

“ESTUDIO SOBRE ALERGIA ALIMENTARIA EN LA EDAD PEDIÁTRICA”

Autora: Ana Moreno Álvarez

TESE DE DOUTORAMENTO UDC / Ano 2015.

Directores:

D. Salvador Pita Fernández

Dña. Leticia Vila Sexto

Departamento de Medicina ¹

¹ Programa regulado por el RD 1393/2007: Programa de Medicina Clínica, Avances e Investigación.



PROGRAMA DE MEDICINA CLÍNICA, AVANCES E INVESTIGACIÓN
DEPARTAMENTO DE MEDICINA

Don Salvador Pita Fernández, Catedrático de Universidad de A Coruña, del Área de Conocimiento de Medicina Preventiva y Salud Pública como Director y Doña Leticia Vila Sexto, doctora por la Universidad de Navarra.

Certifican que el trabajo titulado:

“ESTUDIO SOBRE ALERGIA ALIMENTARIA EN LA EDAD PEDIÁTRICA”

Realizado por Dña. Ana Moreno Álvarez, ha sido realizado bajo su dirección y se encuentra en condiciones de ser leído y defendido como tesis doctoral ante el Tribunal correspondiente en la Universidad de A Coruña.

Y para que así conste a los efectos oportunos, firmo la presente

En A Coruña, 18 de Septiembre de 2015

Fdo. Salvador Pita Fernández

Fdo. Leticia Vila Sexto

A mis padres

AGRADECIMIENTOS

Por fin ha llegado el momento más dulce, el de expresar todo aquello que la rutina o la timidez no nos permite decir todos los días...

Deseo expresar mi gratitud a todos los niños con alergia alimentaria y a sus padres, espero que este trabajo os pueda aportar un beneficio. A todos los pacientes que he atendido y a los muchos que trataré a lo largo de mi vida, porque en ese trato surja empatía y sea capaz de ayudaros en algún sentido... a mi me ayudáis todos los días.

A mi director de tesis, Dr. Salvador Pita Fernández, por confiar en mi a la hora de realizar este proyecto, por su rigor científico al valorar todos los datos y por su comprensión. A la codirectora, Dra. Leticia Vila Sexto, por haberme propuesto este trabajo y adentrarme en este campo que me apasiona, ojalá surjan proyectos comunes.

No puedo dejar de estar agradecida la Dra. Teresa Seoane Pillado, por su ayuda sin condiciones, por su comprensión con mis plazos y su paciencia con mis infinitas dudas estadísticas ¡muchas gracias Teresa!

Al Dr. Alfonso Solar Boga, por su respeto total a todas mis decisiones clínicas diarias, por tener la capacidad de no negarme oportunidades a pesar de ser tuyas, por enseñarme su visión de la realidad cada día y saber transmitir capacidad de trabajo. Por contagiar a todo su equipo la ilusión en la vocación de sanar.

A Mercedes, Ángela y María, mis ángeles de la consulta, por cuidarme, respetarme y entender mi forma de ser. Al Dr. García Alonso, por enseñarme que existe otra manera en la relación médico paciente. Al Dr. Jerónimo Pardo, por darme la oportunidad de pertenecer a un Servicio lleno de gente con ilusión y ganas de crecer. A Aquilino Meizoso, por su infinita paciencia con las Historias Clínicas.

A mi padres, por haberme dado una infancia llena de cariño y felicidad, porque estar siempre presentes sin parecerlo. Por enseñarme que una hormiga vale más que una lumbrera, que con trabajo y constancia todo es posible. A mis hermanos, Pilar y Carlos, porque siendo tan distintos somos tan iguales...

Para Adán, porque siempre dices que en tu caso lo hiciste por mí, yo no podría haber acabado este proyecto sin tu apoyo. Por entenderme mejor que nadie, por saber sacarme una sonrisa cuando más lo necesito y hacerme feliz, por todo lo que nos queda por pasar.

A mi hija Ana, el estímulo más fuerte que existe para hacer cualquier cosa; porque se acabe el tiempo robado.

RESUMEN

Los objetivos de este trabajo son conocer las características clínico epidemiológicas de una población pediátrica con alergia a proteínas de leche de vaca y/o huevo, estudiar la capacidad predictiva de las pruebas diagnósticas así como profundizar en los factores asociados a la persistencia de la alergia. Se estudian también los cambios clínicos e inmunológicos asociados a la desensibilización oral.

Estudio observacional de seguimiento con componente retrospectivo y prospectivo en el Hospital Materno Infantil Teresa Herrera entre Enero 2008 y Enero 2015. Cohorte de 378 niños con alergia a proteínas de leche de vaca y/o huevo.

La alergia a proteínas de leche de vaca aislada muestra un patrón evolutivo más favorable que la alergia al huevo. Los pacientes alérgicos al huevo constituyen un grupo poblacional donde los antecedentes personales y familiares de atopia y la presencia de otras alergias alimentarias son significativamente más comunes. Los pacientes con ambas alergias presentan un curso evolutivo más desfavorable y asocian con más frecuencia otras alergias alimentarias. Para el diagnóstico de alergia a proteínas de leche de vaca, tanto la determinación sérica de IgE leche de vaca como la de su fracción caseína muestran una mayor sensibilidad y especificidad. En el caso del huevo, la determinación sérica de IgE para ovomucoide es la que presenta resultados más fiables.

El factor que de forma persiste se encuentra asociado a la no tolerancia precoz a la proteína de leche de vaca es el grado de elevación de la IgE para leche de vaca al diagnóstico. En la alergia al huevo, el valor de las pruebas cutáneas intraepidérmicas para ovomucoide es el factor que se encuentra más asociado a la persistencia de la alergia.

La desensibilización oral permite una tolerancia al alimento implicado en un porcentaje elevado de casos y se asocia a cambios inmunológicos (descenso de IgE sérica específica, descenso en la activación de los basófilos y en la expresión de CD63).

RESUMO

Os obxectivos deste estudo son determinar as características clínicas e epidemiolóxicas dos pacientes pediátricos con alerxia a proteínas do leite de vaca e/ou alerxia ó ovo, estudar a capacidade predictiva das probas diagnósticas e profundizar sobre os factores asociados á persistencia da alerxia. Tamén se estudan os cambios clínicos e inmunolóxicos asociados á desensibilización oral.

Estudo observacional con componente retrospectivo e prospectivo levado a cabo no Hospital Materno Infantil Teresa Herrera entre Xaneiro 2008 e Xaneiro 2015. Cohorte de 378 nenos con alerxia a proteínas do leite de vaca e/ou ovo.

A alerxia a proteínas do leite da vaca illada amosa un patrón evolutivo máis favorable que a alerxia ó ovo. Os nenos alérxicos ó ovo constitúen un grupo poboacional onde os antecedentes pessoais e familiares de atopía e a presenza doutras alerxias alimentarias son significativamente máis comúns. Os pacientes con ambas alerxias teñen un curso evolutivo peor e asocian con máis frecuencia outras alerxias alimentarias. Para o diagnóstico de alerxia a proteínas do leite da vaca, tanto a determinación do IgE leite de vaca como a súa fracción caseína amosan unha maior sensibilidade e especificidade. No caso do ovo, a determinación de IgE para ovomucoide ten os resultados máis fiables.

O grao de elevación de IgE para leite de vaca ó diagnóstico é o factor que de forma persistente asóciase á non tolerancia precoz a este alimento. Na alerxia ó ovo, o valor das probas cutáneas intraepidérmicas para ovomucoide é o factor que se encontra máis asociado á persistencia da alerxia.

A desensibilización oral asóciase a unha tolerancia ó alimento nunha porcentaxe elevada de casos. Aprécianse tamén cambios inmunolóxicos: descenso de IgE sérica específica, diminución na activación de basófilos e na expresión de CD63.

ABSTRACT

Objetivo: The purpose of this investigation was to determine clinical and epidemiological characteristics of pediatric patients with cow's milk protein allergy and/or egg allergy, study the relationship of allergen-specific IgE levels and oral food challenge outcome and to analyze factors determining persistence of food allergy. Clinical and immunological changes associated with oral desensitization were studied.

Methods: Retrospective and prospective observational study based on 378 patients with cow's milk protein allergy and/or egg allergy. Patients were referred to Teresa Herrera Hospital. Study started in January 2008 and concluded in January 2015.

Results: Cow's milk protein allergy shows a better prognostic evolution than egg allergy. Egg allergic patients are a group in which personal and family history of atopy and presence of other food allergies are significantly more common. Cow's milk-IgE and casein-IgE levels have more sensitivity and specificity for the diagnosis of cow's milk protein allergy. Regarding egg allergy, serum ovomucoid-IgE levels have the most reliable results.

High cow's milk-IgE levels at diagnosis are persistently associated with no early tolerance to milk. In egg allergy, the value of ovomucoid prick test is the factor that is more associated with persistence of allergy.

Oral desensitization allows food tolerance in a high percentage of cases. There are immunological changes during this procedure: decrease in specific serum IgE, lower basophil activation and less expression of CD63.

ÍNDICE

	Página
LISTADO DE ABREVIATURAS	21
ÍNDICE DE TABLAS	25
ÍNDICE DE GRÁFICAS	31
ÍNDICE DE FIGURAS	35
1. INTRODUCCIÓN	39
1.1. Terminología de las reacciones adversas a alimentos	41
1.2. Epidemiología de la alergia a proteínas de leche de vaca y de la alergia al huevo	42
1.3. Fisiopatología	45
1.4. Clínica	47
1.5. Diagnóstico	51
1.5.1. Historia clínica y exploración física	51
1.5.2. Pruebas cutáneas intraepidérmicas	52
1.5.3. Determinación de IgE específica en suero	52
1.5.4. Prueba de exposición oral controlada	54
1.5.6. Otras pruebas diagnósticas	56
1.6. Historia natural	60
1.7. Prevención	61
1.8. Tratamiento	63
1.9. Perspectivas de futuro en el tratamiento de la alergia alimentaria	66
1.9.1. Modificaciones tecnológicas	66
1.9.2. Desensibilización oral	67
2. JUSTIFICACIÓN	71
2.1. Elevada prevalencia y aumento de la incidencia en la edad pediátrica	73
2.2. Características clínicas y curso evolutivo	73
2.3. Implicaciones psicológicas	74
2.4. Implicaciones socioeconómicas y sanitarias	75
2.5. Limitaciones terapéuticas actuales	75

2.6.	Limitaciones de las técnicas de diagnóstico	75
2.7.	Limitaciones de estudios previos	76
2.8.	Posibilidad de nuevas herramientas diagnósticas y terapéuticas	76
2.9.	Adaptación a una enfermedad crónica en Pediatría	78
3.	HIPÓTESIS	81
4.	OBJETIVOS	85
5.	MATERIAL Y MÉTODOS	89
5.1.	Ámbito de estudio	91
5.2.	Periodo de estudio	91
5.3.	Tipo de estudio	91
5.4.	Criterios de inclusión	91
5.5.	Criterios de exclusión	93
5.6.	Protocolo de los procedimientos recogidos	93
5.7.	Recogida de datos	96
5.8.	Variables analizadas	96
5.9.	Justificación del tamaño muestral	101
5.10.	Análisis estadístico	101
5.11.	Aspectos ético-legales	102
5.12.	Esquema experimental	103
6.	RESULTADOS	107
6.1.	Características clínico-epidemiológicas de la población a estudio.	109
6.1.1.	Pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca	110
6.1.2.	Pacientes con alergia alimentaria al huevo	118
6.1.3.	Grupos poblacionales específicos	126
	A) Alergia a proteínas de leche de vaca exclusiva	126
	B) Alergia alimentaria al huevo exclusiva	130
	C) Alergia alimentaria a proteínas de leche de vaca y huevo	134
6.1.4.	Comparaciones en tres grupos	139
6.2.	Capacidad predictiva de las pruebas diagnósticas	147

6.2.1. Curvas ROC y puntos de corte de IgE específica en pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca	147
6.2.2. Curvas ROC y puntos de corte de IgE específica en pacientes con alergia alimentaria al huevo.	149
6.3. Factores asociados a la persistencia de la alergia a proteínas de leche de vaca y al huevo	151
6.3.1. Categorización de los grupos	151
6.3.2. Análisis uni y bivariado	152
6.3.3. Análisis de regresión logística	156
6.4. Estudio descriptivo de los pacientes sometidos a desensibilización a leche y/o huevo	159
7. DISCUSIÓN	165
7.1. Características clínico –epidemiológicas	167
7.2. Capacidad predictiva de las pruebas diagnósticas	169
7.2.1. Importancia de la prueba de exposición oral controlada y necesidad de herramientas alternativas	169
7.2.2. La bondad de las pruebas: determinación de IgE específica en suero	170
7.2.3. Diferencias en los estudios y consistencia con nuestros resultados	174
7.2.4. Posibles causas de las diferencias entre estudios	176
7.2.5. Otros aspectos a considerar	178
7.3. Factores asociados a la persistencia de la alergia	179
7.3.1. Principales factores descritos en la literatura	179
7.3.2. Consistencia de nuestros resultados con la literatura	182
7.3.3. Tolerancia al alérgeno cocinado como factor predictivo de tolerancia	185
7.3.4. Posibles condicionantes en la variabilidad de los resultados	186
7.4. Estudio descriptivo de los pacientes sometidos al proceso de desensibilización	187
7.4.1. Estado actual del tema	187
7.4.2. Consistencia de nuestra serie con los resultados publicados	192
7.4.3. Cuestiones pendientes	193

7.5.	Limitaciones del estudio	194
7.5.1.	Sesgos de selección	194
7.5.2.	Sesgos de información	195
7.5.3.	Sesgos de confusión	196
7.6.	Aportaciones del estudio	197
7.7.	Líneas futuras de investigación	198
8.	CONCLUSIONES	201
9.	BIBLIOGRAFÍA	207
10.	ANEXOS	227
	Dictamen Comité de Ética e Investigación Clínica de Galicia	229
	Publicaciones derivadas del estudio	230

Listado de abreviaturas

Listado de abreviaturas

AA	Alergia alimentaria
ANOVA	Análisis de la varianza
APLV	Alergia a proteínas de la leche de vaca
CPP	Cociente de probabilidad positivo
CPN	Cociente de probabilidad negativo
DS	Desensibilización
DT	Desviación típica
IC 95%	Intervalo de confianza al 95%
LM	Lactancia materna
mm	Milímetros
OR	Odds Ratio
PEOC	Prueba de exposición oral controlada
TAB	Test de activación de basófilos
VPP	Valor predictivo positivo
VPN	Valor predictivo negativo

Índice de tablas

Índice de tablas

	Página
Tabla 1 Distribución por sexo, edad de inicio de los síntomas y lactancia materna de los pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca	110
Tabla 2 Antecedentes de atopia en pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca	111
Tabla 3 Forma de presentación en los pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca	112
Tabla 4 Pruebas complementarias de los pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca en el momento del diagnóstico	113
Tabla 5 Número de pruebas de exposición oral controlada con leche realizadas en los pacientes a lo largo del seguimiento evolutivo	116
Tabla 6 Distribución por sexo, edad de inicio de los síntomas y lactancia materna de los pacientes con alergia al huevo	118
Tabla 7 Antecedentes de atopia en los pacientes con alergia al huevo	120
Tabla 8 Forma de presentación en los pacientes con alergia al huevo	120
Tabla 9 Pruebas complementarias de los pacientes con alergia al huevo en el momento del diagnóstico	121
Tabla 10 Número de pruebas de exposición oral controlada con huevo realizadas en los pacientes a lo largo del seguimiento evolutivo	123
Tabla 11 Antecedentes de atopia en los pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca exclusiva	127
Tabla 12 Pruebas complementarias de los pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca exclusiva en el momento del diagnóstico	128
Tabla 13 Evolución hacia la tolerancia en los pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca exclusiva	130
Tabla 14 Antecedentes de atopia en pacientes con alergia alimentaria al huevo exclusiva	131
Tabla 15 Pruebas complementarias de los pacientes con alergia al huevo exclusiva en el momento del diagnóstico	132
Tabla 16 Evolución hacia la tolerancia en pacientes con alergia alimentaria al huevo exclusiva	134
Tabla 17 Antecedentes personales y familiares de atopia en los pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca y alergia al huevo	135
Tabla 18 Pruebas complementarias al diagnóstico para leche y para huevo en los pacientes que asocian alergia a proteínas de leche de vaca y alergia al huevo	137
Tabla 19 Evolución hacia la tolerancia a leche y huevo en los pacientes con ambas alergias	139
Tabla 20 Comparaciones en sexo y lactancia materna en función del tipo de alergia alimentaria	140
Tabla 21 Asociaciones entre otros rasgos de atopia personales y familiares en función del tipo de alergia alimentaria	141
Tabla 22 Diferencias en las manifestaciones clínicas en pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca y alergia al huevo en función de la sensibilización	143

Tabla 23	Diferencias en las pruebas complementarias en pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca en función de la sensibilización	143
Tabla 24	Diferencias en las pruebas complementarias en pacientes con alergia al huevo en función de la sensibilización	144
Tabla 25	Comparación entre el número de pruebas de exposición oral controlada en los pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca y alergia al huevo en función de la sensibilización	145
Tabla 26	Evolución hacia la tolerancia en pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca, alergia alimentaria al huevo y ambas	146
Tabla 27	Capacidad predictiva para el diagnóstico de alergia de las diferentes determinaciones de IgE específica para leche de vaca	149
Tabla 28	Capacidad predictiva para el diagnóstico de alergia de las diferentes fracciones de IgE específica para huevo	150
Tabla 29	Relación entre la tolerancia a la leche y al huevo en base al sexo, la lactancia materna y los antecedentes personales o familiares de atopia	153
Tabla 30	Tolerancia a leche y huevo en base a las características clínicas al diagnóstico	154
Tabla 31	Análisis univariado de la relación entre el resultado de pruebas complementarias al diagnóstico y la evolución temporal hacia la tolerancia en los pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca	155
Tabla 32	Análisis univariado de la relación entre el resultado de las pruebas complementarias al diagnóstico y la evolución temporal hacia la tolerancia en los pacientes con alergia alimentaria al huevo	156
Tabla 33	Análisis de regresión logística: modelo de factores asociados a la NO tolerancia precoz a la proteína de leche de vaca	157
Tabla 34	Análisis de regresión logística: modelo de factores asociados a la persistencia de la alergia al huevo	158
Tabla 35	Características de los pacientes sometidos a desensibilización oral a leche y a huevo	159
Tabla 36	Valores de IgE total y específica para leche de vaca y fracciones durante el proceso de desensibilización oral a leche	161
Tabla 37	Valores de IgE total y específica para clara de huevo y fracciones durante el proceso de desensibilización oral a huevo.	161
Tabla 38	Duración del proceso y tolerancia alcanzada tras desensibilización a leche y desensibilización a huevo	163
Tabla 39	Principales estudios relativos a la capacidad predictiva de IgE específica en el diagnóstico de alergia alimentaria: varios alimentos	171
Tabla 40	Principales estudios relativos a la capacidad predictiva de IgE específica en el diagnóstico de alergia alimentaria: sólo estudios sobre leche	172
Tabla 41	Principales estudios relativos a la capacidad predictiva de IgE específica en el diagnóstico de alergia alimentaria: sólo estudios sobre alergia alimentaria al huevo	173
Tabla 42	Factores asociados al curso evolutivo de la alergia alimentaria descritos en la literatura	180
Tabla 43	Metanálisis relativos al procedimiento de desensibilización comparándolo con la dieta de exclusión	189

Índice de gráficas

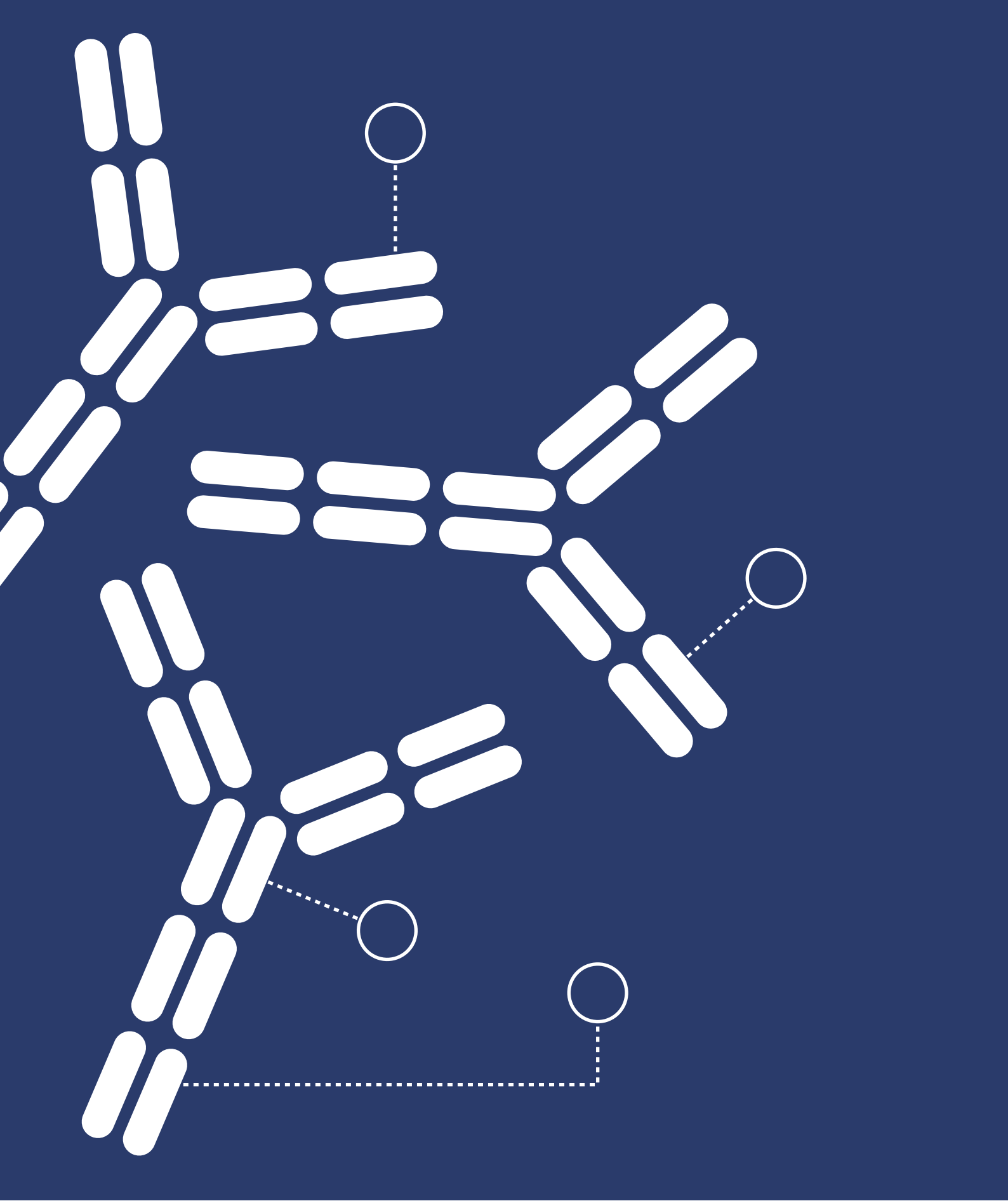
Índice de gráficas

	Página
Gráfica 1 Distribución de la población a estudio en base al tipo de alergia alimentaria	109
Gráfica 2 Número de pruebas de exposición oral controlada realizadas en los pacientes a lo largo del seguimiento evolutivo	114
Gráfica 3 Evolución de parámetros clínicos y bioquímicos en las diferentes pruebas de exposición oral controlada a leche de vaca	115
Gráfica 4 Evolución hacia la tolerancia en los pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca	118
Gráfica 5 Número de pruebas de exposición oral controlada con huevo realizadas en los pacientes a lo largo del seguimiento evolutivo	121
Gráfica 6 Evolución de parámetros clínicos y bioquímicos en las diferentes pruebas de exposición oral controlada a huevo	122
Gráfica 7 Evolución hacia la tolerancia de los pacientes con alergia al huevo	125
Gráfica 8 Manifestaciones clínicas en los pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca exclusiva	128
Gráfica 9 Número de pruebas de exposición oral controlada realizadas en los pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca exclusiva	129
Gráfica 10 Manifestaciones clínicas en los pacientes con alergia al huevo exclusiva	132
Gráfica 11 Número de pruebas de exposición oral controlada realizadas en los pacientes con alergia al huevo exclusiva	133
Gráfica 12 Manifestaciones clínicas en los pacientes con alergia alimentaria a leche y a huevo frente a la ingesta de estos alimentos	136
Gráfica 13 Número de pruebas de exposición oral controlada realizadas en los pacientes a lo largo del seguimiento evolutivo en los pacientes con las dos alergias alimentarias	138
Gráfica 14 Distribución de la población con alergia a proteínas de leche de vaca en base al tiempo de adquisición de la tolerancia	151
Gráfica 15 Distribución de la población con alergia alimentaria al huevo en base a la adquisición de tolerancia total	152
Gráfica 16 Evolución de la alergia alimentaria a leche y a huevo y porcentaje de pacientes en los que se realiza la desensibilización oral.	159
Gráfica 17 Síntomas más frecuentes presentados durante el proceso de desensibilización a leche y huevo en nuestra población	160

Índice de figuras

Índice de Figuras

		Página
Figura 1	Diagrama de flujo de la secuencia de mediciones realizadas en base a la historia natural de la alergia alimentaria	104
Figura 2	Esquema de presentación de los resultados en base al tipo de alergia alimentaria o a si los pacientes se encuentran monosensibilizados a leche o huevo	110
Figura 3	Procesos temporales desde el inicio de los síntomas hasta la constatación de desarrollo de tolerancia a la proteína de leche de vaca	117
Figura 4	Procesos temporales desde el inicio de los síntomas hasta la constatación de desarrollo de tolerancia al huevo	124
Figura 5	Esquema de presentación de los resultados en base a si los pacientes se encuentran monosensibilizados a leche o huevo	126
Figura 6	Curvas ROC para las diferentes fracciones de IgE específica de la leche de vaca	148
Figura 7	Curvas ROC para las diferentes fracciones de IgE específica del huevo	150
Figura 8	Mediana de los valores de expresión de CD63 en los basófilos determinados mediante test de activación de basófilos después de la estimulación con clara de huevo, ovoalbúmina y ovomucoide	162



1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Terminología de las reacciones ante alimentos.

Las reacciones que se producen tras la ingesta de un alimento son un motivo de consulta frecuente en el ámbito pediátrico. Dado que existen diferentes formas de presentación y mecanismos fisiopatológicos subyacentes es necesario emplear una terminología adecuada. Tras un periodo inicial con una clasificación poco definida y en ocasiones confusa entre diferentes autores, surgen iniciativas para unificar los criterios y términos que definan este campo.

En el año 1995 la Academia Europea de Alergia e Inmunología Clínica (European Academy of Allergy and Clinical Immunology, EAACI) elabora un documento de consenso con una clasificación de las reacciones adversas a alimentos (1). En dicha clasificación se define *reacción adversa* a alimentos a cualquier reacción anómala producida por la ingestión de un alimento. En base al mecanismo responsable se distinguen dos tipos de reacciones adversas: por una parte las *reacciones tóxicas*, que son aquellas que pueden afectar a cualquier individuo cuando el alimento se administra en dosis suficiente, y por otra las *reacciones no tóxicas*, en las que reacción depende de una susceptibilidad individual. A su vez las reacciones no tóxicas se clasifican en mediadas por mecanismos inmunológicos (o *alergia*) y no mediadas por mecanismos inmunológicos (*intolerancia*). Las reacciones alérgicas se dividen en dos grupos en base a si están mediadas por IgE o bien se encuentran producidas por otros mecanismos inmunológicos en los que no participa la IgE. Esta clasificación sigue siendo utilizada por un gran número de autores.

En el año 2003 la EAACI revisa la clasificación y propone una nueva nomenclatura (2,3). En este caso cualquier reacción adversa a alimentos se denomina *hipersensibilidad a alimentos*, diferenciando casos en los que las reacciones se

encuentran mediadas por mecanismos inmunológicos (*alergia a alimentos*) y casos en los que la reacción no es consecuencia de un mecanismo inmunológico (*hipersensibilidad no alérgica*, previamente denominada intolerancia). La alergia a los alimentos se clasifica en alergia mediada por IgE y alergia no mediada por IgE en base a si las reacciones de hipersensibilidad se producen por anticuerpos IgE específicos frente a un determinado alimento confirmado por pruebas *in vitro* y/o *in vivo*, o son consecuencia de otros mecanismos inmunológicos, especialmente mediados por células. Así mismo, cabe la posibilidad de desarrollar alergia a alimentos por componente mixto, como consecuencia de la participación de distintos mecanismos inmunológicos.

Más recientemente, un panel de expertos americano identifica cuatro categorías de reacciones adversas a alimentos mediadas inmunológicamente: reacciones IgE mediadas, no IgE mediadas y de componente mixto y sitúa a la Enfermedad Celiaca entre los trastornos no mediados por IgE y a la Dermatitis de Contacto entre los mediados por células (4).

1.2. Epidemiología de la alergia a proteínas de leche de vaca y de la alergia al huevo.

Si consideramos la alergia alimentaria (en adelante, AA) en general, existen varias fuentes de información recientes en relación a su epidemiología. Por una parte, los resultados de encuestas nacionales llevadas a cabo en Estados Unidos con más de 20.000 participantes indican que un 8,96% de la población consideraba padecer alguna AA, siendo las cifras de un 6,53% en el caso de los niños (5). En el caso de la población pediátrica, los alimentos más frecuentemente implicados eran la leche, el cacahuete y el pescado.

A nivel europeo, un metanálisis reciente encuentra unas cifras de prevalencia de AA referidas por la población entre un 0,1% y un 6% entre el año 2000 y el 2012, pero muchos de los estudios incluidos están sujetos a un sesgo al menos moderado (6). La prevalencia estimada según los propios pacientes era del 6% para la leche de vaca y de

un 3,6% para el huevo, pero al considerar la prevalencia basada en la prueba de exposición oral controlada (en adelante PEOC) las cifras se aproximan a un 0,6% en el caso de la leche y a un 0,2% en el caso del huevo. En España, según el estudio observacional Alergológica (7) la AA se diagnosticaba en un 7,4% de los pacientes remitidos a las consultas de Alergología a nivel nacional, siendo el quinto diagnóstico en frecuencia en estas consultas.

Sin embargo, resulta difícil realizar una determinación precisa de la prevalencia de AA porque existen factores que pueden influenciar la estimación como son las definiciones de alergia utilizadas, la población a estudio, la metodología empleada, las variaciones geográficas, las edades consideradas, las exposiciones en la dieta en cada población y otros factores (8). Con respecto al tipo de estudio, algunos trabajos obtienen datos de reacciones adversas a los alimentos en general, sin establecer diferencias en base al tipo específico según la clasificación previamente citada. Por otra parte, las cifras de prevalencia también pueden variar en función del tipo de recogida de información. De este modo, los estudios que se basan únicamente en reacciones adversas referidas por el propio paciente o por sus padres tienden a sobreestimar la prevalencia de AA en relación con los trabajos en los que el diagnóstico se apoya en pruebas complementarias y, sobretodo, en la realización de la PEOC. Los estudios prospectivos en la población pediátrica constituyen una fuente más fiable de información para conocer la incidencia y específicamente sus cambios en la tendencia a lo largo de los años. En este sentido, Keet et al (9) encuentran como cerca de la mitad de la variabilidad entre los estudios podría explicarse únicamente por el método a través del cual se identificaba la AA y esto, junto con otras causas de variabilidad, hacían que no fuese posible aportar una cifra exacta fiable de la prevalencia de AA en los Estados Unidos.

Por otra parte, el tipo de alimento implicado depende a su vez de factores como la edad, la localización geográfica, los hábitos de consumo y el modo de preparación. En los niños el huevo y la leche de vaca son los alimentos más frecuentemente implicados en todos los estudios ya que son alimentos que suelen consumirse con

frecuencia a esta edad. En este trabajo trataremos exclusivamente la alergia a proteínas de leche de vaca (en adelante APLV) y la AA al huevo.

En el caso de la APLV, si consideramos sólo los estudios en los que la sospecha de alergia se ha confirmado mediante una PEOC, los datos a nivel mundial son más limitados y provienen de estudios llevados a cabo en diferentes regiones del mundo. En estos casos, la prevalencia varía entre un 2 y un 5%. La estimación más precisa y reciente sobre la APLV proviene del estudio Europrevall (10) que se inició en el año 2009 y recoge los datos de niños de diferentes regiones de Europa de manera prospectiva, confirmando con hasta tres PEOC con placebo dicha alergia. En este caso, considerando una cohorte de 12.000 niños, se estima la incidencia de APLV en un 0,54%. (11).

Una situación similar ocurre en el caso de la AA al huevo. Nuevamente las cifras son variables, pero se estima en un 1,6% la incidencia de AA al huevo sintomática en el primer año de vida y en un 2,4 a 2,6% en los dos primeros años de vida. En el estudio Alergológica (12), la AA al huevo estaba presente en el 16% de los casos, siendo la AA más frecuente en los niños menores de cinco años de edad.

La asociación de ambas alergias alimentarias también es frecuente. En los niños con APLV, la sensibilización al huevo se ha encontrado en un 30-67% de los casos antes de su introducción en la dieta, y presentan PEOC positivas para huevo aproximadamente un 36% de estos pacientes (13,14,15).

Por último, los datos generalmente indican un aumento en la prevalencia en todas las alergias alimentarias, aunque nuevamente los datos objetivos en este sentido son escasos. Keet et al (9) estiman un aumento de la prevalencia de un 1,2% en cada década al considerar los datos referidos por el propio paciente. Sin embargo, debido a que muchas de las estimaciones que indican un aumento de la prevalencia son derivadas de encuestas a los propios pacientes, la valoración de los cambios en el

tiempo es limitada porque la información sobre este tema puede estar favorecida por los medios de comunicación y por otras causas que influyen en las respuestas aportadas a lo largo del tiempo (16).

1.3. Fisiopatología.

La respuesta inmune de la mucosa del tracto gastrointestinal se caracteriza por un complejo balance entre la defensa del huésped y la inmunorregulación, que puede alterarse en determinadas circunstancias.

Cuando la composición de la dieta se modifica, por ejemplo cuando se introduce la alimentación complementaria, se producen una serie de cambios fisiopatológicos. En condiciones normales, la mayoría de las proteínas de la dieta se convierten en aminoácidos por la acción de las enzimas proteolíticas, pero hasta un 2% de las proteínas ingeridas se absorben en forma de péptidos inmunológicamente activos. Estos péptidos son capaces de inducir una respuesta inmunológica que, en condiciones normales, lleva a la adquisición de tolerancia a ese alimento pero que en otras circunstancias no ocurre de la forma habitual y da lugar al desarrollo de AA (17).

En el caso de las reacciones mediadas por IgE el fracaso en la inducción a la tolerancia oral da lugar a una transformación de los linfocitos B en células plasmáticas productoras de IgE específica (*fase de sensibilización*). Posteriormente, la exposición antigénica recurrente induce la unión de la IgE específica a los receptores de IgE de alta afinidad de mastocitos y basófilos y a receptores de baja afinidad de en los macrófagos, monocitos, linfocitos y plaquetas (*fase efectora*). Así, se produce la activación de estas células que conlleva la liberación de mediadores que dan lugar a los síntomas típicos de la hipersensibilidad inmediata. La activación de las células cebadas tiene como consecuencia la liberación de otros mediadores que contribuyen a la reacción retardada, que puede tener lugar entre 6 y 8 horas tras la reacción inicial. Por último, en las siguientes 24-48 horas se establece una inflamación crónica en las áreas

afectadas, con una infiltración persistente de eosinófilos, basófilos y linfocitos que pueden dar lugar a cambios crónicos estructurales (*fase crónica*) (17).

Debajo del fracaso en la tolerancia oral subyace una compleja interacción entre factores genéticos y ambientales, muchas veces relacionados entre sí (18):

- Por ejemplo, al considerar la lactancia materna (en adelante, LM) también existen factores genéticos que modulan su influencia en su papel en la patogénesis. En este sentido, en un estudio prospectivo de 970 niños, la alimentación con LM se asoció a un aumento en el riesgo de sensibilización alimentaria, pero este efecto era dependiente de variantes genéticas en el receptor de IL-12, en el receptor toll-like 9 y en genes del estroma tímico, entre otros (19).
- La microbiota intestinal también es otro de los factores más estudiado en los últimos años, tanto en la patogénesis de la alergia como en su tratamiento. Son múltiples los estudios relativos a la asociación con probióticos al tratamiento de la APLV para favorecer la inducción a la tolerancia oral en los pacientes alérgicos (20,21,22).
- Otro aspecto a considerar es la ruta de sensibilización a los antígenos alimentarios. Aunque la principal vía de sensibilización es la oral, cada vez se hace más referencia a la sensibilización a través de otras vías como la respiratoria (síndrome reactividad cruzada polen-alimento) o la piel, especialmente cuando existe una disrupción en la barrera epitelial, como es el caso de los pacientes con dermatitis atópica (23), en los que las mutaciones en la proteína filagrina parecen jugar algún papel.

- Por último, la forma de preparación y el procesamiento de los componentes proteicos y no proteicos de los alimentos también juega un papel en la patogénesis, como se expondrá con detalle para el caso del horneado en la leche y el huevo en la sección de Discusión.

1.4. Clínica.

El diagnóstico de alergia a alimentos es fundamentalmente clínico de manera que cualquier exploración complementaria carece de valor considerada aisladamente. Sin embargo, no existe una sintomatología que resulte patognomónica de la alergia a alimentos y puede presentarse un amplio abanico de síntomas. En el tipo de alergia que nos ocupa, mediada por IgE, el elemento diagnóstico principal es la secuencia de ingestión de un alimento y la aparición de clínica compatible dentro de un intervalo de tiempo generalmente inferior a los 60 minutos. Los síntomas deben ser los típicos de las enfermedades alérgicas mediadas por IgE provocados por la liberación de mediadores de mastocitos y basófilos. Las manifestaciones clínicas pueden ocurrir con el primer contacto aparente o ir precedidas de tolerancia previa durante días, semanas o años.

En el caso de la leche y el huevo, las reacciones inmediatas suelen afectar con más frecuencia a la piel, seguidas de la afectación de tracto gastrointestinal y en menor frecuencia al aparato respiratorio (24,25). En función de los órganos afectados, podemos diferenciar en los casos de alergia inmediata las siguientes manifestaciones:

- Síntomas cutáneos:
 - o *Urticaria aguda y angioedema*: son los síntomas más frecuentes en relación con la AA. Puede aparecer en relación con la ingesta del alimento o por contacto directo o indirecto. También es posible la presencia de prurito aislado sin lesiones cutáneas.

- *Dermatitis atópica:* en los primeros años de vida algunos alimentos, sobretodo la leche y el huevo, pueden jugar un papel en la aparición o exacerbación de la dermatitis atópica moderada-severa. Aún así, la relación causa-efecto entre la ingestión de un alimento y la aparición de la dermatitis atópica es un tema controvertido, pues existen muchos otros factores ambientales que influyen negativamente en esta enfermedad. Es posible apreciar una relación entre la exacerbación de la DA y el consumo de huevo en algunos casos y en ocasiones la reintroducción del huevo en la dieta tras un periodo de exclusión puede ocasionar reacciones de tipo inmediato (26,27).

- *Síndrome de alergia oral:* hace referencia a la aparición de prurito en la región orofaríngea acompañado o no de edema lingual o labial, habitualmente tras la ingesta de frutas y verduras frescas, en pacientes previamente sensibilizados al polen. Estas manifestaciones suelen aparecer como un síntoma leve que desaparece espontáneamente con rapidez o seguirse de manifestaciones más graves.

- Síntomas digestivos:
 - *Vómitos con o sin diarrea:* los vómitos suelen ser más precoces que las manifestaciones del tracto gastrointestinal bajo que pueden retrasarse más de 1-2 horas.

 - *Dolor abdominal:* es un síntoma frecuente que tiene un componente subjetivo difícil de valorar sino se sigue de otras manifestaciones.

 - *Rechazo del alimento:* en lactantes pequeños puede ser la primera manifestación de una APLV a la que siguen otras más específicas. También es común en el caso de la AA al huevo.

- *Fracaso del crecimiento*: en ocasiones presente también como manifestación clínica en la alergia mediada por IgE.
- Síntomas respiratorios:
 - *Manifestaciones de vías respiratorias superiores*: la rinitis aguda con prurito e hidrorrea no suele ser referida de manera espontánea por los pacientes, pero se encuentra en hasta un 70% de las PEOC.
 - *Manifestaciones de vías respiratorias inferiores*: la dificultad respiratoria por edema de glotis, broncoespasmo o ambos es infrecuente como presentación aislada y suele asociarse a una afectación grave multisistémica. También pueden producirse síntomas respiratorios por inhalación de proteínas volátiles en ámbitos domésticos o actividades profesionales.
- Anafilaxia: consiste en una reacción alérgica grave, multisistémica, que se inicia y progresa rápidamente y puede poner en peligro la vida de las personas. Se habla de choque o shock anafiláctico cuando existe afectación circulatoria, constituyendo una situación de extrema urgencia. En un estudio llevado a cabo en el Reino Unido, la PLV era la primera causante de anafilaxia en la infancia (28).
- Otros: no se considerarán en este estudio los casos de enterocolitis inducida por proteínas de la dieta ni los casos de enteropatía. Tampoco los trastornos eosinofílicos intestinales ni la proctocolitis eosinofílica, por estar implicados otros mecanismos fisiopatológicos diferentes a un mecanismo aislado mediado por IgE. En estos cuadros, el aparato digestivo actúa como vehículo para la liberación de antígenos pero es también el órgano diana de afectación.

Sin embargo, la práctica clínica real en ocasiones es más compleja, y es posible la presencia de anticuerpos IgE en cuadros mixtos como las enterocolitis inducidas por

proteínas de la dieta o la negativización de los niveles de IgE sérica a lo largo de la evolución a pesar de que persista la misma sintomatología de tipo inmediato. Es decir, se ha dado mucha importancia al papel distintivo entre los anticuerpos y las células inmunocompetentes implicadas en las reacciones como si fueran mutuamente excluyentes (cuadros mediados y no mediados por IgE). Sin embargo, esta dicotomía en ocasiones no es consistente con la práctica diaria y con la respuesta inmune, que es dinámica. En nuestro estudio consideraremos únicamente los cuadros clásicamente considerados como mediados por IgE en base a la clínica y los resultados de pruebas complementarias.

Características diferenciales en la infancia:

La leche y el huevo, que suelen ser responsables de alergia en la primera infancia y muestran una evolución hacia la tolerancia, provocan en los primeros años de vida una sintomatología generalmente leve y de ámbito cutáneo; sin embargo, los pacientes que han superado la edad de tolerancia más frecuente para la leche y el huevo y continúan siendo alérgicos sufren cuadros de anafilaxia con más frecuencia (17).

Factores que influyen en el tipo y gravedad de las manifestaciones clínicas:

- Cantidad de alimento: cada paciente tiene una dosis umbral con la que presenta manifestaciones clínicas.
- Presentación del alimento: crudo o cocinado, tipo de procesado, contenido en grasa del vehículo, etc.
- Circunstancias asociadas: como el ejercicio o la ingesta de antiinflamatorios no esteroideos. La anafilaxia inducida por alimento se ha descrito en niños con antecedente de APLV que han alcanzado la tolerancia o después de la desensibilización (en adelante DS), presentándose casos de anafilaxia inducida por esfuerzo y alimento (29, 30).

1.5. Diagnóstico.

El objetivo fundamental del diagnóstico es establecer una asociación causal entre el alimento específico y las manifestaciones clínicas referidas por el paciente así como, si es posible, la identificación del mecanismo inmunológico responsable. En el caso de las reacciones inmediatas, la historia clínica se complementa con la demostración de IgE específica frente al alimento implicado (mediante pruebas cutáneas y/o determinaciones en suero). Estas pruebas en las reacciones inmediatas tienen una sensibilidad y un valor predictivo aceptable, pero una menor especificidad. Por otra parte, debe considerarse que la alergia a los alimentos es una situación clínica dinámica y que, más en los niños, suele evolucionar hacia la tolerancia, por lo que el resultado de estas pruebas debe interpretarse en el momento evolutivo de la enfermedad.

