

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ  
РЕСПУБЛИКАНСКОЕ УНИТАРНОЕ ПРЕДПРИЯТИЕ  
«НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ГИГИЕНЫ»

На правах рукописи

УДК 613:332.025.12:[579.083.13+615.37

**СТУДЕНИЧНИК**  
**ТАТЬЯНА СЕРГЕЕВНА**

Особенности биологического действия и  
гигиенического регламентирования микроорганизмов-продуцентов и содержащих  
их биопрепаратов

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

по специальности 14.02.01 – гигиена

Минск, 2016

Работа выполнена в республиканском унитарном предприятии «Научно-практический центр гигиены»

Научный руководитель: **Филонюк Василий Алексеевич**,  
кандидат медицинских наук, доцент,  
начальник отдела науки Министерства  
здравоохранения Республики Беларусь

Официальные оппоненты: **Филонов Валерий Петрович**,  
доктор медицинских наук, профессор,  
начальник научно-исследовательского  
управления закрытого акционерного  
общества «БелАсептика»

**Замбржицкий Олег Николаевич**  
кандидат биологических наук, доцент,  
доцент кафедры общей гигиены  
учреждения образования «Белорусский  
государственный медицинский университет»

Оппонирующая организация: Учреждение образования «Гродненский  
государственный медицинский университет»

Защита состоится « 16 » марта 2016 г. в 14.00 часов на заседании совета по защите диссертаций Д 03.01.01 при республиканском унитарном предприятии «Научно-практический центр гигиены» по адресу: 220012, г. Минск, ул. Академическая, д. 8, e-mail: rspch@rspch.by, факс: (017) 284-03-45, телефон ученого секретаря: (017) 284-13-79.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр гигиены».

Автореферат разослан « 10 » февраля 2016 г.

Ученый секретарь  
совета по защите диссертаций,  
кандидат биологических наук

Т.Д.Гриценко

## ВВЕДЕНИЕ

Биотехнология является по общепризнанному мнению наиболее быстро развивающейся сферой научной деятельности и экономики в мире [Dan Ferber, 2004; Р. Шмидт, 2014; Н.А. Воинов, 2015 и др.].

Основные направления промышленной и медицинской биотехнологии основаны на использовании различных видов и родов штаммов и серотипов селективных или мутантных микроорганизмов в качестве пробиотических пищевых препаратов, продуцентов белка (биомасса, кормовые добавки), биологически активных веществ (аминолитические, протеолитические, пектолитические и др. ферменты, разнообразные антибиотики, аминокислоты, витамины и др.), микробиологических препаратов для защиты и повышения урожайности сельскохозяйственных культур, препаратов для выщелачивания и концентрирования металлов, защиты окружающей среды от загрязнений, деградации токсических отходов и т.д. [Л.С. Сандахчиев и соавт., 2003; W. Frommer, 1987; Э.И. Коломиец, О.А. Ракецкая, 2013; Т.А. Панкрушева, 2013 и др.].

При производстве и использовании микроорганизмов-продуцентов (МО) и микробных препаратов (МП) на их основе возможно загрязнение ими производственной среды, выделение в воздух рабочей зоны с вредным воздействием на здоровье работников, прежде всего, за счет их гетероантигенности и формирования в организме аллергических и иммунотоксических эффектов [В.Г. Артамонова и соавт., 1991; И.В. Кормильцева и соавт., 1992; О.Н. Доброхотский и соавт., 2004; Е.П. Навакатинян и соавт., 1980 и др.].

Основными направлениями обеспечения безопасности производственной среды для человека являются гигиеническая регламентация вредных факторов, гигиенический мониторинг состояния условий труда и здоровья работников с соответствующей научно обоснованной разработкой и реализацией системы управления качеством среды и предотвращения негативного влияния на работников вредных факторов производственной среды на основе эффективного внедрения превентивных мероприятий [С.И. Сычик и соавт., 2013].

Научная концепция, основные принципы, схемы и отдельные методы экспериментального обоснования ПДК в воздухе рабочей зоны (ПДКврз) и атмосферы МО и МП были разработаны и апробированы еще в 70-80 годах прошлого столетия [Л.И. Израйлет и соавт., 1978; И.А. Иванова и соавт., 1985; А.А. Воробьев и соавт., 1987 и др.], получили последующее развитие в работах Ю.П. Пивоварова [1994], Н.П. Сергеюка [1994, 2003, 2004], Н.И. Шеиной [2008] и др. Вместе с тем, существующие в странах СНГ методические подходы и критерии изучения и гигиенического нормирования МО и МП [Л.И. Израйлет и соавт., 1975; О.Г. Алексеева и соавт., 1993] в должной мере не учитывают современный научно-методологический уровень профилактической токсикологии, основывающийся на принципах доказательной медицины в гигиенической науке. Они не позволяют получить объективные данные и достоверно оценить степень острой токсичности,

сенсibiliзирующей способности и опасности, установить характерные особенности биологического действия на макроорганизм и учитывать их в обосновании ПДКврз, а, следовательно, в полной мере не обеспечивают современные требования гигиенической безопасности для здоровья работников при производстве и использовании многочисленных новых МП различного назначения.

Таким образом, усовершенствование принципов, схем и подходов, обоснование и разработка адекватных и рациональных экспериментальных методов и классификационных критериев, используемых при гигиеническом регламентировании и нормировании в воздухе рабочей зоны МО и МП на основе экспериментального токсиколого-гигиенического исследования и выявления особенностей их биологического действия на организм является актуальным и необходимым, поскольку позволит получить полные и объективные данные по негативному действию на макроорганизм МО и МП и в последующем разработать методологию гигиенического регламентирования их в воздухе рабочей зоны, обоснованные гигиенические требования и нормативы, обеспечивающие повышение действенности госсаннадзора за объектами биотехнологического производства, безопасные условия труда и профилактику профессиональной и производственно обусловленной заболеваемости работников.

## **ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ**

**Связь работы с крупными научными программами и темами.** Диссертационная работа выполнялась в рамках задания 02.07 «Разработать критерии и методы оценки безопасности, гигиенического регламентирования и контроля содержания в воздухе рабочей зоны микроорганизмов-продуцентов и содержащих их биопрепаратов различного назначения» ОНТП «Современные условия жизнедеятельности и здоровьесбережение» (№ ГР 20130922, 2013-2015 гг.); по договорам на выполнение токсиколого-гигиенических исследований новых МО и МП в рамках заданий: 12 (№ ГР 20100630, 2010 г.) ГП «Торф» на период до 2020 года; 07 (№ ГР 20102729, 2010-2011 гг.) и 18 (№ ГР 20114878, 2011 г.) ГП «Инновационные биотехнологии»; 2.14 (№ ГР 20101063, 2010 г.) ГКППНИ на 2006-2010 гг. «Продовольственная безопасность»; 6.30 (№ ГР 20101040, 2010 г.) ГНТП «Агропромкомплекс – возрождение и развитие села» на 2008-2010 годы; 2.2 (№ ГР 20123248, 2012 г.), 2.4 (№ ГР 20122059, 2012 г.) и 2.7 (№ ГР 20114879, 2011 г.) межгосударственной целевой программы ЕврАзЭС «Инновационные биотехнологии» на 2011-2015 гг.; 2.10 (№ ГР 20093342, 2009 г.), 1.18 (№ ГР 20102921, 2010 г.), 1.6 (№ ГР 20115247, 2011 г.), 1.20 (№ ГР 20110023, 2011 г.), 1.16 (№ ГР 20120051, 2011-2012 гг.), 1.1 (№ ГР 20121322, 2012 г.), 2.2 (№ ГР 20121920, 2012 г.), 1.7 (№ ГР 20123127, 2012 г.), 2.5 (№ ГР 20121324, 2012 г.), 2.7 (№ ГР 20121323, 2012 г.), 1.19 (№ ГР 20131915, 2013 г.), 1.20 (№ ГР 20131916, 2013 г.) ГНТП «Промышленные биотехнологии».

**Цель исследования:** на основе экспериментального изучения характера биологического действия МО и МП обосновать методы и критерии объективной оценки их токсичности, сенсибилизирующей способности, аллергенной опасности и разработать гигиенические нормативы новых МП в воздухе рабочей зоны.

**Задачи исследования:**

1. Изучить в модельных острых экспериментах патогенные, токсигенные, токсические и раздражающие свойства МО разной таксономической принадлежности и МП на их основе, обосновать методы определения и критерии оценки степени их токсичности и опасности.

2. Обосновать и апробировать в экспериментах методические подходы выявления и критерии оценки степени сенсибилизирующей способности и аллергенной опасности МП.

