

С. А. Емельянов [S. A. Emelyanov]
А. Б. Богатырёв [A. B. Bogatyryov]

УДК 664.859

**ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА
ПРОБИОТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА «БОГАТЫРЬ»,
СОЗДАННОГО НА ОСНОВЕ КОНСОРЦИУМА ПОЛЕЗНЫХ
СИМБИОТИЧЕСКИХ МИКРООРГАНИЗМОВ**

**THE PHARMACOTOXICOLOGICAL ASSESSMENT OF «BOGATYR»
PROBIOTIC PREPARATION DEVELOPED BASED ON BENEFICIAL
SYMBIOTIC MICROORGANISM CONSORTIUM**

Современным классическим вариантом борьбы с патогенными микроорганизмами, является уничтожение самих возбудителей инфекционных заболеваний. На практике это реализуется, в основном, применением различных химических веществ в качестве дезинфектантов или антибиотиков. Побочным действием данных методов является возникновение ещё более сильных антибиотико-резистентных штаммов микроорганизмов, повышению токсичности медицинских препаратов и снижению общего иммунитета животных и человека. Выходом из данного тупика является общее оздоровление экосистемы, животных и человека, повышение их иммунного статуса с помощью создания комплексного препарата, содержащего консорциум полезных симбиотических микроорганизмов, являющихся антагонистами патогенной микрофлоры.

Результатом проведённых исследований явилась разработка устойчивого консорциума полезных симбиотических микроорганизмов, взятых из дикой среды, с созданием на его основе линейки пробиотических продуктов «Богатырь» пищевого, кормового и биоценотического назначения.

The modern conventional method of pathogenic microorganism control implies extermination of infectious agents. In practice, the method involves application of some chemical substances such as disinfectants or antibiotics. Among the adverse effects of this method are even more strong antibiotic-resistant strains, increasing medication toxicity and decrease in human and animal immunity. The possible solution to this vicious circle is general sanitation of ecosystem, animals and humans, increase of their immune status through development of complex medication containing beneficial symbiotic microorganism consortium that is antagonist to pathogenic microflora.

The result of studies undertaken is development of stable consortium of beneficial symbiotic microorganisms taken from natural habitat. This consortium became a base for a row of probiotic supplements named «Bogatyr» for food, feed and biocoenotic purposes.

Ключевые слова: загрязнение экосистем, инфекции, биотехнология, безопасность пищевых продуктов, функциональные продукты, пробиотики.

Key words: ecosystem pollution, infections, biotechnologies, food safety, functional nutrition products, probiotics.

Современные этапы развития общественного производства коренным образом изменяют окружающую природную среду, а масштабы антропогенного воздействия стали сравнимы с действием глобальных природных процессов [8, 11, 12]. Экологическая обстановка, состояние питания и здоровья населения являются ведущими факторами, определяющими уровень стратегической безопасности любого государства [1, 2]. В этой ситуации повышение качества и безопасности пищевых продуктов является одной из важнейших и приоритетных задач [7, 10]. В микробиологической безопасности пищи появились новые приоритеты, что связано с быстрым изменением эпидемиологии инфекционных заболеваний: появляются возбудители с повышенной агрессивностью и измененными биологическими свойствами [3, 4, 5, 6, 9]. Поэтому особую актуальность приобретают микробиологические аспекты технологии пищевых производств.

Современным классическим вариантом борьбы с патогенными микроорганизмами, как в экосистеме – в целом, так и в сырье и продуктах животного происхождения, является уничтожение самих возбудителей инфекционных заболеваний с помощью соблюдения гигиены, режимов мойки и дезинфекции, прерывания цепи передачи инфекции посредством сокращения численности носителей и переносчиков инфекционного начала, а так же изоляция и лечение больных животных. На практике это реализуется, в основном, применением различных химических веществ в качестве дезинфектантов или антибиотиков. Побочным действием данных методов является возникновение ещё более сильных антибиотико-резистентных штаммов микроорганизмов, повышению токсичности медицинских препаратов и снижению общего иммунитета жи-

вотных и человека [3, 9, 10]. Выходом из данного тупика, по нашему мнению, является общее оздоровление экосистемы, животных и человека, повышение их иммунного статуса с помощью создания, на основе биотехнологических методов, комплексного препарата, содержащего консорциум полезных симбиотических микроорганизмов, являющихся антагонистами патогенной микрофлоры.

Результатом проведённых исследований явилась разработка устойчивого консорциума полезных симбиотических микроорганизмов, взятых из дикой среды, с созданием на его основе линейки пробиотических продуктов «Богатырь» пищевого, кормового и биоценотического назначения, позволяющих обеспечить комплексную систему биологической безопасности сырья и продуктов животного происхождения. Характерной особенностью разработанного микробного консорциума полезных симбиотических организмов, с использованием авторской методики А. Б. Богатырёва, явилось то, что в основу его создания положен принцип жесткого селекционного отбора, который проходит в определенной кислотной концентрированной среде, в результате чего он не просто вытесняет патогенную микрофлору, но образует биологическое равновесие видов полезных микроорганизмов.

