

УДК 581.331.2

Критерии стандартизации индивидуальных аллергенов пыльцы деревьев при создании микст-аллергена

О.В. Усовик

Витебский государственный медицинский университет, Витебск

The standartisations criteria of individual pollen allergens from wood plants in manufacturing of mixed allergens

O.V. Usovik

Vitebsk State Medical University

Аннотация

Разработан микст-аллерген из пыльцы деревьев, который включает пыльцу березы (*Betula sp.*), ольхи (*Alnus sp.*), лещины (*Corylus avellana L.*) в равных соотношениях и обоснован его состав. Путем фармакогностического анализа установлены критерии подлинности и доброкачественности пыльцы, входящей в состав микст-аллергена, необходимые для организации последующего промышленного производства: определены показатели влажности, зольности, макро- и микроскопические параметры пыльцы, содержание белкового азота. Установлено, что в индивидуальных аллергенах пыльцы деревьев и микст-аллергене может присутствовать до 28 % морфологически измененных пыльцевых зерен от общего количества пыльцы; показатель влажности не должен превышать 4%; содержание золы общей не должно быть более 4%; содержание белкового азота должно быть не менее 23 212 PNU.

Ключевые слова

Пыльца, микст-аллерген, влажность, зольность, белковый азот

Пыльца растений является наиболее распространенным биоаллергеном, вызывающим аллергические заболевания - поллинозы, имеющие разнообразные клинические проявления: аллергический ринит, бронхиальная астма, крапивница, дерматит, конъюнктивит и др. При этом частота встречаемости аллергических заболеваний, степень их тяжести, правильность постановки диагноза и успешность лечения имеют выраженный региональный характер,

Summary

The mixed allergen of wood plant including the pollen of *Betula sp.*, *Alnus sp.*, *Corylus avellana L.* was made. The criteria for true raw material and mixed allergens pollen's meeting all the requirements necessary for the organization of industrial production were worked out by pharmacognosis. The indices of humidity, ash content, macro- and microscopic parameters of pollen, content of proteins nitrogen were established. In individual pollen allergens from wood plants and mixed allergens the containing of the morphologically modified pollen may be determined up to 28 % of the whole pollen; the indices of humidity and general ash were established up to 4 %; the content of proteins nitrogen - non less 23 212 PNU.

Key words

Pollen, mixed allergen, the indices of humidity, ash content, proteins nitrogen

обусловленный составом растительного покрова, сроками пыления и пыльцевой продуктивностью растений, количественной динамикой и систематическим разнообразием аэропаллиноспектров. Известно, что антигенный состав одноименной пыльцы из различных геоклиматических зон существенно отличается, что выдвигает на первый план изучение роли региональных природных факторов в формировании аллергической активности пыльцы [1,2,3,4].

Серьезной проблемой являются изменения аллергенных свойств пыльцы вследствие взаимодействия природных аллергенов с некоторыми продуктами антропогенного происхождения. Такая вероятность допускалась отечественными аллергологами еще в начале 60-х годов. Тогда же были приведены возможные свидетельства в пользу того, что некоторые химические соединения, загрязняющие окружающую среду, могут изменять аллергенные свойства пыльцы растений и приводить к образованию новых аллергенных комплексов. Сейчас это направление приобретает актуальность в связи с ухудшением экологической ситуации во многих странах [5]. Если ранее исследователи считали причиной поллиноза географические различия и образ жизни, то в настоящее время основная роль отводится техногенным загрязнителям атмосферного воздуха. Анализ промышленных дымов, например, показывает, что они являются значительным потенциальным источником атмосферного загрязнения мышьяком, свинцом, марганцем, никелем, кадмием, ртутью и др. Произрастая в неблагоприятных экологических условиях, растения накапливают несвойственные для них химические вещества, либо вещества в несвойственных растениям концентрациях. Причем известно, что содержание микроэлементов, в том числе тяжелых металлов, в генеративной сфере растений выше, чем в вегетативной [6]. Также, известно синергетическое влияние на организм человека пыльцы растений и пылевых частиц в атмосфере (химических веществ, частичек неорганической пыли и др.). Имеются данные о том, что загрязнители воздуха вызывают повреждение пыльцы, ее антигенов [7], а загрязненная пыльца индуцирует цитотоксические реакции, сенсibilизацию, повышает реактивность слизистой оболочки носа и бронхов. Одним из факторов, обуславливающих рост заболеваемости поллинозом в промышленных регионах, является увеличение времени жизнеспособности пыльцы аллергенных растений в зонах промышленных выбросов (территорий предприятий) [8], что свидетельствует о воздействии экозагрязнителей на генетический аппарат пыльцы.

