



Fundación JL Castaño
SEQC

SEQC^{ML}
Sociedad Española de Medicina de Laboratorio

2018-2019

CURSO DE EDUCACIÓN CONTINUADA EN EL LABORATORIO CLÍNICO

Ed. Cont. Lab. Clin 38: 87 - 99

AVANCES EN EL DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO DE LA ALERGIA: DIAGNÓSTICO MOLECULAR.

Anita Dayaldasani Khialani.

UGC Intercentros de Laboratorio. Hospital Regional Universitario de Málaga. Málaga.

Pilar Ocón Sánchez.

UGC Intercentros de Laboratorio. Hospital Regional Universitario de Málaga. Málaga.

Boris Battikhi Vilar.

UGC Intercentros de Laboratorio. Hospital Regional Universitario de Málaga. Málaga.

En las últimas décadas se ha incrementado notablemente la prevalencia de las enfermedades alérgicas, tanto en la población pediátrica como en los adultos, siendo las más frecuentes las mediadas por inmunoglobulina E (IgE) frente a ciertas sustancias, causando enfermedades como asma, rinitis, urticaria, reacciones anafilácticas, eczema y conjuntivitis. Los síntomas se pueden reducir mediante la utilización de inmunoterapias específicas, siendo importante también evitar la exposición a los alérgenos, por lo que un diagnóstico correcto de la alergia es de vital importancia en el plan de tratamiento de cada sujeto alérgico.

Desde el descubrimiento de la IgE a finales de los años 60, se han desarrollado pruebas serológicas para la identificación de los responsables de las reacciones de hipersensibilidad mediada por dicha inmunoglobulina, constituyendo una herramienta diagnóstica que completa la información obtenida por las pruebas cutáneas. Éstas han sido siempre la herramienta básica para el diagnóstico de la alergia, pero tienen muchas limitaciones: son pruebas in vivo que no están exentas de riesgo y están limitadas al uso de algunos extractos alérgicos.

Las pruebas serológicas eran en un principio técnicas de radioinmunoanálisis (RIA), que posteriormente fueron sustituidas por técnicas de enzimoimmunoanálisis (ELISA), capaces de detectar anticuerpos IgE específicos en el suero de pacientes alérgicos.

Recientemente, se ha introducido la tecnología de los *microarrays* para la medición de

anticuerpos IgE específicos frente recombinantes múltiples o componentes naturales purificados de alérgenos.

Además del desarrollo de nuevos métodos para medir la IgE específica, se ha avanzado mucho en el campo de los alérgenos. En principio eran extractos biológicos crudos que contenían una mezcla variable y muy heterogénea de diversas proteínas, glucoproteínas e incluso polisacáridos obtenidos de la fuente alérgica. Estos extractos además de ser una mezcla proteica, poseían distinta potencialidad alérgica debido a diversas circunstancias: tanto del origen de la fuente alérgica (variación en el procedimiento de cultivo, nivel de maduración, tratamiento post cosecha, métodos de conservación, etc.) así como en el procedimiento de extracción.

Por ello, a partir de una fuente natural era difícil garantizar la reproductibilidad de la respuesta, debido a la diferente composición y proporción de los distintos alérgenos en cada extracto (*Figura 1*).

Para eliminar estas variaciones entre los distintos extractos se procedió a la *estandarización*, que consiste en una serie de procesos que conllevan la eliminación de todos los componentes no inmunogénicos del extracto, y obtener una composición proteica igual en todos los lotes resultantes. Aun así, la información obtenida es la reactividad del suero de un paciente frente a una mezcla alérgica determinada, pero sin conocer la molécula alérgica responsable.