El establecer el diagnóstico de manera correcta es importante, en especial en el caso de la leche y el huevo para evitar restricciones dietéticas innecesarias que pueden tener consecuencias nutricionales (31,32).

1.5.1. Historia clínica y exploración física.

La historia clínica debe recoger datos como la edad del paciente, los síntomas presentados y el tiempo transcurrido entre la ingesta del alimento sospechoso y la sintomatología. Por otra parte conviene considerar características sobre el alimento implicado como puede ser la cantidad ingerida responsable de los síntomas o la preparación del alimento (importante en el caso de constatar la tolerancia al huevo o leche cocinada). La exploración física debe focalizarse en el estado de la piel, el aparato digestivo, respiratorio y la búsqueda de estigmas atópicos (25). La valoración del estado nutricional es importante en la infancia por la posibilidad de dietas deficitarias (33).

El valor diagnóstico de la anamnesis en los casos de alergia alimentaria es variable. La historia clínica tiene un mayor valor predictivo en los casos de reacciones de tipo inmediato que en aquellos más tardíos como las enteropatías eosinofílicas o la

dermatitis atópica. Algunos autores indican que el valor predictivo de la historia clínica para los síntomas inmediatos, sola o en combinación con la determinación de IgE específica oscila entre el 50 y el 100% (33,34).

1.5.2. Pruebas cutáneas intraepidérmicas.

La prueba cutánea intraepidérmica (también denominada por su término inglés prick test) se utiliza para explorar la sensibilización mediada por anticuerpos de clase IgE en los pacientes con sospecha de alergia a alimentos. Mide la actividad biológica de los anticuerpos IgE, es decir, la activación de los mastocitos en la piel. Esta técnica consiste en la aplicación en la cara interna del antebrazo, de una gota de extracto/s alergénico/s glicerinado/s además de un control positivo (histamina) y otro negativo (suero salino) y en la punción de la piel a través de dicha gota, con una lanceta. La lectura se efectúa a los 15 minutos, considerándose positiva si es mayor que el control positivo con un tamaño de al menos 3mm. El resultado de las pruebas se ve influenciado por circunstancias como la edad del paciente, la presencia de dermatitis atópica o la utilización de fármacos. Se ha demostrado un buen rendimiento diagnóstico para estas pruebas en relación a la provocación oral en alimentos como la leche, el huevo, el pescado y el cacahuete en la población infantil. Una prueba cutánea negativa prácticamente excluye la aparición de síntomas en la provocación oral, mientras que la aparición de una prueba positiva es sólo indicativa de una sensibilización a ese alimento y su interpretación debe supeditarse a la historia y al resultado de la provocación oral. En los niños más pequeños estas pruebas tienen menos sensibilidad pero su especificidad continúa siendo alta. La positividad de una prueba intraepidérmica sin clínica asociada puede explicarse por sensibilización secundaria a reactividad cruzada, sensibilización subclínica o evolución hacia la tolerancia del alimento.

1.5.3. Determinación de IgE específica en suero.

Existen distintas técnicas para la determinación de la IgE específica sérica en las que el alérgeno puede encontrarse en fase sólida o líquida. Su positividad indica la

existencia de IgE específica y, por tanto, la sensibilización frente al alérgeno que se estudia. La sensibilidad para la leche y el huevo de esta prueba diagnóstica es alta porque detecta toda la IgE específica, incluidos los anticuerpos de baja afinidad. En la práctica clínica habitual se emplean de manera conjunta las pruebas intraepidérmicas y la detección de IgE específica. Esta última, posee como desventaja en relación con la prueba cutánea el coste de la técnica y el tiempo necesario para obtener los resultados. Entre sus ventajas destaca el poder realizar múltiples determinaciones con una única muestra de suero y el permitir la comparabilidad de resultados entre distintos laboratorios y de manera temporal (17).

La realización de las pruebas cutáneas intraepidérmicas o la determinación en suero únicamente permite demostrar la presencia de IgE específica frente al alimento sospechoso, pero su uso aislado no proporciona el diagnóstico de APLV. Debe considerarse la realización de estas pruebas sólo en el caso de que exista una sospecha clínica, ya que tienen bajo valor predictivo como herramienta en el despistaje (24). Así, en la práctica clínica diaria encontramos pacientes con pruebas positivas frente a un alimento que no desarrollan reacciones alérgicas tras su ingesta, indicando en este caso la presencia únicamente de sensibilización. Por otra parte, hay pacientes con pruebas negativas a un alimento que desarrollan sintomatología alérgica tras su ingesta. Es importante resaltar además que el nivel de IgE sérica específica y el tamaño del prick test no predicen la gravedad de las reacciones clínicas (35), aunque una elevación en el momento del diagnóstico es indicativo de un periodo más prolongado de persistencia de la alergia (36).

Tanto en el caso de la determinación de IgE específica en suero como en las pruebas cutáneas, los estudios relativos a su capacidad predictiva no son demasiado numerosos y están influenciados por factores como la población base, la indicación de realización de la PEOC, la enfermedad de base de los pacientes, etc. (37). De ahí que uno de los objetivos de este estudio sea conocer la capacidad predictiva de estas pruebas en nuestra población. En el apartado Discusión se realiza una exposición más extensa de la capacidad predictiva de estas pruebas.

Con el objetivo de aumentar la capacidad predictiva de las pruebas diagnósticas, algunos autores proponen modelos basados en una combinación de las mismas. En este sentido Dunn Galvin et al (38) utilizan un modelo predictivo basado en seis parámetros (edad, sexo, síntomas, pruebas cutáneas, IgE específica e IgE total) que permite calcular los cocientes de probabilidad de presentar una reacción para varios alimentos, entre ellos la leche y el huevo.

1.5.4. Prueba de exposición oral controlada.

La PEOC con el alimento implicado en la reacción y al que el paciente se encuentra sensibilizado es el procedimiento definitivo para descartar o confirmar la alergia a un alimento. Este procedimiento debe realizarse bajo la supervisión de personal entrenado y en centros que dispongan de material y unidades para el control de las posibles reacciones graves que se puedan presentar. La dosis de comienzo para la provocación debe decidirse en base a la historia del paciente y los protocolos propuestos por los distintos grupos de trabajo como el propuesto por Nowak-Wegrzyn et al (37). El alimento debe administrarse comenzando por una cantidad inferior a la que produjo la reacción; generalmente se comienza por debajo de la dosis umbral con la que reaccionan la mayoría de los pacientes según la literatura. El método específico y las condiciones de su realización se encuentran bien definidas en diferentes trabajos (39,40). De forma general se diferencian los siguientes tipos:

- Provocación oral abierta: el paciente y el médico conocen el alimento al que se va a exponer al paciente. Puede ser suficiente en caso de reacciones agudas mediadas por IgE en casos de niños pequeños y también puede ser la primera prueba a realizar cuando existe una probabilidad alta de que la provocación sea negativa.

- Provocación oral doble ciego controlada con placebo: ni el paciente ni el evaluador conocen el contenido de la prueba. El alimento se administra enmascarado para modificar su consistencia, olor y sabor. Es útil en los casos de reacciones tardías o en síntomas crónicos o subjetivos. Es la prueba que suele aceptarse como definitiva en el

diagnóstico de alergia a alimentos, pero tiene un alto coste sanitario y social (más personal sanitario, más tiempo y su positividad debe confirmarse con una provocación abierta).

- Provocación oral simple ciego controlada con placebo: sólo el evaluador conoce el alimento a administrar, lo que introduce de nuevo factores subjetivos.

La provocación oral constituye la técnica patrón de referencia para el diagnóstico inicial de alergia a alimentos ante la anamnesis de una clínica subjetiva, pero también tiene utilidad en el curso evolutivo para confirmar el desarrollo de tolerancia al alimento implicado. La Academia Americana de Asma, Alergología e Inmunología (AAAAI, American Academy of Allergy Asthma and Immunology) (37) considera las siguientes indicaciones para la realización de esta prueba:

- Diagnóstico inicial de alergia a alimentos.
- Evaluación de la dosis umbral de tolerancia.
- Valoración periódica y monitorización de resolución de la alergia.
- Valoración de la tolerancia al alimento en los niños que aún no lo han introducido pero presentan pruebas positivas.
- Exclusión de posibles reacciones inmediatas en el caso de patologías crónicas que se encuentren bajo la dieta de exclusión (ej: dermatitis atópica, esofagitis eosinofílica, etc).
- Evaluación objetiva de la reactividad clínica en pacientes con síntomas subjetivos.
- Valorar la tolerancia a alimentos con reactividad cruzada.
- Evaluar el efecto del procesado de la leche y el huevo en la tolerancia individual del paciente.

Como puede apreciarse, en las situaciones donde la adquisición de tolerancia es menos probable la PEOC puede estar indicada con el objetivo de determinar la dosis de

alérgeno que desencadena la sintomatología o la tolerancia al alérgeno cocinado. Algunos autores proponen una introducción progresiva en la dieta basada en la primera evaluación del nivel tolerado en la PEOC (41). En este sentido la PEOC se transformaría en un análisis de la reactividad clínica que permitiría conocer cual es la cantidad de alérgeno que es capaz de tolerar el individuo (42) y en que forma (crudo, procesado) lo tolera (43).

A pesar de todas estas indicaciones y de su valor diagnóstico, los estudios indican que, en ocasiones, se aprecia una tendencia a evitar la realización de PEOC en relación al riesgo potencial, el coste, el tiempo y otros factores (44). Sin embargo, su inclusión como parte de las herramientas diagnósticas habituales resulta fundamental y su realización se ha asociado a una mejora en la calidad de vida del paciente y sus familias, especialmente cuando los resultados de la misma son negativos (45). Las guías clínicas recomiendan que los síntomas referidos por el paciente o sus padres sean confirmados por una PEOC, porque hasta el 50-90% de los casos con sospecha de AA serían descartados mediante la realización de esta prueba (46).

1.5.6. Otras pruebas diagnósticas.

Las limitaciones, potenciales riesgos y consumo de recursos de las pruebas anteriormente comentadas hacen que en los últimos años se esté investigando en nuevas herramientas diagnósticas que permitan predecir con más fiabilidad el resultado de una PEOC, así como precisar mejor los alérgenos responsables de las manifestaciones clínicas en cada caso.

A) Diagnóstico desglosado por componentes.

Los *extractos naturales parcialmente purificados*, que son los que se utilizaban hasta hace pocos años de forma exclusiva, se obtienen a partir de una fuente natural. Esto genera una gran variabilidad en su composición ya que se encuentran sometidos a procesos de degradación durante su extracción. Por otra parte, no existe una

estandarización reglada y universal y generalmente contienen una gran cantidad de sustancias de las cuales sólo unas pocas tienen actividad biológica (17).

En los últimos años se ha desarrollado el denominado "diagnóstico desglosado por componentes o diagnóstico molecular", que permite estudiar la alergia a un determinado alimento analizando la presencia de anticuerpos de tipo IgE frente a cada uno de los alérgenos más relevantes contenidos en dicho alimento. Para ello se emplean alérgenos naturales purificados o recombinantes.

En este tipo de diagnóstico, los componentes alérgenos se han identificado y aislado y contienen todas las isoformas presentes en la fuente natural. Además, son más estables y pueden ser producidos en grandes cantidades. La determinación de IgE específica frente a estos componentes puede realizarse en formatos de test únicos o bien en un microarray, que permite medir IgE específica frente a múltiples componentes alérgenos naturales purificados o recombinantes, empleando una pequeña cantidad de suero (33).

Con respecto a la leche y al huevo, la posibilidad de reactividad clínica frente a las formas cocinadas o enteras ha ganado interés en este sentido, posicionándose este método diagnóstico frente a las pruebas tradicionales para algunos autores (47). Existen estudios que consideran que la determinación de IgE de ovomucoide es superior a las pruebas estándar (48), aunque no es compartido por todos (49). En el caso de la APLV, los estudios que comparan sus resultados con los métodos diagnósticos clásicos e incluyen la PEOC no muestran claras ventajas en esta técnica con respecto a la IgE específica y las pruebas cutáneas intraepidérmicas (50).

Un paso más en el diagnóstico lo supone el análisis de los epítomos de los alérgenos. Los anticuerpos IgE de los pacientes están dirigidos frente a determinados epítomos de los alérgenos. En el caso de la leche y el huevo, se ha demostrado que los pacientes con anticuerpos de tipo IgE frente a epítomos secuenciales padecen con más

frecuencia reacciones alérgicas más graves cuando se exponen al alimento y un tipo de alergia más persistente en el tiempo que aquellos pacientes con IgE frente a epítomos conformacionales, que evolucionan hacia la tolerancia en menos tiempo (51). Es decir, los diferentes patrones de unión a epítomos se asocian también a diferentes fenotipos clínicos en el caso de la APLV: en los pacientes con APLV persistente y reacciones más graves se aprecia una mayor variedad en la unión de los epítomos de IgE, no siendo capaces estos niños de tolerar la leche en su forma horneada (52). De este modo, el conocimiento de los epítomos a los que se encuentran sensibilizados los pacientes (lineales, conformacionales) podría ser útil para predecir la historia natural de la alergia.

Las guías clínicas actualmente consideran estas dos técnicas fuera de las herramientas diagnósticas habituales (24, 33, 35, 46).

B) Test de activación de basófilos.

Aunque los basófilos constituyen los leucocitos circulantes menos abundantes, representan la célula efectora más importante en la circulación en los casos de alergia mediada por IgE. Se ha demostrado su presencia en los tejidos afectados por inflamación alérgica, particularmente cuando la histamina pero no la triptasa está implicada. De este modo, los basófilos humanos pueden constituir una herramienta importante para estudiar las reacciones de hipersensibilidad inmediata de un modo específico para cada alérgeno (53).

En estas reacciones, después de la estimulación antigénica y a través de la unión de la IgE específica a su receptor se produce una cascada de mediadores intracelulares que concluye con la liberación de citocinas como muestra de la activación del basófilo. Además, también se regula al alza la expresión de ciertos marcadores de superficie que pueden ser analizados por citometría de flujo utilizando anticuerpos monoclonales específicos (17).

Con respecto a estos marcadores, el antígeno CD63 se encuentra anclado a la membrana de los gránulos de los basófilos y la fusión de la membrana granular con la membrana plasmática produce la exposición de la molécula CD63. Es decir, la expresión de CD63 se encuentra asociada a la degranulación del basófilo. Sin embargo, esta molécula no es específica de los basófilos y se requiere un marcador selectivo. Para ello puede usarse CD203c como un marcador de especificidad del basófilo junto con CD63 (54).

Desde su descubrimiento a principios de la década de los 90 existen múltiples estudios publicados que emplean el test de activación de basófilos (en adelante, TAB) para el diagnóstico de alergia con diferentes alérgenos. Comparado con la detección de la IgE sérica, el TAB tiene la ventaja de demostrar respuestas que son funcionales: la activación dependiente de IgE sólo ocurrirá después de un entrecruzamiento completo con el receptor celular y no por moléculas monoméricas de IgE. Es decir, el aspecto diferencial de este test respecto a los previos comentados es que permitiría determinar qué grupo de pacientes tienen una sensibilización que resulta clínicamente relevante en la práctica diaria (55).

En este sentido, en el caso de la AA, el test se empleó por primera vez a finales de los 90 por Moneret-Vautrin que demostró que la técnica era tan efectiva como el análisis de la liberación de leucotrienos y más eficiente que el test de liberación de histamina tradicional. Desde entonces el test se ha validado para diferentes alérgenos primarios alimentarios, también en niños (56). Ocman et al (57) demostraron que la sensibilidad y especificidad del TAB con ovoalbúmina aplicada al diagnóstico de alergia al huevo era de 62.5% y 96.4% respectivamente.

Sin embargo, lo más importante constituye la utilidad en base al significado funcional del test demostrando en algunos estudios que es capaz de diferenciar entre sensibilización asintomática y alergia verdadera. La técnica en cierto modo simula la vía in vivo que es responsable de la aparición de los síntomas de AA por lo que podría ser

de utilidad para objetivos como la diferenciación entre una serología clínicamente relevante o irrelevante, para predecir la superación espontánea de la alergia y para realizar un análisis de riesgo funcional de cantidades traza de alérgenos en los alimentos.

De este modo, con el desarrollo de esta nueva herramienta diagnóstica se busca alcanzar una estrategia integral basada en la historia clínica, pruebas cutáneas intraepidérmicas, IgE específica y TAB con el fin de disminuir la necesidad de provocaciones orales y orientar a los clínicos hacia una selección adecuada de los pacientes para evitar restricciones dietéticas innecesarias.

1.6. Historia natural.

La alergia alimentaria constituye una patología que se inicia habitualmente en los dos primeros años de vida para disminuir progresivamente durante la infancia hasta la edad adulta. Es decir, el proceso es habitualmente superado con el paso del tiempo, pero se desconoce el mecanismo por el que se adquiere la tolerancia. La historia natural de la AA hace referencia a la evolución de ésta desde su inicio con la sensibilización a un alérgeno alimentario hasta la posible pérdida de la sensibilización. Diferentes estudios evalúan factores pronósticos que puedan influir en la pérdida de reactividad clínica a un alimento con el paso del tiempo como pueden ser el resultado de algunas pruebas diagnósticas (tamaño de la pápula del prick o título de anticuerpos IgE específicos); pero además de factores individuales parece ser que el tipo de alimento implicado también juega un papel fundamental. Así, de forma general, en el caso de las sensibilizaciones más frecuentes en los primeros años de vida como pueden ser el huevo o la leche la pérdida de sensibilidad con el paso del tiempo es mayor que en el caso de alimentos como los frutos secos, pescados y mariscos donde se considera habitualmente más persistente. Por otra parte, en la historia natural de la AA también debe considerarse el posible desarrollo de nuevas sensibilizaciones tanto a otros alérgenos alimentarios como a alérgenos inhalantes en el contexto de la denominada

“marcha alérgica”. En el apartado Discusión se realiza una exposición más precisa de los factores implicados en la persistencia de la alergia a la leche y/o al huevo.

1.7. Prevención.

Las medidas de prevención pueden adoptar un enfoque pasivo, con la evitación del alérgeno alimentario o bien activo, mediante la adopción de mecanismos encaminados a favorecer la tolerancia oral. En los últimos años se considera que los métodos pasivos, de ser efectivos, únicamente conseguirían retrasar la aparición de las manifestaciones clínicas. Se considera que el futuro en el manejo de la alergia a alimentos se basa en una prevención activa, mediante medidas que favorezcan la inducción a la tolerancia oral.

En lo que respecta a la prevención primaria, las principales medidas descritas hasta la fecha se han basado en dietas de eliminación de los alimentos potencialmente alérgicos. En este sentido, la información disponible acerca de la prevención en la es amplia, pero en cierto modo difícil de interpretar y controvertida en muchos aspectos. Existen muchos tipos de estudios, pero los que tienen más valor en este caso serían los de tipo observacional y prospectivo, en especial los que realizan algún tipo de intervención. Se diferencian trabajos en los que se modifica la dieta materna, otros que actúan sobre la alimentación del lactante y otros sobre ambos.

Considerando que el único aporte proteico de la dieta del lactante además de la leche materna lo constituyen las fórmulas adaptadas de proteínas de leche de vaca, los principales esfuerzos en la prevención han estado encaminados a evitar la exposición a estas proteínas, mediante la promoción de la LM o bien mediante el uso de fórmulas sustitutivas hipoalérgicas, pero con resultados poco clarificadores. La última revisión Cochrane a este respecto (58) confirma la escasez de estudios que comparen la alimentación con fórmula hidrolizada frente a la LM exclusiva. Según esta revisión, únicamente en los lactantes de riesgo alérgico existen evidencias débiles de que la alimentación con fórmula hidrolizada comparada con fórmula adaptada normal

disminuya la incidencia de alergia y APLV. Una revisión similar llevada a cabo por Greer et al (59) confirma lo anterior y señala la necesidad de estudios en poblaciones consideradas no de riesgo. Posteriormente, un metanálisis de Szajewska (60) estudia en concreto las fórmulas parcialmente hidrolizadas, indicando su efectividad leve en relación con la fórmula estándar únicamente en el caso de la DA, y con salvedades metodológicas en los estudios incluidos.

Otra estrategia que se ha utilizado es la restricción dietética en la embarazada, con el objetivo teórico de evitar las sensibilizaciones en el periodo intrauterino o bien durante la LM. De forma general, hoy en día no se recomiendan este tipo de intervenciones dietéticas al no haber demostrado su efectividad de forma clara y suponer un riesgo de déficits nutricionales para la madre y el feto.

Por otra parte, el retraso en la introducción de la alimentación complementaria no se ha valorado de manera aislada en los estudios y suele acompañar a la utilización de LM exclusiva y a otras medidas de prevención. En este sentido, en el año 2006 la Asociación Americana de Alergia e Inmunología publicó un documento de consenso acerca del papel que tenía la introducción de la alimentación complementaria en el desarrollo de AA (61). Según este consenso, la introducción de la alimentación complementaria temprana podría incrementar el riesgo de alergia. De este modo, se establecieron una serie de recomendaciones en los niños de riesgo consistentes en retrasar la introducción de la alimentación complementaria y de los alimentos potencialmente alergénicos. Esta posición fue rápidamente cuestionada por otros autores. En este sentido, la revisión de la Asociación Americana de Pediatría publicada en el 2008 por Greer et al (59) afirma que no existen pruebas suficientes de que este retraso en la introducción de alimentos tenga un efecto protector en el desarrollo de alergia. En la misma línea, la Sociedad Europea de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica (European Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition, ESPGHAN) señala que evitar o retrasar la introducción de alimentos potencialmente alergénicos no ha demostrado un papel para prevenir el desarrollo de AA tanto en los niños considerados de riesgo como en los que no (62).

1.8. Tratamiento.

Más allá de estrategias actuales basadas en la inducción a la tolerancia, como norma general, la evitación del alérgeno es el primer paso en la consideración del tratamiento de una alergia a un alimento (18,25,24,35). Una vez realizado el diagnóstico, el paciente y sus padres deberán recibir información completa de su enfermedad, los posibles síntomas que pueden presentarse y las medidas de tratamiento que deberían utilizar ante una ingesta accidental con clínica (46). Debe considerarse que esta evitación puede no limitarse a la prohibición de su ingestión ya que hay pacientes muy sensibles que presentan síntomas tras el contacto cutáneo o la inhalación de partículas alimentarias.

En el caso de la leche y el huevo, las dietas de eliminación no adecuadas pueden suponer a largo plazo déficits nutricionales (31,32). Por este motivo, y más en la edad pediátrica, cuando a un paciente se le diagnostica una AA debe realizarse una valoración nutricional individualizada y un consejo dietético.

En el caso de la APLV debe favorecerse la continuación con la LM. En la situación en la que esto no sea posible, las fórmulas adaptadas habituales no pueden ser administradas y debe iniciarse una alimentación con una fórmula especial (63). De forma general, existen tres tipos de fórmulas alternativas: hidrolizados (semielementales o extensamente hidrolizados), elementales o bien fórmulas de soja. Cada una de ellas tiene unas características e indicaciones específicas (64).

En el caso de las fórmulas extensamente hidrolizadas y las semielementales entre el 85 y el 100% de los péptidos tienen pesos moleculares inferiores a los 5.000 Daltons, aunque conservan algunos epítomos que justifican algunas reacciones e hipersensibilidad que se pueden producir en pacientes altamente sensibilizados (65). El tamaño de las cadenas peptídicas tiene importancia en dos sentidos. Por una parte, si se utilizan estas fórmulas en pacientes con patología digestiva grave asociada a APLV es posible que exista un cierto grado de atrofia vellositaria y menor actividad de enzimas

enterocitarios (64). Por otra parte, el uso de cadenas de aminoácidos de una determinada longitud puede inducir una respuesta de linfocitos Th1 con efecto de inmunotolerancia (66). Un aminograma en sangre más parecido al que se logra con la LM se obtiene si la proteína hidrolizada procede de caseína y de proteínas del suero al mismo tiempo y en una proporción que se acerque al 50%. Con respecto al componente graso, las fórmulas semielementales contienen aceite de triglicéridos de cadena media añadido.

Las fórmulas parcialmente hidrolizadas han sufrido un grado de hidrólisis menor, por lo que existen péptidos de peso molecular más elevado, y contienen lactosa y grasas vegetales. Están contraindicadas como tratamiento y su eficacia en la prevención primaria es muy controvertida (67).

Las fórmulas elementales están constituidas por L-aminoácidos, polímeros de glucosa, triglicéridos de cadena media y aceites vegetales y su capacidad sensibilizante es teóricamente nula. La única fuente nitrogenada son aminoácidos sintéticos, mezcla de esenciales y no esenciales, con un perfil basado en la leche humana.

En general es difícil establecer unas recomendaciones generales que sean capaces de agrupar las circunstancias clínicas individuales o las características de los pacientes. Las recomendaciones de la organización mundial de alergia (World Allergy Organization, WAO) en su última revisión para tratamiento APLV (35) indican la utilización de una fórmula extensamente hidrolizada en los casos de alergia mediada por IgE. Estas mismas guías aconsejan la utilización de la fórmula elemental en el caso de que la presentación clínica haya sido una anafilaxia clara, aunque considerando también la posibilidad de fórmula extensamente hidrolizada. Del mismo modo, la Sociedad Europea de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica (ESPGHAN) en su última guía clínica sobre APLV (63) aconseja la utilización de fórmulas elementales en caso de niños que reaccionen ante la fórmula extensamente hidrolizada y también lo considera en casos de anafilaxia o en casos de lactantes con enteropatía

importante. Finalmente, el documento de consenso de la academia europea de alergia e inmunología (EAACI) (33) recomienda la fórmula extensamente hidrolizada como la primera línea de tratamiento, manteniendo la indicación de la fórmula elemental en el grupo de los pacientes con síntomas más graves. En el caso de las fórmulas de soja, desaconseja su utilización antes de los seis meses y también en el caso de síntomas predominantemente digestivos.

Conviene recordar que los pacientes con APLV no deben recibir dietas de otros mamíferos ya que existe reactividad cruzada con las proteínas de la leche de vaca.

1.9. Perspectivas de futuro en el tratamiento de la alergia alimentaria.

1.9.1. Modificaciones tecnológicas.

En el tratamiento de la APLV y de la AA al huevo, la dieta de exclusión que se establece hasta el desarrollo de la tolerancia inmunológica resulta un pilar fundamental. Sin embargo, la estrategia de manejo en los últimos años ha cambiado y se encuentra no sólo enfocada a la evitación del alérgeno, sino también a la consecución de la tolerancia precoz. Así, se busca la utilización de una nutrición enfocada en aspectos inmunológicos, capaz no sólo de eliminar los síntomas, sino también de acelerar la superación de la alergia.

En este sentido, las modificaciones tecnológicas en el procesamiento del alérgeno parecen tener un cierto papel en el desarrollo de tolerancia. Con respecto al tamaño y características de la proteína existen estudios fundamentalmente *in vitro*. Estos estudios se basan en la búsqueda de péptidos con baja alergenicidad, pero que sean tolerogénicos, es decir con potencial inmunomodulador para favorecer la tolerancia (ej: determinadas fracciones de la betalactoglobulina) (68, 69).

Por otra parte las modificaciones en base al cocinado u horneado también tienen un papel importante, demostrándose no sólo la tolerancia a estas formas en los niños con APLV y/o AA al huevo, sino también una aceleración en el desarrollo de tolerancia con su reintroducción (70, 71).

Sin embargo, una visión crítica de estas alternativas subraya que no se conocen las repercusiones a largo plazo de la introducción parcial en aspectos como la ganancia ponderal o la inflamación intestinal. Para algunos autores, la administración de PLV en su forma modificada no disminuye el riesgo de reacciones potencialmente graves ante la ingesta accidental de PLV en su forma no procesada (43).

Más allá de las modificaciones realizadas a nivel individual en cada paciente, el campo de la tecnología de los alimentos busca también el desarrollo de alternativas para los pacientes alérgicos a alimentos. Los alimentos hipoalergénicos son aquellos en los que se ha disminuido su capacidad alérgica por alteración en la estructura de los epítopos alérgicos, reduciéndose el riesgo de reacción al ser consumidos por los pacientes alérgicos. Se pueden obtener alimentos hipoalergénicos por procedimientos físicos, químicos y por modificación genética, aunque las líneas de investigación aún no pueden considerarse como para difundir su uso en la población general.

1.9.2. Desensibilización oral.

La DS oral es una posibilidad terapéutica que busca conseguir adelantar la tolerancia clínica total o parcial en los pacientes con alergia a un alimento. Consiste en la administración de cantidades crecientes del alérgeno alimentario implicado de una forma protocolarizada, regulada y progresiva (72). Aunque sus inicios se remontan a la década de los setenta (73), esta técnica ha adquirido mayor interés en los últimos años.

Los objetivos básicos de este procedimiento serían dos: por una parte, disminuir el riesgo potencial de reacciones alérgicas ante transgresiones accidentales y, por otra, mejorar la calidad de vida de los pacientes ante la posibilidad de introducir en la dieta habitual los alimentos implicados que previamente estaban excluidos (17).

Teniendo en cuenta estos objetivos puede intuirse como su interés radica en la utilización para alergias a alimentos comunes que puedan estar presentes fácilmente en la dieta. Por ello, la mayor experiencia se tiene en el caso de la leche y el huevo y, en menor medida, en el caso de los frutos secos y otros alérgenos como el trigo (74).

En lo que respecta al procedimiento específico existe una gran diversidad de protocolos posibles, todos ellos variables en muchos aspectos. Por una parte, algunos parten de una dosis de alérgeno común y otros individualizada (75), por otra, el

objetivo de tiempo en alcanzar la tolerancia difiere entre unos métodos y otros. En este sentido, existen protocolos más lentos en el tiempo, con incrementos progresivos en domicilio, en el hospital o ambos y que suelen durar meses. Otras pautas de tratamiento más rápidas (también denominadas RUSH) implican un incremento más rápido de la dosis, durante 3 a 7 días y se realizan intrahospitalariamente (76,77). Algunos autores proponen la utilización de medicación concomitante para mitigar las reacciones que se pueden producir en los incrementos de la dosis. En cualquier caso, este método de tratamiento requiere de un seguimiento y supervisión médica continua por una persona especializada, con experiencia y conocimiento en el campo para su aplicación en los pacientes adecuados (24).

Cabe considerar el hecho de la diversidad de nombres que adquiere este procedimiento en base a los objetivos que pretende conseguir. Con el término "inducción a la tolerancia oral" (Specific Oral Tolerance Induction, SOTI) se hace referencia a un mecanismo mediante el cual se inhibiría la respuesta inmune de forma permanente y por tanto se adquiriría una tolerancia total al alimento en cualquier situación. Por el contrario, la "desensibilización" no conlleva implícita una tolerancia total inmunológica, por lo que la respuesta de tolerancia puede ser variable (78). Niggemann et al, (72) resumen en cuatro los patrones clínicos de respuesta que se pueden producir tras la DS: tolerancia total permanente, falta de respuesta, tolerancia parcial (no es la dosis habitual de consumo del alérgeno pero protegería frente a reacciones accidentales) y tolerancia no permanente, con reinicio de los síntomas tras un periodo de dieta de exclusión.

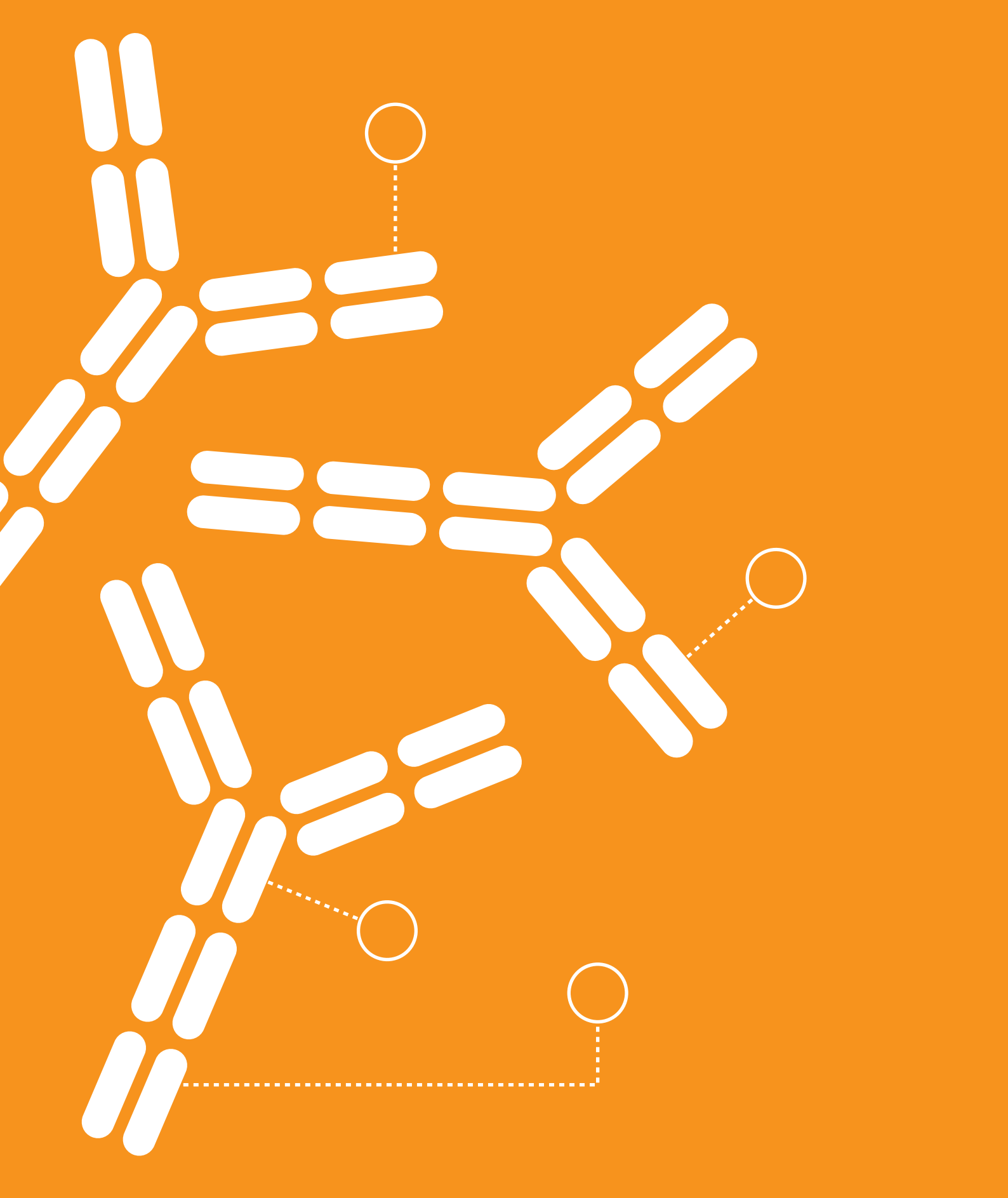
Con respecto a la valoración de los resultados, tal y como se expondrá con detalle en el apartado Discusión, las interpretaciones son variables. Es decir, los estudios aportan cifras de tolerancia que oscilan y que están condicionadas en parte por el tipo de población del estudio (79, 80, 81). De este modo, el incluir a pacientes con una edad menor suele aportar resultados más favorables, pero implica que algunos de ellos quizás habrían alcanzado la tolerancia inmunológica en ese periodo sin la DS (82). Con respecto al grado de severidad, si se excluyen del estudio los pacientes con

anafilaxia se intuye que los resultados serán mejores. Lo mismo ocurre al incluir pacientes con niveles menores de IgE específica, en los que se ha demostrado que la respuesta al procedimiento suele ser mejor (83).

El mecanismo inmunológico que subyace a la DS oral no es totalmente conocido. Algunos autores señalan a los mecanismos que regulan la tolerancia (delección, anergia clonal o supresión celular activa) y estudios más recientes sugieren que las células T CD4+ activadas podrían inducir una respuesta inmune tolerogénica mediante la producción de IL-10 (17, 84). Se han demostrado diferentes cambios analíticos en parámetros inmunológicos asociados al proceso: descenso de IgE específica y del tamaño del prick, aumento de IgG4, variaciones en el perfil de citocinas, etc. (80) Sin embargo, cabe considerar que estos cambios pueden ser epifenómenos que no reflejan el mecanismo inmunológico subyacente y que también pueden estar influenciados por el momento de su determinación con respecto a la DS.

Más allá de las variaciones en la técnica o los cambios inmunológicos responsables de la tolerancia, la DS proporciona una serie de ventajas a los pacientes alérgicos como pueden ser la disminución del riesgo de reacciones accidentales, la diversificación de la dieta y la mejora en la calidad de vida. Sin embargo, entre sus principales inconvenientes destacan (85) la falta de conocimiento acerca de la tolerancia permanente sin el contacto continuo con el alérgeno, la posibilidad de reacciones durante el procedimiento o posteriormente y la escasez de estudios que profundicen en los mecanismos de permeabilidad intestinal en estos pacientes.

Para finalizar, las guías de la EAACI (33) consideran la DS como una posibilidad de tratamiento prometedora, pero debido al potencial riesgo de reacciones recomiendan su realización sólo en centros especializados en pacientes seleccionados.



2. JUSTIFICACIÓN

2. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

El siguiente trabajo de investigación busca ampliar el estudio sobre la APLV y la AA al huevo en la edad pediátrica basándose en los casos presentados en el Hospital Materno Infantil Teresa Herrera (Complejo Hospitalario Universitario A Coruña). Los principales aspectos por los que se considera importante realizar una revisión sobre esta patología son los que se exponen a continuación:

2.1. Elevada prevalencia y aumento de la incidencia en la edad pediátrica.

La alergia a alimentos supone una patología con una elevada prevalencia y una incidencia que ha experimentado un incremento en los últimos años. Según diferentes estudios, se estima que puede afectar a un 1-3% de la población general. Su incidencia es edad-dependiente afectando especialmente a la edad pediátrica y la mayoría de las sensibilizaciones a alimentos ocurren en los primeros años de vida.

Por otra parte, supone una patología con otras comorbilidades asociadas tanto de tipo alimentario (los niños que inician un tipo de alergia tienen muchas posibilidades de desarrollar otros tipos de AA posteriormente) como extradigestivo (asociación frecuente con dermatitis atópica). En muchas ocasiones muchos niños afectados desarrollan posteriormente otros desórdenes alérgicos como asma, rinitis y alergia a inhalantes.

2.2. Características clínicas y curso evolutivo.

Aunque las manifestaciones clínicas con frecuencia responden al patrón clásico de una reacción alérgica, hay tres aspectos que conviene considerar en su presentación y evolución:

- Alta incidencia de exposición ambiental accidental: en el caso de alérgenos como la leche o el huevo cabe considerar que constituyen alimentos de uso común en la dieta y están presentes en muchos de los productos manufacturados que se consumen habitualmente lo que incrementa el riesgo de exposiciones accidentales.
- Severidad de las reacciones y posibilidad de riesgo vital: la AA es la causa más importante de anafilaxia en niños. Además, también pueden presentarse otro tipo de reacciones alérgicas menos severas. Se estima que en el caso de los pacientes alérgicos a la PLV cerca de la mitad de los niños pueden presentar reacciones en relación a ingestas accidentales por alérgenos ocultos en otros alimentos y algunas de ellas pueden ser graves.
- Curso clínico impredecible: en el ámbito pediátrico el inicio de la AA suele acontecer en los primeros años de vida y posteriormente el número de casos disminuye progresivamente hacia la edad adulta. Aunque siendo variable según cada alimento, en el caso de la leche y el huevo lo más frecuente en la evolución es que la enfermedad se supere y se alcance la tolerancia al alérgeno. Sin embargo se desconoce con exactitud qué pacientes desarrollarán esta tolerancia, cuándo la alcanzarán y el mecanismo inmunológico específico por el que esto se produce. Datos recientes apuntan a un porcentaje mayor de pacientes en los que la alergia persiste después de los tres años de edad.

2.3. Implicaciones psicológicas.

El diagnóstico de esta patología supone un gran impacto psicosocial para la familia, donde la educación sanitaria de los padres y cuidadores habituales del niño es esencial para el correcto cumplimiento de la dieta. Se ha considerado que esta patología tiene un efecto negativo en ciertas áreas de la calidad de vida del niño, tanto desde el punto de vista emocional, como físico o a nivel de la actividad escolar. Por otra parte, la calidad de vida de los padres también se ve alterada: diferentes estudios muestran que las familias de niños con AA tienen disminuida su calidad de vida global

en varias escalas y un grado de ansiedad superior a aquellos otros niños con patologías crónicas.

2.4. Implicaciones socioeconómicas y sanitarias.

El aumento de la prevalencia de alergia a alimentos tiene una serie de implicaciones en el campo de la salud pública que se inician en el ámbito de la restauración y la industria elaboradora y llegan hasta los estamentos responsables de la legislación en materia de seguridad alimentaria. En este proceso están implicados por una parte los profesionales sanitarios que se encargan de dar información concreta a los padres o cuidadores del niño y por otra los productores y autoridades que verifican el cumplimiento de la legislación. Todo ello hace suponer que esta enfermedad es responsable de un gasto sanitario considerable.

2.5. Limitaciones terapéuticas actuales.

Hasta hace poco las únicas opciones terapéuticas disponibles en los casos de AA consistían en la evitación estricta del alérgeno y el tratamiento farmacológico adecuado en caso de una ingestión accidental. Las dietas de exclusión del alimento implicado en ocasiones resultan particularmente difíciles de cumplir y determinadas restricciones dietéticas pueden producir limitaciones nutricionales al mantenerse en el tiempo.

2.6. Limitaciones de las técnicas de diagnóstico.

El diagnóstico en base a la clínica puede resultar difícil ya que en ocasiones la presentación es en forma de síntomas comunes a esta edad, como pueden ser los síntomas digestivos. La técnica considerada de referencia para el diagnóstico es la PEOC, pero la realización de la misma supone un coste económico y sanitario importante y tiene limitaciones éticas en la edad pediátrica en los casos en los que la historia clínica es concordante con una reacción alérgica. Las pruebas diagnósticas habituales (pruebas cutáneas intraepidérmicas y determinación de IgE específica

sérica) intentan conocer cual sería el resultado de la provocación para así solventar las dificultades técnicas y éticas de su realización. Del mismo modo, también intentan predecir la tolerancia al alimento implicado en un futuro, o lo que es lo mismo, la evolución de la enfermedad. Aunque estas técnicas diagnósticas tienen una elevada sensibilidad y especificidad, su interpretación puede ser complicada para la diferenciación entre sensibilización y alergia y en otras situaciones como en el caso de las reactividades cruzadas. La clasificación de una prueba erróneamente como positiva puede implicar la evitación del alérgeno durante años sin que esto sea necesario. Del mismo modo, los falsos negativos pueden tener graves consecuencias en el caso de reacciones severas ante la ingesta del alimento responsable.

Para mejorar la validez de estas técnicas diagnósticas hay estudios que intentan correlacionar el título de la IgE sérica específica o el tamaño de la prueba cutánea con la presencia o no de clínica en una PEOC. Sin embargo, los resultados de los valores en estos estudios se ven afectados por numerosos factores entre los que destaca la prevalencia de la enfermedad en el área del estudio en concreto. Esto hace que no sean aplicables a cualquier ámbito sanitario en general y sea conveniente conocer los resultados en cada grupo poblacional específico.

2.7. Limitaciones de estudios previos.

Los estudios globales sobre el tema son, en relación a la elevada prevalencia de la enfermedad, en parte limitados en número y con objetivos y ámbitos de estudio dispares. No existen estudios descriptivos observacionales amplios referidos a la población infantil gallega. Tras una revisión de la literatura se observa poca uniformidad en la utilización de las técnicas diagnósticas o en el manejo en la práctica clínica diaria de esta enfermedad.

2.8. Posibilidad de nuevas herramientas diagnósticas y terapéuticas.

El curso evolutivo variable de la enfermedad y las limitaciones en las pruebas diagnósticas anteriormente expuestas hacen que sea necesaria la estandarización de

test diagnósticos fidedignos que aumenten la validez de los anteriores y puedan eventualmente sustituir o disminuir el número de PEOC necesarias.