3. Установить характерные особенности дозозависимого биологического действия на организм лабораторных животных новых МП в модельных ингаляционных опытах, определить патогенетические критерии и лимитирующие показатели вредного действия, обосновать их гигиенические нормативы и методы определения содержания в воздухе рабочей зоны.

Объекты исследования: штаммы МО различной таксономической принадлежности, МП, лабораторные животные разных видов.

Предмет исследования: общетоксические и специфические биологические свойства штаммов МО и МП на их основе.

**Научная новизна работы.** Впервые обоснованы экспериментальные унифицированные методы определения и количественные критерии оценки степени патогенности и сенсибилизирующей способности, классификация по токсической и аллергенной опасности МО различной таксономической принадлежности и содержащих их МП, позволившие объективно установить параметры патогенности, токсигенности и токсичности, класс опасности ряда новых МО и квалифицировать их как промышленные штаммы, классифицировать по аллергенной опасности и определить степень патогенности новых МП и роль характера комбинированного действия входящих в их состав МО.

Впервые получены экспериментальные данные об особенностях биологического действия новых МП «Стимул» и МП «Бетапротектин» по степени выраженности и характеру токсических, аллергических, иммунотоксических, дисбиотических и диссеминирующих эффектов в организме лабораторных животных в зависимости от ингалируемой концентрации. Установлено, что наиболее характерным в организме на воздействие гетероантигенов МО является развитие аллергических и иммунотоксических патогенетических механизмов, которые явились критериями ведущего вредного действия МП и определены как лимитирующие показатели. На основании полученных результатов экспериментов разработаны гигиенические нормативы и методы определения содержания в воздухе рабочей зоны МП «Стимул» и МП «Бетапротектин».

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Научно обоснованы и апробированы рациональные унифицированные условия постановки острого эксперимента и количественные критерии оценки степени токсичности и классифицирования МО различной таксономической принадлежности, позволяющие объективно определять параметры их патогенности, токсигенности и токсичности, класс опасности и квалифицировать их как промышленные штаммы.

2. Разработан объективный и чувствительный метод экспериментального определения сенсibilизирующей способности МО и МП, включающий технологию воспроизведения и выявления гиперчувствительности замедленного типа в стандартных условиях эксперимента на белых крысах и количественные критерии оценки степени их сенсibilизирующей активности и определения класса аллергенной опасности, что позволяет учитывать эти негативные свойства в определении ведущего вредного действия на организм, в разработке профилактических мер защиты здоровья работников при производстве и применении МП.

3. Экспериментально установленные выраженность, характер и дозозависимые закономерности развития токсических, аллергических, иммунотоксических и других биологических эффектов, доминирующие аллергические патогенетические механизмы реагирования организма белых крыс на субхроническое ингаляционное воздействие новых МП «Стимул» и МП «Бетапротектин» послужили научно-методической основой для разработки их гигиенических нормативов и методов определения в воздухе рабочей зоны, обеспечивающих гигиеническую безопасность при производстве и применении.

**Личный вклад соискателя ученой степени.** Автор принимал непосредственное личное участие в планировании, организации и выполнении исследований на всех этапах работы, самостоятельно проводил обобщение полученных результатов, их статистическую обработку. Обоснование цели и реализующих ее задач, анализ результатов выполнены соискателем совместно с научным руководителем. Научные и методические разработки и их внедрение осуществлены автором совместно с коллективом сотрудников государственного предприятия «НПЦГ» («НПЦ гигиены»). В совместных работах диссертанту принадлежит сбор, группировка, описание и интерпретация результатов с формулировкой основных научных выводов (личный вклад соискателя составил до 75%).

**Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов.** Материалы диссертации доложены и обсуждены на: научно-практических конференциях с международным участием «Здоровье и окружающая среда» (Минск, 2011-2012, 2014-2015); VII и X Евразийских научных конференциях «Донозология-2011, -2014» (С.-Петербург, 2011, 2014); научно-практической конференции, посвящённой 30-летию кафедры гигиены детей и подростков УО «Белорусский государственный медицинский университет» (Минск, 2011); республиканском семинаре «Управление профессиональным здоровьем, окружающей средой и безопасностью в условиях производства и проживания» (Бобруйск, 2012);

международной научной конференции «Сахаровские чтения 2013 года: экологические проблемы XXI века» (Минск, 2013); международной научно-практической конференции «Современные проблемы гигиенической науки и практики, перспективы развития» (Минск, 2014). Результаты в форме публикаций, утвержденных гигиенических нормативов содержания в воздухе 2-х МП, токсикологических паспортов на МО, 2-х методик выполнения измерений (МВИ) и 7 рационализаторских предложений используются в практике НИР, государственного санитарного надзора для обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия работающих в контакте с МО и МП, профилактики профессиональной и производственно обусловленной патологии у работников при их производстве и применении (16 актов о внедрениях).

**Опубликованность результатов.** По материалам исследований опубликованы 26 печатных работ, из них 19 публикаций в рецензируемых журналах и сборниках научных трудов, 7 – в материалах конференций и съездов. Общий объем опубликованных материалов – 9,11 авторского листа, из них 5,32 – объем публикаций, соответствующих пункту 18 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь и требованиям ВАК. Разработаны и утверждены: гигиенические нормативы – 2, МВИ – 2.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация состоит из введения, общей характеристики работы, обзора литературы, описания материалов и методов, 3 глав собственных данных, заключения, библиографического списка, включающего 246 используемых источников, из них 32 иностранных, списка публикаций соискателя (26 работ). Работа изложена на 191 странице машинописного текста (включая 36 таблиц, 2 иллюстрации, список литературы, 3 приложения – на 46 страницах).

## ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

### **Проблема гигиенической безопасности и регламентирования МО-производителей и содержащих их биопрепаратов (аналитический обзор литературы)**

Глава посвящена аналитическому обзору публикаций по следующим аспектам: особенности воздействия биотехнологических производств на организм теплокровных животных и человека, определение принципов и подходов гигиенического нормирования в воздухе рабочей зоны МО и МП на их основе в части оценки их сенсibiliзирующей активности и аллергенной опасности. На основании этого обоснованы актуальные и новые направления диссертационного исследования.

### **Материалы и методы исследования**

Подбор оптимальных схем, принципов и методов исследования по экспериментальному определению биологических свойств МО и МП проводился с учетом требований известных методических указаний и рекомендаций [О.Г. Алексеева и соавт., 1993; Ю.П. Пивоваров и соавт., 1993], на основе анализа данных литературы по проблеме и разработанных оригинальных подходов.

Объектом исследования являлись 68 новых штаммов МО различной таксономической принадлежности и 18 МП на их основе, разработанных ведущими учреждениями республики в области биотехнологии (ГНУ «Институт микробиологии НАН Беларуси», ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси», БГУ, РУП «Институт защиты растений» и др.).

Экспериментальные исследования по оценке воздействия МО и МП на организм теплокровных животных выполнены на беспородных белых крысах (массой 160-200 г), беспородных белых мышах (массой 16-24 г), морских свинках (массой 350-450 г), белых кроликах (массой 1500-2000 г). Условия обращения, проведения экспериментов и выведения лабораторных животных из опыта основывались на принципах биоэтики. Подбор животных и формирование из них однородных опытных и контрольных групп осуществлены с учетом массы тела (колебания не более 10%), отсутствия различий в поведении, общем состоянии, содержании лейкоцитов в крови и состоянии микрофлоры кишечника.

Токсиколого-гигиенические исследования МО и МП осуществлены в 4 этапа. На 1 этапе выполняли эксперименты по определению параметров вирулентных, токсических и токсигенных свойств новых штаммов МО и МП с учетом требований действующих ТНПА и согласно оригинальному методу. На 2 этапе определяли раздражающее действие МП на кожные покровы и слизистые глаза животных согласно требованиям [В.А. Филонюк и соавт., 2005]. На 3 этапе выявляли sensibilizing способность МП с учетом требований ТНПА и в соответствии с разработанным оригинальным методом.