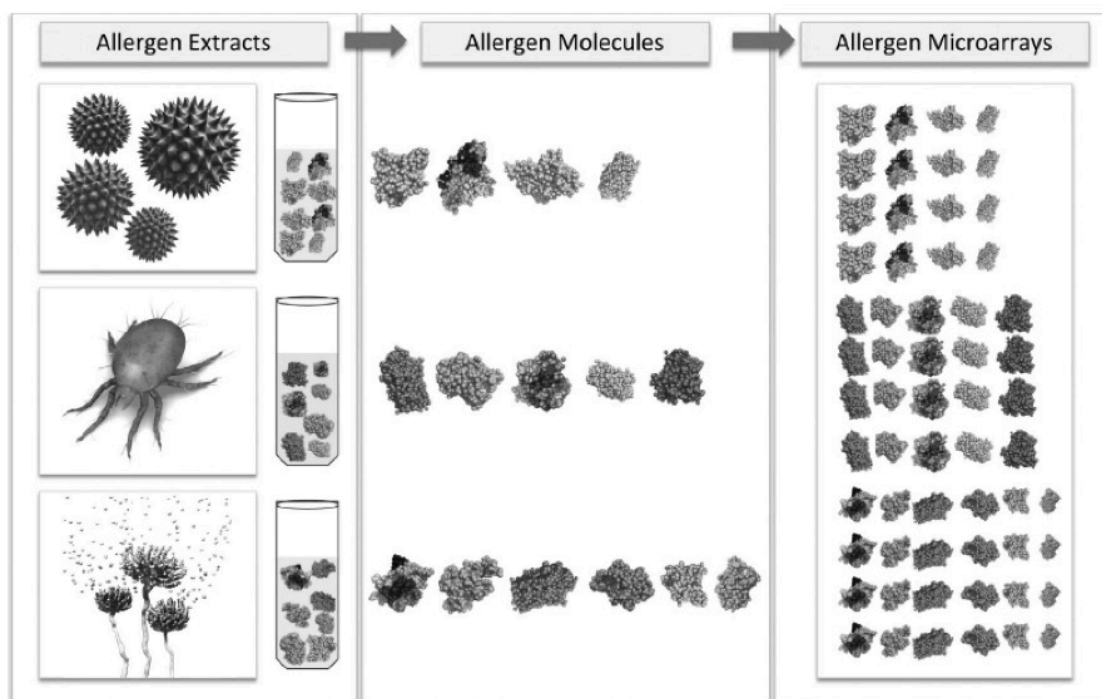


Fig. 1. The shift from extract-based to molecule-based allergy diagnosis. For molecule-based singleplex approaches, the number of tests to be performed can be very high. Allergen microarrays offer the advantage of testing a large panel of molecules in one single test.

YONSEI MED J [HTTP://WWW.EYMJ.ORG](http://www.eymj.org) VOLUME 55 NUMBER 4 JULY 2014

Figura 1: Desarrollo desde el extracto total al *Microarrays*.

En los últimos años con la utilización de la tecnología ADN recombinante se han podido identificar y producir las distintas moléculas alergénicas y con ellas la posibilidad de realizar un diagnóstico molecular o por componentes, que no solo permite identificar la molécula responsable de la enfermedad, sino que además garantiza una adecuada estandarización y reproductibilidad lote a lote.

El diagnóstico molecular en alergia es hoy una herramienta diagnóstica muy importante. El uso de los componentes alergénicos y su adecuada interpretación requiere un cierto grado de conocimiento de las bases de dichos componentes y sus implicaciones clínicas.

Familias de proteínas

La mayor parte de los alérgenos corresponden estructuralmente a proteínas o polipéptidos, algunos de las cuales o poseen estructuras muy conservadas y por ello muy similares entre distintas especies; y otras son muy diferentes y por tanto muy específicas de la fuente alergénica.

Estas proteínas conservadas que se hallan en muchas fuentes alergénicas son las responsables de la reactividad cruzada entre distintas fuentes alergénicas, y han sido llamadas **panalérgenos** por su ubicuidad.

En el caso de las fuentes proteicas vegetales existen varias familias muy ubicuas y ampliamente representadas, suelen ser proteínas de funciones biológicas básicas, con elevada similitud estructural compartiendo incluso epítopos capaces de fijar la misma IgE. Cuanto mayor es su proximidad taxonómica, mayor es la probabilidad de reaccionar de forma cruzada.

