

# ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ И ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ДЛЯ ОЦЕНКИ РИСКА В ГИГИЕНЕ И ЭПИДЕМИОЛОГИИ

УДК 615.917: 613.62: 57.083.32: [663.126+663.262]  
DOI: 10.21668/health.risk/2018.2.11

Читать  
онлайн 

## ТОКСИКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА АЛЛЕРГЕННОЙ АКТИВНОСТИ И ОПАСНОСТИ СУХИХ ДРОЖЖЕВЫХ ГРИБОВ

**С.И. Сычик, В.В. Шевляков, В.А. Филонюк, Г.И. Эрм, Е.В. Чернышова**

Научно-практический центр гигиены, Республика Беларусь, г. Минск, ул. Академическая, 8

*Актуальность исследования определялась фактом того, что у работающих в условиях профессионального воздействия аэрозолей нативных дрожжевых грибов штамма *Saccharomyces cerevisiae* П153 и сухих хлебопекарных дрожжей установлена высокая распространенность нарушений здоровья, преимущественно аллергического и иммунопатологического характера. Наблюдаются выраженные сдвиги и дисбаланс гуморальных и клеточных показателей системы иммунитета. Выявлено формирование в организме механизмов аллергических реакций профессиональной этиологии. Цель работы заключалась в экспериментальном определении степени сенсibilизирующей способности и аллергенной опасности сухих хлебопекарных, винных и спиртовых дрожжевых грибов. С использованием разработанного оригинального способа, основанного на окислительном гидролизе органической кислотой поверхностных  $\beta$ -глюкозидных связей между элементарными звеньями азотсодержащего полисахарида (хитин) клеточной стенки грибов и последующем экстрагировании в щелочной среде, были получены экстракты-аллергены из сухих хлебопекарных, винных и спиртовых дрожжевых грибов с высоким содержанием растворимых белоксодержащих субстанций, достаточных для экспериментального моделирования их воздействия на организм и выявления особенностей биологического действия.*

*Обоснована альтернативная краткосрочная методика, включающая унифицированную технологию воспроизведения и объективного выявления гиперчувствительности замедленного типа в эксперименте на белых мышах. Эта методика позволяет установить степень аллергенной активности и класс аллергенной опасности веществ биологической природы по их растворимым белково-антигенным субстанциям.*

*Экспериментально установлено, что белково-антигенные комплексы сухих хлебопекарных, винных и спиртовых дрожжевых грибов обладают сильной сенсibilизирующей способностью (аллергенной активностью) и отнесены к I классу аллергенной опасности (чрезвычайно опасный производственный аллерген).*

*Показано, что хлебопекарные, винные и спиртовые дрожжевые грибы имеют общие антигенные иммунодетерминанты. Это определяет высокую вероятность формирования полисенсibilизации организма при их ингаляционном воздействии в производственных условиях и высокий риск развития перекрестных аллергических реакций у контактирующих с ними лиц.*

**Ключевые слова:** нарушение здоровья, ингаляционное воздействие, дрожжевые грибы, экстракты, окислительный гидролиз, сенсibilизирующая способность, аллергенная опасность.

© Сычик С.И., Шевляков В.В., Филонюк В.А., Эрм Г.И., Чернышова Е.В., 2018

**Сычик Сергей Иванович** – кандидат медицинских наук, доцент, директор (e-mail: svkasul@mail.ru; тел.: +375 (17) 284-03-87, 8 (029) 304-32-11).

**Шевляков Виталий Васильевич** – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории промышленной токсикологии (e-mail: shev-vitaliy@mail.ru; тел.: +375 (17) 284-13-96, 8 (029) 180-50-26).

**Филонюк Василий Алексеевич** – кандидат медицинских наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории промышленной токсикологии (e-mail: rspch@rspch.by; тел. +375 (17) 284-13-74).

**Эрм Галина Ивановна** – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории промышленной токсикологии (e-mail: rspch@rspch.by; тел. +375 (17) 284-13-74).

**Чернышова Елена Вадимовна** – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории промышленной токсикологии (e-mail: rspch@rspch.by; тел. +375 (17) 284-13-74).

Наиболее эффективной мерой профилактики профессиональной и производственно-обусловленной патологии у работников является разработка предельно допустимой концентрации (ПДК) и методов контроля содержания вредных веществ в воздухе рабочей зоны. С этих позиций обращает на себя внимание отсутствие гигиенических нормативов содержания в воздухе рабочей зоны целого ряда производимых и используемых микроорганизмов-продуцентов и биопрепаратов.

