

ИММУНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2023

Магбулова Н.А.¹, Левицкая Ю.В.^{1,2}, Джамбекова Г.С.¹, Рузиев Б.Т.¹, Захидова Н.Э.³, Исмадова М.К.³, Руми Л.Р.³, Махкамova P.И.³, Джураева М.К.³, Гариб Ф.Ю.⁴, Гариб В.Ф.^{1,5}

МОЛЕКУЛА ПЫЛЬЦЫ СОЛЯНКИ (*SALSOLA KALI*) SAL K 5 - МАЖОРНЫЙ АЛЛЕРГЕН, РЕКОМЕНДОВАННЫЙ К ВКЛЮЧЕНИЮ В ТЕСТЫ PAMD@

¹Международный центр молекулярной аллергологии Министерства высшего образования, науки и инноваций Республики Узбекистан, 100174, Ташкент, Узбекистан;

²Центр передовых технологий Министерства высшего образования, науки и инноваций Республики Узбекистан, 100174, Ташкент, Узбекистан;

³Международный центр аллергии, 100000, Ташкент, Узбекистан;

⁴ФГБОУ ДПО Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Минздрава РФ, 125993, Москва, Россия; ⁵Медицинский университет г. Вены, 1090, Вена, Австрия

Солянка (Salsola kali) произрастает в большей части Европы, Северной Африки, Ближнего Востока, Центральной Азии, Китая, Австралии и является важным аллергенным источником поллиноза. В качестве маркера сенсибилизации к пыльце Salsola kali в рутинной клинической диагностике и назначении аллерген-специфической иммунотерапии (АСИТ) используется молекула Sal k 1. В составе пыльцы содержится также аллергенная молекула Sal k 5, являющаяся членом семейства Ole e 1-подобных белков. Цель исследования - определение распространённости IgE к Sal k 5 в молекулярном профиле сенсибилизации к Salsola kali. В исследование вошли 36 пациентов с респираторной аллергией и наличием IgE к экстракту пыльцы Salsola kali. Специфический IgE к целому экстракту пыльцы Salsola kali и рекомбинантным аллергенным компонентам Sal k 1 и Sal k 5 оценивали in vitro с использованием мультиплексного теста на респираторные аллергены на основе ELISA с дополнительным включением в него рекомбинантной молекулы Sal k 5. Распространённость сенсибилизации к молекулам rSal k 1 и rSal k 5 отмечена у 75 и 55,6 % больных, имеющих позитивную реакцию к целому экстракту пыльцы Salsola kali. Одновременная ко-сенсибилизация к rSal k 1 и rSal k 5 встречалась у 41,6% больных. Моно-сенсибилизация к rSal k 1 или к rSal k 5 характерна для 33,3 и 13,9 % больных соответственно. Аллергенная молекула rSal k 5, наряду с rSal k 1 может считаться мажорным аллергеном. Включение молекулы Sal k 5 в диагностические протоколы и в состав мультиплексного анализа позволит с более высокой точностью определять пациентов с аллергией на пыльцу Salsola kali для назначения АСИТ и проведения мониторинга её эффективности.

Ключевые слова: молекулярная диагностика аллергии; поллиноз; солянка; аллергенные молекулы Sal k; иммуноглобулины E; PAMD@.

Для цитирования: Магбулова Н.А., Левицкая Ю.В., Джамбекова Г.С., Рузиев Б.Т., Захидова Н.Э., Исмадова М.К., Руми Л.Р., Махкамova P.И., Джураева М.К., Гариб Ф.Ю., Гариб В.Ф. Молекула пыльцы солянки (*Salsola kali*) Sal k 5 - мажорный аллерген, рекомендованный к включению в тесты PAMD@. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68(7):407-411. DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-7-407-411>.

Для корреспонденции: Гариб Виктория Фирузовна, д-р мед. наук, науч. сотр. отдела патофизиологии и исследований аллергии медицинского университета г. Вена, Австрия; e-mail: vgarib@inbox.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена в рамках гранта AL-482104522 Министерства высшего образования, науки и инноваций Республики Узбекистан.

