

# Perfiles clínicos y de sensibilización molecular en la alergia al epitelio de perro

Ignacio Dávila.

Servicio de Alergia. Complejo Asistencial Universitario de Salamanca.  
IBSAL. Departamento de Ciencias Biomédicas y del Diagnóstico.

María Isidoro-García.

Servicio de Bioquímica, Sección de Biología Molecular.  
Complejo Asistencial Universitario de Salamanca.

## Introducción

Desde que fuera domesticado, posiblemente en Asia hace más de 10.000 años, el perro (*Canis lupus familiaris*) ha sido uno de los más fieles compañeros del hombre, si no el que más. Se estima que puede haber unos 525 millones de perros en el mundo, de los cuales se estima que haya unos 73 millones en los Estados Unidos, unos 43 millones en Europa Occidental y unos 110 millones en China (1). En España, en 2013 había, según el censo de la Asociación Nacional de Fabricantes de Alimentos para Animales de Compañía, unos 5,4 millones de canes (2).

Los alérgenos de los perros son de distribución muy amplia, casi ubicua, y pueden estar presentes no sólo en las casas donde hay un perro, sino en lugares donde no los hay, como colegios, oficinas o incluso transportes urbanos (3). Se estima que la prevalencia de la sensibilización al perro a nivel mundial puede ser de alrededor de un 10% (4). En un estudio reciente de prevalencia de sensibilizaciones alérgicas realizado en los Estados Unidos, en la población mayor de 6 años se encontró una prevalencia de sensibilización al perro del 11,8% (5). Se estima que en España alrededor de 6% de la población presenta sensibilización a los animales (6). En Alergológica 2005, se encontró que un 22% de los pacientes con asma alérgica presentaba sensibilización a los animales; de ellos un 63% convivía con animales y de ellos un 37,1% con perros (7). En el estudio Ibérico, realizado en España y Portugal en pacientes con rinoconjuntivitis alérgica, se observó que el perro y el gato constituían la tercera causa de sensibilización (determinada mediante una batería común de pruebas cutáneas), con cifras bastante estables entre las distintas regiones, con unos porcentajes medios del 31% en España y del 33% en Portugal (8).

La introducción del diagnóstico molecular ha supuesto una revolución en el campo de la Alergología, permitiendo diferenciar entre co-sensibilizaciones genuinas y reactividades cruzadas (9). En el caso de la alergia al perro se han descrito diversos alérge-

nos moleculares (Tabla 1), de los cuales se encuentran comercializados cuatro: Can f 1, Can f 2, Can f 3 y Can f 5. De ellos Can f 1 y Can f 2 son lipocalinas, Can f 3 es una albúmina y Can f 5 es una calicreína prostática, presente sólo en los machos, y que disminuye notablemente en los animales castrados (revisado en 3). Los porcentajes de sensibilización son variables en las distintas poblaciones y edades.

**Tabla 1. Principales alérgenos del perro y porcentajes de sensibilización**  
(modificado de I Dávila et al. *Consensus document on dog and cat allergy*. Manuscrito en preparación)

Alérgeno	Familia proteica	Fuentes alérgénicas	Masa Molecular (KDa)	Porcentaje de Sensibilización (%)
Can f 1	Lipocalina	caspa, epitelio, saliva	23-25	50-70
Can f 2	Lipocalina	caspa, saliva	19	30
Can f 3	Albúmina	caspa, saliva, suero	69	35
Can f 4	Lipocalina	caspa, saliva	18	35
Can f 5	Calicreína (arginina-esterasa)	caspa, orina	28	70
Can f 6	Lipocalina	caspa, saliva	27-29	35
Can f 7	Reconocimiento de lípidos MD2-like	-	16	10-20

En el presente estudio nos propusimos los siguientes objetivos:

#### Objetivo principal:

- Determinar la frecuencia de sensibilizaciones a los alérgenos recombinantes del perro Can f 1, Can f 2, Can f 3 y Can f 5 en una población de pacientes con sensibilización al perro.

#### Objetivos secundarios:

- Describir los niveles de IgE específica frente a los distintos alérgenos recombinantes.
- Describir los patrones de sensibilización a estos alérgenos.
- Buscar posibles correlaciones con la exposición y con las características clínicas de los pacientes.

