

УДК [613.633:667.143]:006.036+57.083.32

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-АНАЛИТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПДК В ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ ЗОНЫ АЭРОЗОЛЕЙ СУХИХ ПРОДУКТОВ, СОДЕРЖАЩИХ СМЕСЬ СЫВОРОТОЧНЫХ И КАЗЕИНОВЫХ БЕЛКОВ МОЛОКА

Баранов С. А.¹, Шевляков В. В.¹, Филонюк В. А.^{1,2}

¹Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены», г. Минск, Республика Беларусь;

²Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь

Реферат. В статье экспериментально обоснованы предельно допустимые концентрации в воздухе рабочей зоны (ПДКврз) по критерию ведущего вредного аллергического действия на организм аэрозолей сухих продуктов, содержащих только сывороточные или казеиновые белки коровьего молока, на уровне 0,1 мг/м³ по белку, 2-й класс опасности с отметкой «А» — аллерген. Научно обоснованы ПДКврз пыли сухих продуктов, содержащих смесь сывороточных и казеиновых белков молока (СБМ и КБМ) с учетом характера их комбинированного действия на организм, что и являлось целью работы.

При анализе результатов экспериментальных исследований установлено, что комплексы СБМ и КБМ, обладающие сильной сенсибилизирующей способностью, при ингаляционном изолированном воздействии на белых крыс в испытанных высоких концентрациях оказывают не одинаковое токсическое действие на организм, но однотипное аллергическое, а в низких концентрациях преимущественно проявляют схожие по выраженности аллергические реакции с их возможной иммуномодуляцией при комбинированном воздействии.

Опубликованные теоретические данные о подавлении иммунного ответа на один или несколько полных антигенов при их одновременном воздействии на организм в результате внутримолекулярной или межмолекулярной конкурентной иммуномодуляции между ними явились доказательством формирования в организме при одновременном совместном ингаляционном воздействии СБМ и КБМ комбинированного аддитивного или менее аддитивного характера аллергического действия. На этом основании обоснована величина ПДКврз аэрозолей сухих продуктов, содержащих смесь СБМ и КБМ, соответствующая таковой на пыль, содержащую только отдельные эти молочные протеины, на уровне 0,1 мг/м³, 2-й класс опасности с отметкой «А» — аллерген.

Ключевые слова: пыль сухих продуктов переработки молока, сывороточные и казеиновые белки коровьего молока, их смесь, биологические эффекты у лабораторных животных, ПДК в воздухе рабочей зоны.

Введение. Одной из стратегических задач развития Российской Федерации и Республики Беларусь как союзного государства является сохранение и укрепление здоровья работающего населения. Решение этой задачи — приоритетное направление государственной политики в области трудовых отношений в целях обеспечения здоровых и безопасных условий труда, сохранения здоровья и трудового потенциала работников, профилактики профессиональной заболеваемости.

Вместе с тем ряд больших профессиональных групп трудящихся, причем в неко-

торых важнейших отраслях промышленности, не имеют должной комплексной оценки факторов производственной среды и в целом условий труда и состояния здоровья работающих. К такой экономически и социально значимой отрасли хозяйствования в Беларуси безусловно относятся многочисленные предприятия по переработке коровьего молока-сырья и по производству разнообразных молочных продуктов, в том числе сухих продуктов переработки молока (далее — СППМ). В Беларуси функционирует 67 предприятий по переработке коровьего

молока, из них 22 — производят широкий ассортимент СППМ. Доля продукции молочной отрасли на протяжении последних лет занимает 3-е место в общем объеме экспорта Беларуси и составляет 3,9 %. На Республику Беларусь приходится 1,4 % мирового производства молока, 5 % мирового экспорта молочных продукции, в том числе 4,5 % в сухом виде [1].