Поступила 24.04.2023

Принята к печати 25.04.2023

Опубликовано 03.07.2023

Magbulova N.A.¹, Levitskaya Yu.V.^{1,2}, Djambekova G.S.¹, Ruziev B.T.¹, Zakhidova N.E.³, Ismatova M.K.³, Rumi L.R.³, Makhkamova R.I.³, Juraeva M.K.³, Garib F.Yu.⁴, Garib V.F.^{1,5}

SALSOLA KALI POLLEN SAL K 5 MOLECULE IS A MAJOR ALLERGEN AND RECOMMENDED FOR INCLUSION IN PAMD@ TOOLS

¹ICMA, International Centre of Molecular Allergology of the Ministry of Higher Education, Science and Innovations of the Republic of Uzbekistan, 100174, Tashkent, Uzbekistan;

²CAT, Center of Advanced Technologies of the Ministry of Higher Education, Science and Innovations of the Republic of Uzbekistan, 100174, Tashkent, Uzbekistan;

³IAC, International allergy center, 100000, Tashkent, Uzbekistan;

⁴Federal State Budgetary Educational Institution of Further Professional Education «Russian Medical Academy of Continuous Professional Education» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 125993, Moscow, Russia;

⁵Medical University of Vienna, Department of Pathophysiology and Allergy Research, 1090, Vienna, Austria

Russian Thistle (Salsola kali) is an important roadside, grazing, and agricultural weed native to much of Europe, North Africa, the Middle East, Central Asia, China, and Australia with a serious impact on pollinosis. In routine clinical diagnosis and allergen-specific immunotherapy (ASIT) prescription, the sensitization marker of S. kali pollinosis Sal k 1 allergen molecule is used. Pollen also contains the allergenic Sal k 5 molecule, which is a member of the Ole e 1-like protein family. The study aimed to describe the pattern of Salsola kali sensitisation and allergy. Thirty-six patients with allergic diseases and specific IgE to Salsola kali pollen extract entered this study. Specific IgE to whole Salsola kali allergens extract and rSal k 1 and rSal k 5 allergen components were assessed using an ELISA-based in-vitro multiplex allergy customer test. A sensitization frequency 75 and 55,6 % to rSal k 1 and rSal k 5 was observed in patients with pollinosis in Uzbekistan with the positive IgE-reaction to Salsola kali extract, where the combination of IgE to rSal k 1 and rSal k 5 are presented in 41,6 %, and monosensitisation to rSal k 1 or rSal k 5 are characterized of 33,3 and 13,9% of patients respectively. The allergenic molecule rSal k 5, along with rSal k 1 can be considered a major allergen of Salsola kali pollinosis. Its inclusion in diagnosis protocols and microarrays would allow the more accurate definition of allergic patients, prescription, and control of ASIT therapy.

Key words: molecular allergy diagnosis; PAMD@ tools; pollinosis; Russian thistle: allergen molecules Sal k; IgE.

For citation: Magbulova N.A., Levitskaya Yu.V., Djambekova G.S., Ruziev B.T., Zakhidova N.E., Ismatova M.K., Rumi L.R., Makhkamova R.I., Juraeva M.K., Garib F.Yu., Garib V.F. *Salsola kali* pollen Sal k 5 molecule is the major allergen and recommended for inclusion in PAMD@ tools. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2023; 68 (7): 407-411 (in Russ.). DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-7-407-411>.

For correspondence: Garib V.F., Dr. Sci. Med., researcher of the department of pathophysiology and allergy research, Medical University of Vienna, Austria; e-mail: vgarib@inbox.ru

Information about authors:

Magbulova N.A.,	https://orcid.org/0009-0009-8579-3882 ;
Levitskaya Yu.V.,	https://orcid.org/0000-0002-3140-1507 ;
Djambekova G.S.,	https://orcid.org/0000-0003-2810-8737 ;
Ruziev B.T.,	https://orcid.org/0009-0001-9357-9239 ;
Zakhidova N.E.,	https://orcid.org/0009-0008-6967-371X ;
Ismatova M.K.,	https://orcid.org/0009-0001-0992-4790 ;
Rumi L.R.,	https://orcid.org/0009-0003-4612-5490 ;
Makhkamova R.I.,	https://orcid.org/0009-0004-4014-2449 ;
Juraeva M.K.,	https://orcid.org/0009-0008-6072-420X ;
Garib F.Yu.,	https://orcid.org/0000-0003-3749-1950 ;
Garib V.F.,	https://orcid.org/0000-0003-3855-217X .

