

Jolanta Walusiak¹
Marta Wiszniewska¹
Patrycja Krawczyk-Adamus¹
Ewa Nieścierenko²
Cezary Pałczyński¹

UCZULENIE NA α -AMYLAZĘ U UCZNIÓW SZKÓŁ PIEKARSKICH – ZAPADALNOŚĆ, CZYNNIKI RYZYKA I OBRAZ KLINICZNY

ALLERGY TO α -AMYLASE IN APPRENTICE BAKERS – PREVALENCE, INCIDENCE, RISK FACTORS AND CLINICAL SYMPTOMS

¹ Z Kliniki Chorób Zawodowych i Ośrodka Alergii Zawodowej i Środowiskowej Instytutu Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera w Łodzi

² Z Mazowieckiego Ośrodka Medycyny Pracy w Płocku

STRESZCZENIE

Wstęp. Celem pracy jest ocena występowania, zapadalności, czynników ryzyka IgE-zależnej alergii na α -amylazę oraz analiza objawów klinicznych, wywołanych przez tę nadwrażliwość u uczniów szkół piekarskich. **Materiał i metody.** Badanie przeprowadzono w grupie 287 uczniów szkół piekarskich i cukierniczych. U wszystkich badanych przed rozpoczęciem nauki zawodu oraz po roku i po dwóch latach nauki przeprowadzono badanie kwestionariuszowe oraz wykonano punktowe testy skórne z powszechnie występującymi aeroalergenami i alergenami zawodowymi, oceniono poziom całkowitej IgE oraz alergenowoswoistych IgE dla mąki pszennej, żytniej, ryżowej, jęczmiennej i α -amylazy. W wybranych przypadkach wykonano spirometrię, test histaminowy oraz swoistą próbę prowokacyjną wziewną z alergenami zawodowymi. **Wyniki.** Przed rozpoczęciem nauki zawodu, u żadnego z uczniów nie stwierdzono obecności asIgE dla α -amylazy w surowicy. Po roku uczulenie na α -amylazę stwierdzono u jednej osoby, a po dwóch latach nauki u kolejnych 27 osób. Ogółem po 2 latach nauki 28 (9,8%) uczniów uczuliło się na α -amylazę. U 17 (60,7%) z tych osób rozpoznano alergiczny nieżyt błony śluzowej nosa, a u 15 (53,6%) astmę pochodzenia zawodowego. Wyniki analizy wieloczynnikowej z zastosowaniem regresji logistycznej ujawniły, że dodatnie wyniki punktowych testów skórnych z pospolitymi alergenami środowiska (IS 11,98, 95% PU 2,60; 55,08) oraz z pleśniami (IS 7,45, 95% PU 1,12; 49,61) są istotnym czynnikiem ryzyka nadwrażliwości na α -amylazę. **Wnioski.** Częstość pojawienia się nadwrażliwości na α -amylazę wzrasta wraz z długością trwania narażenia zawodowego. Nadwrażliwość na pospolite alergeny środowiska, a w szczególności na pleśnie, występująca przed rozpoczęciem nauki zawodu piekarza stanowi czynnik ryzyka uczulenia na α -amylazę. Uzyskane wyniki potwierdzają zasadność wykonywania punktowych testów skórnych z pospolitymi alergenami środowiska, ze szczególnym uwzględnieniem pleśni, przed rozpoczęciem narażenia zawodowego, a osoby z dodatnimi wynikami tych testów powinny być traktowane jako grupa zwiększonego ryzyka wystąpienia alergii zawodowej. Med. Pr., 2004;56(2):121–130

Słowa kluczowe: astma piekarzy, uczniowie szkół piekarskich, α -amylaza, czynniki ryzyka, zapadalność

ABSTRACT

Background: The aim of the study was to evaluate the prevalence, incidence and risk factors of hypersensitivity to α -amylase as well as to identify allergy-related clinical symptoms in apprentice bakers. **Materials and Methods:** A group of 287 apprentice bakers was examined by using a questionnaire, performing skin prick tests to common and occupational allergens, and evaluating total serum IgE level, specific anti-flour and α -amylase IgE before, 1 year and 2 years after the onset of vocational training. To diagnose occupational respiratory disease, spirometry, histamine and allergen specific inhalation challenge tests were performed. **Results:** None of the apprentices displayed the presence of α -amylase-specific IgE before starting vocational training. After the first year of occupational exposure, one subject developed hypersensitivity to α -amylase, and other 27 subjects after the second year. Generally, 28 (9.8%) apprentices showed hypersensitivity to α -amylase after two years of occupational exposure. Of those subjects, 17 (60.7%) had occupational allergic rhinitis recognized and 15 (53.6%) occupational asthma. Logistic regression analysis revealed that the positive results of SPT to common allergens and moulds are significant risk factor for the development of hypersensitivity to α -amylase (OR = 11.98, 95% CI: 2.60–55.08 and OR = 7.45, 95% CI: 1.12–49.61, respectively). **Conclusion:** The incidence of allergy to α -amylase increases with increasing duration of exposure. Hypersensitivity to common allergens, especially to moulds, is a risk factor of occupational allergy to α -amylase. The study results confirm that skin prick tests to common allergens, particularly to moulds, should be performed in bakers before starting occupational exposure and subjects with positive results should be considered as a group of high risk of occupational allergy. Med Pr 2005;56(2):121–130