В состав данных продуктов, в зависимости от назначения, входят соки различных не опасных растений, законсервированных жизнеспособными штаммами молочнокислых бактерий (*Streptococcus salivarius* штаммы ЛТ1, ЛТ2, ЛТ3; *Enterococcus durans* штаммы ЛТ4, ЛТ6; *Lactobacillus plantarum* ЛТ7 и др.), целлюлолитических микроорганизмов, определенных дрожжей и ферментов. Питательная среда микроорганизмов включает в себя: экстракт эфирных масел геленина (как смеси лактонов), алантола, проазулена, инулина, псевдоинулина, инулина, незначительного количества алкалоидов, алантоприкрина, а так же алантоновой, фолиевой и янтарной кислот. Кроме того питательная среда содержит макроэлементы (К, Са, Mg, Fe) и микроэлементы (Mn, Cu, Zn, Mo, Cr, Al, V, Se, Ni, Sr, Pb, I, B, Se). Все компоненты смешаны с наполнителем: крупами любого сорта зерновых культур либо живых или высушенных соков биологически-активных растений без термообработки.

В виду наличия данных ингредиентов продукты приобретают способность к подавлению различных вирусных инфекций, а так же сопутствуют к снижению гельминтов. Сохранность добавки обеспечивается симбиозом полезной микрофлоры, присущей травам растений и отражает в себе пробиотический эффект, который способен в короткие сроки адаптироваться к различным средам балансируя их питательную среду, создавая в ней динамическое равновесие по отношению к условно-патогенной и гноеродной флоре, угнетаемой за счет сложных эфирных соединений растительного происхождения. Симбиоз обладает высокой антибиотической активностью по отношению к *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Mycobacterium ceterium* и др.

«ИППК «Богатырь»» представляет собой симбиотик с эффектом синергизма на основе взаимодействия пробиотических культур живых микроорганизмов: бифидобактерий и лактобактерий, а так же пребиотических компонентов – лактозы, лактулозы, полисахаридов, инулина, олигосахаридов, служащих уникальной питательной средой для развития полезной микрофлоры.

Формирование природного микробиоценоза происходит при употреблении консорциума полезных микроорганизмов, в ходе продолжительного интервала времени характерного для различных штаммов. При использовании данного концентрата в диетических целях наблюдается реактивный лечебно-профилактический эффект, за счёт особенностей метаболизма бифидо- и лактобактерий, способствующих нормализации пищеварения и симбиотической микрофлоры, борьбе с ожирением и аллергией, восстановлению нормального обмена веществ организма, выведению токсичных продуктов и солей тяжёлых металлов.

Входящие в состав консорциума молочнокислые микроорганизмы – лактобактерии распространяются по всей кишечной системе, а бифидобактерии концентрируются в толстой кишке - создают оптимальную среду для функционирования желудка, нормализуют работу кишечника, устраняя поносы и запоры, способствуя его своевременному очищению, укрепляют иммунную систему, угнетают действие канцерогенов и препятствуют развитию аллергии.

Цель исследования. Для широкого применения разработанного устойчивого консорциума полезных симбиотических микроорганизмов нашей целью явилось всестороннее исследование и оценка фармако-токсикологического действия препарата «Богатырь».

Исследования проводились на базе кафедры Прикладной биотехнологии Института «Живых систем» СКФУ, при содействии Российской Академии Наук и Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрыбина, с привлечением лаборатории терапии Краснодарского НИВИ.

Материал и методы. Изучение острой токсичности препарата «Богатырь» проводили на лабораторных животных (белые беспородные крысы) по методике *DeismannendLeBlanc* (1943) (И. В. Санецкий, 1970). Для проведения опыта было использовано 10 крыс с массой тела 195–250 г, из которых по принципу пар-аналогов сформировали две группы – опытную и контрольную, по 5 животных в группе. Крыс разместили в отдельные клетки за 3 суток до начала эксперимента для адаптации. В период адаптации, и затем, на весь срок проведения эксперимента животные были обеспечены полноценным двухразовым питанием,

включавшим зерносмесь, состоящую из пшеницы, ячменя, кукурузы, семян подсолнечника, а также белый хлеб, корнеплоды, молоко. Доступ к воде был не ограниченным. При оценке острой токсичности крысам опытной группы однократно ввели максимально возможный объем концентрата препарата «Богатырь» – 10 см³, в суммарной дозе 41152 мкл/кг массы тела. Животным контрольной группы в тех же объемах вводили физиологический раствор. За животными вели наблюдение в течение всего времени эксперимента – 14 дней. Регистрировали характер токсического действия препарата по изменению поведения животных, двигательной активности и тактильной чувствительности, потребления корма, отправлению физиологических функций, корниального и кожного рефлексов.

Изучение кумулятивных свойств препарата «Богатырь» проводилось на 35 белых беспородных крысах в течение 28 дней. Препарат вводился ежедневно перорально в диапазоне доз от 0,1 до 1,12 долей от максимально возможного объема введения на 1 крысу – 41152 мкл/кг по схеме, представленной в таблице 1.

Таблица 1

Схема проведения кумулятивных свойств препарата «Богатырь» (n=35)

период	1	2	3	4	5	6	7
дата	28.02-03.03	04.03-07.03	08.03-11.03	12.03-15.03	16.03-19.03	20.03-23.03	24.03-27.03
дни	1-4	5-8	9-12	13-16	17-20	21-24	25-28
доли от 41152 мкл/кг	0,1	0,15	0,22	0,34	0,5	0,75	1,12
доза, мкл/кг	4115,2	6172,8	9053,44	13991,68	20576	30864	46090,24
гибель, %	0	0	0	0	0	0	0
суммарная доза за период, мкл/кг	16460,8	24691,2	36243,76	55966,72	82304	123456	184360,96
суммарная доза от начала опыта, мкл/кг	16460,8	41152	77365,76	133332,48	215636,48	339092,48	523453,44

За животными велось ежедневное наблюдение, а также проводились морфологические и иммунологические исследования крови. Крысы подвергались патологоанатомическому вскрытию с последующим гистологическим исследованием внутренних органов.