#### Material y métodos

Se trata de un estudio observacional ambispectivo, con recogida de datos de pacientes que ya se encontraban en una base de datos disociada y de nuevos pacientes que se incorporaban según acudían al servicio. Los pacientes otorgaron su consentimiento. El estudio fue autorizado por el Comité de Ética de la Investigación Clínica (PI/2703/2016B).

## **Población en estudio**

La población objeto de estudio fueron pacientes que presentaban una IgE específica de clase 2 o superior ( $> 0,7$  kU/L) frente a un extracto completo de epitelio de perro y de los que se tuviera disponibilidad del suero o que acudieran a la consulta de alergia y se les detectara una sensibilización al perro. Para ello se recurrió a la seroteca existente en el Servicio de Inmunología del Hospital Universitario de Salamanca.

## **Recogida de datos**

Los datos se recogieron siguiendo un cuestionario estructurado. Se tomaron inicialmente de la historia clínica del paciente. Si nos se disponía de ellos se les realizó una consulta telefónica con una recogida de datos estructurada; si el paciente acudía a consulta, se les realizó una entrevista personal con el mismo protocolo.

## **Determinación de IgE total e IgE específica.**

Se realizaron mediante enzimoanálisis (Inmunocap 250, ThermoFisher Diagnostics, Barcelona, España) de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Brevemente, en el caso de la determinación de IgE total, un antisuero monoclonal de conejo/ratón anti-IgE humana unido a betagalactosidasa está unido de manera covalente a un soporte sólido de celulosa denominado InmunoCAP®; en el caso de la IgE específica, lo que está unido es un alérgeno, en este estudio Can f 1, Can f 2, Can f 3 o Can f 5. A continuación, se añade el suero del paciente, con lo que se producirá la reacción entre su IgE y la anti-IgE marcada con la enzima (en el caso de la IgE específica, con el alérgeno). Posteriormente se realiza un lavado y se añade el sustrato 4-metilumbeliferil-beta-D-galactósido, formándose así un producto fluorescente. Tras la incubación, se añade una solución para detener la reacción, y se determina la fluorescencia del eluido, que será directamente proporcional a la cantidad de IgE en el suero. Para evaluar los resultados de las pruebas, las unidades de respuesta se transforman en concentraciones utilizando una curva patrón o los valores de referencia del laboratorio.

## **Análisis estadístico**

Se realizó mediante el programa estadístico SPSS 20.0 (IBM, Chicago, Illinois, Estados Unidos). Se analizaron medidas de tendencia central y de dispersión. Para el análisis de las variables cualitativas se empleó la prueba de  $\chi^2$  (chi-cuadrado) estadísticos de Fisher y ajuste de Montecarlo. Para el análisis combinado de variables cualitativas y cuantitativas se aplicó la ANOVA previa comparación de la homogeneidad de varianzas; Para variables con distribución no normal se empleó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

Se estableció un nivel de significación a partir de  $p < 0,05$ .

## Resultados

### Característica de la muestra

La muestra estuvo constituida por un total de 102 pacientes, de los que un 27,1% fueron varones. La edad media fue de 30,45 años (desviación típica, DT, 12,27; rango 7-68). El tiempo de evolución de la sensibilización/alergia fue de 6,88 años (DT 6,19; rango 0,17-30). Un total de 13 pacientes (13,5%) había recibido o estaba recibiendo inmunoterapia específica con un extracto de perro, todos ellos por vía subcutánea.

Se recogieron los síntomas referidos por los pacientes (de algunos de ellos no se dispuso del dato) con la exposición al perro, gato, caballo, conejo y hámster (Tabla 2). Un 35,9% de los pacientes describía urticaria de contacto con el perro.

**Tabla 2. Síntomas referidos por el paciente con la exposición a diversos animales domésticos**

	N	Sin síntomas	Rinitis	Asma	Rinitis y asma
Síntomas con el perro (%)	85	18,8	16,5	9,4	55,3
Síntomas con el gato (%)	59	32,2	6,8	6,8	54,2
Síntomas con el caballo (%)	49	73,5	4,1	4,1	18,4
Síntomas con el conejo (%)	47	87,2	2,1	0	10,6
Síntomas con el hámster (%)	46	84,8	4,3	4,3	6,5

Respecto a la exposición al perro, los datos se reflejan en la Tabla 3. Más de la mitad tenía un perro en el domicilio; sin embargo, en un 17,5% de los casos no había exposición directa a los perros. En cuanto al sexo de los animales, predominaron los machos, en un 47,5% de los domicilios, mientras que en un 27,5% de los casos se trataba de hembras. En el 25% restante, había animales de ambos sexos. Los datos de exposición a otros animales se reflejan en la Tabla 4. En el caso concreto del caballo, sólo hubo exposición al mismo en un 15,5% de los casos.

