

УДК 579.66: 614.7

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ЛЕБЕНИНА, АКТИВНОЙ СУБСТАНЦИИ ЛИНЕКСА

Н.И. Шеина¹, Э.Г. Скрябина¹, Л.И. Мялина¹,
Е.В. Буданова², Л.П. Сазонова¹, В.В. Колесникова¹,
Г.Г. Чуб¹

¹ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова» МЗ РФ, 117997, г. Москва, Российская Федерация

²ГБОУ ВПО ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» МЗ РФ, 119991 г. Москва, Российская Федерация

Была проведена оценка безопасности Лебенина. Лебенин, содержит сообщество устойчивых к антибиотикам жизнеспособных лиофилизированных молочнокислых бактерий следующих видов: *Lactobacillus gasseri* (s.v. *L. acidophilus*), *Bifidobacterium infantis*, *Enterococcus faecium*. Анализ материалов по обоснованию ПДК бактериальных препаратов и их компонентов в воздухе рабочей зоны и атмосфере населенных мест свидетельствуют о том, что для некоторых аналогичных препаратов и близких микроорганизмов, входящих в их состав, уже установлены гигиенические нормативы, которые позволяют их отнести к 4 классу опасности.

Ключевые слова: микроорганизм, опасность, токсичность.

Объектом токсикологического изучения явился стандартный образец активной субстанции нормализующего микрофлору кишечника лекарственного препарата Линекс – Лебенин, содержащий сообщество устойчивых к антибиотикам жизнеспособных лиофилизированных молочнокислых бактерий следующих видов: *Lactobacillus gasseri* (s.v. *L. acidophilus*), *Bifidobacterium infantis*, *Enterococcus faecium*. В 1г активной субстанции Лебенин содержится *Lactobacillus gasseri* – 1.5×10^8 , *Bifidobacterium infantis* – 1.7×10^8 , *Enterococcus faecium* – 1.2×10^8 кл. Общее количество микроорганизмов составляет 4.9×10^8 клеток/г.

В рамках проведенных токсикологических исследований по оценке безопасности активной субстанции Линекса – Лебенина были исследованы возможные патогенные свойства микроорганизмов, входящих в состав препарата, а также влияние субстанции на интегральные показатели состояния организма экспериментальных животных и микрофлору кишечника, иммуноток-

сические свойства и возможность диссеминации его во внутренние органы.

Для характеристики возможных патогенных свойств *Lactobacillus gasseri*, *Bifidobacterium infantis* и *Enterococcus faecium* в экспериментальных условиях на мышах были определены следующие параметры: средневирulentная доза, «пороговая» доза (Lim_{bact}), токсигенность и способность к диссеминации штамма в кровь и внутренние органы в течение 30 дней.

Показано, что при однократном внутрибрюшинном введении высоких доз микроорганизмы не проявляют вирулентных свойств ($DV_{50} > 10^{11}$ кл/жив.).

При однократном внутрибрюшинном введении «пороговая» доза *L. gasseri*, *B. infantis* в экспериментах составила 10^9 микробных клеток/жив., а *E. faecium* – 10^{10} микробных клеток/жив., что свидетельствует о низкой способности микроорганизмов к инвазивности из брюшной полости в кровяное русло и не превышает допустимых значений, представленных в нормативных

Шеина Наталья Ивановна (Sheina Natalia Ivanovna), доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры гигиены ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» МЗ РФ, 117997, г. Москва, ni_sheina@mail.ru

Скрябина Эмилия Григорьевна (Skrjabina Jemilija Grigor'evna), кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела медицинской химии и токсикологии ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» МЗ РФ, 117997, г. Москва, let@mail.ru

Мялина Любовь Ивановна (Mjalina Ljubov' Ivanovna), кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры гигиены ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» МЗ РФ, 117997, г. Москва, gigea@rsmu.ru

Буданова Елена Вячеславовна (Budanova Elena Vjacheslavovna), кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» МЗ РФ, 119991 г. Москва, e.v.budanova@mail.ru

Сазонова Любовь Павловна (Sazonova Ljubov' Pavlovna), кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры гигиены ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» МЗ РФ, 117997, г. Москва, gigea@rsmu.ru

Колесникова Валентина Васильевна (Kolesnikova Valentina Vasil'evna), кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры гигиены ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» МЗ РФ, 117997, г. Москва, gigea@rsmu.ru

Чуб Галина Георгиевна (Chub Galina Georgievna), кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры гигиены ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» МЗ РФ, 117997, г. Москва, gigea@rsmu.ru

документах: в соответствии с методическими рекомендациями (1992г.) «пороговая» доза для непатогенных штаммов должна составлять более 10^7 кл/жив.

