

Diagnóstico molecular en pacientes alérgicos a gato, perro y caballo

Joaquín Sastre, Silvia Uriarte.

Servicio de Alergología, Fundación Jiménez Díaz, Madrid.

Facultad de Medicina Universidad Autónoma de Madrid. CIBER de Enfermedades Respiratorias, Instituto Carlos III, Ministerio de Economía y Competitividad.

Correspondencia: Joaquín Sastre. Servicio Alergología. Fundación Jiménez Díaz.
Av Reyes Católicos 2. 28040 Madrid.
jsastre@fjd.es

Concepto

El Diagnóstico Molecular (DM) consiste en la medición cuantitativa de la IgE específica a los componentes individuales y purificados de una fuente alérgica, que pueden ser alérgenos nativos purificados o recombinantes (1). Esta cuantificación individualizada, se diferencia de la técnica de cuantificación de una fuente alérgica completa, en que ésta última cuantifica la mezcla no fraccionada de proteínas alérgicas y no alérgicas. El DM se puede realizar de forma individual o en micromatrices, que permite la detección simultánea de IgE frente a múltiples extractos o alérgenos recombinantes (2,3).

El DM permite un conocimiento individualizado sobre el perfil de sensibilización alérgico en cada paciente (3,4), por tanto puede ofrecer los siguientes beneficios:

- Puede ayudar a mejorar la presunción diagnóstica de la enfermedad alérgica, con la valoración de la relevancia clínica del perfil de sensibilización alérgica (5-10).
- Puede distinguir la reactividad cruzada de la verdadera co-sensibilización de alérgenos (3, 4, 8, 10).
- Puede reconocer biomarcadores de bajo o alto riesgo asociados a la intensidad o severidad de la sintomatología, prediciendo el curso de la enfermedad (3, 7, 11).
- Puede reconocer biomarcadores de bajo o alto riesgo de padecer severas reacciones alérgicas más graves (4, 10).
- Puede mejorar la indicación de inmunoterapia, con una composición alérgica acorde al perfil de sensibilización (3-7, 9-11, 13, 14).

- Puede reconocer biomarcadores de bajo o alto riesgo asociados a reacciones adversas a la inmunoterapia (13-15).
- Puede ayudar a predecir la buena o mala respuesta al tratamiento (13).

El DM es una gran herramienta diagnóstica de las últimas décadas en el campo de la alergia, y con aplicaciones terapéuticas.

Alérgenos recombinantes de animales (gato, perro, caballo)

Las proteínas alergénicas están agrupadas y clasificadas en diferentes familias, tanto de origen vegetal (árboles, frutas, vegetales), animal (mamíferos, moluscos, crustáceos, ácaros), como veneno de himenópteros (abeja, avispa), basado en su función y estructura proteica. Actualmente se conocen más de 2000 proteínas alergénicas, a las que se le conoce su caracterización alergénica, estructura, función, biología molecular y están registradas en un sistema para la nomenclatura de alérgenos (15).

En el campo de los animales mamíferos están implicadas más de 3 familias de proteínas alergénicas con diferentes estructura y función, tales son:

- Lipocalinas: proteínas estables con función de transporte para ligandos lipofílicos (vitaminas y hormonas lipídicas, ácidos grasos, feromonas), considerado como alérgenos importantes en animales (16).
- Albúminas: proteínas comunes presentes en fluidos biológicos, por ejemplo leche de vaca, huevos, pollo y carne; es vital para el mantenimiento de la presión oncótica de la sangre. Las albúminas de los animales presentan una alta homología entre ellas, por lo que se presentan una marcada reactividad cruzada entre albúminas de diferentes especies animales, la cual está bien documentada (17-19). La sensibilización a albúminas séricas puede dar lugar a sintomatología respiratoria a la exposición a animales sensibilizados, como también alergia alimentaria a la leche o carne (17).
- Uteroglobulina: pertenece a la familia de las secretoglobinas, encargada del transporte de hormonas esteroideas, retinol. La primera descripción en mamíferos se dio en conejos (proteína endometrial) (20). Posteriormente se describió gran similitud con el alérgeno mayoritario del gato (Fel d 1) (21).