Опубликованные результаты гигиенических исследований в основном посвящены вопросам условий труда и состоянию здоровья работников, занятых в производствах цельномолочной продукции. Однако в отдельных публикациях приводятся данные о высоких уровнях загрязнения воздуха рабочей зоны аэрозолями в основном сухого молока, с их сравнением с массовой ПДКвз пыли растительного и животного происхождения с примесью диоксида кремния менее 2 % на уровне 6 мг/м³ [3]. Однако эти ПДКвз не обеспечивают безопасные условия труда и профилактику профессиональной заболеваемости работников, поскольку не учитывают, что все виды органической пыли, в том числе аэрозоли СППМ, содержат белковые субстанции, которые как полные антигены при ингаляционном поступлении в организм работников в повышенных концентрациях могут вызывать гипериммунный ответ с формированием профессиональных аллергических заболеваний.

На этом основании выполнены экспериментальные исследования, которыми установлены эффективно действующие, пороговые и недействующие концентрации и по критерию ведущего вредного аллергического действия на организм молочных протеинов обоснованы групповые ПДКвз аэрозолей сухих продуктов, содержащих только комплексы СБМ или только КБМ на уровне 0,1 мг/м³ по белку, 2-й класс опасности с отметкой «А» — аллерген [4, 5].

Вместе с этим актуально обоснование ПДКвз пыли СППМ, содержащей смесь СБМ и КБМ, с учетом характера их комбинированного вредного действия при одновременном ингаляционном поступлении в организм.

Цель работы — экспериментальное обоснование гигиенического норматива содержания в воздухе рабочей зоны пыли сухих продуктов, содержащих смесь сывороточных

и казеиновых белков молока, с учетом характера их комбинированного действия на организм.

Материалы и методы. Объектами исследования являлись комплексы растворимых СБМ и КБМ, полученных оригинальными методами из пыли СППМ.

Экспериментальные исследования по изучению особенностей биологического действия и обоснованию ПДКвз аэрозолей сухих продуктов, содержащих СБМ или КБМ, выполнялись в соответствии с известной методологией гигиенического нормирования промышленной органической пыли по белково-антигенному комплексу [7].

Изучение особенностей дозозависимого биологического действия комплексов СБМ и КБМ осуществлялось в экспериментах по ингаляционному воздействию в течение месяца на организм белых крыс в четырех снижающихся концентрациях (2 группы контрольных и 8 групп опытных животных по 10 особей в каждой) с выявлением токсических и специфических эффектов комплексом методов и приемов исследования, информативно характеризующих морфофункциональное состояние организма и его отдельных систем и органов [4, 5, 7].

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 параметрической и непараметрической статистики с использованием лицензионного программного обеспечения Microsoft Office Excel 11 (Microsoft, США) и Statistica 10 (StatSoft, США). В качестве критерия достоверности различий между сравниваемыми показателями принимали уровень значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Наиболее широко и в больших объемах производятся и используются СППМ, содержащие смесь СБМ и КБМ (сухие цельное и обезжиренное молоко, сливки, пахта, молочный белок пищевых кондиций, различные сухие пищевые смеси для детей разных возрастов, беременных и кормящих женщин, диетического и спортивного питания, заменители цельного

молока для телят и пр.). При ингаляционном поступлении в организм работников пыли данных видов СППМ между комплексами СБМ и КБМ, которые существенно различаются по физико-химическим и антигенным свойствам, содержанию в коровьем молоке — казеиновых белков почти в 3 раза больше (74–80 %), чем сывороточных (20–32 %), может формироваться тот или иной характер комбинированного действия, что необходимо учитывать в обосновании ПДКврз аэрозолей СППМ.

Для определения возможного комбинированного токсического или специфического действия СБМ и КБМ предварительно выполнена сравнительная оценка особенностей биологического действия комплексов СБМ и КБМ на организм лабораторных животных.

В стандартных дозах воспроизведения и выявления сенсibilизации на морских свинках комплексы СБМ и КБМ одинаково вызвали развитие клеточноопосредованной аллергической реакции у всех опытных животных с несколько более высокой ее выраженностью на комплекс СБМ, чем на КБМ (соответственно $1,50 \pm 0,27$ и $1,25 \pm 0,16$ баллов), но разница была не существенна. И оба комплекса молочных протеинов по классификационным критериям оценены как чрезвычайно сильные промышленные аллергены [2].