La expresión clínica de los pacientes con reactividad cruzada es muy variable pues depende de varios factores, alergenicidad de la proteína, composición físico-química, pH, temperatura, etc. Y factores del entorno, grado de maduración del alimento, condiciones de almacenaje y conservación, nivel de exposición al alérgeno, etc.

Vamos ahora a conocer las familias proteicas mas frecuentemente presentes como alérgenos y sus características.

Alérgenos de origen vegetal

Aquí se encuentran las proteínas principalmente de defensa, proteínas de reserva, y otras proteínas variadas: estructurales, catalíticas o reguladoras, siendo las 2 primeras las de mayor relevancia en el diagnóstico molecular.

- *Proteínas de Defensa*

Proteínas relacionadas con la patogenia (PR-P o Pathogenesis related Proteins).

Se localizan en el polen, las semillas, frutos, hojas y a veces raíces (base de la reacción cruzada polen-alimentos). Son altamente resistentes a productos químicos y proteasas diges-

tivas. Dentro de ellas hay al menos 14 familias, siendo las más importantes:

PR-2 (beta-glutamasas) entre las que se encuentra la proteína Heb v2 del latex y la proteína Ole e 9 en el polen del olivo.

PR-3 (Quinasas de clase I, II y IV) como la Heb v6.02 y alguna proteína del plátano (Mus a 1).

PR-5 Proteínas similares a las Taumatinas (TPL).

PR-10 Proteínas termolábiles homólogas al Bet v1 causantes de alergias a frutas y vegetales.

PR-14 ns-LTP (non specific Lipid Transfer Proteins) Proteínas estables al calor y la digestión, frecuentemente asociadas a reacciones alérgicas a frutas y verduras. Se hallan en la piel de las frutas rosáceas. Son **panalergenos**.

- *Proteínas de reserva*

Su función es el suministro de nutrientes durante la germinación. Se dividen en dos superfamilias: prolaminas y cupeínas. Las fuentes de estas proteínas son cereales, legumbres, frutos secos y especias.

Las *prolaminas* incluyen las prolaminas de los cereales y las albúminas de las leguminosas. Estas últimas muy estables al calor y enzimas proteolíticas.

Las *cupeínas* incluyen varias familias destacando las profilinas, que constituyen una familia de panalergenos altamente conservada, responsable de sensibilización entre pólenes y plantas. Son fácilmente degradadas por proteasas gástricas, por lo que producen síntomas locales leves.

- Las *polcalcinas* son proteínas fijadoras de calcio que presentan elevada homología entre especies. Su prevalencia es baja (<10 % pacientes) pero se asocian a mayor gravedad clínica. Tienen una alta presencia en pólenes pero no se hallan en alimentos de origen vegetal.

- *CCD (cross-reactive carbohydrate determinants)*

Presentes en plantas, insectos y algunos ácaros. Son marcadores de sensibilización y reactividad cruzada frente a determinantes carbohidratos. En general no se asocian a síntomas graves.

Alérgenos de origen animal

- *Albúminas séricas*

Presentes en carnes de mamíferos y aves, así como en fluidos biológicos animales. Son responsables de la reactividad cruzada entre leche de vaca y carne de ternera. Son sensibles al calor y la digestión, lo que permite buena tolerancia a carnes cocinadas.

- *Parvalbuminas*

Proteínas localizadas en el sarcoplasma muscular, implicadas en la señalización del calcio, con elevada reactividad cruzada entre diferentes especies de pescado. Son proteínas estables al calor y la digestión, por lo que se asocian a reacciones sistémicas más graves.

- *Tropomiosinas*

Proteínas estructurales presentes en el músculo de los organismos eucariotas con elevada homología entre diferentes especies de invertebrados, como crustáceos, moluscos (cefalópodos, gasterópodos y lamelibranquios) ácaros, insectos y nematodos, comúnmente implicadas en fenómenos de reactividad cruzada entre especies. Son estables al calor y la digestión. Explican la sensibilización a ácaros y gambas en personas que no han ingerido mariscos.

