



Конкурс работ молодых ученых

Экспериментальное изучение сенсibiliзирующей способности, дисбиотического и общетоксического действия комбинаций молочнокислых микроорганизмов

Филиповская Е.Н., Чернышова Е.В., Емельянова О.А., Студеничник Т.С., Богданов Р.В.

ВВЕДЕНИЕ	Для обоснования мер безопасности применения на производстве новых микробных препаратов, включая комбинации молочнокислых бактерий, используемых в пищевой промышленности, необходима их оценка в комплексе токсиколого-гигиенических исследований.		
	Целью настоящей работы явилось экспериментальное изучение в условиях субхронического эксперимента сенсibiliзирующей способности, общетоксического действия и дисбиотической активности комбинаций молочнокислых бактерий.		
	КМБ № 1: <i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i> , <i>Lactococcus lactis subsp. cremoris</i> , <i>Leuconostoc sp.</i> Средняя концентрация жизнеспособных клеток: 1,9×10 ¹¹ КОЕ/г	КМБ № 2: <i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i> , <i>Lactococcus lactis subsp. cremoris</i> , <i>Leuconostoc sp.</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> Средняя концентрация жизнеспособных клеток: 1,0×10 ¹⁰ КОЕ/г	КМБ № 3: <i>Lactococcus lactis subsp. cremoris</i> , <i>Leuconostoc sp.</i> Средняя концентрация жизнеспособных клеток: 1,7×10 ¹² КОЕ/г

Для проведения экспериментов готовились суспензии на основе стерильного физиологического раствора (далее – ФР), содержащие **рабочую концентрацию бактерий на уровне 1,0×10⁹ КОЕ/см³** каждого консорциума. Токсиколого-гигиенические исследования комбинаций проводились на лабораторных животных – нелинейных белых крысах (самцах и самках), с исходной массой тела 150–220 г.

СХЕМА И ОБЪЕМ ТОКСИКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ КОМБИНАЦИЙ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ			
ЭКСПЕРИМЕНТЫ	ВИД И КОЛИЧЕСТВО ЖИВОТНЫХ	МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЙ	
Определение сенсibiliзирующей способности КМБ после подострого ингаляционного воздействия, путем ежедневного интраназального введения крысам суспензий КМБ в стандартной дозе, по 0,1 см ³ , в рабочей концентрации 1,0×10 ⁹ микробных клеток на 180 г массы животного в течение пяти дней.	Белые крысы – 72 шт: Опытная и контрольная (СК+ФР) группы по 12 крыс для каждой КМБ.	Выявление гиперчувствительности замедленного типа	
Общетоксическое действие в субхроническом эксперименте при ежедневном (пять раз в неделю в течение четырех недель) внутрижелудочном введении крысам суспензий КМБ в рабочих разведениях в дозе по 2см3, при этом средние дозы составляли 9,17×109 м.кл./кг (КМБ № 1, № 2) и 10,4×109 м.кл./кг (КМБ № 3).	Белые крысы – 56 шт: Опытная и контрольная (СК) группы по 8 крыс для каждой КМБ; Общая контрольная группа на ФР – 8 крыс.	Учет клинических проявлений интоксикации и выживаемости, динамика массы тела, относительные коэффициенты массы внутренних органов, гематологические, иммунологические и биохимические показатели крови и мочи	
Определение дисбиотического действия КМБ путем бактериологического исследования фекалий животных до начала и после четырех недель воздействия	Белые крысы – 56 шт. Опытная и контрольная (СК) группы по 8 крыс для каждой КМБ; Общая контрольная группа на ФР – 8 крыс.	Оценка состояния микробиоты кишечника лабораторных животных	

Статистическая обработка результатов между двумя независимыми выборками проводилась с применением параметрического метода t-критерия Стьюдента, различия между контрольными и опытными группами считались статистически значимыми при p < 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

СЕНСИБИЛИЗИРУЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ

Оценка сенсibiliзирующей способности изучаемых трех консорциумов показала, что провокационная проба ВТОЛ у животных приводила к слабым отечно-воспалительным реакциям, при этом интегральный показатель ВТОЛ в опытных группах не имел статистически значимых различий с контрольными группами, получавшими СК и ФР.