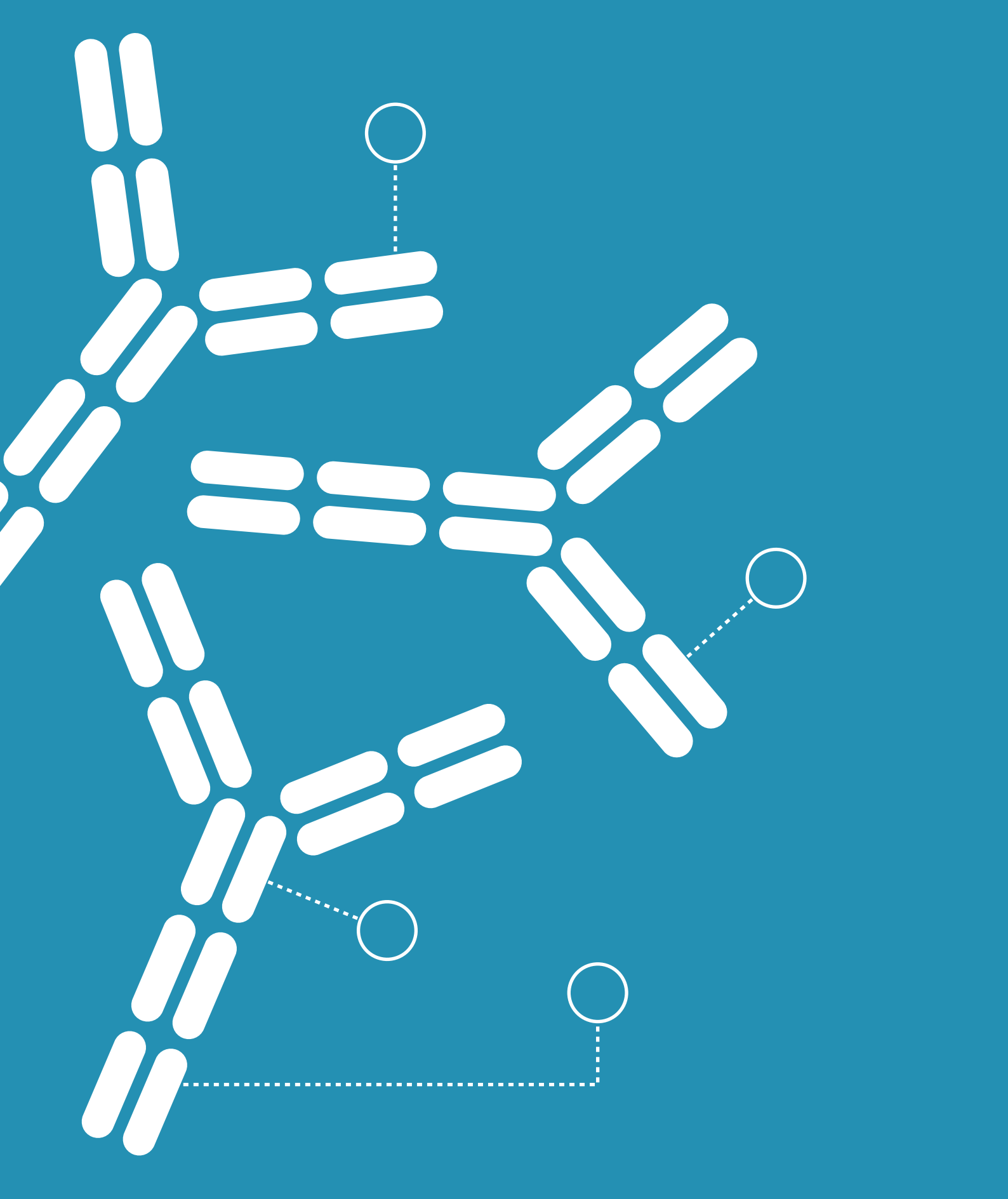
Existen nuevos métodos diagnósticos disponibles. Algunos se basan en el estudio de las respuestas funcionales de las células implicadas en el proceso alérgico ante la presencia de las proteínas alimentarias, como es el caso del TAB. Otros se basan en la caracterización de los alérgenos purificados y de los epítomos de alérgenos, que permite realizar el llamado "diagnóstico desglosado por componentes".

La utilización de estos métodos resulta de utilidad para cuestiones de difícil resolución en el manejo de la práctica clínica diaria como la discordancia entre la clínica y las pruebas diagnósticas habituales. Estas pruebas pueden ser útiles para resolver otras cuestiones. Por ejemplo, pueden ayudar a explicar como la forma de preparación de los alimentos puede afectar a su alergenicidad o bien casos de sensibilizaciones a múltiples alimentos secundarias en realidad a reactividades cruzadas a distintas proteínas comunes en ellos. Su utilización puede tener implicaciones pronósticas ya que el patrón de proteínas implicadas podría explicar determinados casos de alergia transitoria frente a otros de alergia persistente en el tiempo. El conocimiento de estas técnicas y su interpretación resultan indispensables para un manejo correcto de los pacientes pediátricos con AA en un futuro muy cercano.

Por otra parte, en los últimos años existe un interés creciente en nuevas perspectivas terapéuticas en el campo de la AA. Entre ellas destacan, por su frecuencia de utilización aquéllas basadas en la inducción a la tolerancia oral o DS al alimento implicado. Aunque los resultados preliminares parecen indicar la consecución de un aumento de la dosis umbral de alérgeno tolerable e incluso la tolerancia completa del alimento tras su aplicación en algunos casos, es necesario profundizar en este tipo de procedimiento y en los resultados obtenidos en nuestro medio.

2.9. Adaptación a una enfermedad crónica en pediatría.

Finalmente, el estudio de esta enfermedad supone profundizar en las peculiaridades de la adaptación del niño a una enfermedad crónica.



3. HIPÓTESIS

3. HIPÓTESIS

Características clínico- epidemiológicas de los pacientes con alergia alimentaria a proteínas de leche y al huevo.

H₀: no existen características diferenciales en los pacientes con ambas alergias alimentarias.

H_a: existen características diferenciales en los pacientes con ambas alergias alimentarias.

Capacidad predictiva pruebas diagnósticas.

H₀: la determinación de IgE específica sérica para fracciones de leche y huevo no permite predecir el resultado de la prueba de exposición oral controlada.

H_a: la determinación de IgE específica sérica para fracciones de leche y huevo permite predecir el resultado de la prueba de exposición oral controlada.

Factores asociados a la persistencia de la alergia.

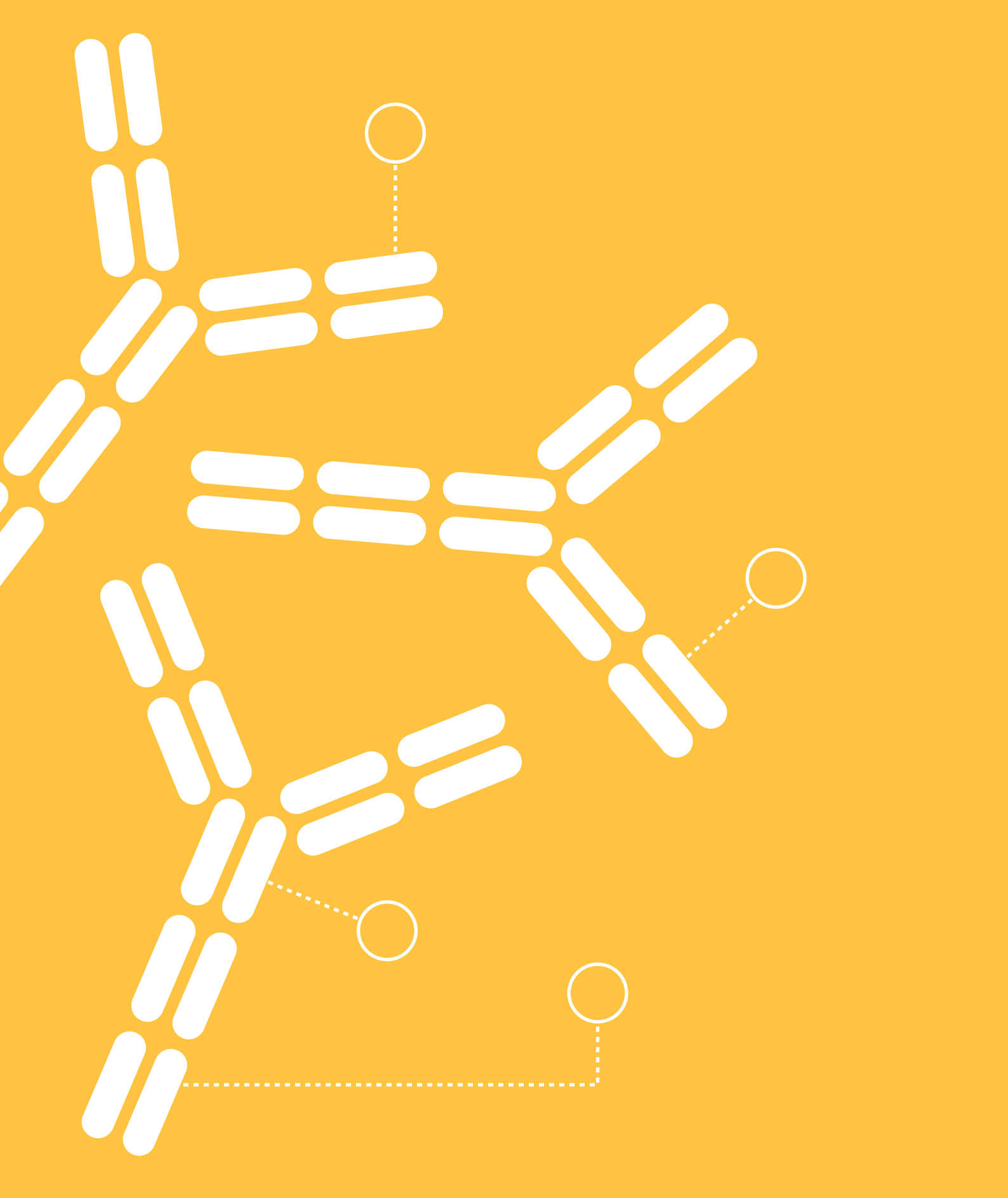
H₀: no existen variables predictoras de persistencia de alergia a leche y/o huevo.

H_a: existen variables predictoras de persistencia de alergia a leche y/o huevo.

Desensibilización oral.

H₀: la desensibilización oral no se asocia a tolerancia al alimento.

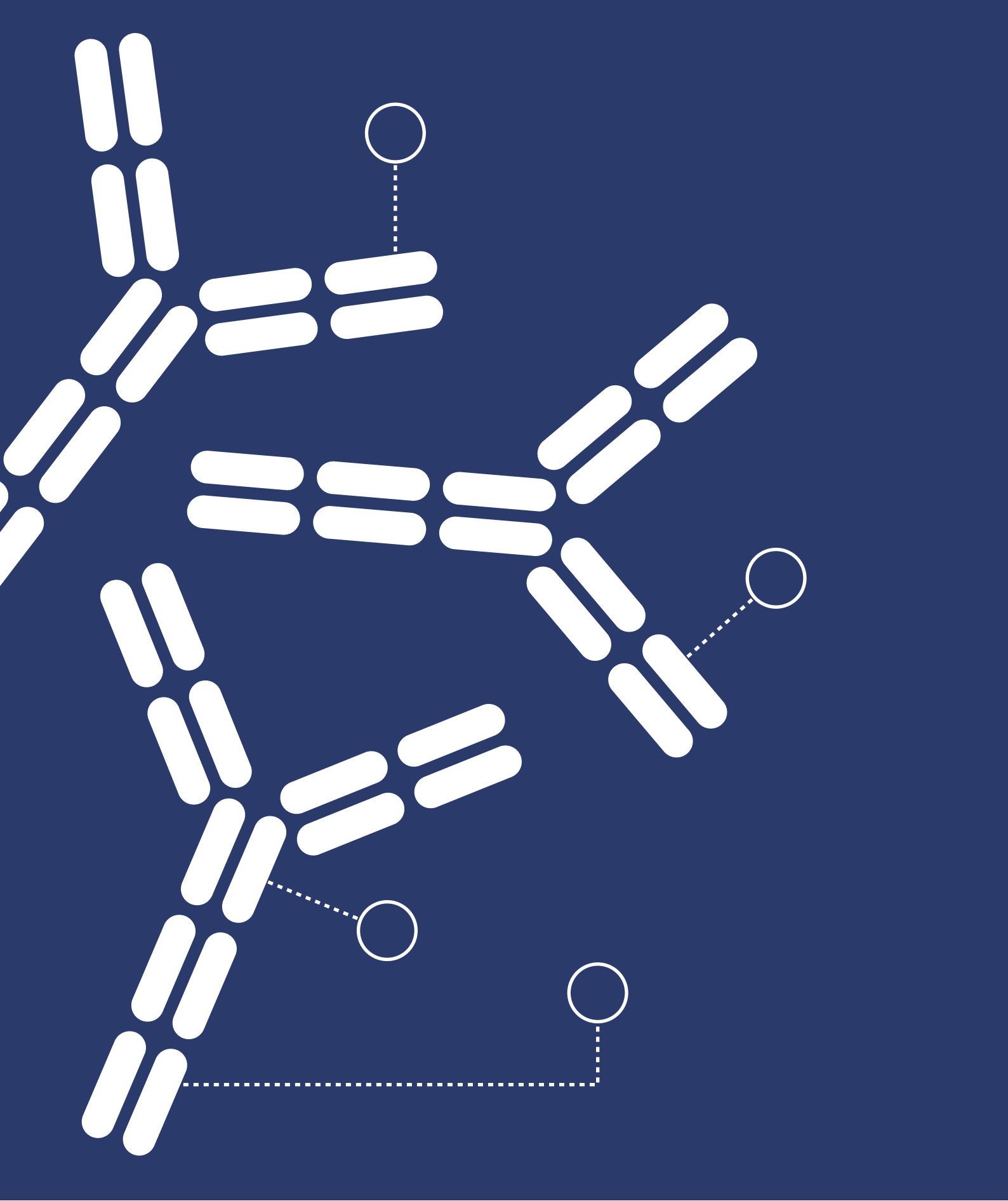
H_a: la desensibilización oral se asocia a tolerancia al alimento.



4. OBJETIVOS

4. OBJETIVOS

- Describir las características clínico-epidemiológicas de los niños con alergia alimentaria a leche y/o huevo del área sanitaria de A Coruña.
- Determinar la validez y seguridad de diferentes pruebas para el diagnóstico de la alergia utilizando como prueba de referencia la prueba de exposición oral controlada.
- Conocer la evolución de los pacientes afectados a lo largo del seguimiento y establecer factores asociados a la persistencia de la alergia alimentaria.
- Estudio descriptivo de los pacientes sometidos al proceso de desensibilización: características clínicas e inmunológicas.



5. MATERIAL Y MÉTODOS

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1. Ámbito de estudio.

Pacientes en edad pediátrica (entre 0 y 15 años) pertenecientes al área sanitaria correspondiente al Complejo Hospitalario Universitario A Coruña.

5.2. Periodo.

Enero 2008- Diciembre 2012.

5.3. Tipo de estudio.

Se realiza un estudio observacional de seguimiento con componente retrospectivo y prospectivo. Hasta Junio de 2010 los datos se recogen de manera retrospectiva y a partir de esa fecha el estudio se realiza de forma prospectiva continuando el seguimiento de los pacientes hasta Enero 2015.

En los niños que tras la PEOC son positivos y hayan sido sometidos al procedimiento de DS, se realiza un estudio quasi experimental para determinar mediciones antes y después de dicho procedimiento.

5.4. Criterios de inclusión.

5.4.1. Niños remitidos a las Consultas Externas de Alergología Infantil y Gastroenterología Infantil del Hospital Materno Infantil Teresa Herrera (Complejo Hospitalario Universitario A Coruña) para estudio por sospecha de APLV y/o AA a huevo.

5.4.2. Clínica compatible con alergia a leche y/o huevo mediada por IgE. Definida como la presencia de al menos uno de los siguientes síntomas presentados de forma inmediata (menos de una hora) tras la ingesta del alimento implicado:

- a. Urticaria perioral.
- b. Urticaria generalizada.
- c. Angioedema.
- d. Rinoconjuntivitis.
- e. Dificultad respiratoria y/o sibilancias.
- f. Prurito faríngeo o del velo palatino.
- g. Vómitos.
- h. Anafilaxia.
- i. Dolor abdominal.
- j. Diarrea.
- k. Exacerbación de la dermatitis atópica.
- l. Otros síntomas presentados de forma inmediata sugestivos de alergia, acompañados del criterio 5.4.3.

5.4.3. Presentar criterios inmunológicos de alergia alimentaria, definidos como la presencia de IgE específica frente al alimento implicado en base al menos a uno de los siguientes resultados:

- a. Determinación de IgE específica en suero mediante InmunoCAP superior a 0.35 kUA/L.
 - i. En el caso de APLV: leche de vaca, betalactoglobulina, alfa-lactoalbúmina y caseína.
 - ii. En el caso de alergia al huevo: clara de huevo, yema de huevo, ovoalbúmina y ovomucoide.

- b. Resultado de pruebas cutáneas intraepidérmicas para el alimento implicado igual o superior a 3 mm en alguna de las siguientes proteínas:
 - iii. En el caso de APLV: leche de vaca, caseína, alfa-lactoalbúmina, betalactoglobulina, seroalbúmina bovina, ternera cruda y ternera cocinada.
 - iv. En el caso de alergia al huevo: clara de huevo cruda, clara de huevo cocida, yema, ovoalbúmina y ovomucoide.

5.4.4. Consentimiento informado para participar en el estudio de los padres y/o tutores legales.

5.5. Criterios de exclusión.

5.5.1. Pacientes fuera de edad pediátrica: mayores de 15 años.

5.5.2. Pacientes fuera del periodo de estudio.

5.5.3. Pacientes con síntomas no compatibles con alergia mediada por IgE.

5.5.4. Paciente con negatividad de estudios inmunológicos.

5.5.5. No conformidad en el consentimiento informado para participar en el estudio.

5.6. Protocolo de los procedimientos recogidos.

5.6.1. Determinación de IgE específica sérica:

La determinación de IgE específica sérica se realizó mediante el sistema InmunoCAP FEIA (Termofisher Scientific, Barcelona, Spain), considerándose positivos los valores superiores a 0,35 kUA/l.

En el caso de los pacientes con sospecha de APLV se realizan las determinaciones de IgE específica para leche de vaca y sus fracciones proteicas alergénicas alfa-lactoalbúmina, betalactoglobulina y caseína. En los casos con sospecha

de alergia al huevo se analizaron las fracciones clara de huevo y yema de huevo así como sus dos alérgenos mayoritarios, ovoalbúmina y ovomucoide.

5.6.2. Pruebas cutáneas intraepidérmicas:

Las pruebas cutáneas intraepidérmicas se llevan a cabo utilizando extractos comerciales (Leti Laboratorios, Madrid, España), así como un control negativo (salino 0,9%) y un control positivo (histamina 10mg/ml). La reacción se considera positiva cuando el diámetro medio es al menos 3 mm superior al control negativo.

En las pruebas se incluyen los siguientes extractos en los pacientes con sospecha de APLV: leche de vaca, caseína, alfa-lactoalbúmina, betalactoglobulina, ternera cruda, ternera cocinada, seroalbúmina bovina y leche de cabra. En el caso de los pacientes con sospecha de AA al huevo se realizan pruebas cutáneas intraepidérmicas para los siguientes extractos: clara cruda, clara cocida, yema, ovoalbúmina y ovomucoide.

5.6.3. Prueba de exposición oral controlada:

Se recogen datos de la PEOC para leche y huevo. Esta prueba se realiza de manera abierta, de acuerdo al protocolo habitual disponible en el Servicio de Pediatría para estos procedimientos. Para la prueba el paciente se encuentra en ayunas y sin procesos intercurrentes. No debe estar recibiendo tratamiento antihistamínico ni corticoideo en la semana previa al procedimiento.

La dosis inicial consiste en la administración de 0,5 cc en el caso de la leche y 0,5g en el caso del huevo, doblándose la dosis cada 20 minutos hasta alcanzar una dosis total de 150-200 ml de leche y 50 g de huevo.

La prueba se considera positiva en el caso de aparición de síntomas sugestivos de alergia mediada por IgE durante la prueba o en las dos horas posteriores. La prueba se considera negativa en el caso de que el paciente no desarrolle reacción inmediata durante el procedimiento, ni tardía tras la reintroducción del alimento en domicilio.

5.6.4. Desensibilización oral:

La fase inicial de la DS oral se lleva a cabo de forma ambulatoria, utilizando un esquema de incremento de dosis semanal. Los aumentos de dosis se realizan cada semana en el hospital bajo supervisión médica, administrando posteriormente esa dosis de manera diaria en domicilio.

En el caso de la leche se administra leche fresca, mientras que en el caso del huevo se utiliza huevo en polvo liofilizado disuelto en agua hasta alcanzar la dosis de 1g, tras lo cual se cambia a huevo cocinado.

La fase inicial concluye cuando los pacientes toleran un huevo (50 g) o un vaso de leche (200 ml). Durante la fase de mantenimiento los pacientes ingieren esa dosis al menos dos a tres veces a la semana.

5.6.5. Test de activación de basófilos:

En los pacientes sometidos a DS con huevo, se lleva a cabo el TAB mediante técnica de citometría de flujo al inicio del estudio y después del procedimiento.

Inicialmente se recoge sangre periférica en tubos con heparina sódica. Las alícuotas se suspenden en tampón de calcio que contiene HEPES 100 mcg-IL-3 (10 ng/ml). Posteriormente, esas muestras de sangre preactivadas se exponen a antígenos (clara de huevo, ovoalbúmina y ovomucoide) a tres concentraciones diferentes (0,5mcg/ml; 0,05mcg/ml y 5ng/ml) y se incuban las placas. Como control positivo se

utiliza un anticuerpo monoclonal anti-receptor de IgE (1 mcg/ml) (Bühlmann Laboratories, Allschwill, Suiza) y como control negativo se emplea solución de lavado.

Después de la lisis de eritrocitos, el lavado y la centrifugación, los basófilos sobrenadantes se identifican mediante el anticuerpo anti-IgE marcado con FITC-anti-CD63 y se estudia la expresión basal y la regulación ascendente de CD63.

El análisis de citometría de flujo de la activación de los basófilos se realizó a 488 nm con un citómetro de flujo FACS Canto (BD Biosciences, San José, California, EE.UU.). La intensidad de fluorescencia media se determinó mediante el uso de Divassoftware. Para conocer la concentración umbral de alérgeno necesaria para obtener una capacidad adecuada para discriminar entre pacientes y controles se realizan curvas dosis – respuesta. A través de curvas ROC se calcula el punto de corte óptimo que combina sensibilidad y especificidad. Los resultados se expresan como porcentaje de activación de más de 10% y el índice de estimulación (respuesta específica de antígeno / respuesta basal) superior a 2.

5.7. Recogida de datos.

La identificación de los casos se realiza a través del Servicio de Pediatría del Complejo Hospitalario Universitario A Coruña. Una vez identificados los pacientes remitidos con la sospecha de alergia a leche y/o huevo, se procede a la revisión de la historia clínica de los posibles casos para identificar aquellos que cumplen los criterios de inclusión.

5.8. Variables analizadas.

En cada paciente se recoge información acerca de las siguientes características:

5.8.1. Identificación del paciente:

- Apellidos y nombre del paciente.
- Número de historia clínica.
- Sexo.
- Fecha de nacimiento.

5.8.2. Fecha de consulta en atención primaria en la que es remitido a atención especializada: considerada como la fecha de diagnóstico de presunción de la alergia.

5.8.3. Fecha de consulta en atención especializada: Alergología Infantil o Gastroenterología Infantil.

5.8.4. Tipo de alimento:

- a. Leche.
- b. Huevo.

5.8.5. Antecedentes personales:

- a. Lactancia materna.
- b. Duración de la lactancia materna (meses) en el momento de la consulta en especializada.
- c. Otra patología alérgica:
 - 1. Asma bronquial: considerado para el estudio como la presencia de episodios recurrentes de hiperreactividad bronquial.
 - 2. Dermatitis atópica.
 - 3. Rinoconjuntivitis.
 - 4. Alergia a fármacos.

5. Otro tipo de patología alérgica.

a. Otra alergia alimentaria:

1. Pescado.
2. Frutas.
3. Frutos secos.
4. Mariscos.
5. Legumbres.
6. Otros alimentos.

5.8.6. Antecedentes familiares:

a. Antecedentes de atopia: se incluyen sólo los presentados en los padres y/o hermanos de los pacientes.

b. Tipo de patología alérgica en los familiares:

1. Asma bronquial.
2. Dermatitis atópica.
3. Rinoconjuntivitis.
4. Alergia a alimentos.
5. Otra patología alérgica.

5.8.7. Manifestaciones clínicas:

- a. Urticaria perioral.
- b. Urticaria generalizada.
- c. Angioedema.
- d. Rinoconjuntivitis.
- e. Dificultad respiratoria y/o sibilancias.

- f. Prurito faríngeo, velopalatino o del conducto auditivo externo.
- g. Vómitos.
- h. Anafilaxia.
- i. Dolor abdominal.
- j. Diarrea.
- k. Exacerbación de la dermatitis atópica.
- l. Otros.

5.8.8. Características de la clínica:

- a. Edad de presentación de los síntomas.
- b. Desarrollo de síntomas con la primera ingesta del alimento (leche y/o huevo) o después de ingestas previas asintomáticas.
- c. Consulta médica urgente: se incluyen las consultas realizadas por los síntomas, tanto en la Unidad de Urgencias del Hospital Materno Infantil Teresa Herrera como en su centro de salud que aparezcan reflejadas en la historia.

5.8.9. Pruebas complementarias:

- a. Pruebas cutáneas intraepidérmicas (prick test):
 - Fecha de realización.
 - Tamaño máximo (milímetros, en adelante mm).
 - En el caso de los pacientes con APLV se incluyen los siguientes extractos: leche de vaca, caseína, alfa-lactoalbúmina, betalactoglobulina, ternera cruda, ternera cocinada, seroalbúmina bovina y leche de cabra.
 - En el caso de los pacientes alérgicos al huevo: clara cruda, clara cocida, yema, ovoalbúmina y ovomucoide.
- b. Analíticas de sangre:
 - Fecha de realización.

- IgE total: expresada en Unidades por mililitro (U/ml).
- IgE específica al alimento implicado: los resultados se expresan en Kilounidades de alérgeno por litro (kUA/L). En el caso de los pacientes con APLV se incluyen: leche de vaca, alfa-lactoalbúmina, betalactoglobulina y caseína, mientras que en el caso de los pacientes alérgicos al huevo se incluyen las determinaciones de clara, yema, ovoalbúmina y ovomucoide.

5.8.10. Prueba de exposición oral controlada:

- IgE total y específica previa a la prueba.
 - Fecha de la PEOC.
 - En el caso de alergia al huevo: crudo o cocinado.
- Resultado de la prueba: negativa o positiva.
- En los pacientes con resultado positivo.
 - Síntomas presentados durante la prueba (definidos al igual que en 5.6.5).
 - Dosis de alérgeno a la que se desarrollan los síntomas: mililitros de leche o gramos de huevo.

5.8.11. Evolución:

- Alcanzada tolerancia: si/no/parcial (se considera tolerancia parcial la tolerancia de dosis de alérgeno inferiores a las consideradas habituales para la ingesta o la tolerancia al alérgeno sólo en su forma cocinada pero no cruda).
- Fecha de la tolerancia.
- Inclusión en protocolo de DS.

5.8.12. Desensibilización:

- Tipo de alimento.
- Número de PEOCs previas.
- Fecha de la PEOC previa.
- Dosis a la que presentaron reacción en la PEOC.
- Fecha de inicio.
- Fecha de final.
- Niveles de IgE específica previos y posteriores.
- Resultados clínicos:
 - Tolerancia total.
 - Tolerancia parcial: dosis tolerada (cc de leche o g de huevo).
 - No tolerancia.
- Resultados inmunológicos:
 - Variaciones en IgE específica.
 - Resultados del TAB en el caso del huevo.

5.9. Justificación del tamaño muestral.

Durante el periodo de estudio se identifican 247 pacientes alérgicos a la proteína de leche de vaca, este tamaño muestral nos permite estimar los parámetros de interés con una seguridad del 95% y una precisión de $\pm 6,2\%$. Se identifican a su vez 180 pacientes alérgicos al huevo, en este caso podemos estimar los parámetros estudiados con una seguridad del 95% y una precisión de $\pm 7,3\%$.

5.10. Análisis estadístico.

Se realiza un estudio descriptivo de las variables incluidas en el trabajo. Las variables cuantitativas se expresan como media \pm desviación típica y las variables cualitativas como valor absoluto y porcentaje, con la estimación de su 95% de intervalo de confianza.

Para comparar medias entre sí se utiliza el estadístico t de Student o test de Mann Whitney según proceda tras comprobación de normalidad con el test de Kolmogorov Smirnov. La comparación múltiple de medias se realizó por medio de ANOVA o Kruskal-Wallis. Para determinar si dos variables cualitativas se asocian entre sí se realiza el estadístico Chi- cuadrado o test de Fisher.

En el caso de los resultados de las determinaciones de IgE específica sérica, los resultados son comparados con el diagnóstico de referencia (PEOC positivas) y se determina la validez de dichas determinaciones mediante el cálculo de curvas ROC. En cada caso, se calcula el área bajo la curva ROC y los puntos de corte mediante el índice Youden. El índice Youden (IJ) se define como la distancia máxima vertical entre la curva ROC y la diagonal o cambio de línea y se calcula como $IJ = \max(\text{sensibilidad} + \text{especificidad} - 1)$. A su vez, se calcula también la sensibilidad, especificidad, valores predictivos y cocientes de probabilidad para determinar la validez y seguridad de los procedimientos diagnósticos.

Para determinar posibles factores (epidemiológicos, clínicos o inmunológicos) relacionados con la persistencia de la alergia se lleva a cabo un análisis de regresión logística multivariante con los parámetros estadísticamente significativos en el análisis bivariado o con aquellos que son clínicamente relevantes.

El análisis estadístico se llevó a cabo con los programas IBM SPSS Statistics 19.0 y EPIDAT 3.0.

5.11. Aspectos ético-legales.

Este estudio cuenta para su realización con la autorización del Comité Ético de Investigación clínica de Galicia (código de registro CEIC 2010/423).

Durante la ejecución del estudio se garantizó la confidencialidad de la información recogida según la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de Diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal.

Así mismo, se siguieron las normas de buena práctica clínica de la Declaración de Helsinki.

5.12. Esquema experimental.

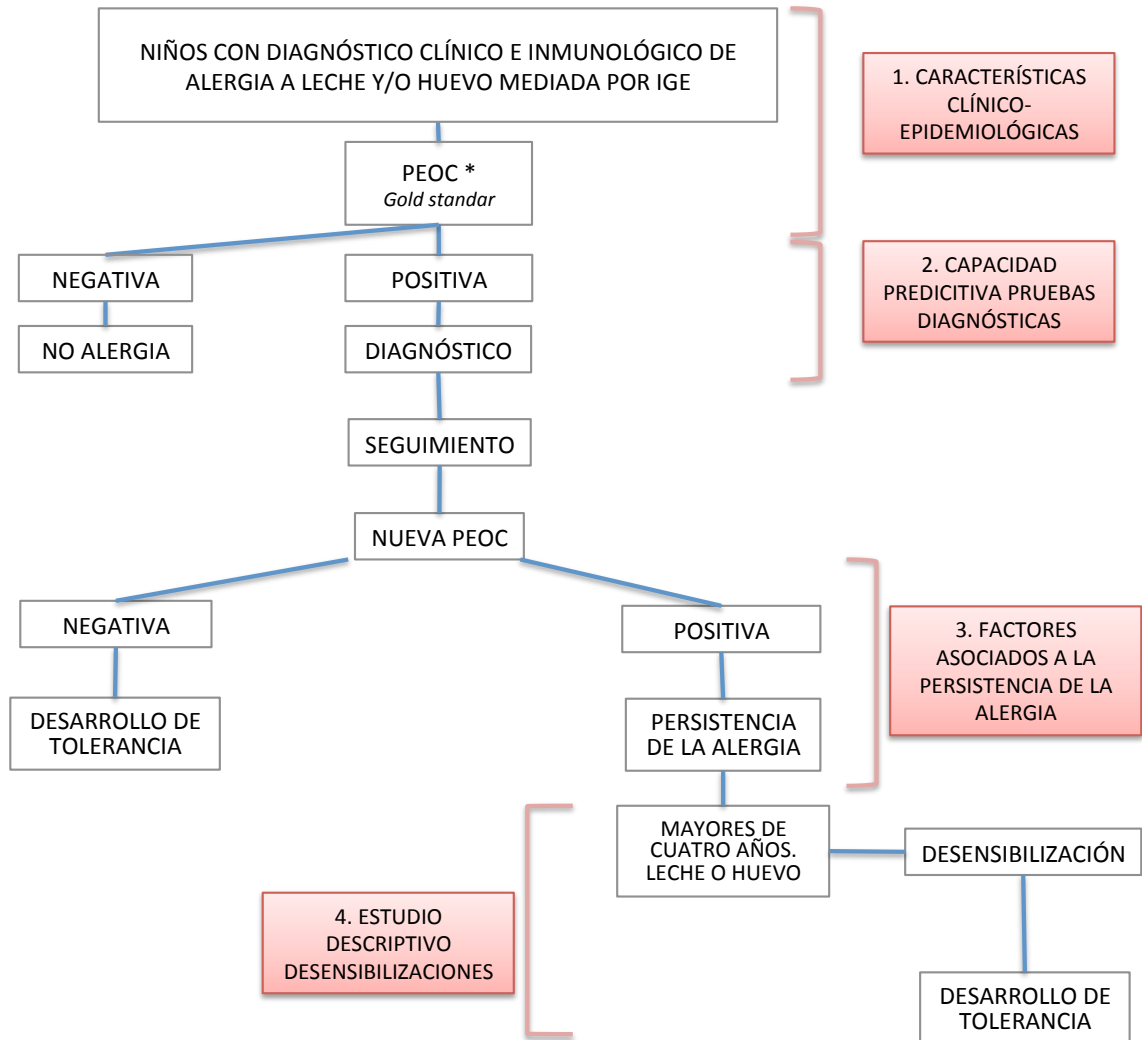
La secuencia de mediciones e intervenciones realizadas en la población objeto de estudio de muestra en el diagrama de flujo de la Figura 1.

En la práctica clínica habitual, a los niños con sospecha de AA se les realizan una serie de procedimientos diagnósticos para confirmar o descartar dicha alergia. El curso clínico a lo largo del seguimiento determinará a su vez, tras la exposición a los posibles agentes alérgenos de un modo controlado y protocolizado (PEOC), si realmente existe o no la alergia.

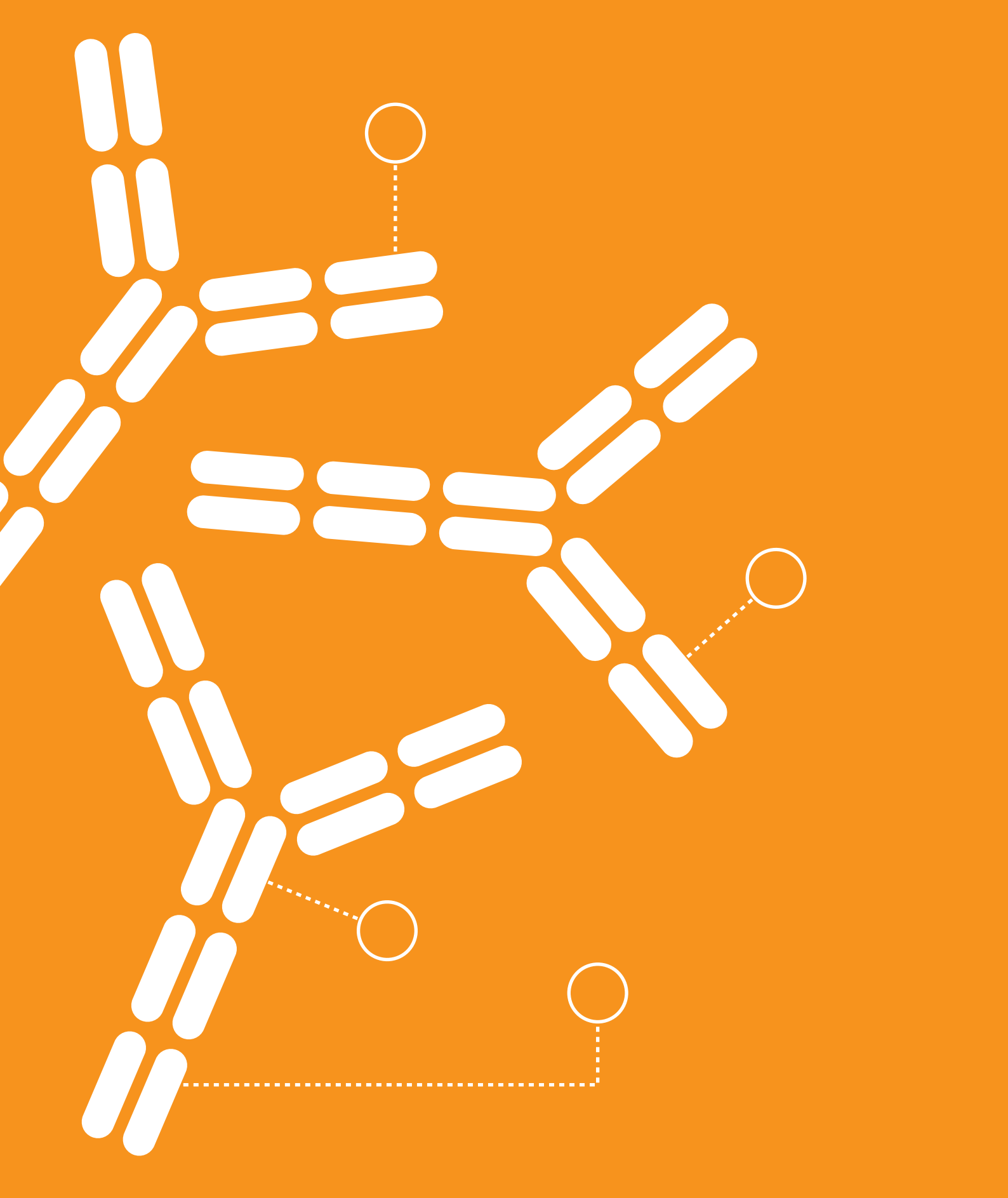
Este estudio pretende cuantificar la práctica habitual y determinar la validez y seguridad de los diferentes tests diagnósticos (IgE específica y pruebas cutáneas intraepidérmicas) para la confirmación diagnóstica de la alergia.

El diagnóstico clínico de sospecha se basa en la presencia de síntomas compatibles con alergia presentados de manera inmediata (en menos de una hora) tras la ingesta del alérgeno sospechoso. Por otra parte, tanto las pruebas cutáneas intraepidérmicas como la determinación de IgE específica sérica para leche, huevo o sus fracciones proteicas son un procedimiento de la práctica clínica habitual.

Figura 1. Diagrama de flujo de la secuencia de mediciones realizadas en base a la historia natural de la alergia alimentaria.



* En caso de síntomas típicos, pruebas cutáneas y/o en sangre positivas y reacción reciente se establece el diagnóstico evitando la PEOC.



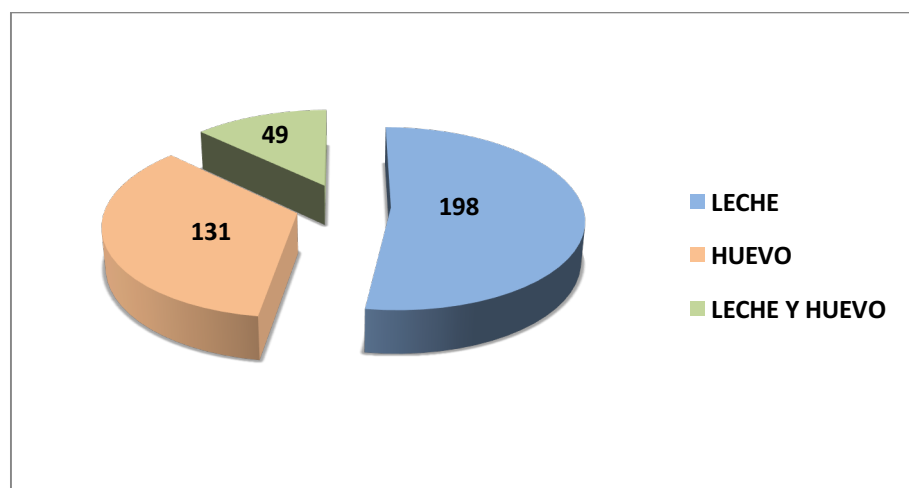
6. RESULTADOS

6. RESULTADOS

6.1. Características clínico epidemiológicas de la población a estudio.

En el periodo de estudio se incluyen un total de 378 pacientes (57,4% niños y 42,6% niñas) con edad media de inicio de su patología de 20,2 meses ($\pm 25,6$) y mediana de 11,0 (rango 0-178). Según se muestra en la Gráfica 1, esta población está constituida por un 52,5% de niños con APLV de forma exclusiva, 34,6% de niños con AA al huevo y un número menor de casos (12,9%) que comparten ambas patologías y padecen tanto APLV como AA al huevo.

Gráfica 1. Distribución de la población a estudio en base al tipo de alergia alimentaria.



Para la presentación de los resultados se expone un análisis inicial basado en el tipo de alergia presentada (pacientes con APLV y pacientes con AA al huevo) para posteriormente tratar de forma individual los grupos específicos en base a si los pacientes se encuentran monosensibilizados o no a cada uno de los alérgenos alimentarios estudiados (Figura 2).

Figura 2. Esquema de presentación de los resultados en base al tipo de alergia alimentaria o a si los pacientes se encuentran monosensibilizados a leche o huevo.



6.1.1. Pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca.

La muestra estudiada de los pacientes que presentan a APLV presenta las siguientes características relativas al sexo, edad y duración de la LM en el momento del diagnóstico (Tabla 1):

Tabla 1. Distribución por sexo, edad de inicio de los síntomas y lactancia materna de los pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca.

PACIENTES CON ALERGIA A PROTEÍNAS DE LECHE DE VACA				
VARIABLES	n (%)	IC (95%)	Media±dt	Mediana (rango)
Sexo				
Niño	141/180 (57,1)	50,7-63,5		
Niña	106/180 (42,9)	36,5-49,3		
Edad de inicio síntomas (meses)			5,1±4,2	4 (0-36)
Antecedentes lactancia materna	221/233 (94,8)	91,8-97,9		
Duración lactancia materna (meses)			5,1±3,5	4,2 (0-20)

Con respecto a la asociación con otros rasgos de atopia en el niño o en sus familiares (Tabla 2), se objetiva como la comorbilidad alérgica más frecuente en los pacientes es la presencia de asma bronquial. En relación a la asociación con otras alergias alimentarias éstas se presentan en cerca de una tercera parte de los pacientes, siendo el pescado y los frutos secos los alimentos más frecuentemente implicados. Por otra parte, más de la mitad de los niños estudiados tienen familiares cercanos (padres y/o hermanos) que padecen patologías con base atópica, estando presente el asma bronquial y la rinoconjuntivitis en cerca de la tercera parte de los casos.

Tabla 2. Antecedentes de atopia en pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca.