К таким приоритетным промышленным штаммам микроорганизмов относятся, прежде всего, хлебопекарные, винные и спиртовые дрожжевые грибы *Saccharomyces cerevisiae*. Их очень широко используют в натуральном и сухом виде для производства продуктов питания, спирта и виноматериалов, с ними контактирует в процессе применения и производства большой контингент работников. У людей, работающих в условиях профессионального воздействия аэрозолей нативных дрожжевых грибов штамма *Saccharomyces cerevisiae* П153 и сухих хлебопекарных дрожжей, установлена высокая распространенность нарушений здоровья, преимущественно аллергического и иммунопатологического характера. Наблюдаются выраженные сдвиги и дисбаланс гуморальных и клеточных показателей системы иммунитета, формирование в организме механизмов аллергических реакций профессиональной этиологии [1, 2].

К настоящему времени экспериментально обоснована и утверждена в Республике Беларусь величина ПДК в воздухе рабочей зоны (далее – ПДК<sub>врз</sub>) дрожжевых клеток штамма *Saccharomyces cerevisiae* П153 на уровне 1000 м.кл./м<sup>3</sup>, III класс опасности с отметкой «аллерген», а также разработана аттестованная методика выполнения измерений их концентраций в воздухе рабочей зоны [3].

Последующей поставлена актуальная задача обосновать ПДК<sub>врз</sub> сухих хлебопекарных, винных и спиртовых дрожжей (далее – СХД, СВД и ССД). Причем загрязняющие воздух рабочей зоны сухие дрожжевые грибы относятся к органическим белоксодержащим аэрозолям, и методические подходы к их гигиеническому нормированию отличаются от таковых при регламентировании жизнеспособных промышленных штаммов микроорганизмов. Непременным этапом экспериментального обоснования ПДК<sub>врз</sub> сухих хлебопекарных, винных и спиртовых дрожжей является определение

степени их сенсibilизирующей способности и аллергенной опасности.

**Цель исследования** – экспериментальное установление степени сенсibilизирующей способности и аллергенной опасности сухих хлебопекарных, винных и спиртовых дрожжевых грибов.

**Материалы и методы.** Объектом экспериментальных исследований являлись СХД, СВД и ССД, произведенные на основе биомассы производственных штаммов дрожжевых грибов *Saccharomyces cerevisiae*. Образцы для исследований предоставлены ОАО «Дрожжевой комбинат» г. Минска.

Использованы отдельные приемы и методические подходы к изучению биологического действия и регламентированию в воздухе рабочей зоны органических аэрозолей по белку, разработанных и апробированных при нормировании ряда органических пылей животного, растительного и смешанного происхождения [4].

Для реализации цели работы необходимо было, прежде всего, решить две задачи. Во-первых, для экспериментального моделирования воздействия на организм практически нерастворимых в воде сухих дрожжевых клеток и выявления их биологического действия, необходимо было получить из них растворимые белково-антигенные субстанции. Проблема решения данной задачи заключалась в высокой устойчивости и прочности клеточной стенки дрожжевых грибов, в структуру которой входит хитин.

На основании подбора и апробации различных способов гидролиза хитина и других структур дрожжевых клеток установлены оптимальные условия и разработана оригинальная методика получения из сухих дрожжевых грибов экстракт-аллергенов с максимально возможным содержанием растворимых субстанций по белку.

Методы экспериментального моделирования и выявления сенсibilизации достаточно добротны разработаны и широко используются для изучения и гигиенического нормирования производственных органических аэрозолей как облигатных аллергенов, но только в опытах на наиболее чувствительных по иммунологической реактивности морских свинок-альбиносах [4]. Однако приобретение в настоящее время морских свинок-альбиносов не только весьма затратно ввиду их высокой стоимости, но и недоступно в результате отсутствия в Белару-

си питомника этих лабораторных животных. Поэтому для установления сенсibilизирующей способности сухих дрожжей по их растворимым белково-антигенным субстанциям, выделенным в экстрактах, необходимо решение второй задачи – подобрать и апробировать доступные и объективные методы экспериментального моделирования сенсibilизации и выявления специфического гипериммунного ответа организма замедленного типа на облигатный аллерген, а также определить критерии оценки степени аллергенной активности и классифицирования аллергенной опасности антигенных субстанций сухих дрожжевых клеток.

Модифицированной нами альтернативной методикой (описывается далее) в краткосрочных экспериментах на белых мышах определялась степень сенсibilизирующей способности растворимых полисахариодно-белковых субстанций сухих дрожжевых клеток и класс их аллергенной опасности. Для эксперимента формировали пять групп белых мышей по 12 особей в каждой, рандомизированных по массе (самцы, масса 24–27 г).

Для сенсibilизации животных и тестирования использовали полученные экстракты из образцов СХД, СВД и ССД. Приготавливали сенсibilизирующие смеси: в соотношении 1:1 полный адьювант Фрейнда (Sigma, далее – ПАФ) и соответствующий экстракт, исходя из количества в стандартной дозе на одно животное 0,03 см<sup>3</sup> ПАФ и 0,03 см<sup>3</sup> экстракта с содержанием 300 мкг белка.