Key words: bakers' asthma, apprentice bakers, α -amylase, risk factors

Adres I autora: Św. Teresy 8, 90-950 Łódź, e-mail: jolantaw@imp.lodz.pl

Nadesłano: 17.01.2005

Zatwierdzono: 2.03.2005

© 2005, Instytut Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera w Łodzi

WSTĘP

Od czasu pierwszego zastosowania enzymów w procesach technologicznych produkcji żywności (1970), opublikowano wiele doniesień dotyczących uczulenia i objawów ze strony układu oddechowego u osób zawodowo ekspozowanych na te substancje. Ocenia się, że od 5 do 16% piekarzy jest uczulonych na α -amylazę (1,2). Baur i wsp. wykryli nadwrażliwość alergiczną IgE-zależną na α -amylazę u 34% piekarzy zgłaszających dolegliwości ze strony układu oddechowego w miejscu pracy (3–5). α -amylaza jest, wg niektórych autorów, najczęściej uczulającym alergenem zawodowym środowiska pracy piekarzy. Smith i wsp. stwierdzili dodatnie wyniki punktowych testów skórnych z α -amylazą u 16% piekarzy, a z mąką pszenną u zaledwie 6% (2). Houba i wsp. wykazali ponadto wprost proporcjonalną zależność typu dawka–efekt pomiędzy stężeniem alergenów α -amylazy w powietrzu a występowaniem nadwrażliwości alergicznej IgE-zależnej (1,6).

Występowanie uczulenia zawodowego na ten alergen w Polsce nie było dotychczas przedmiotem badań, a z własnych obserwacji autorów wynika, że wśród piekarzy zgłaszających dolegliwości ze strony układu oddechowego związane z pracą uczulenie na α -amylazę występuje rzadko (dane niepublikowane).

Prezentowana praca stanowi rozwinięcie badania prospektywnego zapadalności na choroby alergiczne o etiologii zawodowej uczniów szkół piekarskich i cukierniczych (7). Celem pracy była ocena występowania, zapadalności, czynników ryzyka i manifestacji klinicznych nadwrażliwości alergicznej IgE zależnej na α -amylazę wśród uczniów szkół piekarskich.

MATERIAŁ I METODY

Osoby badane

Badaniem objęto grupę 452 uczniów szkół piekarskich i cukierniczych z trzech regionów Polski. Ostatecznej analizie poddano dane dotyczące 287 osób, które uczestniczyły w każdym z etapów badania. Średni wiek badanych w momencie zakończenia projektu wynosił $18,2 \pm 0,5$ lat.

Kwestionariusz

Badanie ankietowe przeprowadzał lekarz. Kwestionariusz zawierał pytania o objawy alergii, takie jak: nieżyt nosa, spojówek, duszność, kaszel, objawy skórne, a także przebyte i obecne choroby układu oddechowego. Ponadto pytano o narażenie na dym tytoniowy, choroby alergiczne w rodzinie, ekspozycję na alerge-

ny zwierząt domowych, miejsce zamieszkania (miasto–wieś, stare–nowe budownictwo), kontakt z mąką przed podjęciem nauki zawodu, np. w piekarni rodziców.

Punktowe testy skórne

Punktowe testy skórne wykonywano na przysrodkowej powierzchni przedramienia zestawem pospolitych alergenów środowiska, takich jak: kurz domowy (Stallergen, Francja), roztocze kurzu domowego (*Dermatophagoides pteronyssinus*), pyłki traw i drzew, pleśnie; z alergenami zawodowymi: mąka pszenna, żytnia, kukurydziana, owsiana i jęczmienna, roztocze mączne (*Dermatophagoides farinae*) (Allergopharma, Niemcy) i pył piekarski (Stallergen, Francja). Kontrolę ujemną stanowił roztwór buforu glicerynowego do zawieszania alergenów, a kontrolę dodatnią roztwór chlorowodoru histaminy w stężeniu 1 mg/ml. Zgodnie z zaleceniami Europejskiej Akademii Alergologii i Immunologii Klinicznej testy oceniano po 15 minutach – za wynik dodatni uważano bąbel większy o 3 mm od kontroli ujemnej. Żaden z badanych nie przyjmował leków blokujących receptory histaminowe.

Oznaczenie poziomu całkowitej immunoglobuliny E w surowicy (IgE)

Oznaczenia zostały wykonane przy użyciu zestawów FEIA-CAP (Pharmacia, Szwecja). Za podwyższony poziom całkowitej IgE uznawano stężenia powyżej 100 kU/l. Badania przeprowadzono u wszystkich uczestników badania przed rozpoczęciem narażenia zawodowego.

Oznaczenie antygenoswoistych przeciwciał klasy IgE w surowicy

Wykonano oznaczenie swoistych przeciwciał skierowanych przeciwko alergenom mąki pszennej, żytniej, ryżowej, jęczmiennej (fx20), α -amylazie (k87) metodą immunoenzymatyczną (FEIA-CAP, Pharmacia, Szwecja). Za znamienne przyjęto stężenie przeciwciał przynajmniej 0,35 kU/l.

Schemat badania

U wszystkich przeprowadzono badanie ankietowe, punktowe testy skórne z pospolitymi alergenami środowiska i z alergenami zawodowymi, oznaczono poziom całkowitej immunoglobuliny klasy E (IgE) przed rozpoczęciem ekspozycji zawodowej (etap I), po roku (etap II) i po 2 latach nauki zawodu (etap III). Na po-

trzeby niniejszej analizy, w zamrożonych próbkach surowicy, oznaczono alergenowość przeciwiała IgE (asIgE) dla α -amylazy, u wszystkich 287 osób po roku i po 2 latach, a w przypadku dodatnich wyników, w zabezpieczonych próbkach z etapu I.

