

Л.М. Соседова

**К ВОПРОСУ О БИОБЕЗОПАСНОМ УРОВНЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ
УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ ДРОЖЖЕПОДОБНЫХ ГРИБОВ-ПРОДУЦЕНТОВ****Ангарский филиал ФГБУ «ВСНЦ ЭЧ» СО РАМН – НИИ медицины труда и экологии человека (Ангарск)**

Проведенными исследованиями установлена фактическая дозовая аэрогенная нагрузка микроорганизмов-продуцентов кормового белка на организм работающих двух предприятий биотехнологической промышленности. Количественная величина уровней загрязнения воздуха рабочей зоны позволила выявить зависимость производственно-обусловленной заболеваемости, миконосительства и специфической резистентности организма от дозовой нагрузки микроорганизмов-продуцентов. Выделены следующие уровни риска: минимальный, когда фактическая дозовая нагрузка не выходит за пределы нормативной; повышенный, когда фактическая дозовая нагрузка превышает нормативную до 6,5 раз; высокий, когда кратность превышения составляет свыше 6,5 раз. Частота выявления критериально-значимых показателей донозологической диагностики (сочетание миконосительства с положительными результатами аллерготестов БТ и РТМЛ) в зоне минимального риска, постепенно нарастая, является в то же время незначительной. По мере увеличения дозовой нагрузки возрастает и количество работающих с сочетанием указанных признаков. В зоне высокого риска наблюдается резкий подъем частоты выявления показателей, являющихся критериями донозологической диагностики профессионального риска. Предложенные критерии риска развития профессиональной и производственно-обусловленной патологии позволяют профпатологам и цеховым врачам связать возникшие нарушения в состоянии здоровья работающих с воздействием профессионального микробного фактора даже в случае отсутствия превышения ПДК микроорганизмов-продуцентов в воздухе производственных помещений. На данном этапе исследований не представляется возможным рекомендовать безопасный для организмов уровень воздействия микроорганизмов-продуцентов кормового белка, так как даже минимальная дозовая нагрузка приводит к формированию миконосительства, специфическим изменениям иммунной системы и повышенным уровням производственно-обусловленной заболеваемости. Анализируя результаты проведенной работы, можно заключить, что концепция пороговости при регламентировании ПДК для условно-патогенных микроорганизмов-продуцентов нуждается в уточнении и возможной ее корректировке, а дозовая нагрузка микроорганизмов-продуцентов с позиций дозо-эффектных зависимостей требует более осторожного подхода к ее оценке для предприятий биотехнологического синтеза.

Ключевые слова: микроорганизмы, продуценты, рабочие, дозовая нагрузка

**TO THE QUESTION OF BIOSAFE LEVEL OF EXPOSURE
OF RELATIVELY-PATHOGENIC YEAST-LIKE MYCOTIC SUBSTANCES**

L.M. Sosedova

Research Institute of Occupational Medicine and Human Ecology – FSBE «ESSC HE» SD RAMS, Angarsk

Performed studies showed an actual dosed aerogenic load of microorganisms-producers of a fodder-protein on the organisms of workers of two enterprises of microbiological industry. A quantitative value of air pollution levels of a working zone allowed to reveal the dependence of a production-induced morbidity, mico-carrying and a specific resistance of organism to a dosed load of microorganism-producers. The following levels of risk were identified: minimum when the actual dosed load does doesn't exceed the limits of the normative; increased when the actual dosed load exceeds the normative up to 6,5 times; high when the ratio of the excess is more than 6,5 times. The frequency of detection of criteria significant indices of prenosological diagnostics (combination of mico-carrying with positive results of allergotests) in the zone of minimal risk gradually grows and is insignificant at the same time. While the dosed load is growing the number of working with a combination of these symptoms increases too. In the zone of high risk there is a sharp rise of frequency of detection of indices, that are the criteria of prenosological diagnostics of professional risk. The proposed criteria of risk of the development of vocational and production-induced pathology will allow occupational pathologists and craft physicians to link the resulting violations in the health status of employees with an action of professional microbial factor even in the absence of the maximum allowable concentration of microorganisms-producers in the air of industrial premises. A safe level of exposure to microorganism-producers of a fodder protein cannot be recommended on this stage of the study, because even a minimal dosed load would lead to forming myco-carrying, specific alterations of an immune system and higher levels of production-induced morbidity. While analyzing the results of the conducted work we can conclude that the concept of limen concentration at the regulation of maximum allowable concentration for relatively-pathogenic microorganisms-producers needs to be clarified and its possible adjustment and dosed load of microorganisms-producers of the positions dose-spectacular dependencies requires more cautious approach to the evaluation for the enterprises of biotechnological synthesis.