- *Lipocalinas*

Grupo de glicoproteínas ácidas producidas por el hígado y las glándulas secretoras de animales. Se detectan en orina, lágrimas, saliva, suero y caspa. Su función principal es transportar pequeñas moléculas hidrofóbicas. Son proteínas estables y con baja reactividad cruzada entre especies.

- *Proteínas del huevo*

El huevo contiene más de 40 proteínas diferentes, tanto en la clara como en la yema, pero la clara es mucho más alergénica. El principal alérgeno del huevo es el ovomucoide presente en la clara, con extrema resistencia a la degradación de las proteasas, por lo que resulta alergénico en cantidades mínimas, pudiendo ser responsable de la persistencia de la alergia, seguido de la ovoalbumina.

- *Proteínas de la leche*

Se han descrito gran variedad de proteínas siendo los principales componentes alergénicos la caseína, alfa-lactoalbumina y beta-lactoglobulina. La caseína es termoestable pero muy susceptible a la digestión enzimática.

Todas estas proteínas permiten explicar cuadros de reactividad cruzada bien identificados (ver Tabla 1) como:

- Alergia al polen de abedul-frutas rosáceas, sobre todo melocotón y manzana, cuya proteína responsable es la PR-10.
- Alergia al polen de plantago-gramíneas y melón debido a profilinas.
- Síndrome artemisa-apio-zanahoria-especies, también causado por profilinas.
- Síndrome látex-verdura debido a la gran homología entre la heveína del látex (Hev b6) y las quitinasas del aguacate, plátano, castaña, etc.

- Síndrome ácaros invertebrados debido a la homología de la tropomiosina de los ácaros, insectos, crustáceos y moluscos.
- Síndrome ave-huevo causado por la alfa-livetina presente en la yema de huevo que reacciona con la albúmina de la carne de ave.
- Síndrome gato-cerdo: Los pacientes desarrollan IgE específica frente a la albúmina sérica del gato (Fel d2) que tiene reactividad cruzada con la albúmina porcina y puede dar reacciones graves cuando se ingiere la carne de cerdo.

Alérgeno	Función	Características	Localización	Reactividad cruzada
Profilinas	Proteína del citoesqueleto de las células eucariotas	Termolábil	Casi todas las plantas (pólenes y alimentos)	Pólenes y alimentos
Polcalcina	Unión al calcio		Polen de gramíneas, árboles y malezas	Polisensibilizados a pólenes
Homólogos Bet v I	Proteínas relacionadas con la patogénesis (PRP)	Termolábil. No resiste digestión enzimática ni pH gástrico	Alérgeno mayor del polen de abedul, frutas, frutos secos	Polen de abedul y manzana
Tropomiosina	Músculo de las células eucariotas	Termoestable	Alérgeno mayor de los crustáceos	Marisco, ácaros, insectos y anisakis
Albúmina	Proteína sérica		Leche, carne, epitelios	Epitelios y carnes de mamíferos
Lipocalina	Proteína transportadora		Roedores, leche (blg), epitelios	Epitelios de animales
LTP	Proteína de transferencia de lípidos	Termoestable. Resiste proteólisis	Rosáceas, pólenes	Anafilaxia por alimentos
Vicilinas	Proteínas de depósito	Termoestable. Resiste proteólisis	Legumbres y frutos secos	Legumbres, frutos secos y especias
Quitinasas	Proteínas de defensa	Termolábil. Resiste proteólisis	Látex, fruta, vegetales	Síndrome látex-frutas

De: Echeverría Zudaire LA. Novedades en diagnóstico y prevención de la alergia alimentaria. En: AEPap (ed.). Curso de Actualización Pediatría 2018. Madrid: Lúa Ediciones 3.0; 2018. p. 145-157.

Tabla 1: Principales proteínas panalérgenos.