Testy prowokacyjne

■ test swoistej prowokacji wziewnej z polepszaczami i spulchniaczami – przeprowadzany w pomieszczeniu o temperaturze 22–25°C, polegający na przesypywaniu mąki przez 30 min (lub do momentu wystąpienia skurczu oskrzeli). W dniu poprzedzającym próbę przeprowadzano test z placebo (mąka ziemniaczana).

Wynik swoistego testu inhalacyjnego oceniano na podstawie zmian:

■ spirometrycznych (pomiar bezpośrednio przed oraz po 5 minutach, po 1, 2, 4, 5 i 24 godzinach po prowokacji),

■ wskaźnika PEF (przed prowokacją i co godzinę po jej przeprowadzeniu w ciągu 24 godzin),

■ cytologicznych i biochemicznych w popłuczynach nosowych

Kryteria rozpoznawania alergii i chorób układu oddechowego o etiologii zawodowej:

■ **Nadwrażliwość na α -amylazę** rozpoznawano w przypadku stwierdzenia w surowicy krwi alergenowość przeciwiała IgE dla α -amylazy.

■ **Alergiczny nieżyt nosa o etiologii zawodowej z uczulenia na α -amylazę** rozpoznawano u osób uczulonych na ten alergen, na podstawie wywiadu i/lub znamiennego wzrostu liczby i odsetka eozynofili w popłuczynach nosowych w przebiegu testu prowokacji swoistej.

■ **Astmę oskrzelową pochodzenia zawodowego z uczulenia na α -amylazę** rozpoznawano u osób uczulonych na ten alergen, na podstawie wywiadu i dodatniego wyniku testu prowokacji swoistej, tzn.:

— wczesna lub dwufazowa reakcja astmatyczna (co najmniej 20% spadek wskaźnika FEV₁)

lub

— co najmniej 3-krotny wzrost nadreaktywności oskrzelowej ocenianej w teście histaminowym po prowokacji w porównaniu z wartościami wyjściowymi.

Analiza statystyczna

W celu oceny czynników ryzyka nadwrażliwości na α -amylazę wyodrębniono dwie grupy: osób uczulonych na α -amylazę (N = 28) oraz grupę kontrolną – osób, u których nie wystąpiło uczulenie na alergeny zawodowe (N = 231). Z analizy wyłączono 5 osób

uczulonych na alergeny zawodowe przed podjęciem nauki zawodu oraz 23 osoby, które uczuliły się na inne alergeny zawodowe.

Kolejną analizę przeprowadzono w celu oceny czynników ryzyka zawodowej choroby układu oddechowego wywołanej przez α -amylazę. Wyodrębniono grupę osób z rozpoznaną astmą lub/i alergicznym nieżytem nosa z uczulenia na α -amylazę (N = 23) oraz grupę kontrolną – osób, u których nie wystąpiło ani uczulenie na alergeny zawodowe ani choroba zawodowa (N = 231).

Występowanie zależności pomiędzy uwzględnionymi w zakresie badania zmiennymi a zmienną wynikową, to jest uczuleniem na alergeny zawodowe, oceniano za pomocą wskaźników ryzyka względnego - ilorazów szans IS (ang. odds ratio, OR). Wskaźnik IS informuje ile razy szansa występowania danego czynnika ryzyka jest wyższa w populacji osób z badaną cechą niż w grupie osób, w której ona nie występuje. Istotność obliczanych wskaźników ryzyka oceniono z zastosowaniem analizy jednoczynnikowej za pomocą programu EPI INFO (CDC, US). Za statystycznie istotne przyjęto wskaźniki o wartości powyżej 1, których lewy przedział ufności był większy od 1. Wszystkie istotne zmienne określone w analizie pojedynczych zmiennych zostały włączone do modelu regresji logistycznej określonego za pomocą programu Statistica'99.

WYNIKI

W badaniu wzięło udział 287 uczniów szkół piekarskich i cukierniczych, w tym 212 chłopców i 75 dziewcząt. Charakterystyki badanych grup zostały podane w tabeli 1. Przed rozpoczęciem nauki zawodu nie stwierdzono przypadku uczulenia na α -amylazę. Po roku uczulenie na α -amylazę stwierdzono u jednej osoby, a po dwóch latach nauki u kolejnych 27 osób. Ogółem po 2 latach nauki 28 (9,8%) uczniów uczuliło się na α -amylazę.

Częstości objawów wskazujących na chorobę alergiczną, zestawiono w tabeli 2. W grupie osób uczulonych na α -amylazę wszyscy zgłaszali objawy ze strony układu oddechowego, dodatkowo 75% badanych podawało występowanie wodnistych katarów po zakończeniu nauki zawodu. Odnotowano także znaczną częstość występowania zmian skórnych (u 50% uczulonych na α -amylazę). U osób z nadwrażliwością na α -amylazę znacznie częściej występowały dodatnie odczyny z pospolitymi i zawodowymi alergenami. U 71% badanych stwierdzono dodatnie wyniki PTS z pospolitymi aler-

Tabela 1. Charakterystyka badanej grupy 287 uczniów szkół piekarskich i cukierniczych – dane uzyskane z badania ankietowego
Table 1. Characteristics of the study population based on the survey of 287 apprentice bakers

Charakterystyka grupy Characteristics of the study	Cała grupa All study subjects N = 287	Osoby uczulone na α -amylazę Subjects sensitised to α -amylase N = 28	Osoby zdrowe Healthy controls N = 231
Wiek (średnia \pm SD) (lata) Age (mean \pm SD) (years)	18,19 \pm 0,47	18,07 \pm 0,26	18,21 \pm 0,49
Płeć: chłopcy/dziewczęta Sex: male/female	212:75 (73,9%:26,1%)	23:5 (82,1%:17,9%)	169:62 (73,2%:26,8%)
Aktualnie palący Smoking status – active smokers	118 (41,1%)	12 (42,9%)	94 (40,7%)
Bierni palacze ETS* smokers	211 (73,5%)	20 (71,4%)	171 (74,0%)
Rodziny wywiad atopowy Family history of atopy	38 (13,2%)	5 (17,9%)	30 (13,0%)
Posiadanie zwierząt domowych Pets at home	157 (54,7%)	19 (67,9%)	123 (53,2%)

* Environmental tobacco smoke.