Conflict of interests. *The authors declare no conflict of interests.*

Acknowledgment. *This research was funded by the Ministry of Higher Education, Science and Innovation, Republic of Uzbekistan (grant AL-482104522).*

Received 24.04.2023
Accepted 25.04.2023
Published 03.07.2023

Введение. Термин «точная молекулярная диагностика аллергии» «precision allergy molecular diagnosis» (PAMD@) предложен консенсусным документом WAO-ARIA-GA2LEN для объединения таких понятий, как компонентная диагностика аллергии, диагностика аллергии на молекулярном уровне или молекулярная диагностика аллергии для индивидуализации стратегии от диагностики до прогнозирования развития заболевания, профилактики и персонализированного лечения больных [1].

Солянка является сельскохозяйственным, пастбищным, экологическим сорняком, произрастающим в большей части Европы, Северной Африки, Ближнего Востока, Средней Азии, Китая, Австралии. Виды *Salsola* были случайно завезены в качестве загрязнителей семян сельскохозяйственных культур и пастбищ, в результате чего солянка стала широко распространённым сорняком в Канаде, США, Мексике, Китае, Индии, Японии, Австралии, Новой Зеландии. Обобщение современных данных о распространении солянки в мире представлены на рис. 1.

Пыльца *Salsola kali* (русский чертополох, солянка) идентифицирована как важная причина сезонного аллергического ринита пациентов, проживающих

в регионах Средиземноморья, ряда арабских стран и центральных штатов Северной Америки [2]. В полупустынных юго-восточных районах *Salsola* является основной причиной сезонной аллергии наряду с поллинозом к пыльце олив или пыльцы трав. Там, где экстенсивное орошение превращает прежнюю травянистую территорию в полупустыню, отмечается значительный рост аллергии на *Salsola* параллельно со снижением аллергии на травы [3].

Ключевым шагом для диагностики и лечения аллергии является идентификация клинически значимого аллергена. Наиболее распространёнными диагностическими инструментами для выявления сенсibilизации к аллергенам являются кожные прик-тесты и *in vitro* тесты для выявления сывороточного специфического иммуноглобулина класса E (sIgE).

Несмотря на то, что общепринятым критерием положительной немедленной кожной реакции является наличие папулы размером 3 мм в диаметре [4], среди исследователей нет единого мнения в диагностической точности данного теста [5], критерий 3 мм не всегда достаточен для точной диагностики истинной аллергии на *Salsola kali*. В ситуации, когда возникают расхождения или существуют трудности в оценке

истории болезни пациента и результатов прик-теста, рекомендуется применять назальный провокационный тест [6]. Этот тест сопровождается высоким риском побочных реакций, особенно если у пациента в анамнезе имеется анафилактический шок или тяжёлая аллергическая реакция.

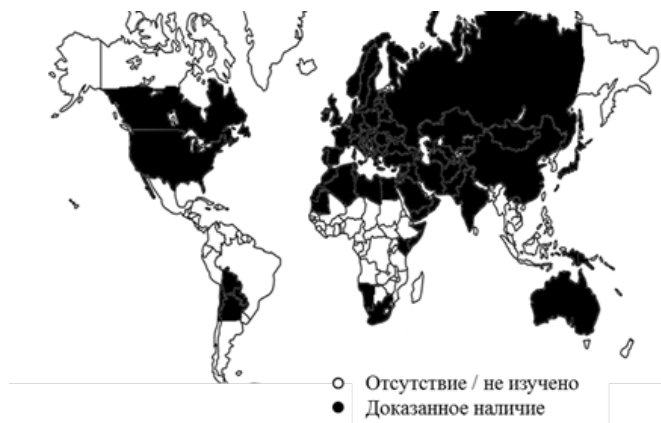


Рис. 1. Распространение растений рода *Salsola* в мире.