PACIENTES CON ALERGIA A PROTEÍNAS DE LECHE DE VACA		
ANTECEDENTES DE ATOPIA	n (%)	IC (95%)
Otra patología alérgica	80/217 (36,9)	30,2-43,5
Asma bronquial	57/216 (26,4)	20,3-32,5
Dermatitis atópica	27/216 (12,5)	7,8-17,1
Rinoconjuntivitis	35/216 (16,2)	11,0-21,3
Alergia a fármacos	2/216 (0,9)	0,1-3,3
Otras	2/216 (0,9)	0,1-3,3
Otra alergia alimentaria	73/236 (30,9)	24,8-37,0
Pescado	13/236 (5,5)	2,4-8,6
Frutas	9/236 (3,8)	1,1-6,5
Frutos secos	13/236 (5,5)	2,4-8,6
Mariscos	9/236 (3,8)	1,1-6,5
Legumbres	2/234 (0,9)	0,1-3,0
Otras	13/235 (5,5)	2,4-8,7
Antecedentes familiares atopia	122/185 (65,9)	58,8-73,0
Asma bronquial	65/184 (35,3)	28,1-42,5
Dermatitis atópica	23/183 (12,6)	7,5-17,6
Rinoconjuntivitis	65/184 (35,3)	28,1-42,5
Alergia alimentaria	18/184 (9,8)	5,2-14,3
Otros	12/185 (6,5)	2,7-10,3

Los datos relativos a la forma de presentación de la APLV aparecen recogidos en la Tabla 3. Las manifestaciones clínicas al diagnóstico de la APLV se presentaron tras el primer contacto o ingesta con fórmula adaptada o leche en el porcentaje menor de casos (33,2%) y ocasionaron una consulta urgente en el hospital o en atención primaria en aproximadamente 8 de cada 10 pacientes. La sintomatología más frecuente percibida por los padres fue la urticaria generalizada y los vómitos, estando presente la anafilaxia como manifestación inicial en el 6,6% de los pacientes estudiados. En la Tabla 4 se resumen los resultados de los estudios complementarios realizados y la edad de realización en nuestro centro. Con respecto a las pruebas cutáneas intraepidérmicas, la proteína alfa-lactoalbúmina fue la que presentó valores más elevados, mientras que la determinación de IgE específica para leche de vaca alcanzó los niveles más altos en sangre. Ninguno de los pacientes presentó valores positivos para las pruebas cutáneas intraepidérmicas con la ternera cocinada.

Tabla 3. Forma de presentación en los pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca.

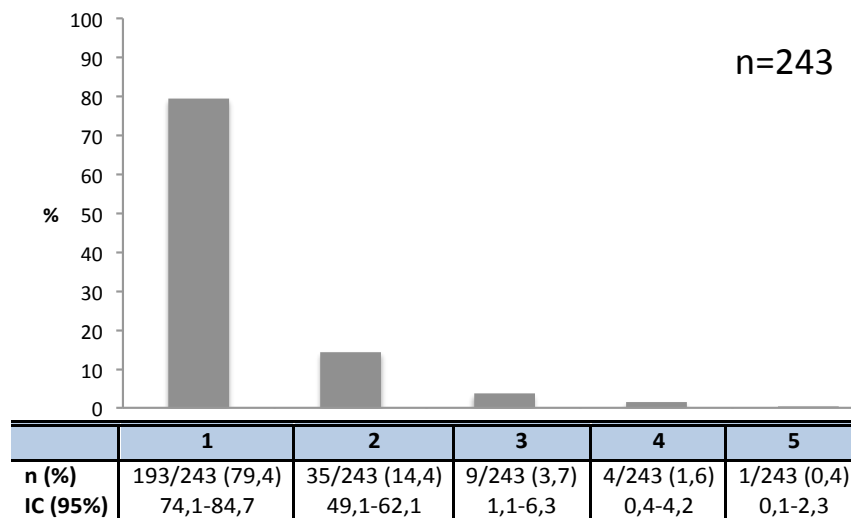
PACIENTES CON ALERGIA A PROTEÍNAS DE LECHE DE VACA		
FORMA DE PRESENTACIÓN	n (%)	IC (95%)
Clínica en la primera ingesta	71/214 (33,2)	26,6-39,7
Consulta en urgencias	80/104 (76,9)	68,3-85,5
Síntomas al diagnóstico		
Urticaria perioral	77/243 (31,7)	25,6-37,7
Urticaria generalizada	98/243 (40,3)	33,9-46,7
Angioedema	49/243 (20,2)	14,9-25,4
Rinoconjuntivitis	2/243 (0,8)	0,1-2,9
Dificultad respiratoria/sibilancias	8/243 (3,3)	0,8-5,7
Prurito velopalatino	0/243 (0,0)	0,0-1,5
Vómitos	91/243 (37,4)	31,1-43,7
Anafilaxia	16/243 (6,6)	3,3-9,9
Dolor abdominal	6/243 (2,5)	0,3-4,6
Diarrea	24/243 (9,9)	5,9-13,8
Exacerbación dermatitis atópica	11/243 (4,5)	1,7-7,3
Otros	60/243 (24,7)	19,0-30,3

En el curso evolutivo de su alergia, los pacientes con APLV fueron sometidos a una media de $1,3 \pm 0,6$ PEOC para constatar del desarrollo de tolerancia, con una mediana de 1,0 pruebas (rango 0,0-5,0). La Gráfica 2 representa el número progresivo PEOC abiertas para leche realizadas en todos los pacientes con APLV.

Tabla 4. Pruebas complementarias de los pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca en el momento del diagnóstico.

PACIENTES CON ALERGIA A PROTEÍNAS DE LECHE DE VACA				
PRUEBAS COMPLEMENTARIAS	PRUEBAS INTRAEPIDERMICAS(mm)		IGE ESPECÍFICA SUERO (kUA/l)	
	Media \pm dt	Mediana (rango)	Media \pm dt	Mediana (rango)
Edad de realización (meses)	32,4 \pm 26,9	25,0 (2,0-148,0)	10,9 \pm 16,5	6,5 (0,0-167,0)
Leche de vaca	5,0 \pm 4,8	4,0 (0-20)	6,02 \pm 12,6	1,9 (0,0-109,0)
Caseína	2,7 \pm 3,9	0,0 (0-15)	3,5 \pm 11,8	0,45 (0,0-128,0)
Alfa-lactoalbúmina	9,1 \pm 5,9	8,5 (0-23)	2,9 \pm 6,6	0,6 (0,0-64,5)
Betalactoglobulina	7,4 \pm 5,1	7,0 (0-22)	4,5 \pm 9,9	1,0 (0,0-79,9)
Seroalbúmina bovina	5,1 \pm 6,9	0,0 (0-21)		
Tenera cruda	3,1 \pm 3,5	3,0 (0-11)		
Tenera cocida	0,0 \pm 0,0	0,0 (0-0)		
IgE total (U/ml)			117,3 \pm 171,3	54,6 (1,9-1275,0)

Gráfica 2. Número de pruebas de exposición oral controlada realizadas en los pacientes a lo largo del seguimiento evolutivo.



Al considerar las tres primeras PEOC realizadas en los pacientes para constatar el desarrollo de tolerancia se obtienen los datos reflejados en la Tabla 5. Una representación esquemática de los mismos se muestra en la Gráfica 3. En ella se aprecia como, en las sucesivas PEOC, que implican a los pacientes que no alcanzan la tolerancia, el porcentaje de pruebas positivas asciende. No apreciamos cambios evolutivos significativos en la sintomatología presentada tras cada PEOC ni en los niveles de IgE específica entre las 3 PEOC.

Gráfica 3. Evolución de parámetros clínicos y bioquímicos en las diferentes pruebas de exposición oral controlada a leche de vaca.

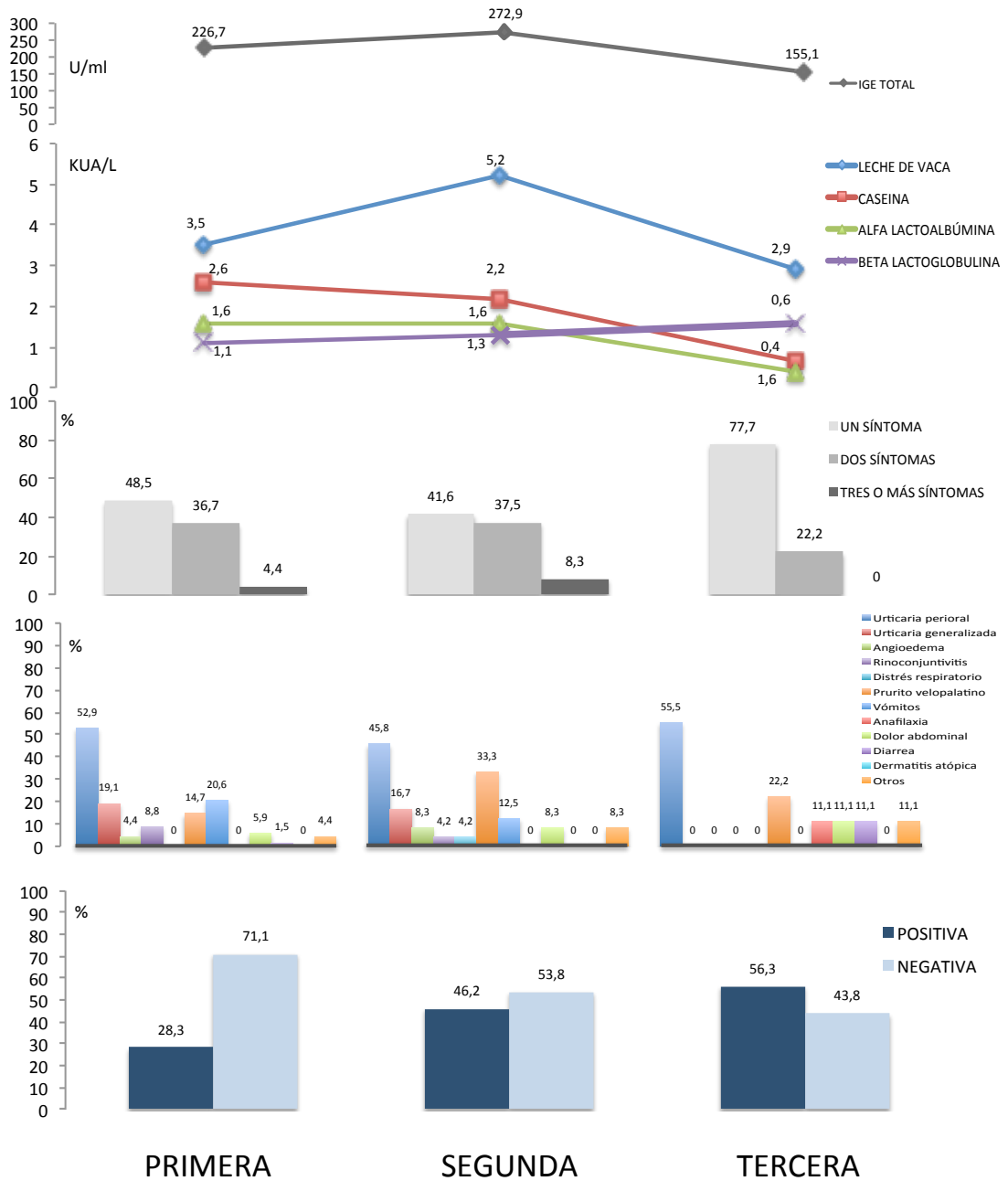
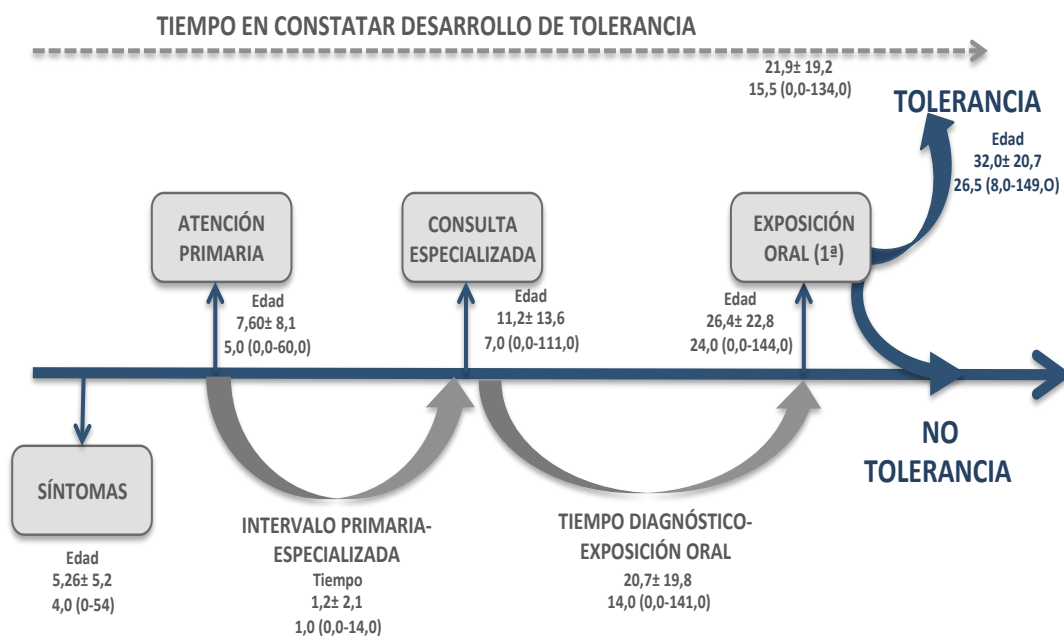


Tabla 5. Número de pruebas de exposición oral controlada con leche realizadas en los pacientes a lo largo del seguimiento evolutivo.

	PRIMERA PEOC				SEGUNDA PEOC				TERCERA PEOC			
	n (%)	IC (95%)	Media±dt	Mediana (rango)	n (%)	IC (95%)	Media±dt	Mediana (rango)	n (%)	IC (95%)	Media±dt	Mediana (rango)
Edad (años)			2,2 ±1,9	2,0 (0,0-12,0)			3,7 ±2,1	3,0 (1,0-13,0)			3,9 ±1,9	3,0 (2,0-9,0)
Meses del diagnóstico			20,7 ±19,8	14,0 (0-141)			41,1 ±24,7	37,0 (11,0-153)			39,9 ±25,2	30,0 (10,0-110,0)
Niveles IgE (kUA/l)												
IgE total (U/ml)			226,7 ±438,5	62,7 (0,0-2696,0)			272,9 ±399,0	134,0 (0,0-2043,0)			155,1 ±173,4	74,5 (18,9-529,0)
Leche de vaca			3,5 ±11,8	0,6 (0,0-100,0)			5,2 ±9,4	1,2 (0,0-41,2)			2,9 ±4,3	0,57 (0,0-12,9)
Caseína			2,6 ±12,2	0,0 (0,0-100,0)			2,2 ±6,4	0,4 (0,0-37,0)			0,65 ±0,9	0,0 (0,0-2,7)
Alfa-lactoalbúmina			1,6 ±8,4	0,0 (0,0-100,0)			1,6 ±5,6	0,0 (0,0-36,3)			0,4 ±0,53	0,0 (0,0-0,53)
Beta-lactoglobulina			1,1 ±7,1	0,0 (0,0-100,0)			1,3 ±2,6	0,0 (0,0-10,3)			1,6 ±3,0	0,0 (0,0-8,3)
Resultado												
Positiva	68/240 (28,3)	22,4- 34,2			24/52 (46,2)	31,6-60,7			9/16 (56,3)	29,9- 80,2		
Negativa	172/240 (71,7)	65,7- 77,5			28/52 (53,8)	39,3-68,3			7/16 (43,8)	19,7- 70,1		
Número de síntomas												
Uno	33/68 (48,5)	35,9- 61,1			10/24 (41,6)	19,9-63,5			7/9 (77,7)	40,0- 97,2		
Dos	25/68 (36,7)	24,6- 48,9			9/24 (37,5)	16,1-60,0			2/9 (22,2)	2,8- 60,1		
Tres o más	3/68 (4,4)	0,9- 12,3			2/24 (8,3)	1,1-27,0			0/9 (0)	0,0- 33,7		
Tipo de síntomas												
Urticaria perioral	36/68 (52,9)	40,3- 60,5			11/24 (45,8)	23,8-67,8			5/9 (55,5)	21,2- 86,3		
Urticaria generalizada	13/68 (19,1)	9,0- 29,2			4/24 (16,7)	4,7-37,8			0/9 (0,0)	0,0- 33,6		
Angioedema	3/68 (4,4)	0,9- 12,3			2/24 (8,3)	1,0-26,9			0/9 (0,0)	0,0- 33,6		
Rino-conjuntivitis	6/68 (8,8)	1,3- 16,3			1/24 (4,2)	0,1-21,1			0/9 (0,0)	0,0- 33,6		
Distrés respiratorio	0/68 (0,0)	0,0-5,3			1/24 (4,2)	0,1-21,1			0/9 (0,0)	0,0- 33,6		
Prurito velopalatino	10/68 (14,7)	5,5- 23,8			8/24 (33,3)	12,4-54,3			2/9 (22,2)	2,8- 60,0		
Vómitos	14/68 (20,6)	10,2- 30,9			3/24 (12,5)	2,6-32,4			0/9 (0,0)	0,0- 33,6		
Anafilaxia	0/68 (0,0)	0,0-5,3			0/24 (0)	0,0-14,2			1/9 (11,1)	0,3- 48,2		
Dolor abdominal	4/68 (5,9)	1,6- 14,4			2/24 (8,3)	1,0-26,9			1/9 (11,1)	0,3- 48,2		
Diarrea	1/68 (1,5)	0,0-7,9			0/24 (0,0)	0,0-14,2			1/9 (11,1)	0,3- 48,2		
Dermatitis atópica	0/68 (0,0)	0,0-5,3			0/24 (0,0)	0,0-14,2			0/9 (0,0)	0,0- 33,6		
Otros	3/68 (4,4)	0,9- 12,3			2/24 (8,3)	1,0-26,9			1/9 (11,1)	0,3- 48,2		
Dosis síntomas (cc)			19,1 ±36,1	3,0 (0-166)			48,8 ±71,5	15,0 (1-217)			23,3 ±17,7	10,0 (1-93)

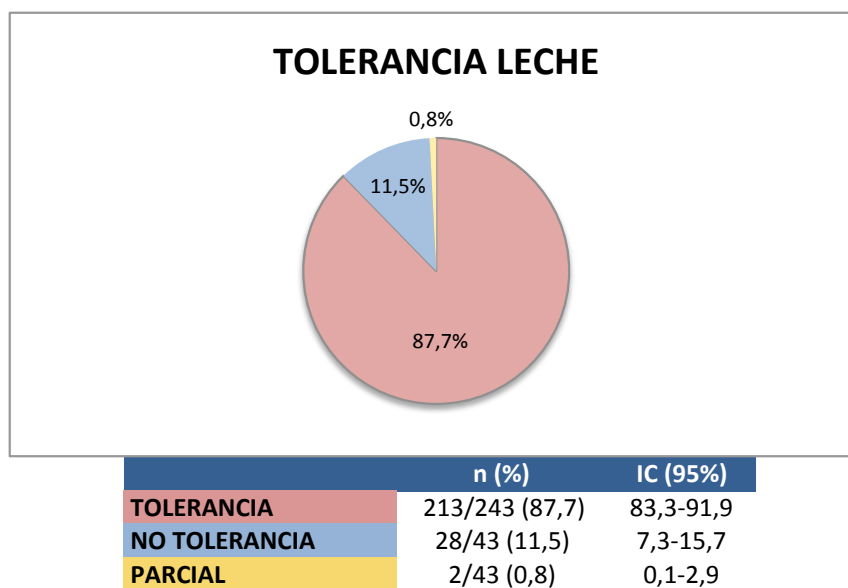
Por otra parte, al considerar la historia natural de la APLV desde el inicio de los síntomas de la alergia hasta el desarrollo de tolerancia, se implican diferentes procesos y estados evolutivos, que aparecen resumidos en la Figura 3.

Figura 3. Procesos temporales desde el inicio de los síntomas hasta la constatación de desarrollo de tolerancia a la proteína de leche de vaca. En cada uno de ellos se expresa la media±desviación típica, así como la mediana y el rango. Los resultados se indican en meses.



Durante el periodo de estudio, la mayoría de los pacientes alcanzan la tolerancia a PLV persistiendo la alergia en un 11,5% de los casos. En la Gráfica 4 se indica la evolución de los pacientes afectados.

Gráfica 4. Evolución hacia la tolerancia en los pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca.



6.1.2. Pacientes con alergia alimentaria al huevo.

Los pacientes con AA al huevo presentan en nuestra población las siguientes características relativas al sexo, antecedentes de LM y edad de inicio de los síntomas tras la ingesta de huevo (Tabla 6).

Tabla 6. Distribución por sexo, edad de inicio de los síntomas y lactancia materna de los pacientes con alergia al huevo.

PACIENTES CON ALERGIA ALIMENTARIA AL HUEVO				
VARIABLES	n (%)	IC (95%)	Media±dt	Mediana (rango)
Sexo				
Niño	105/180 (58,3)	50,8-65,8		
Niña	75/180 (41,7)	34,2-49,1		
Edad de inicio síntomas (meses)			14,1±5,3	12,0 (2-48)
Antecedentes de lactancia materna	111/127 (87,4)	81,2-93,5		
Duración lactancia materna (meses)			6,2±5,2	5,0 (0-24)

En lo relativo a la presencia de otras patologías con una base atópica (Tabla 7), se aprecia como nuevamente la patología más prevalente en este grupo de pacientes es el asma bronquial. Por otra parte, más de la mitad de los pacientes en este grupo padecen otras alergias alimentarias asociadas, siendo en este caso, al igual que en el grupo previo, el pescado y los frutos secos los alimentos que ocasionan síntomas con más frecuencia. Los antecedentes familiares de atopia están presentes en un porcentaje cercano al 80%, siendo la rinoconjuntivitis y el asma bronquial las enfermedades más prevalentes en las familias de los niños afectados, al igual que en los pacientes con APLV.

Al considerar la forma de presentación de la AA al huevo (Tabla 8), los síntomas se presentan con más frecuencia en esta población tras la ingesta en su forma cocinada, ya que es la forma de procesamiento que habitualmente se ingiere con más frecuencia y especialmente en la edad infantil. Como puede apreciarse, los síntomas no siempre se presentan tras la primera ingesta del huevo y ocasionan una consulta en urgencias en aproximadamente la mitad de los pacientes afectados. La urticaria, localizada a nivel perioral y generalizada, es la manifestación clínica más frecuente seguida de los vómitos. Se aprecia un porcentaje de anafilaxia menor que en el conjunto de pacientes con APLV. En la Tabla 9 se presentan los resultados de las pruebas complementarias realizadas en nuestro centro a los pacientes con AA al huevo. En las pruebas cutáneas intraepidérmicas, los valores para clara de huevo cruda alcanzan las cifras más elevadas, al igual que la determinación de IgE específica para clara en sangre.

Tabla 7. Antecedentes de atopía en los pacientes con alergia al huevo.

PACIENTES CON ALERGIA ALIMENTARIA AL HUEVO		
ANTECEDENTES DE ATOPIA	n (%)	IC (95%)
Otra patología alérgica	115/177 (65,0)	57,7-72,3
Asma bronquial	82/177 (46,3)	38,7-53,9
Dermatitis atópica	49/177 (27,2)	20,8-34,5
Rinoconjuntivitis	62/177 (35,0)	27,7-42,3
Alergia a fármacos	4/177 (2,3)	0,6-5,7
Otras	5/177 (2,8)	0,9-6,5
Otra alergia alimentaria	99/180 (55,0)	47,4-62,5
Pescado	28/180 (15,6)	10,0-21,1
Frutas	18/180 (10,0)	5,3-14,7
Frutos secos	23/180 (12,8)	7,6-17,9
Mariscos	16/180 (8,9)	4,4-13,3
Legumbres	8/180 (4,4)	1,1-7,7
Otras	20/180 (11,1)	6,2-15,9
Antecedentes familiares atopía	126/162 (77,8)	71,2-84,5
Asma bronquial	67/162 (41,4)	33,4-49,2
Dermatitis atópica	19/162 (11,7)	6,5-17,0
Rinoconjuntivitis	69/162 (42,6)	34,7-50,5
Alergia alimentaria	20/162 (12,3)	6,9-17,7
Otros	9/162 (5,6)	1,7-9,4

Tabla 8. Forma de presentación en los pacientes con alergia al huevo.

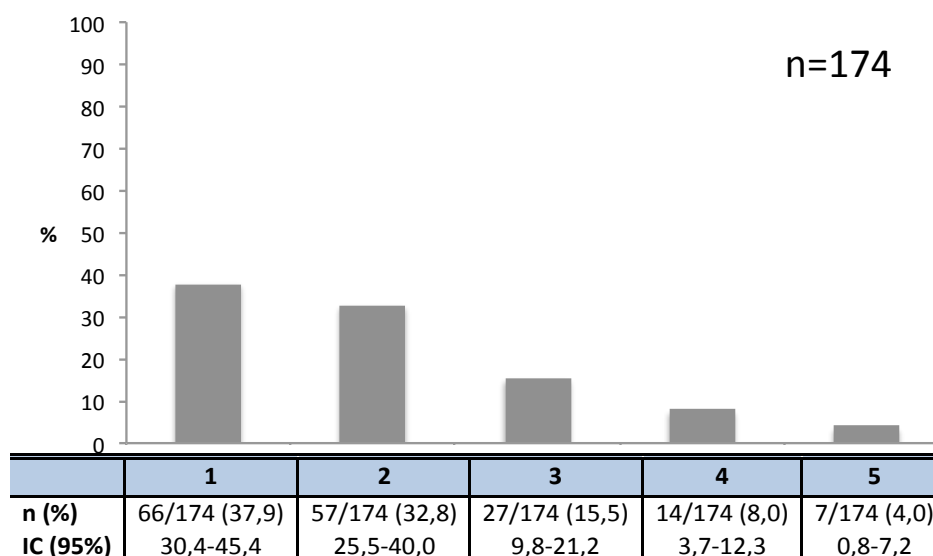
PACIENTES CON ALERGIA ALIMENTARIA AL HUEVO		
FORMA DE PRESENTACIÓN	n (%)	IC (95%)
Clínica en la primera ingesta	61/135 (45,2)	36,4-54,0
Consulta en urgencias	21/44 (47,7)	31,8-63,6
Procesamiento del huevo		
Cocinado	66/93 (71,0)	61,2-80,7
Crudo	27/93 (29,0)	19,3-38,8
Síntomas al diagnóstico		
Urticaria perioral	66/175 (37,7)	30,2-45,2
Urticaria generalizada	56/175 (32,0)	24,8-39,2
Angioedema	35/175 (20,0)	13,8-26,2
Rinoconjuntivitis	0/175 (0,0)	0,0-2,1
Dificultad respiratoria/sibilancias	11/175 (6,3)	2,4-10,2
Prurito velopalatino	10/175 (5,7)	2,0-9,4
Vómitos	44/175 (25,1)	18,4-31,8
Anafilaxia	3/175 (1,7)	0,3-4,9
Dolor abdominal	1/175 (0,6)	0,0-3,1
Diarrea	6/175 (3,4)	0,5-6,4
Exacerbación dermatitis atópica	12/175 (6,9)	2,8-10,9
Otros	37/175 (21,1)	14,8-27,5

Tabla 9. Pruebas complementarias de los pacientes con alergia al huevo en el momento del diagnóstico.

PACIENTES CON ALERGI A ALIMENTARIA AL HUEVO				
PRUEBAS COMPLEMENTARIAS	PRUEBAS INTRAEPIDÉRMICAS (mm)		IGE ESPECÍFICA SUERO (kUA/l)	
	Media±dt	Mediana (rango)	Media±dt	Mediana (rango)
Edad de realización (años)	3,4±3,0	2,0 (0,0-14,0)	2,3±2,6	1,0 (0,0-16,0)
Clara cruda	9,1±5,3	9,0 (0,0-26,0)	7,9±15,0	2,6 (0,0-100,0)
Clara cocida	7,2±5,4	7,0 (0,0-21,0)		
Yema	5,6±4,0	5,0 (0,0-22,0)	3,04±11,8	0,5 (0,0-100,0)
Ovoalbúmina	7,1±4,2	7,0 (0,0-17,0)	7,6±16,4	1,9 (0,0-100,0)
Ovomucoide	7,1±5,9	8,0 (0,0-21,0)	5,9±16,5	0,6 (0,0-100,0)
IgE total (U/ml)			315,1±530,6	149,0 (3,5-4492,0)

Si consideramos el número total de PEOC con huevo que se realizan en los pacientes en el periodo de estudio, se aprecia (Gráfica 5) como un 86,2% de la población realiza entre una y tres PEOC.

Gráfica 5. Número de pruebas de exposición oral controlada con huevo realizadas en los pacientes a lo largo del seguimiento evolutivo.



Al valorar los cambios clínicos y analíticos en las diferentes PEOC realizadas en estos pacientes se obtienen los resultados expresados en la Gráfica 6 y la Tabla 10. Nuevamente, el porcentaje de pruebas consideradas positivas aumenta en el tercer procedimiento con respecto al primero, presentándose los síntomas ante una dosis menor de alérgeno. El número de síntomas presentes en las pruebas positivas, así como la frecuencia específica de cada uno de ellos varía en cada procedimiento.

Gráfica 6. Evolución de parámetros clínicos y bioquímicos en las diferentes pruebas de exposición oral controlada a huevo.

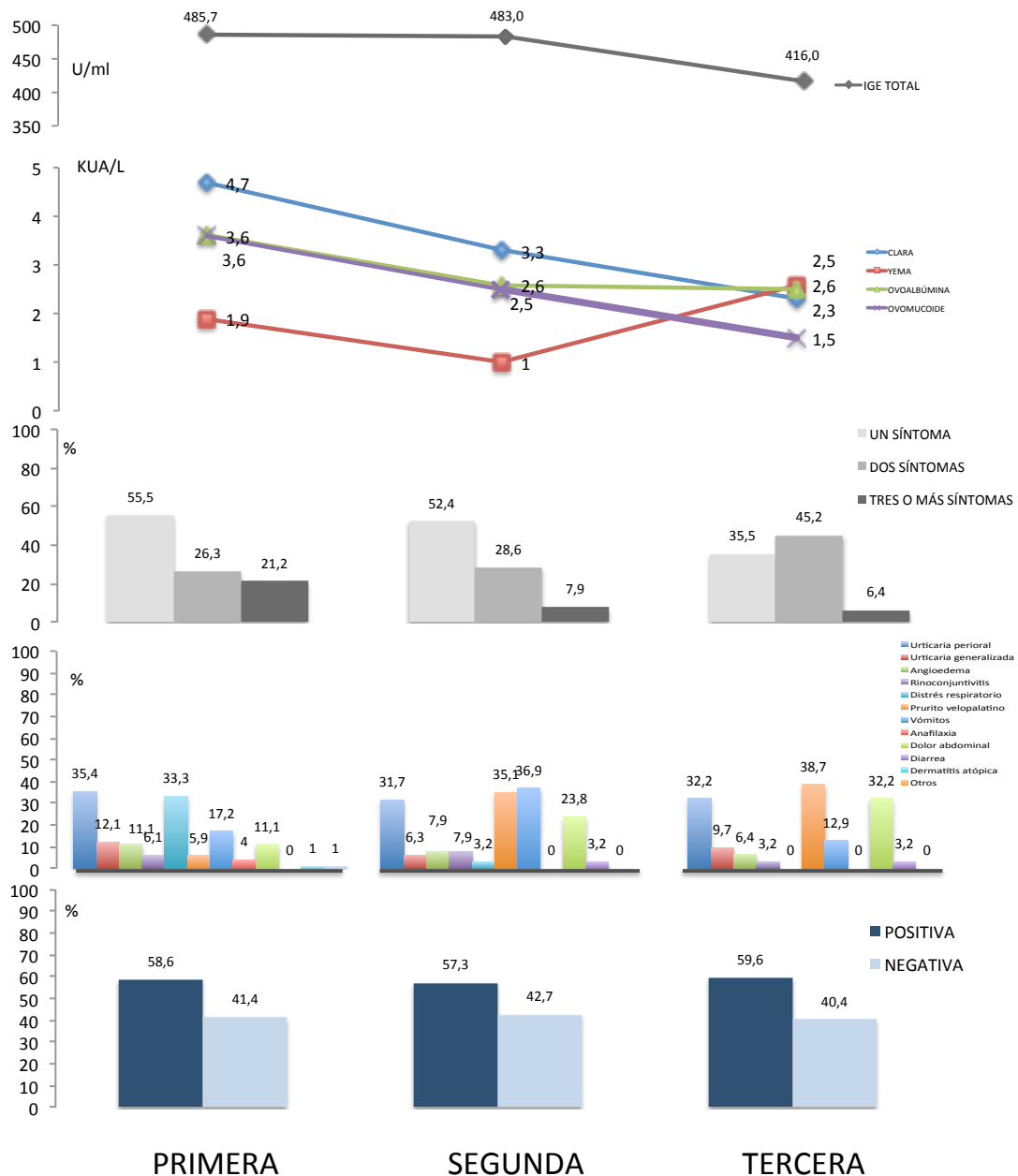
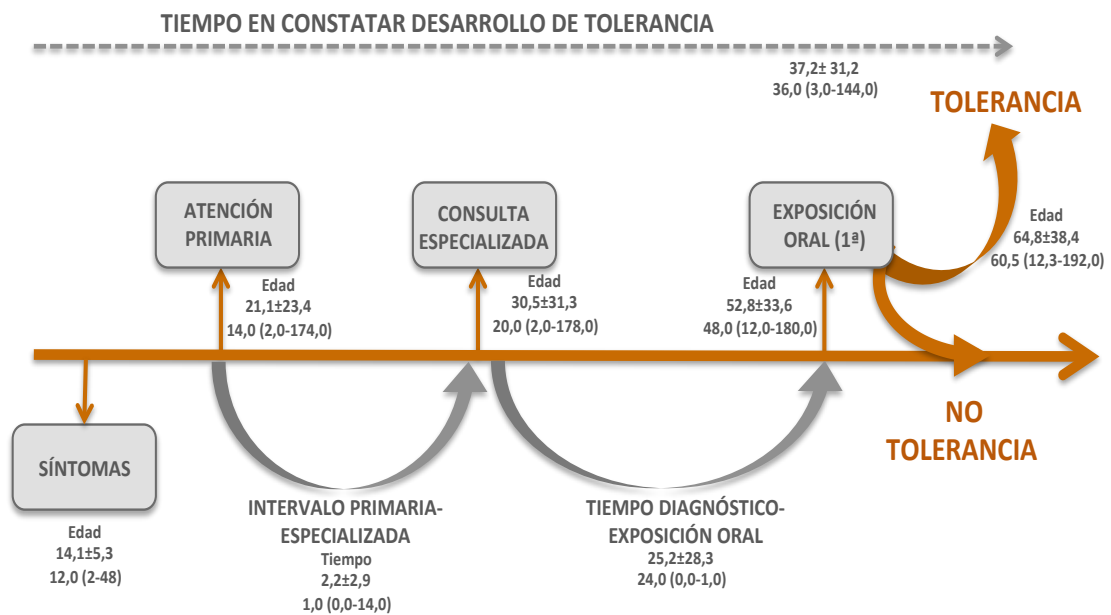


Tabla 10. Número de pruebas de exposición oral controlada con huevo realizadas en los pacientes a lo largo del seguimiento evolutivo.

	PRIMERA PEOC				SEGUNDA PEOC				TERCERA PEOC			
	n (%)	IC (95%)	Media \pm dt	Mediana (rango)	n (%)	IC (95%)	Media \pm dt	Mediana (rango)	n (%)	IC (95%)	Media \pm dt	Mediana (rango)
Edad (años)			4,4 \pm 2,8	4,0 (1,0-15,0)			5,2 \pm 3,1	4,0 (1,0-16,0)			5,9 \pm 2,8	5,0 (1,0-14,0)
Meses del diagnóstico			29,9 \pm 28,7	25,0 (0,0-154,0)			39,9 \pm 28,1	35,0 (3,0-132,0)			54,7 \pm 29,6	51,0 (13,0-153,0)
Procesamiento del huevo												
Cocinado	141/152 (92,8)	88,3- 97,2			59/108 (54,6)	44,8- 64,5			18/52 (34,6)	20,7- 48,5		
Crudo	11/152 (7,2)	2,8- 11,7			49/108 (45,4)	35,5- 55,2			34/52 (65,4)	51,5- 79,3		
Niveles IgE (kUA/l)												
IgE total (U/ml)			485,7 \pm 872,3	217,0 (0,98- 8270,0)			483,0 \pm 957,1	246,0 (2,6 (8270,0)			416,0 \pm 422,9	298,0 (18,5- 1489,0)
Clara			4,7 \pm 10,7	1,2 (0,0-96,4)			3,3 \pm 5,8	1,3 (0,0-32,5)			2,3 \pm 4,9	1,1 (0,0-31,0)
Yema			1,9 \pm 7,2	0,0 (0,0-64,7)			1,0 \pm 2,8	0,0 (0,0-15,0)			1,1 \pm 3,5	0,0 (0,0-15,1)
Ovoalbúmina			3,6 \pm 6,2	1,1 (0,0-29,9)			2,6 \pm 4,3	1,0 (0,0-29,0)			2,5 \pm 5,1	1,1 (0,0-29,0)
Ovomucoide			3,6 \pm 8,9	0,49 (0,0-58,7)			2,5 \pm 6,4	2,5 (0,0-47,6)			1,5 \pm 2,0	2,0 (0,0-8,9)
Resultado												
Positiva	99/169 (58,6)	50,8- 66,3			63/110 (57,3)	47,5- 67,0			31/52 (59,6)	45,3- 73,9		
Negativa	70/169 (41,4)	33,7- 49,1			47/110 (42,7)	33,0- 52,4			21/52 (40,4)	26,1- 54,7		
Número de síntomas												
Uno	55/99 (55,5)	45,3- 65,8			33/63 (52,4)	39,2- 65,6			11/31 (35,5)	17,1- 53,9		
Dos	26/99 (26,3)	17,1- 35,4			18/63 (28,6)	16,5- 40,5			14/31 (45,2)	26,0- 64,3		
Tres o más	21/99 (21,2)	12,6- 29,8			5/63 (7,9)	2,7- 17,6			2/31 (6,4)	0,8- 21,4		
Tipo de síntomas												
Urticaria perioral	35/99 (35,4)	25,4- 45,3			20/63 (31,7)	19,4- 44,0			10/31 (32,2)	14,2- 50,3		
Urticaria generalizada	12/99 (12,1)	5,2- 19,0			4/63 (6,3)	1,7- 15,4			3/31 (9,7)	2,0- 25,7		
Angioedema	11/99 (11,1)	4,4- 17,8			5/63 (7,9)	2,6- 17,5			2/31 (6,4)	0,8- 21,4		
Rino-conjuntivitis	6/99 (6,1)	0,8- 11,3			5/63 (7,9)	2,6- 17,5			1/31 (3,2)	0,1- 16,7		
Distrés respiratorio	6/99 (5,9)	0,8- 11,3			2/63 (3,2)	0,4- 11,0			0/31 (0,0)	0,0- 11,2		
Prurito velopalatino	33/99 (33,3)	23,5- 43,1			15/63 (23,8)	12,5- 35,1			12/31 (38,7)	19,9- 57,5		
Vómitos	17/99 (17,2)	9,2- 25,1			16/63 (25,4)	13,8- 36,9			4/31 (12,9)	3,6- 29,8		
Anafilaxia	4/99 (4,0)	1,1- 10,0			0/63 (0,0)	0,0-5,7			0/31 (0,0)	0,0- 11,2		
Dolor abdominal	11/99 (11,1)	4,4- 17,8			15/63 (23,8)	12,5- 31,2			10/31 (32,2)	14,2- 50,3		
Diarrea	2/99 (2,0)	0,2-7,1			2/63 (3,2)	0,4- 11,0			1/31 (3,2)	0,1- 16,7		
Dermatitis atópica	1/99 (1,0)	0,0-5,5			0/63 (0,0)	0,0-5,7			0/31 (0,0)	0,0- 11,2		
Otros	5/99 (5,0)	1,7- 11,4			0/63 (0,0)	0,0-5,7			1/31 (3,2)	0,1- 16,7		
Dosis síntomas (gs)			9,2 \pm 13,2	4,0 (0-50)			8,3 \pm 11,9	4,0 (1-50)			7,1 \pm 10,9	4,0 (0-50)

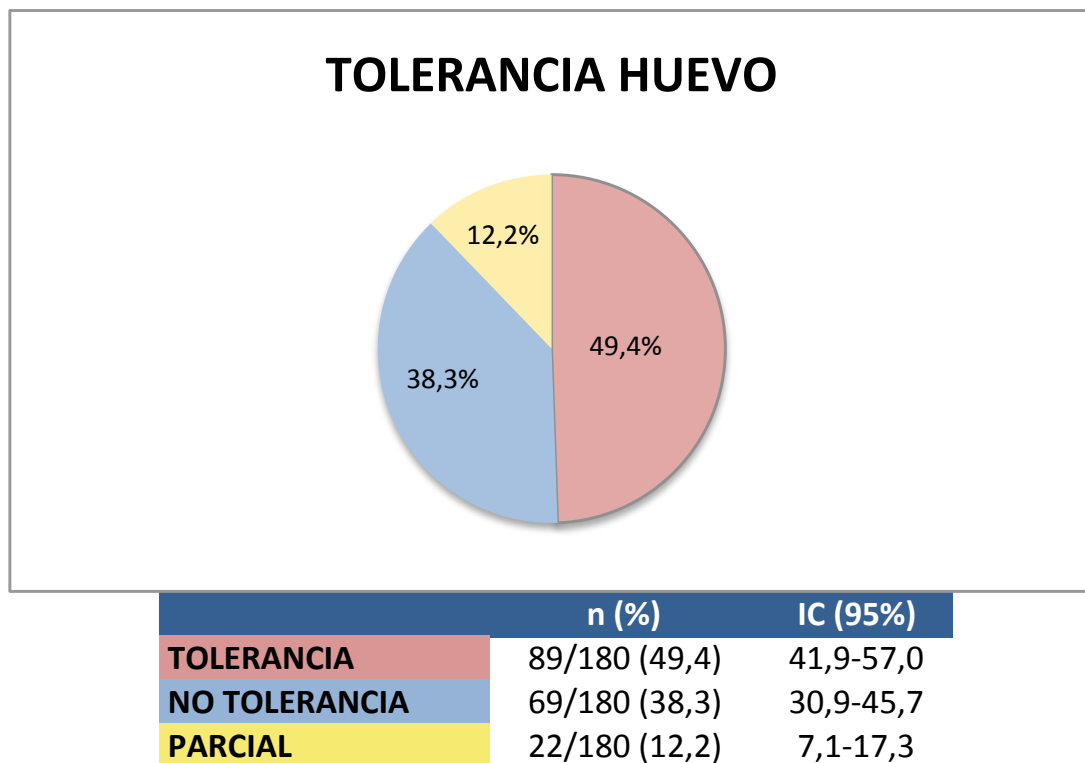
Una representación esquemática de la historia evolutiva de los pacientes con AA al huevo de nuestra población se expone en la Figura 4.

Figura 4. Procesos temporales desde el inicio de los síntomas hasta la constatación de desarrollo de tolerancia al huevo. En cada uno de ellos se expresa la media±desviación típica, así como la mediana y el rango. Los resultados se indican en meses.



Al considerar la evolución de su alergia en nuestro periodo de estudio (Gráfica 7), se aprecia como cerca de la mitad de la población estudiada supera la AA al huevo en dicho periodo. A diferencia de la APLV, existe en este caso un porcentaje de casos más elevado de tolerancia considerada parcial. Tal y como se relató en el apartado Material y Métodos, este grupo está constituido fundamentalmente por pacientes que toleran el huevo en su forma cocinada pero presentan síntomas al administrarlo en forma cruda o poco cocinada.

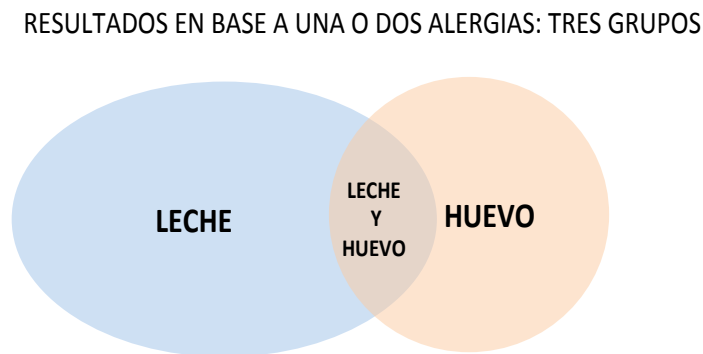
Gráfica 7. Evolución hacia la tolerancia de los pacientes con alergia al huevo.



6.1.3. Grupos poblacionales específicos.

Un análisis más específico, basado el tipo de AA de cada población (Figura 5) permite conocer los siguientes datos.

Figura 5. Esquema de presentación de los resultados en base a si los pacientes se encuentran monosensibilizados a leche o huevo.



A) Alergia a proteínas de leche de vaca exclusiva.