Se han descrito otras familias de alérgenos de animales, como las cistatinas (inhibidores de la cistein proteasa), laterinas (función surfactante), calicreinas prostáticas (producción prostática, análogo del PSA- antígeno seminal prostático).

Los alérgenos descritos en la actualidad son:

- Gato: Fel d 1 (20-24), Fel d 2 (24-25), Fel d 3 (26), Fel d 4(24,27), Fel d 5, Fel d 6, Fel d 7(28), Fel d 8(28).
- Perro: Can f 1 (12, 29, 30), Can f 2 (12, 30), Can f 3 (12, 31), Can f 4 (32), Can f 5 (12, 33), Can f 6 (34).

- Caballo: Equ c 1 (35, 37), Equ c 3 (36), Equ c 2 (37,38), Equ c 4(37, 38), Equ c 5 (37, 38).

Actualmente, de los alérgenos mencionados, sólo se dispone comercialmente para la práctica clínica: Fel d 1, Fel d 2, Fel d 4, Can f 1, Can f 2, Can f 3, Can f 5, Equ c 1 y Equ c 3. En la Tabla 1 se mencionan y describen los alérgenos de gato, perro y caballo (peso molecular, función proteica, porcentaje de sensibilización, fuente alérgica).

Tabla 1. Alérgenos de gato, perro, caballo: peso molecular, función proteica, porcentaje de sensibilización, Fuente alérgica

Alérgeno	Función	Peso molecular (kDa)	Pacientes sensibilizados (%)	Fuente alérgica
GATO				
Fel d 1	Uteroglobina	38	60-90%	Glándulas sebáceas (caspa), glándulas salivares, glándulas salivares sublinguales, glándulas anales
Fel d 2	Albúmina sérica	65	15-25%	Suero
Fel d 3	Cistatina	11	60%	Caspa
Fel d 4	Lipocalina	19	42-63%	Glándula salivar mandibular
Fel d 5	Inmunoglobulina A	400	66%	Suero
Fel d 6	Inmunoglobulina M	800	ND	Suero
Fel d 7	Lipocalina	17	14.7%	Glándula Von Ebner (glándula salivar sublingual)
Fel d 8	Laterina	24	14.7%	Glándula salivar submandibular
PERRO				
Can f 1	Lipocalina	22-25	70-80%	Glándulas salivales, caspa
Can f 2	Lipocalina	19	20-50%	Caspa, saliva
Can f 3	Albúmina sérica	69	12-40%	Suero, caspa, saliva
Can f 4	Lipocalina	18	60%	Caspa
Can f 5	Kalicleina prostática	28	35-70%	Orina
Can f 6	Lipocalina	20	38%	Caspa, saliva
CABALLO				
Equ c 1	Lipocalina	25	70%	Piel-Caspa
Equ c 2	Lipocalina	16		Piel-Caspa
Equ c3	Albúmina sérica	67	40%	Piel-Caspa, suero, leche, músculo
Equ c 4	Laterina	18	ND	Piel-Caspa, glándulas salivares
Equ c 5	Laterina	16	ND	Piel-Caspa

kDa: kilodaltons, ND: no disponible

Alérgenos de gato

El alérgeno mayoritario del gato es el Fel d 1, indicativo de sensibilización primaria a gato, y puede ser usado como marcador específico de alergia a gato (22, 23, 39). Por lo que tiene gran importancia que los extractos alérgénicos de gato tanto para diagnóstico como para tratamiento, cuenten con una adecuada cuantificación de Fel d 1. En el caso de la inmunoterapia (IT) con gato deberá contener concentraciones cuantificadas y eficaces consiguiendo así una buena respuesta a la inmunoterapia (22). El estudio de Nanda et al valora la dosis- respuesta inmunológica de IT en base a la cuantificación de Fel d1, en la que concluye como dosis de mantenimiento capaz de lograr eficacia clínica e inmunológica (40) la de 15 µg/ml de Fel d 1.

La albúmina de gato o Fel d 2 presenta reactividad cruzada con la gran mayoría de otras albúminas de mamíferos, como la albúmina de perro (Can f 3), caballo (Equ c 3), cerdo (Sus s), vaca (Bos d 6) (18, 19). Por lo que, Fel d 2 podría causar reacciones alérgicas de tipo alimentario por reactividad cruzada, por ejemplo con la ingestión de carne de cerdo en pacientes sensibilizados a gato, documentado como el síndrome gato- cerdo (17).