На 4 этапе при ингаляционном пути поступления в организм белых крыс в последовательно снижающихся концентрациях изучали особенности биологического действия новых МП «Бетапротектин» и МП «Стимул» для обоснования гигиенических нормативов. На модели интраназального динамического (5 раз в неделю) месячного введения белым крысам суспензии МП в объеме по 0,1 см<sup>3</sup> (контроль – введение культивационной питательной среды препарата, опыт – ингаляционное воздействие в расчетных концентрациях на уровнях  $1,0 \times 10^9$ ,  $1,0 \times 10^7$ ,  $1,0 \times 10^5$ ,  $1,0 \times 10^{3-4}$  м.кл./м<sup>3</sup>) оценены дозозависимые биологические эффекты с определением комплекса показателей общетоксического (интегральные и биохимические показатели), иммуно-аллергологического (содержание Т-лимфоцитов в крови, ЦИК и лизоцима, активность комплемента в сыворотке крови, интегральный показатель антибактериальной защиты сыворотки крови – БАСК, комплекс специфических тестов и реакции по выявлению механизмов четырех типов аллергических реакций), гематологического (гемограмма, лейкоформула), диссеминирующего и дисбиотического действия на организм.

Результаты исследования подвергались статистической обработке методами токсико- и биометрии, параметрической и непараметрической статистики, общепринятыми в профилактической токсикологии, с использованием пакета прикладных статистических программ STATISTICA 10 (лиц. сер. № ВХХР207F383402FA-V).

## Обоснование и экспериментальная апробация метода определения и критериев оценки степени токсичности и опасности МО-продуцентов разных видов и МП на их основе

На основании выполнения и анализа результатов экспериментального изучения новых 68 штаммов МО разной таксономической принадлежности и МП на их основе научно обоснованы следующие стандартные условия постановки острого эксперимента для оценки степени их патогенности, токсичности и токсигенности, объективные критерии определения класса опасности.

Степень патогенности МО определяется их способностью вызывать патологический процесс в макроорганизме с летальным исходом. Для ее оценки используют интегральный показатель ЛД<sub>50</sub>, т.е. дозу, которая вызывает гибель (летальность) 50% животных опытных групп при введении МО. Для оценки острой токсичности МО использовали определение относительной величины ЛД<sub>50</sub> (м.кл./кг массы животных) в унифицированных условиях острых экспериментов путем введения стандартных доз суспензии МО интраназально белым крысам ( $1,0 \times 10^8$  м.кл./жив.) и белым мышам ( $2,0 \times 10^7$  м.кл./жив.), внутрибрюшинно белым мышам ( $5,0 \times 10^8$  м.кл. на 20 г массы животных) и внутрижелудочно белым крысам ( $3,0 \times 10^9$  м.кл./см<sup>3</sup> на 180 г массы животных). В зависимости от установленной в острых опытах при внутрижелудочном и внутрибрюшинном введении МО или МП относительной величины ЛД<sub>50</sub> их дифференцируют по классам опасности согласно обоснованным количественным критериям, приведенным в таблице 1.

Таблица 1. – Классификация опасности МО и МП по степени патогенности в острых опытах

Интегральный показатель степени патогенности	Класс опасности (по степени патогенности)			
	I	II	III	IV
ЛД <sub>50</sub> при внутрижелудочном введении белым крысам, м.кл./кг	$5,5 \times 10^7$ и менее		$5,6 \times 10^7$ - $5,0 \times 10^9$	$5,1 \times 10^9$ и более
ЛД <sub>50</sub> при внутрибрюшинном введении белым мышам, м.кл./кг	$5,0 \times 10^6$ и менее		$5,1 \times 10^6$ - $5,0 \times 10^9$	$5,1 \times 10^9$ и более

### Примечания

1. I-й класс – чрезвычайно опасные (1 и 2 группы патогенных МО);
2. II-й класс – высокоопасные (3 и 4 группы МО-возбудителей инфекционных заболеваний);
3. III-й класс – умеренно опасные МО;
4. IV-й класс – малоопасные МО.

При условии выявления гибели белых мышей в опытах по оценке патогенности МО или МП альтернативно определяют выраженность их токсичности (патогенность эндотоксинов) путем внутрибрюшинного введения белым мышам суспензии препарата, предварительно подвергнутой термообработке, в стандартной дозе ( $1,0 \times 10^6$  м.кл. на 20 г массы жив.). Для определения степени патогенности экзотоксинов МО (токсигенность культуры) белым мышам вводят подкожно в наружный сегмент бедра задней лапы стандартную дозу ( $0,5 \text{ см}^3$ ) фильтрата из исходной концентрации суспензии МО  $1,0 \times 10^9$  м.кл./см<sup>3</sup>.

Уточненными критериями для запрещения промышленного использования испытанных МО являются:

- летальность хотя бы одного опытного животного после интраназального введения стандартной дозы суспензии МО белым крысам и белым мышам;
- относительная величина ЛД<sub>50</sub> при введении МО в желудок белых крыс  $5,5 \times 10^7$  и менее м.кл./кг, а при введении внутрибрюшинно белым мышам –  $5,0 \times 10^6$  и менее м.кл./кг (МО и МП I и II классов опасности);
- МО обладает высокой токсичностью (летальность 2-х и более опытных животных) и токсигенностью (летальность 1 и более опытных животных или выраженная отечно-воспалительная реакция и некротическое поражение кожи и прилегающих тканей).

Установлена принадлежность новых штаммов МО к IV или III классу опасности и квалифицированы как промышленные, что отражено в разработанных токсикологических паспортах на соответствующие МО.

Результаты экспериментов позволили доказать объективность разработанных унифицированных методических подходов определения степени острой токсичности и критериев классифицирования МО и МП по степени опасности, научно-методическая новизна которых отражена в 3 поданных заявках на выдачу патентов на изобретение и 1 рационализаторском предложении. Причем они согласуются с общепринятыми критериями класса опасности химических веществ по ГОСТ 12.1.007-76.

#### **Сенсибилизирующая способность МП, обоснование метода и критериев оценки степени выраженности их аллергенной активности и опасности**

С учетом современных требований классификационной оценки сенсибилизирующей активности химических и биологических веществ и на основании экспериментального изучения и анализа результатов исследований, ранее выполненных в ГУ «РНПЦ гигиены», по выявлению сенсибилизирующей способности МП на основе разных штаммов МО, научно обоснованы следующие стандартные условия постановки аллергологического эксперимента и критерии оценки степени сенсибилизирующей активности и определения класса аллергенной опасности МО и МП.

В эксперименте в течение 5 дней белым крысам вводят интраназально в объеме  $0,1 \text{ см}^3$  суспензию живых МО или МП в стандартной дозе по  $1,0 \times 10^8$  м.кл. на 180 г массы жив. с расчетом индивидуальной ингалируемой концентрации микробных клеток в  $1 \text{ м}^3$  воздуха ( $K_i$ , м.кл./ $\text{м}^3$ ) и последующим определением средней ингалируемой концентрации МО ( $K_{\text{ср}}$ , м.кл./ $\text{м}^3$ ). Выявление сенсибилизации по ГЗТ производят на 6-е сутки опыта постановкой провокационного внутрикожного теста опухания лапы (ВТОЛ) путем введения под апоневроз задней лапы животных опытной и контрольной групп суспензии МП в стандартной дозе ( $1,0 \times 10^6$  м.кл./жив.). Для оценки степени выраженности сенсибилизации используют интегральный показатель ВТОЛ, который определяют по шкале пересчета абсолютных величин толщины лап в баллы. Для определения степени сенсибилизирующей способности МО или МП адаптировали количественные критерии оценки степени сенсибилизирующей активности и аллергенной опасности промышленных веществ (таблица 2).

Таблица 2. – Шкала классификационной оценки МО-продуцентов и МП по степени сенсibilизирующей активности (аллергенной опасности)

Критерии	Классы сенсibilизирующей активности (сила аллергена/степень опасности)			
	1 сильные (чрезвычайно опасные)	2 выраженные (опасные)	3 умеренные (умеренно опасные)	4 слабые (малоопасные)
H <sup>1)</sup>	75 и более	более 50	50 и более	25 и более
Pt	<0,01-0,001	<0,05-0,01	<0,05	>0,05
Px	<0,01	<0,05	>0,05	>0,05

Примечания

1. H<sup>1)</sup> – частота положительного теста ВТОЛ в баллах у животных опытной группы в %;
2. Pt – уровень значимости достоверных различий среднегрупповых величин интегрального показателя ВТОЛ в опытной и контрольной группах по критерию t;
3. Px – то же, но по критерию «X».

Результаты апробации метода при экспериментальном исследовании 18 новых МП позволили установить высокую чувствительность и объективность разработанных унифицированных методических подходов и критериев, на основании чего обоснованы необходимые требования гигиенической безопасности их производства, отраженные в соответствующих утвержденных технических условиях на эти МП.

