

Медико-биологические проблемы жизнедеятельности

Научно-практический рецензируемый журнал

№ 2(14)

2015 г.

Учредитель

Государственное учреждение
«Республиканский научно-
практический центр
радиационной медицины
и экологии человека»

Журнал включен в:

- Перечень научных изданий Республики Беларусь для опубликования диссертационных исследований по медицинской и биологической отраслям науки (31.12.2009, протокол 25/1)
- Перечень журналов и изданий ВАК Минобрнауки РФ (редакция май 2012 г.)

Журнал зарегистрирован

Министерством информации
Республики Беларусь,
Свид. № 762 от 6.11.2009

Подписано в печать 28.09.15.
Формат 60×90/8. Бумага офсетная.
Гарнитура «Times New Roman».
Печать цифровая. Тираж 211 экз.
Усл. печ. л. 19,35. Уч.-изд. л. 10,4.
Зак. 1408.

Издатель ГУ «Республиканский
научно-практический центр
радиационной медицины и экологии
человека»
ЛИ № 02330/619 от 3.01.2007 г.
Продлена до 03.01.2017

Отпечатано в Филиале БОРБИЦ
РНИУП «Институт радиологии».
220112, г. Минск,
ул. Шпилевского, 59, помещение 7Н

ISSN 2074-2088

Главный редактор, председатель редакционной коллегии

А.В. Рожко (д.м.н., доцент)

Редакционная коллегия

В.С. Аверин (д.б.н., зам. гл. редактора), В.В. Аничкин (д.м.н., профессор), В.Н. Бебяковский (д.м.н., профессор), Н.Г. Власова (д.б.н., доцент, научный редактор), А.В. Величко (к.м.н., доцент), И.В. Веякин (к.б.н.), В.В. Евсеенко (к.п.с.н.), С.В. Зыблева (к.м.н., отв. секретарь), С.А. Игумнов (д.м.н., профессор), А.В. Коротаев (к.м.н.), А.Н. Лызикив (д.м.н., профессор), А.В. Макавич (к.м.н., доцент), С.Б. Мельнов (д.б.н., профессор), Э.А. Надыров (к.м.н., доцент), И.А. Новикова (д.м.н., профессор), Э.Н. Платошкин (к.м.н., доцент), Э.А. Повелица (к.м.н.), Ю.И. Рожко (к.м.н., доцент), М.Г. Русаленко (к.м.н.), А.Е. Силин (к.б.н.), А.Н. Стожаров (д.б.н., профессор), А.Н. Цуканов (к.м.н.), Н.И. Шевченко (к.б.н.)

Редакционный совет

В.И. Жарко (министр здравоохранения Республика Беларусь, Минск), А.В. Аклеев (д.м.н., профессор, Челябинск), С.С. Алексанин (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Д.А. Базыка (д.м.н., профессор, Киев), А.П. Бирюков (д.м.н., профессор, Москва), Л.А. Бокерия (д.м.н., академик РАН и РАМН, Москва), А.Ю. Бушманов (д.м.н., профессор, Москва), И.И. Дедов (д.м.н., академик РАМН, Москва), Ю.Е. Демидчик (д.м.н., член-корреспондент НАН РБ, Минск), М.П. Захарченко (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Л.А. Ильин (д.м.н., академик РАМН, Москва), К.В. Котенко (д.м.н., профессор, Москва), В.Ю. Кравцов (д.б.н., профессор, Санкт-Петербург), Н.Г. Кручинский (д.м.н., Минск), Т.В. Мохорт (д.м.н., профессор, Минск), Д.Л. Пиневиц (Минск), В.Ю. Рыбников (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Н.Д. Тронько (д.м.н., профессор, Киев), В.А. Филонюк (к.м.н., доцент, Минск), Р.А. Часнойть (к.э.н., Минск), В.Е. Шевчук (к.м.н., Минск), В.Д. Шило (Минск)

Технический редактор

С.Н. Никонович

Адрес редакции

246040 г. Гомель, ул. Ильича, д. 290,
ГУ «РНИЦ РМ и ЭЧ», редакция журнала
тел (0232) 38-95-00, факс (0232) 37-80-97
<http://www.mbr.rcrm.by> e-mail: mbr@rcrm.by

© Государственное учреждение
«Республиканский научно-практический
центр радиационной медицины и
экологии человека», 2015

№ 2(14)

2015

Medical and Biological Problems of Life Activity

Scientific and Practical Journal

Founder

Republican Research Centre
for Radiation Medicine
and Human Ecology

Journal registration
by the Ministry of information
of Republic of Belarus

Certificate № 762 of 6.11.2009

© Republican Research Centre
for Radiation Medicine
and Human Ecology

ISSN 2074-2088

Содержание

Content

Обзоры и проблемные статьи

Д.П. Саливончик, А.И. Рудько, В.В. Россолова, А.П. Бажков, М.Б. Минчик

Внебольничная пневмония у взрослых: современные тенденции диагностики и лечения (обзор литературы) 6