В Республике Беларусь отмечается рост аллергических заболеваний, вызванных аллергенами растительного происхождения [9], поэтому на сегодня актуальной является задача создания национального банка региональных аллергенов и их отечественное производство. Это предполагает в первую очередь изучение спектра реги-

ональных аэроаллергенов, а затем - разработку нормативной документации на пыльцу растений как сырья для получения аллергенов.

Целью настоящей работы явились разработка аллергенов пыльцы деревьев и микст-аллергена (смеси пыльцы) и изучение их стандартных показателей подлинности и доброкачественности индивидуальных.

Материалы и методы

В исследовании использована пыльца *Alnus sp.*, *Betula sp.*, *Corylus avellana L.*, собранная в 1998-2005 гг. во всех областных центрах Республики Беларусь: г. Минск, г. Витебск, г. Брест, г. Гомель, г. Гродно, г. Могилев.

Пыльцевые зерна описаны на основе изучения свежей (неацетоллизированной) пыльцы, заключенной в глицерин-желатин, под микроскопом МБР-1 при увеличении 15x40 (иммерсия).

Использовали порядок описания пыльцы, принятый в 1965 г. в г. Новосибирске на II Всесоюзной палинологической конференции:

1. Тип пыльцы, форма с полюса, с экватора;
2. Размеры полярной оси, экваториального диаметра;
3. Апертура (борозды, поры), расположение, форма, строение, число, величина;
4. Экзина, толщина в мкм, характер скульптуры.

Микроскопические исследования нативной пыльцы с учетом морфологических изменений, которые считали примесью к нормально развитым пыльцевым зернам, проводили в глицерине и спирто-глицериновой смеси на микроскопе МБР - 1 при увеличении 15x40 (глицерин - желатин) и на микроскопе МБР - 15 при увеличении 15x90 (иммерсия).

Морфологические изменения были установлены в индивидуальных аллергенах пыльцы деревьев, входящих в микст-аллерген, и в микст-аллергене. Для выявления количества морфологически измененных пыльцевых зерен было изучено по 100 пыльцевых зерен из каждого региона, по пять повторов в 2003 г. и 2005 г.

Влажность определяли согласно методике Государственной Фармакопеи XI издания «Определение влажности лекарственного растительного сырья» [10], а также по разработанной нами методике определения влажности пыльцы при комнатной температуре, позволяющей полностью исключить инактивацию белков при повышенных температурах, которые являются аллергенами.

Определение золы в пыльце деревьев проводили согласно методике Государственной Фармакопеи XI издания по статье «Определение золы» [10].

Определение микроэлементов проведено методом атомно-адсорбционной спектроскопии на атомно-адсорбционном спектрометре ААС 3300 (Perkin Elmer) в соответствии с ГОСТ 30178 - 96 «Сырье и пищевые продукты» в пыльце следующих деревьев: *Alnus sp.*, *Betula sp.*, *Corylus avellana L.* и микст-аллергене из них.

Количественное определение белка в пыльце *Alnus sp.*, *Betula sp.*, *Corylus avellana L.* и микст-аллергене проводили методом Бредфорда [11].

Результаты и обсуждение

На основании изучения аэропалеонтологических спектров областных центров Беларуси получены данные о преобладающих видах пыльцы деревьев в воздухе. Максимальное количество пыльцевых зерен аэропалеонтологических спектров в 2005 году приходится на следующие виды пыльцы: *Betula sp.* (14,92 ± 1,8%), *Pinus sylvestris L.* (9,71±1,04%), *Alnus sp.* (6,26±0,66%), *Salix sp.* (5,13±1,08%), *Populus sp.* (5,5±0,58%), *Corylus avellana L.* (5,22±0,91%).

