

ТОКСИКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИЗУЧЕНИЯ БИОБЕЗОПАСНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ, ПОЛУЧЕННЫХ С ПОМОЩЬЮ СЕЛЕКЦИИ И ГЕННОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Шейна Н.И., *Буданова Е.В., Мясина Л.И., Пивоваров Ю.П., Сазонова Л.П., Колесникова В.В., Королик В.В., Чуб.Г.Г.

ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава РФ, Москва, Россия

*ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России

В течение последних 20 лет сотрудники кафедры гигиены РНИМУ им. Н.И. Пирогова провели изучение характера биологического действия более 40 биотехнологических штаммов, относящихся к различным таксономическим группам.

В результате проведенных исследований было показано, что биотехнологические штаммы не являются патогенными по следующим изученным показателям: вирулентность, токсигенность, определение скорости проникновения в кровь, диссеминация штамма в крови и внутренних органах. При повторном воздействии было установлено, что основными показателями вредного действия промышленных микроорганизмов являются иммуноотропный, сенсибилизирующий и дисбиотический эффекты, проявление которых зависит от таксономической характеристики биотехнологических штаммов, а выраженность эффектов – от воздействующей концентрации/дозы.

Появление штаммов-продуцентов, созданных с использованием методологии генетической инженерии, потребовало разработки новых подходов, прежде всего оценки потенциальной и реальной опасности системы «хозяин-вектор», так как в ряде случаев генномодифицированные микроорганизмы (ГММ) могут отличаться по своим свойствам от природных штаммов. При отсутствии опыта их промышленного использования допускается вероятность возникновения негативных воздействий на окружающую среду и человека.

Патогенность генно-инженерно-модифицированных штаммов *E.coli* при однократном введении

Штаммы <i>E.coli</i>	DV ₅₀ , КОЕ/жив.	«пороговая доза», КОЕ/жив.	Высевание из внутренних органов	
			Доза, КОЕ/жив.	Сроки высеваания, сут.
1. DLT 1270	>10 ¹¹	2x10 ⁷	10 ⁷ , 10 ⁸	4
2. DLT 1270M	>10 ¹¹	7x10 ¹⁰	7x10 ⁸ , 7x10 ⁹ , 7x10 ¹⁰	6
3. SX 50	>10 ¹¹	5x10 ⁸	5x10 ⁸ , 5x10 ⁹	2
4. SX 70	>10 ¹¹	2x10 ⁹	2x10 ¹¹	2
5. ECR-HIS-T	>10 ¹¹	4x10 ⁷	4x10 ⁹	3
6. KMEX 511	>10 ¹¹	4x10 ⁸	4x10 ⁹ , 4x10 ¹⁰	5
7. KMEX 711	>10 ¹¹	4x10 ¹⁰	4x10 ¹⁰ , 4x10 ¹¹	7

Патогенные свойства ГММ штаммов *S. cerevisiae*

Название штамма <i>S. cerevisiae</i>	DV ₅₀ (максимально введенная доза), КОЕ/жив.	Пороговая доза (Lim _{invasion}), КОЕ/жив.	Высевание штамма из внутренних органов
			дни, дозы, КОЕ/жив., органы
1. ВКПМ Y-3928	>4x10 ¹¹	4x10 ¹⁰	3-й день, 4x10 ¹¹ , 4x10 ¹⁰ , печень, сердце
2. ВКПМ Y-3853	>10 ¹²	10 ¹⁰	3-й день, 10 ¹² , сердце, почки, селезенка 7-ой день 10 ¹² , сердце, селезенка
3. ВКПМ Y-3919	>9x10 ¹⁰	9x10 ⁹	3-й день, не высевались

Задача исследования – сравнительная характеристика характера биологического действия биотехнологических штаммов микроорганизмов, полученных путем селекции и с помощью генной инженерии, при однократном и повторном воздействии

Объекты и методы исследования. В качестве биологических факторов были использованы биотехнологические штаммы микроорганизмов *E.coli*, *S.cerevisiae*, *Bacillus licheniformis* В-9608 и *Komagataella pastoris* Y-4225, полученные генноинженерным способом. Селекционные штаммы были изучены ранее (Н.И. Шейна и др., 2008, 2016) В эксперименте мыши подвергались однократному внутрибрюшинному введению высоких доз микроорганизмов. Были изучены следующие показатели: вирулентность, токсигенность, определение скорости проникновения в кровь, диссеминация штаммов в крови и внутренних органах.

Крысы подвергались интраназальному воздействию указанных штаммов в течение 1 месяца в минимально эффективных и эффективных расчетно-поглощенных концентрациях. Обследование животных проводили после 1 месяца воздействия и через 30 дней после его окончания (восстановительный период).

Изучение субхронического воздействия штамма ГММ *Bacillus licheniformis* ВКПМ В-9608, продуцента протеазы

- Не является патогенным
- Обладает слабыми сенсибилизирующими свойствами
- Не изменяет микрофлору кишечника животных
- Не диссеминирует во внутренние органы



Изучение субхронического воздействия ГММ *Komagataella (Pichia) pastoris* ВКПМ Y-4225, продуцента фитазы

- Не является патогенным
- Обладает сенсибилизирующими свойствами
- Вызывает дисбактериоз кишечника животных
- Не диссеминирует во внутренние органы



ВЫВОДЫ

1. Изученные штаммы *E.coli* (7 штаммов), *S.cerevisiae* (3 штамма) *Bacillus licheniformis* В-9608 и *Komagataella pastoris* Y-25, полученные генноинженерным способом, не являются патогенными.

2. Характер неблагоприятного действия ГММ и сравнение их с родственными штаммами микроорганизмов (*B. licheniformis* 60, 103, 1001, *Pichia membranifaciens* ВКМ-У-934), полученными направленной селекцией, свидетельствуют, что они не различаются как по характеру биологического действия, так и по степени выраженности наблюдаемых изменений.

3. Величины ПДК ГММ *B. licheniformis* ВКПМ В-9608 и *K. pastoris* ВКПМ Y-4225 в воздухе рабочей зоны и атмосфере находятся на одном уровне по токсичности и опасности с родственными селекционными и природными штаммами (ГН 2.2.6.2178 – 07).