Las lipocalinas de gato, han mostrado gran reactividad cruzada con otras lipocalinas, Fel d 4 con Equ c 1 (alérgeno mayor del caballo) (27) y Can f 6 (perro) (27); además de Fel d 7 con Can f 1 (alérgeno mayor del perro)(28).

Alérgenos de perro

Los alérgenos de perro Can f 1, Can f 2 y Can f 5 son alérgenos específicos que nos indican sensibilización primaria a perro (33, 41).

Can f 1 es considerado el alérgeno más importante del perro, por lo que la concentración cuantificada en extractos alérgénicos se ha basado exclusivamente en este alérgeno. Como se ha mencionado antes, respecto a la concentración de Fel d 1 en extractos de IT, Lent et al realizó un estudio ITSC valorando la dosis- respuesta inmunológica en base a concentraciones de Can f 1, concluyendo que una dosis de 15 µg/ml de Can f 1 logra una buena respuesta inmunológica (42).

Can f 2 muestra una gran homología con Can f 1, ambas lipocalinas tienen reactividad cruzada (30, 41, 43).

La albúmina de perro Can f 3 al igual que la de gato (Fel d 2), muestra gran reactividad cruzada a otras albúminas de mamíferos (18, 19, 31).

Can f 5 es un alérgeno descrito hace 8 años, de producción prostática, exclusivo de perros machos, viéndose disminuida su producción en relación a la castración. Por lo que pacientes sensibilizados solo a Can f 5 podría tener la opción de tolerar a pe-

rras o mayor tolerancia a perros machos castrados, aunque la experiencia clínica nos ha permitido observar pacientes monosensibilizados a Can f 5 con sintomatología a su propia perra (castrada o no castrada). Serán necesario más estudios para aclarar estos conocimientos.

Can f 5 presenta reactividad cruzada con el antígeno prostático humano (PSA) hallado en semen humano (33, 44, 45), contando con una homología del 55 al 60%. Por tanto, es posible que la sensibilización a Can f 5 se vea asociada a un riesgo incrementado de desarrollar reacciones alérgicas a semen humano (44, 45), jugando un rol en determinados casos de infertilidad.

A propósito de los alérgenos de perro descritos y mencionados, Polovic et al ha comunicado la existencia de 4 nuevos alérgenos de perro hallados en la saliva (46). Estos alérgenos de saliva han sido identificados como:

- BPIFA2: conocida como proteína parotídea secretora y pertenece a la familia PLUNC, implicada en la defensa huésped- mucosa.
- Mucin-5B: glicoproteína del moco, importante en la lubricación de superficies epiteliales.
- ANGPTL5: proteína angiopoietina like5, pertenece a la familia de las ANGPTL, implicada en la angiogénesis y metabolismo de los triglicéridos.
- Región constante de la cadena pesada de la IgA: análogo a la IgA de gato (Fel d 5).

El estudio de Polovic en pacientes suecos, observó que el 20% de pacientes presentaron sintomatología a perro con IgE negativa a caspa de perro, y una Ig E positiva a alérgenos de saliva (46).

Recientemente, con los alérgenos de perro que disponemos en la actualidad, se ha realizado el perfil de sensibilización a perro en una población del Madrid, encontrando un 79% sensibilizados a Can f 1, un 19% a Can f 2 un 12% a Can f 3 y un 35 % de pacientes sensibilizados a Can f 5 y un 20% monosensibilizados a Can f 5 (11). Respecto a Can f 5, previamente sólo se contaba con el perfil de sensibilización del grupo sueco que descubrió este alérgeno, encontrando un 70% de sensibilizados a Can f 5 (33), y posterior a nuestro estudio, se ha descrito una serie polaca que halla 32.9% de sensibilización a Can f 5 y un 12.9% de monosensibilización a Can f 5 (47).

Por tanto, un extracto de perro tanto para diagnóstico como para tratamiento (IT), deberá incluir la cuantificación de los alérgenos mayoritarios y con una dosis eficaz. Durante muchos años sólo se ha venido considerando la cuantificación de Can f 1, que ahora con la evidencia de altos porcentajes de pacientes sensibilizados y monosensibilizados a Can f 5; deberá ser incluido y cuantificado.