Ю.И. Ярец, Н.И. Шевченко, А.А. Старовойтов, М.Г. Русаленко

Хронические инфекции мочевыводящих путей: состояние проблемы 18

Медико-биологические проблемы

А.П. Бирюков, Л.Н. Ушенкова, А.Н. Котеров
Генные перестройки *RET/PTC* в детских папиллярных карциномах щитовидной железы после аварии на ЧАЭС: свидетельство неполной лучевой атрибутивности опухолей 24

Д.Д. Гапеенко, Г.И. Лавренчук, О.А. Бойко
Морфофункциональные изменения клеток *in vitro* при комбинированном действии ионизирующего излучения и ионов меди 41

Э.А. Дёмина, Е.П. Пилипчук, В.М. Михайленко, А.А. Главин

Анализ митотической активности лимфоцитов крови человека в условиях сочетанного облучения и ко-мутагенов 48

Е.А. Дрозд

Доза внутреннего облучения как функция профессиональной занятости лиц, проживающих на радиоактивно загрязненной территории 53

Л.Н. Комарова, Е.Р. Ляпунова, Н.В. Амосова, И.В. Сорочкина

Проявление адаптивной реакции у дрожжевых клеток после действия ионизирующей радиации 59

М.Р. Мадиева, Н.Ж. Чайжунусова, Л.М. Пивина, А.Ж. Саимова, А.Ж. Абылгазинова, Т.К. Рахыпбеков

Результаты комплексного цитогенетического обследования населения Восточного региона Казахстана 66

Reviews and problem articles

D.P. Salivonchik, A.I. Rudzko, V.V. Rossolova, A.P. Bazhkov, M.B. Minchik

Community-acquired pneumonia in adults: current trends of diagnostics and treatment (review) 6

Y. Yarets, N. Shevchenko, A. Starovoitov, M. Rusalenko

Chronic urinary tract infections: the condition of the problem 18

Medical-biological problems

A.P. Biryukov, L.N. Ushenkova, A.N. Koterov
RET/PTC gene rearrangements in children's papillary thyroid carcinoma after the Chernobyl accident: evidence of tumors incomplete radiation attributiveness 24

D.D. Gapeenko, G.I. Lavrenchuk, O.A. Boyko
Morfofunctional changes of the cells in the combined exposure to ionizing radiation and copper ions *in vitro* 41

E.A. Domina, E.P. Pylypchuk, V.M. Mikhailenko, A.A. Glavin

Analys of mitotic activity of human blood lymphocytes under combined radiation and co-mutagenic 48

E.A. Drozd

The individual doses of internal exposure as a function of occupational status of population living in radioactively contaminated territories 53

L.N. Komarova, E.R. Lyapunova, N.V. Amosova, I.V. Sorokina

Adaptive response of yeast cells after ionizing radiation exposure 59

M.R. Madiyeva, N.J. Chaijunusova, L.M. Pivina, A.J. Saimova, A.J. Abylgazanova, T.K. Rachypbekov

Results of the complete cytogenetic examination of the population of East Kazakhstan District 66

А.О. Пятибрат, С.Б. Мельнов, А.С. Козлова, Е.Д. Пятибрат Физиологическая оценка наследственной предрасположенности к экстремальным видам профессиональной деятельности	73	A.O. Pyatibrat, S.B. Melnov, A.S. Kozlova, E.D. Pyatibrat Hysiological evaluation of a genetic predisposition to hazardous occupation
Т.И. Самойлова, Н.П. Мишаева, Т.А. Сенковец, С.Е. Яшкова, Л.С. Цвирко, В.А. Горбунов Рост заболеваемости населения клещевыми инфекциями в условиях техногенного загрязнения окружающей среды	79	T.I. Samoilova, N.P. Mishaeva, T.A. Senkovets, S.E. Yashkova, L.S. Tsvirko, V.A. Gorbunov Increased morbidity of population by tick-borne infections under technogenic environmental contamination
Е.А. Сова, И.П. Дрозд Дозообразование и цитогенетические эффекты в костном мозге крыс при длительном пероральном поступлении ¹³¹ I	86	E.A. Sova, I.P. Drozd Dose formation and cytogenetic effects in the bone marrow of rats with long-term ingestion of ¹³¹ I
В.В. Шевляков, В.А. Филонюк, Г.И. Эрм Лабораторный метод получения и оценка эффективности применения в аллергодиагностике тест-аллергена из промышленного штамма дрожжевых грибов <i>saccharomyces cerevisiae</i>	94	V. Shevlaykov, V. Filanyuk, G. Erm Laboratory method for obtaining and estimation of efficiency of the application in the allergological diagnostics test-allergen from an industrial strain of yeast fungi <i>saccharomyces cerevisiae</i>
Клиническая медицина		
Е.В. Анищенко, Е.Л. Красавцев, О.З. Креч Проблемы установления ВИЧ-статуса и пути его усовершенствования у ВИЧ-экспонированных детей	101	E.V. Anischenko, E.L. Krasavtsev, O.Z. Krech Problem of establishing HIV status and ways to improve it in HIV-exposed children
А.В. Жарикова Предикторы формирования когнитивных расстройств у пациентов с первичным гипотиреозом	106	A. Zharikova Predictors of the formation of cognitive disorders in patients with primary hypothyroidism
А.В. Коротаев, А.Е. Силин, Т.В. Козловская, Е.П. Науменко, В.В. Гордиенко, В.Н. Мартинков, А.А. Силина, И.Б. Тропашко, С.М. Мартыненко Клинико-функциональные особенности пациентов с атерогенными дислипидемиями	116	A.V. Korotaev, A.E.Silin, T.V. Kozlovskaya, E.P. Naumenko, V.V. Gordienkoo, V.N. Martinkov, A.A. Silina, I.B. Tropashko, S.M. Martynenko Clinical and functional characters of the patients with atherogenic dyslipidemia
В.И. Краснюк, А.А. Устюгова Подострое течение лучевой болезни	120	V.I. Krasnyuk, A.A. Ustyugova Subacute course of radiation syndrome
Л.А. Лемешков, Н.Н. Усова, Н.В. Галиновская Случай спонтанной диссекции внутренней сонной артерии с атипичной клинической картиной	128	L.A. Lemeshkov, N.N. Usova, N.V. Halinouskaya Case of a spontaneous carotid dissection with an atypical clinical picture