En nuestra población, el grupo que padece de forma exclusiva APLV y no AA al huevo está constituido por 198 pacientes (56,6% niños y 43,4% niñas) con una edad media de inicio de los síntomas de $10,8 \pm 13,4$ meses (mediana: 7,0 meses). En el 94,7% de los casos el antecedente de LM estaba recogido en la historia clínica, con una duración media de la misma en el momento del diagnóstico de $4,8 \pm 3,0$ meses (mediana: 4,0 meses). La presencia de otros rasgos de atopia en el paciente y en sus familiares así como la presencia de otras alergias alimentarias en estos niños aparece reflejado en la Tabla 11.

Tabla 11. Antecedentes de atopia en los pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca exclusiva.

PACIENTES CON ALERGIA A PROTEÍNAS DE LECHE DE VACA EXCLUSIVA		
ANTECEDENTES DE ATOPIA	n (%)	IC (95%)
Otra patología alérgica	47/171 (27,5)	20,5-34,5
Asma bronquial	34/170 (20,0)	13,7-26,3
Dermatitis atópica	14/170 (8,2)	3,8-12,7
Rinoconjuntivitis	19/170 (11,2)	6,1-16,2
Alergia a fármacos	2/170 (1,2)	0,1-4,2
Otras	2/170 (1,2)	0,1-4,2
Otra alergia alimentaria	25/187 (13,4)	8,2-18,5
Pescado	5/187 (2,7)	0,9-6,1
Frutas	2/187 (1,1)	0,1-3,8
Frutos secos	4/187 (2,1)	0,6-5,4
Mariscos	1/187 (0,5)	0,0-2,9
Legumbres	0/187 (0)	0,0-1,9
Otras	4/186 (2,2)	0,6-5,4
Antecedentes familiares atopia	87/140 (62,1)	53,7-70,5
Asma bronquial	48/139 (34,5)	26,3-42,8
Dermatitis atópica	14/138 (10,1)	4,7-15,5
Rinoconjuntivitis	44/139 (31,7)	23,5-39,7
Alergia alimentaria	11/139 (7,9)	3,0-12,7
Otros	8/140 (5,7)	1,5-9,9

La Gráfica 8 hace referencia a las manifestaciones clínicas que presentaron estos pacientes. La sintomatología se presentó tras la ingesta de la proteína de leche de vaca por primera vez en el 29,1% de los casos (50 de 172 pacientes, IC (95%): 21,9-36,1) y ocasionó consultas a la Unidad de Urgencias en el 82,1% de los casos (69 de 84 pacientes).

Por otra parte, el diagnóstico de APLV se basó, además de en las manifestaciones clínicas presentadas, en los resultados de los estudios complementarios que aparecen reflejados en la Tabla 12. Nuevamente, la proteína alfa-lactoalbúmina y el global leche de vaca fueron las determinaciones más elevadas en las pruebas cutáneas intraepidérmicas y en sangre, respectivamente.

Gráfico 8. Manifestaciones clínicas en los pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca exclusiva.

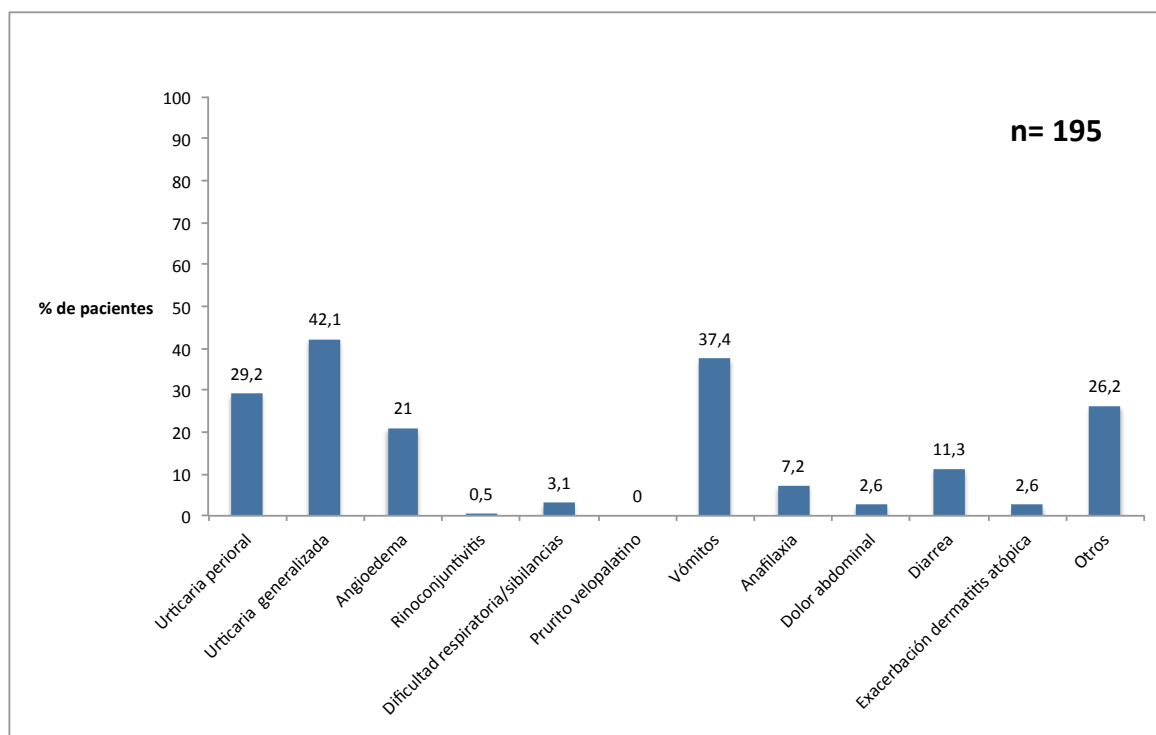
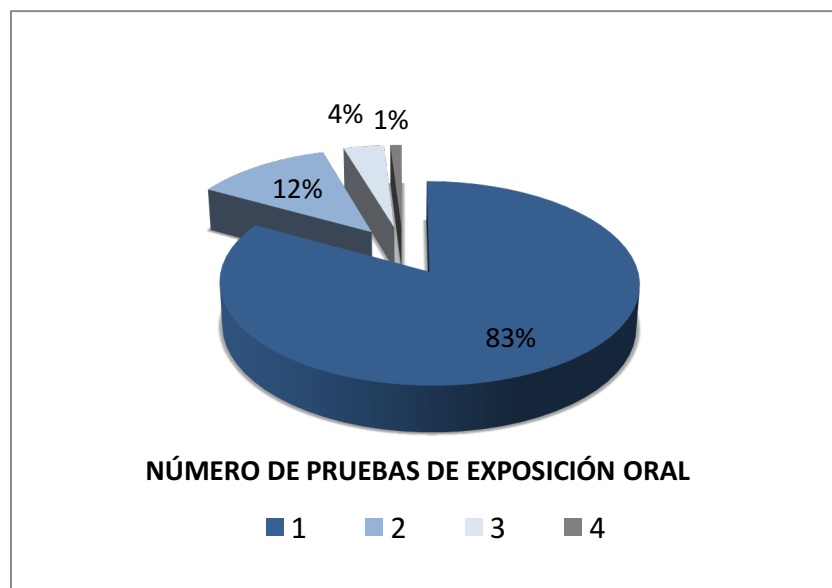


Tabla 12. Pruebas complementarias de los pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca exclusiva en el momento del diagnóstico.

PACIENTES CON ALERGIA A PROTEÍNAS DE LECHE DE VACA EXCLUSIVA				
PRUEBAS COMPLEMENTARIAS	PRUEBAS INTRAEPIDÉRMICAS (mm)		IGE ESPECÍFICA SUERO (kUA/l)	
	Media±dt	Mediana (rango)	Media±dt	Mediana (rango)
Edad de realización (meses)	35,0±32,1	24,5 (2,0-148,0)	11,0±17,8	6,0 (0,0-167,0)
Leche de vaca	3,6±3,9	4,0 (0-16)	5,6±12,8	1,7 (0,0-109,0)
Caseína	2,9± 4,2	0,0 (0-15)	3,1±11,8	0,4 (0-128)
Alfa-lactoalbúmina	8,8± 6,2	8,0 (0-22)	2,8±6,9	0,6 (0,0-64,5)
Betalactoglobulina	6,4± 4,9	6,0 (0-15)	4,5±10,5	0,9 (0,0-79,9)
Seroalbúmina bovina	6,1± 7,7	2,5 (0-21)		
Ternera cruda	3,3± 3,6	3,0 (0-9)		
Ternera cocida	0,0±0,0	0,0 (0-0)		
IgE total (U/ml)			102,2± 171,8	43,9 (2-1275)

Hasta la constatación del desarrollo de tolerancia, el global de este grupo de pacientes fue sometido a una media de $1,2 \pm 0,6$ PEOC abiertas con leche (mediana 1,0; rango 0-4). En la Gráfica 9 se aprecia como en la mayoría de los pacientes se confirma la tolerancia en la primera de las pruebas realizadas.

Gráfica 9. Número de pruebas de exposición oral controlada realizadas en los pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca exclusiva.



Por último, el grupo de pacientes con APLV exclusiva presenta una evolución de su alergia similar al conjunto global de pacientes con APLV. Los resultados relativos a la tolerancia alcanzada, la edad de la misma y el tiempo en alcanzarla tras el diagnóstico aparecen reflejados en la Tabla 13.

Tabla 13. Evolución hacia la tolerancia en los pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca exclusiva.

PACIENTES CON ALERGIA A PROTEÍNAS DE LECHE DE VACA EXCLUSIVA				
VARIABLES	n (%)	IC (95%)	Media±dt	Mediana (rango)
Tolerancia leche				
Alcanzada tolerancia	179/195 (91,8)	87,7-95,9		
Persistencia de la alergia	15/195 (7,7)	3,7-11,7		
Tolerancia parcial	1/195 (0,5)	0,1-2,8		
Edad tolerancia			30,9±20,8	25,0 (9,0-149,0)
Tiempo de tolerancia leche			20,8±19,1	14,0 (0,0-134,0)

B) Alergia alimentaria al huevo exclusiva.

Un total de 131 pacientes (58% niños) padecen AA al huevo sin asociar APLV. En esta población los síntomas tras la ingesta de huevo se presentan a una edad media de 2,7±2,7 años, con una mediana de 2,0 años (rango 0-14). El antecedente de LM estaba presente en la historia clínica en 68 de 82 pacientes (82,9%, IC95%: 74,2-91,7), con una duración total de la misma de 6,2±5,5 meses (mediana 5,0 meses). Como puede apreciarse en la Tabla 14, nuevamente es común la presencia de otras manifestaciones de atopia tanto en los pacientes como en sus familiares, siendo también común la asociación con otras alergias alimentarias.

Tabla 14. Antecedentes de atopia en pacientes con alergia alimentaria al huevo exclusiva.

PACIENTES CON ALERGIA ALIMENTARIA AL HUEVO EXCLUSIVA		
ANTECEDENTES DE ATOPIA	n (%)	IC (95%)
Otra patología alérgica	82/131 (62,6)	53,9-71,3
Asma bronquial	59/131 (45)	36,1-53,9
Dermatitis atópica	36/131 (27,5)	19,4-35,5
Rinoconjuntivitis	46/131 (35,1)	26,5-43,7
Alergia a fármacos	4/131 (3,1)	0,8-7,6
Otras	5/131 (3,8)	1,2-8,7
Otra alergia alimentaria	51/131 (38,9)	30,2-47,7
Pescado	20/131 (15,3)	8,7-21,8
Frutas	11/131 (8,4)	3,3-13,5
Frutos secos	14/131 (10,7)	5,0-16,3
Mariscos	8/131 (6,1)	1,6-10,6
Legumbres	6/131 (4,6)	0,6-8,5
Otras	11/131 (8,4)	3,3-13,5
Antecedentes familiares atopia	91/117 (77,8)	69,8-85,7
Asma bronquial	50/117 (42,7)	33,3-52,1
Dermatitis atópica	10/117 (8,5)	3,0-14,0
Rinoconjuntivitis	48/117 (41)	31,7-50,3
Alergia alimentaria	13/117 (11,1)	4,9-17,2
Otros	5/117 (4,3)	1,4-9,7

La urticaria (perioral y generalizada) y los vómitos constituyen nuevamente la forma de presentación clínica más común en estos pacientes (Gráfica 10). Los síntomas que ocasionaron la sospecha diagnóstica se presentaron tras la primera ingesta del huevo en el 49,5% de los casos (IC 95%: 39,3-59,6) y ocasionaron consulta en urgencias en 21 de los 35 pacientes en los que se reflejó este dato en la historia clínica.

Con respecto a los estudios complementarios realizados en este grupo de pacientes, los resultados de las pruebas cutáneas intraepidérmicas y de la determinación de IgE específica en suero aparecen reflejados en la Tabla 15.

Gráfica 10. Manifestaciones clínicas en los pacientes con alergia al huevo exclusiva.

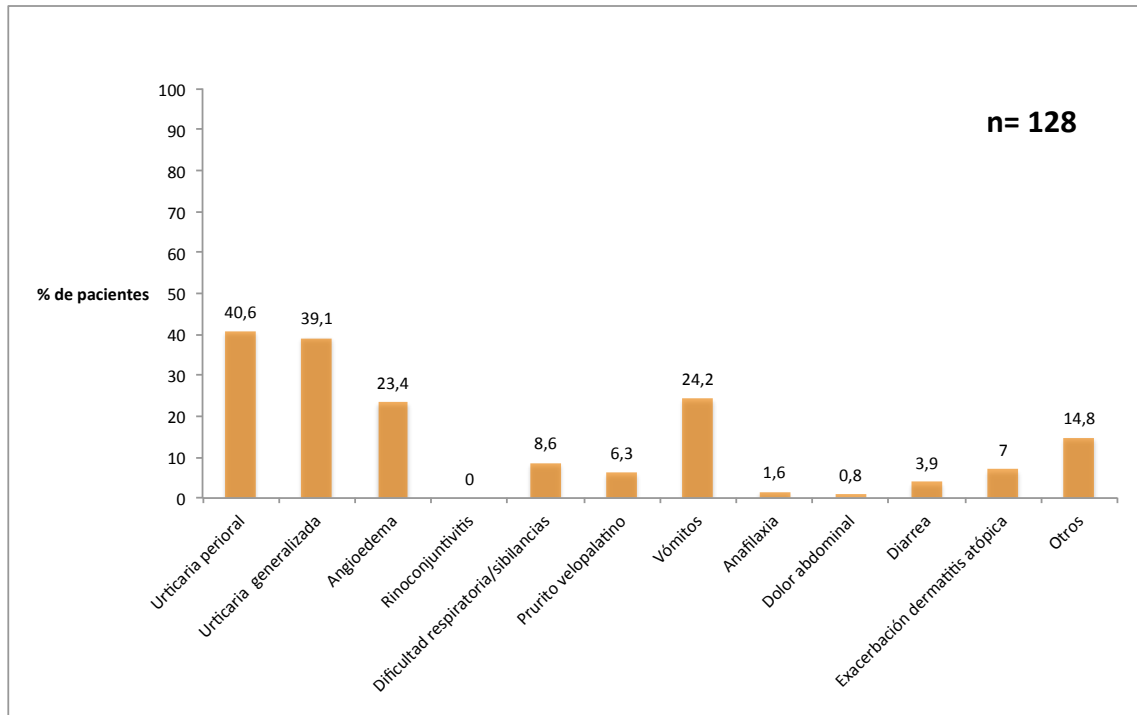
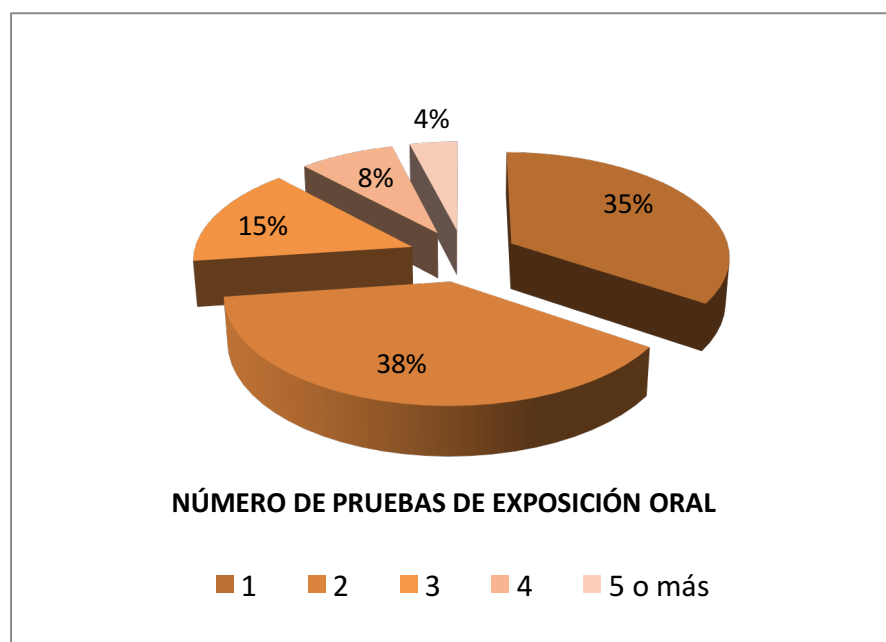


Tabla 15. Pruebas complementarias de los pacientes con alergia al huevo exclusiva en el momento del diagnóstico. La edad de realización se expresa en años.

PACIENTES CON ALERGIA ALIMENTARIA AL HUEVO EXCLUSIVA				
PRUEBAS COMPLEMENTARIAS	PRUEBAS INTRAEPIDÉRMICAS (mm)		IGE ESPECÍFICA SUERO (kUA/I)	
	Media±dt	Mediana (rango)	Media±dt	Mediana (rango)
Edad de realización	3,7±3,3	3,0 (0,0-14,0)	2,7±2,8	2,0 (0,0-16,0)
Clara cruda	9,4±5,7	9,0 (0,0-26,0)	7,1±14,5	2,0 (0,0-100,0)
Clara cocida	7,6±5,6	7,0 (0,0-21,0)		
Yema	5,7±4,2	5,0 (0,0-22,0)	3,3±13,2	0,4 (0,0-100,0)
Ovoalbúmina	7,2±4,5	7,0 (0,0-17,0)	7,7±17,4	1,7 (0,0-100,0)
Ovomucoide	7,7±6,0	9,0 (0,0-21,0)	6,7±17,7	0,7 (0,0-100,0)
IgE total (U/ml)			348,5±594,2	162,0 (3,5-4492,0)

En la evolución de su alergia, en los pacientes con AA al huevo exclusiva se realizan una media de $2,0 \pm 1,1$ PEOC hasta confirmar la ausencia de síntomas tras la ingesta de huevo (mediana de 2,0; rango 0,0-6,0). La Gráfica 11 expone una distribución de este grupo de pacientes en base al número de PEOC con huevo realizadas.

Gráfica 11. Número de pruebas de exposición oral controlada realizadas en los pacientes con alergia al huevo exclusiva.



La evolución de la AA al huevo finaliza en el periodo de estudio con el desarrollo de tolerancia al mismo o con persistencia de la alergia. Existe nuevamente un grupo de pacientes con tolerancia denominada parcial, tal y como se expresa en la Tabla 16.

Tabla 16. Evolución hacia la tolerancia en pacientes con alergia alimentaria al huevo exclusiva.

PACIENTES CON ALERGIA ALIMENTARIA AL HUEVO EXCLUSIVA				
VARIABLES	n (%)	IC (95%)	Media±dt	Mediana (rango)
Tolerancia huevo				
Alcanzada tolerancia	64/131 (48,9)	39,9-57,8		
Persistencia de la alergia	50/131 (38,2)	29,5-46,9		
Tolerancia parcial	17/131 (13,0)	6,8-19,1		
Edad tolerancia (años)			6,00±3,50	5,0 (1,00-16,00)
Tiempo de tolerancia huevo (años)			3,07±2,83	2,00 (0,00-12,00)

C) Alergia alimentaria a proteínas de leche de vaca y huevo.

En la población de pacientes con AA al huevo y APLV existen pacientes con ambas alergias. Este grupo está constituido por un total de 49 sujetos (59,2% niños y 40,8% niñas). En este caso, la edad media de inicio de los síntomas tras la ingesta de leche fue de 5,1±4,1 meses (mediana 4,2 meses) y tras la ingesta de huevo de 14,9±5,6 meses (mediana de 12,0 meses).

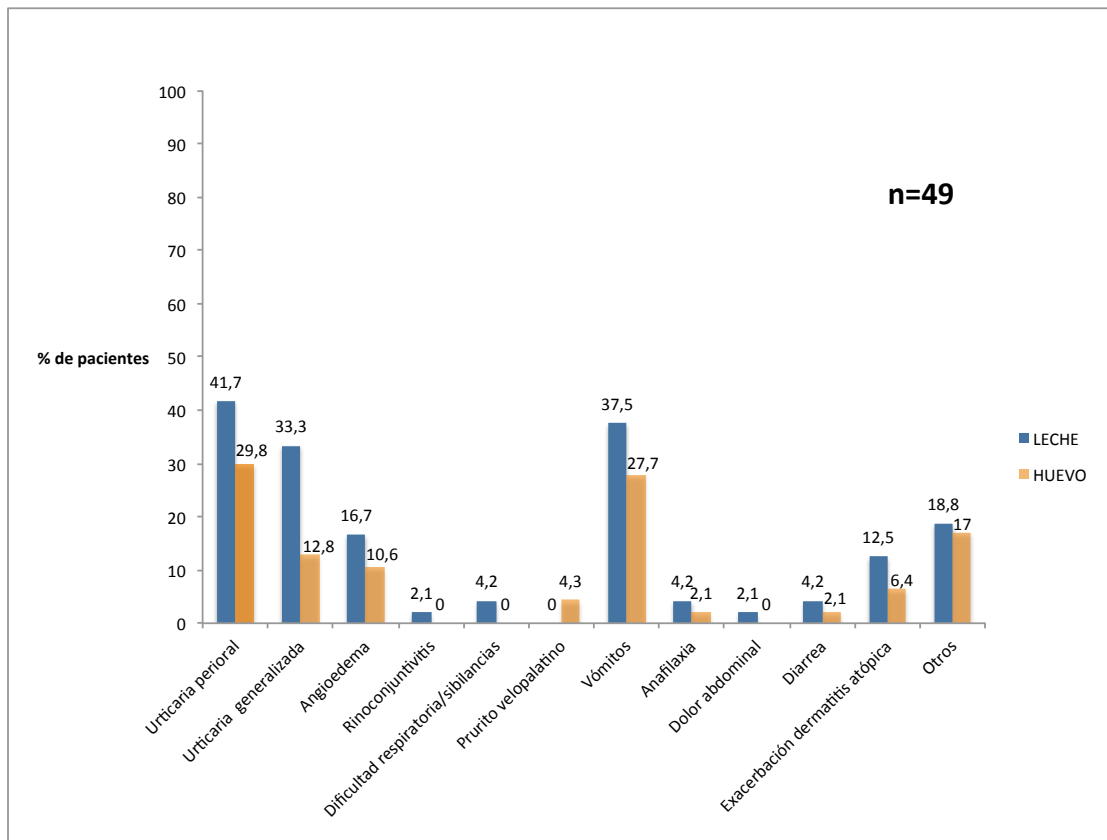
Los datos de la Tabla 17 muestran la presencia de otras manifestaciones de atopia en estos niños y en sus familiares. La asociación con otras alergias alimentarias está presente en todos los pacientes del grupo salvo en uno. En este caso, los alérgenos más frecuentemente implicados son diversos, siendo los más frecuentes los frutos secos, seguidos en frecuencia por el pescado y el marisco.

Tabla 17. Antecedentes personales y familiares de atopia en los pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca y alergia al huevo.

PACIENTES CON ALERGIA A PROTEÍNAS DE LECHE DE VACA Y AL HUEVO		
ANTECEDENTES DE ATOPIA	n (%)	IC (95%)
Otra patología alérgica	33/46 (71,7)	57,6-85,8
Asma bronquial	23/46 (50,0)	34,5-65,5
Dermatitis atópica	13/46 (28,3)	14,2-42,4
Rinoconjuntivitis	16/46 (34,8)	19,9-49,6
Alergia a fármacos	0/46 (0,0)	0,0-7,7
Otras	0/46 (0,0)	0,0-7,7
Otra alergia alimentaria	48/49 (98,0)	89,1-99,9
Pescado	8/49(16,3)	4,9-27,7
Frutas	7/49 (14,3)	3,5-25,1
Frutos secos	9/49 (18,4)	6,5-30,2
Mariscos	8/49 (16,3)	4,9-27,7
Legumbres	2/49 (4,1)	0,5-14,0
Otras	9/49 (18,4)	6,5-30,2
Antecedentes familiares atopia	35/45 (77,8)	64,5-91,0
Asma bronquial	17/45 (37,8)	22,5-53,0
Dermatitis atópica	9/45 (20,0)	7,2-32,8
Rinoconjuntivitis	21/45 (46,7)	31,0-62,3
Alergia alimentaria	7/45 (15,6)	3,8-27,2
Otros	4/45 (8,9)	2,5-21,2

La sintomatología clínica en el caso de la APLV y la AA al huevo adopta un patrón con similitudes y diferencias, tal y como puede verse reflejado en la Gráfica 12. Los síntomas se presentaron tras la primera ingesta de leche en el 50% de los pacientes (IC 95%: 33,7-66,3) y en la primera vez que los pacientes tomaban huevo en el 31,3% (IC 95%: 13,6-48,9). Los pacientes consultaron en urgencias por dichos síntomas en el 55% de los casos tras la ingesta de proteína de leche de vaca (IC 95%: 31,5-76,9); sin embargo no constan consultas en urgencias por dichos síntomas tras la ingesta de huevo en este grupo de pacientes.

Gráfica 12. Manifestaciones clínicas en los pacientes con alergia alimentaria a leche y a huevo frente a la ingesta de estos alimentos.



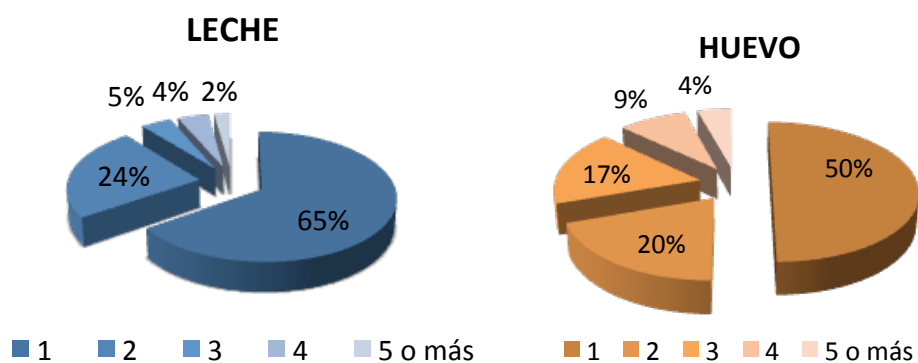
El resultado de las pruebas complementarias realizadas a los pacientes con APLV y AA al huevo se indica en la Tabla 18. En ella se aprecia como, en el caso de la APLV, nuevamente la fracción leche de vaca presenta las cifras más elevadas tanto en su determinación en las pruebas cutáneas como en la IgE sérica específica. Del mismo modo, en el caso de la AA al huevo, la clara (cruda en el caso de las pruebas cutáneas) es la fracción con niveles más elevados.

Tabla 18. Pruebas complementarias al diagnóstico para leche y para huevo en los pacientes que asocian alergia a proteínas de leche de vaca y alergia al huevo.

PACIENTES CON ALERGIA A PROTEÍNAS DE LECHE DE VACA Y AL HUEVO				
PRUEBAS COMPLEMENTARIAS AL DIAGNÓSTICO	PRUEBAS INTRAEPIDÉRMICAS (mm)		IGE ESPECÍFICA SUERO (kUA/l)	
	Media±dt	Mediana (rango)	Media±dt	Mediana (rango)
Edad de realización (meses)	29,1±18,3	26,5 (3,0-77,0)	10,1±9,2	7,5 (1,0-49,0)
Leche de vaca	6,9±5,2	7,0 (0-20)	7,8±11,5	4,1 (0,0-61,1)
Caseína	2,3±3,7	0,0 (0-12)	5,2±11,7	0,0 (0,0-52,2)
Alfa-lactoalbúmina	9,5±5,6	0,0 (0-23)	3,3±5,1	0,7 (0,0-23,2)
Betalactoglobulina	8,6±5,3	9,0 (0-22)	4,3±6,9	1,4 (0,0-24,0)
Seroalbúmina bovina	0,0±6,5	9,0 (0-22)		
Ternera cruda	3,0±3,6	3,0 (0-11)		
Ternera cocida	0±0,0	0,0 (0-0)		
IgE total (U/ml)			161,6±164,4	90,3 (5,7-642,0)
Edad de realización (años)	2,2±1,6	2,0 (0,0-6,0)	1,1±0,9	1,0 (0,0-4,0)
Clara cruda	8,1±3,8	8,5 (0,0-14,0)	10,1±16,3	3,4 (0,0-87,9)
Clara cocida	6,0±5,0	6,0 (0,0-16,0)		
Yema	5,3±3,3	6,0 (0,0-16,0)	2,3±5,1	0,5 (0,0-25,8)
Ovoalbúmina	6,9±3,1	6,5 (0,0-12,0)	6,7±7,8	4,1 (0,68-24,4)
Ovomucoide	5,1±5,2	4,0 (0,0-16,0)	1,6±2,9	0,0 (0,0-8,2)

En este grupo de pacientes, la tolerancia a la proteína de leche de vaca y al huevo se constata en la mitad o más de los casos en la primera PEOC realizada. Los datos de la Gráfica 13 indican además el número de PEOC necesarias en cada alergia y la distribución de los pacientes en base a dichas pruebas de exposición. Del mismo modo, la Tabla 19 hace referencia los resultados de tolerancia a cada uno de los alérgenos alcanzados en este grupo poblacional.

Gráfica 13. Número de pruebas de exposición oral controlada realizadas en los pacientes a lo largo del seguimiento evolutivo en los pacientes con las dos alergias alimentarias.



	LECHE		HUEVO	
NÚMERO PRUEBAS	Media±dt	Mediana (rango)	Media±dt	Mediana (rango)
	1,5±0,9	1,0 (1,0-5,0)	2,0±1,2	1,5 (1,0-5,0)

Tabla 19. Evolución hacia la tolerancia a leche y huevo en los pacientes con ambas alergias. La edad de tolerancia y el tiempo en alcanzar la tolerancia se expresan en meses en el caso de la leche y en años en el caso del huevo.

VARIABLES	LECHE				HUEVO			
	n (%)	IC(95%)	Media±dt	Mediana(rango)	n (%)	IC(95%)	Media±dt	Mediana(rango)
Tolerancia								
Alcanzada tolerancia	34/48(70,8)	56,9-84,7			25/49(51,0)	36,0-66,0		
Persistencia de la alergia	13/48(27,1)	13,5-40,7			19/49 (38,8)	24,1-53,4		
Tolerancia parcial	1/48(2,1)	0,1-11,1			5/49 (10,2)	3,4-22,2		
Edad tolerancia			38,59±19,21	36,00 (8,00-79,00)			4,04±1,91	4,00 (1,00-9,00)
Tiempo tolerancia			28,86±18,41	25,00 (0,00-71,00)			3,26±2,05	3,00 (0,00-8,00)

6.1.4. Comparaciones en tres grupos: sólo leche, sólo huevo y leche + huevo.

Al categorizar a los pacientes en base al tipo de alergia que padecen y si se encuentran o no monosensibilizados se obtienen los siguientes resultados.

Con respecto al sexo (Tabla 20), no se aprecian diferencias significativas entre los niños y niñas en base al tipo de AA y a si se encuentran monosensibilizados o no. Sin embargo, el antecedente de LM es significativamente más frecuente en los pacientes con APLV, tanto en su comparación exclusiva frente al huevo (sólo leche vs sólo huevo) como en el grupo que padece las dos AA al compararlo con el huevo. La duración de la LM en el momento del diagnóstico es también significativamente superior en el caso de los pacientes monosensibilizados a leche frente al grupo de monosensibilizados al huevo.

Tabla 20. Comparaciones en sexo y lactancia materna en función del tipo de alergia alimentaria.

	SOLO LECHE	SOLO HUEVO		SOLO LECHE	LECHE+HUEVO		SOLO HUEVO	LECHE+HUEVO	
VARIABLES	n (%)	n (%)	p	n(%)	n (%)	p	n(%)	n(%)	p
Sexo			0,795			0,740			0,887
Niño	112 (56,6)	76 (58,0)		112 (56,6)	29 (59,2)		76 (58,0)	29 (59,2)	
Niña	86 (43,4)	55 (42,0)		86 (43,4)	20 (40,8)		55 (42,0)	20 (40,8)	
Lactancia materna	178 (94,7)	68 (82,9)	0,002	178 (94,7)	43 (95,6)	1,000	68 (82,9)	43 (95,6)	0,040
	Media±dt	Media±dt	p	n(%)	n(%)		Media±dt	Media±dt	p
Duración lactancia materna (meses)	4,8±3,0	6,2±5,5	0,058	4,8±3,0	6,2±4,7	0,077	6,2±5,5	6,2±4,7	0,960

Al realizar valoraciones en las tres categorías en el ámbito de la presencia de otras patologías alérgicas en los niños o en sus familiares nuevamente encontramos diferencias (Tabla 21). En la comparación entre pacientes monosensibilizados (sólo leche vs sólo huevo) se aprecia como los pacientes con AA sólo al huevo tienen más frecuentemente otra patología alérgica y otras alergias alimentarias que los que tienen APLV exclusiva. Estas diferencias persisten en el caso de los antecedentes familiares de atopía, excepto en el caso de los antecedentes familiares de dermatitis atópica y otras alergias, que son más frecuentes en el grupo de la leche sin alcanzar diferencias significativas. Por otra parte, la comparación de pacientes monosensibilizados a leche o huevo frente a los pacientes con ambas alergias indica que los pacientes con las dos patologías tienen más frecuentemente otra patología alérgica y otras alergias alimentarias. Estas diferencias no se objetivan en los dos únicos casos de alergia a fármacos u otras alergias en los niños con APLV, ni en los casos de rinoconjuntivitis en el niño y los AF de atopía y asma bronquial en la familia, que son más frecuentes en el grupo de monosensibilizados a leche y huevo respectivamente.

Tabla 21. Asociaciones entre otros rasgos de atopia personales y familiares en función del tipo de alergia alimentaria.

	SOLO LECHE	SOLO HUEVO		SOLO LECHE	LECHE+HUEVO		SOLO HUEVO	LECHE+HUEVO	
ANTECEDENTES ATOPIA	n (%)	n (%)	p	n(%)	n(%)	p	n(%)	n(%)	p
Otra patología alérgica	47 (27,5)	82 (62,6)	<0,001	47 (27,5)	33 (71,7)	<0,001	82 (62,6)	33 (71,7)	0,263
Asma bronquial	34 (20,0)	59 (45,0)	<0,001	34 (20,0)	23 (50,0)	<0,001	59 (45,0)	23 (50,0)	0,562
Dermatitis atópica	14 (8,2)	36 (27,5)	<0,001	14 (8,2)	13 (28,3)	<0,001	36 (27,5)	13 (28,3)	0,919
Rinoconjuntivitis	19 (11,2)	46 (35,1)	<0,001	19 (11,2)	16 (34,8)	<0,001	46 (35,1)	16 (34,8)	0,968
Alergia a fármacos	2 (1,2)	4 (3,1)	0,409	2 (1,2)	0 (0,0)	1,000	4 (3,1)	0 (0,0)	0,574
Otras	2 (1,2)	5 (3,8)	0,246	2 (1,2)	0 (0,0)	1,000	5 (3,8)	0 (0,0)	0,329
Otra alergia alimentaria	25 (13,4)	51 (38,9)	<0,001	25 (13,4)	48 (98,0)	<0,001	51 (38,9)	48 (98,0)	<0,001
Pescado	5 (2,7)	20 (15,3)	<0,001	5 (2,7)	8 (16,3)	0,001	20 (15,3)	8 (16,3)	0,861
Frutas	2 (1,1)	11 (8,4)	0,001	2 (1,1)	7 (14,3)	<0,001	11 (8,4)	7 (14,3)	0,268
Frutos secos	4 (2,1)	14 (10,7)	0,001	4 (2,1)	9 (18,4)	<0,001	14 (10,7)	9 (18,4)	0,169
Mariscos	1 (0,5)	8 (6,1)	0,004	1 (0,5)	8 (16,3)	<0,001	8 (6,1)	8 (16,3)	0,041
Legumbres	0 (0,0)	6 (4,6)	0,005	0 (0,0)	2 (4,1)	0,043	6 (4,6)	2 (4,1)	1,000
Otras	4 (2,2)	11 (8,4)	0,010	4 (2,2)	9 (18,4)	<0,001	11 (8,4)	9 (18,4)	0,058
Antecedentes familiares atopia	87 (62,1)	91 (77,8)	0,007	87 (62,1)	35 (77,8)	0,054	91 (77,8)	35 (77,8)	1,000
Asma bronquial	48 (34,5)	50 (42,7)	0,179	48 (34,5)	17 (37,8)	0,692	50 (42,7)	17 (37,8)	0,566
Dermatitis atópica	14 (10,1)	10 (8,5)	0,663	14 (10,1)	9 (20,0)	0,083	10 (8,5)	9 (20,0)	0,042
Rinoconjuntivitis	44 (31,7)	48 (41,0)	0,120	44 (31,7)	21 (46,7)	0,067	48 (41,0)	21 (46,7)	0,515
Alergia a fármacos	11 (7,9)	13 (11,1)	0,382	11 (7,9)	7 (15,6)	0,152	13 (11,1)	7 (15,6)	0,441
Otros	8 (5,7)	5 (4,3)	0,600	8 (5,7)	4 (8,9)	0,490	5 (4,3)	4 (8,9)	0,265

Las manifestaciones clínicas de la APLV presentan diferencias en base a si los pacientes se encuentran monosensibilizados a la leche o asocian además AA al huevo (Tabla 22). Los síntomas: urticaria generalizada, angioedema y diarrea se presentan con más frecuencia en los pacientes monosensibilizados a la leche; mientras que la urticaria perioral, la rinoconjuntivitis y la dificultad respiratoria son más frecuentes en los niños que padecen las dos alergias. Estas diferencias sólo alcanzan la significación estadística en el caso de la exacerbación de la dermatitis atópica, más frecuente en pacientes con las dos alergias. Por otra parte, los síntomas tras la ingesta de leche se desencadenan significativamente con más frecuencia tras la primera ingesta en los pacientes con ambas alergias, siendo en este caso también más común que dichos síntomas ocasionen una consulta en urgencias.

Del mismo modo, la sintomatología en la AA al huevo también ofrece diferencias en relación a la presencia de APLV asociada o no. Los pacientes con AA al huevo exclusiva presentan los síntomas con más frecuencia la primera vez que ingieren el alimento y consultan más en urgencias por ello. Es más común también en este grupo la presencia de urticaria generalizada y dificultad respiratoria, alcanzando todos estos resultados la significación estadística.

Los estudios complementarios realizados aparecen reflejados en la Tabla 23. En el caso de los pacientes con APLV no se aprecian diferencias significativas en base a si los pacientes asocian o no AA al huevo. Las pruebas cutáneas intraepidérmicas para leche de vaca y fracciones presentan niveles superiores o inferiores en cada grupo en función de la fracción estudiada. En las determinaciones en sangre, se aprecian niveles superiores de IgE sérica total y de las distintas fracciones de leche de vaca en los pacientes con las dos alergias, excepto en el caso de la betalactoglobulina.

Tabla 22. Diferencias entre manifestaciones clínicas en pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca y alergia al huevo en función de si se encuentran monosensibilizados a la leche o asocian alergia al huevo.

	ALERGIA A PROTEÍNAS LECHE DE VACA			ALERGIA AL HUEVO		
	SOLO LECHE	LECHE+HUEVO		SOLO HUEVO	LECHE+HUEVO	
	Media±dt	Media±dt	p	Media±dt	Media±dt	p
Edad de los síntomas	5,0±4,2	5,1±4,1	0,890	13,9±5,2	14,9±5,6	0,383
	n(%)	n(%)	p	n(%)	n(%)	p
Clínica en la primera ingesta	50 (29,1)	21 (50,0)	0,010	51 (49,5)	10 (31,3)	0,070
Consulta en urgencias	69 (82,1)	11 (55,0)	0,010	21 (60,0)	0 (0,0)	0,001
Síntomas al diagnóstico						
Urticaria perioral	57 (29,2)	20 (41,7)	0,097	52 (40,6)	14 (29,8)	0,190
Urticaria generalizada	82 (42,1)	16 (33,3)	0,270	50 (39,1)	6 (12,8)	0,001
Angioedema	41 (21,0)	8 (16,7)	0,500	30 (23,4)	5 (10,6)	0,061
Rinoconjuntivitis	1 (0,5)	1 (2,1)	0,357	0 (0,0)	0 (0,0)	
Dificultad respiratoria/sibilancias	6 (3,1)	2 (4,2)	0,659	11 (8,6)	0 (0,0)	0,038
Prurito velopalatino	0 (0,0)	0 (0,0)	-	8 (6,3)	2 (4,3)	1,000
Vómitos	73 (37,4)	18 (37,5)	0,993	31 (24,2)	13 (27,7)	0,642
Anafilaxia	14 (7,2)	2 (4,2)	0,745	2 (1,6)	1 (2,1)	1,000
Dolor abdominal	5 (2,6)	1 (2,1)	1,000	1 (0,8)	0 (0,0)	1,000
Diarrea	22 (11,3)	2 (4,2)	0,181	5 (3,9)	1 (2,1)	1,000
Exacerbación dermatitis atópica	5 (2,6)	6 (12,5)	0,009	9 (7,0)	3 (6,4)	1,000
Otros	51 (26,2)	9 (18,8)	0,287	19 (14,8)	18 (38,3)	0,001

Tabla 23. Diferencias en las pruebas complementarias en pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca en función de si se encuentran monosensibilizados a la leche o asocian alergia al huevo.

ALERGIA A PROTEÍNAS DE LECHE DE VACA						
VARIABLES	PRUEBAS INTRAEPIDÉRMICAS (mm)			IGE SÉRICA (kUA/I)		
	SOLO LECHE	LECHE+HUEVO		SOLO LECHE	LECHE+HUEVO	
	Media±dt	Media±dt	p	Media±dt	Media±dt	p
Edad de realización	35,0±32,1	29,1±18,3	0,360	11,0±17,8	10,1±9,2	0,722
Leche de vaca	3,6±3,9	6,9±5,2	0,006	5,5±12,8	7,8±11,5	0,287
Caseína	2,9±4,2	2,3±3,7	0,573	3,1±11,8	5,2±11,7	0,310
Alfa lactoalbúmina	8,8±6,2	9,5±5,6	0,645	2,8±6,9	3,3±5,1	0,644
Beta lactoglobulina	6,4±4,9	8,6±5,3	0,140	4,5±10,5	4,3±6,9	0,926
Seroalbúmina bovina	6,1±7,7	4,2±6,5	0,544			
Ternera cruda	3,3±3,6	3,0±3,6	0,840			
IgE total (U/ml)				102,2±171,8	161,6±164,4	0,085

Sin embargo, al considerar las pruebas complementarias realizadas en el caso de la AA al huevo (Tabla 24) sí que se aprecian diferencias en base a la monosensibilización o no a este alérgeno. En este sentido, los pacientes con AA al huevo exclusiva presentan valores superiores de las pruebas cutáneas intraepidérmicas, siendo este resultado significativo en el caso del ovomucoide. También presentan niveles más elevados, aunque no significativamente, en la determinación de IgE sérica total y las diferentes fracciones, excepto en el caso de la IgE sérica para clara de huevo, que es superior en el caso de asociar ambas alergias alimentarias. Cabe considerar que los pacientes que padecen AA al huevo y APLV presentan una edad significativamente menor en el momento de realizar las pruebas para el huevo.

Tabla 24. Diferencias en las pruebas complementarias en pacientes con alergia al huevo en función de si se encuentran monosensibilizados al huevo o asocian alergia a proteínas de leche de vaca.