### **Экспериментальное обоснование гигиенических нормативов и методов определения содержания в воздухе рабочей зоны новых МП**

Используя общие принципы и подходы гигиенического нормирования в воздухе рабочей зоны вредных веществ, выполнены экспериментальные исследования по определению особенностей биологического действия на организм белых крыс новых МП «Бетапротектин» (МПБ) на основе МО *Bacillus subtilis* M-22 (*B.subtilis*) и МП «Стимул» (МПС) на основе МО *Pseudomonas fluorescens* S32 (*P.fluorescens*) при субхроническом (месячном) ингаляционном пути поступления в снижающихся концентрациях. Учитывая гетероантигенность промышленных штаммов МО, основное внимание в эксперименте уделялось выявлению иммунотоксического действия МП, которое в основном проявляется аллергизацией, иммунизацией и неспецифической иммуномодуляцией.

В субхронических ингаляционных экспериментах на белых крысах выявлены особенности биологического действия МПБ в зависимости от уровня его воздействия на организм (таблица 3). При воздействии в максимальной концентрации (на уровне  $9,1 \times 10^9$  м.кл./м<sup>3</sup>) препарат индуцировал у белых крыс выраженную аллергизацию организма с активацией преимущественно механизмов немедленного анафилактического и замедленного клеточноопосредованного типов аллергического процесса, вызывал чрезмерную антигенную нагрузку на фагоциты крови и глубокое угнетение их функциональной способности продуцировать активные формы кислорода (снижение спонтанного – на 19,0% и зимозанстимулированного – на 210,3% уровней кислородного метаболизма в гранулоцитах по сравнению с контролем,  $p < 0,001$ ), сопровождаемое достоверным возрастанием количества в периферической крови сегментоядерных нейтрофилов и эозинофилов на фоне снижения удельного веса лимфоцитов ( $p < 0,01$ ).

Таблица 3. – Значимость сдвигов изученных морфофункциональных показателей у белых крыс после месячного ингаляционного воздействия МПБ в снижающихся концентрациях

Показатели	Испытанные концентрации, м.кл./м <sup>3</sup>			
	9,1x10 <sup>9</sup>	1x10 <sup>7</sup>	1x10 <sup>5</sup>	1x10 <sup>3</sup>
<b>ВТОЛ</b>				
АКА: - абсолютный показатель	+	+	0	0
- относительный показатель	+	+	+	0
ГЗТ: -//-	++	0	0	0
-//-	+	0	0	0
<b>РДТК</b>	0	0	0	0
<b>РСЛЛ</b>	0	0	0	0
<b>ЦИК</b>	0	0	0	0
<b>РСНСТ: - индекс стимуляции</b>	0	+++	+	0
<b>РСМТТ: - индекс стимуляции</b>	н.о.	+	0	н.о.
<b>НСТ-тест гранулоцитов</b>				
Спонтанный: - возр. к контр. пр.	0	0	0	0
Зн-стимулированный: - возр. к контр. пр.	---	++	0	0
-индекс стимуляции	---	+	++	0
Величина фагоцитарного резерва	---	+	++	0
<b>Лизоцим в сыворотке крови</b>	0	0	0	0
<b>Комплементарная активность сыворотки крови</b>	0	0	0	0
<b>БАСК</b>	0	++	0	0
<b>Гемограмма:</b>				
Эритроциты (ЭР)	0	--	-	0
Средний объем ЭР	0	0	0	0
Коэффициент вариации ЭР	н.о.	++	+	0
Стандартное отклонение ЭР	н.о.	+++	+	0
Гемоглобин (Hb)	0	--	--	0
Среднее содержание Hb в ЭР	0	0	0	0
Среднеклеточный Hb	0	0	0	0
Гематокрит	0	--	0	0
Тромбоциты (Тр)	0	0	0	0
Средний объем Тр	0	-	0	0
Коэффициент вариации Тр	н.о.	++	--	0
<b>Тромбоцитарная масса</b>	н.о.	0	0	0
<b>Лейкоциты</b>	0	0	0	0
-нейтрофилы - абсолютный показатель	+	0	0	0
- относительный показатель	+	0	0	0
-эозинофилы -//-	0	-	-	0
-//-	+	0	0	0
-лимфоциты -//-	--	0	0	0
-//-	0	0	0	0
<b>Т-лимфоциты -//-</b>	0	0	0	0
-//-	0	0	0	0

Примечания

1. 0 – отсутствие достоверных сдвигов показателя по отношению к контролю;
2. + или -- достоверное возрастание или снижение по отношению к контролю при  $p < 0,05$ ;
3. ++ или -- – достоверное возрастание или снижение по отношению к контролю при  $p < 0,01$ ;
4. +++ или --- – достоверное возрастание или снижение по отношению к контролю при  $p < 0,001$ ;
5. н.о. – не определяли.

Воздействие МПБ в снижающихся концентрациях на уровнях  $1 \times 10^7$  и  $1 \times 10^5$  м.кл./м<sup>3</sup> сопровождалось дозозависимым по выраженности формированием у животных аллергических реакций только по механизму немедленного анафилактического типа, иммунотоксических эффектов в отношении существенной активации кислородзависимых фагоцитарных функций гранулоцитарно-макрофагальных клеток крови и супрессорной функции Т-лимфоцитов, достоверными сдвигами показателей в основном со стороны красного ростка кроветворения при отсутствии дисбиотического и диссеминирующего действия препарата. Концентрация препарата на уровне  $1 \times 10^3$  м.кл./м<sup>3</sup> являлась недействующей, поскольку у животных в опыте все изученные морфофункциональные показатели организма мало отличались по средним величинам от таковых у животных в контроле.

Следовательно, пороговая концентрация препарата по лимитирующим показателям вредного действия (аллергический и иммунотоксический эффекты) будет, наиболее вероятно, на уровне  $1 \times 10^4$  м.кл./м<sup>3</sup>, а с учетом величины коэффициента запаса 10 к пороговой концентрации величина ПДК<sub>врз</sub> МПБ будет соответствовать установленной фактически недействующей концентрации. На этом основании обоснован гигиенический норматив содержания в воздухе рабочей зоны МПБ на уровне  $1 \times 10^3$  м.кл. штамма бактерий *B.subtilis* в 1 м<sup>3</sup>, III класс опасности с отметкой «аллерген».

На ингаляционное субхроническое воздействие МПС в максимальной концентрации ( $3,5 \times 10^9$  м.кл./м<sup>3</sup>) установлено развитие в организме белых крыс аллергического процесса преимущественно по смешанному типу гиперчувствительности, значимых иммуномодулирующих (возрастание в сыворотке крови содержания лизоцима и бактерицидной активности) и гемотоксических (существенное повышение показателя гематокрита и среднего объема эритроцитов при снижении в них содержания гемоглобина) эффектов. На ингалируемую концентрацию МПС на уровне  $1 \times 10^7$  м.кл./м<sup>3</sup> выявлено формирование в организме животных выраженной аллергической реакции по механизмам замедленного клеточноопосредованного, комплементзависимого цитотоксического и иммунокомплексного типов, существенные проявления иммунотоксичности с характерным глубоким угнетением кислородзависимой фагоцитарной функции гранулоцитов крови, снижением содержания в крови лизоцима, относительного и абсолютного количества Т-лимфоцитов, сочетаемых с активацией показателей системы перекисного окисления липидов (достоверное возрастание в сыворотке и гемолизате крови активности ферментов ГФДГ на 113,1%, глутатионпероксидазы на 115,4%, содержания глутатиона восстановленного на 116,1% и SH-групп на 116,4% по сравнению с контролем,  $p < 0,05$ ) и белков в организме (снижение в сыворотке крови уровней флуоресценции триптофанилов белков на 18,3%,  $p < 0,001$ , и битирозина на 10% к контролю,  $p < 0,1$ ). У белых крыс на ингаляционное воздействие препарата в концентрации на уровне  $1,0 \times 10^5$  м.кл./м<sup>3</sup> определены только достоверное по сравнению с контрольными животными возрастание индекса стимуляции кислородного метаболизма на 113,2% и величины фагоцитарного резерва гранулоцитов крови

на 200,1%,  $p < 0,01$ , снижение интенсивности флуоресценции триптофанилов белков сыворотки крови на 6,8%,  $p < 0,05$ , без существенных сдвигов всех других изученных морфофункциональных показателей организма. Следовательно, данная концентрация МПС является пороговой по лимитирующему иммунотоксическому показателю вредного действия, на основании чего с учетом коэффициента запаса 10 обоснована ПДКврз МПС на уровне  $1,0 \times 10^4$  м.кл./м<sup>3</sup> штамма МО *P.fluorescens*, IV класс опасности.