**Tabla 3. Datos de la exposición al perro**

	N	Porcentaje
Perro en el domicilio	86	52,3
Perro en el domicilio y en el de familiares	86	9,3
Perro en el domicilio de familiares	86	20,9
Sin exposición directa	86	17,5

**Tabla 4. Exposición a otros animales**

	N	En casa (%)	Casa y familiares (%)	Familiares (%)
Gato	67	20,9	1,5	11,9
Conejo	66	9,1	3	4,5
Hámster	65	6,2	0	1,5

Las pruebas cutáneas con extracto de perro resultaron positivas en el 93,6% de la muestra. Los porcentajes de pruebas cutáneas positivas a los otros animales evaluados fueron: 68,5% al gato; 38,8% al caballo; y 23,1% tanto al conejo como al hámster.

Los datos de positividad de las pruebas cutáneas frente a otros alérgenos se reflejan en la Tabla 5. Cabe destacar que casi todos los pacientes presentaban polisensibilización: únicamente un 12,5% de los pacientes presentaba sensibilización exclusivamente a los epitelios.

**Tabla 5. Sensibilización a otros grupos de alérgenos en los pacientes sensibilizados al perro**

	N	Positivos (%)	Número (media, rango)
Pólenes	88	84,1	4,73 (1-10)
Ácaros	88	43,2	3,37 (1-6)
Hongos	88	21,6	1,44 (1-3)
Polisensibilización	88	87,5	2,45

### Niveles de IgE total e IgE específica

Los niveles de IgE total y específica frente a los cuatro alérgenos del perro estudiados se presentan en la Tabla 6. La media de IgE resultó elevada en la población. Los niveles medios más elevados correspondieron al extracto total, seguidos, por este orden, de Can f 5, Can f 3, Can f 1 y Can f 2. Sin embargo, el orden respecto a los niveles medianos fue Can f 2, Can f 1, Can f 3 y Can f 5.

**Tabla 6. Niveles de IgE total e IgE específica frente a los alérgenos del perro**

	IgE total	Perro	Can f 1	Can f 2	Can f 3	Can f 5
N	101	102	57	15	25	72
Media	581,50	23,08	16,37	11,50	18,11	20,01
Mediana	444	13,75	8,21	8,58	7,58	6,98
DT	550,91	23,27	22,69	10,63	26,54	27,90
Rango	25,4	0,38	0,44	1	0,45	0,43
	2.957	91,40	>100	39,60	>100	>100

Cuando se analizó la correlación entre los niveles de IgE total y específica, sólo se encontró correlación significativa con el extracto completo ( $r=0,35$ ;  $p=0,001$ ) con Can f 1 ( $r=0,36$ ;  $p=0,007$ ). En ambos casos fue débil. Se observaron mejores correlaciones entre el extracto completo y Can f 1 ( $r=0,69$ ;  $p<0,001$ ), Can f 2 ( $r=0,72$ ;

$p=0,002$ ) y Can f 5 ( $r=0,36$ ;  $p=0,002$ ), siendo las dos primeras más intensas que la tercera. Respecto a los distintos alérgenos entre sí, no se observaron correlaciones estadísticamente significativas. Únicamente cabe destacar que se acercó a la significación estadística en el caso de Can f 1 con Can f 2 ( $r=0,49$ ;  $p=0,089$ ).

También se analizaron los niveles de IgE total e IgE específica frente a los diversos alérgenos según el sexo del perro al que el paciente estaba expuesto (Tabla 7). Solamente se observó una asociación estadística ( $p=0,02$ ) en el caso de Can f 5, cuyos niveles fueron más elevados en los domicilios donde había machos.