С этих позиций молекулярная диагностика аллергических заболеваний является важным инструментом PAMD@ и заключается в определении IgE к спектру аллергенных молекул, входящих в состав аллергенного источника [1], в том числе и пыльцы *Salsola kali*. Существуют единичные и множественные платформы для определения профиля сенсibilизации пациента на молекулярном уровне. Аллергенные молекулы, входящие в состав тестов, по своему происхождению могут быть очищенными или рекомбинантными. Выбор спектра аллергенных молекул в составе тестов зависит от клинической значимости аллергена и распространённости сенсibilизации к нему в конкретной популяции. Почти все мажорные аллергены пыльцы сорняков для определения специфических IgE находятся в составе однокомпонентного теста ImmunoCAP, исключение составляет Che a 1 молекула пыльцы мари (*Chenopodium album*), присутствующей только в мультиплексных системах (ImmunoCAP ISAC и ALEX²) [7].

Установлено, что молекула Sal k 1 (пектинметилэстераза) является мажорным аллергеном, и его рекомбинантный аналог используется в качестве маркера аллергии на пыльцу *Salsola kali* [8].

Идентифицированная молекула Sal k 5 биохимически относится к группе протеинов - гомологов Ole e 1. [9]. Частота сенсibilизации к этой молекуле у больных поллинозом, проживающих в центре и на Восточном побережье Испании, находится в пределах от 30 до 40%, что не позволяет трактовать молекулу Sal k 5 в качестве мажорного аллергена для испанской популяции.

Цель исследования - определение распространённости IgE к Sal k 5 в молекулярном профиле сенсibil-

лизации к *Salsola kali* у пациентов с респираторной аллергией, проживающих на территории Средней Азии.

Материал и методы. Материалом исследований явилась сыворотка пациентов с респираторной аллергией, находившихся под наблюдением аллергологов Международного центра аллергии (IAC) и Международного центра молекулярной аллергологии (МЦМА) Министерства высшего образования, науки и инноваций Республики Узбекистан, г. Ташкента в период 2020-2022 гг. Все больные были опрошены врачами центров и заполняли стандартную анкету пациента. Собранная информация включала демографические и клинические данные. Клинические состояния включали сезонный ринит, конъюнктивит и/или астму.

Кожные прик-тесты выполнялись с использованием аллергенов для прик-теста (Immunotek, Мадрид, Испания). Панель включает аллергены наиболее распространённых видов пыльцы в регионе (*Olea europaea*, *Phleum pratense*, *Salsola kali*, *Cupressus arizonica*, *Platanus acerifolia*, *Artemisia vulgaris*, *Parietaria judaica*). Участники с положительным прик-тестом хотя бы на один аллерген считались атопическими.

В дальнейшем в анализ были включены только 36 пациентов с сезонной респираторной аллергией периода позднее лето - начало осени и наличием IgE к натуральному экстракту пыльцы *Salsola kali*. Спектр клинических проявлений включал аллергический ринит, аллергический конъюнктивит, бронхиальную астму. Среди исследуемых пациентов были дети в возрасте от 2 до 12 лет - 16 пациентов, подростки в возрасте от 12 до 18 лет - 8 пациентов, взрослые - 12 пациентов. Гендерное распределение относительно равномерное - 16 пациентов женского пола (44%) и 20 пациентов мужского пола (56%).

Специфический IgE к целевому экстракту пыльцы *Salsola kali* и рекомбинантным аллергенным компонентам Sal k 1 и Sal k 5 оценивали *in vitro* с использованием мультиплексного теста на респираторные аллергены на основе ELISA (респираторный фрагмент платформы ALEX2) с дополнительным включением в него rSal k 5. Сотрудниками МЦМА был разработан дизайн мультиплексного чипа на основе коммерческого теста ALEX2. Тест с рабочим названием ALEX-SIT включал 40 респираторных аллергенных источников, наиболее важных для региона, аллерговакцины к которым официально зарегистрированы в Республике Узбекистан. Дополнительно в тест была внесена рекомбинантная молекула Sal k 5, специально произведённая в научной лаборатории компании MADx, Австрия по заказу МЦМА. Постановка теста осуществлялась в полном соответствии с протоколом производителя.