Utilidad clínica del diagnóstico molecular

La posibilidad de identificar individualmente las moléculas causantes de la reacción alérgica permite una mayor precisión diagnóstica que se traduce en:

- **Posibilidad de explicar reacciones alérgicas inexplicables:** por ejemplo como resultó ante la identificación de un nuevo alérgeno presente en la orina de perros (la calicreína prostática Can f5), capaz de fijar IgE específica en pacientes alérgicos al perro que mostraban resultados negativos ante otros alérgenos descritos anteriormente. Este alérgeno redujo el número de casos falsamente negativos; y al ser una proteína solo presente en próstata,

explicaría porque algunos pacientes alérgicos al perro toleran perras hembra o castrados.

- **Permitir diferenciar la cosensibilización de la polisensibilización:** es decir, cuando un paciente está realmente sensibilizado a alérgenos genuinos o primarios de diversas fuentes alergénicas o se debe a reactividad cruzada a proteínas ubicuas en distintas especies, siendo solo una la fuente alergénica sensibilizante. Esta diferencia conlleva diferencias pronósticas y terapéuticas.

- **Distinguir entre moléculas que son clínicamente relevantes de otras con menor importancia:** por ejemplo, la sensibilización a ovomucoide implica mayor riesgo de persistencia de la alergia al huevo que en el caso de sensibilización a ovoalbumina.

- **Adecuar la indicación de inmunoterapia:** orienta la correcta prescripción no solo en cuanto a la composición del extracto, sino también respecto a su indicación o no, modificando la prescripción en casi la mitad de los pacientes sobretodo en áreas con sensibilizaciones complejas a pólenes.

- **Identificar riesgos y predecir posibles dianas alérgicas:** los pacientes sensibilizados a moléculas termoestables tienen mayor riesgo de reacciones sistémicas; por otro lado, las reactividades cruzadas de algunas moléculas puede alertar sobre posibles reacciones ante alérgenos que las contengan, como por ejemplo en un paciente sensibilizado a tropomiosina de ácaro se puede predecir posible reacción a crustáceos.

- **Evitar pruebas de provocación:** en algunos casos se han establecidos puntos de corte de IgE específica que son indicativos de probabilidad de tener síntomas graves y establece la recomendación de realizar o no esta prueba.

- **Mejorar la caracterización de los alérgenos responsables de la alergia ocupacional:** así como identificación de nuevos alérgenos en este campo.

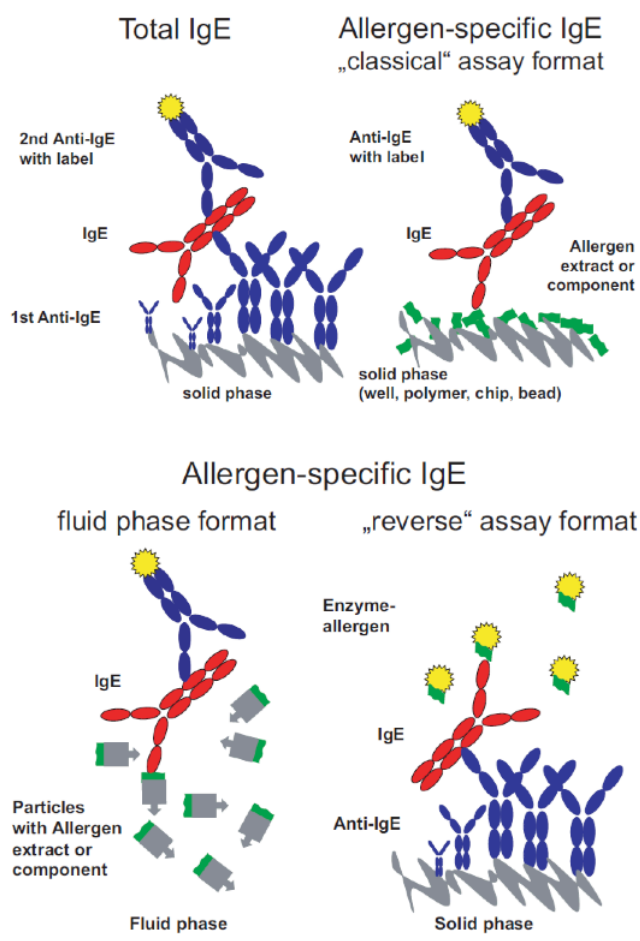
Determinación de componentes alergénicos

Los alérgenos moleculares pueden ser utilizados como componentes individuales acoplados a las matrices convencionales utilizadas para la determinación de IgE específica de igual manera que los extractos totales y por tanto medidos por fluoroinmunoanálisis o enzimoimmunoanálisis; o en plataformas de microensayos múltiples que permiten la determinación simultánea de IgE específica de más de un centenar de componentes alergénicos con una pequeña muestra de suero, denominados *microarrays*.