Для определения состава микст-аллергена из пыльцы деревьев нами использованы данные аллергологических кабинетов г. Минска, г. Витебска, г. Бреста, г. Гомеля, г. Гродно, г. Могилева. После обработки данных за 2005 год и изучения частоты встречаемости положительных реакций с пыльцевыми аллергенами выявлено следующее: во-первых, наиболее

часто встречались повышенные аллергические реакции на пыльцу березы (*Betula sp.*), ольхи (*Alnus sp.*), лещины (*Corylus avellana L.*), во-вторых, у большинства больных наблюдалась сенсбилизация к вышеуказанным трем видам пыльцы одновременно (таблица 1).

В-третьих, несмотря на то, что пыльца сосны (*Pinus sylvestris L.*) находится на втором месте по количеству в аэропалеонтологических спектрах, мы не включили ее в микст-аллерген из-за слабой аллергеной активности. Пыльца ив (*Salix sp.*) не включена в микст-аллерген из-за отсутствия данных по частоте встречаемости аллергических реакций в Беларуси, хотя полученные результаты свидетельствуют об аллергенных свойствах данного вида пыльцы [12]. Пыльца тополя (*Populus sp.*), несмотря на высокое содержание ее в воздухе, также не включена в микст-аллерген из-за низкой аллергеной активности согласно данным аллергологических кабинетов.

Исходя из вышеизложенного, разработан микст-аллерген из пыльцы деревьев следующего состава: *Betula sp.* : *Alnus sp.* : *Corylus avellana L.* в равных соотношениях.

Стандартизация индивидуальных аллергенов пыльцы и микст-аллергена

Пыльца отдельных видов и микст-аллерген представляют собой желтый, легко сыпучий, пылевидный порошок, без вкуса и запаха.

Микроскопические признаки пыльцы деревьев

Микст-аллерген из пыльцы деревьев состоит из трех видов пыльцы: *Alnus sp.*,

Таблица 1
Частота встречаемости (%) аллергических реакций на пыльцу древесных растений

Наименование пыльцы	Минск	Брест	Гомель	Витебск	Гродно	Могилев	В целом по Республике Беларусь M ± s
Береза	11,90	11,43	8,57	5,13	6,25	9,09	8,73±2,47
Ольха	2,38	5,71	2,86	0	3,13	6,06	3,36±2,06
Лещина	4,76	5,71	0	5,13	3,13	3,03	3,63±1,89
Береза+ольха	9,52	8,57	5,71	17,95	9,38	6,06	9,53±4,05
Береза+лещина	9,52	2,86	2,86	7,69	6,25	12,12	6,88±3,36
Береза+ольха+лещина	61,90	65,71	80,00	64,10	71,88	63,64	67,87±6,27

Примечание - M - среднее арифметическое, s - стандартное отклонение

Betula sp., *Corylus avellana L.*, каждый из которых должен быть определен по микроскопическим признакам.

Alnus sp. – ольха. Пыльцевые зерна четырех-, пятипоровые, в очертании с полюса четырех-пятиугольные, с экватора – широкоэллиптические. Полярная ось - 18,0 мкм; экваториальный диаметр - 23,4 – 27,5 мкм. Поры экваториальные, сильно выступают над поверхностью пыльцевого зерна, диаметром 8,5 мкм, округлые. Расстояние между порами 8,5 мкм. Экзина 1,7 – 2,0 мкм толщиной; скульптура слабо заметная.

Betula sp. – берёза. Пыльцевые зерна трёхпоровые, шаровидные; в очертании с полюса округлые или округло – треугольные, с экватора – широкоэллиптические; Полярная ось - 22,4 мкм; экваториальный диаметр 25,2 – 27,0 мкм. Поры резко приподнимаются над общей поверхностью зёрен, диаметром 6,8 – 9,3 мкм; округлые или овальные с ободком. Экзина 1,7 – 2,0 мкм; скульптура мелкобугорчатая.