Анализ IgE проведён по отношению к аллергенным молекулам Phl p 12 и Phl p 7, являющимися маркерами сенсibilизации к паналлергенам пыльцы растений, профилину и полкальцину, соответственно. Несмотря на наличие в тест-системе блокатора CCD, для исключения ложноположительных реакций, связанных с натуральным гликозилированием, в анализ включён уровень IgE к CCD молекулам. Положитель-

ной считали концентрацию $\geq 0,3$ kUA/L, согласно инструкции производителя.

Коэффициент корреляции Пирсона рассчитывался при помощи программы Wessa, P., Free Statistics Software, версии 1.2.1 2023 года, позволяющей производить вычисления корреляции Пирсона: диаграмму рассеяния, корреляцию Пирсона, ковариацию, определение и Т-критерий корреляции. К обоим вариантам применялись тесты нормальности Харке-Бера и Андерсона-Дарлинга.

Результаты. Индивидуальные профили sIgE к различным аллергенным молекулам у пациентов с аллергией на *Salsola kali* представлены на рис. 2.

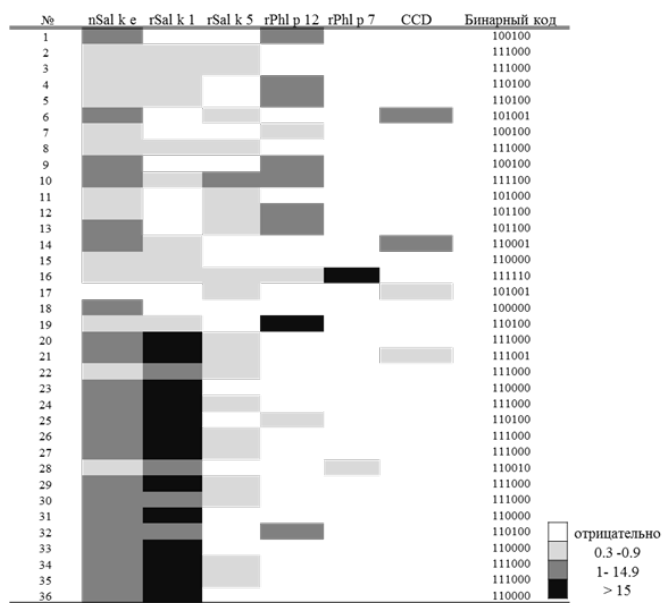


Рис. 2. Индивидуальные sIgE профили у пациентов с аллергией на пыльцу *Salsola kali*. Показаны уровни IgE (kUA/L) (цветовой код), выявленные к каждой конкретной аллергенной молекуле.

Как следует из рис. 2, профили сенсibilизации отличаются высокой индивидуальностью. На основании анализа полученных данных нами был введен бинарный код. При позитивном значении IgE выше 0,3 kUA/L аллергенной молекуле присваивался код «1», негативное значение, в том числе менее 0,3 kUA/L, оценивалось как «0». Последовательность составления индивидуального кода IgE к натуральному экстракту и к перечню аллергенных молекул была следующей: (nSal k e / rSal k 1 / rSal k 5 / rPhl p 12 / rPhl p 7 / CCD).

Используя бинарный код, удалось выявить 13 профилей у данного контингента больных. Наибольший интерес представляли профили, отражающие истинную сенсibilизацию на пыльцу *Salsola kali*, т. е. имеющие в своей композиции начальные коды 111, 110, 101. Таких пациентов оказалось 32 из 36, что составило 88,9%. Распространенность сенсibilизации к молекулам rSal k 1 и rSal k 5 отмечена у 27 из 36 (75%) и 20 из 36 (55,6 %) больных соответственно.

Одновременная ко-сенсibilизация к rSal k 1 и rSal k 5 встречалась у 15 из 36 (41, 6%) больных (началь-

ный код 111).

Моно-сенсibilизация к rSal k 1 или к rSal k 5 была характерна для 20 из 36 (33,3%) и 5 из 36 (13,9 %) больных соответственно (начальные коды 110 и 101).

Три пациента (№№ 1, 7, 9) имели бинарный код профиля 100100. В связи с наличием у них IgE к перекрестным аллергенам, в частности, к профилинам другого аллергенного источника, реакция на экстракт *Salsola kali* была расценена нами как ложноположительная.

Гендерного различия в преимуществах наличия определённого бинарного кода не выявлено. Код 111000 доминировал как у подростков (у 4-х из 8 больных, 50%), так и у взрослых (у 4-х из 12 больных, 33%).