SD – odchylenie standardowe.
standard deviation.

N – liczba badanych.
number of persons examined.

Tabela 2. Objawy, które wystąpiły u badanych uczniów w ciągu dwóch lat obserwacji (N = 287)
Table 2. The incidence of symptoms of allergy during 2 years of vocational training (N = 287)

Objaw Symptom	Cała grupa All study subjects N = 287	Osoby uczulone na α -amylazę Subjects sensitised to α -amylase N = 28	Osoby zdrowe Healthy controls N = 231
Objawy ze strony dolnych dróg oddechowych Chest symptoms	47 (16,4%)	28 (100%)	6 (2,6%)
Wodniste katar Rhinitis	32 (11,1%)	21 (75%)	4 (1,7%)
Zaczerwienienie, łzawienie oczu Conjunctivitis	16 (5,6%)	9 (32,1%)	3 (1,3%)
Obrzęki Angioedema	2 (0,7%)	2 (7,1%)	0
Zmiany skórne Skin symptoms	18 (6,3%)	14 (50%)	1 (0,4%)

N – liczba badanych.
number of persons examined.

Tabela 3. Odsetek osób, które się uczuliły na alergeny pospolite/zawodowe w trakcie obserwacji (N = 287)

Table 3. The incidence of positive results of skin prick tests to common and occupational allergens after two years of vocational training (N = 287)

Dodatnie wyniki testów skórnych z Positive results of skin prick tests to	Cała grupa All study subjects N = 287	Osoby uczulone na α -amylazę Subjects sensitised to α -amylase N = 28	Osoby zdrowe Healthy controls N = 231
Pospolitymi alergenami środowiska Common allergens	86 (30,0%)	20 (71,4%)	43 (20,0%)
Alergenami środowiska pracy Occupational allergens	37 (12,9%)	15 (53,6%)	5 (2,2%)
Tylko z pospolitymi alergenami środowiska Only common allergens	51 (20,4%)	6 (46,2%)	41 (18,1%)
Tylko z alergenami zawodowymi Only occupational allergens	2 (0,7%)	1 (12,5%)	0
Zarówno z pospolitymi jak i zawodowymi alergenami środowiska Both common and occupational allergens	35 (94,6%)	14 (93,3%)	5 (100%)

N – liczba badanych.
number of persons examined.

Tabela 4. Wyniki analizy czynników ryzyka wystąpienia nadwrażliwości na α -amylazę, manifestującej się obecnością swoistych przeciwciał w surowicy (analiza jednoczynnikowa)**Table 4.** Analysis of risks factors of the development of occupational hypersensitivity to α -amylase (positive specific IgE) during vocational training

Czynnik Factor	Grupa uczniów Subjects				Iloraz szans 95% przedział ufności OR (95% CI)
	uczulonych Sensitized		kontrolna Controls		
	N	%	N	%	
Występowanie objawów chorób alergicznych przed rozpoczęciem nauki zawodu The presence of allergic symptoms before vocational training					
Co najmniej jeden objaw At least one symptom	6	21,4	19	8,2	3,04 (0,89; 9,00)
Kaszel Cough	0	0	6	2,6	0,00 (0,00; 7,18)
Wodniste katar Rhinitis	3	10,7	5	2,2	5,42 (0,79; 29,51)
Zaczerwienienie, łzawienie oczu Conjunctivitis	3	10,7	3	1,3	9,12 (1,14; 70,63)*
Zmiany skórne Skin symptoms	3	10,7	3	1,3	9,12 (1,14; 70,63)*
Istnienie przed rozpoczęciem nauki zawodu Before starting vocational training					
IgE całkowite >100 kU/l Total IgE >100 kU/l	6	21,4	62	26,8	0,74 (0,24; 2,01)
Nalóg palenia tytoniu Active smoking	3	10,7	22	9,5	1,14 (0,20; 4,22)
Ekspozycja na dym tytoniowy ETS	21	75,0	188	81,3	0,69 (0,26; 1,91)
Atopowy wywiad rodzinny Family history of atopy	5	17,9	30	13,0	1,14 (0,40; 4,33)
Posiadanie zwierząt domowych Pets at home	19	67,9	123	53,2	1,85 (0,76; 4,64)
Dodatknie wyniki punktowych testów skórnych z pospolitymi alergenami środowiska Positive skin prick tests with common allergens					
Co najmniej jeden alergen At least one allergen	17	60,7	20	8,7	16,30 (6,19; 43,69)*
Pyłki traw Grass pollens	7	25,0	6	2,6	12,50 (3,37; 47,23)*
Pleśnie I Moulds I	3	10,7	1	0,4	27,60 (2,07; 1454,64)*
Pleśnie II Moulds II	3	10,7	1	0,4	27,60 (2,07; 1454,64)*
Pleśnie I lub/II Moulds I or II	6	21,4	2	0,9	31,23 (5,04; 324,13)*
Pyłki drzew I Trees pollens I	2	7,1	1	0,4	17,69 (0,87; 1047,97)
Pyłki drzew II Trees pollens II	2	7,1	2	0	8,81 (0,61; 124,19)
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	9	32,1	14	6,1	7,34 (2,54; 21,19)*
<i>Dermatophagoides farinae</i>	3	10,7	13	5,6	2,01 (0,34; 8,03)
N	28		231		

N – liczba badanych.
number of persons examined.