На основании полученных данных и в соответствии с классификационными критериями, испытанные комбинации молочнокислых бактерий были отнесены к 4 классу аллергенной опасности, как вещества со слабой сенсibiliзирующей способностью.

ОБЩЕТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ

По результатам субхронического эксперимента по изучению общетоксического действия, на протяжении всего периода опытов, случаев гибели животных, а также выраженных клинических симптомов интоксикации зарегистрировано не было. Статистически значимых различий в показателях прироста массы тела и относительных весовых коэффициентах внутренних органов (печень, почки, селезенка, сердце, легкие) между опытными и контрольными группами животных не установлено.

Анализ гематологических показателей выявил **снижение относительного количества гранулоцитов на 16,2 % (p < 0,05) в группе КМБ № 2**, по сравнению с контролем на ФР. Достоверные различия по данному показателю между опытной группой и группой контроля, получавшей суспензию СК не отмечено.

При исследовании **биохимических показателей** сыворотки крови у животных, получавших **КМБ № 1, отмечено повышение активности щелочной фосфатазы на 65 % и уровня триглицеридов на 38 %** по сравнению с контролем на ФР (p < 0,05), при этом изученные показатели не отличались от группы контроля на криопротекторе. Для **КМБ № 3 отмечено незначительное (в 1,2 раза, p < 0,05) снижение уровня креатинина** сыворотки крови по сравнению с контролем на СК.

Со стороны остальных гематологических, а также биохимических показателей и показателей мочевыделительной системы существенных сдвигов у животных опытных групп по сравнению с контрольными группами не выявлено.

Со стороны **иммунологических показателей** у животных опытных групп, получавших КМБ № 1 отмечалась тенденция к активации неспецифических факторов защиты. Так, **увеличился уровень лизоцима и бактерицидной активности сыворотки крови в группе КМБ № 1** (p < 0,05). Остальные исследованные иммунологические параметры сыворотки крови животных опытных групп не имели статистически значимых изменений, по сравнению с контрольными группами.

ДИСБИОТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ

Исследование микрофлоры кишечника показало, что после четырех недель воздействия, во всех изученных группах животных (опытных и контрольных) показатели микрофлоры кишечника существенно не изменились. Статистически значимых изменений в количественном соотношении основных групп микроорганизмов (кишечные палочки, энтерококки, условно-патогенные бактерии и др.), под воздействием КМБ № 1, № 2 и № 3, не выявлено, что свидетельствует об отсутствии дисбиотического действия изучаемых комбинаций на нормальную микрофлору кишечника лабораторных животных.

- Изученные комбинации молочнокислых бактерий № 1, № 2, № 3 не обладают существенной сенсibiliзирующей способностью, и, согласно классификационным, критериям могут быть отнесены к 4 классу аллергенной опасности (слабые (малоопасные) производственные аллергены).
- При дозомонотонном пероральном воздействии в течение месяца, в средних дозах КМБ № 1 – 9,17×10⁹ м.кл./кг, № 2 – 9,17×10⁹ м.кл./кг, № 3 – 10,4×10⁹ м.кл./кг, консорциумы вызывали изменения только отдельных функциональных показателей, активацию ряда показателей гуморальных факторов антибактериальной защиты сыворотки крови у опытных животных без существенного проявления токсического действия.
- Комбинации молочнокислых бактерий № 1, № 2, № 3 в средних дозах 9,17×10⁹ м.кл./кг, 9,17×10⁹ м.кл./кг, 10,4×10⁹ м.кл./кг соответственно, после четырех недель субхронического эксперимента, не вызывали у лабораторных животных проявлений дисбиотического действия.

promtox@rspch.by