мозку білих щурів, які піддавалися впливу біопрепаратів, не виявлено їхньої мутагенної дії. Місцева подразнююча дія біопрепаратів на основі *Bac. thuringiensis* не властива. При надходженні деяких біопрепаратів (наприклад лепідоциду, децимиду) до кон'юнктивальної порожнини ока кролів можливої слабо виражений кон'юнктивіт, який проявляється гіперемією і набряком слизової оболонки верхніх повік, посиленою сльозотечею. Такі прояви мають короткотерміновий харак-

Таблиця 1

Параметри гострої токсичності біопрепаратів на основі *Bacillus thuringiensis*

| Досліджений біопрепарат | Вид тварин | Спосіб введення | LD_{50} (КУО/тв.) за продуцентом |
|---|--|-------------------|------------------------------------|
| Бітоксидацилін, сух. пор., титр- $4,5 \cdot 10^{10}$ спор/г, 0,6-0,8% екзотокс. | білі миші | перорально | $>9 \cdot 10^{10}$ |
| | | внутрішньочеревно | $2,2 \cdot 10^8$ |
| | білі щури | перорально | $3,09 \cdot 10^{10}$ |
| | Бітоксидацилін, сух. пор., титр- $5,4 \cdot 10^{10}$ спор/г, 0,91% екзотоксину | білі миші | перорально |
| внутрішньочеревно | | | $5,8 \cdot 10^8$ |
| білі щури | | перорально | $>5,4 \cdot 10^{10}$ |
| Гомелін, сух. пор., титр - $3 \cdot 10^{10}$ спор/г, 30% фосфогіпсу | | білі миші | перорально |
| | внутрішньочеревно | | $3 \cdot 10^8$ |
| | білі щури | перорально | $>6,3 \cdot 10^{10}$ |
| | Дендробацилін, змоч. пор., титр - $8 \cdot 10^{10}$ спор/г, | білі миші | перорально |
| внутрішньочеревно | | | $3,6 \cdot 10^8$ |
| білі щури | | перорально | $>8 \cdot 10^{10}$ |
| Дендробацилін, змоч пор., титр- $3,2 \cdot 10^{10}$ спор/г, 60% карбонату натр. | | білі миші | перорально |
| | внутрішньочеревно | | $3,5 \cdot 10^8$ |
| | білі щури | перорально | $>3,2 \cdot 10^{10}$ |
| | Децимід, рідк. концентрат, титр - $1,5 \cdot 10^{10}$ спор/г | білі миші | перорально |
| внутрішньочеревно | | | $7,67 \cdot 10^9$ |
| білі щури | | перорально | $1,5 \cdot 10^{10}$ |
| Ентобактерин, сух. пор., титр - $3 \cdot 10^{10}$ спор/г | | білі миші | перорально |
| | внутрішньочеревно | | $2,1 \cdot 10^8$ |
| | білі щури | перорально | $>3 \cdot 10^{10}$ |
| | Ентобактерин, змоч. пор., титр - $6 \cdot 10^{10}$ спор/г, 34% карбонату натр. | білі миші | перорально |
| внутрішньочеревно | | | $2,3 \cdot 10^8$ |
| білі щури | | перорально | $>6 \cdot 10^{10}$ |
| Інсектин, змоч. пор., титр - $6 \cdot 10^{10}$ спор/г | | білі миші | перорально |
| | внутрішньочеревно | | $1,2 \cdot 10^8$ |
| | білі щури | перорально | $>6 \cdot 10^{10}$ |
| | Лепідоцид, змоч. пор., титр - $1 \cdot 10^{11}$ спор/г | білі миші | перорально |
| внутрішньочеревно | | | $1,7 \cdot 10^9$ |
| білі щури | | перорально | $9,73 \cdot 10^{10}$ |

тер і за 2-3 дні після припинення впливу препаратом стан кон'юнктиви нормалізується. При аплікаціях на шкіру морських свинок різних біопрепаратів ознак дерматиту не виявлено.