С.Н. Лопатин, В.Ю. Кравцов, С.В. Дударенко, А.В. Рожко, Э.А. Надыров Роль <i>Helicobacter pylori</i> в формировании нестабильности генома мукоцитов антрального отдела желудка у пациентов с хроническим гастритом, проживающих на территориях, пострадавших от последствий катастрофы на Чернобыльской АЭС	134	S.N. Lopatin, V.Y. Kravcov, S.V. Dudarenko, A.V. Razko, E.A. Nadyrov The part of <i>Helicobacter pylori</i> in formation of myxocyte gene instability of antral segment of stomach in patients with chronic gastritis reside at the territory affected by the accident consequences of Chernobyl nuclear power plant
В.П. Подпалов, А.И. Счастливенко Изучение особенностей распространенности артериальной гипертензии среди взрослого населения, проживающего на загрязненных радионуклидами территориях	141	V.P. Podpalov, A.I. Schastlivenko Prevalence of hypertension among adult population living in the radioactive contaminated territories
В.П. Ситников, Эль-Рефай Хусам, Е.С. Ядченко Влияние микробной флоры и пути рациональной этиотропной терапии хронического гнойного среднего отита	148	El-Refai Hoosam, V.P. Sitnikov, E.S. Yadchenko Influence microbial flora and ways of rational causal treatment of chronic otitis media
Обмен опытом		
В.А. Прилипко, Е.К. Шевченко, Ю.Ю. Озерова Социально-гигиеническая составляющая деятельности АЭС в зоне наблюдения	154	V.A. Prilipko, K. K. Shevchenko, Y. Y. Ozerova Sociohygienic arm of the nuclear power plant in the surveillance zone
Правила для авторов	160	

УДК 582.282.23:663.126:613.62/69-071-076 **В.В. Шевляков¹, В.А. Филонюк², Г.И. Эрм²**

ЛАБОРАТОРНЫЙ МЕТОД ПОЛУЧЕНИЯ И ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ В АЛЛЕРГОДИАГНОСТИКЕ ТЕСТ-АЛЛЕРГЕНА ИЗ ПРОМЫШЛЕННОГО ШТАММА ДРОЖЖЕВЫХ ГРИБОВ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

1 УО «Минский университет управления», г. Минск, Беларусь
2 РУП «Научно-практический центр гигиены», г. Минск, Беларусь

Разработан лабораторный метод получения высокоактивного тест-аллергена из дрожжевых грибов *Saccharomyces cerevisiae*. Использование полученного тест-аллергена в лабораторной аллергодиагностике позволило установить выраженную и распространенную (более 80% обследованных) индукцию в организме работников производства пекарских дрожжей сенсibilизации профессиональной этиологии.

Ключевые слова: метод получения тест-аллергена, грибы *Saccharomyces cerevisiae*, диагностика профессиональной аллергии, здоровье работников производства пекарских дрожжей

Введение

При производстве и использовании промышленных штаммов микроорганизмов-продуцентов и микробных препаратов на их основе возможно загрязнение ими производственной среды, выделение в воздух рабочей зоны с вредным действием на здоровье работников.