Токсигенные свойства микроорганизмов не были выявлены при введении чистого центрифугата и его 2-х кратных разведений, т.е. токсигенность их отсутствует (в соответствии с нормативными документами токсигенность для непатогенных микроорганизмов должна быть равна 0).

Результаты исследования способности к диссеминации изучаемых микроорганизмов показали, что они обладают способностью к кратковременному персистированию в крови и внутренних органах теплокровных животных в течение 2 дней при однократном внутрибрюшинном введении в дозах 10^{11-9} кл/жив., но не способны к диссеминации в кровь и внутренние органы.

Для оценки безопасности Лебенина и выявления лимитирующего критерия его вредного действия препарат в виде суспензии микроорганизмов в физрастворе вводили интраназально крысам и мышам в течение 1 месяца в максимально возможных дозах, которые соответствовали расчетно-поглощенным концентрациям 4×10^6 и 4×10^7 кл/м³ в воздухе при ингаляционном воздействии.

Обследование животных в хроническом эксперименте показало, что воздействие микроорганизма в концентрациях 4×10^6 и 4×10^7 кл/м³ не приводило к изменению интегральных показателей состояния организма экспериментальных животных, которое оценивалось по динамике массы

тела в процессе эксперимента, а также по величине коэффициентов массы внутренних органов.

В результате изучения иммунотоксических свойств микроорганизма установлено, что коэффициенты масс иммунокомпетентных органов экспериментальных животных не отличались по сравнению с таковыми у животных контрольной группы.

В лейкограмме периферической крови подопытных животных содержание основных клеточных элементов белой крови (лимфоцитов, нейтрофилов, эозинофилов и моноцитов) не отличалось от контрольных значений. Не отмечено изменения баланса иммунокомпетентных клеток, содержание Т- и В-лимфоцитов в крови подопытных животных соответствовало таковому у контрольных животных.

При оценке сенсibiliзирующей активности препарата в эксперименте на мышах и крысах не выявлено формирование клеточной реакции немедленного (ГНТ) и замедленного (ГЗТ) типа. Изучаемый препарат не вызывал иммунного ответа на указанных уровнях воздействия. Не обнаружено образования специфических гуморальных антител (агглютининов) в сыворотке подопытных животных обеих групп.

Бактериологические исследования микрофлоры кишечника показали, что на фоне хронического воздействия Лебенина наблюдалось заметное позитивное изменение в составе микрофлоры кишечника крыс, наиболее выраженное при воздействии препарата в большей концентрации. Лактобациллы и бифидобактерии высевались в довольно больших концентрациях у по-

Таблица

**Гигиенические нормативы ряда бакпрепаратов и микроорганизмов
(ГН 2.1.6.2177-07, ГН 2.2.6.2178-07)**

Название препарата или микроорганизма	Назначение	ПДК _{р.з.}	ПДК _{а.в.}
1. Энтерацид (Lactobacillus-57%, Bifidobacterium-21.5%, Streptococcus faecium (s.v. Enterococcus faecium)-21.5%)	Препарат для лечения дисбактериоза	50 000	-
2. Пропиацид (Lactobacillus-20%, Prohionibacterium-80%)	Препарат для лечения дисбактериоза	50 000	-
3. Байкал (Lactobacillus casei-30%, Streptococcus lactis-30%, Phodopseudomonas palustris-30%, Saccharomyces cerevisiae-10%)	Биодобавка к кормам	20 000	2 000
4. Lactobacillus casei шт.21	Компонент препарата Байкал	20 000	2000
5. Lactobacillus acidophilus шт.1-К	Компонент препаратов Энтерацита и Пропиацида	50 000	-
6. Lactobacillus plantarum шт.435	Компонент препарата для производства мясных продуктов	50 000	-

допытных животных, превышающие таковые в контрольной группе. Слабоферментирующие кишечные палочки не высевались вовсе в опытных группах по сравнению с контрольной группой животных

В восстановительном периоде положительное воздействие препарата на микроценоз не было выявлено, и состояние микрофлоры кишечника подопытных крыс по качественным и количественным показателям не отличалось от таковых контрольных животных.