* p < 0,05.

Tabela 5. Wyniki analizy jednoczynnikowej czynników ryzyka zawodowej alergii układu oddechowego wywołanej przez α -amylazę
Table 5. Univariate analysis of risks factors of occupational respiratory allergy caused by hypersensitivity to α -amylase during vocational training

Czynnik Factor	Grupa uczniów Subjects				Iloraz szans 95% przedział ufności OR (95% CI)
	chorobą układu oddechowego Airway disease		Kontrolna Controls		
	N	%	N	%	
Występowanie objawów chorób alergicznych przed rozpoczęciem nauki zawodu The presence of allergic symptoms before vocational training					
Co najmniej jeden objaw At least one symptom	4	17,4	19	8,2	2,35 (0,53;8,10)
Kaszel Cough	0	0	6	2,6	0,00 (0,00; 8,83)
Wodniste katar Rhinitis	2	8,7	5	2,2	4,30 (0,38; 28,07)
Zaczerwienienie, łzawienie oczu Conjunctivitis	2	8,7	3	1,3	7,24 (0,57; 65,92)
Zmiany skórne Skin symptoms	3	13,0	3	1,3	11,40 (1,40; 88,95)*
Istnienie przed rozpoczęciem nauki zawodu Before starting vocational training					
IgE całkowite >100 kU/l Total IgE >100 kU/l	5	21,7	62	26,8	0,76 (0,21; 2,24)
Nałóg palenia tytoniu Active smoking	3	13,0	22	9,5	1,42 (0,25; 5,40)
Ekspozycja na dym tytoniowy ETS	19	82,6	188	81,3	1,09 (0,34; 4,61)
Atopowy wywiad rodzinny Family history of atopy	4	17,4	30	13,0	1,41 (0,33; 4,65)
Posiadanie zwierząt domowych Pets at home	16	69,6	123	53,2	2,01 (0,74; 5,61)
Dodatknie wyniki punktowych testów skórnych z pospolitymi alergenami środowiska: Positive skin prick tests with common allergens:					
Co najmniej jeden alergen At least one	14	60,9	20	8,7	16,41 (5,76; 47,73)*
Pyłki traw Grass pollens	5	21,7	6	2,6	10,42 (2,24; 44,76)*
Pleśnie I Moulds I	3	13,0	1	0,4	34,50 (2,55; 1818,14)*
Pleśnie II Moulds II	1	4,3	1	0,4	10,45 (0,13; 823,97)
Pleśnie I i/lub II Moulds I or II	4	17,4	2	0,9	24,11 (3,13; 273,88)*
Pyłki drzew I Trees pollens I	2	8,7	1	0,4	21,90 (1,07; 1297,40)*
Pyłki drzew II Trees pollens II	1	4,3	2	0,9	5,20 (0,08; 102,51)
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	7	30,4	14	6,1	6,78 (2,12; 21,42)*
<i>Dermatophagoides farinae</i>	2	8,7	13	5,6	1,60 (0,16; 7,81)
N	23		231		

N – liczba badanych.
number of persons examined.

* p < 0,05.

genami środowiska, a u 53% z alergenami zawodowymi. Zestawienie liczby i odsetka osób z dodatnimi wynikami PTS przedstawiono w tabeli 3.

Wyniki analizy statystycznej

Rozkład występowania poszczególnych czynników ryzyka w badanych grupach oraz wartości współczynników IS (analiza jednej zmiennej – surowe ilorazy szans) przedstawiono w tabeli 4 i 5. Istotnym czynnikiem ryzyka wystąpienia nadwrażliwości na α -amylazę jest występowanie przed rozpoczęciem nauki zawodu takich objawów, jak: zaczerwienienie i łzawienie oczu, zmiany skórne o typie wyprysku oraz nadwrażliwość na pospolite alergeny środowiska (oceniana przy pomocy PTS), w tym na *Dermatophagoides pteronyssinus*, trawy i pleśnie (tab. 4). Z kolei czynnikami ryzyka wystąpienia zawodowej alergii układu oddechowego wywołanej przez α -amylazę jest występowanie zmian skórnych, nadwrażliwości na pospolite aeroalergeny pod postacią dodatnich wyników PTS z pospolitymi alergenami, pleśniami, trawami, drzewami I oraz *Dermatophagoides pteronyssinus* (tab. 5).

Wyniki analizy wieloczynnikowej z zastosowaniem regresji logistycznej wskazują, że nadwrażliwość na

Tabela 6. Wyniki analizy czynników ryzyka wystąpienia nadwrażliwości na α -amylazę u uczniów piekarskich z zastosowaniem modelu regresji logistycznej. Do modelu włączono czynniki uznane za istotne w analizie jednoczynnikowej

Table 6. The multiple regression analysis of risk factors for developing hypersensitivity to α -amylase during vocational training. The analysis model included factors found by univariate analysis to be significant

Czynniki ryzyka uczulenia na α -amylazę Risk factors of hypersensitivity to α -amylase	p	Iloraz szans 95% przedział ufności OR (95% CI)
Zaczerwienienie, łzawienie oczu w wywiadzie Previous history of conjunctivitis	0,409	2,55 (0,27; 23,82)
Zmiany skórne w wywiadzie Previous history of skin symptoms	0,112	5,56 (0,66; 46,62)
Dodatknie wyniki punktowych testów skórnych z: Positive results of skin prick test to:		
– pospolitymi alergenami środowiska – common allergens	0,001	11,98 (2,60; 55,08)*
– pyłkami traw – grass pollens	0,897	0,90 (0,18; 4,61)
– pleśniami I lub II – moulds I or II	0,037	7,45 (1,12; 49,61)*
– <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	0,745	0,77 (0,16; 3,65)

p – poziom istotności.
significant level.