Микроорганизмы-продуценты за счет гетероантигенности полисахаридо-белковых комплексов являются облигатными аллергенами. Поэтому при их ингаляционном поступлении в организм работников биотехнологических производств в основном формируются аллергические и иммунотоксические эффекты. Действительно, у работников, профессионально контактирующих с промышленными штаммами микроорганизмов-продуцентов, установлена довольно высокая распространенность субъективных и объективных симптомов нарушений со стороны основных органов и систем, которая в 2,8-16 раз превышает аналогичную в группе сравнения ($p < 0,05-0,001$). При этом выявленные нарушения в основном имеют типичную и характерную аллергическую направленность, полисистемность и сочетанность,

закономерно возрастают с увеличением профессионального стажа работников, что характеризует их как производственно обусловленные [1].

Для подтверждения профессионального характера аллергического поражения организма работников биотехнологических производств необходимо провести аллергодиагностику с использованием тест-аллергена из конкретного промышленного штамма микроорганизма-продуцента, с которым работники имеют производственный контакт.

Для выявления аллергии на микробные антигены не возможно использовать жизнеспособные микроорганизмы, поскольку при этом выявляются специфические гуморальные и клеточные аллергические реакции только на поверхностные (мембранные) антигены микробной клетки, тогда как при поступлении микроорганизмов в макроорганизм макрофагами после их фагоцитоза и киллинга презентуются лимфоцитам для формирования иммунного ответа как поверхностные, так и внутриклеточные антигены, на которые формируется гипериммунный ответ организма [2, 3]. Поэтому для определения в организме ал-

лергических процессов микробной этиологии в методах аллергодиагностики используют полный антиген микроорганизма – стандартизированный растворимый тест-аллерген в виде коммерческих препаратов с гарантированной специфичностью и активностью. Однако такие препараты производят только для ограниченного круга наиболее распространенных видов микроорганизмов, и для промышленных штаммов микроорганизмов-продуцентов, в том числе на дрожжевые грибы, они отсутствуют.

В связи с изложенным целью настоящего исследования являлась разработка метода получения растворимого аллергена из дрожжевых грибов *Saccharomyces cerevisiae* в лабораторных условиях и использование полученного тест-аллергена для диагностики гиперчувствительности организма работников, формирующейся на профессиональное воздействие промышленного штамма дрожжевых грибов.

Материал и методы исследования

Для выявления особенностей проявлений и механизмов специфического вредного действия производственного микробного фактора на организм работников необходимо было получить тест-аллерген из промышленного штамма дрожжевых грибов *Saccharomyces cerevisiae*, используемого для производства сухих хлебопекарских дрожжей.

По данным литературных источников известно более полутора десятков способов выделения антигенов из микроскопических грибов, в основном из рода плесневых грибов [3]. Однако получение растворимого аллергена из дрожжевых грибов в отличие от плесневых проблематично в связи с высокой устойчивостью их клеточных мембран, содержащих хитин.

В основе разрабатываемого метода получения экстракта-аллергена из дрожжевых грибов (далее – ЭАД) мы использовали принципы известных способов разрушения грибковых клеток многократным замораживанием и оттаиванием (Bloch, Labouchere, Schaaf, 1925), длительного экс-

трагирования из высушенной клеточной биомассы растворимых антигенных комплексов соевым раствором (Estermann, 1951) по [3].

Для оценки специфичности, антигенной обособленности (отграничения от перекрестных «родственных» антигенных детерминант), антигенной чистоты полученного ЭАД выполнен эксперимент по известной альтернативной методике [4] сенсibilизации белых мышей путем внутрикожного введения в основании хвоста ЭАД в дозе по 100 мкг по белку в объеме 60 мкл в смеси 1:1 с полным адьювантом Фрейнда на каждое животное. Контрольным животным аналогично вводилась смесь ПАФ с физиологическим раствором.

Выявление сенсibilизации проводили на 6 сутки опыта внутрикожным тестом опухания лапы (ВТОЛ) путем введения всем животным в апоневроз коллатеральных задних лап разрешающей провокационной дозы по 120 мкг по белку в объеме 40 мкл ЭАД и неспецифического тест-аллергена – полученного нами экстракта-аллергена из бактерий штамма *Bacillus subtilis* 494 (ЭВ.с), последующего учета ГЗТ по степени опухания лапы (измерение электронным микрометром разницы в толщине лапы до и через 24 часа после провокационной пробы).

Углубленному аллергологическому обследованию на основании информированного согласия подверглись 38 работников производства сухих пекарских дрожжей (ОАО «Минский дрожжевой комбинат»), контактирующих с промышленным штаммом дрожжевых грибов *Saccharomyces cerevisiae*. Выполнена постановка информативных лабораторных методов и тестов аллергодиагностики [4, 5] с использованием для специфической стимуляции лейкоцитов крови работников полученного грибкового аллергена.

Результаты исследования подвергались статистической обработке общепринятыми методами биометрии и непараметрической статистики с использованием ПК и прикладных программ «Биостатистика»,

Microsoft Excel, Stadia 6.5G/prof. в сравнении результатов опыта с показателями контроля и нормативных величин.