Relevancia clínica del diagnóstico molecular con alérgenos de animales

La mayor utilidad del DM en los últimos años, nos viene ayudando en el conocimiento de la asociación entre el perfil de sensibilización de alérgenos con la sintomatología clínica así como con su gravedad, evolución y respuesta al tratamiento.

En 2016, nuestro grupo describió el perfil de sensibilización a alérgenos de gato, perro y caballo en 156 pacientes alérgicos a animales (niños y adultos), además se buscaron las asociaciones clínicas de éste perfil con rinitis y asma (11). En la Tabla 2 se detallan los resultados.

Tabla 2: Asociación de perfil de sensibilización (Ig E) a alérgenos de animales (gato, perro, caballo) y clínica de rinitis o asma (tomado de 11)

Alérgeno	% Sensibilización (n= 159)	% Monosen-sibilización	Asociación con sintomatología clínica. Odds Ratios (95% IC)
GATO	66 (105)		
Fel d 1	88	48	
Fel d 2	22	7	- Rinitis moderada-severa 1.912 (0.319-11.471) (p 0.009) - Asma moderada 5.250 (1.122- 24.571) y Asma severa 7.200 (1.148-45.167) (p 0.01, ambos)
Fel d 4	42	4	- Diagnóstico de asma 2.771 (1.07-7.15) (p 0.04)
PERRO	100 (159)		
Can f 1	66	44	- Rinitis persistente 0.429 (0.051- 3.595) (p 0.01)
Can f 2	18	0	- Diagnóstico de asma 3.758 (1.075-13.136) (p 0.04)
Can f 3	9.3	0.6	- Rinitis moderada-severa 4.667 (0.562-38.762) (p 0.007) - Asma moderada 4.776 (1.014- 22.491) y Asma severa 4.909 (0.725-33.230) (p 0.01 ambos)
Can f 5	33	19.5	- Rinitis persistente 2.821 (0.589-13.519) (p 0.0005) - Rinitis moderada-severa 17.333 (2.983-100.719) (p 0.02)
CABALLO	19 (30)		
Equ c 1	70	60	- Rinitis moderada-severa 9.692 (1.074-87.437) (p 0.0006)
Equ c 3	40	30	- Rinitis persistente 2.414 (0.285- 20.45) (p 0.01) - Diagnóstico de asma (p 0.03) - Asma persistente (p 0.04) - Asma moderada-severa (p 0.04)

Nuestro estudio junto a otros recientes estudios (Gronlund H et al, 48, Nordlund B et al 49, Wisniewski J et al 50, Konradsen JR et al 51, Bjerg A et al 52) nos muestra la gran importancia de conocer el perfil de sensibilización en cada paciente (Tabla 3).

Tabla 3: Relevancia clínica del diagnóstico molecular de alérgenos de animales, en diferentes estudios