* p < 0,05.

Tabela 7. Wyniki analizy czynników ryzyka zawodowej alergii układu oddechowego wywołanej przez α -amylazę z zastosowaniem modelu regresji logistycznej. Do modelu włączono czynniki uznane za istotne w analizie jednoczynnikowej

Table 7. The multiple regression analysis of risk factors for developing hypersensitivity to α -amylase. The model for analysis included factors found to be significant by univariate analysis

Czynniki ryzyka uczulenia na α -amylazę Risk factors of hypersensitivity to α -amylase	p	Iloraz szans 95% przedział ufności OR (95% CI)
Zmiany skórne w wywiadzie Previous history of skin symptoms	0,039	8,42 (1,10; 64,29)*
Dodatknie wyniki punktowych testów skórnych: Positive results of skin prick test to:		
– pospolite alergeny środowiska – common allergens	0,004	12,41 (2,20; 70,12)*
– pyłki traw – grass pollens	0,612	0,62 (0,09; 3,96)
– pyłki drzew I – trees pollens I	0,164	6,45 (0,46; 90,52)
– pleśnie I i/lub II – moulds I or II	0,069	6,44 (0,86; 48,24)
– <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	0,629	0,65 (0,12; 3,71)

p – poziom istotności.
significant level.

* p < 0,05.

pospolite alergeny środowiska (OR 11,98 95%CI 2,60; 55,08) oraz pleśnie I i/lub II (OR 7,45 95%CI 1,12; 49,61) są istotnym czynnikiem ryzyka nadwrażliwości na α -amylazę (tab. 6). Czynnikiem ryzyka wystąpienia chorób układu oddechowego wśród uczniów piekarskich uczulonych na α -amylazę są nadwrażliwość na pospolite alergeny środowiska (OR 12,41 95%CI 2,20; 70,12) i występowanie zmian skórnych (OR 8,42 95%CI 1,10; 64,29) przed rozpoczęciem narażenia (tab. 7).

OMÓWIENIE

α -amylaza jest szeroko stosowana w przemyśle spożywczym, zwłaszcza w piekarniach w celu polepszenia jakości pieczywa, czy też np. do produkcji sake, wspomagając fermentację. α -amylaza obecna w środowisku pracy piekarzy pochodzi z dwóch źródeł. Głównym źródłem jest ulepszacz, zawierający α -amylazę pochodzenia grzybowego, dodawany do chleba w typowym stężeniu wagowym 0,01–0,055%. Drugim źródłem α -amylazy jest sama mąka (2). α -amylaza wytwarzana przez grzyby wykazuje także niewielką aktywność amyloglukozydazy i proteazy (8). Jest to enzym glikolityczny, katalizujący hydrolizę wiązań 1–4 glikozydo-

wych skrobi (z wyjątkiem końcowych), przekształcając ją w maltozę i dekstryny, na które następnie działa β -amylaza, hydrolizująca terminalne wiązania i uwalniająca maltozę. Mąki zwykle zawierają wystarczającą ilość β -amylazy, natomiast ilość α -amylazy jest zmienna, zależna od wpływu klimatu i często musi być uzupełniana w procesie pieczenia. α -amylaza produkowana przez *Aspergillus oryzae* jest glikoproteiną, składająca się z 478 aminokwasów. Analiza krystalograficzna wykazała, że jej cząsteczka składa się z trzech strukturalnych domen. Struktura konformacyjna stabilizowana jest przez 4 mostki dwusiarczkowe. W pobliżu centrum aktywnego enzymu znajdują się dwa miejsca wiązania wapnia, który najprawdopodobniej jest niezbędny do aktywacji enzymu. Epitopy α -amylazy są rozpoznawane przez limfocyty B i nawet całkowity rozkład α -amylazy, przez trypsynę i endoproteazę Arg-C, nie niszczy jej zdolności wiązania IgE. Dzięki technice immunoblottingu (SDS-PAGE) stwierdzono, że jest to białko o masie cząsteczkowej 53 kD i pI 4,0 (9).

Pierwszy przypadek zawodowej astmy wywołanej przez α -amylazę, u pracownika przemysłu farmaceutycznego, został opisany w 1979 r. Rozpoznanie oparto wówczas na wywiadzie i dodatnim wyniku punktowych testów skórnych. W kolejnych latach wielokrotnie potwierdzono mechanizm IgE-zależny, a rozpoznania opierano na wynikach swoistych prób prowokacyjnych. W przedstawionym badaniu w trakcie dwuletniej obserwacji 28 uczniów szkół piekarskich uczuliło się na α -amylazę. Częstość 9,85% pokrywa się z doniesieniami innych badaczy, oceniających, że 5–9% piekarzy jest uczulonych na ten enzym (1,10,11). Obserwowana w niniejszym badaniu zapadalność wzrastała wraz z czasem narażenia, po pierwszym roku nauki uczulił się tylko jeden uczeń, podczas gdy u pozostałych uczulenie to rozwinęło się dopiero w kolejnym roku narażenia.