Результаты исследования

Для приготовления тест-аллергена, пригодного для постановки лабораторных методов аллергодиагностики с кровью работников биотехнологических производств, использовали хлебопекарные сушеные активные дрожжи штамма *Saccharomyces cerevisiae*, произведенные по ТУ ВУ 100104781.018-2010 на ОАО «Дрожжевой комбинат», г. Минск (с датой изготовления 18.12.2014 и гарантированным сроком хранения 14 месяцев).

Разрабатываемый метод основан на инактивации и разрушении мембран дрожжевых клеток многократным замораживанием и оттаиванием и ультразвуком, экстрагировании из биомассы и выделении из экстрактов растворимых полисахариδο-белковых антигенных комплексов, стандартизации полученного тест-аллергена по белку и их экспериментальной проверке на специфичность, антигенную обособленность и антигенную чистоту. Для экстрагирования использовали щелочной водно-солевой раствор Соса [3].

В процессе отработки оптимальной постановки метода выполнена апробация трех вариантов.

1 вариант включал следующие этапы:

а) механическая дезинтеграция 5 г сухих дрожжевых клеток путем размолла в кофемолке в течение 15 мин.;

б) обезжиривание и инактивация измельченных дрожжевых клеток ацетоном (х.ч.): к 1 г клеток добавляли 9 см³ ацетона и взбалтывали в течение 1 часа, отделяли клетки фильтрованием через бумажные фильтры (белая лента), которые высушивали в вытяжном шкафу;

в) разрушение дрожжевых клеток путем трехкратного замораживания и оттаивания: в колбы (100 см³) с 1 г обезжиренного клеточного порошка (2 параллельные пробы) вносили по 5 см³ раствора Соса, тщательно перемешивали, помещали в мо-

розильную камеру при температуре минус 22°С до полного замораживания, затем оттаивали, помещая колбы в теплую воду, повторяя процедуру трижды;

г) дополнительное разрушение дрожжевых клеток ультразвуковой дезинтеграций: после последней стадии оттаивания в колбы вносили по 45 см³ раствора Соса, помещали на 1 час в ультразвуковую ванну (Bandelil electr. RK 103 Н, Германия) с водой в условиях воздействия ультразвука 140 Вт, 35 кГц при постоянном охлаждении (добавление льда);

д) экстракция на холоду: экспонировали пробы в течение 4 суток в холодильнике при температуре от +4°С до +6°С при регулярном перемешивании содержимого колб;

е) отделение растворимых субстанций: содержимое колб переносили в центрифужные полимерные пробирки и центрифугировали при 8000 оборотов/мин. в течение 1 часа, после чего супернатант (экстракт) отделяли от осадка;

з) в полученном экстракте определяли количество белка методом Лоури.

2 вариант включал следующие этапы:

а) механическая дезинтеграция 5 г сухих дрожжевых клеток путем размолла в кофемолке в течение 15 мин.;

б) по 1 г измельченных сухих дрожжей вносили в параллельные колбы (100 см³): добавляли в 1 пробу – по 50 см³ раствора Соса, 2 пробу – по 30 см³ раствора Соса;

в) разрушение дрожжевых клеток путем четырехкратного замораживания и оттаивания: содержимое колб тщательно перемешивали, помещали их в морозильную камеру при температуре минус 22°С до полного замораживания, затем оттаивали, помещая колбы в теплую воду, повторяя процедуру четырежды;

г) дополнительное разрушение дрожжевых клеток ультразвуковой дезинтеграций: помещали колбы с пробами на 1 час в ультразвуковую ванну с водой в условиях воздействия ультразвука 140 Вт, 35 кГц при постоянном охлаждении (добавление льда);

д) экстракция на холоду: экспонировали пробы в течение 4 суток в холодильнике

при температуре от +4°С до +6°С при регулярном перемешивании содержимого колб;

е) отделение растворимых субстанций: содержимое колб переносили в центрифужные полимерные пробирки и центрифугировали при 6000 оборотов/мин. в течение 15 мин., затем при 3000 оборотов/мин. в течение 1 часа, после чего супернатант отделяли от осадка;

з) в полученных пробах экстрактов определяли количество белка методом Лоури.

3 вариант включал следующие этапы:

а) механическая дезинтеграция 5 г сухих дрожжевых клеток путем размолла в кофемолке в течение 15 мин.;

б) по 3 г измельченных сухих дрожжей вносили в параллельные колбы (100 см³) и добавляли по 10 см³ раствора Соса;

в) разрушение дрожжевых клеток путем четырехкратного замораживания и оттаивания: содержимое колб тщательно перемешивали, помещали их в морозильную камеру при температуре минус 22°С до полного замораживания, затем оттаивали, помещая колбы в теплую воду, повторяя процедуру четырежды;

г) дополнительное разрушение дрожжевых клеток ультразвуковой дезинтеграций: в колбы с пробами вносили по 20 см³ раствора Соса и помещали их на 1 час в ультразвуковую ванну с водой в условиях воздействия ультразвука 140 Вт, 35 кГц при постоянном охлаждении (добавление льда);

д) экстракция на холоду: экспонировали пробы в течение 6 суток в холодильнике при температуре от +4°С до +6°С при регулярном перемешивании содержимого колб;

е) отделение растворимых субстанций: содержимое колб фильтровали 1 пробу – через бумажные фильтры (синяя лента), 2 пробу – через ватно-марлевый фильтр;

з) в полученных пробах экстрактов определяли количество белка методом Лоури.