Estudio (país y año)	Grupo y número de pacientes	Alérgeno testado-sistema utilizado	Asociaciones clínicas con el diagnóstico molecular a alérgenos de animales
Gronlund H (Suecia- Austria 2008)	Niños alérgicos a gato (34 asma, 33 rinoconjuntivitis) y controles (25)	Fel d 1 InmunoCAP System (Phadia AB) 0.35Ku/L	- Niveles altos de Fel d 1 se asociaron a niños asmáticos en comparación a niños con rinoconjuntivitis. (p <0.05)
Nordlund B (Suecia 2012)	Niños con asma (56 severa/no controlada, 39 leve- moderada/ controlada)	Fel d 1 Fel d 2 Fel d 4 Can f 1 Can f 2 Can f 3 Can f 5 Equ c 1 Equ c 3 Prototipo ISAC (Phadia AB) ≥ 0.3 ISU	- Multisensibilización a más de 3 alérgenos de tipo lipocalina (Fel d 4, Can 1, Can f 2, Equ c 1, Mus m 1, calicreína (Can f 5) o secretoglobina (Fel d 1) se asoció a niños con asma severa/ no controlada en comparación a niños con asma controlada. (p 0.03) - La asociación arriba descrita, se asoció a valores elevados de Ig E (p 0.006), FeNO (p 0.021), eosinófilos en sangre (p 0.021) e hipereactividad bronquial a metacolina (p 0.002).
Wisniewski J (USA 2013)	Niños con/sin dermatitis atópica (24/17).	Fel d 1 Fel d 2 Fel d 4 InmunoCAP System (Phadia AB) 0.35Ku/L	- Niveles altos de Fel d 2 y Fel d 4 se asociaron con dermatitis atópica en niños con alergia a gato. (p <0.001, p <0.05) - Fel d 1 (>15 Ku/L), Fel d 4 (>0.3 Ku/L), gato (>15Ku/L) se asociaron a sibilancias en niños con dermatitis atópica. (p <0.05, p 0.04, p 0.03) - Sensibilización a gato fue el mayor predictor de sibilancias. (p <0.01)
Konradsen JR (Suecia 2014)	Niños con asma severa (54) y niños con asma controlado (39)	Fel d 1 Fel d 2 Fel d 4 Can f 1 Can f 2 Can f 3 Can f 5 Equ c 1 Equ c 3 ISAC prototipo (Thermo-fisher) ≥ 0.3 ISU	- Niveles altos de anticuerpos Ig E a gato, perro, caballo se asoció en niños con asma severa en comparación a asma controlada. (p 0.027, p 0.012, p 0.014) - Sensibilización a Can f 2 en niños con asma severa, ninguno en niños con asma controlada. (p 0.009) - Sensibilización y niveles altos de Equ c 1 se asoció en niños con asma severa. (p 0.03, p 0.017) - Mayor tendencia a multisensibilización a 3 animales en niños asmáticos severos. (p 0.052)

Estudio (país y año)	Grupo y número de pacientes	Alérgeno testado-sistema utilizado	Asociaciones clínicas con el diagnóstico molecular a alérgenos de animales
Bjerg A (Suecia 2015)	Niños (259) sensibilizados a gato (209), perro (218) o caballo (156).	Fel d 1 Fel d 2 Fel d 4 Can f 1 Can f 2 Can f 3 Can f 5 Equ c 1 Equ c 3 InmunoCAP ISAC (Ther-mofisher) ≥0.3 ISU	<ul style="list-style-type: none"> - Niveles altos de Can f 1 (>15 ISU), Can f 5 (>15 ISU) e intermedios de Can f 2 (>1 ISU), se asociaron a niños con asma en comparación a niños sin asma. (p <0.001, p <0.001, p <0.01) - Niveles altos de Fel d 1 (>15 ISU) e intermedios de Fel d 4 (>1 ISU) se asociaron a niños con asma en comparación a niños sin asma. (p <0.01, p <0.001) - No se observó relación entre sensibilización a gato o perro y rinitis. - Fel d 1 y Can f 5 se asociaron a rinoconjuntivitis. - Can f 1 y Can f 5, alérgenos mayoritarios en sensibilización a perro. - Sensibilización a algún animal (gato, perro o caballo) se observó en 68.8% de niños con asma en comparación a niños sin asma (33.3%) (p <0.001)
Uriarte SA and Sastre J (España 2016)	Niños y adultos con rinitis o asma (159)	Fel d 1 Fel d 2 Fel d 4 Can f 1 Can f 2 Can f 3 Can f 5 Equ c 1 Equ c 3 InmunoCAP ISAC (Ther-mofisher) ≥0.3 ISU ó InmunoCAP System (Ther-mofisher) 0.35Ku/L	<ul style="list-style-type: none"> - Sensibilización a 2 o más alérgenos de perro se asoció con asma severa (p <0.03) - Can f 1, Can f 5 y Equ c 3 se asociaron a rinitis persistente. (p 0.01, p 0.0005, 0.01) - Fel d 2, Can f 3, Can f 5, Equ c 1 se asociaron a severidad de rinitis. (p 0.009, 0.007, 0.02, 0.0006) - Fel d 4, Can f 2, Equ c 3 se asociaron a diagnóstico de asma. (p 0.04, p 0.04, p 0.03) - Fel d 2, Can f 3, Equ c 3 se asociaron a severidad de asma. (p 0.01, p 0.01, p 0.04) - Equ c 3 se asoció a persistencia de asma. (p 0.04)

Referencias

1. Valenta R, Kraft D. Recombinant allergens for diagnosis and therapy of allergic diseases. *Curr Opin Immunol.* 1995 Dec;7(6):751-6.
2. Jahn-Schmid B, Harwanegg C, Hiller R, Bohle B, Ebner C, Scheiner O, Mueller MW. Allergen microarray: comparison of microarray using recombinant allergens with conventional diagnostic methods to detect allergen-specific serum immunoglobulin E. *Clin Exp Allergy.* 2003 Oct;33(10):1443-9.