В унифицированных условиях моделирования субхронического ингаляционного воздействия в одинаковых высоких концентрациях на уровне $3,0 \text{ мг/м}^3$ комплекс КБМ вызывал более выраженное токсическое действие, чем СБМ (таблица 1), которое проявлялось нарастанием массы опытных животных, возрастанием ОКМ печени, сопровождаемые нарушениями функционального состояния гепатобилиарной системы, особенно со стороны азотистого (увеличение содержания в сыворотке крови мочевины при значительном снижении мочевиной кислоты и креатинина) и липидного обмена (снижение в сыворотке крови триглицеридов и холестерина), обезвреживающих и метаболических процессов (снижение содержания в крови глюкозы и общего билирубина при высокой активности ферментов лактатдегидрогеназы, аспаратаминотрансферазы и щелочной фосфатазы) на фоне нарушений показателей функционального состояния мочевыделительной системы (снижение удельной массы и pH мочи, повышение содержания в моче глюкозы, билирубина и количества лейкоцитов), активации перекисного окисления липидов (увеличение содержания в гемолизате крови содержания SH-групп и глутатиона восстановленного, высокая активность фермента глутатионредуктаза) [4, 5].

Таблица 1 — Значимо отличающиеся от контроля морфофункциональные показатели опытных белых крыс после субхронического ингаляционного воздействия СБМ и КБМ в концентрациях на уровне $3,0 \text{ мг/м}^3$

Показатель	Опытные группы сравнения	
	СБМ	КБМ
Масса тела	0	+
ОКМ внутренних органов		
Сердце	0	—
Печень	0	+++
Надпочечники	++	0
Биохимические показатели сыворотки крови		
Железо	—	++
Глюкоза	+	— — —
Общий белок	+	0
Общий билирубин	— —	—
Мочевина	0	+
Мочевая кислота	0	— —
Креатинин	0	—
Триглицериды	0	— —
Холестерол	Н.и.	— — —

Окончание табл. 1

Показатель	Опытные группы сравнения	
	СБМ	КБМ
Лактатдегидрогеназа	+++	++
Гаммаглутамилтрансфераза	0	Н.и.
Аспартатаминотрансфераза	0	+
Щелочная фосфатаза	0	++
Липаза	+++	Н.и.
Гемолизат крови		
Глутатионредуктаза	Н.и.	++
Глутатионтрансфераза	Н.и.	0
SH-группы	0	++
Глутатион восстановленный	0	+
Показатели мочи		
Удельная масса	0	— — —
Величина рН	0	—
Общ. белок	Обн.	0
Билирубин	0	++
Кетоны	Обн.	Обн.
Глюкоза	0	Обн.
Лейкоциты	0	+
Эритроциты	+	0
Лейкоциты:	—	0
нейтрофилы, %	0	0
10 ⁹ /л	0	+
эозинофилы, %	+	0
10 ⁹ /л	0	0
лимфоциты, %	0	0
10 ⁹ /л	— —	0
Аллергологические и иммунологические показатели		
Активная кожная анафилаксия, мм	++	++
Гиперчувствительность замедленного типа, мм	++	+++
по внутрикожному тесту опухания лапы, балл	+++	+++
Реакция специфического лейколизиса	0	+
Реакция дегрануляции тучных клеток	++	н.и.
Циркулирующие иммунокомплексы	0	0
Комплементарная активность сыворотки крови	0	0
Реакция специфического НСТ-теста: индекс стимуляции	+++	++
Бактерицидная активность сыворотки крови	0	— — —

Примечания — 1. 0 — отсутствие достоверных сдвигов показателя по отношению к контрольной группе; 2. + или — — достоверное возрастание или снижение величины показателя по отношению к контролю при значимости $p < 0,05$; 3. ++ или — — — достоверное возрастание или снижение величины показателя по отношению к контролю при значимости $p < 0,01$; 4. +++ или — — — — достоверное возрастание или снижение величины показателя по отношению к контролю при значимости $p < 0,001$; 5. Обн. — обнаружены; 6. Н.и. — не исследовали.