Спираючись на дані про малу небезпеку *Bac. thuringiensis* для теплокровних тварин і людини, деякі дослідники США ще у 1980-ті роки запропонували скоротити об'єм досліджень небезпеки біопрепаратів на основі цих бактерій, що і було прийнято у цій країні.

Враховуючи білкову природу ендотоксину, ми дослідили сенсibilізуючу активність біопрепаратів на основі різних варіантів *Bac. thuringiensis*, які показали, що деякі штами цих бактерій виявляють слабкі алергенні властивості, а мінімальна сенсibilізуюча доза вегетативних клітин для морських свинок досить висока — $2 \cdot 10^6$ КУО/тв. Як свідчать показники реакції дегрануляції тучних клітин (РДТК) і реакції специфічного лізису лейкоцитів (РСЛЛ), у морських свинок під впливом біоінсектицидів (на прикладі біоколу, бітоксисабциліну, саніду, кристаліну) дещо збільшується процент дегранульованих тучних клітин (табл. 2), що свідчить про слабку сенсibilізуючу дію біопрепаратів.

Різні варіанти *Bac. thuringiensis* можуть істотно відрізнятися за своїми алергенними властивостями, причому найбільшу алергенну активність, порівняно з іншими варіантами *Bac. thuringiensis*, проявляли штами варіанту *var. galleriae*. Слід зазначити, що сенсibilізуюча спроможність спор значно нижча, ніж у вегетативних клітин. Хоча алергенні властивості *Bac. thuringiensis* можуть проявлятися тільки у досить високих дозах, цей показник, з урахуванням непатогенності *Bac. thuringiensis* для ссавців, стає лімі-

THE ESTIMATION OF PATHOGENIC ACTION OF BIOPREPARATION ON THE BASIS OF *Bacillus thuringiensis* ON WARM-BLOODED ORGANISM Omelyanets T.G., Golovach T.M.

The analysis of results of toxicological research of microbiological preparations on a basis of strains of different variants of *Bacillus thuringiensis* is carried out. It is established that these biopreparations independent from variants of producers are not toxically for warm-blooded organisms, but they can have allergic action. The opportunity of simplification of the methodical scheme of a toxicological estimation and hygienic regulation of microbial preparations on their basis in air of working zone is validating.

туючим показником шкідливості. Гранично допустима величина препаратів на основі *Bt* у повітрі робочої зони за цим показником — $2 \cdot 10^4$ спор/м³. При дослідженні нами товарних форм біопрепаратів (бітоксисабциліну, лепідоциду, інсектину, дециміду, гомеліну, ентобактерину) у значно вищих дозах — $6,5 \cdot 10^5$ КУО/м³ (аерогенно) і $4 \cdot 10^7$ КУО/тв. (перорально) у морських свинок та щурів за тривалого надходження препаратів в організм алергічних реакцій не виявлено. Результати наших багаторічних досліджень щодо можливих слабких алергенних властивостей *Bac. thuringiensis* і біопрепаратів на їх основі узгоджуються з даними, отриманими іншими дослідниками [8 - 12].

При дослідженні аутомікрофлори лабораторних тварин, що підлягали дії біопрепаратів на основі *Bac. thuringiensis*, дисбактеріотичної дії практично не спостерігалось. Лише за дії деяких біопрепаратів в умовах підгострого експерименту відзначалися короткотермінові зміни у кількісних співвідношеннях представників нормальної мікрофлори кишечника, але після припинення дії препарату мікрофлора кишечника протягом 2-4 днів нормалізувалася.