В ходе эксперимента по определению субхронической токсичности препарата «Богатырь» в динамике оценивали изменение морфологических показателей крови животных. По окончании эксперимента, определяющего степень влияния препарата «Богатырь» на организм лабораторных животных при длительном введении (субхроническая токсичность), был проведен опыт по изучению воздействия препарата на макро- и микроструктуры внутренних органов. Белых крыс убивали методом декапитации, проводили патологоанатомическую оценку внутренних органов и определение их весовых показателей. Из каждой группы было убито и исследовано по пять животных.

При проведении патоморфологических исследований у опытных лабораторных животных макроскопически не регистрировали существенных изменений во внутренних органах крыс опытной группы по сравнению с контролем. У убитых животных опытной и контрольной групп были определены абсолютные и относительные массы внутренних органов, позволяющие проследить отклонения от существующих стандартных норм под воздействием препарата. Проводили патоморфологические исследования материала от: 1 – убитых на 28 день эксперимента путем декапитации крыс контрольной группы. Материалом для исследования послужили сердце, печень, почки, селезенка, желудок, тонкий отдел кишечника, брыжеечные, желудочные и портальные лимфатические узлы, взятые от белых лабораторных крыс сразу после убоя. В контрольной группе, где на протяжении всего опыта не одно животное не пало, все крысы были убиты декапитацией по окончании опыта.

Местно-раздражающее и кожно-резорбтивное действие препарата «Богатырь» изучали путем эпикулярных провокационных накожных аппликаций на морских свинках. Перед началом опыта проводили сенсибилизацию животных путем многократных нанесений на кожу препарата «Богатырь». На выстриженный участок кожи с левой задней трети спины трем морским свинкам ежедневно наносили 18 раз 0,1 см³ препарата (рис. 1). Затем, с правой стороны выстригали такой же участок и наносили по 0,1 см³ препарата «Богатырь» в первый, третий, пятый, седьмой дни. После выдержки инкубационного периода, продолжавшегося 14 дней, на свежевыстриженный участок кожи наносили разрешающую дозу препарата – 0,3 см³. В течение всего эксперимента за морскими свинками вели наблюдения, проводили измерения температуры тела, толщины кожной складки на месте аппликации, определяли местную кожную температуру. Поскольку конъюнктивальная проба является очень чувствительным тестом, и в ряде случаев, позволяет выявить реакцию животного на аллерген при слабой алергизации и отрицательных кожных пробах, нами двум кроликам под верхнее веко правого глаза вносили по 1 капле нативного препарата, 50 % и 25 % раствора препарата. Одновременно для контроля в левый глаз этим же животным вносили по 1 капле физиологического рас-

твор. Учет реакции проводили через 5 минут, 24 и 48 часов с момента введения и учитывали состояние слизистой оболочки глаза и век, наличие инъекции сосудов и секрецию слезы.

Исследования по изучению эмбриотоксической и тератогенной активности препарата были проведены общепринятыми методами на белых крысах при оральном введении на протяжении всего срока беременности. За молодняком, полученным от крыс, используемых в опыте, вели наблюдения. Показателями общего постнатального развития служили динамика их массы, время открытия глаз, появление шерсти, двигательная активность, способность координации движений и выживаемость.

Результаты и обсуждение. Острая токсичность препарата «Богатырь». Для широкого применения, разработанного по авторской методике Богатырева А. Б. пробиотического концентрата «Богатырь», необходимо убедиться не только в его эффективности, но и безопасности. С этой целью была проведена токсикологическая оценка нового препарата, результаты которой представлены в таблице 2.

Таблица 2

Результаты определения острой токсичности препарата «Богатырь» для крыс при пероральном введении (n=10)

№ п/п	Показатели	Результат
1	Исследуемая доза, мкл/кг; объем, см ³	41152,0; 10,0
2	Выжило/погибло (+/-)	+
3	День наступления гибели	-

У всех животных опытной и контрольной групп не выявлено клинической картины отравления. Крысы были подвижны, аппетит и рефлексы сохранены, сердечный и дыхательный ритм не нарушен. После введения препарата «Богатырь» у животных опытной группы установлена некоторая заторможенность и малоподвижность, которые исчезали ко второму дню наблюдений. Дыхание не было затруднено, реакция на раздражения не ослаблена, не отмечено расстройства пищеварения.

Пероральное введение крысам контрольной группы максимальных объемов физиологического раствора (10 см³) вызвало у животных беспокойство, а затем кратковременным угнетение, проходившим в течение 2 часов.

Исходя из факта выживания всех 100 % животных, перенесших дозу препарата 41152 мкл/кг массы тела не представлялось возможным установить дозу, являющуюся максимально переносимой LD₀, средне смертельную дозу LD₅₀, а также абсолютно смертельную дозу LD₁₀₀ при однократном пероральном применении.

В результате исследований кумулятивных свойств препарата «Богатырь» было установлено, что гибель животных от суммарного применения различных дозировок препарата «Богатырь» не наблюдалась в течение всего эксперимента – 28 суток. Исходя из факта выживания 100 % крыс опытной группы, получивших суммарную дозу препарата в 52345 раз превышающую терапевтическую дозу (10 мкл/кг массы тела), можно сделать вывод, что препарат «Богатырь» не обладает кумулятивными свойствами.