Полученные результаты используемых способов.

1 вариант: в обеих параллельных пробах полученного экстракта содержание белка составило по 2,0 мг/см³, рН экстракта 6,8 ед. Содержание в экстракте белка не

высокое, вероятно, за счет частичного экстрагирования в ацетон, определяется цветность и легкая мутность.

2 вариант: в обеих параллелях 1 пробы экстрактов содержание белка составило по 2,2 мг/см³, 2 пробы – по 3,0 мг/см³. Обе пробы экстрактов прозрачные, но во 2 пробе содержание белка более высокое. рН экстрактов соответственно 7,0 и 7,1 ед.

3 вариант: в обеих параллелях 1 пробы экстракта содержание белка составило по 3,4 мг/мл, 2 пробы – 3,2 мг/мл, но в обеих пробах отмечалось расслоение и легкая мутность вследствие недостаточного отделения растворимых субстанций от разрушенных структур большого количества дрожжевых клеток. рН экстрактов 6,95 ед.

Выводы: наиболее оптимален 2 вариант способа получения ЭАД при использовании соотношения дрожжевых клеток и раствора Соса 1:30. Данный вариант способа и явился основой метода получения тест-аллергена из промышленного штамма дрожжевых грибов *Saccharomyces cerevisiae*.

Содержание белка в полученном 2 вариантом метода ЭАД, определяемое по методу Лоури, составило 3,0 мг/см³. Тест-аллерген стандартизован (в единицах белкового азота) на уровне 50000 PNU. Полученный тест-аллерген хранится в морозильнике при температуре минус 18°С без добавления консервантов.

В эксперименте на белых мышах в стандартных условиях моделирования воспроизведения и выявления сенсibilизации, выполненных для оценки специфичности, антигенной обособленности и антигенной чистоты полученного грибкового тест-аллергена, получены следующие результаты прямого и перекрестного тестирования (таблица 1).

У всех животных опытной группы выявлена выраженная сенсibilизация на ЭАД, поскольку величина абсолютного показателя провокационной внутрикожной пробы превышала контрольный уровень на 320,5% (t=4,82, p<0,001), а относительный показатель ВТОЛ в 6,7 раз был выше контрольной величины (p<0,001).

Таблица 1 – Частота и выраженность показателей провокационной пробы у белых мышей, sensibilizированных полученным экстрактом-аллергеном из дрожжевых грибов

Показатели, ед. измерен.	Группы сравнения (M±m)	
	контрольная, n = 11	опытная, n = 10
ГЗТ по ВТОЛ на аллергены:		
- ЭАд: 10-2мм	11,2±1,48	35,9±5,13***
Н	5/11	10/10
Балл	0,45±0,16	3,00±0,47***+
- ЭВ.s: 10-2мм	6,30±1,37	7,05±2,24
Н	1/11	3/10
Балл	0,09±0,09	0,30±0,15

Примечания: *** – достоверные различия с контролем при $p < 0,001$; (+) – достоверные различия с контролем при $p < 0,01$ по критерию «Х»; Н: числитель – количество животных с положительными результатами ВТОЛ, знаменатель – всего в группе.

С учетом критериев классификационной оценки степени sensibilizующей способности и аллергенной опасности веществ биологической природы [4] полисахариδο-белковые антигенные комплексы промышленного штамма дрожжевых грибов *Saccharomyces cerevisiae* дифференцированы как обладающие сильной sensibilizующей способностью (1 класс аллергенной активностью), так как вызывают sensibilizацию всех опытных животных с достоверным отличием средних величин кожных реакций по сравнению с контролем при $p < 0,01$ по критерию «Х».

Перекрестное тестирование опытных животных чужеродными антигенами ЭВ.s сопровождалось слабо положительными (не более 1 балла) провокационными кожными реакциями только у отдельных особей (3 из 10), имеющих неспецифический характер, поскольку регистрировались и у 1 из 11 контрольных животных с мало различающимися уровнями абсолютного и относительного показателей ВТОЛ. Причем величины показателей ВТОЛ на тестирование ЭАд были существенно выше, чем на ЭВ.s ($t=5,45$, $p < 0,001$).

Следовательно, выделенный в ЭАд из дрожжевых грибов полисахариδο-белковый комплекс является специфическим, обладает высокой антигенностью, антигенной обособленностью и не включает посторонние антигены, что проявляется в его сильной sensibilizующей способности.