Таким чином, узагальнюючи наявну інформацію, можна стверджувати, що *Bac. thuringi-*

ensis і біопрепарати на основі цих мікроорганізмів не становлять небезпеки для теплокровних організмів, а це, у свою чергу, дозволяє рекомендувати при дослідженні нових штамів *Bac. thuringiensis* та біопрепаратів на їх основі обмежуватися лише дослідженнями вірулентності штамів і токсичності біопрепаратів у гострих експериментах, порівнюючи їх з відомими штамми і біопрепаратами і не вдаючись до хронічних експериментів. Якщо при визначенні вірулентності ЛД₅₀ вегетативних клітин і спор дослідженого штаму *Bac. thuringiensis* для білих мишей і щурів не перевищує 10^8 КУО/тв. за надходження через верхні дихальні шляхи і 10^9 КУО/тв. — за надходження через шлунок, а ЛД₅₀ препарату за діючим чинником не перевищує цих величин, то ГДК таких препаратів у повітрі робочої зони може бути прийнята на рівні $2 \cdot 10^4$ спор/м³, тобто на рівні діючого нормативу для зареєстрованих раніше біопрепаратів на основі *Bac. thuringiensis*.

ЛІТЕРАТУРА

1. Патица В.Ф., Патица Т.И. Экология *Bacillus thuringiensis*. — К.: Изд-во ПГАА, 2007. — 216 с.
2. Мальцев Я.В. Оценка штаммов *B. thuringiensis* по инсектицидной активности // Материалы международной конференции "Микробиология и

Таблиця 2

Сенсibilізуюча активність біопрепаратів на основі *Bacillus thuringiensis* при аерогенному введенні їх морським свинкам

| Показник | Група тварин | Біопрепарати | | | |
|--------------------------------------|--------------|--------------|-----------|-----------|-----------------|
| | | Біокол | Санід | Кристалін | Бітоксисабцилін |
| Позитивна внутрішньошкірна проба (%) | Контрольна | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Дослідна | 0,11±0,05 | 0,20±0,04 | 0,05±0,01 | 0,04±0,01 |
| РДТК (%) | Контрольна | 2,33±0,44 | 5,00±1,49 | 2,16±0,33 | 4,33±0,81 |
| | Дослідна | 6,66±2,87 | 9,66±1,25 | 8,12±2,62 | 9,72±2,35 |
| РСЛЛ (%) | Контрольна | 8,11±2,0 | 5,33±1,07 | 4,25±1,42 | 7,43±1,07 |
| | Дослідна | 11,18±5,02 | 7,07±0,02 | 6,70±1,47 | 9,22±3,02 |

67*E&H

биотехнология XXI столетия". — Минск, 2002. — С. 185-186.

3. Кузнецова Л.Н. Отечественные энтомопатогенные биопрепараты на основе *Bacillus thuringiensis* // Бюлетень Інституту сільськогосподарської мікробіології. — 1999. — № 4. — С. 22-24.

4. Кандыбин Н.В. Биопестициды. Теория и практика // Защита растений. — 1991. — № 1. — С. 10-13.

5. Котов В.Б., Беляева Т.А. Состояние и тенденции развития биотехнологии за рубежом // Итоги науки и техники. — ВИНТИ. Сер. Биотехнология. — 1991. — Т. 30. — С. 1-160.

6. Закон України про пестициди і агрохімікати // Відомості Верховної Ради. — 1995. — № 14.

7. Медико-біологічні дослідж. виробничих штамів мікроорганізмів і токсиколого-гігієнічна оцінка мікробних препаратів, визначення їх безпеки та обґрунтування гігієнічних нормативів і регламентів (Методичні вказівки). — К.: МОЗ України, Державна санітарно-епідеміологічна служба, 2004. — 22 с.

8. Омельянец Т.Г. Влияние *Bac. thuringiensis* — действующего начала микробного инсектицида на организм животных // Микробиол. ж-л. — 1988. — Т. 50, № 5. — С. 81-83.

9. Мельникова Е.А. О патогенности *Bac. thuringiensis* и препаратов на их основе для тепловых организмов // Энтомопатогенные бактерии и их роль в защите растений: Сб. науч. трудов. — Новосибирск, 1967. — С. 118-130.