Даже при снижении ингалируемой концентрации КБМ до 0,3 мг/м³ по белку у опытных белых крыс еще определялись достоверные по отношению к контролю отдельные показатели организма (снижение бактерицидной активности сыворотки крови

и активация фермента лактатдегидрогеназа), тогда как на воздействие комплекса СБМ в данной концентрации все изученные морфофункциональные показатели у опытных животных находились в пределах колебаний величин в группе контроля [4, 5].

Наиболее характерно развитие у опытных животных на ингаляционное поступление в организм комплексов СБМ и КБМ в высоких концентрациях однотипных выраженных аллергических реакций немедленного анафилактического (по достоверным показателям активной кожной анафилаксии и дегрануляции тучных клеток) и замедленно-клеточноопосредованного типов (высокие уровни интегрального показателя внутрикожного теста опухания лапы) с подтверждением смешанного характера гипериммунного ответа выраженной реакцией специфического НСТ-теста. Причем на воздействие комплекса КБМ у опытных животных отмечалась и активация механизма аллергической реакции цитотоксического типа (по возрастанию специфического лизиса лейкоцитов) [4, 5].

Установлено, что критерием ведущего вредного действия молочных протеинов при ингаляционном поступлении в организм является аллергический эффект, поскольку даже при снижении концентрации до $0,3 \text{ мг/м}^3$ у 40 % опытных животных на воздействие СБМ и у 37,5 % на воздействие КБМ определено развитие аллергической реакции при отсутствии достоверных различий средних величин аллергологических показателей в опытных и контрольных группах белых крыс. А данная концентрация СБМ и КБМ признана пороговой по лимитирующему показателю аллергического действия [4, 5]. Учитывая также, что в концентрации комплексов СБМ и КБМ на уровне $0,1 \text{ мг/м}^3$ все изученные морфофункциональные показатели организма белых крыс находились в пределах колебаний их величин в контрольной группе, то можно предположить возможную модуляцию их комбинированного действия на организм в низких концентрациях (пороговых и ниже) только по аллергическому эффекту.

Достаточно хорошо известно, что при одновременном введении в организм двух и более различных полных антигенов иммуномодуляция эффектов между ними имеет внутримолекулярный или чаще межмолекулярный конкурентный характер, что вследствие изменения кооперации Т- и В-лимфоцитов подобной индукции иммунологической толерантности в основном приводит к подавлению иммунного ответа на один или не-

сколько антигенов при сохранении или небольшом угнетении иммунной реакции на доминантный антиген. Причем при уменьшении дозы (концентрации) антигенов явления конкурентного подавления иммунного ответа на их совместное воздействие возрастают [6, 9, 10, 11].

Действительно, при перекрестном внутрикожном тестировании раствором сухого обезжиренного молока (СОМ), содержащего все молочные протеины, в боковые поверхности туловища морских свинок, сенсibilизированных растворами СБМ и КБМ (таблица 2), установлена высокая частота (5 из 8) и выраженность у опытных животных обеих групп специфических кожных реакций на СОМ (соответственно $0,75 \pm 0,25$ и $0,63 \pm 0,18$ баллов), которые достоверно превышали контрольный уровень ($p < 0,01$ по критерию U и $p < 0,05$ по критерию X), но были существенно ниже ($p < 0,05$ по t), чем при тестировании отдельными комплексами СБМ и КБМ [2].

Исходя из этих доказанных научных предпосылок вытекает, что при одновременном совместном ингаляционном воздействии на организм СБМ и КБМ как комплексов полных антигенов, особенно в низких концентрациях, иммуномодуляция аллергических эффектов между ними будет носить комбинированный аддитивный или менее аддитивный характер, но не потенцирование, характерное в основном для химических аллергенов [8].

Следовательно, величина ПДК в воздухе рабочей зоны аэрозолей сухих продуктов переработки коровьего молока, содержащих смесь сывороточных и казеиновых белков молока, будет соответствовать таковой на пыль, содержащую отдельные комплексы СБМ или КБМ, — на уровне $0,1 \text{ мг/м}^3$ по белку, 2-й класс опасности с отметкой «А» — аллерген.