Key words: microorganisms, producers, employees, dosed load

Высокая рентабельность и широкая потребность в продукции для медицины, ветеринарии, сельского хозяйства, пищевой и химической отраслей позволяет отнести промышленную биотехнологию к наиболее перспективным отраслям

производства, выпускающим широкий ассортимент продукции. Это антибиотики, витамины, ферменты, вакцины, гормоны, аминокислоты и нуклеотиды, комплемент и препараты крови, иммуномодуляторы и антитела, диагностические,

сердечно-сосудистые, противоопухолевые и прочие фармакологические препараты; пищевые и кормовые белки, биологические средства защиты растений, инсектициды, сахара, спирты, липиды, дрожжи, органические и неорганические кислоты, бутанол, ацетон и многие другие вещества, без которых немислима сегодняшняя жизнь. Особенности технологического процесса дают возможность сделать микробиологическую отрасль экологически безопасной, не имеющей отходов.

Из всех видов биотехнологических продуктов наибольший удельный вес в нашей стране занимают кормовые белковые добавки, выпуск которых в настоящее время осуществляют около 100 гидролизно-дрожжевых и биохимических заводов, производящих в год до 300 тысяч тонн кормовых дрожжей. На опытно-промышленных установках внедряются новые технологические процессы получения новых видов продукции микробиологического синтеза. Например, из отрубей, зерна, мелассы путем микробиологического синтеза производится кормовая белковая смесь — белотин. Однако успехи биотехнологических разработок сдерживает реальная опасность возникновения биологического загрязнения, являющегося следствием низкого технического и технологического уровня существующих производств. На сегодняшний день наблюдается значительное отставание в решении токсико-гигиенических и экологических проблем биологического загрязнения, по сравнению с аналогичными исследованиями химических веществ [9].

На Пленуме Научного совета по экологии человека и гигиене окружающей среды РАМН и МЗ РФ, посвященном методологическим проблемам изучения, оценки и регламентирования биологических факторов сделан акцент на дальнейшем развитии исследований по обеспечению безопасности населения и работающих при контакте с промышленными микроорганизмами-продуцентами и необходимости разработки методических подходов к гигиеническому нормированию микроорганизмов, используемых в биотехнологических процессах [9].

Существовавшая многие годы в медицине труда и токсикологии концепция пороговости действия вредных факторов и основанные на ней величины ПДК и ПДУ должны гарантировать сохранение здоровья и являться основой безопасности при условии обязательного их соблюдения на рабочих местах. Необходимой при этом фрагментом исследований должна быть корректировка установленных в эксперименте величин ПДК и ПДУ вредных факторов с результатами их клинико-гигиенической апробации, так как не всегда можно полностью экстраполировать патологические эффекты, развивающиеся у лабораторных животных, на человеческий организм [3]. При прогнозировании профессиональной заболеваемости до сих пор считается определяющим принцип «доза — эффект» [2, 4, 6]. Вместе с тем, с одной стороны, ПДК и ПДУ не всегда соблюдаются, а с другой стороны, формируется мнение, что в некоторых случаях они являются недостаточными для

обеспечения безопасных условий труда [11, 14]. По-видимому, не во всех случаях регламентация вредных факторов, основанная на определении пороговых и подпороговых доз в токсикологическом эксперименте, является достаточно надежной для организма работающих.

При оценке биобезопасности промышленных микроорганизмов также используются общие методологические принципы нормирования вредных веществ в объектах окружающей среды: определение порогового уровня биологического воздействия и установление гигиенического норматива в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе населенных мест [15]. При этом обязательным условием с целью корректировки экспериментально установленных ПДК является проведение клинико-гигиенических исследований, которое практически в настоящий момент не выполняется.

В связи с этим целью наших исследований явилась клинико-гигиеническая апробация в натуральных условиях безопасного уровня воздействия на работающих дрожжеподобных грибов рода Кандида в воздухе рабочей зоны.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на Ангарском биотехнологическом заводе (АБЗ) и Братском биолесохимическом заводе (ББЗ), имеющих аналогичную принципиальную схему технологических процессов по выпуску кормового белка. В качестве продуцентов на заводах применялись условно-патогенные дрожжеподобные грибы: рода Кандида (АБЗ) и рода Трихоспорон (ББЗ), характеризующиеся однотипными морфолого-биологическими особенностями и общностью антигенной структуры клеток [2]. Вышесказанное позволило нам провести сравнение полученных показателей среди работающих двух заводов.