3. Ferrer M, Sanz ML, Sastre J, Bartra J, del Cuvillo A, Montoro J, Jáuregui I, Dávila I, Mullol J, Valero A. Molecular diagnosis in allergology: application of the microarray technique. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2009;19 Suppl 1:19-24.
4. Kazemi-Shirazi L, Niederberger V, Linhart B, Lidholm J, Kraft D, Valenta R. Recombinant marker allergens: diagnostic gatekeepers for the treatment of allergy. *Int Arch Allergy Immunol*. 2002 Apr;127(4):259-68.
5. Valenta R, Lidholm J, Niederberger V, Hayek B, Kraft D, Grönlund H. The recombinant allergen-based concept of component-resolved diagnostics and immunotherapy (CRD and CRIT). *Clin Exp Allergy*. 1999 Jul;29(7):896-904.
6. Hiller R, Laffer S, Harwanegg C, Huber M, Schmidt WM, Twardosz A, Barletta B, Becker WM, Blaser K, Breiteneder H, Chapman M, Cramer R, Duchêne M, Ferreira F, Fiebig H, Hoffmann-Sommergruber K, King TP, Kleber-Janke T, Kurup VP, Lehrer SB, Lidholm J, Müller U, Pini C, Reese G, Scheiner O, Scheynius A, Shen HD, Spitzauer S, Suck R, Swoboda I, Thomas W, Tinghino R, Van Hage-Hamsten M, Virtanen T, Kraft D, Müller MW, Valenta R. Microarrayed allergen molecules: diagnostic gatekeepers for allergy treatment. *FASEB J*. 2002 Mar;16(3):414-6.
7. Steckelbroeck S, Ballmer-Weber BK, Vieths S. Potential, pitfalls, and prospects of food allergy diagnostics with recombinant allergens or synthetic sequential epitopes. *J Allergy Clin Immunol*. 2008 Jun;121(6):1323-30.
8. Sastre-Ibañez M, Sastre J. Molecular allergy diagnosis for the clinical characterization of asthma. *Expert Rev Mol Diagn*. 2015 Jun;15(6):789-99.
9. 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 May;67(5):709-11.
10. Sastre J. Molecular Diagnosis in Allergy. *Clin Exp Allergy*. 2010; 40:1442-60.
11. Uriarte SA, Sastre J. Clinical relevance of molecular diagnosis in pet allergy. *Allergy*. 2016 Jul;71(7):1066-8.
12. Sastre J, Sastre-Ibañez M. Molecular diagnosis and immunotherapy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2016 Dec;16(6):565-570.
13. Sastre J. Molecular diagnosis and immunotherapy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2013 Dec;13(6):646-50.
14. Sastre J, Rodríguez F, Campo P, Laffond E, Marín A, Alonso MD. Adverse reactions to immunotherapy are associated with different patterns of sensitization to grass allergens. *Allergy*. 2015 May;70(5):598-600.
15. International Union of Immunological Societies Allergen Nomenclature: IUIS official list. <http://www.allergen.org>.
16. Mäntyjärvi R, Rautiainen J, Virtanen T. Lipocalins as allergens. *Biochim Biophys Acta*. 2000 Oct 18;1482(1-2):308-17.
17. Hilger C, Kohnen M, Grigioni F, Lehnert C, Hentges F. Allergic cross-reactions between cat and pig serum albumin. Study at the protein and DNA levels. *Allergy* 1997; 52:179-87.
18. Spitzauer S, Pandjaitan B, Soregi G et al. IgE cross-reactivities against albumins in patients allergic to animals. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 96:951-9.
19. Cabanas R, Lopez-Serrano MC, Carreira J, Ventas P, Polo F, Caballero MT, Contreras J, Barranco P, Moreno-Ancillo A. Importance of albumin in cross-reactivity among cat, dog and horse allergens. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2000; 10:71-7.