В ходе эксперимента по определению субхронической токсичности препарата «Богатырь» в динамике оценивали изменение морфологических показателей крови животных, результаты которой представлены в таблице 3.

Таблица 3

Влияние препарата «Богатырь» на морфологические показатели крови крыс в субхроническом опыте (M±m; n=10)

Показатели	Норма	Фоновые исследования (0 мкл/кг)	20 день опыта (215636,48 мкл/кг)	28 день опыта (523453,44 мкл/кг)
1	2	3	4	5
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	7,2-14,5	8,73±0,64	8,27±0,44	8,47±1,58
Эритроциты, 10 ¹² /л	4,3-6,8	3,71±0,4	3,58±0,16	3,89±0,18
Гемоглобин, г/л	7-9,2	10,7±0,48	10,73±0,37	9,87±1,16
Цвет, показ., ед.	0,9-1,1	1,44±0,25	1,53±0,03	1,27±0,12
СОЭ		1,0	3,0	2,67±0,33
Лейкограмма, % Эозинофилы	0,8-5,0	2,0±1,15	4,67±1,76	1,67±0,33
1	2	3	4	5
Сегментоядерные	13,7-30,3	40,33±9,77	24,67±4,06	15,0±2,65
Лимфоциты	44,1-98	56,33±8,99	67,33±4,67	82,67±1,76
Моноциты	1,6-5,2	1,33±0,33	3,33±1,33	0,67±0,67

Анализируя полученные результаты, установили, что суммарная доза препарата в 21563 раз превышающая рекомендуемую терапевтическую, не вызвала у подопытных крыс лейкоцитоза, отмечали недостоверное увеличение количества эозинофилов, нейтропению. Изменений в картине красной крови не отмечено. Доза в 52345 раз превышающая рекомендуемую терапевтическую, вызвала у животных эозинопению, моноцитопению, нейтропению и лимфоцитоз. Однако все выявленные изменения показателей были не достоверны и находились в пределах нормы для данного вида животных. Незначительное увеличение количества эритроцитов может свидетельствовать об активизации эритропоэза.

При изучении влияния препарата «Богатырь» на иммунологические показатели лабораторных животных (таблица 4) установили, что дозировка 215636,48 мкл/кг массы тела не оказывает существенного влияния на иммунологические показатели подопытных крыс, доза 523453,44 мкл/кг массы тела достоверно повышает показатели активности микробицидной системы нейтрофилов по коэффициенту мобилизации (КМ), при этом снижается активность восстановления нитросинего тетразолия в спонтанном и стимулированном НВТ-тесте.

Таблица 4

Влияние препарата «Богатырь» на иммунологические показатели крыс в субхроническом опыте (M±m; n=10)

Показатели	Фоновые исследования (0 мкл/кг)	20 день опыта (215636,48мкл/кг)	28 день опыта (523453,44мкл/кг)
ФА, % 30 мин	31±1,53	59,33±4,37	44,0±3,46
ФЧ, ед. 30 мин	1,7±0,2	1,83±0,03	1,5±0,06
ФИ 30 мин	0,52±0,05	0,12±0,01	0,66±0,04
ФЕ 30 мин	5919,2±1452,98	1202,93±156,32	2966,53±2530,7
ФА, % 120 мин	27,33±1,76	52,0±2,31	30,67±1,45
ФЧ, ед. 120 мин	1,67±0,15	1,4±0,06	1,43±0,13
ФИ 120 мин	0,45±0,04	0,72±0,04	0,44±0,02
ФЕ 120 мин	3292,27±1752,95	748,62±379,12	3153,07±1666,12
ЗФ	1,17±0,03	1,57±0,09	1,53±0,03
Т-лимфоциты, %	1,2±0,31	3,17±0,37	4,6±0,87
Т-лимфоциты, 10 ⁹ /л	49,67±2,4	57,0±3,51	66,67±3,53
В-лимфоциты, %	0,5±0,1	1,3±0,15	1,45±0,32
В-лимфоциты, 10 ⁹ /л	19,67±0,88	24,0±2,31	20,0±1,15
НВТ сп %	28,8±2,1	15,33±0,88	18,0±1*
НВТ ст %	29,7±2,67	19,0±2,65	22,0±1,53*
КМ	0,91 ±0,1	1,24±0,11	1,36±0,08**
БАСК, %	63,83±15,59	69,5±8,7	80,67±4,21
ЛАСК, ед./л	24,11±12,27	14,8±7,2	2,1±1,01

Примечание: * – степень достоверности P<0,05; ** – степень достоверности P<0,01.

По окончании эксперимента, определяющего степень влияния препарата «Богатырь» на организм лабораторных животных при длительном введении (субхроническая токсичность), был проведен опыт по изучению воздействия препарата на макро- и микро-структуры внутренних органов (рис. 1–10, таблица 5).

При проведении патоморфологических исследований у опытных лабораторных животных макроскопически не регистрировали существенных изменений во внутренних органах крыс опытной группы по сравнению с контролем (рис. 1).

Патоморфологические исследования у крыс контрольной группы не выявили отклонений и особенностей в строении внутренних органов. Их расположение было анатомически правильным, нормальных объемов, серозные оболочки полостей имели ярко-розовый цвет, гладкую и блестящую поверхность.