Występowanie uczulenia na α -amylazę oceniono za pomocą oznaczania obecności asIgE w surowicy po pierwszym i drugim roku nauki zawodu. Oznaczenie swoistych przeciwciał skierowanych przeciwko α -amylazie metodą immunoenzymatyczną jest metodą bardzo czułą i swoistą. W okresie, w którym przeprowadzono badanie nie było w Polsce komercyjnie dostępnych substancji do wykonywania punktowych testów skórnych z α -amylazą. Celem potwierdzenia rozwoju uczulenia już w trakcie ekspozycji zawodowej, w zamrożonych próbkach surowicy pobranych

w I etapie badania dokonano oznaczenia asIgE, uzyskując we wszystkich przypadkach wynik ujemny.

Testy prowokacyjne wykonywano odtwarzając – w miarę możliwości jak najdokładniej – warunki pracy. Ponieważ, w większości przypadków, polepszacze i spulchniacze pochodzące ze środowiska pracy badanych były mieszane z mąką, test swoistej prowokacji wziewnej był niejednokrotnie przeprowadzany z dwoma lub więcej alergenami. Dlatego też astmę lub alergiczny nieżyt nosa z uczulenia na α -amylazę rozpoznawano tylko w tych przypadkach, w których oprócz dodatniego wyniku próby prowokacyjnej stwierdzano obecność asIgE dla α -amylazy.

Przed wprowadzeniem substancji polepszających w przemyśle piekarniczym to mąki były głównymi alergenami zawodowymi piekarzy. Od kiedy zaczęto stosować α -amylazę, coraz częściej pojawiają się doniesienia o jej uczulających właściwościach. W przebiegu uczulenia dochodzi najczęściej do rozwoju alergicznego nieżyty nosa lub astmy oskrzelowej, niekiedy o ciężkim przebiegu. Opisano również objawy nieżyty nosa po spożyciu chleba, upieczonego z dodatkiem α -amylazy, u osoby z zawodową alergią dróg oddechowych na mąkę i α -amylazę (12), a także 21% spadek wskaźnika PEFR po doustnej, podwójnie ślepej, próbie prowokacyjnej u pacjentki z rozpoznaną astmą piekarzy (13). Można więc przypuszczać, że α -amylaza nie jest całkowicie inaktywowana w procesie pieczenia. Sander i wsp. ocenili aktywność α -amylazy w pieczywie, przygotowanym z użyciem powszechnie stosowanych ilości tego enzymu. W niektórych częściach pieczywa – głównie w skórce części bocznych i dolnej – stwierdzono obecność 2,3–7 ng α -amylazy/g pieczywa. Od 0,1 do 20% α -amylazy, obecnej w gotowych wyrobach, zachowywało zdolność wiązania przeciwciał IgE (14).

W badanej grupie uczulenie na α -amylazę najczęściej manifestowało się objawami ze strony dolnych dróg oddechowych (duszności, kaszel, świsty) (100% osób) oraz wodnistym katarzem (75%), rzadziej występowaniem zmian skórnych (50%), nie obserwowano natomiast objawów alergii po spożywaniu pieczywa.

Z obserwacji własnych autorów wynika, że w Polsce α -amylaza jest alergenem stosunkowo rzadko wywołującym astmę zawodową piekarzy. Uczulenie na α -amylazę stwierdzono głównie u uczniów szkół piekarskich, a tylko w pojedynczych przypadkach u piekarzy z wieloletnim stażem pracy. Może to oznaczać, że zmiany zachodzące w technologii produkcji pieczy-

wa w naszym kraju mogą wywrzeć istotny wpływ na zachorowalność na alergię zawodową wśród piekarzy.

Wzrastająca częstość zawodowej alergii na alergeny o dużej masie cząsteczkowej skłania badaczy do poszukiwań czynników ryzyka tych uczuleń. Wyniki analizy regresji logistycznej wykazały istotną rolę nadwrażliwości na pospolite alergeny środowiska, a zwłaszcza na pleśnie, jako czynnika ryzyka uczuleń na α -amylazę. Analiza czynników ryzyka astmy lub alergicznego nieżytu nosa o etiologii zawodowej wywołanej przez α -amylazę także potwierdziła istotną rolę nadwrażliwości na pospolite alergeny środowiska oraz występowania zmian skórnych. Większość prezentowanych badań dotyczy oceny czynników ryzyka na alergeny zawodowe piekarzy – zarówno mąki, jak i enzymy, obecne w polepszaczach i spulchniaczach. Wyniki tych analiz są jednakże podobne do prezentowanych powyżej. De Zotti i wsp. stwierdzili istotną rolę zarówno osobniczego wywiadu atopowego, jak i atopii definiowanej jako dodatni wynik testu punktowego z co najmniej jednym z pospolitych alergenów środowiska, w rozwoju uczulenia na alergeny zawodowe piekarzy (11). W badaniach Cullinan i wsp. atopia była znamiennej związana z występowaniem pozytywnych wyników testów z alergenami zawodowymi, ale nie z pojawianiem się objawów choroby alergicznej (10,15). Występowanie nieżytu nosa/spojówek było tu związane z ekspozycją na wysokie stężenia pyłu mącznego i alergenów. Podobnie jak De Zotti i Bovenzi nie stwierdziliśmy istotnej roli rodzinnego wywiadu atopowego i podwyższonego poziomu całkowitej IgE jako czynników ryzyka nadwrażliwości na alergeny zawodowe środowiska pracy piekarzy (16).

Wydaje się, że na szczególną uwagę zasługuje nadwrażliwość na pleśnie jako czynnik ryzyka alergii na α -amylazę. Według naszej wiedzy, nikt do tej pory nie rozważał tego uczulenia zawodowego w kontekście alergii na pleśnie. Grzyby pleśniowe są częstym alergenem pospolitym, ocenia się, że od 0,5 do 4% populacji ogólnej wykazuje cechy uczulenia na pleśnie. U około 3% pacjentów z podejrzeniem alergii dróg oddechowych w Portugalii i 20% w Hiszpanii stwierdza się dodatnie wyniki PTS z gatunkami *Alternaria* lub *Cladosporium*. Badania w Stanach Zjednoczonych wykazały, że u ok. 80% pacjentów z rozpoznaną astmą oskrzelową PTS dają wynik dodatni z co najmniej jednym gatunkiem pleśni (17).