На экспериментальной модели воспроизведения в воздухе различных концентраций аэрозолей МПБ и МПС по соответственно *B.subtilis* и *P.fluorescens* определены оптимальные условия по времени и объему отбора проб воздуха, посева и культивирования на селективных средах, типирования и учета количества колоний, установлены прямые концентрационные зависимости, высокая чувствительность и валидность определения количества МО в воздухе, что позволило разработать методы количественного определения в воздухе рабочей зоны МПБ и МПС. На их основе разработаны и аттестованы МВИ концентрации клеток и спор штамма *B.subtilis* М-22 – продуцента МПБ, концентрации клеток штамма *P.fluorescens* S32 – продуцента МПС в воздухе рабочей зоны, позволяющие проводить производственный контроль содержания этих МП в воздухе рабочей зоны на соответствие их ПДКврз.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

### Основные научные результаты диссертации

Совокупность результатов, полученных в ходе выполненных экспериментальных исследований, дают основание сделать следующие основные выводы:

1. Научно обоснованы рациональные (по количеству лабораторных животных и времени проведения острых экспериментов) и унифицированные условия постановки острого эксперимента (установленные модели воздействия на организм лабораторных животных, стандартные дозы и концентрации, оценка результатов, в том числе, по относительной величине интегрального показателя ЛД<sub>50</sub>) для определения степени острой токсичности (патогенность, токсигенность, токсичность) и объективные количественные критерии определения класса опасности микроорганизмов-продуцентов и микробных препаратов, научно-методическая новизна которых отражена в 3 поданных заявках на выдачу патентов на изобретение и рационализаторском предложении, а также уточнены токсиколого-гигиенические критерии запрещения использования изученных микроорганизмов-продуцентов в качестве промышленных штаммов [18, 24, 30-32, 36].

2. Результаты экспериментальных исследований новых 68 штаммов микроорганизмов-продуцентов разной таксономической принадлежности и 18 микробных препаратов позволили доказать объективность, рациональность и экономичность разработанных унифицированных методических подходов определения степени острой токсичности и критериев классифицирования по

степени опасности, определить параметры их патогенности, токсигенности и токсичности, установить их принадлежность к IV или III классу опасности, обусловленность степени патогенности комбинированных микробных препаратов характером простой суммы острого действия на организм входящих в их состав микроорганизмов, на основании чего изученные микроорганизмы квалифицированы как промышленные штаммы, а микробные препараты рекомендованы к производственным испытаниям [1, 2, 7, 9, 10, 12, 13, 14, 16, 19, 20].

3. Впервые разработан метод экспериментального определения сенсibiliзирующей активности микроорганизмов-продуцентов и микробных препаратов, включающий технологию воспроизведения (ингаляционное моделирование) и выявления гиперчувствительности замедленного типа (провокационным внутрикожным тестом опухания лапы) в стандартных условиях эксперимента на белых крысах, количественные критерии оценки степени их сенсibiliзирующей активности и определения класса аллергенной опасности. Апробация метода позволила установить его высокую чувствительность и объективность, возможность получения сравниваемых результатов, определить степень сенсibiliзирующей активности и класс аллергоопасности 18 новых микробных препаратов, что учитывалось в разработке гигиенических требований по профилактике профессиональной и производственно обусловленной аллергопатологии работников [1, 2, 6-16, 19, 21, 23, 25, 26, 33, 34, 35, 37].

4. Ингалируемые концентрации нового микробного препарата «Бетапротектин» на уровнях  $1 \times 10^9$ ,  $1 \times 10^7$  и  $1 \times 10^5$  м.кл./м<sup>3</sup> являлись эффективно действующими на организм белых крыс по показателям немедленной и клеточноопосредованной аллергической реакции и иммунотоксичности (нарушение фагоцитарной функции гранулоцитов крови), существенным проявлениям гемотоксического действия при отсутствии диссеминирующего и дисбиотического эффектов. Выраженность изученных морфофункциональных показателей в основном имела концентрационную зависимость. Ингалируемая концентрация МПБ на уровне  $1 \times 10^3$  м.кл./м<sup>3</sup> являлась недействующей, поскольку все изученные морфофункциональные показатели организма опытных животных мало отличались от таковых в контрольной группе. На этом основании обоснован гигиенический норматив содержания в воздухе рабочей зоны (ПДКврз) на уровне  $1 \times 10^3$  м.кл. штамма бактерий *B. subtilis* в 1 м<sup>3</sup>, III класс опасности с отметкой «аллерген» [3, 5, 21, 22, 23, 27].

5. Микробный препарат «Стимул» в ингалируемых высоких концентрациях (на уровне  $3,5 \times 10^9$  и  $1 \times 10^7$  м.кл./м<sup>3</sup>) вызывал у белых крыс достоверные сдвиги показателей общетоксического (активация ферментных показателей системы перекисного окисления липидов и белков), иммунотоксического (развитие смешанного типа аллергических реакций, нарушение фагоцитарной функции гранулоцитов крови, снижение содержания в крови лизоцима и количества T-лимфоцитов) и гемотоксического действия, а концентрация препарата на уровне  $1 \times 10^5$  м.кл./м<sup>3</sup> признана пороговой по лимитирующему показателю вредного иммунотоксического действия (достоверная активация показателей кислородзависимой фагоцитарной функции гранулоцитов крови). С учетом коэффициента запаса 10 к уста-

новленной пороговой концентрации обоснован гигиенический норматив содержания в воздухе рабочей зоны на уровне  $1 \times 10^4$  м.кл. штамма бактерий *P.fluorescens* в  $1 \text{ м}^3$ , IV класс опасности [4, 5, 6, 20, 27].

б. Экспериментально обоснованные технология моделирования микробных аэрозолей и необходимые условия количественной оценки их содержания позволили разработать методы определения в воздухе рабочей зоны микробных препаратов «Бетапротектин» и «Стимул», на основании которых разработаны аттестованные методики выполнения измерений концентраций микроорганизмов-продуцентов в воздухе рабочей зоны (соответственно, МВИ №760/2013 и МВИ №770/2013), обеспечивающие контроль содержания этих препаратов в производственной среде на соответствие их ПДКврз [5, 22, 28, 29, 38-41].

#### **Рекомендации по практическому использованию результатов**

При апробации и применении разработанного метода экспериментального определения степени острой токсичности и критериев классифицирования МО и МП по степени опасности (утверждены 28.05.2013) в практике НИР ГУ «РНПЦ гигиены» (акт о внедрении от 25.02.2014) определены классы опасности и квалифицированы как промышленные 68 штаммов МО, что отражено в разработанных «Токсикологических паспортах на штаммы бактерий», которые внедрены в практическую деятельность ГНУ «Институт микробиологии НАН Беларуси» для их внесения в Коллекцию промышленных штаммов МО и для разработки новых МП (5 актов о внедрении от 20.05.2013, 24.05.2013, 01.11.2013). Метод позволяет получить не только объективные, но и сравнимые результаты степени патогенности разных МО и МП, что обеспечивает возможность создания более безопасных МП с заданными потребительскими качествами, подбирая в их состав те МО со схожими полезными свойствами, степень патогенности которых более низкая (относительная величина  $LD_{50}$  более высокая).

Разработан чувствительный метод экспериментального определения сенсibiliзирующей активности МО и МП (утвержден 05.11.2013), применение которого (акт о внедрении в «НПЦ гигиены» от 21.02.2014) позволило получить объективные данные о степени сенсibiliзирующей активности и классе аллергоопасности 18 новых МП, на основании чего разработаны и утверждены в установленном порядке Заключение по их токсиколого-гигиенической оценке, включающие рекомендации о возможности и условиях опытно-промышленного производства и обоснованные меры профилактики вредного аллергического действия на организм работников (2 акта о внедрении в ГНУ «Институт микробиологии НАН Беларуси» от 20.12.2013).

Утверждение ПДКврз новых МП «Бетапротектин» и МП «Стимул» (постановление Минздрава от 20.09.2012 № 140) в качестве гигиенических нормативов [27] и их обязательное соблюдение является наиболее эффективной мерой снижения риска развития профессиональных аллергических и производственно обусловленных иммунозависимых заболеваний у работников при производстве и применении этих МП.

Разработаны и аттестованы как чувствительные, специфичные, селективные и валидные МВИ концентрации МО МП «Бетапротектин» и МП «Стимул» в воздухе рабочей зоны [28, 29], что позволяет широко использовать их в аккредитованных лабораториях для контроля уровня загрязнения воздуха производственной среды соответствующими МО.