ALERGIA AL HUEVO						
VARIABLES	PRUEBAS INTRAEPIDÉRMICAS (mm)		p	IGE SÉRICA (kUA/l)		p
	SOLO HUEVO	LECHE+HUEVO		SOLO HUEVO	LECHE+HUEVO	
	Media±dt	Media±dt		Media±dt	Media±dt	
Edad de realización (años)	3,7±3,3	2,2±1,6	<0,001	2,7±2,8	1,1±0,9	<0,001
Clara cruda	9,4±5,7	8,1±3,8	0,128	7,1±14,5	10,1±16,3	0,262
Clara cocida	7,6±5,5	6,0±5,0	0,200			
Yema	5,7±4,2	5,3±3,3	0,630	3,3±13,2	2,3±5,1	0,708
Ovoalbúmina	7,2±4,5	6,9±3,1	0,754	7,7±17,4	6,7±7,8	0,867
Ovomucoide	7,7±6,0	5,1±5,2	0,039	6,7±17,7	1,6±2,9	0,426
IgE total (U/ml)				348,5±594,2	222,0±273,1	0,215

En la Tabla 25 se aprecia como el número de PEOC para leche antes de alcanzar la tolerancia es superior en los pacientes con AA doble que en los monosensibilizados a leche de vaca, alcanzando resultados significativos tanto en el número medio de PEOC con leche realizadas como en el porcentaje de pacientes que necesitan dos o más PEOC antes de confirmar el desarrollo de tolerancia. Por el contrario, esta situación no se objetiva en el caso de la alergia al huevo, donde no se aprecian diferencias significativas en el número medio de provocaciones realizadas entre los grupos "sólo huevo" y "leche + huevo" siendo en este caso superior el número de pacientes que precisan sólo una PEOC para huevo en el grupo con ambas alergias alimentarias.

Tabla 25. Comparación entre el número de pruebas de exposición oral controlada en los pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca y alergia al huevo en función de si se encuentran monosensibilizados o no.

VARIABLES	ALERGIA A PROTEÍNAS DE LECHE DE VACA			ALERGIA AL HUEVO		
	SOLO LECHE	LECHE+HUEVO		SOLO HUEVO	LECHE+HUEVO	
	Media±dt	Media±dt		Media±dt	Media±dt	
Número de pruebas	1,2±0,5	1,5±0,9	0,028	2,0±1,1	2,0±1,2	0,199
	n(%)	n(%)		n(%)	n(%)	
1 prueba	163 (83,2)	39 (65,2)	0,006	43 (34,4)	82 (65,6)	0,063
2 o más pruebas	33 (16,8)	16 (34,8)		23 (50,0)	23 (50,0)	

La comparación del pronóstico en términos de tolerancia de ambas alergias permite conocer como la alergia al huevo presenta un curso más desfavorable en el tiempo que la APLV (Tabla 26). En este sentido, el número de pacientes que no alcanzan la tolerancia o la consiguen únicamente de un modo parcial en el periodo de estudio es significativamente superior en el caso de la AA al huevo que en la alergia a la proteína de leche de vaca. La tolerancia a la leche también adquiere un patrón diferenciado en el caso de que los pacientes se encuentren o no monosensibilizados, presentando cifras significativamente más elevadas de tolerancia en el caso de que los pacientes presenten alergia a la leche de manera exclusiva frente a la asociación de ambas alergias. Este patrón de tolerancia en función de la monosensibilización a un alérgeno o a dos no se aprecia en el caso de la AA al huevo.

Tabla 26. Evolución hacia la tolerancia en pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca, alergia alimentaria al huevo y ambas.

	TOLERANCIA LECHE	TOLERANCIA HUEVO		TOLERANCIA A LA LECHE			TOLERANCIA AL HUEVO		
	SOLO LECHE	SOLO HUEVO		SOLO LECHE	LECHE+HUEVO		SOLO HUEVO	LECHE+HUEVO	
TOLERANCIA	n (%)	n (%)	p	n (%)	n (%)	p	n (%)	n (%)	p
No tolerancia	15/195 (7.7)	50/131 (38.2)	<0.001	15/195 (7.7)	13/48 (27.1)	<0.001	50/131 (38.2)	19/49 (38.8)	0,922
Tolerancia	179/195 (91.8)	64/131 (48.9)	<0.001	179/195 (91.8)	34/48 (70.8)	<0.001	64/131 (48.8)	25/49 (51.0)	0,156
Tolerancia parcial	1/195 (0.5)	17/131 (13,0)	<0.001	1/195 (0.5)	1/48 (2.1)	0,851	17/131 (13.0)	5/49 (10.2)	0,803

6.2. Capacidad predictiva de pruebas diagnósticas.

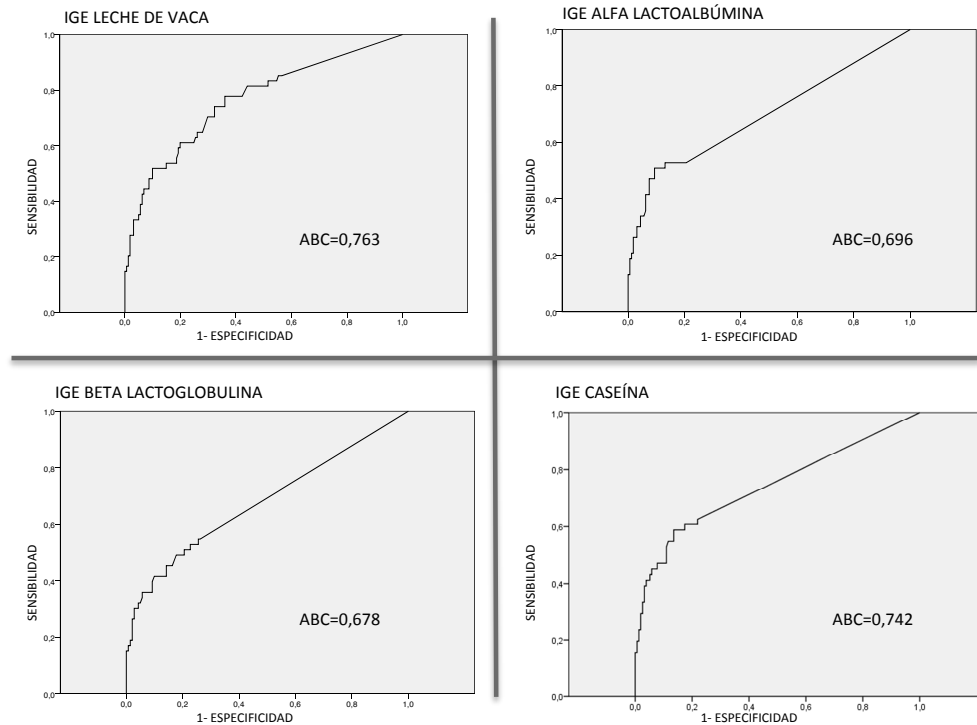
La determinación sérica de IgE específica para las distintas fracciones de leche y huevo constituye una prueba diagnóstica habitual en el estudio de los pacientes con alergia a alimentos. Este objetivo tiene como finalidad conocer la capacidad predictiva de dichas determinaciones sanguíneas en el diagnóstico de la alergia. Para ello, tal y como se expuso en el apartado Material y Métodos, se utiliza como prueba de referencia para el diagnóstico de la alergia la PEOC con el alimento implicado. En nuestro estudio se han utilizado las diferentes pruebas de exposición que se han ido realizando a los pacientes a lo largo del curso evolutivo de sus enfermedad, confrontando estos resultados con los de las IgE específicas realizadas antes de cada prueba. Se excluyen en este análisis la valoración de los resultados en los que entre la PEOC y la analítica haya transcurrido más de un año.

6.2.1. Curvas ROC y puntos de IgE específica en pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca.

En la Figura 6 se exponen las curvas ROC con sus correspondientes áreas bajo la curva (ABC) para las determinaciones de IgE específica: leche de vaca, alfa-lactoalbúmina, betalactoglobulina y caseína. Como puede apreciarse, en nuestro estudio la determinación de IgE para leche de vaca es la prueba diagnóstica que muestra un área bajo la curva mayor, seguida de la determinación de caseína sin diferencias significativas entre ellas.

En el caso de la leche de vaca, el hecho de que área bajo la curva para predecir la capacidad diagnóstica de APLV de la determinación de IgE sea 0.763 quiere decir que en el 76,3% de los casos un individuo aleatoriamente elegido entre los enfermos (pacientes con APLV) da un resultado más anormal en la prueba que un sujeto aleatoriamente elegido entre los sanos (que tolere dicho alimento).

Figura 6. Curvas ROC para las diferentes fracciones de IgE específica de la leche de vaca.



ABC: área bajo la curva.

Posteriormente se analizan los valores de dichas determinaciones de IgE específica, mostrándose en la Tabla 27 los puntos de corte con mayor sensibilidad y especificidad para cada una de ellas. Se calcula igualmente el índice Youden, los valores predictivos positivo y negativo así como los cocientes de probabilidad.

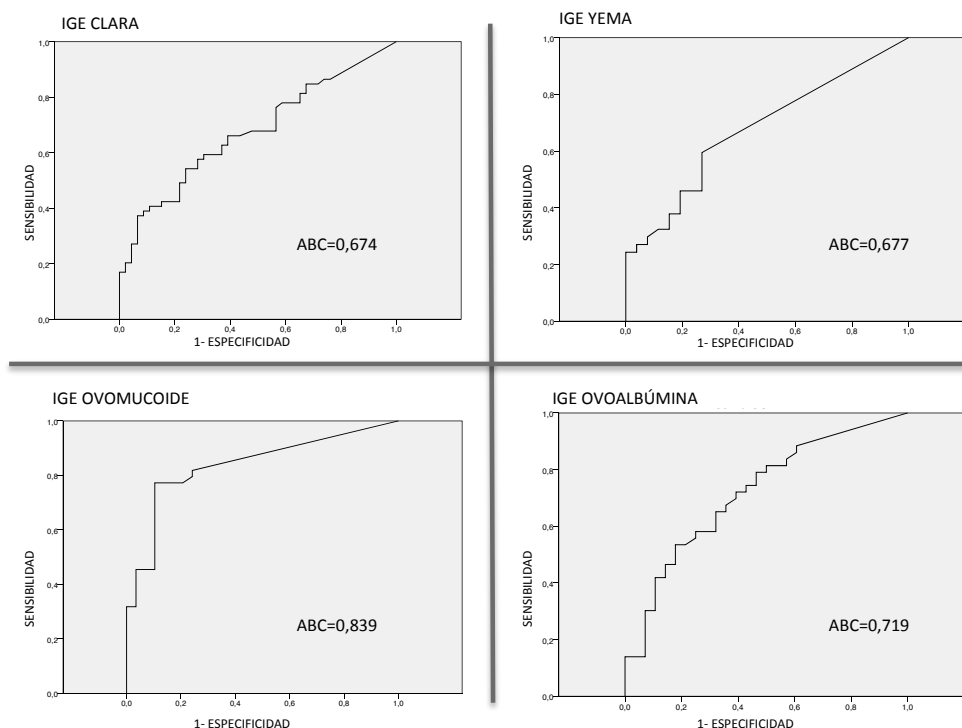
Tabla 27: Capacidad predictiva para el diagnóstico de alergia de las diferentes determinaciones de IgE específica para leche de vaca.

	IGE LECHE DE VACA		IGE ALFA LACTOALBÚMINA		IGE BETALACTOGLOBULINA		IGE CASEÍNA	
		IC (95%)		IC (95%)		IC (95%)		IC (95%)
Índice Youden	0.419		0.416		0.316		0.453	
Pto de corte	1.785		0.675		0.800		0.615	
AUC	0.763	0,684;0,842	0.696	0,604;0,788	0.678	0,585;0,771	0.742	0,653;0,831)
Sensibilidad	52.38	(39.25 - 65.51)	51,61	(38,37 - 64,86)	43,33	(29,96 - 56,71)	63,33	(50,31 - 76,36)
Especificidad	89.57	(84.57 - 94.57)	90,24	(85,40 - 95,09)	89,66	(84,35 - 94,96)	86,08	(80,36 - 91,79)
VPP	66.00	(51.87 - 80.13)	66,67	(52,29 - 81,04)	63,41	(47,45 - 79,38)	63,33	(50,31 - 76,36)
VPN	82.95	(77.12 - 88.79)	83,15	(77,37- 88,93)	79,27	(72,76 - 85,78)	86,08	(80,36 - 91,79)
Índice validez	79.20	(73.69 - 84.72)	79,65	(74,18 - 85,12)	76,10	(70,02 - 82,18)	79,82	(74,26 - 85,37)
CPP	5,02	(3,02-8,359	5,29	(3,13-8,94)	4,19	(2,39-7,33)	4,55	(2,95-7,01)
CPN	0,53	(0,41-0,69)	0,54	(0,41-0,70)	0,63	(0,50-0,79)	0,43	(0,30-0,60)

6.2.2. Curvas ROC y puntos de corte de IgE específica en pacientes con alergia alimentaria al huevo.

En el caso de la AA al huevo, nuevamente se exponen en la Figura 7 las curvas ROC de las diferentes determinaciones de IgE específica. En este caso, la determinación que alcanza un ABC mayor es la IgE específica de ovomucoide. Tal y como puede apreciarse en la Tabla 28, el punto de corte de 0,485kUA/l para ovomucoide muestra una sensibilidad del 76,8% y una especificidad del 91,2% para predecir el diagnóstico de alergia, con un valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) del 93,5% y 70,4% respectivamente. De este modo, la determinación de IgE para ovomucoide es la que mejor predice el diagnóstico de alergia al huevo entre las cuatro estudiadas.

Figura 7. Curvas ROC para las diferentes fracciones de IgE específica del huevo.



ABC: área bajo la curva

Tabla 28. Capacidad predictiva para el diagnóstico de alergia de las diferentes fracciones de IgE específica para huevo. VPP: valor predictivo positivo. VPN: valor predictivo negativo. CPP: cociente de probabilidad positivo. CPN: cociente de probabilidad negativo.

	IGE CLARA		IGE YEMA		IGE OVOALBÚMINA		IGE OVOMUCOIDE	
		IC (95%)		IC (95%)		IC (95%)		IC (95%)
Índice Youden	0.308		0.325		0.356		0.669	
Pto de corte	3.310		0.200		1.450		0.485	
AUC	0.674	0,573;0,776	0.677	0,545;0,808	0.719	0,598;0,840	0.839	0,746;0,932
Sensibilidad	42,53	(31,57 – 53,49)	61,82	(48,07- 75,57)	56,36	(42,35 – 70,38)	76,79	(64,83 – 88,74)
Especificidad	93,55	(86,63 – 100,00)	77,14	(61,80 – 92,48)	81,82	(67,14 – 96,49)	91,18	(80,17 – 100,00)
VPP	90,24	(79,94 – 100,00)	80,95	(67,89 – 94,02)	83,78	(70,56 – 97,01)	93,48	(85,26 – 100,00)
VPN	53,70	(43,84 – 63,57)	56,25	(41,17- 71,33)	52,94	(38,26 – 67,62)	70,45	(55,84 – 85,07)
Índice validez	63,76	(55,70 – 71,81)	67,78	(57,57-77,99)	65,91	(55,44 – 76,38)	82,22	(73,77 – 90,68)
CPP	6,59	(2,48 -17,54)	2,70	(1,42-5,14)	3,10	(1,45- 6,63)	8,70	(2,93 – 25,88)
CPN	0,61	(0,51 – 0,74)	0,49	(0,34 – 0,72)	0,53	(0,38-0,75)	0,25	(0,16-0,41)

6.3. Factores asociados a la persistencia de la alergia a leche y huevo.

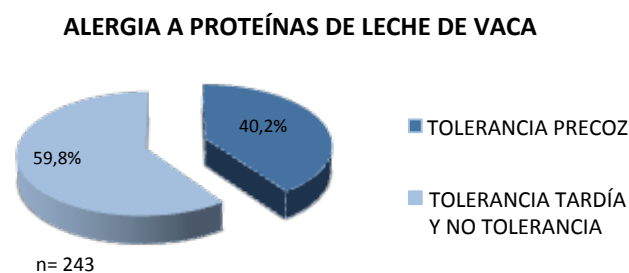
6.3.1. Categorización de los grupos.

A) Alergia a proteínas de leche de vaca.

Tal y como se indicó en el primer objetivo de este estudio, en el caso de pacientes con APLV se aprecian cifras de tolerancia evolutiva mayores (87,7%, IC 83,3-91,9) que en el caso del huevo (tolerancia total 49,4%, IC 41,9-57,0). Por otra parte, además de la tolerancia evolutiva final, un aspecto de importancia en la práctica clínica es el tiempo en adquisición de la misma. En este sentido, una tolerancia más precoz implica un menor tiempo de dieta de exclusión y disminuye el periodo de potenciales riesgos ante exposiciones accidentales al alérgeno.

Por este motivo, en el caso de APLV se divide a la población en base a si el tiempo de adquisición de la tolerancia es precoz o tardío. Para ello, considerando la mediana de adquisición de la tolerancia en nuestra población (grupo leche: 26,5 meses) se divide dicha población en base a si se adquiere la tolerancia antes o después de los dos años de edad. Cabe considerar que el término de precoz o tardía hace referencia únicamente a la división de la población con APLV en nuestro estudio para conocer los factores asociados a la tolerancia. La Gráfica 14 muestra la distribución de la población con APLV en base a la tolerancia precoz y la tolerancia tardía o no tolerancia.

Gráfica 14. Distribución de la población con alergia a proteínas de leche de vaca en base al tiempo de adquisición de la tolerancia.



B) Alergia al huevo.

En el caso de los pacientes con AA al huevo se aprecia un porcentaje más elevado que en el grupo leche de pacientes con tolerancia considerada parcial (12,2%, IC 95%: 7,1-17,3). Este grupo está constituido fundamentalmente por niños con tolerancia a huevo cocinado pero con clínica en PEOC a huevo crudo o bien que presentan manifestaciones clínicas con dosis elevadas de huevo cocinado. A pesar de la importancia de la tolerancia parcial desde el punto de vista clínico y de investigación, no constituye una forma de tolerancia completa al alimento, al no poder asegurar la ausencia de reacciones sintomáticas tras la ingesta del mismo en todas sus formas. Por este motivo, el grupo de niños con tolerancia parcial al huevo se considerarán en este análisis como no tolerantes al huevo en su totalidad. La Gráfica 15 muestra la distribución de la población con AA al huevo en base a si presentan una tolerancia total o no del alimento.

Gráfica 15. Distribución de la población con alergia alimentaria al huevo en base a la adquisición de tolerancia total.



6.3.2. Análisis uni y bivariado.

Al considerar los factores individuales y familiares que se encuentran asociados a la persistencia de la alergia en nuestra población (Tabla 29), se aprecia como la duración de la LM y la presencia de otra patología alérgica se asocian significativamente a padecer una tolerancia tardía o no tolerancia en el caso de la leche. También se asocia en este sentido la presencia de otras alergias alimentarias, donde la diferencia es muy significativa ($p < 0,001$). En el caso de la alergia alimentaria al huevo, los factores que significativamente se asocian a la persistencia de la alergia son la presencia de otra patología alérgica y los antecedentes familiares de atopia.

Tabla 29. Relación entre la tolerancia a la leche y al huevo en base al sexo, la lactancia materna y los antecedentes personales o familiares de atopia.

VARIABLES	LECHE				HUEVO			
	TOLERANCIA PRECOZ	TOLERANCIA TARDÍA Y NO TOLERANCIA	OR	p	TOLERANCIA	NO TOLERANCIA	OR	p
Sexo				0,523				0,137
Niño	55 (42,0)	76 (58,0)	1		42 (56,0)	33 (44,0)	1	
Niña	39 (37,9)	64 (62,1)	1,188		47 (44,8)	58 (55,2)	0,637	
Lactancia materna				1,000				0,442
Sí	84 (39,6)	128 (60,4)	1		53 (47,7)	58 (52,3)	0,657	
No	4 (40,0)	6 (60,0)	0,981		6 (37,5)	10 (62,5)	1	
	Media±dt	Media±dt	OR	p	Media±dt	Media±dt	OR	p
Duración lactancia materna (ms)	4,28±2,55	5,43±3,78	1,122	0,023	5,49±4,19	6,83±6,02	1,053	0,181
	n (%)	n (%)	OR	p	n(%)	n(%)	OR	p
Otra patología alérgica				0,037				0,005
Sí	21 (29,2)	51 (70,8)	1,910		47 (40,9)	68 (59,1)	2,453	
No	59 (44,0)	75 (56,0)	1		39 (62,9)	23 (37,1)	1	
Otra alergia alimentaria				<0,001				0,361
Sí	13 (20,3)	51 (79,7)	3,376		52 (52,5)	47 (47,5)	1	
No	74 (46,3)	86 (53,8)	1		37(45,7)	44 (54,3)	0,760	
Antecedentes familiares atopia				0,114				0,043
Sí	34 (30,1)	79 (69,9)	1,678		53 (42,1)	73 (57,9)	2,164	
No	26 (41,9)	36 (58,1)	1		22 (61,1)	14 (38,9)	1	

Con respecto a la variables que hacen referencia a las características clínicas al diagnóstico (Tabla 30) encontramos que, en el caso de la APLV, la edad más tardía en el inicio de los síntomas se asocia significativamente a una peor evolución. En este sentido, el riesgo de tolerancia tardía y no tolerancia se incrementa en 1,1 veces por cada mes de edad más tarde en que aparecen los síntomas con la ingesta de leche.

Por otra parte, tanto en el caso de la leche como en el huevo el hecho de presentar síntomas tras la primera ingesta del alimento se asocia significativamente a una peor evolución. La consulta en urgencias parece tener un papel similar, aunque sin diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los dos alimentos estudiados.

Tabla 30. Tolerancia a leche y huevo en base a las características clínicas al diagnóstico.

VARIABLES	ALERGIA A PROTEINAS DE LECHE DE VACA				ALERGIA AL HUEVO			
	TOLERANCIA PRECOZ	TOLERANCIA TARDIA Y NO TOLERANCIA	OR	p	TOLERANCIA	NO TOLERANCIA	OR	p
Edad inicio síntomas (meses)	Media±dt 4,22±2,92	Media±dt 5,70±4,83	1,115	0,013	Media±dt 15,33±2,23	Media±dt 18,3±3,42	0,985	0,667
	n (%)	n (%)	OR	p	n(%)	n(%)	OR	p
Primera ingesta				0,043				0,063
Sí	20 (29,9)	47 (70,1)	1,892		24 (39,3)	37 (60,7)	1,915	
No	62 (44,6)	77 (55,4)	1		41 (55,4)	33 (44,6)	1	
Consulta en urgencias				0,731				0,989
Sí	31 (41,3)	44 (58,7)	1,183		11 (47,8)	12 (52,2)	1,008	
No	10 (45,5)	12 (54,5)	1		10 (47,6)	11 (52,4)	1	

En la población del estudio no se aprecian diferencias estadísticamente significativas en base a los síntomas presentados en el momento del diagnóstico y el desarrollo de tolerancia a la proteína de leche de vaca. En el caso de la alergia al huevo, la presencia de urticaria generalizada sí se asocia estadísticamente ($p= 0,027$) a la no tolerancia del alimento (OR: 2,075). Otros síntomas como angioedema, dificultad respiratoria, anafilaxia y diarrea se asocian de forma común a tolerancia tardía y no tolerancia tanto en la leche como en el huevo, aunque de un modo no estadísticamente significativo.

Estudiando las pruebas complementarias al diagnóstico realizadas en los pacientes APLV y su relación con la tolerancia precoz a la leche se obtienen los resultados mostrados en la Tabla 31. Como puede apreciarse, los valores más elevados en las determinaciones séricas de IgE total y específica así como el tamaño mayor de las pruebas cutáneas en prick se asocian con una peor evolución de la alergia. Estos resultados son estadísticamente significativos o rozan la significación estadística en todos los casos, salvo en el valor prueba cutánea de caseína y la determinación de IgE para betalactoglobulina.

Del mismo modo, los valores más elevados de las pruebas complementarias al diagnóstico en los pacientes con alergia al huevo se asocian con una peor evolución de su alergia (Tabla 32). Esta relación es estadísticamente significativa en todas las determinaciones de las pruebas intraepidérmicas, siendo muy elevada ($p < 0,001$) en el caso del ovomucoide.

Tabla 31. Análisis univariado de la relación entre el resultado de pruebas complementarias al diagnóstico y la evolución temporal hacia la tolerancia en los pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca.

VARIABLES	PRUEBAS INTRAEPIDÉRMICAS (MM)				DETERMINACIÓN DE IGE EN SUERO (KUA/L)			
	TOLERANCIA PRECOZ	NO TOLERANCIA			TOLERANCIA	NO TOLERANCIA		
	Media±dt	Media±dt	OR	p	Media±dt	Media±dt	OR	p
Leche de vaca	2,60±3,20	5,98±4,89	1,224	0,050	2,79±5,81	8,33±15,44	1,098	<0,05
Caseína	2,71±4,42	2,77±4,01	1,004	0,971	0,60±1,31	5,64±15,10	1,384	<0,05
Alfa-lactoalbúmina	5,5±2,88	10,02±6,04	1,170	0,053	1,18±2,59	4,10±8,18	1,177	<0,05
Beta-lactoglobulina	3,88±1,96	8,2±5,25	1,241	<0,05	3,37±8,80	5,49±10,85	1,026	0,169
IgE total (U/ml)					62,35±100,64	143,32±194,70	1,005	<0,05

Tabla 32. Análisis univariado de la relación entre el resultado de las pruebas complementarias al diagnóstico y la evolución temporal hacia la tolerancia en los pacientes con alergia alimentaria al huevo.

	PRUEBAS INTRAEPIDÉRMICAS (MM)				DETERMINACIÓN DE IGE EN SUERO (KUA/L)			
	TOLERANCIA	NO TOLERANCIA			TOLERANCIA	NO TOLERANCIA		
	Media±dt	Media±dt	OR	p	Media±dt	Media±dt	OR	p
Clara cruda	5,02±3,10	7,00±2,13	1,115	0,002	3,52±4,97	10,78±22,76	1,067	0,003
Clara cocida	6,23±4,20	8,06±3,23	1,180	0,001				
Yema	3,23±2,18	5,02±2,32	1,149	0,005	0,62±1,26	11,00±26,35	1,233	0,045
Ovoalbúmina	6,02±4,10	8,14±3,96	1,134	0,011	3,14±5,34	13,93±25,41	1,090	0,110
Ovomucoide	4,25±5,56	9,09±5,31	1,179	<0,001	2,12±4,99	12,33±26,06	1,092	0,192

6.3.3. Análisis de regresión logística.

En la Tabla 33 se muestra un modelo multivariado de regresión logística para predecir la tolerancia precoz a la leche teniendo en cuenta las variables que en análisis bivariado se asocian con la no tolerancia o son clínicamente relevantes. Tras ajustar por las variables: duración de la LM, presencia de otra patología alérgica y otras alergias alimentarias, antecedentes familiares de atopia, presencia de síntomas ante la primera ingesta y valores de IgE específica en suero se objetiva que la variable que tienen un efecto independiente para predecir el desarrollo de tolerancia precoz es la determinación en sangre de IgE leche de vaca. A mayores valores de IgE al diagnóstico mayor probabilidad de no desarrollar una tolerancia precoz (OR: 1,51; 95% IC 1,09-2,10).

Tabla 33. Análisis de regresión logística: modelo de factores asociados a la NO tolerancia precoz a la proteína de leche de vaca.

VARIABLES	MODELO 1			MODELO 2			MODELO 3		
	p	OR	IC	p	OR	IC	p	OR	IC
Duración de LM (meses)	0,153	1,186	0,94-1,50	---	---		---	---	
Otra patología alérgica	0,438	1,733	0,43-6,95	0,411	1,432	0,61-3,37	0,908	1,044	0,50-2,17
Otras alergias alimentarias	0,883	1,114	0,26-4,70	0,071	2,216	0,93-5,27	0,005	3,113	1,40-6,92
AF de atopia	0,508	1,518	0,44-5,23	0,971	0,985	0,44-2,21	---	---	
Edad síntomas	0,945	0,994	0,85-1,17	0,149	1,090	0,97-1,22	0,021	1,130	1,02-1,25
Primera ingesta	0,641	1,397	0,34-5,70	---	---		---	---	
IgE leche de vaca (kUA/l)	<0,05	1,513	1,09-2,10	0,011	1,130	1,03-1,24	0,002	1,162	1,06-1,28
IgE caseína (kUA/l)	0,292	1,166	0,88-1,55	---	---		---	---	
IgE alfa-lactoalbúmina (kUA/l)	0,199	0,839	0,64-1,10	---	---		---	---	
IgE betalactoglobulina (kUA/l)	0,932	1,009	0,82-1,24	---	---		---	---	---
R2		0,328			0,145			0,189	

Si realizamos un nuevo modelo ajustado por las variables: otra patología alérgica, otras alergias alimentarias, edad de los síntomas e IgE leche de vaca se objetiva que nuevamente la IgE leche de vaca es la única que mantiene un efecto independiente para predecir la no tolerancia precoz (OR: 1,13; 95% IC 1,03-1,24). Aunque no se objetivó un efecto significativo, la presencia de otras alergias alimentarias se encuentra en el límite de la significación estadística.

Al eliminar la variable antecedentes familiares de atopia del modelo anterior, se obtiene un modelo en el que existen tres variables con efecto predictor independiente: la presencia de otras alergias alimentarias, la edad de inicio de los síntomas y nuevamente el valor de IgE para leche de vaca. En comparación con el modelo 2, volvemos a objetivar que la IgE leche de vaca tiene un efecto independiente para predecir la no tolerancia precoz a leche (OR: 1,16; 95% IC 1,06-1,28) junto con la edad de los síntomas y la presencia de otras alergias alimentarias. A mayor edad de los síntomas mayor probabilidad de no desarrollar tolerancia precoz y, a su vez, la presencia de otras alergias alimentarias incrementa dicha probabilidad (OR: 3,11; 95% IC 1,40-6,92).

En el caso de la AA al huevo, el modelo con las variables: otra patología alérgica, otras alergias alimentarias, antecedentes familiares de atopia, y las determinaciones IgE clara y valores de las pruebas cutáneas obtiene como variables independientes para predecir la tolerancia el tamaño de la prueba cutánea de clara cruda y de ovomucoide. Finalmente, en el modelo 4, que considera únicamente los antecedentes familiares de atopia, el valor de IgE frente a clara de huevo y la prueba cutánea de ovomucoide obtiene de nuevo como variable independiente para explicar el desarrollo de tolerancia a la variable prueba cutánea ovomucoide (OR:1,195, $p < 0,001$).

Tabla 34: Análisis de regresión logística: modelo de factores asociados a la persistencia de la alergia al huevo.

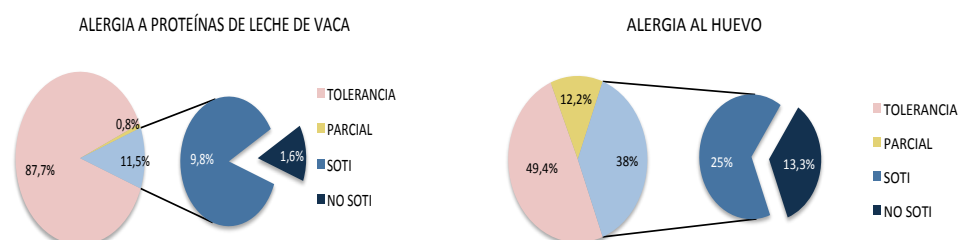
VARIABLES	MODELO 1		MODELO 2		MODELO 3		MODELO 4	
	p	OR	p	OR	p	OR	p	OR
Otra patología alérgica	0,630	1,327	0,621	1,324	---	---	---	---
Otras alergias alimentarias	0,445	0,650	---	---	---	---	---	---
Antecedentes familiares de atopia	0,387	1,774	0,336	1,858	0,341	1,841	0,108	2,644
IgE clara (U/ml)	0,403	1,019	0,473	1,015	0,466	1,015	0,393	1,020
Prick clara cruda (mm)	0,043	1,168	0,051	1,146	0,054	1,145	---	---
Prick ovoalbúmina (mm)	0,706	0,965	---	---	---	---	---	---
Prick ovomucoide (mm)	0,055	1,131	0,038	1,129	0,033	1,132	0,001	1,194
R ²	0,278		0,271		0,269		0,234	

Como ya se refirió en el apartado Material y Métodos, a los pacientes en los que persiste la APLV y/o la alergia al huevo se les ofrece la posibilidad de realizar un procedimiento de DS oral con el alérgeno implicado. Este procedimiento se ofrece en la muestra del estudio a partir de Junio de 2010 a los pacientes mayores de cuatro años.

6.4. Estudio descriptivo de los pacientes sometidos a proceso de desensibilización oral a leche y/o huevo.

En el caso del conjunto de pacientes con APLV, como se indicó en el primer objetivo del estudio en 28 pacientes (11,5% del total con APLV) la alergia persiste. Por otra parte, en el caso del huevo, un 38,3% de la muestra (69 pacientes) no consiguen tolerar el huevo. En la Gráfica 16 se representan esquemáticamente los porcentajes de pacientes en los que se realiza SOTI sobre el total de la muestra.

Gráfica 16. Evolución de la alergia alimentaria a leche y a huevo y porcentaje de pacientes en los que se realiza la desensibilización oral.



Las características relativas al sexo y los antecedentes familiares de atopia aparecen reflejadas en la Tabla 35. En ella también se indica la edad media de inicio de los pacientes (ligeramente superior en el caso del huevo), y la duración del proceso en los dos grupos.

Tabla 35. Características de los pacientes sometidos a desensibilización oral a leche y a huevo.

VARIABLES	LECHE DE VACA		HUEVO	
	n (%)	IC (95%)	n (%)	IC (95%)
Sexo				
Niño	18/24 (75,0)	53,3-90,3	27/45 (60,0)	44,6-75,4
Niña	6/24 (25,0)	9,8-46,7	18/45 (40,0)	24,5-55,4
Antecedentes personales de atopia	16/24 (66,7)	45,7-87,6	32/45 (71,1)	56,7-85,5
Asociación con otras alergias alimentarias	16/24 (66,7)	45,7-87,6	21/45 (46,7)	30,9-62,3
Antecedentes familiares de atopia	23/24 (95,8)	78,9-99,9	35/42 (83,3)	70,9-95,8
	Media±dt	Mediana (rango)	Media±dt	Mediana (rango)
Edad de inicio SOTI (años)	6,37±2,73	6,00 (3,00-13,00)	7,07±2,43	6,50 (4,00-13,00)
Duración SOTI (meses)	3,71±2,44	3,00 (1,00-10,00)	3,87±2,62	4,00 (0,00-15,00)

Durante el proceso de DS oral se producen manifestaciones clínicas en el curso evolutivo asociadas al incremento de la dosis de alérgeno. Dichas manifestaciones presentadas en la población en la que se realizó SOTI se indican en la Gráfica 17. Tanto en el caso de la leche como en el huevo la manifestación más frecuente fue el prurito velopalatino. No se presentó ningún caso de anafilaxia en ninguna de las desensibilizaciones realizadas.

Por otra parte, los datos de las Tablas 36 y 37 indican cómo también se producen modificaciones en los parámetros analíticos durante este proceso. De este modo, se aprecia un descenso en los niveles de IgE sérica total y en todas las fracciones de leche de vaca en los pacientes en los que se realiza SOTI a leche. Este descenso también se aprecia en los pacientes sometidos a DS oral al huevo, alcanzando en este caso cifras estadísticamente significativas para la IgE de clara e IgE de ovoalbúmina.

Gráfica 17. Síntomas más frecuentes presentados durante el proceso de desensibilización a leche y huevo en nuestra población. Los porcentajes se encuentran calculados sobre el total de pacientes desensibilizados a leche y huevo respectivamente.

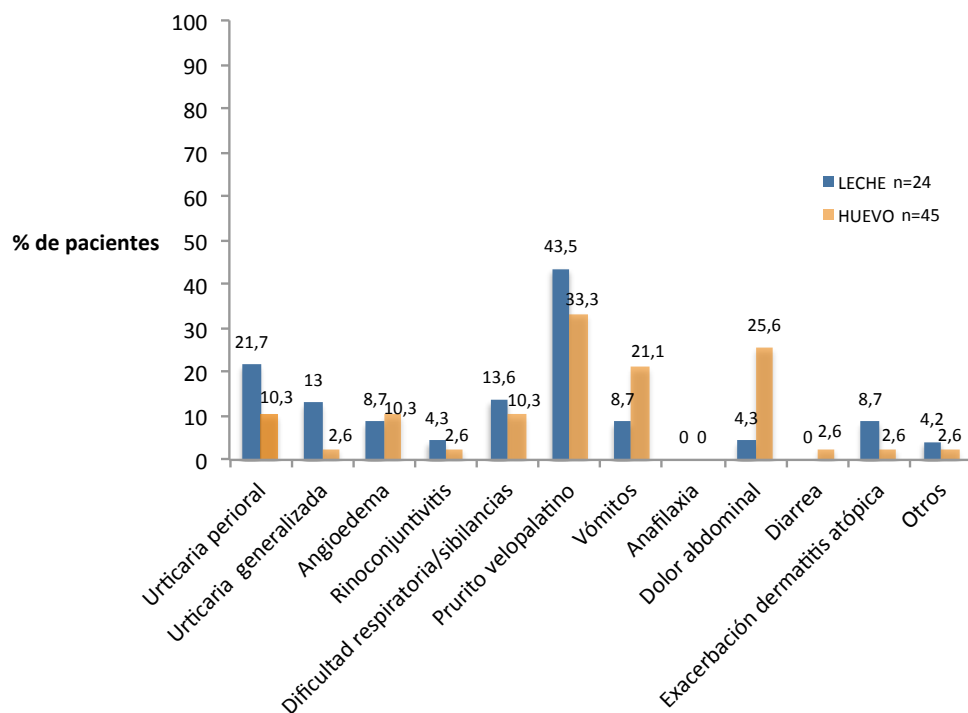


Tabla 36. Valores de IgE total y específica para leche de vaca y fracciones durante el proceso de desensibilización oral a leche. Los resultados de IgE total se expresan en U/ml y los de IgE específica en kUA/l.

	PREVIO A SOTI		POSTERIOR A SOTI		% cambio	p
	Media±dt	Mediana (rango)	Media±dt	Mediana (rango)		
IgE total	752,52±670,63	526,00 (0,00-2043,00)	1152,92±1778,93	385,50 (83,40-5320,00)	+53,2%	0,273
Leche de vaca	25,69±36,22	6,20 (0,49-100,00)	10,30±11,36	4,99 (0,61-34,90)	-59,0%	0,866
Alfa lactoalbúmina	14,36±27,19	2,25 (0,00-94,50)	4,42±4,18	4,43 (0,00-12,30)	-69,2%	0,753
Betalactoglobulina	10,24±19,58	2,44 (0,00-67,20)	3,36±3,50	2,32 (0,00-10,90)	-67,2%	0,917
Caseína	20,58±31,60	4,01 (0,00-100,00)	9,64±15,56	2,05 (0,00-44,60)	-53,2%	0,249

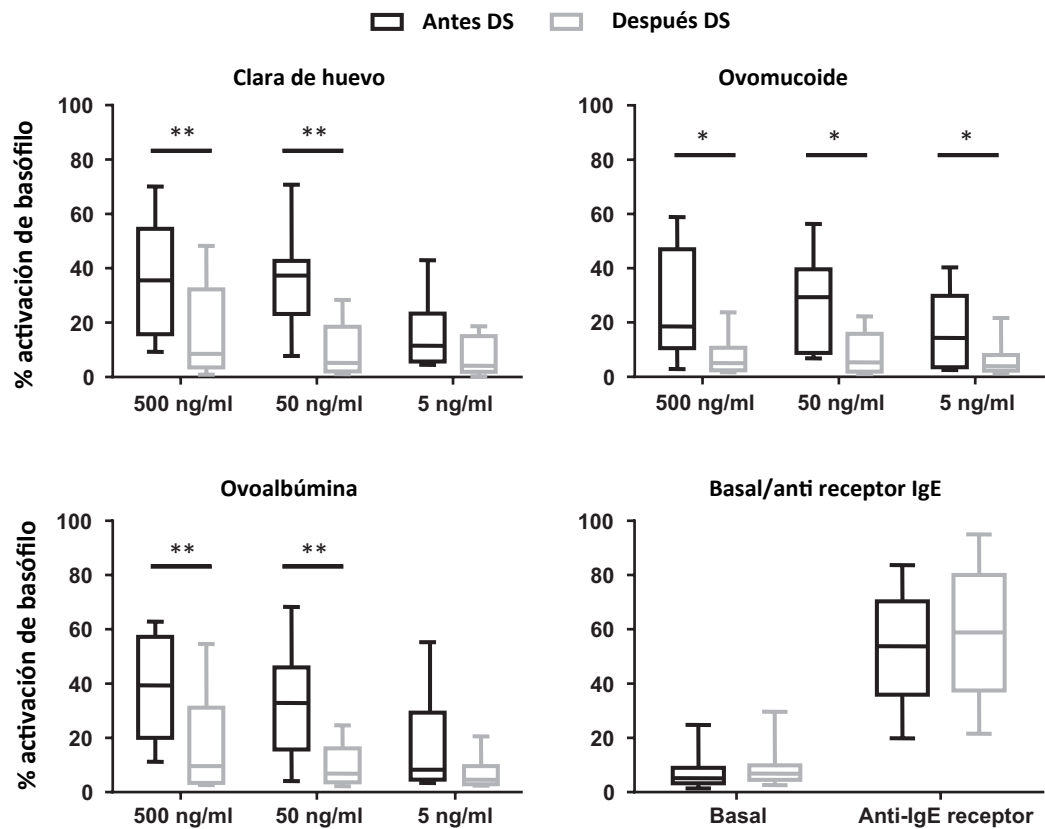
Tabla 37. Valores de IgE total y específica para clara de huevo y fracciones durante el proceso de desensibilización oral a huevo. Los resultados de IgE total se expresan en U/ml y los de IgE específica en kUA/l.

	PREVIO A SOTI		POSTERIOR A SOTI		% cambio	p
	Media±dt	Mediana (rango)	Media±dt	Mediana (rango)		
IgE total	815,92±975,33	464,00 (15,00-4492,00)	442,52±475,62	203,00 (12,40-1701,00)	-45,8%	0,913
IgE clara	13,01±22,89	4,52 (0,00-100,00)	2,78±3,16	1,35 (0,00-10,70)	-78,6%	0,002
IgE yema	15,43±32,25	1,47 (0,00-100,00)	0,36±0,62	0,00 (0,00-1,07)	-97,7%	0,317
IgE ovoalbúmina	10,01±18,90	2,74 (0,00-100,00)	1,33±1,70	0,80 (0,00-5,84)	-86,7%	0,003
IgE ovomucoide	10,40±19,98	3,14 (0,00-100,00)	2,98±4,05	0,65 (0,00-15,10)	-71,4%	0,221

Como se comentó en la sección de Material y Métodos, en los pacientes sometidos a DS para huevo se amplían los estudios inmunológicos, realizándose el TAB para conocer las variaciones en la expresión de CD63 asociadas al procedimiento. En este caso se incluyeron un total de diez pacientes alérgicos al huevo, 9 de los cuales alcanzaron una tolerancia total con el procedimiento y uno de ellos parcial (tolerancia de 20g de huevo).

Los resultados del TAB en estos pacientes aparecen expresados en la Figura 8. Después de la fase inicial de la DS se aprecia en todos los pacientes un descenso significativo ($p < 0,05$) en la expresión de CD63 tras la exposición específica con el antígeno. Por otra parte, los basófilos son entre un 30 y un 50% menos reactivos que antes de la Ds.