Исследования включали оценку среднесменной концентрации микроорганизмов-продуцентов (МОП) и фактической дозой нагрузки на организм работающих в течение смены, Миконосительство дрожжеподобных грибов-продуцентов в ротовой полости и носоглотке исследовалось у 166 работающих. Специфический иммунный ответ организма на воздействие МОП изучался с помощью реакции торможения миграции лейкоцитов (РТМЛ) и базофильного теста (БТ), отражающих повышенную чувствительность замедленного и немедленного типов (356 анализов). Заболеваемость с временной утратой трудоспособности (ЗВУТ) рассчитывалась по общепринятым в гигиене методам.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Принимая во внимание утвержденную ПДК МОП ($500 \text{ кл}/\text{м}^3$) [8] и расчеты минимального дыхательного объема легких ($0,81 \text{ м}^3/\text{час}$), длительность смены (12 часов), нами определена нормативная среднесменная дозовая нагрузка на организм работающих в биотехнологических производствах кормового белка — 4860 клеток МОП. Фактическая же дозовая нагрузка МОП, получаемая рабочими основ-

Таблица 1

Фактическая дозная нагрузка микроорганизмов-продуцентов на организм работающих различных профессиональных групп Братского и Ангарского биотехнологических заводов при 12-часовой рабочей смене

Категории профессий работающих	Интегральная среднесменная концентрация МОП (кл/м³)	Среднесменная дозная нагрузка МОП (кл)	Превышение показателей дозной нагрузки на ББЗ к заводу АБЗ	Кратность превышения нормативной нагрузки
Сепараторщики	10097.8 ± 42.9 228.9 ± 3.6	98150.5 2224.9	44,1	$\frac{20.2}{0.45}$
Операторы выращивания	3233.2 ± 19.3 26.0 ± 0.48	31426.7 252.72	124,3	$\frac{6.46}{0.05}$

Примечание: над чертой – показатели работающих ББЗ; под чертой – показатели работающих АБЗ.

ных профессий за 12-часовую смену и рассчитанная нами с учетом среднесменных концентраций, значительно отличается от нормативной (табл. 1).

Реальная среднесменная экспозиция микроорганизмов сепараторщиков на ББЗ превышает нормативную в среднем в 20,2 раза, кроме этого на организм работающих воздействуют усугубляющие производственные факторы: комплекс химических веществ, включающих фурфурол, аэрозоль серной кислоты, фенол, щелочь, а также высокая влажность воздуха производственных помещений. Следствием неблагоприятного влияния на сепараторщиков совокупности чрезмерно высокой экспозиции действующих факторов явились высокий уровень нетрудоспособности лиц обоего пола, значительная частота и интенсивность показателей специфической иммунологической перестройки организма и выявляемое у подавляющего большинства (85,7 %) работающих миконосительство. Профессиональное миконосительство на АБЗ обнаруживалось лишь у 32,6 % сепараторщиков. Установлено, что наиболее часто повышенная чувствительность выявлялась у сепараторщиков ББЗ (РТМЛ – 66,7 %; БТ – 28,6 %), по сравнению с операторами выращивания чистой культуры (РТМЛ – 27,3 %; БТ – 9,1 %; $p < 0,05$). У сепараторщиков АБЗ результаты положительных аллерготестов также определялись чаще, чем у операторов выращивания чистой культуры (соответственно, 39,1 %, 47,8 % и 34,2 %, 28,9 %).

Таким образом, на АБЗ дозная нагрузка МОП у сепараторщиков меньше нормативной в 2,2 раза, отсутствуют усугубляющие производственные факторы химической этиологии. Вместе с тем, и у них определялись изменения вышеперечисленных показателей, хотя и с достоверно меньшей частотой. При этом, даже фактическая дозная нагрузка в отделении выращивания, составляющая около 5 % от среднесменной нормативной, приводила к формированию миконосительства и специфическим изменениям иммунной системы (рис. 1).

Анализ результатов исследований показал, что в том диапазоне концентраций МОП, который наблюдался на изученных заводах, порог, ниже которого отсутствуют эффекты действия, так и не был обнаружен. Иными словами, действующая ПДК не оказалась безопасной для здоровья работающих, и на данном этапе исследований не представляется возможным рекомендовать безопасный для ор-

ганизма уровень воздействия дрожжеподобных грибов-продуцентов.