Отметим, что несмотря на совпадение величин ПДК, разделение групповых ПДК пыли СППМ по содержанию комплексов СБМ и/или КБМ имеет принципиально важное значение с медицинских позиций, поскольку обеспечивает при необходимости верификацию профессионального генезиса возможной аллергической патологии у работника и дифференциальную диагностику с пищевой аллергией на молочные протеины.

Таблица 2 — Частота и выраженность гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) у морских свинок, сенсibilизированных внутрикожным введением в ухо комплексов сывороточных и казеиновых белков молока в стандартной дозе

Показатель	Группы сравнения ($M \pm m$)		
	Контрольная группа ($n = 9$)	1-я опытная группа СБМ ($n = 8$)	2-я опытная группа КБМ ($n = 8$)
ГЗТ по в/к тестированию:			
раствор СБМ, Н	0/9	7/8	1/8
балл	0	$1,63 \pm 0,32^{**1)}$	$0,13 \pm 0,13$
раствор КБМ, Н	0/9	0/8	8/8
балл	0	0	$1,50 \pm 0,19^{**1)}$
раствор СОМ, Н	0/9	5/8	5/8
балл	0	$0,75 \pm 0,25^{*2)}$	$0,63 \pm 0,18^{*2)}$

Примечание — Н: числитель — количество животных с положительными результатами провокационных кожных проб, знаменатель — всего в группе.

* Достоверные различия с контролем при $p < 0,01$ по критерию U или t .

** Достоверные различия с контролем при $p < 0,001$ по критерию U или t .

¹⁾ Достоверные различия с контролем при $p < 0,01$ по критерию X .

²⁾ Достоверные различия с контролем при $p < 0,05$ по критерию X .

Заключение. На основании представленных результатов выполненных экспериментальных исследований можно сделать следующие выводы:

1. Комплексы сывороточных и казеиновых белков молока, обладающие сильной сенсibilизирующей способностью, в экспериментах при ингаляционном изолированном воздействии на белых крыс в испытанных высоких концентрациях оказывают токсическое и специфическое аллергическое и иммунотоксическое действие на организм, а в низких концентрациях преимущественно проявляют однотипные аллергические эффекты с их возможной иммуномодуляцией при комбинированном воздействии.

2. Экспериментально-теоретические данные о подавлении иммунного ответа на один

или несколько полных антигенов при их одновременном воздействии на организм в результате внутримолекулярной или межмолекулярной конкурентной иммуномодуляции между ними являются доказательством формирования в организме при одновременном совместном ингаляционном воздействии СБМ и КБМ комбинированного аддитивного или менее аддитивного характера аллергического действия.

3. Обоснована величина ПДК в воздухе рабочей зоны аэрозолей сухих продуктов, содержащих смесь СБМ и КБМ, соответствующая таковой на пыль, содержащую только отдельные эти молочные протеины, на уровне $0,1 \text{ мг/м}^3$ по белку, 2-й класс опасности с отметкой «А» — аллерген.

Список цитированных источников

1. Молочная отрасль [Электронный ресурс] // Инвестиц. компания «ЮНИТЕР». — Режим доступа: http://www.uniter.by/upload/Dairy_industry.pdf. — Дата доступа: 26.06.2023.
2. Аллергенная активность и опасность промышленной пыли сухих продуктов переработки коровьего молока / С. А. Баранов [и др.] // Медицинский журнал. — 2021. — № 4. — С. 51–55.
3. Белова, Л. В. Гигиеническая оценка производственной среды на молочном комбинате / Л. В. Белова, И. А. Мишкич, Г. А. Кресова // Гигиена и санитария. — 1996. — № 3. — С. 17–20.
4. Критерии гигиенического нормирования в воздухе рабочей зоны аэрозолей сухих продуктов, содержащих сывороточные белки коровьего молока / С. А. Баранов [и др.] // Медико-биологические проблемы жизнедеятельности. — 2022. — № 2 (28). — С. 27–34.
5. Обоснование предельно допустимой концентрации в воздухе рабочей зоны аэрозолей сухих продуктов, содержащих казеиновые белки коровьего молока / С. А. Баранов [и др.] // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / М-во здравоохран. Респ. Беларусь, Науч.-практ. центр гигиены ; редкол.: С. И. Сычик (гл. ред.), Г. Е. Косяченко (зам. гл. ред.) [и др.]. — Минск : БГУ, 2022. — Вып. 32. — С. 138–146.