Рис. 1. Крыса. Суммарная доза препарата «Богатырь» при пероральном введении 523453,44 мкл/кг

У убитых животных опытной и контрольной групп были определены абсолютные и относительные массы внутренних органов (таблица 5), позволяющие проследить отклонения от существующих стандартных норм под воздействием препарата.

Таблица 5

Масса внутренних органов белых крыс после применения препарата Богатырь ($M \pm m$; $n=30$)

Группы		Опыт	Контроль
Органы			
1	2	3	4
Печень	Абсол. масса, г	8,02±0,24	12,8±0,3
	Относит. масса, %	4,01	6,4
Селезенка	Абсол. масса, г	2,72±0,22*	1,46±0,33
	Относит. масса, %	1,36	0,58
Почки	Абсол. масса, г	2,59±0,1*	2,06±0,42
	Относит. масса, %	1,3	1,03
Легкие	Абсол. масса, г	3,22±0,25*	2,79±0,18
	Относит. масса, %	1,61	1,4
Сердце	Абсол. масса, г	1,18±0,16	1,29±0,17
	Относит. масса, %	0,59	0,65
Тимус	Абсол. масса, г	0,08±0,01*	0,2±0,03
	Относит. масса, %	0,04	0,1
Семенник	Абсол. масса, г	1,75±0,18*	2,53±0,21
	Относит. масса, %	0,88	1,26

Примечание: * – степень достоверности $P \leq 0,05$

Из данных, представленных в таблице 5, видно, что соотношение масс внутренних органов опытных крыс к массам внутренних органов животных контрольной группы достоверно отличается. Массы селезенки, почек, легких и тимуса у крыс опытной группы, в отличие от контроля, превосходят физиологические значения, а массы семенников, напротив, снижены. Это может свидетельствовать о дополнительной нагрузке препарата на органы при его ежедневном применении в дозировках, превышающих терапевтическую.

При патологоанатомическом исследовании макроскопических изменений в исследуемых органах не выявляли.

При патогистологическом исследовании у двух животных обнаружено: в легких – наблюдается утолщение гиалинового хряща стенки бронхов (рис. 2, 4). Утолщение хрящевой ткани стенки бронхов возможно при повышенном усвоении кальция организмом животного.

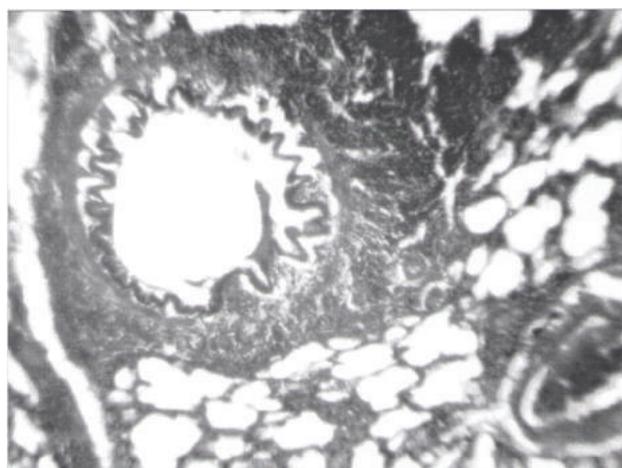


Рис. 2. Бронхи. Окраска по Ван-Гизону, x400

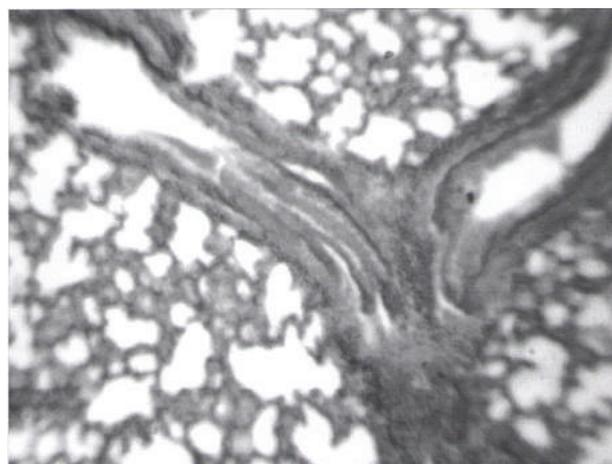


Рис. 3. Легкое крысы. Окраска Гематоксином и эозином, x200

Селезенка покрыта соединительной капсулой к которой прилежит мезотелий, капсула содержит миоциты (рис. 5). Наблюдается стирание рисунка органа за счет инфильтрации клетками лимфоидного ряда.

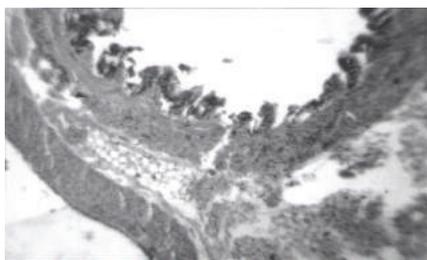


Рис. 4. Стенки бронхов в лёгком.
Окраска гематоксилином
и эозином, x200

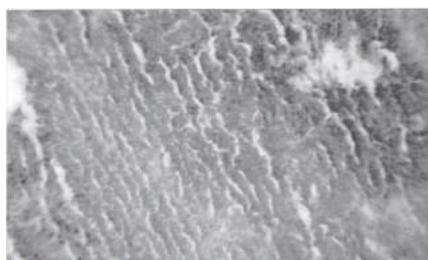


Рис. 5. Селезенка пролиферация
лимфоидных клеток. Окраска
гематоксилином и эозином, x200

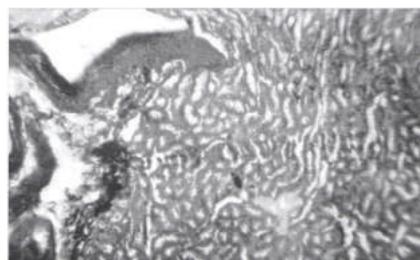


Рис. 6. Ткань почки. Окраска
гематоксилином и эозином, x200

В почках хорошо различима граница коркового и мозгового вещества (рис. 6). Проксимальные и дистальные извитые канальцы и почечные клубочки коркового вещества без патологий. На границе коркового и мозгового слоев обнаружена гомогенная бесклеточная розовая масса в капсуле – отложения солей Са.