Представляло интересным определение корреляции данных уровня sIgE к цельному экстракту с уровнями sIgE к единичным аллергенным молекулам истинной сенсibilизации на *Salsola kali*, т. е. к rSal k 1 и к rSal k 5. Используя калькулятор Wessa, 2023, нами была обнаружена очень слабая корреляция между параметрами на натуральный экстракт nSal k и на молекулу rSal k 1 ($p=0,446$; 95% CI [0.138745521339889, 0.676166802035943], и полное отсутствие корреляции между IgE к экстракту и rSal k 5 ($p= 0,0001$; 95% CI [-0.328380243846879, 0.328691214273461]. Расчет суммы уровней IgE к rSal k 1 и rSal k 5 значительно не улучшил показатели корреляции IgE к нативному экстракту ($p=0,447$; 95% CI [0.139709189430447, 0.676699865151703]).

Обсуждение. Молекулярная аллергология, в частности, молекулярная аллергодиагностика, вошла в новую фазу своего развития и становится основой для осуществления персонализированного подхода к терапии аллергических заболеваний. Современный согласительный документ WAO-ARIA-GA2LEN 2020 года ввёл новый термин PAMD@ как приложение для точной молекулярной диагностики аллергии, позволяющее улучшить менеджмент аллергических заболеваний [1]. Реализация профилактических и лечебных стратегий терапии требует детальных знаний о соответствующих молекулах аллергенов, воздействующих на данную популяцию, определяет необходимость наличия инструментов как для выбора соответствующего типа вакцины в целях проведения аллергенспецифической терапии (АСИТ) - единственного на сегодняшний день метода патогенетического лечения больных с аллергией, так и в целях оценки её реальной эффективности у каждого конкретного пациента.

Маркёром истинной сенсibilизации к пыльце солянки, широко распространённого сорняка почти на всех континентах Земного шара, в течение долгого периода считалась только молекула Sal k 1. Новая молекула, выделенная из пыльцы *Salsola kali*, и затем полученная рекомбинантным способом, Sal k 5 является членом семейства Ole e 1-подобных белков. Sal k 5 можно считать важным аллергеном этого источника [9].

Мы включили рекомбинантную молекулу Sal k 5 в состав респираторного мультиплексного теста, произведенного на основе мультиплексной платформы

молекулярной аллергодиагностики ALEX2 (MADx, Австрия).

По нашим данным, к rSal k 5 сенсibilизировано 55,6% пациентов Средней Азии, позитивных к экстракту пыльцы *Salsola kali*. Как известно, мажорным аллергеном называется аллергенная молекула, к которой имеется sIgE более чем у 50% пациентов [10].

Мы показали, что профиль сенсibilизации к источнику солянки индивидуален. Используя бинарный код, определены 13 разных профилей у 36 пациентов с респираторной аллергией и подтверждённой сенсibilизацией на экстракт пыльцы этого растения. При этом моносенсibilизация к rSal k 5 обнаружена у 14% пациентов. В случае использования в тесте только одного мажорного аллергена Sal k 1, данные пациенты вошли бы в группу с ложноположительной реакцией на экстракт и не расценивались бы кандидатами для проведения АСИТ *Salsola kali*. Это подчеркивает важность включения молекулы Sal k 5 в диагностические тесты, в тесты выбора АСИТ, и возможно, мониторинга за проводимым лечением. Включение Sal k 5 в протоколы диагностики находит свое отражение в работах научной группы под руководством М. Villalba из Мадридского университета Испании. Несмотря на то, что у больных поллинозом, проживающих в Центре и на Восточном побережье Испании частота сенсibilизации находится в пределах от 30 до 40%, учёные уверены, что включение Sal k 5 в состав тестов на определение специфических иммуноглобулинов IgE, позволит более точно выявлять пациентов с аллергией на пыльцу *Salsola kali* [9].