Таким образом, разработанный метод адекватен для получения полноценного тест-аллергена из дрожжевых грибов штамма *Saccharomyces cerevisiae*, что позволяет использовать ЭАд для лабораторных методов аллергодиагностики у работников, профессионально контактирующих с указанным штаммом дрожжевых грибов.

Полученный грибковый тест-аллерген использовали в лабораторных аллергодиагностических методах для стимуляции клеточных элементов крови работников биотехнологического производства, подвергающихся профессиональному воздействию дрожжевых грибов промышленного штамма *Saccharomyces cerevisiae*.

Установлена высокая распространенность среди обследованных работников производства сухих хлебопекарных дрожжей (работники БП) sensibilizации на грибковый аллерген (таблица 2), которая в реакции специфического лизиса лейкоцитов крови при их инкубировании с полученным ЭАд составляла 81,1% ($p < 0,001$). При этом уровень специфического лизиса лейкоцитов при стимуляции грибковым тест-аллергеном у работников в 1,8 раз превышал таковой в контрольной группе ($p < 0,01$).

При стимуляции гранулоцитов крови в РСНСТ полученным грибковым тест-аллергеном у обследованных работников установлено значительное повышение относительного показателя специфического восстановления НСТ на 452,5% по отношению к группе сравнения ($P < 0,001$).

При этом и интегральный показатель специфического повышения уровня продукции активных форм кислорода в гранулоцитах крови в НСТ-тесте – индекс стимуляции также значимо был выше у работников ($p < 0,001$), что свидетельствует о выраженной аллергизации их орга-

Таблица 2 – Показатели аллергизации организма работников, подвергающихся воздействию производственного микробного фактора

Показатели аллергологических диагностических реакций	Ед. изм.	Группы сравнения (M±m)	
		контроль, n=20	работники БП, n=38
РСЛЛ на тест-аллергены:			
ЭАд - частота	%	20,0±8,94	81,1±6,44***
- уровень	%	12,2±2,04	21,8±2,13**
РСНСТ на тест-аллерген:			
ЭАд - показатель специфич. восст.	%	22,1±1,57	100,0±8,91***
- индекс стимуляции (ИС)	усл. ед.	1,01±0,02	1,12±0,02***
- частота лиц со сверхнормативным ИС	%	15,0±7,98	73,7±7,14***

Примечания: ** – достоверные различия с контролем при $p < 0,01$ по критерию t Стьюдента; *** – достоверные различия с контролем при $p < 0,001$ по критерию t Стьюдента.

низма антигенами промышленным штаммом дрожжевых грибов. Причем сверхнормативные уровни индекса стимуляции на тест-аллерген ЭАд (с ИС выше $M_{\text{контр.}} + 1\sigma = 1,05$) регистрировались у 73,7% обследованных работников ($p < 0,001$ по отношению к группе сравнения), что свидетельствует о развитии в их организме выраженной грибковой sensibilizации.

Следовательно, воздействие производственного микробного фактора в виде аэрозолей гетероантигенов промышленного штамма дрожжевых грибов *Saccharomyces cerevisiae* вызывает выраженную и распространенную индукцию в организме работников гиперчувствительности смешанного типа профессиональной этиологии, вероятно, и определяющую у них высокую частоту субъективных и объективных проявлений аллергического процесса профессионального характера.

Выводы

Из представленных результатов выполненных исследований вытекают следующие выводы.

1. Разработан оригинальный метод получения из промышленного штамма дрожжевых грибов *Saccharomyces cerevisiae* аллерген, основанный на инактивации и разрушении дрожжевых клеток многократным замораживанием и оттаиванием и ультразвуком, экстрагировании из биомассы соевым раствором и выделении из экстрактов растворимых полисахариδο-белковых антигенных комплексов, стандартизации по-

лученного тест-аллергена. В экспериментах доказано, что полученный грибковый тест-аллерген, стандартизированный по белку, является высоко специфическим и антигенно обособленным, не включает посторонние антигены и может использоваться для лабораторных методов аллергодиагностики у работников, профессионально контактирующих с дрожжевыми грибами. Соответствующий метод утвержден директором республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр гигиены» 07.05.2015.

2. Использование полученного грибкового тест-аллергена позволило установить высокую распространенность (у более 80% обследованных) и выраженность у работников производства хлебопекарных дрожжей sensibilizации, которая определяет высокий риск формирования у них профессиональных аллергозов грибковой этиологии.

Библиографический список

1. Состояние здоровья работников биотехнологических производств / В.В. Шевляков [и др.] // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2014. – Т. 13, № 3. – С. 127-138.
2. Петров, Р.В. Оценка иммунного статуса человека в норме и при патологии / Р.В. Петров, Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин // Иммунология. – 1994. – № 6. – С. 6-9.
3. Фрадкин, В.А. Аллергены / В.А. Фрадкин. – М.: Медицина, 1978. – 256 с.
4. Требования к постановке токсиколого-аллергологических исследований при гигиеническом нормировании белок-

содержащих 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, 2004. – Ч. XIV. – С. 4-49.