**Tabla 7. Niveles de IgE total e IgE específica frente a los alérgenos del perro según el sexo del perro al que el paciente se encontraba expuesto**

	IgE total	Perro	Can f 1	Can f 2	Can f 3	Can f 5
<b>Macho</b>	505,63 (n=18)	20,97 (n=18)	7,13 (n=9)	36,61 (n=15)	- (n=0)	29,86 (n=4)
<b>Hembra</b>	638 (n=9)	25,43 (n=9)	27,19 (n=9)	24,30 (n=5)	9,44 (n=2)	20,5 (n=1)
<b>Macho y hembra</b>	641 (n=9)	16,04 (n=9)	8,31 (n=4)	3,92 (n=6)	9,16 (n=2)	0,78 (n=1)
<b>p</b>	ns	ns	ns	0,02	ns	ns

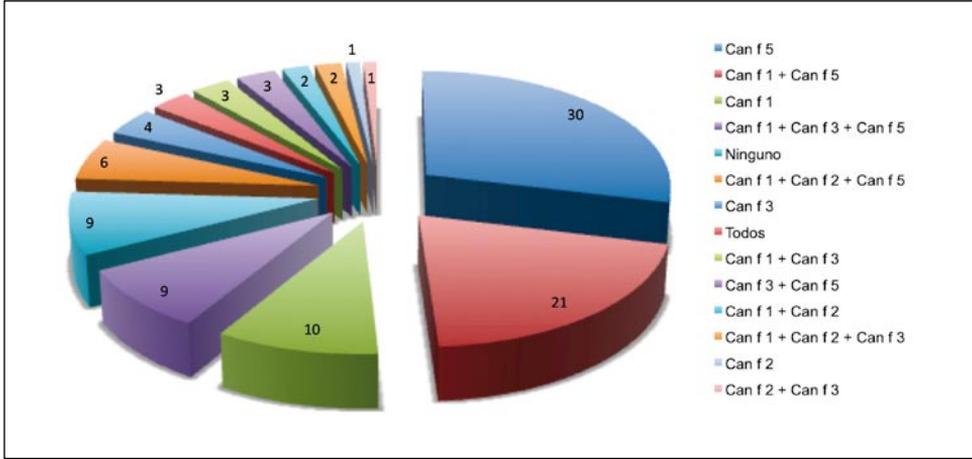
### Patrones de sensibilización

En la Tabla 8 y en la Figura 1 se muestran los patrones de sensibilización encontrados. Se identificaron 14 patrones distintos, siendo los tres más frecuentes la monosensibilización a Can f 1 (28,8%), la sensibilización simultánea a Can f 1 y Can f 5 (20,2%) y la monosensibilización a Can f 1 (9,6%). Los más raros fueron la monosensibilización a Can f 2 y la sensibilización simultánea a Can f 2 y Can f 3 (1% en ambos casos).

**Tabla 8. Patrones de sensibilización a los alérgenos del perro**

Patrón de sensibilización	n	%
Can f 5	30	28,8
Can f 1 + Can f 5	21	20,2
Can f 1	10	9,6
Can f 1 + Can f 3 + Can f 5	9	8,7
Ninguno	9	8,7
Can f 1 + Can f 2 + Can f 5	6	5,8
Can f 3	4	3,8
Todos	3	2,9
Can f 1 + Can f 3	3	2,9
Can f 3 + Can f 5	3	2,9
Can f 1 + Can f 2	2	1,9
Can f 1 + Can f 2 + Can f 3	2	1,9
Can f 2	1	1,0
Can f 2 + Can f 3	1	1,0
<b>Total</b>	<b>104</b>	<b>100</b>

**Figura 1. Patrones de sensibilización a los alérgenos del epitelio de perro**



Al comparar los niveles de IgE total y específica entre los monosensibilizados a un alérgeno frente a los polisensibilizados se obtuvieron niveles significativamente más elevados de IgE específica en los pacientes polisensibilizados en el caso del extracto completo, Can f 1 y Can f 3 (Tabla 9). Cuando se comparó con el diámetro de la pápula de la prueba cutánea con extracto de perro, este fue significativamente superior en los polisensibilizados (11,53 mm<sup>2</sup> frente a 21,51 mm<sup>2</sup>; p=0,045).

**Tabla 9. Comparación de los niveles de IgE total e IgE específica entre los pacientes monosensibilizados a un alérgeno del perro y los polisensibilizados**

	IgE total	Perro	Can f 1	Can f 2	Can f 3	Can f 5
<b>Monosensibilizados</b>	523,11	13,12	3,21	0,03	0,03	17,48
<b>Polisensibilizados</b>	669,65	31,23	16,82	2,08	4,02	15,50
<b>p</b>	0,3	<0,001	<0,001	-	0,014	0,75

**Otras asociaciones**

Se exploró también si la sensibilización a alguno de los alérgenos recombinantes se asociaba con alguna característica clínica o con la sensibilización a otros animales. Los datos se presentan en la tabla 3. Cabe destacar que la sensibilización a Can f 1 se asoció con la urticaria de contacto por el perro y que a sensibilización a Can f 3 se asoció con la existencia de síntomas con la exposición al caballo, con la presencia del gato o del hámster en el domicilio y con el hecho de presentar pruebas cutáneas a estos dos animales. Finalmente, Can f 5 se asoció con la polisensibilización.