Corylus avellana L. – лещина обыкновенная. Пыльцевые зерна трёхпоровые, в очертании с полюса треугольные, с экватора – широкоэллиптические; Полярная ось - 19,8 мкм, экваториальный диаметр 21,6 – 23,4 мкм. Поры крупные, полого приподнимаются над общей поверхностью зерна, округлые, 2,5 мкм в диаметре, без ободка. Экзина 2,7 мкм. Структура незаметная.

Поскольку основные пыльцевые аллергены локализованы в спородерме, изменение её структуры обязательно скажется на аллергенной активности, усиливая последнюю. В этой связи возникает необходимость нового подхода к изучению аллергенной пыльцы, т.к. пыльцевые зерна с изменённой морфологической структурой будут отличаться и своей аллергенной активностью. В рассмотренной пыльце выделено три разновидности морфологических изменений: 1 – загрязнённые пыльцевые зерна с чётко заметными на поверхности чужеродными частицами; 2 – разорванные пыльцевые зерна с трещинами, оторванными частями, разрывами экзины или апертур; 3 – деформированные – недоразвитые или сросшиеся пыльцевые зерна, имеющие структуры, не свойственные данному виду пыльцы (выросты различной величины и формы) [13, 14].

Для унификации критерия стандартизации по наличию морфологических изменений в пыльце все вышеперечисленные группы нами

объединены в одну – морфологически измененные пыльцевые зерна. Данные для пыльцы *Alnus sp.*, *Betula sp.*, *Corylus avellana L.* и микст-аллергена из вышеуказанных видов пыльцы деревьев представлены в таблице 2.

Таким образом, максимальное содержание морфологически измененных пыльцевых зерен в индивидуальных аллергенах пыльцы деревьев и микст-аллергене не должно превышать 28 %.

Показатели влажности и зольности пыльцы

Данные определения влажности по методике Государственной Фармакопеи XI издания и предложенной методике определения влажности при комнатной температуре в отдельных видах пыльцы деревьев и микст-аллергене представлены в таблице 3.

Данные, полученные обеими методиками для индивидуальных аллергенов пыльцы деревьев и микст-аллергена, достоверно не отличались друг от друга (проверены с помощью критерия t-тест Стьюдента, $p > 0,05$, где p – уровень значимости). Таким образом, стандартный показатель влажности не должен превышать 4 %.

Содержание золы в пыльце *Alnus sp.*, *Betula sp.*, *Corylus avellana L.* и микст-аллергене из вышеуказанных видов пыльцы деревьев указано в таблице 4.

Достоверных отличий в содержании общей золы и золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте, во всех исследуемых образцах не наблюдалось (проверены с помощью критерия t-тест Стьюдента, $p > 0,05$, где p – уровень значимости).

Таким образом, содержание золы общей в индивидуальных аллергенах пыльцы деревьев и микст-аллергене не должно превышать 4 %, золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте – 0,3 %.

Содержание минеральных примесей

Определение содержания минеральных примесей в индивидуальных аллергенах пыльцы деревьев и микст-аллергене проводили методом атомно-абсорбционной спектроскопии. Полученные данные указаны в таблице 5.

При сравнении полученных данных с имеющимися требованиями к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов (6.6.8. Специи и пряности столовые, сушеное растительное сырье (травы, пряно-ароматическое сырье и др.) [15], установлено, что показания не выходят за имеющиеся нормы, поэтому не имеют аналитического значения, вследствие чего вводить дополнительные стандарты не посчитали целесообразным.