В тимусе обнаружен обширный участок некротизированной ткани.

В печени, сердце и семенниках существенных патологий не обнаружено.

Таким образом, анализируя результаты изучения субхронической токсичности и кумулятивных свойств, препарат «Богатырь» можно отнести к группе малотоксичных веществ, не обладающими кумулятивными свойствами.

Препарат «Богатырь» в дозе в 52344 раз превышающей рекомендуемую терапевтическую, обладает избирательным действием, которое проявляется:

- в селезенке стирание рисунка органа за счет инфильтрации клетками лимфоидного ряда;
- в почках, на границе коркового и мозгового слоев выявлена гомогенная бесклеточная розовая масса в капсуле - отложения солей Са;
- в тимусе выявлены незначительные некротические процессы в тканях;
- в легких утолщение гиалинового хряща стенки бронхов, возможно при повышенном усвоении кальция организмом животного;

Вышеуказанные изменения в селезенке, тимусе и почках свидетельствуют о наличие слабо выраженных воспалительных процессов в этих органах.

Раздражающее и кожно-резорбтивное действие препарата «Богатырь». Изучение местно-раздражающего действия препарата «Богатырь» путем эпикулярных провокационных кожных аппликаций на морских свинках показало, что изменений в клиническом статусе животных и на месте аппликации за время проведения опыта и после его прекращения, выявлено не было. Эластичность, подвижность и упругость кожи оставалась неизменной. При пальпации места аппликации болевая реакция не отмечалась. Отека кожи и геморрагий не установлено.

На основании перечисленного выше, раздражающую и кожно-резорбтивную реакцию оценили как отрицательную.

Проведением конъюнктивальной пробы установлено, что у кролика, которому вводили нативный препарат «Богатырь» наблюдалась слабая положительная реакция на введение, проявившаяся слезотечением и слабым покраснением конъюнктивы глаза. Сужение зрачка не наблюдалось. Однако все признаки действия препарата исчезали в течение 1 часа.

Таким образом, применение препарата «Богатырь» не оказывает патологически значимых изменений местного аллергического характера на организм животных.

Препарат «Богатырь» можно охарактеризовать как не обладающий раздражающим и кожно-резорбтивным действием.

Эмбриотоксическая и тератогенная активность «Богатырь». В результате проведенных нами исследований по оценке эмбриотоксического действия препарата «Богатырь» установлено, что его назначение в терапевтической дозе (10 мкл/кг массы тела) беременным животным не оказывает отрицательного влияния на течение беременности и роды. Роды у крыс опытной группы наступали, как правило, на 23–24 дни беременности. Численность помета у самок, которым вводили препарат, была выше численности помета контрольных животных (число родившихся крысят на одну самку в опытной группе составило $3,5 \pm 0,13$, в контрольной – $2,25 \pm 0,21$). Среднее количество крысят, родившихся в опытной группе выше чем в контроле на 35,7 %. Средний вес одного крысенка в опытной группе составил 8,1 гр. $\pm 0,1$, а в контрольной 7,1 гр. $\pm 0,11$, таким образом, живая масса крысят опытной группы выше чем в контроле на 12,3%. Крысята рождались живыми, без внешних аномалий. Отлипание ушей происходило на 4–5 дни после рождения, на 5–7 дни открывались глаза. На 5–6 дни у крысят обеих групп отмечалось частичное появление волосяного покрова, а полное обрастание шерстью происходило к 16 дню после рождения.

Проведенные эксперименты показали, что потомство, рожденное от крыс, которым вводили препарат во время беременности, не отличалось от крысят контрольных животных. Различий в их росте, развитии и поведении обнаружено не было.

Выводы. При изучении острой токсичности препарата «Богатырь» установить абсолютно смертельную (LD100) и среднесмертельную (LD50) дозировки препарата не представилось возможным.

По результатам изучения кумулятивных свойств и субхронической токсичности препарат «Богатырь» отнесен к малотоксичным препаратам и не обладающим кумулятивными свойствами.

Препарат «Богатырь» не обладает раздражающим и кожно-резорбтивным действием.

Препарат «Богатырь» не обладает эмбриотоксической и тератогенной активностью.

При гистологических исследованиях установлена активизация пролиферативных процессов в селезенке, тимусе, усиление адсорбции солей кальция в тканях почек и бронхов при применении дозы в 52344 раз превышающей рекомендуемую терапевтическую.