Условия содержания, обращения, проведения экспериментов и выведения лабораторных животных из опыта соответствовали требованиям технических нормативных правовых актов и основывались на международных принципах биоэтики.

Результаты исследования подвергались статистической обработке общепринятыми методами с использованием пакета статистической программы Statistica 10.

**Результаты и их обсуждение.** Для экспериментального моделирования воздействия на организм практически нерастворимых в воде сухих дрожжевых клеток и выявления их биологического действия, прежде всего аллергического и иммунотоксического, необходимо было получить из них экстракт с максимально возможным содержанием растворимых белоксодержащих субстанций.

Из данных литературы известно более 16 способов выделения антигенов из дрожже-

вых и дрожжеподобных грибов [5]. На основе результатов испытаний различных способов экстрагирования ранее был использован метод, основанный на инактивации и частичном разрушении мембран дрожжевых клеток четырехкратным замораживанием (при –22 °С) и быстрым оттаиванием, воздействию ультразвуком, четырехсуточном экстрагировании в щелочной водно-солевой раствор Сола на холоде из биомассы и выделении растворимых полисахариодно-белковых антигенных комплексов. Полученный экстракт из СХД был высокоаллергоспецифичным и антигенно обособленным, но содержал только 3 мг/см<sup>3</sup> белка (50000 ед. PNU), что было достаточно для эффективного использования в лабораторных методиках алергодиагностики в качестве тест-аллергена [6], но крайне мало для экспериментального моделирования.

Был апробирован известный способ получения аллергенов из кокковых бактериальных клеток В.Ф. Руновой [6, 7]. Метод основан на экстрагировании белоксодержащих субстанций из сухой массы бактериальных клеток 1 % раствором гидроксида калия в течение суток при комнатной температуре, их осаждении 50 % раствором уксусной кислоты и последующем растворении белкового преципитата в слабощелочной среде. Способ оказался эффективным для получения диагностических экстрактов-аллергенов из промышленных штаммов бактерий *Bacillus subtilis* и *Pseudomonas fluorescens* с доказанной их высокой специфичностью, антигенной обособленностью и антигенной чистотой. Но он также малопродуктивен для получения экстракта из дрожжевых грибов.

Высокую устойчивость и жесткость клеточной стенки дрожжевых грибов определяет входящий в их структуру хитин, который является природным полимером из остатков N-ацетилглюкозамина, связанных между собой β-(1-40)-глюкозидными связями, ассоциированным с белками. Поэтому для получения из сухих дрожжевых клеток экстракта основывались на принципе кислотного гидролиза глюкозидных связей природных полимеров, использованного, например, В.В. Соколовским и соавт. [8] для определения концентраций БВК в окружающей среде по белку. Для гидролиза поверхностных β-глюкозидных связей между элементарными звеньями азотсодержащего полисахарида клеточной стенки грибов подготовленные образцы сухих дрожжей предварительно подвергали кратковременному воздействию (5 мин) 0,5 М водного раствора трихлоруксусной кислоты при

нагревании. Затем после быстрого охлаждения в течение двух часов проводили экстрагирование клеточной суспензии в щелочной среде (рН 8–8,4) внесением 2Н водного раствора гидроксида натрия с последующим отделением осадка центрифугированием. Для осаждения в полученном супернатанте белоксодержащих субстанций использовали охлажденную соляную кислоту и центрифугирование, а растворение преципитата проводили в физиологическом растворе с постепенным доведением рН до 7,2–7,4 1Н водным раствором гидроксида натрия. Содержание в экстрактах белоксодержащих субстанций определяли методом Лоури.

С использованием разработанной методики получены экстракты из СХД, СВД и ССД (далее – ЭСХД, ЭСВД и ЭССД) с высоким содержанием растворимых полисахаридно-белковых субстанций (в концентрациях более 30,0 мг/см<sup>3</sup> по белку), что достаточно для экспериментального моделирования воздействия на организм и выявления особенностей их биологического действия. Экстракты сохраняли при –18 °С без добавления консервантов.

Принципы экспериментальной оценки степени выраженности сенсибилизирующей способности и класса аллергенной опасности промышленных веществ химической и биологической природы достаточно разработаны [9]. Они основаны на объективных количественных критериях учета количества опытных животных с установленной гиперчувствительностью замедленного типа (ГЗТ) по результатам положительной кожной или внутрикожной провокационной пробы. Важным является уровень значимости различий средних величин выраженности интегральных показателей кожных реакций в баллах на провокационную пробу в опытной и контрольной группах животных по критериям *t* Стьюдента или *U* Манна–Уитни, а также по «жесткому» критерию *X* Ван Дер Вардена. Но унифицированные методы сенсибилизации и выявления ГЗТ, выполняемые в основном в экспериментах на морских свинках-альбиносах, длительны, затратны и не всегда доступны.