Formato clásico de ensayo IgE: es la base de la mayoría de los ensayos únicos o múltiples. El ensayo más utilizado es no-competitivo, heterogéneo, inmunométrico y utiliza el alérgeno inmovilizado en una fase sólida para unirse a anticuerpos específicos del suero. Se separan los anticuerpos libres de los unidos mediante un lavado, y se añade anti IgE humano marcado con radionúclidos, enzimas o fluorocromos para detectar los anticuerpos unidos al

alérgeno inmovilizado. La magnitud de la respuesta (radioactividad: cuentas por minuto, densidad óptica, quimioluminiscencia o fluorescencia) tras el último lavado es proporcional a la cantidad de IgE específico en la muestra.

Un formato de *ensayo inverso* emplea un alérgeno de segundo paso en fase líquida para detectar anticuerpo IgE específico. En este caso, la IgE se captura previamente del suero con un anticuerpo anti-IgE en fase sólida, y posteriormente el anticuerpo IgE específico se detecta con el alérgeno marcado. (Figura 2).



De: Matricardi PM, Kleine-Tebbe J, Hoffmann HJ, Valenta R, Hilger C, Hofmaier S, et al. EAACI Molecular Allergy User's Guide. *Pediatr Allergy Immunol.* 2016;27 Suppl 23:1-250.

Figura 2: Ensayos de IgE.

Generalmente, los alérgenos se utilizan en forma de un reactivo individual o separado para cada especificidad alérgica. A veces los alérgenos se combinan, bien conjugados o mezclados en un solo reactivo. En estos casos se emplean como reactivos de cribado de múltiples alérgenos (una mezcla de los alérgenos alimentarios o de los inhalados más representativos) y pueden contener alérgenos seleccionados de muchos grupos de especificidades (por ejemplo, pólenes de gramíneas, pólenes de árboles, epitelios, ácaros, alimentos, etc) o incluir muchas especificidades de un solo grupo de un alérgeno (polen de abedul,

roble, arce, etc). Más aún, algunos reactivos de alérgeno contienen alérgenos recombinantes para suplementar alérgenos nativos que estén presentes a baja concentración (por ejemplo, el reactivo para látex suplementado con el recombinante rHev b5).

Por otra parte, están los ensayos “multiplex” que son procedimientos por los que se detectan diversos analitos de especificidad diferente, y en algunos casos cuantifican, en una muestra de suero empleando una sola mezcla de reactivos. En el caso de la IgE específica, este tipo de ensayos mediría la IgE frente a varias especificidades alergénicas en una reacción de un paso único. Un ejemplo del ensayo “multiplex” de IgE, es el *microarray*, que es un inmunoensayo en fase sólida donde los componentes alergénicos son inmovilizados en una micromatriz (portaobjetos) y reaccionan con la IgE específica de la muestra de suero del paciente. Después de eliminar la IgE no específica se añade un anticuerpo anti IgE humana marcado con un fluorocromo, se lava el exceso de anticuerpo y se mide la fluorescencia.