ПДКврз МП «Бетапротектин» и МП «Стимул», методики определения их содержания в воздухе использованы для разработки требований безопасности Технических условий на эти препараты, организации обеспечения контроля, безопасных условий труда и сохранения здоровья работников при промышленном производстве и применении этих препаратов по назначению (2 акта о внедрении в ГНУ «Институт микробиологии НАН Беларуси» от 15.04.2013; 2 акта о внедрении в НИЛ БГУ от 16.05.2013, акт о внедрении в «НПЦ гигиены» от 10.04.2014, акт о внедрении в ГУ «РЦГЭиОЗ» от 01.09.2015, письмо о внедрении в работу отдела гигиены, эпидемиологии и профилактики Минздрава и отдела науки Минздрав от 27.10.2015 № 09-13/530).

Разработанные и апробированные методы определения и критерии оценки биологического действия и опасности МО и МП могут быть использованы для обоснования методологии их гигиенического регламентирования и нормирования.

Использование унифицированных условий постановки экспериментов обеспечивает сокращение затрат на исследование 1 препарата по сравнению с традиционной методикой на 29276490 руб. (в ценах на 01.10.2015).

### **Список публикаций соискателя по теме диссертации**

#### **Статьи в рецензируемых научных журналах**

1. Научное обоснование требований по безопасному производству и применению в косметологии препаратов ИМ-Б1, ИМ-МК1 на основе бифидо- и молочнокислых бактерий / Т. С. Студеничник, В. В. Шевляков, В. А. Филонюк, Г. И. Эрм, Н. А. Щурская, А. В. Буйницкая, Е. В. Чернышова, Т. В. Козловская // Вестн. Витеб. гос. мед. ун-та. – 2011. – Т. 10, № 2. – С. 33–44.

2. Новый комплексный биологический препарат «Гулливер»: особенности вредного действия на организм / В. В. Шевляков, В. А. Филонюк, Т. С. Студеничник, Г. И. Эрм, Н. А. Щурская, А. В. Буйницкая, Е. В. Чернышова, Т. В. Козловская // Мед.-биол. проблемы жизнедеятельности. – 2011. – № 2. – С. 34–41.

3. Студеничник, Т. С. Токсиколого-гигиеническая оценка ферментного препарата микробиологического синтеза / Т.С. Студеничник, В. А. Филонюк, В. В. Шевляков // Донозоология и здоровый образ жизни. – 2012. – № 1. – С. 55–60.

4. Обоснование предельно допустимой концентрации (ПДК) в воздухе рабочей зоны микробного препарата Бетапротектин / В. В. Шевляков, В. А. Филонюк, Т. С. Студеничник, Г. И. Эрм, Н. В. Дудчик // Мед. журн. – 2013. – № 2. – С. 123–126.

5. К вопросу о гигиеническом нормативе содержания в воздухе рабочей зоны микробного препарата «Стимул» / В. В. Шевляков, В. А. Филонюк, Т. С. Сту-

деничник, Г. И. Эрм, Н. В. Дудчик // Мед. журн. – 2013. – № 4. – С. 135–139.

6. О методологии гигиенического регламентирования микроорганизмов-продуцентов и микробных препаратов в воздухе рабочей зоны / В. В. Шевляков, В. А. Филонюк, Г. И. Эрм, Е. В. Чернышова, С. А. Ушков, А. В. Буйницкая, Т. С. Студеничник // Мед. журн. – 2014. – № 2. – С. 40–52.

#### **Статьи в рецензируемых сборниках научных работ**

7. Аллергенные и иммунотоксические свойства нового биологического препарата «Стимул» / В. В. Шевляков, Н. А. Щурская, Г. И. Эрм, А. В. Буйницкая, Т. В. Козловская, Е. В. Чернышова, Т. С. Студеничник // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / Респ. науч.-практ. центр гигиены. – Минск, 2010. – Вып. 16. – С. 429–435.

8. Особенности биологического действия комбинированного микробного препарата Профибакт-Фито / Г. И. Эрм, В. В. Шевляков, А. В. Буйницкая, Е. В. Чернышова, Т. В. Козловская, Н. А. Щурская, Т. С. Студеничник // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / Респ. науч.-практ. центр гигиены. – Минск, 2010. – Вып. 16. – С. 435–441.

9. Иммунотоксические свойства микробного препарата «Бактоцид» как средства защиты растений от фитопатогенных насекомых // Т. С. Студеничник, В. В. Шевляков, В. А. Филонюк, Г. И. Эрм, Н. А. Щурская, А. В. Буйницкая, Е. В. Чернышова, Т. В. Козловская // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / Респ. науч.-практ. центр гигиены. – Минск, 2011. – Вып. 17. – С. 122–127.

10. Токсиколого-гигиеническое исследование нового комбинированного микробного препарата «Клинбак», предназначенного для интенсификации очистки сточных вод / Т. С. Студеничник, В. В. Шевляков, В. А. Филонюк, Г. И. Эрм, Н. А. Щурская, А. В. Буйницкая, Е. В. Чернышова, Т. В. Козловская // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / Респ. науч.-практ. центр гигиены. – Минск, 2011. – Вып. 17. – С. 127–133.

11. Токсиколого-гигиеническое исследование нового комбинированного микробного препарата «Родобел Т2», предназначенного для очистки воды и почвы от нефтепродуктов / Т. С. Студеничник, В. В. Шевляков, В. А. Филонюк, Г. И. Эрм, А. В. Буйницкая // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / Респ. науч.-практ. центр гигиены, Бел. науч. о-во гигиенистов. – Минск, 2012. – Вып. 21. – С. 432–440.

12. Аллергенные и иммунотоксические свойства нового микробного препарата «Фунгилекс» / Е. В. Чернышова, В. В. Шевляков, Г. И. Эрм, А. В. Буйницкая, Т. С. Студеничник // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / Респ. науч.-практ. центр гигиены, Бел. науч. о-во гигиенистов. – Минск, 2012. – Вып. 21. – С. 497–503.

13. Особенности биологического действия стимулятора роста растений бинарного микробного препарата «Энтолек» / А. В. Буйницкая, В. В. Шевляков, Г. И. Эрм, Е. В. Чернышова, Т. С. Студеничник // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / Респ. науч.-практ. центр гигиены. – Минск, 2013. – Вып. 22. – С. 142–145.

14. Характер токсического и аллергенного действия на организм нового комбинированного микробного препарата «Жыцень» / Е. В. Чернышова, В. В. Шевляков, Г. И. Эрм, В. А. Филонюк, А. В. Буйницкая, Т. С. Студеничник // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / Респ. науч.-практ. центр гигиены. – Минск, 2013. – Вып. 22. – С. 223–225.

15. Токсиколого-гигиеническое исследование нового микробного препарата «Антойл», предназначенного для интенсификации очистки сточных вод от жировых веществ / В. В. Шевляков, В. А. Филонюк, Т. С. Студеничник, Г. И. Эрм, А. В. Буйницкая, Л. М. Сычик // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / Респ. науч.-практ. центр гигиены. – Минск, 2013. – Вып. 22. – С. 226–230.

16. Аллергенные и иммунотоксические свойства комбинированного микробного препарата «АгроМик», предназначенного для стимуляции роста и повышения урожайности тритикале / В. В. Шевляков, В. А. Филонюк, Т. С. Студеничник, Г. И. Эрм, Е. В. Чернышова, А. В. Буйницкая // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / Респ. науч.-практ. центр гигиены. – Минск, 2013. – Вып. 22. – С. 230–233.

17. Токсиколого-гигиеническое обоснование требований по безопасному производству и использованию полифункционального комплексного микробного удобрения / В. В. Шевляков, В. А. Филонюк, Г. И. Эрм, Т. С. Студеничник, А. В. Буйницкая, Е. В. Чернышова // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / Респ. науч.-практ. центр гигиены. – Минск, 2013. – Вып. 22. – С. 233–236.

18. Методические подходы к определению степени сенсibiliзирующей способности и аллергенной опасности микроорганизмов-продуцентов и микробных препаратов / В. В. Шевляков, В. А. Филонюк, Г. И. Эрм, Т. С. Студеничник // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / Науч.-практ. центр гигиены. – Минск, 2014. – Вып. 24, т. 1. – С. 131–134.

19. Метод оценки степени патогенности и опасности микроорганизмов-продуцентов и микробных препаратов / В. В. Шевляков, В. А. Филонюк, Г. И. Эрм, Т. С. Студеничник // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / Науч.-практ. центр гигиены. – Минск, 2014. – Вып. 24, т. 1. – С. 134–138.