## Discusión

La introducción del diagnóstico molecular ha revolucionado el diagnóstico de las enfermedades alérgicas y su tratamiento, como han demostrado estudios recientes en los que se ha podido comprobar cómo el empleo de esta herramienta condiciona la indicación y la composición de la inmunoterapia con alérgenos (10,11). Esto mismo ha sucedido en el caso concreto de la alergia a los epitelios, mejorando el diagnóstico y la selección de extractos (12). El caso de la alergia al perro es particularmente interesante, porque se dispone de una amplia batería de alérgenos recombinantes para el diagnóstico (Can f 1, Can f 2, Can 3 y Can f 5). En este estudio evaluamos en una población de 102 pacientes en los que analizamos el diagnóstico molecular en la alergia al perro a partir de una determinación de IgE positiva frente al extracto completo de perro.

Observamos que, en nuestra muestra, más de la mitad de los pacientes refería rinoconjuntivitis y asma en relación con la exposición al perro, siendo escasos los pacientes que presentaban asma o rinitis aisladas. Aproximadamente una quinta parte de los pacientes presentaba sensibilización asintomática. Un poco más de un tercio de los pacientes refería urticaria de contacto con el perro. Estos datos son similares a los referidos por Uriarte y Sastre (13), quienes, en un estudio realizado en una zona similar, encuentran que la mayor parte de sus pacientes presentan rinoconjuntivitis y asma. En cuanto a los síntomas con otros animales la mayor parte no refería síntomas con el caballo, conejo y hámster y dos tercios refería síntomas con el gato. Esto puede estar en relación con la mayor presencia de gatos y perros en los domicilios. En lo referente a la exposición al perro, más de la mitad tenía perros en su domicilio, mientras que en un 20% de los casos la exposición se debía a la existencia de perros en los domicilios de familiares. El porcentaje de perros en el domicilio es superior al referido por Uriarte y Sastre (13), pero estos autores incluyeron en su estudio pacientes con alergia al perro, al gato o al caballo, mientras que nosotros sólo incluimos pacientes con alergia al perro. Finalmente casi una quinta parte de los pacientes refería no tener contacto con perros. En este sentido se ha descrito que los alérgenos de perros y gatos están presentes en niveles incluso elevados en lugares donde no existen gatos y perros, probablemente transportados por personas que conviven con ellos (14).

Un aspecto interesante del estudio era que se preguntaba por el sexo del perro al que el paciente estaba expuesto. Aunque este dato no se pudo obtener en todos los casos, predominaron los domicilios con perros machos: casi la mitad más otro 25% en el que había machos y hembras. Finalmente, en un 27,5% de los casos se trataba de hembras. Estos datos no se recogen habitualmente en los estudios, pero pensamos que es importante su obtención, dado los patrones de sensibilización.

Respecto a las pruebas cutáneas con extracto de perro, estas fueron positivas en el 93,6% de los pacientes, lo que indica una gran sensibilidad de las mismas. Sin embargo, en un 6,4% de los pacientes fueron negativas. En este sentido, en un estudio en el que se analizó el contenido de alérgenos de los extractos de perro de cinco casas comerciales (15), se observaron notables variaciones, habiendo incluso un extracto en el que no detectaron Can f 1 ni Can f 2. De todo ello se infiere que es conveniente determinar IgE específica, al menos cuando la clínica es sugerente de sensibilización.