С этих позиций привлекательна альтернативная методика изучения и оценки сенсибилизирующей способности химических веществ на белых мышах. Согласно этой методике для сенсибилизации белых мышей используют смесь испытуемого вещества с ПАФ в строго определенной дозе, а выявляют ГЗТ на шестые сутки опыта кожным (на ухо) или внутрикожными (в ухо или заднюю лапу) провокационным тес-

том [10, 11]. Метод воспроизведения сенсибилизации на мышах с применением ПАФ, основывается на том, что ГЗТ хорошо воспроизводится на мышах, а введение ПАФ с изучаемым веществом усиливает индукцию ГЗТ вследствие угнетения формирования субпопуляций регуляторных Т-лимфоцитов-супрессоров. Процесс сопровождается усилением аллергических реакций, что позволяет выявить аллергенные свойства даже слабых химических аллергенов [11].

На белоксодержащие вещества как полные антигены в организме формируется гипериммунный процесс со смешанными механизмами аллергической реакции, но с превалированием механизма немедленного анафилактического типа, реализуемого антителами – специфическим иммуноглобулином IgE – за счет преимущественной активации хелперной регуляции иммунного ответа 2-го типа. В то же время использование для сенсибилизации изучаемого гетероантигена в смеси с ПАФ, содержащей антигены туберкулезных бацилл и вводимой в организм внутрикожно (создание «депо»), стимулирует переключение хелперной регуляции иммунного ответа 2-го типа (Th2) на 1-й тип с развитием преимущественно клеточно-опосредованных механизмов гиперчувствительности замедленного типа [11, 12].

Вышеизложенное явилось обоснованием разработки адаптированной методики определения степени аллергенной активности и класса аллергенной опасности веществ биологической природы по их растворимым белково-антигенным субстанциям в экспериментах на белых мышах. Суть методики при изучении дрожжевых грибов заключалась в следующем: животным каждой опытной группы смесь с конкретным экстрактом вводили строго внутрикожно в основание хвоста по 0,06 см<sup>3</sup>, контрольным животным аналогично вводили смесь ПАФ и физиологический раствор. На шестые сутки эксперимента белым мышам опытных и контрольных групп после измерения электронным микрометром исходной толщины задней лапы вводили в подушечку (под апоневроз) каждой конкретной лапы прямые или перекрестные провокационные дозы соответствующих экстрактов (400 мкг белка) в объеме по 0,04 см<sup>3</sup>. На следующие сутки (через 24 ч) повторно измеряли толщину тех же лап, рассчитывали абсолютную величину отека лап в миллиметрах по разнице в толщине лап белых мышей до и после внутрикожного тестирования, переводили полученные абсолютные значения внутри-

кожного теста опухания лапы (ВТОЛ) каждого животного в относительные величины интегрального показателя в баллах по стандартной шкале [4]. Унифицированная технология постановки методики позволяет использовать известные количественные критерии [9] для оценки степени аллергенной активности и установления класса аллергенной опасности белоксодержащих субстанций дрожжевых грибов.

В данной постановке альтернативной методики получены результаты, представленные в таблице.

У животных 1-й опытной группы средняя групповая величина абсолютного показателя провокационной внутрикожной пробы превышала контрольный уровень в 2,4 раза, а величина относительного показателя ВТОЛ в 8,8 раз была выше таковой в контрольной группе А ( $t = 4,71$ ;  $p < 0,001$ ). Причем в опытной группе положительные кожные реакции в баллах на провокационную пробу с тест-дозой ЭСХД интенсивностью 1–3 балла регистрировались у 10 из 12 мышей (83 % животных). Соответственно, рассчитанный статистический показатель критерия  $X$  различия между группами сравнения равнялся 6,77 ( $p < 0,01$ ).

Схожие результаты получены и при сенсibilизации белых мышей ЭССД: кожные реакции на провокационную пробу с тест-дозой ЭССД с высокой выраженностью (1–4 балла) выявлены у 83 % животных 2-й опытной группы. А среднегрупповые величины как абсолютного, так и относительного показателей ВТОЛ соответственно в 2,5 и 17,8 раза превышали их в контрольной группе Б ( $t = 3,98$  и  $4,12$ ;  $p < 0,001$ ). Статистические различия относительного показателя ВТОЛ между опытной и контрольной группами животных были достоверны при  $p < 0,01$  по критерию  $X$  (6,93).