#### **Статьи и тезисы в материалах научных форумов**

20. Студеничник, Т. С. Особенности биологического действия нового микробного препарата «Стимул» / Т. С. Студеничник, В. А. Филонюк, В. В. Шевляков // Актуальные проблемы гигиены : материалы науч.-практ. конф., посвящ. 30-летию каф. гигиены детей и подростков БГМУ / Белорус. гос. мед. ун-т ; под ред. Т. С. Борисовой. – Минск, 2012. – С. 95–97.

21. Студеничник, Т. С. Экспериментальное изучение иммунотоксического действия на организм биопестицида «Бетапротектин» / Т. С. Студеничник, В. А. Филонюк, В. В. Шевляков // Актуальные проблемы гигиены : материалы науч.-практ. конф., посвящ. 30-летию каф. гигиены детей и подростков БГМУ / Белорус. гос. мед. ун-т ; под ред. Т. С. Борисовой. – Минск, 2012. – С. 98–100.

22. Студеничник, Т. С. К проблеме гигиенической безопасности биотех-

нологических производств / Т. С. Студеничник, В. В. Шевляков, В. А. Филонюк // Управление профессиональным здоровьем, окружающей средой и безопасностью в условиях производства и проживания : мат. респ. семинара, Бобруйск, 31.05–01.06.2012 г. / Респ. центр гигиены, эпидемиологии и обществ. здоровья [и др.] ; под ред. Л. В. Половинкина, В. В. Гриня, Г. Е. Косяченко. – Минск, 2012. – С. 140–143.

23. Студеничник, Т. С. Иммунотоксичность микробного препарата «Бетапротектин» при ингаляционном воздействии на организм белых крыс / Т. С. Студеничник, В. В. Шевляков, В. А. Филонюк // Сахаровские чтения 2013 года: экологические проблемы XXI века : материалы 13-й междунар. науч. конф., Минск, 16–17 мая 2013 г. / Междунар. гос. экол. ун-т ; под общ. ред. С. П. Кундаса, С. С. Позняка, Н. А. Лысухо. – Минск, 2013. – С. 142.

24. Обоснование критериев оценки степени патогенности (токсичности) микроорганизмов-продуцентов и микробных препаратов / В. А. Филонюк, В. В. Шевляков, Г. И. Эрм, Т. С. Студеничник // IV съезд токсикологов России, Москва, 6–8 ноября 2013 г. : сб. тр. / Федер. служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. – М., 2013. – С. 510–513.

25. Обоснование критериев оценки сенсibiliзирующей активности и аллергоопасности микроорганизмов-продуцентов и микробных препаратов / В. А. Филонюк, В. В. Шевляков, Г. И. Эрм, Т. С. Студеничник // IV съезд токсикологов России, Москва, 6–8 ноября 2013 г. : сб. тр. / Федер. служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. – М., 2013. – С. 513–516.

26. Совершенствование методологии оценки аллергенной опасности микроорганизмов-продуцентов и микробных препаратов / В. А. Филонюк, В. В. Шевляков, Г. И. Эрм, Т. С. Студеничник // Гигиеническая донозологическая диагностика и донозологическая коррекция здоровья при формировании здорового образа жизни : материалы десятой Евраз. науч. конф. Донозоология – 2014, 18–19 дек. 2014 г. / под общ. ред. М. П. Захарченко. – СПб., 2014. – С. 401–404.

#### **Технические нормативные правовые акты**

27. Предельно допустимые концентрации микроорганизмов-продуцентов, микробных препаратов и их компонентов в воздухе рабочей зоны : гигиен. норматив : утв. постановлением М-ва здравоохранения Респ. Беларусь от 20 сент. 2012г. № 140 (табл. 2, пп. 5, 17 – ПДК<sub>врз</sub> микробных препаратов «Бетапротектин» и «Стимул») / разработ. : В. В. Шевляков, В. А. Филонюк, Г. И. Эрм, Н. В. Дудчик, Т. С. Студеничник, Е. В. Чернышова, А. В. Буйницкая, Т. О. Козлова. – Минск, 2012. – 8 с.

28. Методика выполнения измерений концентраций клеток и спор штамма *Bacillus subtilis* М-22 – продуцента микробного препарата «Бетапротектин» в воздухе рабочей зоны : МВИ.МН 4594-2013 : свидетельство № 760/2013 об аттестации, выд. РУП «БелГИМ» от 29.03.2013 / разработ. : Н. В. Дудчик, В. В. Шевляков, В. А. Филонюк, В. В. Трейлиб, Е. А. Будкина, Л. Л. Ушкова, Т. О. Козлова, Г. И. Эрм, Т. С. Студеничник. – Минск, 2013. – 16 с.

29. Методика выполнения измерений концентрации клеток микроорганизма *Pseudomonas fluorescens* S32 – продуцента препарата «Стимул» в воздухе рабочей зоны : МВИ.МН 4619-2013 : свидетельство № 770/2013 об аттестации, выд. РУП «БелГИМ» от 29.04.2013 / разработ. : Н. В. Дудчик, В. В. Шевляков, В. А. Филонюк, Т. С. Студеничник, В. В. Трейлиб, Е. А. Будкина, Л. Л. Ушкова, Т. О. Козлова, Г. И. Эрм. – Минск, 2013. – 16 с.

#### **Заявки на изобретение**

30. Способ экспериментального определения степени патогенности микроорганизмов-продуцентов и микробных препаратов на лабораторных белых мышах : заявка № а 20131341 Респ. Беларусь : МПК С 12Q 1/00 / В. В. Шевляков, В. А. Филонюк, Т. С. Студеничник, Г. И. Эрм ; заявл. 14.11.2013 ; опубл. 23.12.2013.

31. Способ экспериментального определения степени патогенности микроорганизмов-продуцентов и микробных препаратов на лабораторных белых крысах : заявка № а 20131340 Респ. Беларусь : МПК С 12Q 1/00 / В. В. Шевляков, В. А. Филонюк, Т. С. Студеничник, Г. И. Эрм ; заявл. 14.11.2013 ; опубл. 20.01.2014.

32. Способ определения класса опасности микроорганизмов-продуцентов или микробных препаратов по степени их патогенности : заявка № а20131471 Респ. Беларусь : МПК А 61J 15/00 / В. В. Шевляков, В. А. Филонюк, Т. С. Студеничник, Г. И. Эрм ; заявл. 09.12.2013 ; опубл. 11.02.2014.

33. Способ экспериментального определения степени сенсибилизирующей способности и оценки класса аллергенной опасности промышленных микроорганизмов и микробных препаратов : заявка № а20131470 Респ. Беларусь : МПК А 61J 15/00 / В. В. Шевляков, В. А. Филонюк, Т. С. Студеничник, Г. И. Эрм ; заявл. 09.12.2013 ; опубл. 11.02.2014.

34. Способ экспериментального выявления гиперчувствительности замедленного типа при воздействии микробных препаратов на организм : заявка № а20131506 Респ. Беларусь : МПК А 61K 35/66, G 01B 3/18 / В. В. Шевляков, В. А. Филонюк, Т. С. Студеничник, Г. И. Эрм ; заявл. 13.12.2013 ; опубл. 20.02.2014.

#### **Удостоверения на рационализаторские предложения**

35. Методика определения степени аллергенной активности микробных препаратов : удостоверение на рацпредложение № 1868 от 29.11.2011. / В. В. Шевляков, Т. С. Студеничник, В. А. Филонюк ; утв. Респ. науч.-практ. центр гигиены ; выдано 05.12.2011.

36. Способ определения класса опасности (степень токсичности) штаммов микроорганизмов и микробных препаратов : удостоверение на рацпредложение № 1869 от 29.11.2011 / В. В. Шевляков, Т. С. Студеничник, В. А. Филонюк ; утв. Респ. науч.-практ. центр гигиены ; выдано 05.12.2011.

37. Методика определения степени выраженности аллергенной способности микробных препаратов : удостоверение на рацпредложение № 1892

от 29.11.2011 г. / В. В. Шевляков, Т. С. Студеничник, В. А. Филонюк ; утв. Респ. науч.-практ. центр гигиены ; выдано 05.12.2011.

38. Метод определения содержания в воздухе рабочей зоны клеток бактерий *Pseudomonas fluorescens* S32 – штамма-продуцента микробного препарата Стимул : удостоверение на рацпредложение № 1980 от 21.03.2013 / Н. В. Дудчик, В. В. Шевляков, В. А. Филонюк, Т. С. Студеничник ; утв. Респ. науч.-практ. центр гигиены; выдано 11.04.2013.