El primer *microarray* de alérgenos descrito fue el Immuno Solid-Phase Allergen Chip (ISAC) en 2002. Desde entonces, se ha mejorado el ensayo, se ha aumentado el número de componentes y se ha ampliado su uso clínico. Recientemente, se han desarrollado también otras plataformas como por ejemplo el MedALL y el Microtest. (Tabla 2)

Assay	Allergen	Technology	Number of allergens	Producer
Allergen Epitope Microarray	C	Microarray	Variable	PEPperCHIP®
Allergenex	WA	Microarray	37	Spiriplex, Inc.
Arrayit	WA	Microarray	123	Yummy!™
BioIC System	WA	Microfluidic protein microarray	40	Agnitio Science and technology
CLA® Allergen-Specific IgE Assay	WA	Microstrip	Variable	Hycor
Euroimmun	WA/C	Multistrips	Variable	Euroimmune
Human Allergen Protein Array G1	WA	Microarray	48	RayBiotech, Inc.
ImmunoCAP ISAC	WA/C	Microarray	112	Phadia/ThermoFisher
MedALL (EC project)	WA/C	Microarray	170	Lupinek et al. [28]
Microtest DX	WA/C	Microarray	Variable	Microtest
OPTIGEN® Allergen-Specific IgE Assay	WA	Microstrips	36	Neotec BIO

WA, whole allergens; C, molecular components.

De: Riccio AM, De Ferrari L, Chiappori A, Ledda S, Passalacqua G, Melioli G, et al. Molecular diagnosis and precision medicine in allergy management. Clin Chem Lab Med. 2016;54(11):1705-1714.

Tabla 2: Ensayos Multiplex de IgE.

Actualmente, con solo 30 microlitros de suero se pueden determinar más de 100 componentes alergénicos. Los resultados se miden en unidades estandarizadas de microarrays de forma semicuantitativa. (Tabla 3).

	Ensayo singleplex anticuerpo IgE	Ensayo multiplex anticuerpo IgE
Ventajas relacionadas con el rendimiento	<ul style="list-style-type: none"> *Aumento de la sensibilidad analítica del ensayo (menor límite de cuantificación, LoQ) *Cuantificación y precisión potencialmente más precisas, facilitando las comparaciones entre diferentes reactivos alergénicos (extractos frente a moléculas) *Medidas de control de calidad interno y externo más establecidas 	<ul style="list-style-type: none"> *Aumento de la velocidad de análisis y reducción del tiempo de respuesta *Conservación del volumen de muestra facilitando pruebas pediátricas
Ventajas relacionadas con el diseño y costo del ensayo	<ul style="list-style-type: none"> *Trazabilidad de valores de IgE específicos de alérgeno a Preparación de Referencia Internacional IgE humana total *Unidades similares para IgE total e IgE específica de alérgeno debido a la calibración heteróloga (permite el cálculo de la relación IgE específica / IgE total) *Disponibilidad global en muchos países *Más costo eficiente en caso de número limitado de muestras *Minimiza las pruebas innecesarias 	<ul style="list-style-type: none"> *Mayor simplicidad *Reducción en el coste reducido por menor requerimiento de reactivos *Reducción de la intervención del técnico *Aplicaciones de diseño óptimo para Pruebas <u>point-of-care</u>
Limitaciones relacionadas con el rendimiento	<ul style="list-style-type: none"> *Más costoso debido a la mayor necesidad de reactivos *Más intervención técnica *Respuestas limitadas en caso de pocas muestras por sujeto *Caro en caso de cribado a gran escala (es decir, sujetos <u>multisensibilizados</u>) 	<ul style="list-style-type: none"> *Potencialmente menor sensibilidad analítica para cada especificidad medida de analito (mayor límite de detección, LoD) *Capacidad reducida para cuantificar con precisión cada Anticuerpo IgE *Fomento de abuso de pruebas que implica la medición de especificidades de anticuerpos IgE no deseadas o innecesarias
Limitaciones relacionadas con el diseño y costo del ensayo	<ul style="list-style-type: none"> *Mayor requerimiento de suero, particularmente en caso de muchas muestras *Análisis potencialmente más lento *Probablemente formato de ensayo más sofisticado 	<ul style="list-style-type: none"> * Menor disponibilidad global * Coste de la nueva instrumentación y reactivos * Mayor desafío en la gestión de diferentes niveles de unión no específica * Mayores desafíos en la optimización, el equilibrio y estandarización de reactivos y control de calidad del ensayo * Potencial mayor variabilidad entre lotes

De: Matricardi PM, Kleine-Tebbe J, Hoffmann HJ, Valenta R, Hilger C, Hofmaier S, et al. EAACI Molecular Allergy User's Guide. *Pediatr Allergy Immunol.* 2016;27 Suppl 23:1-250

Tabla 3: Ventajas y limitaciones de la tecnología de ensayo singleplex y multiplex para la prueba de IgE específica que utiliza moléculas alergénicas (componentes).