La mayor parte de los pacientes presentaba pruebas cutáneas positivas con otros grupos de alérgenos distintos, siendo los pólenes los más frecuentes (84,1%), seguidos de los ácaros (43,2%) y de los hongos (21,6%). La polisensibilización fue la regla, observando sólo un 13,8% de pacientes monosensibilizados a los epitelios. Estos datos son similares a los descritos por Uriarte y Sastre (13), quienes encontraron unos porcentajes similares, salvo en el caso de los hongos, que fue del doble en su muestra. Es probable que estos datos reflejen la exposición a los alérgenos y varíen en las distintas zonas. Por su parte, los citados autores encontraron sólo un 5% de pacientes monosensibilizados a los epitelios de animales. Respecto a la sensibilización a otros animales, aproximadamente un 20% presentó pruebas cutáneas positivas con extractos de conejo y hámster, porcentajes que ascendieron a casi el 40% en el caso del caballo y a casi el 70% en el caso del gato. Aunque se evaluó si se correlacionaba con la exposición, es posible que parte sea debida a la exposición y parte a la reactividad cruzada.

En lo relativo a la IgE total, se observaron niveles medios elevados de la misma, como corresponde a una población atópica. Por otra parte, los niveles medianos de IgE específica frente a los distintos alérgenos fueron similares. Lógicamente, la distribución no siguió una curva normal. Encontramos correlaciones intermedias entre los valores de IgE frente al extracto completo y los valores de IgE específica frente a Can f 1 y Can f 2, pobre frente a los niveles de Can f 5 y no hubo correlación con los niveles de IgE específica frente a Can f 3. Esto puede reflejar que el contenido de los extractos en determinados alérgenos es escaso o nulo, como se ha citado anteriormente (15). De hecho, en algunos casos los valores de IgE específica, particularmente en el caso de Can f 5 o a Can f 3, fueron muy superiores a los valores de IgE específica frente al extracto total.

Un dato interesante y que no hemos encontrado descrito es la relación entre los niveles de alérgenos y el sexo del animal al que el paciente presentaba la exposición. Aunque en este caso el tamaño muestral descendía considerablemente, bien porque no se dispusiera del dato o bien porque no existiera contacto directo con el perro, se observó una relación estadísticamente significativa entre los niveles de IgE específica frente a Can f 5 y el sexo del animal al que el paciente estaba expuesto:

los pacientes expuestos a un perro macho presentaban niveles más elevados de IgE específica frente a Can f 5 que los pacientes expuestos a un perro hembra (tabla 7). No obstante, estos valores deben de ser tomados con precaución, dado el escaso tamaño muestral.

Por último, hay que comentar el análisis descriptivo de los patrones de sensibilización. En primer lugar hay que decir que se observaron casi todas las combinaciones posibles (14 patrones diferentes). Este hecho ya se ha observado en el caso de los pólenes (16) y es un reflejo de la enorme variabilidad de las respuestas humanas frente a los alérgenos. En segundo lugar, el patrón más frecuente fue la monosensibilización frente a Can f 5, que se presentó casi en un 30% de los pacientes. En este sentido y en nuestro medio, Uriarte y Sastre (13%), describieron un 20% de monosensibilización a Can f 5; aunque este dato está algo alejado del nuestro, no es tan distante; sin embargo, si llama la atención que encontrasen un 44% de monosensibilización a Can f 1, que en nuestro caso fue de aproximadamente el 10%. Tal vez pueda estar en relación con los distintos criterios de selección poblacionales, en nuestro caso, pacientes con IgE específica al perro y en el suyo pacientes con rinoconjuntivitis o asma sensibilizados al perro, gato o caballo y a que estos autores realizaron el análisis de IgE específica mediante CAP o mediante ISAC, mientras que en nuestro caso fue siempre mediante CAP. También es posible que nuestra población estuviera más expuesta a perros macho.

El segundo patrón más frecuentemente encontrado fue la sensibilización a Can f 1 + Can f 5. El tercer lugar lo ocuparon la sensibilización a Can f 1 + Can f 3 + Can f 5 y la no sensibilización a ningún alérgeno. Este último dato refuerza la necesidad de utilizar la determinación de IgE específica frente al extracto total, porque hay pacientes con sensibilizados a ninguno de los alérgenos comercializados. Finalmente, hubo muy pocos pacientes monosensibilizados a Can f 3 (3,8%) y sólo un paciente con positividad exclusivamente frente a Can f 2. Este último dato ha sido ya observado en un estudio realizado en niños en Suecia, donde se observó que la sensibilización a Can f 2 siempre se asoció a la sensibilización a Can f 1 (14), lipocalinas ambas.