39. Метод определения содержания в воздухе рабочей зоны клеток бактерий *Bacillus subtilis* М-22 – штамма-продуцента микробного препарата Бетапротектин : удостоверение на рацпредложение № 1982 от 21.03.2013 / Н. В. Дудчик, В. В. Шевляков, В. А. Филонюк, Т. С. Студеничник ; утв. Респ. науч.-практ. центр гигиены ; выдано 11.04.2013.

40. Способ экспериментального моделирования обсемененности воздуха микроорганизмами-продуцентами микробных препаратов в разных концентрациях : удостоверение на рацпредложение № 1981 от 21.03.2013 / В. В. Шевляков, Ю. А. Соболев, Н. В. Дудчик, В. А. Филонюк, Т. С. Студеничник ; утв. Респ. науч.-практ. центр гигиены ; выдано 11.04.2013.

41. Алгоритм оценки операционных характеристик методики выполнения измерений концентрации клеток микроорганизма *Pseudomonas fluorescens* S32–штамма-продуцента микробного препарата Стимул в воздухе рабочей зоны : удостоверение на рацпредложение № 2009 от 03.06.2013 / Н. В. Дудчик, В. В. Шевляков, В. А. Филонюк, Т. С. Студеничник ; утв. Респ. науч.-практ. центр гигиены ; выдано 24.06.2013.

**РЭЗІЮМЭ****Студзьянічнік Таццяна Сяргееўна****Асаблівасці біялагічнага дзеяння і гігіенічнага рэгламентавання мікраарганізмаў-прадуцэнтаў і біяпрэпаратаў якія іх змяшчаюць**

**Ключавыя словы:** мікраарганізмы-прадуцэнты, мікробныя прэпараты, біялагічнае дзеянне на арганізм, гігіенічнае нарміраванне.

**Мэта даследавання:** на аснове эксперыментальнага вывучэння характару біялагічнага дзеяння мікраарганізмаў-прадуцэнтаў і мікробных прэпаратаў абгрунтаваць метады і крытэрыі аб'ектыўнай ацэнкі іх таксічнасці, сенсібілізуючай здольнасці, алергенай небяспекі і распрацаваць гігіенічныя нарматывы новых мікробных прэпаратаў у паветры рабочай зоны.

**Метады даследавання:** гігіенічныя, мікрабіялагічныя, таксікалагічныя, біяхімічныя, іммунагематалагічныя, алергалагічныя, статыстычныя.

**Атрыманыя вынікі і іх навізна:** упершыню навукова абгрунтаваны рацыянальныя і стандартызаваныя ўмовы пастаноўкі вострага эксперыменту для вызначэння ступені вострай таксічнасці і аб'ектыўныя колькасныя крытэрыі вызначэння класа небяспекі мікраарганізмаў-прадуцэнтаў (МА) і мікробных прэпаратаў (МП), якія дазваляюць аб'ектыўна ўсталяваць ступень вострай таксічнасці 68 новых МА і кваліфікаваць іх як прамысловыя штамы, вызначыць клас небяспекі 18 новых МП. Распрацаваны новы метады эксперыментальнага вызначэння сенсібілізуючай актыўнасці МА і МП, колькасныя крытэрыі ацэнкі ступені іх сенсібілізуючай актыўнасці і вызначэння класа алергенай небяспекі, вынікі апрабавання якога выкарыстаны для распрацоўкі патрабаванняў гігіенічнай бяспекі вытворчасці і выкарыстання выпрабаваных новых МП. Упершыню вывучаны асаблівасці біялагічнай дзейнасці новых МП «Бэтапратэктін» і МП «Стымул», абгрунтаваны і зацверджаны гігіенічныя нарматывы іх ўтрымання ў паветры працоўнай зоны (ГДК). Распрацаваны і ўпершыню метралагічна атэставаны метадыкі выканання вымярэнняў канцэнтрацый МА МП «Бэтапратэктін» і МП «Стымул» у паветры працоўнай зоны, якія дазваляюць праводзіць аб'ектыўны кантроль утрымання гэтых прэпаратаў у вытворчым асяроддзі на адпаведнасць іх ГДК.

**Рэкамендацыі па выкарыстанні:** правядзенне санітарна-гігіенічнага кантролю паветра працоўнай зоны, аптымізацыя ўмоў працы на прадпрыемствах па вытворчасці біяпрэпаратаў, прафілактыка прафесійных захворванняў.

**Галіна ўжывання:** Міністэрства аховы здароўя, цэнтры гігіены, эпідэміялогіі і грамадскага здароўя, прадпрыемствы біятэхналагічнай прамысловасці.

**РЕЗЮМЕ****Студентка Татьяна Сергеевна****Особенности биологического действия и гигиенического регламентирования микроорганизмов-продуцентов и содержащих их биопрепаратов**

**Ключевые слова:** микроорганизмы-продуценты, микробные препараты, биологическое действие на организм, гигиеническое нормирование.

**Цель исследования:** на основе экспериментального изучения характера биологического действия микроорганизмов-продуцентов и микробных препаратов обосновать методы и критерии объективной оценки их токсичности, сенсibiliзирующей способности, аллергенной опасности и разработать гигиенические нормативы новых микробных препаратов в воздухе рабочей зоны.

**Методы исследования:** гигиенические, микробиологические, токсикологические, биохимические, иммуногематологические, аллергологические, статистические.

**Полученные результаты и их новизна:** впервые научно обоснованы рациональные и унифицированные условия постановки острого эксперимента для определения степени острой токсичности и объективные количественные критерии определения класса опасности микроорганизмов-продуцентов (МО) и микробных препаратов (МП), позволившие объективно установить степень острой токсичности 68 новых МО и квалифицировать их как промышленные штаммы, определить класс опасности 18 новых МП. Разработан новый метод экспериментального определения сенсibiliзирующей активности МО и МП, количественные критерии оценки степени их сенсibiliзирующей активности и определения класса аллергенной опасности, результаты апробации которого использованы для разработки требований гигиенической безопасности производства и использования испытанных новых МП. Впервые изучены особенности биологического действия новых МП «Бетапротектин» и «Стимул», обоснованы и утверждены гигиенические нормативы их содержания в воздухе рабочей зоны (ПДК). Разработаны аттестованные методики выполнения измерений концентраций МО МП «Бетапротектин» и «Стимул» в воздухе рабочей зоны, позволяющие проводить объективный контроль содержания этих препаратов в производственной среде на соответствие их ПДК.

**Рекомендации по использованию:** проведение санитарно-гигиенического контроля воздуха рабочей зоны, оптимизация условий труда на предприятиях по производству биопрепаратов, профилактика профессиональных заболеваний.

**Область применения:** Министерство здравоохранения, центры гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, предприятия биотехнологической промышленности.

**SUMMARY****Studenichnik Tatiana Sergeevna****Particular qualities of biological effect and hygienic regulation of microorganisms producers and biological products containing them**

**Keywords:** microorganisms producers, microbic preparations, biological effect on the body, hygienic regulation.

**The aim of research:** on the basis of experimental studying of nature of biological effect of microorganisms producers and microbic preparations to prove methodical receptions of an assessment of their toxicity sensitizing abilities, allergenic danger and to develop hygienic standards of new microbic preparations in air of a working zone.

**Methods of research:** hygienic, microbiological, toxicological, biochemical, immuno-hematologic, allergological, statistical.

**The received results and their novelty:** for the first time scientifically substantiated rational and standardized conditions posing an acute experiment to determine the degree of acute toxicity and objective quantitative criterion class definition of microorganisms producers (MO) and microbic preparations (MP) possible to objectively determine the degree of acute toxicity 68 new MO and qualify as industrial strains to determine the hazard class of 18 new MP. A new method of experimental determination sensitizing activity MO and MP, quantitative criteria for assessing the degree of sensitizing activity and the definition of allergenic risk that the results of testing used to develop the requirements of hygiene and safety of production and using of tested the new MP. For the first time we studied the biological features of the action of new MP "Betaprotektin" and MP "Stimul", justified and approved by the hygienic standards of their content in the working area (MAC). Developed and first metrologically certified measurement procedures concentrations MO MP "Betaprotektin" and MP "Stimul" in the working area that allow for objective monitoring of the content of these preparations in a production environment to meet their MAC.

**Recommendations for use:** carrying out sanitary and hygienic workplace air monitoring, optimization of working conditions at factories producing biological products, prevention of occupational diseases.

**Field of application:** Ministry of Health, centers of hygiene, epidemiology and public health, production of biotechnological industry.