Таблица 2**Содержание морфологических разновидностей пыльцевых зёрен в индивидуальных аллергенах пыльцы и микст-аллергене, %**

Вид пыльцевых зёрен	Минск M±s	Брест	Гомель	Гродно	Могилев	Витебск	Всего
<i>Betula sp.</i>							
Нормальные п.з.	80,6±2,0	82,7±1,7	72,8±2,1	83,2±2,2	74,1±1,9	81,4±2,5	79,1±2,1
Морфологически изменённые п.з.	19,4±2,0	17,3±1,7	27,2±2,1	16,8±2,2	25,9±1,9	18,6±2,5	20,9±2,1
<i>Corylus avellana L.</i>							
Нормальные п.з.	79,3±2,7	81,8±2,1	71,7±2,6	83,2±2,4	73,5±2,3	80,4±2,3	78,3±2,4
Морфологически изменённые п.з.	20,7±2,7	18,2±2,1	28,3±2,6	16,8±2,4	26,5±2,3	19,6±2,3	21,7±2,4
<i>Alnus sp.</i>							
Нормальные п.з.	79,2±2,4	82,7±1,8	72,5±2,3	82,8±2,3	72,9±2,3	81,3±1,8	78,6±2,1
Морфологически изменённые п.з.	20,8±2,4	17,3±1,8	27,5±2,3	17,2±2,3	27,1±2,3	18,7±1,8	21,4±2,1
Микст-аллерген							
Нормальные п.з.	79,1±2,0	82,2±1,7	72,1±2,5	83,0±2,1	73,3±1,3	81,1±1,9	78,5±1,9
Морфологически изменённые п.з.	20,9±2,0	17,8±1,7	27,9±2,5	17,0±2,1	26,7±1,3	18,9±1,9	21,5±1,9

Примечание: М – среднее арифметическое, s – стандартное отклонение

Таблица 3**Содержание влажности в пыльце деревьев, %**

Наименование региона	<i>Betula sp.</i>	<i>Corylus avellana L.</i>	<i>Alnus sp.</i>	Микст-аллерген
	Влажность (по ГФ) M±s, n=4			
Брест	3,59 ± 0,05	3,60 ± 0,03	3,63 ± 0,02	3,56 ± 0,02
Витебск	3,58 ± 0,03	3,60 ± 0,02	3,59 ± 0,04	3,60 ± 0,02
Гомель	3,59 ± 0,03	3,65 ± 0,05	3,60 ± 0,02	3,62 ± 0,02
Гродно	3,59 ± 0,02	3,61 ± 0,02	3,61 ± 0,03	3,62 ± 0,03
Минск	3,61 ± 0,03	3,62 ± 0,02	3,63 ± 0,01	3,62 ± 0,03
Могилёв	3,62 ± 0,03	3,62 ± 0,03	3,58 ± 0,05	3,58 ± 0,04
	<i>Betula sp.</i>	<i>Corylus avellana L.</i>	<i>Alnus sp.</i>	Микст-аллерген
	Влажность (при комнатной температуре)			
Брест	3,58 ± 0,04	3,59 ± 0,04	3,59 ± 0,04	3,62 ± 0,02
Витебск	3,63 ± 0,02	3,54 ± 0,03	3,61 ± 0,02	3,64 ± 0,01
Гомель	3,58 ± 0,02	3,61 ± 0,02	3,59 ± 0,03	3,62 ± 0,03
Гродно	3,59 ± 0,02	3,60 ± 0,02	3,62 ± 0,02	3,62 ± 0,02
Минск	3,60 ± 0,03	3,61 ± 0,02	3,60 ± 0,04	3,71 ± 0,02
Могилёв	3,61 ± 0,03	3,60 ± 0,03	3,62 ± 0,03	3,60 ± 0,02

Примечание – М - среднее арифметическое, s - стандартное отклонение

Таблица 4
Содержание золы в пыльце *Alnus sp.*, *Betula sp.*, *Corylus avellana L.* и микст-аллергене, %

