

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
Федеральное бюджетное учреждение науки
«Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия
человека
(ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора)
АККРЕДИТОВАННЫЙ ИСПЫТАТЕЛЬНЫЙ ЛАБОРАТОРНЫЙ ЦЕНТР

Аттестат аккредитации
№ RA.RU.21EB03 выдан 21 сентября 2017 г
Юридический адрес: 142279, Московская область,
г.о. Серпухов, п. Оболенск, тер. «Квартал А», д.24
Адрес места осуществления деятельности: 142279,
Московская область, г.о. Серпухов, п. Оболенск,
тер. «Квартал А», д.10; д.10 стр.1; д.24
ОКПО 78095326, ОГРН 1055011113772
ИНН/КПП 5077018190/507701001
Телефон, факс: (4967) 36-00-10, 36-00-17
E-mail: info@obolensk.org
khramov@obolensk.org

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель
испытательного
лабораторного центра
ФБУН ГНЦ ПМБ



**ПРОТОКОЛ
ЛАБОРАТОРНЫХ ИСПЫТАНИЙ (ИССЛЕДОВАНИЙ)
№ 4235 от 31.05.2022 г.**

- 1. Код образца (пробы):** AP-14.
- 2. Цель исследования, основание:** Определение патогенности, вирулентности, токсичности штамма *Bacillus F*.
- 3. Наименование предприятия, организации (заявитель):** Общество с ограниченной ответственностью «БРУМЕЛЬ».
- 4. Юридический адрес, ИНН:** 625035, Тюменская область, г. Тюмень, ул. Республики, д.200, стр.1, оф.308, ИНН 7203517260.
- 5. Наименование образца (пробы):** пробирка с культурой на мясо-пептонном агаре.

Код образца	Наименование образца	Примечание
AP-14	Культура <i>Bacillus F</i>	Штамм изолирован из реликтовых многолетне-мерзлых пород геологического обнажения Мамонтова Гора в республике Саха (Якутия)

- 6. Изготовитель:** Общество с ограниченной ответственностью «БРУМЕЛЬ».

Дата изготовления: 28.02.2022 г.

Номер партии: – 01/22

Объем партии: – 45 мл.

Тара, упаковка: стеклянная пробирка.

7. Методика отбора: – Взвесь оттаявшего многолетнемерзлого грунта суспензировали в физиологическом растворе в стерильных условиях, заседали на плотные среды YPD, MRS и NA и инкубировали при комнатной температуре 7 суток. Затем отбирали колонии и проводили высеив на чашки Петри с ГРМ-агаром для получения изолированных колоний. Посевы культивировали при 37°C в течение 2-х суток. Чистую культуру переносили в пробирки с мясо-пептонным агаром.

8. Место отбора: – г. Тюмень.

9. Условия отбора и доставки, хранения: доставлен с соблюдением температурного режима, температура хранения 4-8 °С.

Ф.И.О. и должность доставившего пробы: Грива Г.И.

Время и дата поступления: 01.02.2022 г.

Ф.И.О. и должность получившего пробы: Борзилов А.И., в.н.с. лаборатории биологических испытаний

10. Дополнительные сведения: -

11. Технические регламенты, нормативные документы устанавливающие требования к продукции: –

12. Дата проведения исследований (испытаний):

Начало: 13.04.2022 г. **Окончание:** 31.05.2022 г.

13. Результаты исследований (испытаний):

Таблица 1– Исследование вирулентности и патогенности

Код образца (пробы)			АР-14
Определяемый показатель	Результаты исследований	Ед. измерения (для графы 3)	НД на методы исследования
ЛД ₅₀ для мышей 10 ⁸ КОЕ на животное	Гибель животных не наблюдалась в течении 21 дня	ЛД ₅₀ для мышей	ГФ XIII издание, том 2 ОФС.1.7.2.0001.15 МУК 2620-82
ЛД ₅₀ для мышей 10 ⁹ КОЕ на животное	Гибель животных не наблюдалась в течении 21 дня	ЛД ₅₀ для мышей	ГФ XIII издание, том 2 ОФС.1.7.2.0001.15 МУК 2620-82
ЛД ₅₀ для мышей 5x10 ⁹ КОЕ на животное	Гибель животных не наблюдалась в течении 21 дня	ЛД ₅₀ для мышей.	ГФ XIII издание, том 2 ОФС.1.7.2.0001.15 МУК 2620-82

Таблица 2 – Исследование токсичности и токсигенности

Код образца (пробы)			AP-14
Определяемый показатель	Результаты исследований	Ед. измерения (для графы 3)	НД на методы исследования
Токсигенность	>10 ⁹ Группа нетоксигенных штаммов	Гибель животных не наблюдалась в течении 21 дня, органы и ткани в норме	ГФ XIII издание, том 2 ОФС.1.7.2.0001.15 МУК 2620-82
Острая токсичность	>10 ⁹ КОЕ Группа не токсичных штаммов	ЛД ₅₀ для мышей. Гибель животных не наблюдалась в течении 1 месяца, органы и ткани в норме	ГФ XIII издание, том 2 ОФС.1.7.2.0001.15 МУК 2620-82
Субхроническая токсичность	>10 ⁹ КОЕ Группа не токсичных штаммов	ЛД ₅₀ для крыс. Гибель животных не наблюдалась в течении 6 месяцев, органы и ткани в норме	ГФ XIII издание, том 2 ОФС.1.7.2.0001.15 МУК 2620-82

Таблица 3 – Исследование геомолитической, плазмокоагулирующей и лецитиназной активности

Код образца (пробы)			AP-14
Определяемый показатель	Результаты исследований	Ед. измерения (для графы 3)	НД на методы исследования
Геомолитическая активность	Не проявляется	Зона растворения эритроцитов	ГФ XIII издание, том 2 ОФС.1.7.2.0001.15 МУК 2620-82
Плазмокоагулирующая и фибринолитическая активность	Не проявляется	Сгустки плазмы	ГФ XIII издание, том 2 ОФС.1.7.2.0001.15 МУК 2620-82
Лецитиназная активность	Не проявляется	Зона разрушения лецитина	ГФ XIII издание, том 2 ОФС.1.7.2.0001.15 МУК 2620-82

Таблица 4 – Генотипирование

Код образца (пробы)			AP-14
Определяемый показатель	Результаты исследований	Ед. измерения (для графы 3)	НД на методы исследования

Генотипирование	Полный геном депонирован в DDBJ/EMBL/GenBank под регистрационным номером ANHI01000000.	Последовательность нуклеотидов	Инструкция для пробоподготовки и проведения исследований ДНК и РНК, методом секвенирования. Инструкция к приборам: «Ion Torrent», «Illumina», MGI (MGI Tech Co., Ltd), Oxford Nanopore MiniION
-----------------	--	--------------------------------	--

ЗАКЛЮЧЕНИЕ по результатам исследования:

Полученные результаты позволяют сделать вывод о непатогенности и авирулентности штамма *Bacillus F*.

Штамм не обладает острой и субхронической токсичностью, относится к группе нетоксигенных и не проявляет гемолитическую, плазмокоагулирующую, фибринолитическую и лецитиназную активность.

Выполненное полногеномное секвенирование и биоинформационное исследование штамма *Bacillus F* подтверждает его родовую и видовую принадлежность.

Лицо, ответственное за оформление данного протокола:

СНС лаборатории биологической безопасности

 Е.А. Иванова