Молекулы профилина являются пан-аллергенами с высокой гомологичностью несмотря на то, что содержатся в пыльце разных, неродственных аллергенных источников. Сенсibilизация к профилинам ведёт к ложноположительным результатам как прик-теста, так и *in vitro* тестов по определению IgE к нативному экстракту, в составе которого присутствуют молекулы профилина. В нашем исследовании 3 пациента, позитивных к экстракту *Salsola kali*, не имели истинной сенсibilизации к виду-специфическим аллергенным молекулам rSal k 1 и rSal k 5, а были сенсibilизированы к молекуле профилина, маркёром которого является rPhl p 12. Тем самым, положительная реакция на экстракт явилась ложноположительной, что находит подтверждение в работе N. Segura и соавт. [11], показавшими, что у пациентов, сенсibilизированных к профилину, соответствие между прик-тестом, выполненным на основе натурального экстракта, и молеку-

лярной диагностикой намного ниже, чем у пациентов, не сенсibilизированных к профилину [11].

Заключение. Sal k 5 молекула является мажорным аллергеном для пациентов Средней Азии с сезонной респираторной аллергией на пыльцу солянки. Включение rSal k 5 в PAMD@ тесты определения специфических иммуноглобулинов IgE на молекулярном уровне повышает диагностическую точность и позволяет эффективнее подбирать персонализированные препараты для проведения АСИТ.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Ansotegui I.J., Melioli G., Canonica G.W., Gómez R.M., Jensen-Jarolim E., Ebisawa M. et al. A WAO - ARIA - GA2LEN consensus document on molecular-based allergy diagnosis (PAMD@): Update 2020. World Allergy Organization Journal. 2020; 13:100091. DOI: 10.1016/j.waojou.2019.100091 WAO - ARIA - GA2LEN.
2. Al-Ahmad M., Jusufovic E., Arifhodzic N. Which skin prick test wheal size detects true allergy to *Salsola kali*. Eur. Ann. Allergy Clin. Immunol. 2021; 53(5):228-33. DOI: 10.23822/EurAnnACI.1764-1489.161.
3. Villalba M., Barderas R., Mas S., Colas C., Batanero E., Rodriguez R. Amaranthaceae pollens: Review of an emerging allergy in the mediterranean area. J. Investig. Allergol. Clin. Immunol. 2014; 24:371-81.
4. Bousquet P.J., Chatzi L., Jarvis D., Burney P. Assessing skin prick tests reliability in ECRHS-I. Allergy. 2008; 63(3):341-6.
5. Nevis I.F., Binkley K., Kabali C. Diagnostic accuracy of skin-prick testing for allergic rhinitis: a systematic review and meta-analysis. Allergy Asthma Clin. Immunol. 2016; 12:2.
6. Rondon C., Canto G., Blanca M. Local allergic rhinitis: a new entity, characterization and further studies. Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol. 2010; 10(1):1-7.
7. Hoffmann-Sommergruber K., Santos A.F. and Breiteneder, H. The Molecular Allergology User's Guide version 2.0 is freely available! Allergy. 2023; Online ahead of print. DOI: 10.1111/all.15643.
8. Mas S., Boissy P., Monsalve R.I., Cuesta-Herranz J., Díaz-Perales A., Fernández J. et al. A recombinant Sal k 1 isoform as an alternative to the polymorphic allergen from *Salsola kali* pollen for allergy diagnosis. Int. Arch. Allergy Immunol. 2015; 167(2):83-93. DOI: 10.1159/000434680.
9. Castro L., Mas S., Barderas R., Colás C., García-Sellés J., Barber D., Rodríguez R., Villalba M. Sal k 5, a member of the widespread Ole e 1-like protein family, is a new allergen of Russian thistle (*Salsola kali*) pollen. Int. Arch. Allergy Immunol. 2014; 163(2):142-53. DOI: 10.1159/000356345. PMID: 24356442.
10. Matricardi P.M., Kleine-Tebbe J., Hoffmann H.J., Valenta R., Hilger C., Hofmaier S. et al. EAACI Molecular Allergology User's Guide. Pediatr Allergy Immunol. 2016; 27:23:1-250. DOI: 10.1111/pai.12563.
11. Segura N., Abos T., Compaired J.A., Compés E., Guallar I., Morales M. et al. Influence of profilin on sensitisation profiles determined by cutaneous tests and IgE to major allergens in polysensitized patients. Clin. Transl. Allergy. 2016; 6:23. DOI: 10.1186/s13601-016-0114-y.