Наименование региона	<i>Betula sp.</i>	<i>Corylus avellana L.</i>	<i>Alnus sp.</i>	Микст-аллерген
	Общая зола			
	M±s, n=4			
Брест	3,60 ± 0,02	3,59 ± 0,04	3,60 ± 0,04	3,78 ± 0,09
Минск	3,62 ± 0,02	3,91 ± 0,05	3,87 ± 0,02	3,90 ± 0,05
Витебск	3,62 ± 0,03	3,60 ± 0,03	3,60 ± 0,04	3,59 ± 0,04
Гомель	3,61 ± 0,03	3,62 ± 0,02	3,90 ± 0,05	3,59 ± 0,03
Гродно	3,62 ± 0,02	3,61 ± 0,03	3,59 ± 0,04	3,76 ± 0,09
Могилев	3,76 ± 0,08	3,86 ± 0,01	3,87 ± 0,02	3,89 ± 0,04
	Зола, нерастворимая в HCl			
	M±s, n=4			
Брест	0,14 ± 0,01	0,15 ± 0,02	0,16 ± 0,02	0,15 ± 0,02
Минск	0,16 ± 0,02	0,16 ± 0,02	0,19 ± 0,02	0,17 ± 0,01
Витебск	0,15 ± 0,02	0,17 ± 0,01	0,16 ± 0,02	0,14 ± 0,01
Гродно	0,18 ± 0,02	0,18 ± 0,02	0,18 ± 0,02	0,18 ± 0,02
Гомель	0,19 ± 0,01	0,20 ± 0,02	0,19 ± 0,02	0,22 ± 0,02
Могилев	0,17 ± 0,01	0,19 ± 0,02	0,17 ± 0,03	0,19 ± 0,02

Примечание – M – среднее арифметическое, s – стандартное отклонение

Таблица 5
Содержание минеральных примесей в пыльце *Alnus sp.*, *Betula sp.*, *Corylus avellana L.* и микст-аллергене, мг/кг

Металлы	Микст-аллерген n=10	<i>Betula sp.</i> n=4	<i>Corylus avellana L.</i> n=4	<i>Alnus sp.</i> n=4
	M±s			
1. Медь	4,06±0,06	2,65±0,08	3,27±0,08	3,58±0,07
2. Хром	< п.о.	< п.о.	< п.о.	< п.о.
3. Цинк	< п.о.	< п.о.	< п.о.	< п.о.
4. Мышьяк	1,89±0,08	1,73±0,05	1,69±0,04	1,34±0,07
5. Свинец	0,48±0,04	0,36±0,07	0,47±0,04	0,32±0,03
6. Марганец	9,58 ± 0,07	9,69 ± 0,04	9,50 ± 0,08	9,25 ± 0,06
7. Молибден	< п.о.	< п.о.	< п.о.	< п.о.
8. Никель	< п.о.	< п.о.	< п.о.	< п.о.
9. Железо	< п.о.	< п.о.	< п.о.	< п.о.

Примечание: п.о. – порог определения; M – среднее арифметическое, s – стандартное отклонение

Белковый азот как показатель аллергенности пыльцы

Определение содержания белкового азота в индивидуальных аллергенах пыльцы деревьев и микст-аллергене проводили с помощью метода Бредфорда. Концентрацию белка определяли по предварительно построенному калибровочному графику (по бычьему лиофилизированному альбумину). На основании статистической обработки данных построили уравнение для определения концентрации белка:

$$y = 0,0044 x + 0,0282$$

где:

y – оптическая плотность исследуемого раствора;

x – концентрация белка.

Стандартизацию аллергенов проводили в единицах белкового азота (PNU): 1 PNU соответствует 0,06 мкг белка (0,00001 мг/мл белкового азота) [2].

Данные содержания белкового азота в PNU в пыльце деревьев указаны в таблице 6.

Таблица 6
Содержание белкового азота в PNU в пыльце *Alnus sp.*, *Betula sp.*, *Corylus avellana L.* и микст-аллергене

Наименование региона	<i>Betula sp.</i> M±s	<i>Corylus avellana L.</i>	<i>Alnus sp.</i>	Микст-аллерген
Брест	23212±112	23010±94	22922±146	23124±146
Минск	22997±94	22871±135	22947±112	23098±112
Витебск	23199±129	22720±135	22821±159	22859±259
Гомель	22972±139	22833±112	23010±78	23061±124
Гродно	23023±112	22467±146	22960±117	23073±153
Могилёв	23136±112	23035±71	23098±93	23136±164

Примечание – М - среднее арифметическое, s - стандартное отклонение

Установлено, что стандартная степень аллергенной активности пыльцы является 10 000 PNU в 1 мл 3% водно-солевого экстракта. Полученные данные указывают, что индивидуальные пыльцевые аллергены, собранные в различных регионах республики и предлагаемый микст-аллерген обладают высокой степенью аллергенной активности: от 22 467 до 23 212 PNU в 1 мл экстракта.