Несколько более высокие уровни абсолютного и относительного показателей ВТОЛ регистрировали у сенсibilизированных ЭСВД белых мышей, среднегрупповые величины которых у животных 3-й опытной группы превышали их в контрольной группе А в 3,0 и 9,6 раза, соответственно ( $t = 3,82$  и  $4,30$ ;  $p < 0,001$ ). Частота опытных белых мышей 3-й группы с выраженными кожными реакциями (1–3 балла) составила 81,8 %, а установленное по критерию  $X$  (7,05) различие величины относительного показателя ВТОЛ в опытной и контрольной группах животных было достоверно при  $p < 0,01$  (таблица).

Частота и выраженность показателей прямой и перекрестной провокационной пробы ВТОЛ у белых мышей, сенсibilизированных экстрактами из сухих хлебопекарных (ЭСХД), винных (ЭСВД) и спиртовых (ЭССД) дрожжевых грибов

Группа	Показатели ГЗТ по ВТОЛ	Экстракты из сухих дрожжевых грибов		
		ЭСХД	ЭСВД	ЭССД
Контрольная группа А	$10^{-2}$ мм	$7,88 \pm 1,30$	$7,78 \pm 1,10$	–
	Н	2/12	2/12	–
	Балл	$0,17 \pm 0,10$	$0,17 \pm 0,10$	–
Контрольная группа Б	$10^{-2}$ мм	–	–	$7,76 \pm 1,16$
	Н	–	–	1/12
	Балл	–	–	$0,08 \pm 0,08$
1-я опытная группа ЭСХД	$10^{-2}$ мм	$19,0 \pm 2,30^{**}$	–	$15,5 \pm 2,24^*$
	Н	10/12	–	9/12
	Балл	$1,50 \pm 0,30^{**1)}$	–	$1,08 \pm 0,22^{**1)}$
2-я опытная группа ЭССД	$10^{-2}$ мм	–	$13,7 \pm 1,70^*$	$19,6 \pm 2,74^{**}$
	Н	–	9/12	10/12
	Балл	–	$1,00 \pm 0,20^{*1)}$	$1,42 \pm 0,31^{**1)}$
3-я опытная группа ЭСВД	$10^{-2}$ мм	$18,2 \pm 2,60^*$	$23,6 \pm 3,40^{**}$	–
	Н	9/11	9/11	–
	Балл	$1,18 \pm 0,30^{*1)}$	$1,64 \pm 0,30^{**1)}$	–

Примечание: \* – достоверные различия с контролем при  $p < 0,01$  по критерию  $t$ ; \*\* – достоверные различия с контролем при  $p < 0,001$  по критерию  $t$ ; <sup>1)</sup> – достоверные различия с контролем при  $p < 0,01$  по критерию  $X$ ; Н: числитель – количество животных с положительными результатами ВТОЛ, знаменатель – всего в группе.

Следовательно, в стандартных условиях эксперимента экстракты-аллергены из СХД, ССД и СВД сенсibilизировали более 75 % животных опытных групп с достоверностью различных среднеарифметических величин интегрального показателя ВТОЛ с белыми мышами контрольных групп по критерию  $X$  при уровне значимости  $p < 0,01$ . Эти данные, согласно классификационным критериям [9], характеризуют сухие хлебопекарные, винные и спиртовые дрожжевые грибы как обладающие сильной сенсibilизирующей способностью (аллергенной активностью) и определяет отнесение их к I классу аллергенной опасности (чрезвычайно опасный производственный аллерген).

Обращает на себя внимание высокая частота и выраженность кожных реакций у сенсibilизированных животных опытных групп на перекрестное тестирование тест-аллергенами разных штаммов дрожжевых грибов, которые с высокой достоверностью превышали таковые у белых мышей соответствующих контрольных групп ( $p < 0,01$  по критериям  $t$  и  $X$ ). Причем уровни как абсолютного, так и относительного показателей ВТОЛ у животных опытных групп на перекрестные тест-дозы экстрактов из СХД, СВД и ССД хотя и были ниже таковых на специфические экстракты-аллергены, но не имели существенной статистической разницы по выраженности и частоте выявления. Например, у животных 1-й опытной группы, сенсibilизированных ЭСХД, положительные кожные реакции на тест-аллерген ЭССД выявлены у 9 из 12 белых мышей с уровнем относительного показателя ВТОЛ  $1,08 \pm 0,22$  балла, тогда как на специфический тест-аллерген ЭСХД –  $1,50 \pm 0,30$  балла ( $t=1,19$ ;  $p > 0,05$ ).

Перекрестные реакции при использовании различных грибковых аллергенов, даже на грибы разного рода, известны достаточно давно, а антигенное родство между грибами одного вида еще более существенно [5]. Так, у сенсibilизированных клетками *Candida albicans* морских свинок установлены высокая частота и выраженность перекрестных аллергических реакций на антигены плесневых грибов и даже на их продуцент пенициллин [13].