6. Сискинд, Г. У. Иммунологическая толерантность / Г. У. Сискинд // Иммунология : в 3 т. / под ред. У. Пола : пер. с англ. — М. : Мир, 1988. — Т. 2. — Гл. 20. — С. 362–395.

7. 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.] / М-во здравоохран. Респ. Беларусь // Сборник офиц. документов по медицине труда и производственной санитарии / Респ. центр гигиены, эпидем. и обществ. здоровья, Респ. науч.-практ. центр гигиены ; под общ. ред. В. П. Филонова, С. М. Соколова. — Минск : Бизнесофсет, 2004. — Ч. XIV. — С. 4–49.

8. Шевляков, В. В. Особенности комбинированного действия смеси химических аллергенов / В. В. Шевляков, С. И. Сычик // Анализ риска здоровью. — 2019. — № 2. — С. 125–132.

9. Herzenberg, L. A. Epitope-specific regulation. III. A bistable, Ig-restricted regulatory mechanism central to immunologic memory / L. A. Herzenberg, T. Tokuhiwa, D. R. Parks // J. Exp. Med. — 1981. — Vol. 155. — P. 1741–1780.

10. Phipps, R. P. Regulation of B-cell tolerance and triggering by macrophages and lymphoid dendritic cell / R. P. Phipps, R. L. Roper, S. H. Stein // Immunol. Rev. — 1990. — № 117. — P. 135–158.

11. Schallreuter, K. V. The allergenicity of complex cation / K. V. Schallreuter, J. M. Wood // Biochem. and Biophys. Res. Commun. — 1986. — № 1. — P. 221–227.

Experimental and analytical substantiation of mcl in the air of the working area of aerosols of dry products containing a mixture of whey and casein milk proteins

Baranov S. ¹, Shevlyakov V. ¹, Filanyuk V. ^{1,2}

¹Scientific Practical Centre of Hygiene, Minsk, Republic of Belarus;

²Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

The maximum concentration limit in the air of the working area (MCL_{awa}) were experimentally substantiated by the criterion of the leading harmful allergic effect on the body of aerosols of dry products containing only whey or casein proteins of cow's milk, at the level of 0.1 mg/m³ for protein, hazard class 2 with the marked "A" — an allergen. The substantiation of the MCL_{awa} for dust of dry products containing a mixture of whey and casein milk proteins (WMP and CMP) is topical, taking into account the nature of their combined effect on the body, which was the purpose of the work.

By analyzing the results of experimental studies, it was found that the WMP and CMP complexes, which have a strong sensitizing ability, when inhaled isolated exposure to white rats at high concentrations tested, have not the same toxic, but the same type of allergic effect on the body, and at low concentrations they predominantly exhibit the same allergic effects with their possible immunomodulation under combined exposure.

Published theoretical data on the suppression of the immune response to one or more complete antigens when they are simultaneously exposed to the body as a result of intramolecular or intermolecular competitive immunomodulation between them were evidence of the formation in the body with simultaneous combined inhalation exposure to WMP and CMP of a combined additive or less additive nature of allergic actions. On this basis, the value of MCL_{awa} for aerosols of dry products containing a mixture of WMP and CMP is substantiated, corresponding to that for dust containing only these individual milk proteins, at the level of 0.1 mg/m³, hazard class 2 marked "A" — an allergen.

Keywords: dust of dry products of milk processing, whey and casein proteins of cow's milk, their mixtures, biological effects in laboratory animals, MCL in the air of the working area.

Поступила 14.07.2023