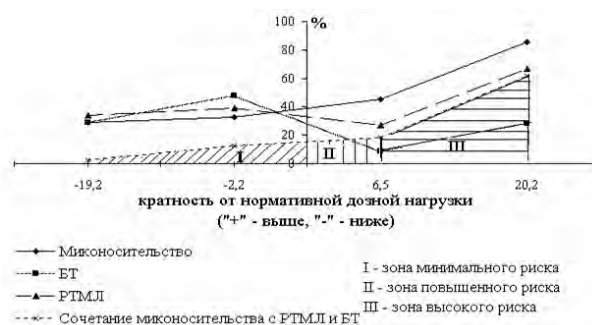


Рис. 1. Показатели специфического иммунного ответа и миконосительства в зависимости от фактической дозной нагрузки.

Учитывая, что на сегодняшний день практически невозможно создание технологических циклов, исключая попадание в производственные помещения МОП, мы предлагаем для гигиенического регламентирования профессионального микробного фактора биотехнологических производств ввести понятие «уровень или концентрация риска», базирующееся на кратности превышения нормативной дозной нагрузки в совокупности с критериально-значимыми показателями донозологической диагностики. В соответствии с вышеуказанным принципом нами выделены следующие уровни риска: минимальный, когда фактическая дозная нагрузка не выходит за пределы нормативной; повышенный, когда фактическая дозная нагрузка превышает нормативную до 6,5 раз, и высокий, когда кратность превышения составляет свыше 6,5 раз. Частота выявления критериально-значимых показателей донозологической диагностики (сочетание миконосительства с положительными результатами аллерготестов БТ и РТМЛ) в зоне минимального риска, постепенно нарастая, является в то же время незначительной (рис. 1). По мере увеличения дозной нагрузки возрастает и количество работающих с сочетанием указанных признаков. В зоне высокого риска наблюдается резкий подъем частоты выявления показателей, являющихся критериями донозологической диагностики профессионального риска. Предложенные критерии риска развития профессиональной и производственно-обусловленной патологии позволят профпатологам и цеховым врачам связать возникшие нарушения в состоянии здоровья работающих с воздействием

профессионального микробного фактора даже в случае отсутствия превышения ПДК МОП в воздухе производственных помещений.

Справедливость полученных результатов клинико-гигиенических исследований, по нашему мнению, может следующая концепция. Применяемые в биотехнологических производствах условно-патогенные дрожжеподобные грибы-продуценты, попадая при вдыхании, курении или приеме пищи в организм человека, находят там благоприятные условия для роста и размножения, так как температура человеческого тела идеально соответствует их температуре роста. Vegetация дрожжеподобных грибов на слизистой носоглотки и верхних дыхательных путях приводит к постепенному формированию производственно-обусловленного миконительства, которое сохраняется и после отдыха рабочих (исследования перед сменой). Безусловно, определяющую роль при этом имеет степень контакта с микробным фактором [7]. Однако и минимальное содержание МОП в воздухе рабочей зоны, составляющее 20 клеток/м³, при постоянном воздействии может способствовать развитию массивного миконительства вследствие интенсивного роста и размножения грибов в организме. Благоприятствовать данному процессу могут следующие сопутствующие факторы: ослабление иммунной системы организма, повышенное содержание сахара в крови, употребление в пищу излишнего количества углеводов, хронические воспалительные процессы, гиперреактивность дыхательных путей. В случае персистенции грибковых антигенов, по мнению многих авторов, развивается хроническая местная повреждающая реакция гиперчувствительности замедленного типа [13, 17]. Секреция цитокинов сенсибилизированными лимфоцитами ведет к накоплению активированных видоизмененных макрофагов, которые, собираясь в конгломераты вокруг микробных антигенов, могут образовывать в последующем гранулемы. Чаще всего подобные гранулемы возникают в местах персистенции, не поддающихся разрушению и удалению возбудителей, что является характерным для клеток дрожжеподобных грибов. Длительное и массивное носительство дрожжеподобных грибов на слизистых оболочках в конечном итоге может вызывать снижение иммунологической реактивности и, как следствие этого, компенсаторно-защитных возможностей организма с формированием соматической патологии. Считаем необходимым отметить, что моделировать миконительство с целью изучения в эксперименте его влияния на показатели гомеостаза у лабораторных животных, не представляется возможным, так как организм теплокровных животных, в отличие от человека, очищается от дрожжеподобных грибов в течение месяца.

Предложенная концепция позволяет объяснить факт выявления производственно-обусловленных сенсибилизации и миконительства у особо чувствительных работающих даже при минимальном

загрязнении воздушной среды производственных помещений МОП.