5. Экспериментальное обоснование ПДК микроорганизмов-продуцентов и содержащих их готовых форм препаратов в объектах производственной и окружающей среды: метод. указания № 5789/1-91 / О.Г. Алексеева [и др.]; М-во здравоохранения СССР. – М.: Инф.-изд. Центр Госкомсанэпиднадзора России, 1993. – 20 с.

V. Shevlaykov, V. Filanyuk, G. Erm

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*

A laboratory method to obtain high activity test-allergen from yeasts *Saccharomyces cerevisiae* was developed. Using the obtained test-allergen in the laboratory diagnostics has allowed to establish significant and widespread (more than 80% of patients) induction in the organism of workers in the production of Baker's yeast sensitization occupational etiology.

Key words: method of producing test-allergen, fungi *Saccharomyces cerevisiae*, diagnostics of occupational allergy, the health of workers in the production of Baker's yeast

Поступила 10.06.2015

УДК 616.98:578.828НIV-0532.2/.6-07

Е.В. Анищенко¹, Е.Л. Красавцев¹,
О.З. Креч²

ПРОБЛЕМЫ УСТАНОВЛЕНИЯ ВИЧ-СТАТУСА И ПУТИ ЕГО УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ У ВИЧ-ЭКСПОНИРОВАННЫХ ДЕТЕЙ

¹УО «Гомельский государственный медицинский университет», г. Гомель, Беларусь

²УЗ «Гомельская городская клиническая больница №3», г. Гомель, Беларусь

Проведен анализ установления ВИЧ статуса у 117 ВИЧ-инфицированных детей, рожденных в Гомельской области. Сравнивались параметры физического развития и некоторые лабораторные данные при рождении у 117 ВИЧ-инфицированных детей и 106 ВИЧ-экспонированных детей. Несмотря на регламентирующие сроки установления ВИЧ-статуса у детей, на первом году жизни диагноз ВИЧ-инфекции был установлен только 22 детям (19%). Были проанализированы лабораторные показатели периферической крови при рождении у ВИЧ-инфицированных и ВИЧ-экспонированных детей. Проанализированы протоколы патологоанатомических вскрытий перинатальных и младенческих вскрытий 25 детей в возрасте до 1 года, умерших в период с сентября 1998 года по январь 2010 года, матери которых были ВИЧ-инфицированы. На первом году жизни диагноз ВИЧ-инфекции был установлен только 22 детям (19%). Диагноз у них установлен на основании клинических данных и двух положительных результатов ПЦР. Только двум умершим ВИЧ-экспонированным диагностирована ВИЧ-инфекция в грудном возрасте и причиной их смерти явилась вирусная инфекция. Остальным умершим детям ВИЧ-статус был не определен. Лабораторные показатели периферической крови в сравниваемых группах были в пределах нормы. Количество тромбоцитов в периферической крови у ВИЧ-инфицированных детей ($Me\ 245 \times 10^9/л$) было значительно меньше, чем у ВИЧ-экспонированных детей ($Me\ 297 \times 10^9/л$, $p=0.04$). Уровень тромбоцитов в периферической крови при рождении ниже $270 \times 10^9/л$ (чувствительность 82,6%, специфичность – 56,2%) позволяет прогнозировать установление ВИЧ-инфекции.

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, ВИЧ-экспонированные дети, уровень тромбоцитов

Введение

Наиболее значимая причина заражения ВИЧ-инфекции у детей до 15 лет - это вертикальная передача ВИЧ от матери к ребенку. Частота перинатальной трансмиссии ВИЧ в развитых странах составляет около 15-25% в год, в развивающихся - 25-45%. У большинства ВИЧ-инфицированных детей при рождении отсутствуют клинические проявления ВИЧ. Однако у 78% ВИЧ-инфицированных детей первые симптомы ВИЧ-инфекции появляются уже на 1 году жизни [1]. В Республике Беларусь самым неблагоприятным, в плане ВИЧ-инфекции, регионом является Гомельская область [2]. По данным отдела профилактики ВИЧ/СПИД ГУ «Гомельский област-

ной ЦГЭиОЗ» на 1.03.2015 года от ВИЧ-инфицированных матерей в области родилось 1394 детей. На учете состоит 126 ВИЧ-инфицированных детей.

Все дети, рожденные ВИЧ-инфицированными матерями, обследуются согласно протоколам «Оптимизация подходов к наблюдению и лечению детей с ВИЧ/СПИДОМ (инструкция по применению)» [3]. Согласно данному документу, для установления ВИЧ-статуса ребенку, рожденному ВИЧ-инфицированной матерью, проводят специальные лабораторные исследования:

- качественное определение ДНК ВИЧ методом ПЦР в 2 мес. и 4 мес.;
- определение антител к ВИЧ в ИФА/ИБ в возрасте 9 мес., 12 мес., 18 мес.