Выводы

1. Составлен микст-аллерген из пыльцы деревьев, который включает пыльцу *Betula sp.*: *Alnus sp.*: *Corylus avellana L.* в равных соотношениях.

2. Определены критерии подлинности и доброкачественности пыльцы, входящей в состав микст-аллергена: влажность, зольность, макро- и микроскопические признаки, содержание белкового азота. В индивидуальных пыльцевых аллергенах и смеси пыльцы для приготовления аллергенов может присутствовать до 28 % морфологически измененных пыльцевых зерен; показатель влажности для индивидуальных пыльцевых аллергенов деревьев и микст-аллергена не должен превышать 4%; содержание золы общей не должно превышать 4%, золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте – 0,3%; содержание белкового азота должно быть не менее 23 212 PNU.

Литература

- Новиков Д.К. Клиническая аллергология. Минск: Высшая школа; 1991, 512 с.
- Фрадкин, В.А. Диагностические и лечебные аллергены. Москва: Медицина; 1990, 256 с.
- Адо А.Д. Экология и аллергология. Клиническая медицина 1990; 9 (68): 3-6.
- Гурина Н.С. Ботанические аспекты изучения поллинозов: дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.05: Москва, 1994, 297 с.
- Савицкий В.Д., Савицкая Е.В. Экология и распространение пыльцы аллергенных растений в Украине. Астма та Алергія 2002; 2: 17-20.
- Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Истамов Х.И. Экологическая иммунология. Москва: Издательство ВНИРО; 1995: 176-202.
- Cerceau-Larrival M.Th., Bocquel C., Carbonnier M.C. Pollen: Bio-indicator of pollution: Abstr. Eur. Aerosol Conf., Delft, 9-12 Sept., 1996; Реферативный журнал. - 04. Биология 1997; 10: 47.
- Алешина Р.М. Поллиноз в Луганской области. Украинский медицинский журнал 1995; 2: 52-55.
- Новиков Д.К., Гурина Н.С., Литвякова Л.И. Краевые аллергены в диагностике и лечении поллинозов в Беларуси. Актуальные проблемы экологической и клинической иммунологии: Материалы 2 Пленума Бел. науч. общества иммунологов и аллергологов. Минск 1995: 110 – 113.
- Государственная фармакопея СССР XI издания: в 2 т. МЗ СССР. Москва: Медицина, 1987, 1990. Выпуск 1: Общие методы анализа 1987, 334 с.; Выпуск 2: Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье 1990, 398 с.

11 Шишкин С.С. Использование связывания красителей для количественного определения содержания белка в растворах (обзор). Вопросы медицинской химии 1982; 5: 134-140.

12 Гурина Н.С., Усовик О.В. Аллергенные свойства пыльцы *Salix sp.* Человек и лекарство Тезисы докл. VI Росс. Нац. Конгресса, Москва, 1999: 24.

13 Гигиенические требования к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов: Санитарные нормы и правила СанПин 1163 РБ 98. МЗ РБ, Минск: Республиканские санитарно-гиги-

енические и санитарно-противоэпидемические правила и нормы, 1999.

14 Усовик О.В. Гурина Н.С. Микроскопическое изучение аллергенной пыльцы древесных растений различных регионов. Лес. Наука. Молодежь: Материалы Межд. Научн. Конференции, Гомель, 5-7 октября 1999г., Гомель, 1999 (2.): 76-78.

15 Гурина Н.С., Усовик О.В. Изучение морфологических изменений пыльцевых зерен древесных растений при стандартизации аллергенной пыльцы. Актуальные проблемы палинологии на рубеже III Тысячелетия: Материалы IX Всероссийской Конференции, Москва, 1999: 77-79.