20. Morgenstern JP, Griffith IJ, Brauer AW, Rogers BL, Bond JF, Chapman MD, Kuo MC. Amino acid sequence of Fel d1, the major allergen of the domestic cat: protein sequence analysis and cDNA cloning. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991 Nov 1;88(21):9690-4.
21. Kaiser L, Grönlund H, Sandalova T, Ljunggren HG, van Hage-Hamsten M, Achour A, Schneider G. The crystal structure of the major cat allergen Fel d 1, a member of the secretoglobulin family. *J Biol Chem*. 2003 Sep 26;278(39):37730-5.
22. Van Ree R, van Leeuwen WA, Bulder I, Bond J, Aalberse RC. Purified natural and recombinant Fel d 1 and cat albumin in in vitro diagnostics for cat allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104:1223-30.
23. Grönlund H, Saarne T, Gafvelin G, van Hage M. The major cat allergen, fel d 1, in diagnosis and therapy. *Int Arch Allergy Immunol* 2009; 151:265-74.
24. Uriarte Obando, Sastre Domínguez. Clinical impact of molecular diagnosis in cat allergy. *Clinical and Translational Allergy* 2014 4(Suppl 2):P51.
25. Dandeu JP, Rabillon J, Guillaume JL, Camoin L, Lux M, David B. Isolation and purification of cat albumin from cat serum by copper ion affinity chromatography: further analysis of its primary structure. *J Chromatogr*. 1991 Feb 22;539(2):475-84.
26. Ichikawa K, Vailes LD, Pomés A, Chapman MD. Molecular cloning, expression and modelling of cat allergen, cystatin (Fel d 3), a cysteine protease inhibitor. *Clin Exp Allergy*. 2001 Aug;31(8):1279-86.
27. Smith W, Butler AJ, Hazell LA, Chapman MD, Pomés A, Nickels DG, Thomas WR. Fel d 4, a cat lipocalin allergen. *Clin Exp Allergy* 2004; 34:1732-8.
28. Smith W, O'Neil SE, Hales BJ, Chai TL, Hazell LA, Tanyaratsrisakul S, Piboonpocanum S, Thomas WR. Two newly identified cat allergens: the von Ebner gland protein Fel d 7 and the latherin-like protein Fel d 8. *Int Arch Allergy Immunol*. 2011;156(2):159-70.
29. Schou C, Svendsen UG, Löwenstein H. *Clin Exp Allergy*. Purification and characterization of the major dog allergen, Can f 1. 1991 May;21(3):321-8.
30. Konieczny A, Morgenstern JP, Bizinkauskas CB, Lilley CH, Brauer AW, Bond JF, Aalberse RC, Wallner BP, Kasaian MT. The major dog allergens, Can f 1 and Can f 2, are salivary lipocalin proteins: cloning and immunological characterization of the recombinant forms. *Immunology*. 1997 Dec;92(4):577-86.
31. Spitzauer S, Schweiger C, Sperr WR, Pandjaitan B, Valent P, Mühl S, Ebner C, Scheiner O, Kraft D, Rumpold H, et al. Molecular characterization of dog albumin as a cross-reactive allergen. *J Allergy Clin Immunol*. 1994 Mar;93(3):614-27.
32. Mattsson L, Lundgren T, Olsson P, Sundberg M, Lidholm J. Molecular and immunological characterization of Can f 4: a dog dander allergen cross-reactive with a 23 kDa odorant-binding protein in cow dander. *Clin Exp Allergy*. 2010 Aug;40(8):1276-87.
33. Mattsson L, Lundgren T, Everberg H, Larsson H, Lidholm J. Prostatic kallikrein: a new major dog allergen. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 123:362-8.
34. Nilsson OB, Binmyr J, Zoltowska A, Saarne T, van Hage M, Grönlund H. Characterization of the dog lipocalin allergen Can f 6: the role in cross-reactivity with cat and horse. *Allergy*. 2012 Jun;67(6):751-7.
35. Gregoire C, Rosinski-Chupin I, Rabillon J, Alzari PM, David B, Dandeu JP. cDNA cloning and sequencing reveal the major horse allergen Equ c1 to be a glycoprotein member of the lipocalin superfamily. *J Biol Chem* 1996;271(51):32951-9.
36. Uriarte Obando, Sastre Domínguez. Clinical impact of molecular diagnosis in horse allergy. *Clinical and Translational Allergy* 2014 4(Suppl 2):P53