Следовательно, установление наличия в сухих хлебопекарных, винных и спиртовых дрожжевых грибах общих антигенных иммунодетерминант обуславливает возможность формирования полисенсibilизации при их ингаляционном поступлении в организм и высокий

риск развития перекрестных аллергических реакций у контактирующих с ними лиц.

Данный факт имеет важное значение, поскольку позволяет учитывать его в обосновании единой ПДК<sub>врс</sub>, используя нормированный штамм сухих дрожжевых клеток в качестве референс-аллергена.

**Выводы.** Результаты выполненных экспериментальных исследований позволяют сделать следующие выводы:

1. С использованием разработанного оригинального способа, основанного на окислительном гидролизе органической кислотой поверхностных  $\beta$ -глюкозидных связей между элементарными звеньями азотсодержащего полисахарида (хитин) клеточной стенки грибов и последующем экстрагировании в щелочной среде, получены экстракты-аллергены из сухих хлебопекарных, винных и спиртовых дрожжевых грибов с высоким содержанием растворимых белоксодержащих субстанций, достаточным для экспериментального моделирования их воздействия на организм и выявления особенностей биологического действия.

2. Обоснована альтернативная краткосрочная методика, включающая унифицированную технологию воспроизведения и объективного выявления гиперчувствительности замедленного типа в эксперименте на белых мышах, которая позволяет установить степень аллергенной активности и класс аллергенной опасности веществ биологической природы по их растворимым белково-антигенным субстанциям.

3. Экспериментально установлено, что белково-антигенные комплексы сухих хлебопекарных, винных и спиртовых дрожжевых грибов обладают сильной сенсibilизирующей способностью (аллергенной активностью) и отнесены к I классу аллергенной опасности (чрезвычайно опасный производственный аллерген).

4. Хлебопекарные, винные и спиртовые дрожжевые грибы имеют общие антигенные иммунодетерминанты, что определяет высокую вероятность формирования полисенсibilизации организма при их ингаляционном воздействии в производственных условиях и высокий риск развития перекрестных аллергических реакций у контактирующих с ними лиц.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Список литературы

1. Состояние здоровья работников биотехнологических производств / В.В. Шевляков, В.А. Филонюк, Т.М., Рыбина Е.В. Чернышова, О.Ф. Кардаш, Г.И. Эрм, А.В. Буйницкая, Т.С. Студеничник // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2014. – Т. 13, № 3. – С. 127–138.
2. Особенности специфического вредного действия производственного микробного фактора на организм работников биотехнологических предприятий / В.А. Филонюк [и др.] // Донозоология и здоровый образ жизни. – 2015. – № 1 (16). – С. 35–41.
3. Филонюк В.А., Шевляков В.В., Дудчик Н.В. Методология гигиенического регламентирования микробных препаратов и разработки методик выполнения измерений содержания микроорганизмов в воздухе рабочей зоны. – Минск: БелНИИТ «Транстехника», 2018. – 264 с.
4. Требования к постановке токсиколого-аллергологических исследований при гигиеническом нормировании белоксодержащих аэрозолей в воздухе рабочей зоны: метод. указания № 11-11-10-2002 / В.В. Шевляков [и др.] // Сборник официальных документов по медицине труда и производственной санитарии. – Минск: Бизнесофсет, 2004. – Ч. XIV. – С. 4–49.
5. Фрадкин В.А. Аллергены. – М.: Медицина, 1978. – С. 76–79.
6. Шевляков В.В., Филонюк В.А., Эрм Г.И. Лабораторный метод получения и оценка эффективности применения в аллергодиагностике тест-аллергена из промышленного штамма дрожжевых грибов *Saccharomyces cerevisiae* // Медико-биологические проблемы жизнедеятельности. – 2015. – № 2 (14). – С. 94–100.
7. Вершигора А.Е. Микробная аллергия. – Киев: Здоров'я, 1971. – С. 87–96.
8. Соколовский В.В., Павлова Г.Н., Шлейкин А.Г. Количественное определение белка БВК в воздухе и сточных водах // Гигиена и санитария. – 1980. – № 4. – С. 75–77.
9. Р. 11-11-11 РБ 02. Классификация и перечень аллергоопасных для человека промышленных веществ, основные меры профилактики: руководство / В. В. Шевляков [и др.] // Сборник официальных документов по медицине труда и производственной санитарии. – Минск: Бизнесофсет, 2003. – Ч. XI. – С. 94–126.
10. Gad S.C., Dunn B.J., Dobbs D.W. Development and validation of an alternative dermal sensitization test: the mouse ear swelling test (MEST) // Toxicol. and Appl. Pharmacol. – 1986. – Vol. 84, № 1. – P. 93–114.
11. Черноусов А. Д. Метод определения аллергенной активности низкомолекулярных химических веществ на мышах // Гигиена труда и профессиональная патология. – 1987. – № 5. – С. 45–47.
12. Алексеева О.Г. Иммунология профессиональных хронических бронхолегочных заболеваний. – М.: Медицина, 1987. – 224 с.
13. Рукавишников В.С., Соседова Л.М. Медико-гигиенические проблемы промышленной биотехнологии. – Иркутск: НЦРВХ СО РАМН, 2012. – С. 87–89.