En conclusión, la determinación de IgE específica junto con la historia clínica han sido fundamentales en el diagnóstico de enfermedad alérgica en las últimas décadas. La disponibilidad de alérgenos recombinantes ha contribuido en la obtención de una mayor precisión diagnóstica. Aunque los *microarrays* presentan las ventajas de mayor rapidez de análisis, con menor volumen de muestra, los ensayos simples presentan mayor sensibilidad analítica y posibilidad de cuantificación por lo que ambos sistemas son importantes en el diagnóstico de las enfermedades alérgicas.

BIBLIOGRAFIA

- **Alessandri C, Ferrara R, Bernardi ML, Zennaro D, Tuppo L, Giangrieco I, Tamburrini M, Mari A, Ciardiello MA.** Diagnosing allergic sensitizations in the third millennium: why clinicians should know allergen molecule structures. *Clin Transl Allergy*. 2017;7:21.
- **Canonica GW, Ansotegui IJ, Pawankar R, Schmid-Grendelmeier P, van Hage M, Baena-Cagnani CE, et al.** A WAO-ARIA-GA²LEN consensus document on molecular-based allergy diagnostics. *World Allergy Organ J*. 2013;6(1):17.
- **Echeverría Zudaire LA.** Novedades en diagnóstico y prevención de la alergia alimentaria. En: AEPap (ed.). *Curso de Actualización Pediatría 2018*. Madrid: Lúa Ediciones 3.0; 2018; p145-157.
- **Hamilton RG.** Microarray Technology Applied to Human Allergic Disease. *Microarrays* 2017;6(1):3.
- **López Hoyos M.** Estandarización de IgE específica. Documento consenso del comité de inmunología clínica de la SEAIC. www.seaic.org/wp-content/plugins/download-monitor/download.php?id=SEAIC-Estandarización-de-IgE-Específica.pdf (Febrero 2018).
- **Luengo O, Cardona V.** Component resolved diagnosis: when should it be used? *Clinic Trans Allerg*. 2014; 4:28.
- **Matricardi PM, Kleine-Tebbe J, Hoffmann HJ, Valenta R, Hilger C, Hofmaier S, et al.** EAACI Molecular Allergology User's Guide. *Pediatr Allergy Immunol*. 2016;27 Suppl 23:1-250.
- **Nieto A, Nieto M, Mazón A.** Progresos en el diagnóstico de la alergia. *Rev Alergia Mex*. 2014; 61:336-356.
- **Riccio AM, De Ferrari L, Chiappori A, Ledda S, Passalacqua G, Melioli G, et al.** Molecular diagnosis and precision medicine in allergy management. *Clin Chem Lab Med*. 2016;54(11):1705-1714.
- **San Miguel Hernandez A, Martin B, Armentia Medina A.** Algunos aspectos de la hipersensibilidad alérgica alimentaria a frutas y vegetales *Gac Med Bilbao* 2012;109:104-112.
- **Sastre J.** Molecular diagnosis in allergy. *Clin Exp Allergy*. 2010;40:1442-1460.

EDUCACIÓN CONTINUADA EL EL LABORATORIO CLÍNICO COMITÉ DE EDUCACIÓN

D. Balsells, B. Battikhi, N. Giménez, A. Merino, A. Peña, N. Rico (*Presidenta*), M. Rodríguez, T. Rodríguez, P. Rodríguez, C. Sánchez, M. Serrando, MC. Villà, JA. Wong.

ISBN 978-84-09-02925-9 – Abril 2019 (recibido para publicación Junio 2018)