37. Goubran Botros H, Poncet P, Rabillon J, Fontaine T, Laval JM, David B. Biochemical characterization and surfactant properties of horse allergens. *Eur J Biochem.* 2001 May;268(10):3126-36.
38. McDonald RE, Fleming RI, Beeley JG, Bovell DL, Lu JR, Zhao X, Cooper A, Kennedy MW. Latherin: a surfactant protein of horse sweat and saliva. *PLoS One* 2009;4(5):e5726.
39. Kleine-Tebbe J, Kleine-Tebbe A, Jeep S, Schou C, Lowenstein H, Kunkel G. Role of the major allergen (Fel d I) in patients sensitized to cat allergens. *Int Arch Allergy Immunol* 1993; 100:256–62.
40. Nanda A, O’connor M, Anand M, Dreskin SC, Zhang L, Hines B, Lane D, Wheat W, Routes JM, Sawyer R, Rosenwasser LJ, Nelson HS. Dose dependence and time course of the immunologic response to administration of standardized cat allergen extract. *J Allergy Clin Immunol.* 2004 Dec;114(6):1339-44.
41. Saarelainen S, Taivainen A, Rytönen-Nissinen M et al. Assessment of recombinant dog allergens Can f 1 and Can f 2 for the diagnosis of dog allergy. *Clin Exp Allergy* 2004; 34:1576–82.
42. Lent AM, Harbeck R, Strand M et al. Immunologic response to administration of standardized dog allergen extract at differing doses. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118:1249–56.
43. Saarelainen S, Rytönen-Nissinen M, Rouvinen J et al. Animal derived lipocalin allergens exhibit immunoglobulin E crossreactivity. *Clin Exp Allergy* 2008; 38:374–81.
44. Basagaña M, Bartolomé B, Pastor C, Torres F, Alonso R, Vivanco F, Cisteró-Bahima A. Allergy to human seminal fluid: cross-reactivity with dog dander. *J Allergy Clin Immunol.* 2008 Jan;121(1):233-9.
45. Basagaña M, Bartolome B, Pastor-Vargas C, Mattsson L, Lidholm J, Labrador-Horrillo M. Involvement of Can f 5 in a case of human seminal plasma allergy. *Int Arch Allergy Immunol.* 2012;159(2):143-6.
46. Polovic N, Wadén K, Binnmyr J, Hamsten C, Grönneberg R, Palmberg C, Milcic-Matic N, Bergman T, Grönlund H, van Hage M. Dog saliva - an important source of dog allergens. *Allergy.* 2013;68(5):585-
47. Ukleja-Sokołowska N, Gawrońska-Ukleja E, Ćwikowska-Gotz M, Socha E, Lis K, Sokołowski Ł, Kuźmiński A, Bartuzi Z. Analysis of feline and canine allergen components in patients sensitized to pets. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2016 Nov 30;12:61.
48. Grönlund H, Adéyoyin J, Reiningger R, Varga EM, Zach M, Fredriksson M, Kronqvist M, Szepefalusi Z, Spitzauer S, Grönneberg R, Valenta R, Hedlin G, van Hage M. Higher immunoglobulin E antibody levels to recombinant Fel d 1 in cat-allergic children with asthma compared with rhinoconjunctivitis. *Clin Exp Allergy.* 2008 Aug;38(8):1275-81.
49. Nordlund B, Konradsen JR, Kull I, Borres MP, Onell A, Hedlin G et al. IgE antibodies to animal-derived lipocalin, kallikrein and secretoglobulin are markers of bronchial inflammation in severe childhood asthma. *Allergy* 2012;67:661–669.
50. Wisniewski JA, Agrawal R, Minnicozzi S, Xin W, Patrie J, Heymann PW et al. Sensitization to food and inhalant allergens in relation to age and wheeze among children with atopic dermatitis. *Clin Exp Allergy* 2013;43:1160–1170.
51. 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.
52. Bjerg A, Winberg A, Berthold M, Mattsson L, Borres MP, Ronmark E. A population-based study of animal component sensitization, asthma, and rhinitis in schoolchildren. *Pediatr Allergy Immunol* 2015;26:557–563.