Анализируя результаты проведенной работы, можно заключить, что концепция пороговости при регламентировании ПДК для условно-патогенных микроорганизмов-продуцентов нуждается в уточнении и возможной ее корректировке, а дозная нагрузка МОП с позиций дозо-эффектных зависимостей требует более осторожного подхода к ее оценке для предприятий биотехнологического синтеза. Возможно, в данном случае следует применять принципы экологической токсикологии, изучающей действие малых доз, основанные на моделях линейного беспорогового действия, то есть таких доз, когда опасны все дозы, но, в первую очередь, для лиц с повышенной чувствительностью к соответствующему агенту [1, 5, 16]. В любом случае необходимо дальнейшее накопление научных фактов в изучении данного феномена. Следует согласиться с мнением И.В. Санюцкого о том, что «Завтра изменится уровень науки, могут изменяться и безопасные уровни воздействия. Это единственный надежный ориентир в мире противоречий и неразберих» [10].

ЛИТЕРАТУРА

1. Головки А.И. и др. Экоотоксикология. — СПб.: Изд-во НИИХ СПбГУ, 1999. — 124 с.
2. Елинов Н.П. Патогенные дрожжеподобные организмы. — М.: Медицина, 1964. — 383 с.
3. Измеров Н.Ф. и др. Этика биомедицинских исследований в медицине труда // Мед. труда и пром. экология. — 2000. — № 12. — С. 2–7.
4. Измеров Н.Ф. и др. Методология оценки профессионального риска в медицине труда // Мед. труда и пром. экология. — 2001. — № 12. — С. 1–7.
5. Курляндский Б.А., Филос В.А. Общая токсикология. — М., 2002. — 609 с.
6. Любченко П.Н. Значение новых диагностических технологий для оценки прогноза профессиональных заболеваний // Мед. труда и пром. экология. — 2001. — № 12. — С. 7–12.
7. Пивоваров Ю.П. и др. Проблемы и перспективы гигиенического нормирования биотехнологических штаммов микроорганизмов // Методологические проблемы изучения, оценки и регламентирования биологических факторов в гигиене окружающей среды: Матер. Пленума НС по экологии человека и гигиене окружающей среды РАМН и МЗ РФ. — М., 2009. — С. 9–11.
8. Предельно допустимые концентрации (ПДК) микроорганизмов-продуцентов, бактериальных препаратов и их компонентов в воздухе рабочей зоны. Издание официальное ГН 2.2.6.709-98.
9. Рахманин Ю.А. Научно-методические основы изучения, оценки и регламентирования биологических факторов в гигиене окружающей среды // Методологические проблемы изучения, оценки и регламентирования биологических факторов в гигиене окружающей среды: Матер. Пленума НС по экологии человека и гиг. окр. среды РАМН и МЗ РФ. — М., 2009. — С. 3–9.

10. Саноцкий И.В. Теория и практика противохимической защиты среды обитания человека // Вестник АМН. — 1991. — № 1. — С. 4–9.
11. Саноцкий И.В. Индивидуальная реактивность и вероятность изменения здоровья человека при химических воздействиях (полемика по принципиальным вопросам) // Мед. труда и пром. экология. — 1993. — № 3–4. — С. 9–12.
12. Степкин Ю.И. и др. К вопросу оценки микробиологического риска // Методологические проблемы изучения, оценки и регламентирования биологических факторов в гигиене окружающей среды: Матер. Пленума НС по экологии человека и гигиене окружающей среды РАМН и МЗ РФ. — М., 2009. — С. 286–287.
13. Фрейндлин И.С. Тотолян А.А. Клетки иммунной системы. — СПб.: Наука, 2001. — 390 с.
14. Чибураев В.И. и др. К вопросу о гигиеническом нормировании допустимого содержания взвешенных частиц в атмосферном воздухе // Мед. труда и пром. экология. — 2000. — № 3. — С. 5–9.
15. Шеина Н.И. и др. Современное состояние проблемы биобезопасности промышленных микроорганизмов в России // Прикладная токсикология. — 2011. — № 2. — С. 10–18.
16. Bhattacharya S. The genesis, studies and future of environmental toxicology // Ind. J. Exp. Biol. — 1996. — N 6. — P. 491–495.
17. Murphy J.W. Mechanisms of natural resistance to human pathogenic fungi // Ann. Rev. Microbiol. — 1991. — N 45. — P. 509–538.

Сведения об авторе

Соседова Лариса Михайловна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией токсикологии Ангарского филиала ФГБУ «ВСНЦ ЭЧ» СО РАМН (665827, г. Ангарск, Иркутской обл., 12а мкр., д. 3, а/я 1170; тел. 8 (3955) 55-40-79, факс: 8 (3955) 55-40-77; e-mail: imt@irmail.ru)