Aspergillus oryzae to kropidlak z klasy workowców, organizm głównie saprofityczny, należący do grzybów niedoskonałych. α -amylaza stosowana w przemyśle

piekarniczym często pochodzi z *Aspergillus oryzae*, ale warto zwrócić uwagę, że wiele grzybów produkuje α -amylazę, gdyż to umożliwia im dostępność pokarmów cukrowych. Większość grzybów produkuje ten enzym w niewielkich stężeniach, zależnych głównie od środowiska wzrostu, np. w środowisku bogatym w polisacharydy grzyby zwiększają produkcję enzymów amylolitycznych.

Uzyskane przez nas wyniki potwierdzają po raz kolejny celowość poszerzenia zakresu badań profilaktycznych, w tym również wstępnych, o wykonywanie punktowych testów skórnych z pospolitymi alergenami środowiska. Szczególną uwagę należy zwrócić na uczulonych na pleśnie, gdyż osoby te są obciążone ryzykiem alergii na enzymy wchodzące w skład polepszaczy i spulchniaczy – α -amylazę i enzymy ksylanolityczne, będące coraz częstszym alergenem zawodowym.

Należy także podkreślić, że dodatnie wyniki punktowych testów skórnych mogą służyć wyłącznie wyodrębnieniu grupy szczególnego ryzyka wystąpienia alergii zawodowej, a sama nadwrażliwość nie powinna być powodem odsunięcia osoby uczulonej od pracy.

WNIOSKI

1. Częstość pojawienia się nadwrażliwości na α -amylazę wzrasta wraz z długością trwania narażenia zawodowego.
2. U około 10% uczniów szkół piekarskich po dwóch latach nauki zawodu rozwija się nadwrażliwość na α -amylazę manifestująca się obecnością alergenowo-swoistych przeciwciał klasy IgE.
3. Nadwrażliwość na pospolite alergeny środowiska, a w szczególności na pleśnie, występująca przed rozpoczęciem nauki zawodu piekarza stanowi czynnik ryzyka uczulenia na α -amylazę.

PIŚMIENNICTWO

1. Houba R., Heederik D.J.J., Doekes G., van Run P.E.M.: Exposure – sensitisation relationship for α -amylase allergens in baking industry. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1996;154:130–136
2. Smith T.A., Lumley K.P.S., Hui E.H.: Allergy to flour and fungal amylase in bakery workers. *Occup. Med.*, 1997;47:21–24
3. Baur X., Fruchmann G., Haug B., Rasche B., Reiher W., Weiss W.: Role of *Aspergillus* amylase in baker's asthma. *Lancet*, 1986;1:43
4. Baur X., Czuppon A.B., Sander I.: Heating inactivates the enzymatic activity and partially inactivates the allergenic activity of Asp o 2. *Clin. Exp. Allergy*, 1996;26:232–234
5. Baur X., Degens P.O., Sander I.: Baker's asthma: still among the most frequent occupational respiratory disorders. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1998;102(6Pt1):984–997

6. Houba R., Heederik D., Doekes G.: Wheat sensitisation and work-related symptoms in the baking industry are preventable. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1998;158:1499–1503
7. Walusiak J., Hanke W., Górski P., Pałczyński C. Respiratory allergy in apprentice bakers: do occupational allergies follow the allergic march? *Allergy*, 2004;59:442–450
8. Smith T.A., Lumley K.P.S.: Work-related asthma in a population exposed to grain, flour and other ingredient dust. *Occup. Med.*, 1996;46(1):37–40
9. Baur X., Posch A. Characterized allergens causing bakers' asthma. *Allergy*, 1998;53(6):562–566
10. Cullinan P., Lawson D., Nieuwenhuijsen M.J., Sandiford C., Tee R.D., Venables K.M. i wsp.: Work related symptoms, sensitisation, and estimated exposure in workers not previously exposed to flour. *Occup. Environ. Med.*, 1994;51:579–583
11. De Zotti R., Larese F., Bovenzi M., Negro C., Molinari S.: Allergic airway disease in Italian bakers and pastry makers. *Occup. Environ. Med.*, 1994;51:548–552
12. Baur X., Czuppon A.B.: Allergic reaction after eating α -amylase (Asp o 2) – containing bread. *Allergy*, 1995;50:85–87
13. Kanny G., Moneret-Vautrin D.A.: Alpha amylase contained in bread can induce food allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1995;95:132–133
14. Sander I., Raulf-Heimsoth M., Kampen v. van, Baur X.: Is fungal α -amylase in bread an allergen? *Clin. Exp. Allergy*, 2000;30:560–565
15. Cullinan P., Cook A., Nieuwenhuijsen M.J., Sandiford C., Tee R.D., Venables K.M. i wsp.: Allergen and dust exposure as determinants of work-related symptoms and sensitisation in a cohort of flour-exposed workers; a case-control analysis. *Ann. Occup. Hyg.*, 2001;45:97–103
16. De Zotti R., Bovenzi M.: Prospective study of work related respiratory symptoms in trainee bakers. *Occup. Environ. Med.*, 2000; 57:58–61
17. Bush R., Portnoy J.: The role and abatement of fungal allergens in allergic diseases. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2001;107:430–440