En conclusión, el diagnóstico molecular es muy relevante en el caso de la alergia al perro, al existir una notable diversidad molecular, si bien Can f 1 y Can f 5 son los alérgenos mayoritarios. En nuestra muestra llama la atención que casi una tercera parte de los pacientes presentaba monosensibilización a Can f 5. Este hecho puede tener repercusiones importantes en cuanto a la exposición, pues muchos de estos pacientes pueden tolerar el contacto con hembras. Además, en los casos donde hay exposición directa a perros macho, los niveles de IgE específica frente a Can f 5 son superiores a cuando no existe esta exposición directa. Finalmente, para un adecuado diagnóstico de la alergia al perro creemos que lo recomendable es realizar una determinación de IgE específica frente al extracto total y frente a todos los alérgenos recombinantes.

## Bibliografía

1. <https://www.psychologytoday.com/blog/canine-corner/201209/how-many-dogs-are-there-in-the-world>
2. <http://www.anfaac.org/files/imgs/censo/ANFAAC-censo-2013.png>
3. Konradsen JR, Fujisawa T, van Hage M, Hedlin G, Hilger C, Kleine-Tebbe J, et al. Allergy to furry animals: New insights, diagnostic approaches, and challenges. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;135(3):616-25.
4. Smith DM, Coop CA. Dog allergen immunotherapy: past, present, and future. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2016;116(3):188-93.
5. Salo PM, Arbes SJ, Jr., Jaramillo R, Calatroni A, Weir CH, Sever ML, et al. Prevalence of allergic sensitization in the United States: results from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2005-2006. *J Allergy Clin Immunol* 2014;134:350-359.
6. Moral de Gregorio A, Carretero Aníbarro P, Mateo Borrega M, Zapata Yébenes J. Capítulo 20: Principales alérgenos de interior. En: Dávila González IJ, Jáuregui Presa I, Olaguibel Rivera JM, Zubeldía Ortuño JM, editores. *Tratado de Alergología*. 2ª ed. Tomo I. Madrid: Ergón, 2015; 287-310.
7. Quirce S et al. Asthma in Alergológica-2005. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2009;19, Suppl. 2:14-20.
8. Pereira C, Valero A, Loureiro C, Dávila I, Martínez-Cócera C, Murio C et al. Iberian study of aeroallergens sensitisation in allergic rhinitis. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2006;38:186-94.
9. Migueros M, Dávila I, Frati F, Azpeitia A, Jeanpetit Y, Lhéritier-Barrand M, Incorvaia C, Ciprandi G. Types of sensitization to aeroallergens: definitions, prevalences and impact on the diagnosis and treatment of allergic respiratory disease. *Clin Transl Allergy*. 2014;4:16.
10. Moreno C, Justicia JL, Quiralte J, Moreno-Ancillo A, Iglesias-Cadarso A, Torrecillas M, Labarta N, et al. Olive, grass or both? Molecular diagnosis for the allergen immunotherapy selection in polysensitized pollinic patients. *Allergy* 2014; 69: 1357-1363.
11. Sastre J, Landivar ME, Ruiz-García M, Andregnette-Rosigno MV, Mahillo I. How molecular diagnosis can change allergen-specific immunotherapy prescription in a complex pollen area. *Allergy*. 2012;67:709-11
12. Sastre J. Molecular diagnosis and immunotherapy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2013;13:646-50.
13. Uriarte SA, Sastre J. Clinical relevance of molecular diagnosis in pet allergy. *Allergy*. 2016;71:1066-8.
14. Custovic A, Green R, Fletcher A, Smith A, Pickering CA, Chapman MD, et al. Aerodynamic properties of the major dog allergen Can f 1: distribution in homes, concentration, and particle size of allergen in the air. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;155:94-98.
15. Curin M, Reininger R, Swoboda I, Focke M, Valenta R, Spitzauer S. Skin Prick Test Extracts for Dog Allergy Diagnosis Show Considerable Variations Regarding the Content of Major and Minor Dog Allergens. *Int Arch Allergy Immunol* 2011;154:258-263.
16. Scaparrotta A, Verini M, Consilvio NP, Cingolani A, Rapino D, Attanasi M, et al. Sensitization to timothy grass pollen allergenic molecules in children. *Multidiscip Respir Med*. 2013 Mar 1;8:17
17. Konradsen JR, Nordlund B, Onell A, Borres MP, Grönlund H, Hedlin G. Severe childhood asthma and allergy to furry animals: Refined assessment using molecular-based allergy diagnostics. *Pediatr Allergy Immunol* 2014; 25: 187-192.