Микроорганизмы, входящие в состав Лебенина, при хроническом воздействии препарата в изучаемых концентрациях не обладают способностью к диссеминации в кровь и внутренние органы (легкие, печень, почки, селезенка) экспериментальных животных ни через 1 месяц введения микроорганизма, ни через 2 недели восстановительного периода.

На основании полученных данных можно утверждать, что в состав субстанции Лебенин входят микроорганизмы, которые не обладают патогенными свойствами. Препарат в концентрациях 4×10^6 и 4×10^7 кл/м³ не обладает сенсibiliзирующими и иммуномодулирующими свойствами, оказывает некоторое положительное

влияние на микробоценоз кишечника экспериментальных животных и является практически безопасным.

Анализ материалов по обоснованию ПДК бактериальных препаратов и их компонентов в воздухе рабочей зоны и атмосфере населенных мест свидетельствуют о том, что для некоторых аналогичных препаратов и близких микроорганизмов, входящих в их состав, уже установлены гигиенические нормативы (табл.). Как следует из таблицы препарат Энтераид близок по своему составу к препарату Лебенин, т.к. согласно современной таксономии бактерий *L.gasseri* входит в группу *L.acidophilus*, а *Streptococcus faecium* переименован в *Enterococcus faecium* и относится к фекальным энтерококкам. Препарат Энтераид относится к 4 классу опасности, норматив установлен на уровне максимальной величины ПДК для производственных штаммов в воздухе рабочей зоны. Препараты Пропаицид и Байкал содержат микроорганизмы рода *Lactobacillus* и также относятся к 4 классу опасности. Производственные штаммы рода *Lactobacillus* нормированы на уровне максимальных величин ПДК_{р.з.} (4 класс опасности производственных микроорганизмов).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Критерии оценки патогенных свойств штаммов-продуцентов, предлагаемых для использования в промышленности микробиологического синтеза. Мет. реком., РГМУ, М., 1992, 22 с.

REFERENCES:

1. Criteria of assessment the pathogenic properties of producer strains proposed for use in industrial microbiological synthesis. Methodical. recommendations, Medical University, Moscow, 1992, 22 p. (in Russian)

2. Методические указания по экспериментальному обоснованию ПДК микроорганизмов-продуцентов и содержащих их готовых форм препаратов в объектах производственной и окружающей среды. N5789/1-91. - М., 1991. - 22 с.

3. Определитель бактерий Берджи. Под

ред. Дж.Хоулта, Н.Крига, Дж. Снита и др. -Девятое изд. -М., «Мир», 1997. - 2т.

4. Предельно допустимые концентрации микроорганизмов-продуцентов, бактериальных препаратов и их компонентов в атмосферном воздухе

населенных мест и в воздухе рабочей зоны. ГН 2.1.6.2177-07, ГН 2.2.6.2178-07 утверждены постановлением Главного государственного врача Российской Федерации от 06.03.2007, № 9, 10).

3. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Ninth Ed. J. G. Holt, N. R. Krieg, P.H.A. Sneath et al. -M., "Mir". -1997. - 2v. (in Russian).

4. Limit permitted concentration of microorganisms-producer, bacterial

preparations and their components in the air of settlements and in the working area. HN 2.1.6.2177-07, HN 2.2.6.2178-07. 06.03.2007. № №9, 10 (in Russian).

N.I. Sheina¹, J.G. Skryabina¹, L.I. Myalina¹, E.V. Budanova², L.P. Sazonova¹, V.V. Kolesnikova¹, G.G. Chub¹

SAFETY TOXICOLOGICAL ASSESSMENT OF LEBENIN, ACTIVE SUBSTANCE OF LINEX

¹State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education «N.I. Pirogov Russian National Research Medical University», 117997, Moscow, RF Ministry of Healthcare, Russian Federation

²State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education «I.M. Sechenov First Moscow State Medical University», RF Ministry of Healthcare, 119991 Moscow, Russian Federation

Safety assessment of the preparation Lebenin was carried out. Lebenin contains a community of resistant to antibiotic drugs, viable lyophilized lactate bacteria of the following types: *Lactobacillus gasseri* (s.v. *L.acidophilus*), *Bifidobacterium infantis*, *Enterococcus faecium*. The analysis of materials related to the substantiation of MACs of bacterial preparations and their ingredients in workplace and atmosphere in residential settings witnesses that there are already established hygiene norms for similar preparations and likely microorganisms in their compositions and therefore the above said microorganism preparations can be referred to hazard class 4.

Keywords: microorganism, hazard, toxicity.

Материал поступил в редакцию 12 ноября 2014 г.