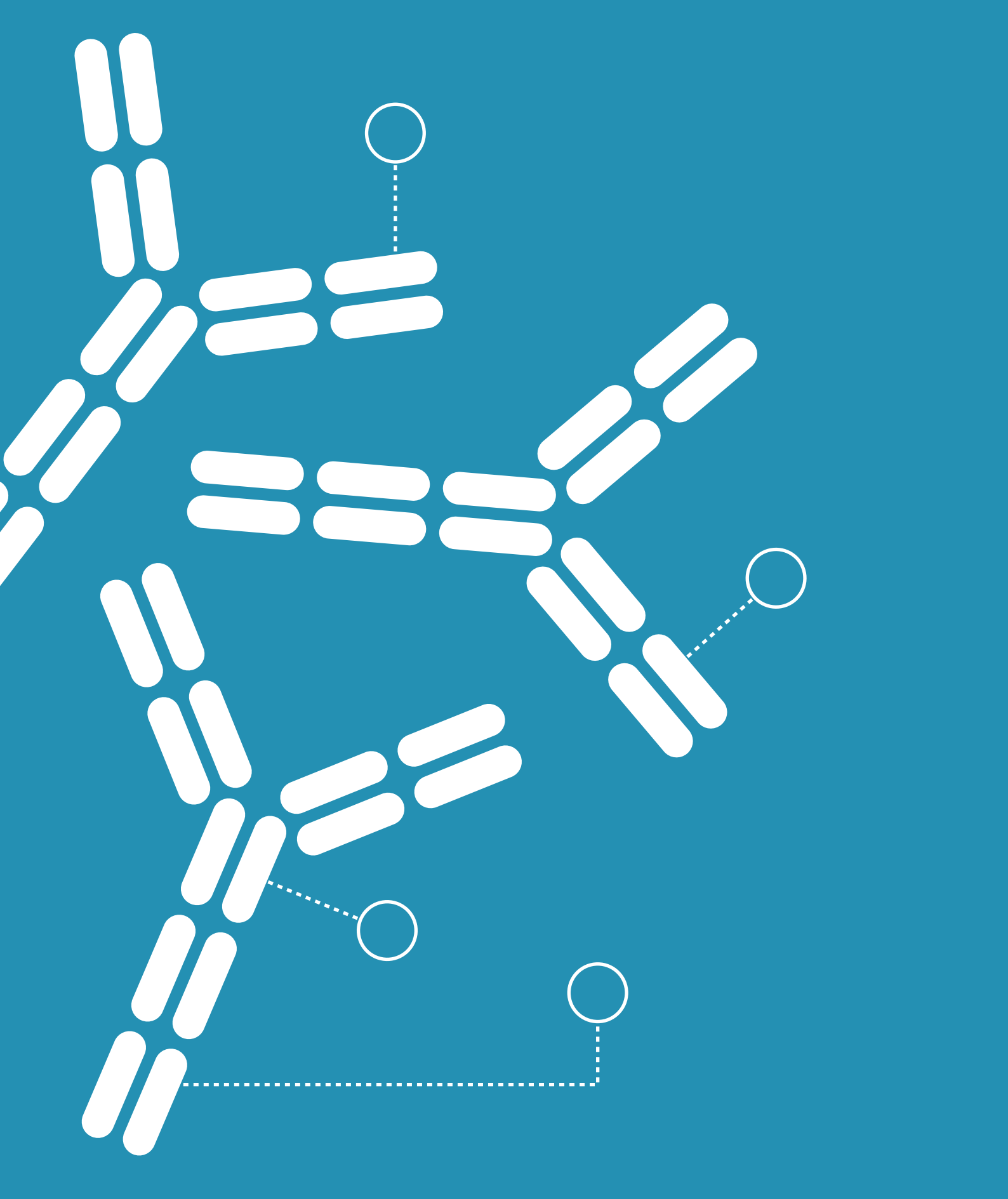
Figura 8. Mediana de los valores de expresión de CD63 en los basófilos determinados mediante TAB después de la estimulación con clara de huevo, ovoalbúmina y ovomucoide. Se indican los valores antes y después de la desensibilización. $**p < 0,01$
 $*p < 0,05$



El proceso de la DS oral permite alcanzar la tolerancia en un porcentaje elevado de pacientes previamente alérgicos, tanto en el caso de la leche como en el caso del huevo (Tabla 38). Nuevamente, en el caso del huevo se aprecian casos de tolerancia parcial, considerados como tolerantes al huevo cocinado, pero que continúan presentando síntomas tras la ingesta de huevo crudo o poco cocinado al haber finalizado la DS de forma completa. En estos pacientes, se les ofrece la posibilidad de realizar el procedimiento para el huevo crudo. Los resultados de este último proceso se encuentran fuera del periodo de estudio. Por otra parte, la dosis de leche tolerada al finalizar el periodo de estudio fue de $209,13 \pm 53,16$ cc (mediana 200,00; rango 50-250). En el caso del huevo, los pacientes consiguen tolerar una dosis media de $43,26 \pm 10,85$ gramos de huevo (mediana 50,00; rango 5-50).

Tabla 38. Duración del proceso y tolerancia alcanzada tras desensibilización a leche y desensibilización a huevo.

	LECHE		HUEVO	
	n (%)	IC (95%)	n (%)	IC (95%)
Tolerancia Alcanzada				
Tolerancia total	21/23 (91,3)	71,9-98,9	29/41 (70,7)	55,6-85,9
No tolerancia	2/23 (8,7)	1,1-28,1	3/41 (7,3)	1,5-19,9
Tolerancia parcial	0/23 (0,0)	0,0-14,8	9/41 (22,0)	8,1-35,8



7. DISCUSIÓN

7. DISCUSIÓN

7.1. Características clínico- epidemiológicas.

Tal y como puede apreciarse en los resultados de nuestro estudio, la forma más frecuente de alergia es la APLV. Nuestros resultados son acordes a otros estudios como el de Aaronov et al (86), donde la APLV es el tipo de AA más prevalente, el estudio de Santos et al (87) y el estudio prospectivo llevado a cabo por Gupta et al (88). Sin embargo, el estudio Alergológica llevado a cabo en 2005 en centros españoles (7,12) sitúa la APLV como la AA más frecuente en los dos primeros años de edad, mientras que la AA al huevo sería la primera en frecuencia en el grupo entre los tres y los seis años.

Los resultados de nuestro estudio también permiten establecer una estimación aproximada de la prevalencia de ambas patologías en nuestro medio. Si consideramos la población pediátrica atendida por el conjunto de los centros de atención primaria dependientes del Hospital Materno Infantil Teresa Herrera (es decir, los de la ciudad de A Coruña y los del área Metropolitana) el número niños atendidos en Julio 2012 era de 61497. De ellos, 21738 tenían menos de cinco años en esa fecha. Considerando los casos de alergia a ambos alimentos presentados en nuestro estudio, la prevalencia calculada para la APLV sería del 0,41% de la población infantil (1,14% de los menores de cinco años). En el caso del huevo, podríamos estimar una prevalencia de 0,29% para el total de los pacientes en edad pediátrica, siendo de 0,83% en los menores de cinco años.

Estas cifras son puramente orientativas y en su cálculo existen sesgos de selección. Por una parte, no todos los pacientes en edad pediátrica son atendidos en centros dependientes del Sistema Nacional de Salud. Por otra, no todos los pacientes en los que su pediatra diagnostica una alergia a leche o huevo son derivados para una valoración en una consulta especializada. Este aspecto es quizás más probable en el caso del huevo, ya que en el caso de la APLV la necesidad de prescripción a largo plazo

de una fórmula específica como parte de la dieta de exclusión de proteína de leche de vaca sugiere que los pacientes son derivados con más frecuencia a nuestro hospital. Este hecho quizás explique también la mayor frecuencia de APLV que de AA al huevo en nuestra serie. Como consecuencia de este sesgo los valores de prevalencia pueden estar infraestimados.

A pesar de esta aproximación en las cifras, esta estimación de prevalencia se asemeja bastante a otras publicadas. Venter et al (89), en un estudio llevado a cabo en una población del Reino Unido refleja una prevalencia de sensibilización a la leche entre 0,3 y 0,5%. Por otra parte, Nwaru et al en un metanálisis reciente (90) sitúa la prevalencia de APLV confirmada con PEOC en un 0,6% y en un 0,2% en el caso del huevo. El estudio Europrevall (11), llevado a cabo en varios países de la Unión Europea, en el que se incluyen a 12049 niños y confirma la sospecha de APLV con PEOC, aporta unas cifras de prevalencia similares a las nuestras (0,54%).

Con respecto a otros aspectos relativos a la forma de presentación de la alergia, nuestros resultados también son acordes a la bibliografía. El estudio Alergológica (12) también sitúa una mayor prevalencia de APLV en el sexo masculino y de un modo no estadísticamente significativo. Nuestro estudio también es acorde con la mayoría de las revisiones publicadas en lo relativo a la edad de presentación más frecuente de la APLV, entre los cuatro y seis meses. Esta fecha coincide temporalmente con la incorporación laboral de la mayoría de madres en nuestro medio y, asociado a ello, con la introducción de alguna toma de fórmula adaptada por primera vez. Como puede apreciarse, el antecedente de LM es un hecho común (sino universal) en los pacientes con APLV. En el estudio de Santos et al (87) también un 96% de pacientes tenían antecedente de LM y el estudio de Ahrens (91), con cifras similares, señala que el resto de casos sin antecedente de LM no pudo obtenerse la información de manera adecuada, por lo que es posible, al igual que en nuestro estudio, que el porcentaje de antecedente de LM sea mayor.

Tal y como se indicó en la sección de Resultados, los pacientes que comparten ambas alergias alimentarias presentan una evolución más desfavorable de su APLV que si se encuentran monosensibilizados. Este hecho es compartido por otros autores como Saarinen (92), donde la sensibilización al huevo en los pacientes con APLV es un factor de persistencia de la APLV y de predisposición a otras enfermedades atópicas.

Por último, en lo relativo a la tolerancia a largo plazo en los casos presentados, en el estudio de Host et al (93) las cifras de tolerancia son acordes a las nuestras, con un 87% de tolerancia a la edad de tres años. Una revisión más profunda de aspectos relativos a la adquisición de tolerancia se expondrá más adelante.

7.2. Capacidad predictiva de las pruebas diagnósticas.

7.2.1. Importancia de la prueba de exposición oral controlada y necesidad de herramientas alternativas.

En el manejo de los pacientes con alergia a alimentos, la PEOC es considerada la prueba de referencia para el diagnóstico y así lo reflejan las diferentes guías clínicas (18,24,33,35,63). Esta prueba se lleva a cabo fundamentalmente con dos finalidades: para confirmar el diagnóstico al inicio de la enfermedad (PEOC diagnóstica) y en la evolución, para monitorizar el posible desarrollo de tolerancia. Sin embargo, las PEOC no están exentas de riesgos, resultan costosas y consumen tiempo y recursos sanitarios. El realizar la prueba en el momento evolutivo adecuado resulta de importancia. Por una parte, el retrasar la realización de dichas pruebas puede llevar al niño a realizar dietas innecesarias que disminuyen la calidad de vida y pueden tener consecuencias nutricionales, en especial en el caso de alérgenos comunes. Por otra, el realizarla en un momento no indicado supone exponer al paciente a posibles reacciones adversas innecesarias. De este modo, en la práctica clínica, es razonable ofrecer la realización de la PEOC cuando se considera que los beneficios de la misma superan a los riesgos. Esta decisión no suele ser sencilla y está influenciada por diversos factores: edad del niño, gravedad y tiempo transcurrido desde la reacción previa, comorbilidades, preferencias dietéticas y necesidades nutricionales, etc. (94). Además

de estos factores clínicos, también se tiene en cuenta el resultado de las pruebas complementarias.

Las pruebas cutáneas intraepidérmicas y la determinación de IgE específica suponen herramientas con menor "invasividad" que la PEOC y pueden aportar información, sirviendo como predictores del resultado de una PEOC (17). En general, los niveles más elevados en la determinación de IgE específica se correlacionan con una mayor posibilidad presentar una reacción y pueden ayudar a seleccionar a los pacientes en los que se realizaría la provocación.

7.2.2. La bondad de las pruebas: determinación de IgE específica en suero.

Sampson et al (95,96) fue uno de los primeros autores en publicar estudios acerca de la utilización de los niveles de IgE específica sérica para predecir qué pacientes presentarían síntomas al realizar una PEOC. Ellos sugieren valores de 7kUA/l para el huevo y de 15kUA/l para la leche como aquellas concentraciones en las que aproximadamente el 95% de los pacientes tendrían una reacción en la prueba y, por lo tanto, por encima de los cuales no estaría indicada realizarla. Tras sus estudios iniciales se siguieron muchas otras publicaciones hasta las fechas actuales. Las principales revisadas se encuentran en las tablas anexas, bien referidas a varios alimentos que incluyen la leche y el huevo (Tabla 39) o bien exclusivas de la leche (Tabla 40) o del huevo (Tabla 41).

Tabla 39. Principales estudios relativos a la capacidad predictiva de IgE específica en el diagnóstico de alergia alimentaria: varios alimentos.

ARTÍCULO	ÁMBITO	N	Pacientes	Diseño estudio	Tolerancia	PUNTOS LÍMITE (EN BASE A VPP)	PUNTOS DE CORTE	COMENTARIOS
Sampson HA. J Allergy Clin Immunol. 1997. (95)	Estados Unidos	494 PEOC 109 leche 126 huevo	196 niños con dermatitis atópica. Media edad: 5,2a	Retrospectivo	LECHE 50% HUEVO 27%	VPP 95% LECHE: 32 kUA/l HUEVO: 6 kUA/l	LECHE: 5,8 kUA/l. S= 80%. E= 81%. VPP= 80. VP= 81. HUEVO: 3,4 kUA/l S= 82%. E= 84%. VPP=94. VP=62.	
Sampson HA. J Allergy Clin Immunol. 2001. (96)	Estados Unidos	86 PEOC 21 leche 25 huevo	100 niños Mediana: 3,8 años	Prospectivo	LECHE 44% HUEVO 20%	VPP>95% LECHE: 32 kUA/l. S= 34%. E= 100%. EF: 56%. VP= 39 HUEVO: 6 kUA/l. S= 64%. E= 90%. EF: 69%. VP= 44		
Perry TT. J Allergy Clin Immunol. 2004. (97)	Estados Unidos	604 PEOC. 159 leche 131 huevo	391 niños. Media edad PEOC: 4,8a	Retrospectivo	LECHE 45% HUEVO 57%	LECHE <2 kUA/l → 53% toleran. HUEVO <2 kUA/l → 60% toleran.		Diferencias en base a otros rasgos de atopía y síntomas con el alimento.
Celik-Bilgili S. Clin Exp Allergy. 2005. (118)	Alemania	992 PEOC. 398 leche 227 huevo	501 niños . Mediana:13ms. 88% dermatitis atópica	Retrospectivo	LECHE 51% HUEVO 33%	VPP 95% LECHE: 46 kUA/l HUEVO: 10 kUA/l	LECHE: S= 83%. E= 53%. ABC= 0,76. HUEVO: S= 97%. E=51%. ABC=0,88.	Diferencias en base a la edad (menor o mayor de un año).
Komata T. J Allergy Clin Immunol. 2007. (109)	Japón	1625 PEOC. 861 leche. 764 huevo.	969 niños. Mediana 1,3a. 74% dermatitis atópica.		LECHE 75% HUEVO 51%	VPP 95% LECHE: 50,9 kUA/l, HUEVO: 25,5 kUA/l	LECHE: S= 84%; E= 70%. ABC= 0,85. HUEVO: S= 92%; E= 48%. ABC= 0,91.	Al estratificar por grupos, a menor edad reacción con niveles menores de IgE.
Peters RL. J Allergy Clin Immunol. 2013. (101)	Australia	1264 PEOC. 113 huevo.	Cohorte de pacientes (5276) (HealthNuts). Se realiza PEOC en los sensibilizados. Edad un año	Prospectivo	HUEVO: 89,9%	HUEVO: 1,7 kUA/l 95% de VPP.	VP= 47, S=48, E=98, CPP=21,2, CPN=0,53, ABC: 0,85.	No encuentran variaciones al ajustar por otras variables (DA, AF, vitamina D)
Kim J. Allergy Asthma Immunol Res. 2015. (104)	Korea	266 PEOC 215 PEOC leche.	Niños >1a	Prospectivo	81% huevo. 76,9 % leche	VPP 90% LECHE: 31,4 kUA/l (<2a) 10,1 kUA/l (>2a) HUEVO: 28,1 kUA/l (<2a) 22,9 kUA/l (>2a)	LECHE: <2a: 5 kUA/L (S=60; E=95; VPP=83,3; VP=85,5). HUEVO: <2a: 2 kUA/L S=88,5; E=68,5; VPP=50; VP=94,3.	>80% dermatitis atópica.

Tabla 40. Principales estudios relativos a la capacidad predictiva de IgE específica en el diagnóstico de alergia alimentaria: sólo estudios sobre APLV.

ARTÍCULO	ÁMBITO	N	PACIENTES	DISEÑO ESTUDIO	TOLERANCIA	PUNTOS LÍMITE (en base a VPP)	PUNTOS DE CORTE	COMENTARIOS
García- Ara MC. Allergy. 2004. (106)	España	83 PEOC	66 niños Mediana edad diagnóstico: 4,8ms	Prospectivo	68%	VPP 90% <1,5a: leche: 1,5 kUA/l, caseína 0,6kU/l >1,5a: leche:6 kUA/l, caseína 3kU/l	2,7 kUA/l en <1,5a S= 97%. E=51%. ABC=0,88.	Valoraciones periódicas. Revisión hasta al menos 3años.
Keskin O. Ann Allergy Asthma Immunol. 2005. (103)	Turquía	62 PEOC	37 niños. Mediana edad: 11ms	Estudio de cohortes	45%	VPP 100% 4,18kUA/l S= 61%. E=100%. VPN=61%	>0,7 kUA/l: S= 74%. E=79%. VPP= 85%. VPN= 65%.	Tienen en cuenta el test del parche y las pruebas cutáneas intraepidérmicas. La IgE específica no aporta más precisión al diagnóstico.
Martorel A. Allergol et Immunopathol. 2008. (119)	España	407 PEOC	170 niños Media edad diagnóstico:5.4 ms	Prospectivo	82% en 4 años	VPP 95% a la edad de un año; Leche: 5,86 kUA/l Caseína: 2,06 kUA/L	Edad un año: Leche: 2,58 kUA/l S= 52%. E=94%. Ef=0,72. Caseína: 0,97 kUA/l S= 68%. E=81%. Ef=0,74.	Los valores de caseína son los que más discriminan la persistencia de la alergia.
van Der Gugten. J Allergy Clin Immunol. 2013. (120)	Holanda		213 niños	Retrospectivo	66%	VPP 95%: 52 kUA/l	ABC: 0,86 en todos. 0,92 en menores 2,5a.	
Bartnikas LM. Ann Allergy Asthma Immunol. 2012. (112)	Estados Unidos	35 PEOC	35 niños . Edad media 8,1a	Retrospectivo	83% leche horneada		VPN >90% ALA: 0,35 kUA/l Caseína: 0,9 kUA/l (ABC: 0,56) Leche: 1,0 kUA/l (ABC: 0,6)	Los valores son referidos a leche horneada
Yavuz ST. Ann Allergy Asthma Immunol. 2013. (121)	Turquía	94 PEOC	148 niños	Retrospectivo	44,6%	VPP 95% para todos los grupos de edad: 11 kUA/l	En <1a: 1,4 kUA/l. S= 90%. E=89%. VPP= 95%. VPN= 73%.	Establecen relación con factores genéticos asociados a persistencia de la alergia.
Ito K. Clin Mol Allergy. 2012. (122)	Japón	45 PEOC	83 niños. Mediana de edad: 3,5 a		15,3% al diagnóstico	>0,35 kUA/l: Caseína:98% S. BLG: 69% ALA: 51% S.	Caseína: 6,6 kUA/l 100% E; 72%E	Asocia medición de los niveles de IgG4.
Castro AP. Allergol et Immunopathol. 2015. (98)	Brasil	115 PEOC	184 niños. Mediana de edad: 19,1a	Retrospectivo		Leche: 3,06 kUA/l (71% S, 98%E, 43,5CPP) Caseína: 1,47 kUA/l (66% S, 98%E, 40,5CPP) ALA: 2,08 kUA/l (58% S, 98%E, 35,5CPP) BLG: 1,85 kUA/l (57% S, 98%E, 34,9CPP)		Menor prevalencia de dermatitis atópica (18%)

Tabla 41: Principales estudios relativos a la capacidad predictiva de IgE específica en el diagnóstico de alergia alimentaria: sólo estudios sobre alergia alimentaria al huevo.

ARTÍCULO	ÁMBITO	N	PACIENTES	DISEÑO ESTUDIO	TOLERANCIA	PUNTOS LÍMITE	PUNTOS DE CORTE	COMENTARIOS
Ando H. J Allergy Clin Immunol. 2008. (111)	Japón	178 PEOC	108 niños Mediana 34,5ms		38% total 27% parcial	Límite superior (E=95%) Alergia huevo crudo: Clara: 7,38 kUA/l. S=57%. VPN=57%. OVM: 5,21 kUA/l. S= 52%. VPN=55%. Alergia huevo cocinado: Clara: 30,7 kUA/l. S=42%. E=96%. VPN=75%. OVM: 10,8 kUA/l. S=55%. E=96%. VPN=80%.	Punto de corte: Alergia huevo crudo: Clara: 2,82 kUA/l. S=81%. E=85%. VPP=90%. VPN=73 %. OVM: 2,26 kUA/l. S= 73%. E=83%. VPP=88%. VPN=65%. Alergia huevo cocinado: Clara: 7,38 kUA/l. S=66%. E=79%. VPP=62%. VPN=81%. OVM: 4,40 kUA/l. S=76%. E=81%. VPP=69%. VPN=86%.	Utilidad de determinación de de OVM en alergia al huevo cocinado.
Dieguez MC. Clin Exp Allergy. 2009. (100)	España	157 PEOC	168 niños Mediana 2,5a	Prospectivo	36,3%		VPP >90% Clara: 1,5 kUA/l. S=52,2%. E=90,6% VPN=52,7%. CPP=5,54. CPN=0,53. ABC=0,77 OVM: 1 kUA/l. S=41,4%. E=94,1% VPN=48,5%. CPP=7,03. CPN=0,62. ABC=0,74	No diferencias según edad o dermatitis atópica
Ahrens B. Allergy. 2010. (114)	Alemania	150 PEOC	150 niños 5ms-14a	Retrospectivo	56%	12 kUA/l → 100% correctamente identificados		No capacidad predictiva de IgG total e IgG4.
Montesinos E. Pediatr Allerg Immunol 2010. (123)	España	42 PEOC	42 niños Media 15,7ms	Retrospectivo	50%	VPP >95%. Menores de dos años. Clara: 1,37 kUA/l. S=78%. E=80%. VPP=96%. VPN=33 %. Ef=78	Menores de dos años: Clara: 0,36 kUA/l. S=97%. E=40%. VPP=90%. VPN=66%. Ef=90	Diferencias en base a la edad. Descenso asociado a tolerancia
Okamoto S. Allergy Asthma Clin Immunol. 2013. (113)	Japón	105 PEOC	105 niños Mediana 5a	Retrospectivo	39%		Clara: 8,9 kUA/l. S=68,3%. E=68,9% VPN=74,5%. VPN=62%. ABC=0,697.	Mayor capacidad predictiva en la relación IgEs/IgG4
Min TK. Allergy Asthma Immunol Res. 2013. (124)	Korea	41 PEOC	41 niños Mediana 16ms	Prospectivo	39%		Punto de corte en menores de dos años: IgE clara: 2 kUA/l. S=60%. E=62,5% VPN=71,4%. VPN=50%.	No mayor capacidad predictiva de las fracciones del huevo
Alvaro M. Allergy. 2014. (105)	España		154 niños con DA y APLV menores de dos años	Prospectivo	55,9%	Límite superior (VPP) 94% Clara: 8,36 kUA/l. S=26,9%. E=95,8% VPN=34,8%. CPP=6,4. CPN=0,7. ABC=0,80		Capacidad predictiva en pacientes con APLV sensibilizados.
Benhamou HA. Pediatr Allerg Immunol 2015. (125)	Suecia		44 niños Mediana 2,1a	Prospectivo		S = 80% Alergia huevo crudo: Clara: 1,6 kUA/l. S=81%. E=100%. OVM: 0,2 kUA/l. S= 65%. E=64%. CPP=1,8 Alergia huevo cocinado: Clara: 4,1 kUA/l. S=83%. E=100% OVM: 0,2 kUA/l. S=75%. E=35%. CPP=1,1		La OVA mayor capacidad predictiva en alérgenos en general. El OVM en base a huevo cocinado/crudo.

Como puede apreciarse en las tablas, existen diferencias en la capacidad predictiva de las pruebas en base a los criterios estadísticos que se escogen para el punto de decisión. Por una parte, en la mayoría de estudios se establecen puntos de corte con VPP elevados (90 o 95%), por encima de los cuales existiría una reacción en la prueba. Estos valores tiene la ventaja de no sobreestimar el diagnóstico de alergia. Sin embargo, el VPN de estos estudios suele ser más bajo (de aproximadamente un 50%), lo que indicaría que casi la mitad de las provocaciones que realizásemos con niveles inferiores a dichos puntos de corte resultarían positivas. Esto quiere decir que aportan información más limitada en aquellos pacientes con niveles de IgE sérica específica inferiores a los descritos. Por este motivo, muchos otros autores aportan otros puntos de corte con una mayor eficiencia diagnóstica, es decir, donde la sensibilidad y especificidad están más balanceadas. En este sentido, el análisis a través de curvas ROC permite seleccionar puntos de corte capaces de predecir la probabilidad de clasificar correctamente a un individuo como enfermo o como sano (alérgico o tolerante), con la máxima sensibilidad y especificidad. En la práctica clínica, la elección de uno u otro criterio depende del objetivo: en el momento diagnóstico inicial, el punto de corte con mayor sensibilidad permite una mejor diferenciación de aquellos individuos que podrían ser alérgicos; sin embargo, en el seguimiento de los pacientes interesaría detectar aquellos pacientes que son tolerantes con la mayor fiabilidad posible, descartando a aquellos en los que la probabilidad de reacción en una PEOC es muy alta. El estudio de Perry et al (97) hace un abordaje distinto, al escoger puntos de corte por debajo de los cuales el 50% de la población estudiada toleraría.

7.2.3. Diferencias en los estudios y consistencia con nuestros resultados.

Las diferencias en los puntos de corte encontrados, más allá de diferencias metodológicas que se comentarán en adelante, pueden tener un origen en la diferente prevalencia de la enfermedad en las poblaciones estudiadas. En este sentido, si considerásemos una sensibilidad y especificidad estables, los VPP y VPN se ven influenciados por la prevalencia de la enfermedad. Los cocientes de probabilidad no dependen de la prevalencia de la patología en el medio realizado y ayudan a transferir los resultados de un estudio o test diagnóstico a nuestra población (17,98).

Consideramos que los artículos que utilizan los VPP o VPN no son la manera para valorar la capacidad predictiva, pues estos últimos dependen de la prevalencia de la enfermedad en la población estudiada. Es por ello que los CPP y CPN serían los instrumentos adecuados para dicha decisión.

En nuestro estudio, obtenemos unos CPP para leche de vaca, alfa-lactoalbúmina, betalactoglobulina y caseína, de 5,02; 5,29; 4,19 y 4,55 respectivamente. Como puede apreciarse en la Tabla 39 y en la Tabla 40, el número de estudios que aportan este dato en el caso de la APLV es escaso. Si bien nuestros resultados son inferiores al reciente estudio de Castro et al (98) pueden considerarse muy superiores a la revisión sistemática de Soares et al (99) que aporta un CPP de 1,67 en el conjunto de estudios incluidos (todos con PEOC doble ciego controlada con placebo, a diferencia del nuestro). En el caso del huevo, los CPP en nuestro estudio son de 6,59; 3,10 y 8,70 para la IgE de clara de huevo, ovoalbúmina y ovomucoide. En este caso (Tabla 39 y Tabla 41) nuestros resultados son superiores al estudio de Dieguez et al (100) y a la revisión sistemática de Soares (99), que estima el CPP en el conjunto de estudios en 1,84. Sin embargo, el estudio de Peters et al (101) llevado a cabo en 2013 estima un CPP muy superior en el caso del huevo. Cabe considerar que dicho estudio se lleva a cabo en una cohorte de pacientes sensibilizados sin historia de alergia al huevo y las cifras de tolerancia difieren de las de nuestra población. Por otra parte, en su estudio, una pequeña parte de la cohorte de pacientes no sensibilizados (y, por tanto, no incluidas en el análisis) presentaron síntomas con el huevo, siendo categorizados sin embargo como no alérgicos. Si consideramos la reciente revisión sistemática llevada a cabo por Calvani et al (102) los puntos de corte para el diagnóstico de alergia al huevo crudo con VPP elevado en menores de dos años serían 1,7kUA/l y en los mayores de 7,3kUA/l, que difieren de nuestra serie posiblemente por no estar la nuestra estratificada en edad ni en el tipo de procesamiento del huevo.

Más allá de las diferencias en objetivo estadístico de los estudios, nuestros resultados pueden considerarse acordes a los estudios previos en el sentido de que los niveles de IgE específica se encuentran asociados con PEOC positivas, es decir, con

reacción clínica. En nuestra población, al valorar las distintas fracciones específicas de la leche de vaca, éstas no aportan una mayor capacidad predictiva que la determinación de la IgE de leche de vaca aislada, lo cual es compartido por el estudio de Castro et al (98), y Keskin et al (103). En el caso del huevo, al igual que en el estudio de Dieguez (100) los CPP para la fracción ovomucoide son superiores a la clara de huevo, lo cual difiere del estudio de Kim et al (104) que no encuentra una mayor capacidad predictiva en el análisis de las distintas fracciones del huevo.

7.2.4. Posibles causas de las diferencias entre estudios.

Un análisis más detallado de los estudios presentados en las Tablas 39, 40 y 41 permite comprender otras causas que explican las diferencias en los puntos de corte y la capacidad predictiva de las pruebas estudiadas:

- Origen de la población: mientras que el estudio Peters et al (101) se lleva a cabo en una cohorte poblacional de pacientes, la mayoría estudian una muestra seleccionada en un hospital de tercer nivel, como es nuestro caso.
- Forma clínica de presentación: a diferencia de nuestro estudio, los trabajos de Peters et al (101) y Alvaro et al (105) se realizan en pacientes sensibilizados al huevo, sin historia clínica previa de sospecha de alergia.
- Prevalencia de otros rasgos de atopia en la muestra estudiada, en especial dermatitis atópica (DA): en el caso de la APLV la prevalencia de DA en los estudios puede considerarse elevada, excepto en el de García-Ara et al (106) y Castro et al (98). Para la mayoría de autores existen diferencias en los puntos de corte en base a esta variable, aunque no en el caso del estudio del huevo de Peters et al (101) y Dieguez et al (100). Al valorar esta posibilidad, algunos trabajos estudian la capacidad predictiva de la relación IgE específica/IgE total, considerando que en algunos pacientes los niveles elevados de IgE total o específica pueden estar en relación con otras

condiciones atópicas más que con la actividad frente al alimento específico. En el estudio de Mehl et al (107) y en el de Dieguez et al (100) el cálculo de esta ratio no aumenta la capacidad predictiva. Gupta et al (108) aporta resultados similares en el caso de la leche y el huevo, aunque en el caso de alergias más persistentes (frutos secos) sus resultados parecen mostrar una mejor capacidad predictiva de esta ratio. Por otra parte, (Tabla 39) en algunos casos los pacientes asocian múltiples alergias alimentarias.

- Edad de la muestra estudiada: al considerar poblaciones con edad media mayor existe la posibilidad de seleccionar pacientes en los que el curso evolutivo de su alergia esté siendo más desfavorable. La edad de la muestra también tiene una relación con los niveles de IgE para algunos autores; así, Komata et al (109), Boyano et al (110) y García Ara et al (106) estratifican los puntos de corte en base a grupos etarios porque en sus poblaciones los niños más pequeños reaccionan ante menores niveles de IgE que los mayores. Nuestro estudio no estratifica los resultados en base a la edad, aunque otros autores (100, 101) no encuentran diferencias al categorizar los resultados de este modo.
- Tipo de alimento estudiado: aunque la mayoría de estudios, al igual que el nuestro, no establecen diferencias en la capacidad predictiva en base al procesamiento del alimento sí existen estudios que abordan este aspecto. Ando et al (111) establecen diferencias en base al huevo horneado, en especial referidas a la fracción ovomucoide y, más recientemente, Bartnikas et al (112) estudian la capacidad predictiva de la IgE específica para la tolerancia a leche horneada.
- Tipo de estudio: como se aprecia en las Tablas 39, 40 y 41, la mayoría de los trabajos publicados son de tipo retrospectivo, a diferencia del trabajo aquí presentado que consta de una parte de seguimiento evolutiva.

- Forma de evaluar la tolerancia: los estudios que utilizan la prueba de exposición oral doble ciego controlada con placebo son escasos, y aparecen registrados fundamentalmente en la revisión sistemática de Soares et al (99). En el resto de estudios, la tolerancia suele valorarse a través de una exposición oral abierta.
- Prueba diagnóstica a evaluar: tal y como se relató en el capítulo Material y Métodos, nuestro estudio evalúa únicamente la capacidad predictiva de la IgE específica, sin considerar las pruebas cutáneas intraepidérmicas u otras pruebas. En relación a otro tipo de determinaciones sanguíneas, la relación de la IgE con IgG4 parece aumentar la capacidad predictiva para algunos autores (113) pero no para otros (114).

7.2.5. Otros aspectos para considerar.

Todas estas diferencias citadas tanto en la metodología de los estudios como en sus resultados son un reflejo de la dificultad para conocer con precisión la capacidad predictiva de las pruebas diagnósticas que utilizamos habitualmente en los pacientes con APLV y/o AA al huevo. Más allá de valores extremos, existen situaciones con un solapamiento en los marcadores entre los pacientes que toleran y no toleran un alimento. Por otra parte, ni los niveles de IgE ni el tamaño de las pruebas cutáneas intraepidérmicas parecen correlacionarse con la severidad de las manifestaciones clínicas presentadas durante una PEOC (94). De este modo, se hace necesario disponer nuevos marcadores que nos permitan predecir el resultado de una provocación para facilitar la toma de decisiones y la información a la familia. Entre las nuevas líneas de investigación, no abordadas por nuestro estudio, se encuentran por una parte la medición de la IgE específica frente a epítomos, al existir estudios que demuestran que el reconocimiento de epítomos secuenciales frente a los conformacionales se asocia a casos de APLV y AA al huevo persistente (115,116). Otra de las herramientas futuras es el diagnóstico desglosado por componentes (Component resolved diagnosis) basada en microarrays que consiste en la determinación de IgE específica frente a múltiples componentes alergénicos naturales purificados o recombinantes con el fin de

identificar cuales son las posibles moléculas responsables de la enfermedad. Esta tecnología ayudaría a diferenciar los pacientes sensibilizados de los alérgicos en base a la reactividad cruzada, permitiría predecir reacciones más severas en función de la proteína a la que se encuentren sensibilizados e incluso aportaría información acerca de la historia natural. Por último, otro test *in vitro* que está siendo explorado en este sentido (y también parcialmente en este trabajo) es el TAB. Aunque los estudios con este método son más limitados que los relativos a IgE específica en sangre o cutánea, los trabajos iniciales han demostrado una elevada sensibilidad y especificidad de esta prueba para el diagnóstico y evaluación de la resolución de la APLV (117).

7.3. Factores asociados a la persistencia de la alergia.

7.3.1. Principales factores descritos en la literatura.

Al considerar a un paciente con alergia a un alimento, más allá del estudio de las pruebas diagnósticas o las estrategias de tratamiento, interesa conocer cómo será su evolución a lo largo del tiempo. Además de los aspectos comunes relativos a la historia natural de cada AA, existen una serie de factores individuales que pueden influir en el tiempo de adquisición de la tolerancia. El conocer estos factores tiene importancia para poder establecer un pronóstico aproximado en cada caso.

La revisión de la bibliografía en este sentido aporta un amplio número de estudios que hacen referencia a diferentes factores asociados tanto a la tolerancia como a la persistencia de la alergia a la leche o al huevo. Los resultados de los artículos más relevantes se encuentran resumidos en la Tabla 42.

Tabla 42. Factores asociados al curso evolutivo de la alergia alimentaria descritos en la literatura.

ARTÍCULO	ÁMBITO	ALIMENTO	CARACTERÍSTICAS	EVOLUCIÓN /TOLERANCIA	FACTORES ASOCIADOS A LA EVOLUCIÓN
Santos A. <i>Pediatr Allerg Immunol.</i> 2010. (87)	Portugal	Leche	Retrospectivo 139 niños. IgE y no IgE mediada	IgE mediada tolerancia 11% entre 3-4a	<i>Persistencia</i> > 2 años: Asma Otras alergias alimentarias. Pico máximo IgE y prick test >10mm
Savilahti EM. <i>Clin Exp Allergy.</i> 2010. (130)	Finlandia	Leche	Prospectivo. 83 niños de una cohorte de 6209 niños.	66% tolerancia a los tres años	<i>Persistencia</i> >3 años: Aumento IgE específica . Descenso IgA BLG al diagnóstico . Descenso IgB BLG y caseína en seguimiento.
Elizur A. <i>J Pediatr.</i> 2012. (133)	Israel	Leche	Prospectivo. 54 niños de una cohorte de 13019.	57,4% en una media de seguimiento de 2-5 años	<i>Persistencia</i> : Dosis en PEOC<10ml Tamaño prick>10mm Edad al diagnóstico<30 días
Ahresn B. <i>Clin Exp Allergy.</i> 2012. (91)	Alemania	Leche	Retrospectivo 52 pacientes (3-114ms)	Tolerancia 61,5%	<i>Persistencia</i> : Las determinaciones de BLG; ALA y caseína no aportan más información que la IgE específica leche de vaca
Gupta RS. <i>Ann Allergy Asthma Immunol.</i> 2013. (108)	Estados Unidos	Múltiple	Estudio transversal, encuesta 4433 con / sin alergia.	Tolerancia total: 3,2% Tolerancia leche: 41,1% Tolerancia huevo: 40,2%	Factores asociados a la tolerancia: Clínica leve o moderada. Presencia de dermatitis atópica aislada. Monosensibilizado. Raza Blanca. Edad temprana de los síntomas
Wood RA. <i>J Allergy Clin Immunol.</i> 2013. (126)	Estados Unidos	Leche	Estudio multicéntrico. Cohorte prospectiva. (CoFAR) 244 alergia a la leche	Tolerancia 52,6% a los 63 meses	Resolución: IgE leche. Tamaño del prick. Gravedad de la dermatitis atópica
Boyano-Martínez T. <i>J Allergy Clin Immunol.</i> 2002. (110)	España	Huevo	Prospectivo 58 niños<2años	16% al año. 52% a los tres años.	Mejor pronóstico en niños menores de dos años con : Síntomas cutáneos. Menor tamaño del prick. Niveles de IgE bajos sólo en caso de síntomas cutáneos
Vanto T. <i>J Pediatr.</i> 2004. (132)	Finlandia	Leche	Prospectivo hasta los 4 años. APLV IgE y no IgE mediada	53% a los tres años.	<i>Persistencia si</i> : Prick>5mm e IgE>2kUA/l al diagnóstico
Shek LP. <i>J Allergy Clin Immunol.</i> 2004. (129)	Estados Unidos	Leche y huevo	Retrospectivo	Tolerancia leche 32,6% Tolerancia huevo 31,8%	Una mayor disminución en los niveles de IgE en un período de tiempo más corto indicativo de una mayor probabilidad de desarrollar tolerancia. Especialmente significativo en menores de 4 años . Menores niveles de IgE específica al diagnóstico en los que toleran.

ARTÍCULO	ÁMBITO	ALIMENTO	CARACTERÍSTICAS	EVOLUCIÓN /TOLERANCIA	FACTORES ASOCIADOS A LA EVOLUCIÓN
Saarinen KM. <i>J Allergy Clin Immunol.</i> 2005. (92)	Finlandia	Leche	Prospectivo. 118 niños.	81% a los cinco años.	<i>Persistencia (<2a):</i> Sensibilización a 1,5 años. Urticaria al diagnóstico. Biberón Pirata Sensibilizacional huevo.
Savage JH. <i>J Allergy Clin Immunol.</i> 2007. (137)	Estados Unidos	Huevo	Retrospectivo 881 pacientes Seguimiento medio 5 años	4% a los cuatro años. 68% a los 16 años.	<i>Persistencia a la alergia asociada a:</i> Niveles elevados IgE huevo Otras enfermedades atópicas. Otra alergia alimentaria
Fiocchi A. <i>Ann Allergy Immunol.</i> 2008. (138)	Italia	Leche	Prospectivo 153 niños	52,7% en una media de seguimiento de 23 meses	<i>Persistencia asociada a:</i> Asma y/ o rinoconjuntivitis. Prick leche de vaca Prick soja
Kim J. <i>Asian Pac J Allergy Immunol.</i> 2009. (134)	Corea	Huevo	Retrospectivo 106 niños con DA<2años	Tolerancia 41% a los tres años.	<i>Persistencia de la alergia asociada a:</i> Mayor edad al diagnóstico de la alergia Mayor IgE específica al diagnóstico.
Kacmarski M. <i>Adv Med Sci.</i> 2013. (135)	Polonia	Leche	294 pacientes	Tolerancia 80% menores de tres años	<i>Persistencia:</i> Niveles IgE Historia en padres de asma y /o rinoconjuntivitis
Sicherer SH. <i>J Allergy Clin Immunol.</i> 2014. (127)	Estados Unidos	Huevo	Estudio multicéntrico. Cohorte prospectiva. (CoFAR) 213 alergia al huevo	Tolerancia 49% a los seis años	<i>Persistencia:</i> Tipo de reacción. Niveles IgE.
Peters RL. <i>J Allergy Clin Immunol.</i> 2014. (139)	Australia	Huevo	Estudio poblacional (Healthnuts)	Tolerancia total: 47% a los dos años	<i>Tolerancia:</i> No reacción con huevo horneado. Consumo frecuente huevo horneado. <i>Persistencia:</i> Niveles IgE y tamaño del prick

Entre todos estos trabajos destaca el estudio de Gupta et al (88), donde se realiza un seguimiento prospectivo de niños con diferentes alergias alimentarias a lo largo de su evolución. En su trabajo, los principales factores que se asocian al desarrollo de tolerancia son la sintomatología leve/moderada al diagnóstico, estar monosensibilizado, la presencia de dermatitis atópica aislada, la raza blanca y la edad temprana en el momento de los síntomas.

Otro estudio destacable, realizado también en los Estados Unidos, se encuentra englobado en el CoFAR (Consortium for Food Allergy Research). Este trabajo multicéntrico prospectivo incluye pacientes alérgicos a proteína de leche de vaca y/o huevo en el que se estudian diferentes factores pronósticos. En el caso de la APLV, Wood et al (126) señalan como principales factores asociados a la resolución de la alergia en estos niños los niveles de IgE bajos para leche de vaca, el menor tamaño de las pruebas cutáneas intraepidérmicas y el grado de severidad de la dermatitis atópica. Por otra parte, en el caso del huevo, Sicherer et al (127) encuentran como factores asociados a un curso desfavorable el tipo de reacción presentada y los niveles de IgE específica elevados. En ambos casos desarrollan un score o sistema de puntuación que podría aplicarse en cada paciente para conocer su pronóstico. Una calculadora con base a este score se encuentra disponible on line (www.cofargroup.org), aunque su validez en otras poblaciones no ha sido estudiada.

Finalmente, el Burks et al (128) en su revisión de este tema proponen un algoritmo para valorar diferentes factores en cada paciente. La presencia o ausencia de los mismos ayudaría en la toma de decisiones para realizar una PEOC:

7.3.2. Consistencia de nuestros resultados con la literatura.

- Edad de tolerancia precoz en APLV:

Tal y como se indicó en el apartado Resultados, a la hora de considerar la tolerancia en los pacientes con APLV hemos establecido un punto de corte en la edad de dos años como límite entre la tolerancia precoz y tardía. El hecho de indicar un límite de edad es algo compartido por otros estudios. Aunque el artículo de Shek et al (129) establecen como punto de corte la edad de cuatro años, esta edad difiere entre autores. Así, Savilhati et al (130) establecen como límite para la tolerancia precoz la edad de tres años, mientras que Santos et al (87) utilizan en su estudio la misma edad que en el trabajo aquí presentado: dos años. Este mismo periodo de edad se usa en el estudio de Dias et al (131) a la hora de estudiar una población con APLV desfavorable.