ЛИТЕРАТУРА

1. Российская Федерация. Законы. О качестве и безопасности пищевых продуктов: федеральный закон № 29-ФЗ от 02.01.2000.
2. Российская Федерация. Законы. О продовольственной безопасности Российской Федерации : федеральный закон: принят в 1998 г. Проект Федерального закона № 96700526-2 «О продовольственной безопасности Российской Федерации» (окончательная ред., принятая ГД ФС РФ 10.12.1997)
3. Медицинская микробиология / под ред. В. И. Покровский, О. К. Поздеев. М.: ГЭОТАР МЕДИЦИНА, 1999. 1200 с.
4. Нетрусов А. И., Котова И. Б. Микробиология : учебник для студ. высш. учеб. заведений. М. : Издательский центр «Академия», 2006. 352 с.
5. Онищенко Г. Г. Распространение вирусных природно-очаговых инфекций в Российской Федерации и меры по их профилактике // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2000. № 4. С. 4–8.
6. Онищенко Г. Г. Инфекционные болезни – важнейший фактор биоопасности // Эпидемиол. и инфек. болез. 2003. № 3. С. 4–16.
7. Системы анализа рисков и определения критических контрольных точек: НАССР / ХАССП. Государственные стандарты США и России. М., 2003. 594 с.
8. Фелленберг Г. Загрязнение природной среды. Введение в экологическую химию; пер. с нем. М.: Мир, 1998. 288 с.
9. Шевелева С. А. Современные проблемы микробиологической безопасности молочных продуктов // Переработка молока. 2002. № 5 (31). С. 3–6.
10. Шевелева С. А. Принципы оценки безопасности пищевых продуктов с позиций анализа микробиологического риска // Переработка молока. 2004. № 7. С. 8–9.
11. Экологическая химия / под ред. Ф. Корти; пер. с нем. М.: Мир, 1997. 396 с.
12. Большая энциклопедия Кирилла и Мефодия (БЭКМ 2005) [Электронный ресурс]. Издание девятое, на DVD-носителе, 2005. [Электронная энциклопедия].

REFERENCES

1. Rossiyskaya Federatsiya. Zakony. O kachestve i bezopasnosti pishchevykh produktov: federal'nyy zakon № 29-FZ ot 02.01.2000.
2. Rossiyskaya Federatsiya. Zakony. O prodovol'stvennoy bezopasnosti Rossiyskoy Federatsii : federal'nyy zakon : prinyat v 1998 g. Proekt Federal'nogo zakona № 96700526-2 «O prodovol'stvennoy bezopasnosti Rossiyskoy Federatsii» (okonchatel'naya red., prinyataya GD FS RF 10.12.1997)
3. Meditsinskaya mikrobiologiya / pod red. V. I. Pokrovskiy, O. K. Pozdeev. M.: GEOTAR MEDITSINA, 1999. 1200 s.
4. Netrusov A. I., Kotova I. B. Mikrobiologiya : uchebnik dlya stud. vyssh. ucheb. zavedeniy. M.: Izdatel'skiy tsentr «Akademiya», 2006. 352 s.
5. Onishchenko G. G. Rasprostraneniye virusnykh prirodno-ochagovykh infektsiy v Rossiyskoy Federatsii i mery po ikh profilaktike // Epidemiologiya i infektsionnyye bolezni. 2000. № 4. S. 4–8.
6. Onishchenko G. G. Infektsionnyye bolezni – vazhneyshiy faktor bioopasnosti // Epidemiol. i infek. bolez. 2003. № 3. S. 4–16.
7. Sistemy analiza riskov i opredeleniya kriticheskikh kontrol'nykh tochek: NASSR / KhASSP. Gosudarstvennyye standarty SShA i Rossii. M., 2003. 594 s.
8. Fellenberg G. Zagryazneniye prirodnoy sredy. Vvedeniye v ekologicheskuyu khimiyu; per. s nem. M.: Mir, 1998. 288 s.
9. Sheveleva S. A. Sovremennyye problemy mikrobiologicheskoy bezopasnosti molochnykh produktov // Pererabotka moloka. 2002. № 5 (31). S. 3–6.
10. Sheveleva S. A. Printsipy otsenki bezopasnosti pishchevykh produktov s pozitsiy analiza mikrobiologicheskogo riska // Pererabotka moloka. 2004. № 7. S. 8–9.
11. Ekologicheskaya khimiya / pod red. F. Korti; per. s nem. M.: Mir, 1997. 396 s.
12. Bol'shaya entsiklopediya Kirilla i Mefodiya (BEKM 2005) [Elektronnyy resurs]. Izdanie devyatoe, na DVD-nositele, 2005. [Elektronnaya entsiklopediya].

ОБ АВТОРАХ

Емельянов Сергей Александрович, кандидат биологических наук, доктор технических наук, профессор кафедры Прикладной биотехнологии, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Северо-Кавказский федеральный университет», 8-918-878-17-66, e-mail: sergemelyan@mail.ru

Emelyanov Sergey Aleksandrovich, Candidate of Biological Sciences, Doctor of Technical Sciences, Professor of the Department of Applied Biotechnology, Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Professional Education «North Caucasus Federal University», 8-918-878-17-66, e-mail: sergemelyan@mail.ru

Богатырев Александр Борисович, аспирант кафедры Прикладной биотехнологии, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Северо-Кавказский федеральный университет», e-mail: abin-aleks@mail.ru; 8-918-079-35-77

Bogatyrev Aleksandr Borisovich, Postgraduate of the Department of Applied Biotechnology Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Professional Education «North Caucasus Federal University», e-mail: abin-aleks@mail.ru; 8-918-079-35-77

ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПРОБИОТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА «БОГАТЫРЬ», СОЗДАННОГО НА ОСНОВЕ КОНСОРЦИУМА ПОЛЕЗНЫХ СИМБИОТИЧЕСКИХ МИКРООРГАНИЗМОВ

С. А. Емельянов, А. Б. Богатырёв

Экологическая обстановка, состояние питания и здоровья населения являются ведущими факторами, определяющими уровень стратегической безопасности любого государства. В этой ситуации повышение качества и безопасности пищевых продуктов является одной из важнейших и приоритетных задач. В микробиологической безопасности пищи появились новые приоритеты, что связано с быстрым изменением эпидемиологии инфекционных заболеваний, поэтому особую актуальность приобретают микробиологические аспекты технологии пищевых производств.