*Токсиколого-гигиеническая оценка аллергенной активности и опасности сухих дрожжевых грибов / С.И. Сычик, В.В. Шевляков, В.А. Филонюк, Г.И. Эрм, Е.В. Чернышова // Анализ риска здоровью. – 2018. – № 2. – С. 96–104. DOI: 10.21668/health.risk/2018.2.11*

**TOXICOLOGICAL AND HYGIENIC ASSESSMENT OF ALLERGENIC ACTIVITY  
AND HAZARDS CAUSED BY DRY YEAST FUNGI****S.I. Sychik, V.V. Shevlyakov, V.A. Filonyuk, G.I. Erm, E.V. Chernyshova**

Scientific-practical Hygiene Center, 8 Akademicheskaya Str., Minsk, 220012, Republic of Belarus

*This research significance was determined by the fact that health disorders, mostly allergenic ones and immune pathologies, prevailed among workers exposed to native yeast fungi of *Saccharomyces cerevisiae* L153 strain and dry bakery yeast. We observed apparent shifts and imbalance between humoral and cellular immune system parameters and detected allergenic responses in a body which had occupational etiology. Our research goal was to experimentally determine sensitizing power and allergenic hazards of dry bakery, wine, and spirit yeast fungi. We developed an original technique based on oxidizing hydrolysis which we performed with an organic acid on surface  $\beta$ -glucoside bonds between elementary units of nitrogen-containing polysaccharide (chitin); the next stage was extraction in alkaline medium, and it allowed us to obtain extracts-allergens out of dry bakery, wine, and spirit yeast fungi with high contents of soluble protein-containing substances. It was quite sufficient for experimental modeling of their impacts on a body and detecting peculiarities of their biological effects.*

*We validated an alternative short-term procedure which includes unified technology aimed at reproducing and objective detection of delayed hypersensitivity during an experiment performed on white mice. This procedure allows to detect allergenic power and allergenic hazard of a biological substance using its soluble proteins-antigens.*

*Our experiments allowed to reveal that protein-antigen complexes contained in dry bakery, wine, and spirit yeast fungi had high sensitizing powers (allergenic powers) and belonged to the 1st allergenic hazard category (extremely dangerous occupational allergen).*

*We showed that bakery, wine, and spirit yeast fungi had common antigen immune determinants. It makes body polysensitization quite possible under inhalation exposure to them in working conditions and causes high risks of cross allergic responses in people who contact them.*

**Key words:** health disorders, inhalation exposure, yeast fungi, extracts, oxidizing hydrolysis, sensitizing power, allergenic hazard.

**References**

1. Shevlyakov V.V., Filonyuk V.A., Rybina T.M., Chernyshova E.V., Kardash O.F., Erm G.I., Bunit-skaya A.V., Studenichnik T.S. Sostoyanie zdorov'ya rabotnikov biotekhnologicheskikh proizvodstv [Health of workers employed at biotechnological productions]. *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*, 2014, vol. 13, no. 3, pp. 127–138 (in Russian).
2. Filonyuk V.A. [et al.]. Osobennosti spetsificheskogo vrednogo deistviya proizvodstvennogo mikrobnogo faktora na organizm rabotnikov biotekhnologicheskikh predpriyatii [Peculiarities of specific adverse effects exerted by occupational microbe factors on workers employed at biotechnological productions]. *Donozologiya i zdorovyi obraz zhizni*, 2015, vol. 1, no. 16, pp. 35–41 (in Russian).
3. Filonyuk V.A., Shevlyakov V.V., Dudchik N.V. Metodologiya gigienicheskogo reglamentirovaniya mikrobnikh preparatov i razrabotki metodik vypolneniya izmerenii soderzhaniya mikroorganizmov v vozdukh rabochei zony [Procedures for hygienic standardization of microbe preparations and development of techniques for microorganisms contents measuring in working area air]. Minsk, BelNIIT «Transtekhnika» Publ., 2018, 264 p. (in Russian).

---

© Sychik S.I., Shevlyakov V.V., Filonyuk V.A., Erm G.I., Chernyshova E.V., 2018

**Sergei I. Sychik** – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Head (e-mail: svkasul@mail.ru; tel.: +375 (17) 284-03-87, +7 (029) 304-32-11).