10. Устиненко А.Н., Спруджа Д.Р. Выявление сенсibiliзирующего действия микробных препаратов при их гигиеническом нормировании // Актуал. вопросы гигиены в условиях научно-техн. прогресса: Тез. докл. V съезда гигиенистов... Узбекистана. — Ташкент, 1987, т. 1.

11. Квятковская Н.Я., Ремез Н.М., Седышева Е.П. Опыт проведения исследования по токсикологической оценке промышленных микроорганизмов с целью их гигиенического нормирования // Гигиена и санитария. — 1989. — 33. — С. 87-88.

12. Падалкин В.П., Шувалов Л.П., Голидонова Н.Д. и др. Изменение клеточной реактивности у морских свинок при сенсibiliзации *Bacillus thuringiensis* // Журнал микробиологии и иммунологии. — 1985. — № 6.

ECOLOGICAL PARITET OF GENITOURINARY TRACT MICROBIOTICENOSIS OF MICE IN CONDITION OF ANTIBIOTIC PRESSURE Voronkova O.S., Sirokvasha E.A., Polishko T.N., Vinnikov A.I.

ЕКОЛОГІЧНА РІВНОВАГА МІКРОБІОЦЕНОЗУ УРОГЕНІТАЛЬНОГО ТРАКТУ МИШЕЙ В УМОВАХ НАВАНТАЖЕННЯ АНТИБІОТИКАМИ

В

**ВОРОНКОВА О.С.,
СІРКВАША О.А.,
ПОЛІШКО Т.М.,
ВІННИКОВ А.І.**

Дніпропетровський
національний університет

УДК 579.864+616.1+619

*ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ
РАВНОВЕСИЕ
МИКРОБИОЦЕНОЗА
УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА
МЫШЕЙ В УСЛОВИЯХ
НАГРУЗКИ АНТИБИОТИКАМИ*

**Воронкова О.С.,
Сирокваша Е.А.,
Полишко Т.Н.,
Винников А.И.**

*В статье приведены данные
о влиянии на микрофлору
урогенитального тракта
интравагинального введения
антибиотика рокситромицина.*

*Полученные данные
указывают на роль
антибиотика как фактора
возникновения
дисбиотических явлений, что
выражается в виде снижения
частоты встречаемости
лактобацилл и увеличения
частоты встречаемости таких
условно-патогенных
микроорганизмов, как
стафилококки, энтерококки
и представители семейства
энтеробактерий.*

плив докiлля на здоров'я людини неможливо переоцiнити. Є багато факторiв, що негативно впливають на населення. В Україні ця проблема переважно стосується великих промислових мiст. Забруднення навколишнього середовища промисловими та твердими побутовими вiдходами, що накопичуються просто неба на околицях мiст, шумове забруднення, викиди автотранспорту, загальний підвищений радіаційний фон у деяких мiстах, нездоровий спiсiб життя, щоденні стресові фактори тощо — все це призводить до значного зростання рiвня захворюваностi та збiльшення частоти виникнення патологічних станiв. Значне забруднення довкiлля призводить до зростання ризику виникнення екологічно-зумовлених захворювань, до яких, насамперед, можна вiднести порушення мiкробіоценозiв вiдкритих порожнин (шлунково-кишкового тракту, урогенітальної системи тощо) [1, 4].

Слiд зазначити, що етіологічні фактори дисбіотичних явищ остаточно не визначено й донині. Серед багатьох зовнішніх факторiв, дiя яких може опосередковувати виникнення дисбіотичних явищ, є неконтрольоване застосування антибіотичних препаратiв. Доступність антибіотикiв, використання їх не лише для лікування, а i для консервування харчових продуктiв, що пропонуються на стихійних ринках, або як профілактичні засоби чи при самолікуванні зумовило значне поширення серед клінічно-значущих мiкроорганізмiв детермінант резистентності до багатьох антибіотикiв, навіть з останніх поколінь. Окрім того, що неконтрольоване застосування антибіотикiв призводить до розвитку дисбіотичних явищ, воно може ініціювати розвиток патогенетичних процесiв [9].