Современным классическим вариантом борьбы с патогенными микроорганизмами, является уничтожение самих возбудителей инфекционных заболеваний. На практике это реализуется, в основном, применением различных химических веществ в качестве дезинфектантов или антибиотиков. Побочным действием данных методов является возникновение ещё более сильных антибиотико-резистентных штаммов микроорганизмов, повышению токсичности медицинских препаратов и снижению общего иммунитета животных и человека. Выходом из данного тупика является общее оздоровление экосистемы, животных и человека, повышение их иммунного статуса с помощью создания комплексного препарата, содержащего консорциум полезных симбиотических микроорганизмов, являющихся антагонистами патогенной микрофлоры.

Результатом проведённых исследований явилась разработка устойчивого консорциума полезных симбиотических микроорганизмов, взятых из дикой среды, с созданием на его основе линейки пробиотических продуктов «Богатырь» пищевого, кормового и биоценотического назначения. Характерной особенностью разработанного микробного консорциума явилось то, что в основу его создания положен принцип жесткого селекционного отбора, который проходит в определенной кислотной концентрированной среде, в результате чего он не просто вытесняет патогенную микрофлору, но образует биологическое равновесие видов полезных микроорганизмов.

В состав данных продуктов входят соки различных не опасных растений, законсервированных жизнеспособными штаммами молочнокислых бактерий, целлюлолитических микроорганизмов, дрожжей и ферментов. Питательная среда микроорганизмов включает в себя экстракт эфирных масел, инулина, алкалоидов, алантоприкина, органических кислот, микро- и макроэлементов. Продукты приобретают способность к подавлению различных и вирусных инфекций, а так же сопутствуют к снижению гельминтов. Сохранность добавки обеспечивается симбиозом полезной микрофлоры, обладающей высокой антибиотической активностью.

Для широкого применения разработанного устойчивого консорциума полезных симбиотических микроорганизмов было проведено всестороннее исследование и оценка фармако-токсикологического действия препарата «Богатырь». Результаты показали, что

препарат можно отнести к малотоксичным препаратам, не обладающим: кумулятивными свойствами, раздражающим и кожно-резорбтивным действием, эмбриотоксической и тератогенной активностью. При гистологических исследованиях установлена активизация пролиферативных процессов в селезенке, тимусе, усиление адсорбции солей кальция в тканях почек и бронхов при применении дозы в 52344 раз превышающей рекомендуемую терапевтическую.

PHARMACOTOXICOLOGICAL ASSESSMENT OF «BOGATYR» PROBIOTIC PREPARATION DEVELOPED BASED ON BENEFICIAL SYMBIOTIC MICROORGANISM CONSORTIUM**S. Al. Emelyanov, Al. B. Bogatirev**

Such factors as ecological setting, nutritional and health status of population determine the level of strategic security for any country. In this regard, improvement quality and safety of nutrition products is one of the top priorities. There are new trends in microbial food safety caused by rapid changes of infectious disease epidemiology. Thus, microbial issues of food processing technology has become more and more relevant.

The modern conventional method of pathogenic microorganism control implies extermination of infectious agents. In practice, the method involves application of some chemical substances such as disinfectants or antibiotics. Among the adverse effects of this method are even more strong antibiotic-resistant strains, increasing medication toxicity and decrease in human and animal immunity. The possible solution to this vicious circle is general sanitation of ecosystem, animals and humans, increase of their immune status through development of complex medication containing beneficial symbiotic microorganism consortium that is antagonist to pathogenic microflora.

The result of studies undertaken is development of stable consortium of beneficial symbiotic microorganisms taken from natural habitat. This consortium became a base for a row of probiotic supplements named «Bogatyr» for food, feed and biocoenotic purposes.

The distinguishing characteristic of the microbial consortium developed is underlying principle of careful selection process. The selection takes place in some acid concentrated medium. As a result, the consortium not only displaces pathogenic microflora, but also establishes biological balance of beneficial bacterial species.

These probiotic products are the mixture of harmless plant saps conserved by viable strains of lactobacillales, cellulolytic microorganisms, yeast and enzymes. Bacteria digest medium includes extract of essential oils, inulin, alkaloids, organic acids, minor and major nutrient elements. Due to this fact the products are capable to suppress various infections including virus and helminth ones. The supplement storability is provided by beneficial bacterial symbiosis with high-level antibiotic activity.

For a wide application of the developed stable beneficial symbiotic microorganism consortium the comprehensive studies and assessment of pharmacotoxicological effect of «Bogatyr» preparation was undertaken. The results showed that the preparation may be considered as a low-toxic one having no cumulative property, irritant or skin-resorptive effect, embryotoxic or teratogenic action. Histologic studies revealed activation of proliferative processes in spleen, thymus, enhancement of calcium salt adsorption in bronchus and kidney tissues when administrated a dose 52344 times higher than the recommended therapeutic one.