**Vitalii V. Shevlyakov** – Doctor of Medical Sciences, Professor, Chief Researcher at Industrial Toxicology Laboratory (e-mail: shev-vitaliy@mail.ru; tel.: +375 (17) 284-13-96, +7 (029) 180-50-26).

**Vasilii A. Filonyuk** – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Leading Researcher at Industrial Toxicology Laboratory (e-mail: rspch@rspch.by; tel.: +375 (17) 284-13-74).

**Galina I. Erm** – Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher at Industrial Toxicology Laboratory (e-mail: rspch@rspch.by; tel.: +375 (17) 284-13-74).

**Elena V. Chernyshova** – Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher at Industrial Toxicology Laboratory (e-mail: rspch@rspch.by; tel.: +375 (17) 284-13-74).

4. Shevlyakov V.V. [et al.]. Trebovaniya k postanovke toksikologo-allergologicheskikh issledovaniy pri gigenicheskom normirovaniy beloksoderzhashchikh aerazolei v vozdukh rabochei zony: metod. ukazaniya № 11-11-10-2002 [Requirements to toxicological and allergic examination procedures in creating hygienic standards for protein-containing aerosols in working area air: methodological guidelines No. 11-11-10-2002]. *Sbornik ofitsial'nykh dokumentov po meditsine truda i proizvodstvennoi sanitarii*. Minsk, Biznesofset Publ., 2004, part XIV, pp. 4–49 (in Russian).
5. Fradkin V.A. Allergeny [Allergens]. Moscow, Meditsina Publ., 1978, pp. 76–79 (in Russian).
6. Shevlyakov V.V., Filonyuk V.A., Erm G.I. Laboratornyi metod polucheniya i otsenka effektivnosti primeniya v allergodiagnostike test-allergena iz promyshlennogo shtamma drozhzhevykh gribov *Saccharomyces cerevisiae* [Laboratory method for obtaining and estimation of efficiency of the application in the allergological diagnostics test-allergen from an industrial strain of yeast fungi *saccharomyces cerevisiae*]. *Mediko-biologicheskie problemy zhiznedeyatel'nosti*, 2015, vol. 2, no. 14, pp. 94–100 (in Russian).
7. Vershigora A.E. Mikrobnaya allergiya [Microbe allergy]. Kiev, Zdorovya Publ., 1971, pp. 87–96 (in Russian).
8. Sokolovskii V.V., Pavlova G.N., Shleikin A.G. Kolichestvennoe opredelenie belka BVK v vozdukh i stochnykh vodakh [Quantitative determination of protein-vitamin concentrate in the air and sewage]. *Gigiena i sanitariya*, 1980, no. 4, pp. 75–77 (in Russian).
9. Shevlyakov V.V. [et al.]. Klassifikatsiya i perechen' allergoopasnykh dlya cheloveka promyshlennykh veshchestv, osnovnye mery profilaktiki: rukovodstvo R 11-11-11 RB 02 [Classification and list of industrial substances which are hazardous for human health and basic prevention activities: Guide No. 11-11-11 RB 02]. *Sbornik ofitsial'nykh dokumentov po meditsine truda i proizvodstvennoi sanitarii*. Minsk, Biznesofset Publ., 2003, part XI, pp. 94–126 (in Russian).
10. Gad S.C., Dunn B.J., Dobbs D.W. Development and validation of an alternative dermal sensitization test: the mouse ear swelling test (MEST). *Toxicol. and Appl. Pharmacol*, 1986, vol. 84, no. 1, pp. 93–114.
11. Chernousov A.D. Metod opredeleniya allergennoi aktivnosti nizkomolekulyarnykh khimicheskikh veshchestv na myshakh [A procedure to determine allergenic power of low-molecular chemicals on mice]. *Gigiena truda i professional'naya patologiya*, 1987, no. 5, pp. 45–47 (in Russian).
12. Alekseeva O.G. Immunologiya professional'nykh khronicheskikh bronkholegochnykh zabolevanii [Immunology of occupational chronic bronchopulmonary diseases]. Moscow, Meditsina Publ., 1987, 224 p. (in Russian).
13. Rukavishnikov V.S., Sosedova L.M. Mediko-gigienicheskie problemy promyshlennoi biotekhnologii [Medical and hygienic problems related to industrial biotechnologies]. Irkutsk, NTsRVKh SO RAMN Publ., 2012, pp. 87–89 (in Russian).

*Sychik S.I., Shevlyakov V.V., Filonyuk V.A., Erm G.I., Chernyshova E.V. Toxicological and hygienic assessment of allergenic activity and hazards caused by dry yeast fungi. Health Risk Analysis, 2018, no. 2, pp. 96–104. DOI: 10.21668/health.risk/2018.2.11.eng*

Получена: 27.05.2018  
Принята: 17.06.2018  
Опубликована: 30.06.2018