- Edad de presentación de los síntomas:

En la población estudiada, en el caso de APLV, la edad más tardía en el inicio de los síntomas es uno de los factores que en análisis bivariado se encuentra asociado a la persistencia de la alergia. Este factor es compartido por Gupta et al (88) en el sentido de que en su estudio los pacientes con edades tempranas al inicio de los síntomas presentan más posibilidades de desarrollar tolerancia. Este factor parece estar en relación asociado al factor de duración de la LM, pues en general los síntomas con la PLV se presentan al introducir este alérgeno en pacientes que reciben previamente LM. De este hecho deriva la posible explicación de que en nuestro estudio la duración de la LM se encuentre asociada a la persistencia de la APLV. Este aspecto es compartido por Vanto et al (132), que también encuentran una relación entre la duración de la LM y la persistencia de APLV.

Por otra parte, nuestros resultados difieren de los del estudio Elizur et al (133) llevado a cabo en población israelí: en su caso los pacientes con edad al diagnóstico precoz (<30 días) tienen una peor evolución de su APLV.

Las posibles explicaciones para nuestros hallazgos y los de Elizur et al son varias: por una parte, en el trabajo Gupta et al (108) , los efectos con respecto a la edad de inicio no son lineales, por lo que podría existir una ventana para el inicio de la enfermedad en la que la adquisición de la tolerancia sería más probable que en otras edades. Por otra parte, en el estudio de Kim et al (134) relativo al huevo el mejor pronóstico en el grupo con los síntomas tempranos caso podría relacionarse con la diferente vía de exposición del alérgeno huevo en estos pacientes.

- IgE específica leche de vaca:

Los niveles de IgE para leche de vaca constituyen el factor persistentemente asociado a la no tolerancia precoz de proteína de leche de vaca en análisis de regresión logística realizado. Más allá de diferencias metodológicas, este resultado es consistente

con la mayoría de estudios revisados: Santos et al (87), Wood et al (126), Shek et al (129), Savilahti et al (130), Vanto et al (132), y Kacmarski et al (135).

Por otra parte, los resultados presentados no muestran que la determinación de las distintas fracciones de la leche de vaca (alfa-lactoalbúmina, betalactoglobulina y caseína) aporte mejores resultados en la predicción de la tolerancia que la leche de vaca aislada. Este aspecto es compartido por el estudio Ahrens et al (114) y el artículo de opinión de Jarvinen et al (136). En el estudio de Vanto et al (132) los niveles de betalactoglobulina y caseína al diagnóstico son inferiores en los pacientes que toleran, pero su determinación tampoco resultado superior a la de IgE leche de vaca para predecir la tolerancia.

- Síntomatología presentada:

Como puede apreciarse en la Tabla 42, diversos estudios ponen en relación la severidad de los síntomas presentados en el momento del diagnóstico con la evolución a largo plazo de la alergia. Para Gupta et al (108) la clínica leve o moderada, como puede ser el caso de dermatitis atópica aislada, se asocia a un mejor pronóstico. Los resultados del estudio CoFAR (126, 127) indican algo similar tanto en el caso de la leche como el huevo. Del mismo modo, en el estudio prospectivo relativo al huevo de Boyano et al (110) los niños con síntomas únicamente cutáneos tienen mejor pronóstico.

En los resultados presentados en este trabajo, la categorización de los síntomas en 13 posibles variables no aporta información acerca de la persistencia o no de la alergia. Sin embargo, cabe considerar un factor subjetivo a la hora de valorar este factor en los estudios previos citados. De este modo, tal y como describe Boyano et al (110), el hecho de que un paciente haya presentado síntomas más leves al diagnóstico puede condicionar que el facultativo indique antes la realización de una PEOC y, por tanto, la tolerancia sea constatada antes en este grupo de pacientes que en los que han presentado otros síntomas.

- Asociación con otros rasgos de atopia:

En este trabajo, la *presencia de otras alergias alimentarias* es un factor estadísticamente asociado a la no tolerancia precoz en los pacientes con APLV, tanto en el análisis univariado como en uno de los modelos de regresión logística propuestos. Este factor es compartido como indicador de mala evolución en el estudio de Santos et al (87) y en cierto modo en el estudio de Saarinen et al (92), puesto que en este último caso los pacientes sensibilizados al huevo muestran una peor evolución de su APLV (al igual que en nuestra población). En el estudio de Saavage et al (137) se relaciona la presencia de otras AA con la evolución de la alergia al huevo, hecho que no se ha demostrado en nuestra población de una manera tan clara.

Por otra parte, la *presencia de otra patología alérgica* se asocia a persistencia de la APLV y de la AA al huevo en el análisis bivariado en nuestra serie. Del mismo modo Fiochi et al (138) relacionan la presencia de asma y/o rinoconjuntivitis con una peor evolución y Santos et al (87) lo relacionan con el asma. Saavage et al (137) encuentran resultados similares al valorar la presencia de otras enfermedades atópicas en los pacientes con AA al huevo.

Por último, los *antecedentes familiares de atopia*, constituyen en nuestro estudio un factor asociado a la no tolerancia al huevo en el análisis bivariado. Entre los estudios revisados, únicamente Kaczmariski et al (135) relacionan la presencia de asma y/o rinoconjuntivitis en los padres con una peor evolución de la APLV.

7.3.3. Tolerancia al alérgeno cocinado como factor predictivo de tolerancia.

En el estudio de Peters et al (139), hasta un 80% de los niños con AA al huevo son capaces de tolerar el huevo horneado. Este hecho resulta algo común en otros estudios, de ahí los diferentes puntos de corte para la tolerancia total o parcial al huevo en los estudios de Ando et al (111) y Benhamou et al (125) expuestos en la Tabla 41.

Más allá de la variabilidad que permite en la dieta, el consumo del alérgeno horneado (leche o huevo) parece asociarse a una tolerancia total más precoz al mismo. En el estudio de Peters et al (139) aquellos pacientes que toleran el huevo horneado y tienen un consumo frecuente del mismo toleran antes que aquellos que pueden consumirlo pero no lo ingieren. Este mismo aspecto es compartido en los estudios de Leonard et al (140) y ha sido demostrado para la leche horneada por Nowak et al (141) y Kim J et al (142).

La identificación de los pacientes que toleran el alérgeno procesado puede permitir al clínico seleccionar a aquellos niños que podrán consumir antes la leche o el huevo en todas sus formas. Esto puede ser debido a que se selecciona un subgrupo específico de pacientes o a que quizás existe algún mecanismo fisiopatológico que acelera la tolerancia con este procedimiento.

Aunque en el trabajo aquí presentado la tolerancia parcial al huevo no se consideró como uno de los factores a valorar en el análisis estadístico de este objetivo, es destacable que el factor persistentemente asociado a la persistencia de la alergia al huevo en nuestros niños es el prick para ovomucoide. Esta proteína, al ser termoestable, pudiera ser indicativa en cierto sentido de aquellos individuos que toleran el huevo en su forma horneada (143). Los resultados obtenidos sirven como base futura para posibles investigaciones en este sentido.

7.3.4. Posibles condicionantes en la variabilidad de los resultados.

Como puede apreciarse en la Tabla 42, no existe un factor específico común en todos los estudios revisados que permita identificar cómo va a ser la evolución de estos pacientes. Por otra parte, el grado de tolerancia alcanzado en los estudios es muy variable. Así, mientras Boyano et al (110) y Kim J et al (134) encuentran cifras de tolerancia al huevo un tanto acordes (aproximadamente la mitad de los pacientes toleran el huevo a los tres años), el estudio de Saavage et al (137), muestra cifras de

tolerancia inferiores (4% de tolerancia a los tres años). El estudio de la cohorte CoFAR (127) muestra unas cifras de tolerancia intermedias entre estos estudios.

Además de diferentes poblaciones estudiadas, existen muchos otros aspectos que son distintos en los estudios presentados y van desde la selección de la población (algunos cohortes poblacionales y otros niños de centros de referencia) hasta el modo en que se confirma la alergia (diferentes protocolos de PEOC).

Consideramos que el principal factor que difiere en los resultados entre estudios es el hecho de que existen periodos de seguimiento muy variables en todos ellos así como diferencias en los momentos evolutivos en los que se valora la tolerancia en cada uno de los trabajos.

Por último cabe considerar que, a pesar de la heterogeneidad entre todos los estudios revisados, sus resultados sugieren un cierto cambio en la historia natural de estas dos alergias alimentarias. Existe la posibilidad de que los factores que se encuentren asociados a un aumento de la incidencia jueguen también algún papel en la persistencia de la alergia hasta edades más tardías. Nuevamente, la evaluación periódica frecuente de los pacientes permite identificar de manera precoz a aquellos que han desarrollado la tolerancia natural al alérgeno.

7.4. Estudio descriptivo de los pacientes sometidos al proceso de desensibilización.

7.4.1. Estado actual del tema.

En los últimos años se ha puesto en duda que la dieta de exclusión estricta sea la única manera de alcanzar la tolerancia a un alimento. Estudios previos desarrollados en pacientes con alergia al cacahuete (144) demuestran como en lugar de la evitación estricta, la administración continua del alimento puede favorecer el desarrollo de tolerancia.

El procedimiento de DS consiste en la exposición deliberada a dosis pequeñas pero progresivamente crecientes del alérgeno, con la finalidad de evitar posibles reacciones accidentales con su contacto y permitir un consumo regular del alimento previamente evitado.

Desde los estudios iniciales de Oppenheimer et al (145) y Nelson et al (73), el interés por este tipo de procedimiento ha aumentado notablemente en los últimos años. Como consecuencia, el número de estudios publicados en relación a la DS se ha incrementado, aunque la mayoría hacen referencia a pequeñas series de casos.

Más recientemente, Fisher et al (79), realiza un metanálisis de los estudios randomizados publicados relativos a la DS con leche y/o huevo (Tabla 43) en los que se compara la eficacia de este procedimiento frente a la dieta de exclusión. A pesar de que en los estudios individuales se aprecia como es más probable que se adquiriera la tolerancia tras la DS, la consideración de todos los estudios en su conjunto no permite establecer diferencias significativas, posiblemente debido a la gran heterogeneidad entre los estudios.

Tabla 43. Metanálisis relativos al procedimiento de desensibilización comparándolo con la dieta de exclusión.

ARTÍCULO	ESTUDIOS INCLUIDOS	EFICACIA	EFEITOS ADVERSOS	CAMBIOS INMUNOLÓGICOS
Fisher HR. Arch Dis Child. 2011. (79)	Staden et al (151): leche o huevo Longo et al (167):leche Skripak et al (159): leche	Menor riesgo de alergia, pero no significativo		
Brozek JL. Clin Exp Allergy. 2012. (81)	Longo et al (167) Martorel et al (2011) (82) Morisset et al (168) Pajno et al (160) Skripak et al (159)	Tolerancia total: RR 9,98 (4,11-24,24) Tolerancia parcial: RR 5,31 (1,16-24,45)	Anafilaxia: RR 5,82(1,55-21,86) Corticoides: RR 11,29 (2,74-46,47) Dermatitis atópica: RR 0,54 (0,04-7,36)	Descenso de prick: -2,96mm (-4,48,-1,45). Elevación IgG4: 19,9 mcg/ml (17,1-22,69)
Nurmatov U. Br J Nutr. 2014. (80)	18 estudios randomizados controlados 3 estudios clínicos controlados Incluyen inmunoterapia sublingual	RR de no presentar reacciones con el alérgeno 0,21 (0,12-0,38)	Locales: RR 1,47 (1,11-1,95) Sistémicas: RR 1,08 (0,79-1,19)	
Martorel C. J Invest allergol clin Immunol. 2014. (166)	Longo et al (167) Martorel et al (82) Morisset et al (168) Pajno et al (160) Skripak et al (150) Salmivesi et al (169)	RR 10,2 (4,4-23,8)	No evaluados estadísticamente	Descenso IgE específica 8,1kUA/L (-7,8.24) (p=0,318).

Estos resultados difieren con el último metanálisis del tema llevado a cabo por Nurmatov et al (80). En su trabajo, al comparar el procedimiento de la DS frente a la evitación del alérgeno se aprecia como el procedimiento es eficaz: el riesgo de persistencia de la alergia al finalizar el procedimiento es mayor en el grupo de la dieta de exclusión que en los pacientes desensibilizados.

En este estudio (80) a diferencia del de Fisher et al (79), se consideran también los cambios inmunológicos que se producen durante el procedimiento. El procedimiento de la DS se asocia a un descenso en el tamaño de las pruebas cutáneas para el alérgeno implicado así como a un aumento en los niveles de IgG4 específica. Sin embargo, la revisión del conjunto de estudios incluidos en su metanálisis no demuestra un descenso en las cifras de IgE específica asociado al proceso de DS.

Otros cambios inmunológicos con la DS descritos en la literatura hacen referencia a un cambio en el TAB. Burks et al (146) demuestran en su ensayo clínico randomizado para el huevo que la activación de los basófilos desciende más en el grupo de los pacientes desensibilizados al huevo que en el grupo control. Nucera et al (147) utiliza este test para la monitorización de los pacientes durante el procedimiento. En la sección de Resultados se aprecia como los pacientes desensibilizados al huevo presentan también un descenso en la expresión de CD63 asociado al proceso de DS (148).

Más allá de la eficacia y los cambios inmunológicos asociados al proceso de DS, la posibilidad de presentar reacciones adversas durante el procedimiento es un hecho común en todos los estudios (78). Barbi et al (149) estima el número de reacciones adversas en una de cada 100 dosis en la revisión de su serie. En su estudio, el número de reacciones es más elevado en las fases iniciales del procedimiento, con las dosis menores del alérgeno. Sin embargo, el número e intensidad de reacciones adversas varía según los diferentes estudios. Si se tienen en cuenta los efectos adversos locales o leves, el metanálisis de Nurmatov (80) demuestra un aumento significativo de los

mismos con la DS frente a la dieta de exclusión. Con respecto a las reacciones adversas sistémicas, existe un incremento no significativo del riesgo aunque la definición de este tipo de reacción se realiza de forma un tanto imprecisa en la mayoría de estudios.

Un aspecto a considerar es que el objetivo final de este procedimiento debe ser la tolerancia oral permanente al alérgeno, entendiendo este proceso como una forma de inmunoterapia. Según la definición de la Organización Mundial de la salud (150) la inmunoterapia consiste en la administración de cantidades crecientes del alérgeno a un sujeto alérgico alcanzando una dosis que es eficaz para disminuir los síntomas tras su exposición. Sin embargo, la DS consistiría en la administración continua de dosis crecientes de un alérgeno hasta alcanzar la dosis total necesaria para el tratamiento farmacológico o la nutrición con el alimento implicado. El proceso que estamos describiendo es denominado por algunos inducción a la tolerancia oral, pero no se puede asegurar que cuando la ingesta del alimento se interrumpe el efecto protector no se pierda o disminuya.

La tolerancia a largo plazo y, sobretodo, tras un periodo de eliminación del alérgeno, es estudiada por escasos artículos en el caso del la leche y el huevo. En este sentido, Burks et al (146) demuestra que tan sólo el 28% de los pacientes mantienen una tolerancia total una vez que cesa el contacto con el huevo tras la DS. Por otra parte, Staden et al (151) demuestran que tras la ausencia de exposición permanente no existen diferencias entre los pacientes sometidos a DS y los controles, sugiriendo que es necesaria la exposición regular con el alérgeno para mantener el estado de DS. Algunos autores (78) sugieren que la DS a más largo plazo sí podría resultar en una tolerancia permanente al alérgeno. En cualquier caso, un aspecto a considerar sería si tras la exclusión del alérgeno la dosis que origina síntomas en estos niños es mayor que previamente, lo que teóricamente podría protegerles ante reacciones accidentales.

Finalmente, aunque existen estudios que demuestran una mejora en la calidad de vida asociada a la DS (152,153,154) hay que destacar que no todos los niños

tratados con éxito con DS continúan tomando leche en los años posteriores. Meglio et al (155) encuentra en el seguimiento a cinco años que un 75-80% de los pacientes desensibilizados continúan tomando leche, excluyéndola el resto en base a preferencias o por un reinicio de los síntomas con su ingesta.

7.4.2. Consistencia de nuestra serie con los resultados publicados.

Uno de los objetivos de nuestro estudio fue realizar una descripción de los pacientes sometidos al proceso de DS durante el periodo de estudio. Los resultados expuestos con respecto a nuestra población constituyen una serie de casos limitada, al igual que otras descritas en la literatura.

Como puede apreciarse en la Tabla 43 nuestros resultados son acordes a los descritos en la bibliografía revisada, de la que se incluyen tan sólo los principales metanálisis publicados. Por una parte, el número de pacientes en los que el procedimiento es eficaz, en el sentido de permitir la tolerancia, es elevado. Por otra parte, la mayoría de las reacciones adversas presentadas en nuestra serie son de carácter leve-moderado, sin ningún caso de anafilaxia ni de reacción que precisase la utilización de adrenalina. El tiempo empleado en el procedimiento es acorde a otros estudios publicados como puede ser el de García Ara et al (83).

Por último, es destacable el descenso en los niveles de IgE específica que se aprecia tras el procedimiento, que llega a ser significativa en el caso de los pacientes sometidos a DS para huevo. Este descenso no es un hecho común en todos los estudios revisados, sino que difiere en las diferentes series. Así, mientras en el metanálisis de Nurmatov et al (80) no se objetiva un descenso de IgE específica en el conjunto de estudios revisados este hecho sí que es común en otras series de casos. Los estudios de Martorel et al (82), Staden et al (151), Vickery et al (156), Jones et al (157) y Patriarca et al (158) sí que objetivan un descenso en los niveles de IgE específica tras la DS, mientras que Burks et al (146), Meglio et al (155), Skripak et al (159), Pajno et al (160), Buchanan et al (161) no aprecian dichos cambios analíticos. Una de las posibles causas

de la variabilidad en los resultados, además de diferencias en poblaciones y diseño del estudio, es el periodo de tiempo transcurrido entre la finalización de la DS y la realización de la determinación analítica, que es variable en cada caso.

7.4.3. Cuestiones pendientes.

Desde su descripción inicial, el procedimiento de la DS se ha ido generalizando y se realiza cada vez con más frecuencia en centros especializados. Sin embargo, existen muchas diferencias en la forma de realizar este procedimiento entre los profesionales. En este sentido, un estudio italiano (162) demuestra que existe una gran variabilidad en los centros a la hora de la indicación, el protocolo empleado y la valoración de los resultados. Una mayor uniformidad entre los diferentes centros permitiría una comparación de resultados y facilitaría la investigación.

Por otra parte, existe un interés en desarrollar nuevos procedimientos que aumenten la velocidad de DS y el tiempo de mantenimiento de la tolerancia. En el caso de alergias alimentarias múltiples, ha sido estudiada la DS múltiple para varios alimentos, que ha demostrado periodos más prolongados que la DS aislada para conseguir la tolerancia, pero menores que al considerar todos los procesos de forma secuencial para cada uno de los alimentos implicados (163). También se ha demostrado un aumento de la eficacia al combinar el procedimiento de la DS con la utilización de omalizumab (164).

Más allá de la tolerancia, entendida como la ausencia de reacción inmediata con el consumo regular del alimento, existen múltiples cuestiones aún no estudiadas relativas a los cambios a nivel intestinal secundarios a este procedimiento. Los estudios relativos a la permeabilidad o inflamación intestinal tras la DS son muy escasos (165), así como los que hacen referencia a la evolución nutricional tras la introducción de ese alérgeno. La descripción de casos de esofagitis eosinofílica tras la realización de DS en pacientes alérgicos debe servir como llamada de atención inicial para establecer nuevos parámetros a investigar en este grupo de pacientes.

7.5. Limitaciones del estudio.

7.5.1. Sesgos de selección.

Derivados de la forma en la que los pacientes fueron seleccionados para el estudio. Cabe considerar que los pacientes estudiados se limitan a aquellos que se encuentran en seguimiento en las consultas de Alergología Infantil y Gastroenterología Infantil del Hospital Materno Infantil Teresa Herrera, lo cual no tiene porque ser representativo de la población general. Sin embargo, existen pocos estudios en la literatura donde los pacientes se seleccionen en estos dos tipos de consultas, lo cual le confiere mayor representatividad. Además, el hospital en el que se realiza el estudio es centro de referencia para los pacientes de nuestra área sanitaria. En el caso de la APLV, en muchas ocasiones los niños deben ser derivados a nuestro centro para la prescripción a largo plazo de la alternativa dietética (fórmula hidrolizada).

El diagnóstico de APLV y AA al huevo se realiza en base a la presencia de síntomas compatibles asociados a la determinación de IgE específica y/o pruebas cutáneas intraepidérmicas positivas. Esto implica que no se realiza una PEOC al diagnóstico en todos los casos. En este sentido, cabe considerar que la prueba de exposición oral no está exenta de riesgos (en nuestro estudio se exponen casos de anafilaxia durante las pruebas realizadas en el seguimiento de los pacientes). Por otra parte, este tipo de abordaje está contemplado en las guías clínicas de referencia (18,63) y refleja la práctica clínica habitual. Con la finalidad de aumentar la precisión en el diagnóstico en los pacientes, uno de los objetivos de este estudio es precisamente el de conocer la validez de las pruebas diagnósticas habituales para poder realizar más PEOC minimizando los riesgos.

Por último, tal y como se expuso previamente, los resultados son comparables a los obtenidos de la literatura, lo que valora la representatividad de los pacientes y, por tanto, su validez externa.

7.5.2. Sesgos de información.

Producidos por la inadecuada medida de las variables del estudio o por la forma en la que se obtuvieron los datos.

La información de la adquisición de tolerancia se basa en la realización de una PEOC abierta, no controlada con placebo. Este sesgo se minimiza en la medida de lo posible realizando PEOC próximas en los casos de síntomas dudosos o subjetivos. Las provocaciones abiertas suponen la práctica clínica habitual en edad pediátrica, especialmente si los niños son pequeños. Sólo se consideraron como PEOC positivas aquellas en las que se presentaban síntomas objetivos de alergia.

Para el cálculo de la validez de las pruebas diagnósticas se han considerado los niveles de IgE específica del paciente inmediatamente anteriores a la realización de la PEOC. El periodo entre la analítica sanguínea y la provocación puede ser variable. Para minimizar este sesgo se han seleccionado únicamente aquellos valores de IgE específica realizados en el periodo máximo de un año antes de la PEOC.

El desarrollo de tolerancia se constata en un momento determinado. Este momento se encuentra condicionado por diferentes variables externas (decisión individual del médico de realizar PEOC en base a los niveles de IgE, decisión de los padres de realizar la PEOC o no, disponibilidad asistencial para realizar la PEOC en el tiempo estimado, etc). De este modo, el tiempo de adquisición de tolerancia en este estudio está influenciado por estas variables.

En el caso de la APLV, en el estudio de variables asociadas a la tolerancia se ha considerado el término "tolerancia precoz" en base a un límite de edad determinado específicamente para este estudio (dos años). Sin embargo, entendemos dicho límite como importante por estar asociado a un periodo temporal de mayor liberalización de la dieta y a partir del cual los inconvenientes y riesgos de la dieta de exclusión pueden ser mayores. El soporte nutricional se hace más sencillo en los niños hasta los dos años y este límite de edad es compartido por otros autores (87,131).

Como corresponde a la recogida retrospectiva de información, este estudio tiene todos los sesgos derivados de la información retrospectiva. En todo caso, parte del estudio tiene un componente prospectivo que ha permitido minimizar los sesgos derivados de la recogida de información sin contacto con el paciente.

7.5.3. Sesgos de confusión.

Derivados de la presencia de terceras variables que están relacionadas con las diferentes características de los pacientes y los eventos de interés.

Con el objetivo de minimizar estos sesgos se ha recogido información que afecta a las variables de exposición y de respuesta. Posteriormente se realizó un análisis multivariado de regresión logística para controlar el efecto de las variables de confusión entre sí.

7.6. Aportaciones del estudio.

Este estudio, llevado a cabo en el Hospital Materno Infantil Teresa Herrera, nos permite obtener información del manejo clínico y la actividad asistencial en un hospital terciario.

Por otra parte, el seguimiento evolutivo realizado en los pacientes favorece el conocimiento de la historia natural de la alergia a la leche y al huevo e identifica aquellos niños en los que es más probable un peor curso evolutivo de su enfermedad. De este modo, los datos presentados son una herramienta útil para poder individualizar el abordaje en cada paciente y podrían ser utilizados en la práctica clínica para resolver cuestiones relativas a la probabilidad de tolerancia y el tiempo de resolución de la alergia.

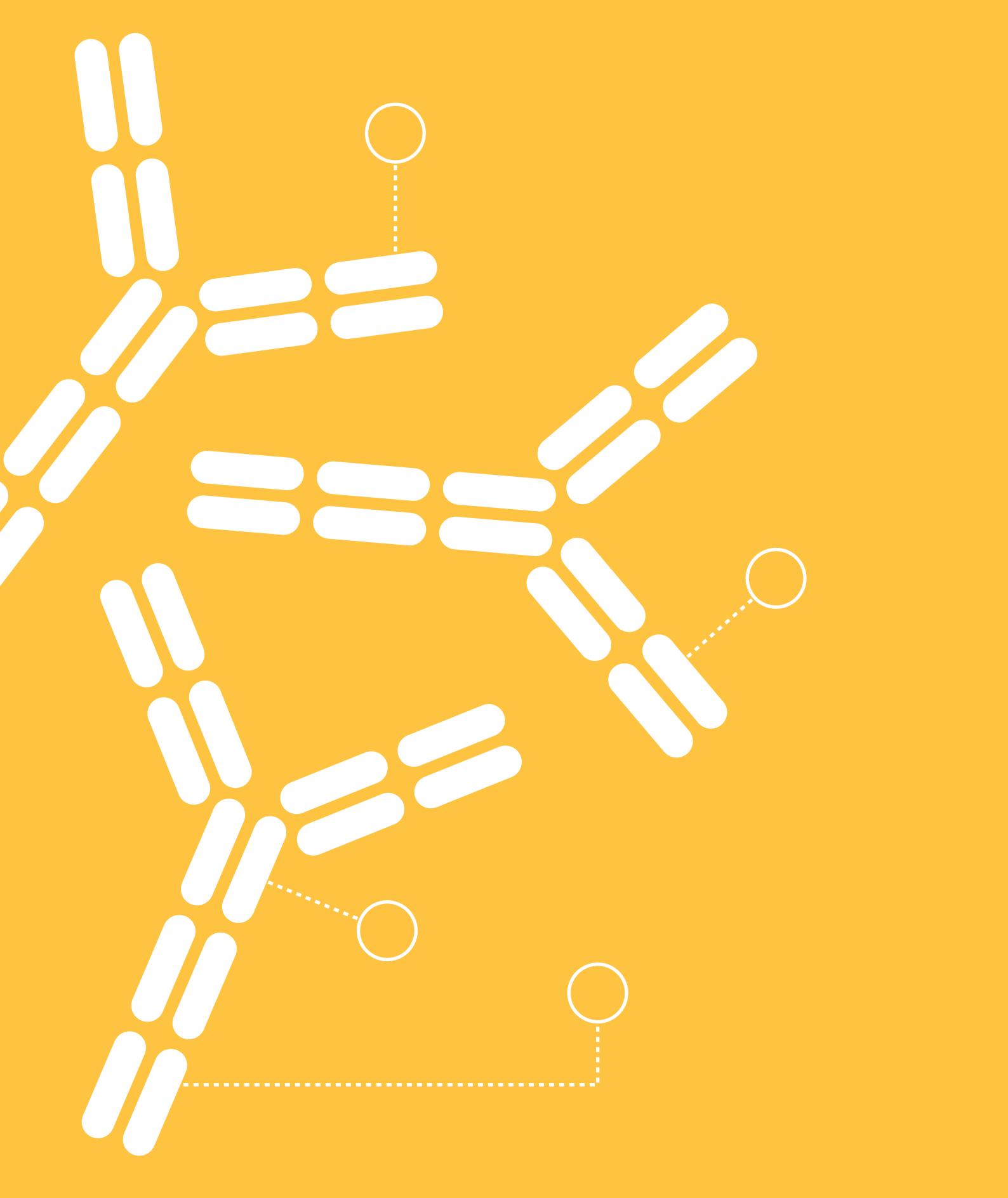
El trabajo realizado aporta datos de validez y seguridad de las pruebas complementarias que se utilizan habitualmente para el diagnóstico de la APLV y la AA al huevo.

Un aspecto especialmente útil es el hecho de que se determinan puntos de corte para las medidas de IgE específica referidas a nuestra población, que podrán utilizarse en la práctica clínica diaria. Al aumentar la fiabilidad de estas determinaciones se facilita la realización de PEOC de una manera más segura. Esto permite, por una parte, disminuir el riesgo de reacciones durante estas pruebas y, por otra, facilita la realización de las mismas con el objetivo de evitar dietas de exclusión innecesarias en los pacientes que toleran.

7.7. Líneas futuras de investigación.

El estudio aquí presentado sirve como base para poder desarrollar futuras líneas de trabajo específicas en el campo de la APLV y la AA al huevo. En concreto:

- Establecer la validez y seguridad de la IgE sérica específica frente a leche y huevo en relación a la IgE total así como de las pruebas cutáneas intraepidérmicas para la leche y el huevo.
- Identificar la capacidad predictiva de los niveles de IgE específica y del tamaño de las pruebas cutáneas intraepidérmicas categorizadas para cada grupo de edad.
- Conocer cuales son los factores asociados a la tolerancia al huevo y a la leche en su forma procesada.
- Estudio de factores genéticos asociados a la tolerancia y a la persistencia de la alergia.
- Conocer la tolerancia a largo plazo en los pacientes sometidos al procedimiento de DS oral.
- Determinar otras variables inmunológicas que se modifican durante el proceso de DS oral.
- Profundizar en aspectos nutricionales en la APLV con cuestionarios validados de frecuencia de consumo de alimentos y aportes nutricionales.
- Estudiar cambios en la permeabilidad intestinal asociados al desarrollo de tolerancia alimentaria.



8. CONCLUSIONES

8. CONCLUSIONES

CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICAS.

- En nuestro estudio, al considerar ambas alergias, la forma más prevalente es la APLV aislada.
- Más de la tercera parte de los pacientes con APLV y de la mitad con alergia al huevo tienen antecedentes personales de atopia y otras alergias alimentarias. La comorbilidad alérgica más frecuente en el paciente es el asma bronquial y en la familia lo son el asma y la rinoconjuntivitis. Las alergias alimentarias asociadas más comunes son al pescado y a los frutos secos.
- La manifestación clínica presentada con mayor frecuencia en los pacientes con APLV es la urticaria generalizada y en pacientes con alergia al huevo la urticaria perioral. Es más común que los síntomas no se presenten con la primera ingesta del alimento, sino en las posteriores.
- Las diferencias entre los grupos en base a su sensibilización (grupos: sólo leche, sólo huevo y leche + huevo) muestran lo siguiente:
 - La APLV muestra un patrón evolutivo más favorable que la AA al huevo, con una tolerancia alcanzada significativamente mayor.
 - En los pacientes con APLV el antecedente de LM es significativamente más frecuente que en los pacientes monosensibilizados al huevo.
 - Los pacientes alérgicos al huevo, monosensibilizados o no, constituyen un grupo poblacional donde los antecedentes personales y familiares de atopia y la presencia de otras alergias alimentarias es significativamente más común que en los casos de APLV exclusiva. Los niños monosensibilizados al huevo, presentan al diagnóstico resultados más elevados en las pruebas complementarias y síntomas significativamente más frecuentes (urticaria generalizada y dificultad respiratoria).
 - Los niños alérgicos a leche y huevo asocian con una frecuencia significativamente mayor otra AA. En estos pacientes, la APLV tiene un curso evolutivo más desfavorable.

- El grupo de pacientes monosensibilizados a la leche o al huevo presentan síntomas tras la primera ingesta con mayor frecuencia.

CAPACIDAD PREDICTIVA PRUEBAS DIAGNÓSTICAS.

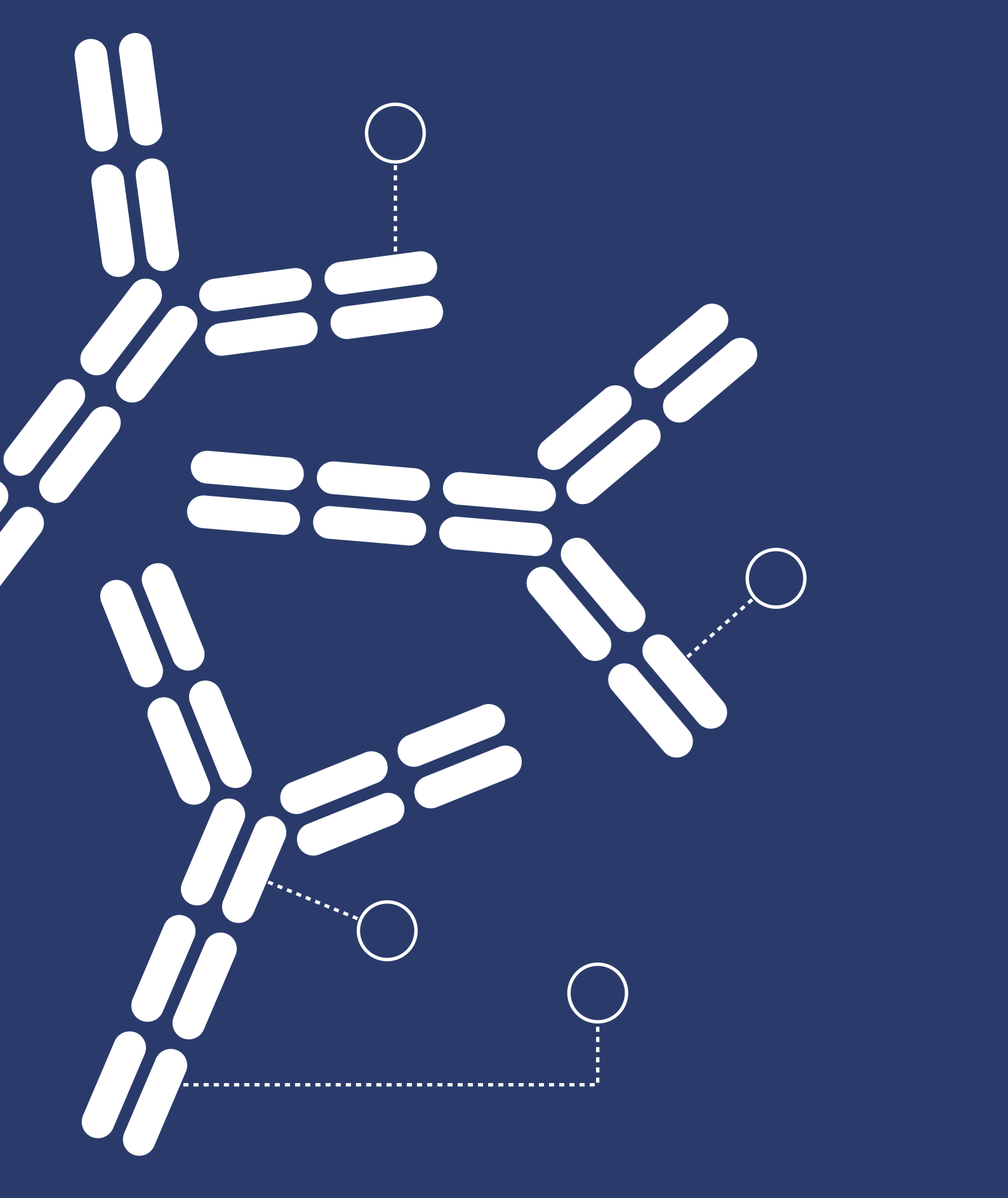
- En diagnóstico de la APLV, tanto la leche de vaca como la caseína presentan una mayor sensibilidad y especificidad, sin diferencias significativas entre ellas. Para el diagnóstico de la AA al huevo la IgE para ovomucoide es la que presenta resultados más fiables.

FACTORES ASOCIADOS A LA PERSISTENCIA DE LA ALERGIA.

- El grado de elevación de la IgE sérica para leche de vaca al diagnóstico es un factor que de forma persistente se encuentra asociado a la no adquisición de tolerancia precoz a la proteína de leche de vaca. Sin embargo, los antecedentes familiares de atopia no se asocian a un curso desfavorable en esta alergia al ajustarlo con el resto de variables.
- En el caso del huevo, el valor de las pruebas cutáneas intraepidérmicas para ovomucoide es el factor que se encuentra más asociado a la persistencia de la alergia. El hecho de padecer otras alergias alimentarias no es un factor asociado a un pronóstico desfavorable en esta alergia.

ESTUDIO DESCRIPTIVO DESENSIBILIZACIÓN ORAL.

- La DS se asocia a una tolerancia del alimento implicado en un porcentaje elevado de casos.
- A lo largo del proceso, se aprecia un descenso en los niveles de IgE específica para las diferentes fracciones de la leche y el huevo, que alcanza resultados estadísticamente significativos en el caso de la clara del huevo y la ovoalbúmina.
- Así mismo, se objetiva un descenso en la activación de los basófilos dependiente de antígeno, en pacientes alérgicos que han sido desensibilizados al huevo.



9. BIBLIOGRAFÍA

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Bruijnzeel-Koomen C, Ortolani C, Aas K, Bindslev-Jensen C, Björkstén B, Moneret-Vautrin D et al. Adverse reaction to food. Position paper. *Allergy* 1995; 50:623-35.
2. Johansson SG, Hourihane JO, Bousquet J, Bruijnzeel-Koomen C, Dreborg S, Haahtela T et al. A revised nomenclature for allergy. An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force. *Allergy*. 2001; 56(9):813-24.
3. Johansson SG, Bieber T, Dahl R, Friedmann PS, Lanier BQ, Lockey RF et al. Revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature Review Committee of the World Allergy Organization, October 2003. *J Allergy Clin Immunol*. 2004; 113(5):832-6.
4. Boyce JA, Assa'ad A, Burks AW, Jones SM, Sampson HA, Wood RA, et al. Guidelines for the diagnosis and management of food allergy in the United States: report of the NIAID-sponsored expert panel. *J Allergy Clin Immunol*. 2010; 126(Suppl):S1-58.
5. McGowan EC, Keet CA. Prevalence of self-reported food allergy in the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2007-2010. *J Allergy Clin Immunol*. 2013; 132:1216-9.
6. Nwaru BI, Hickstein L, Panesar SS, Roberts G, Muraro A and Sheikh A on behalf of the EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines Group. Prevalence of common food allergies in Europe: a systematic review and meta-analysis. *Allergy*. 2014; 69:992–1007.
7. Fernandez Rivas M. Food Allergy in *Alergológica*-2005. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2009; 19(S2): 37-44.
8. Sicherer SH. Epidemiology of food allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2011; 127: 594-602.
9. Keet CA, Savage JH, Seopaul S, Peng RD, Wood RA, Matsui EC. Temporal trends and racial/ethnic disparity in self-reported pediatric food allergy in the United

- States. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2014; 112(3):222–9.
10. Keil T, McBride D, Grimshaw K, Niggemann B, Xepapadaki P, Zannikos K, et al. The multinational birth cohort of EuroPrevall: background, aims and methods. *Allergy.* 2010; 65:482–490.
 11. Schoemaker AA, Sprikkelman AB, Grimshaw KE, Roberts G, Grabenhenrich L, Rosenfeld L et al. Incidence and natural history of challenge-proven cow's milk allergy in European children – EuroPrevall birth cohort. *Allergy.* 2015; 70:963–972.
 12. Ibáñez MD, JM Garde JM. Allergy in Patients Under Fourteen Years of Age in *Alergológica* 2005. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2009; 19 (S2): 61-68.
 13. Martorell A, Plaza AM, Boné J, Nevot S, García Ara MC, Echeverria L et al. Cow's milk protein allergy. A multi-centre study: clinical and epidemiological aspects. *Allergol Immunopathol (Madr).* 2006; 34:46-53.
 14. Hill DJ, Bannister DG, Hosking CS, Kemp AS. Cow milk allergy within the spectrum of atopic disorders. *Clin Exp Allergy.* 1994; 24:1137-43.
 15. Diéguez MC, Cerecedo I, Muriel A, Zamora J, Sánchez-Cano M, De la Hoz B. Skin prick test predictive value on the outcome of a first known egg exposure in milk-allergic children. *Pediatr Allergy Immunol.* 2008; 19:319-24.
 16. Savage J, Johns CB. Food allergy: epidemiology and natural history. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2015; 35(1):45-59.
 17. San Miguel Moncin MM, Garcia Figueroa B, Sanz Larruga ML, Lasa Suaces EM. Concepto, epidemiología y fisiopatología de la alergia a los alimentos. En: Peláez Hernandez A, Dávila González I. (eds). *Tratado de Alergología.* Madrid: Ergon; 2007. P. 789-806.
 18. Sicherer SH, Sampson HA. Food allergy: Epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment. *J Allergy Clin Immunol.* 2014;133(2):291-307.
 19. Hong X, Wang G, Liu X, Kumar R, Tsai HJ, Arguelles L, et al. Gene polymorphisms, breast-feeding, and development of food sensitization in early childhood. *J Allergy Clin Immunol.* 2011; 128:374-81.
 20. Canani R, Di Costanzo B. Gut Microbiota as Potential Therapeutic Target for the

- Treatment of Cow's Milk Allergy. *Nutrients* 2013; 5:651-662.
21. Canani B, Nocerino R, Terrin G, Coruzzo A, Cosenza L, Leone L et al Troncone R. Effect of *Lactobacillus GG* on tolerance acquisition in infants with cow's milk allergy: a randomized trial. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 129(2):580-582.
 22. Viljanen M, Kuitunen M, Haahtela T, Juntunen-Backman K, Korpela R, Savilahti E. Probiotic effects on faecal inflammatory markers and on faecal IgA in food allergic atopic eczema/dermatitis syndrome infants. *Pediatr Allergy Immunol* 2005; 16:65–71.
 23. Asai Y, Greenwood C, Hull PR, Alizadehfar R, Ben Shoshan M, Brown SJ, et al. Filaggrin gene mutation associations with peanut allergy persist despite variations in peanut allergy diagnostic criteria or asthma status. *J Allergy Clin Immunol*. 2013; 132:239-42.
 24. Luyt D, Ball H, Makwana N, Green MR, Bravin K, Nasser SM et al. BSACI guideline for the diagnosis and management of cow's milk allergy. *Clin Exp Allergy*. 2014; 44(5):642-72.
 25. Martorell A, Alonso E, Boné J, Echeverría L, López MC, Martín F. et al. Food allergy committee of SEICAP Position document: IgE-mediated allergy to egg protein. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2013; 41(5):320-36.
 26. Hill DJ, Hosking CS, de Benedictis FM, Oranje AP, Diepgen TL, Bauchau V, EPAAC Study Group. Confirmation of the association between high levels of immunoglobulin E food sensitization and eczema in infancy: an international study. *Clin Exp Allergy*. 2008; 38:161-8.
 27. Bath-Hextall F, Delamere FM, Williams HC. Dietary exclusions for established atopic eczema. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008: CD005203.
 28. Macdougall CF, Cant AJ, Colver AF. How dangerous is food allergy in childhood? The incidence of severe and fatal allergic reactions across the UK and Ireland *Arch Dis Child*. 2002; 86:236–39.
 29. Garcia Ara C, Sanchez AV, Boyano Martinez MT, Diaz Pena JM. Cow's milk-dependent, exercise-induced anaphylaxis: case report of a patient with previous allergy to cow's milk. *J Allergy Clin Immunol*. 2003; 111:647-8.
 30. Caminiti L, Passalacqua G, Vita D, Ruggeri P, Barberio G, Pajno GB. Food-

- exercise-induced anaphylaxis in a boy successfully desensitized to cow milk. *Allergy*. 2007; 62:334-5.
31. Berry MJ, Adams J, Voutilainen H, Feustel PJ, Celestin J, Järvinen KM. Impact of elimination diets on growth and nutritional status in children with multiple food allergies. *Pediatr Allergy Immunol* 2015; 26:133-8.
 32. Robbins KA, Wood RA, Keet CA. Milk allergy is associated with decreased growth in US children. *J Allergy Clin Immunol*. 2014; 134(6):1486-7.
 33. Muraro A, Werfel T, Hoffmann-Sommergruber K, Roberts G, Beyer K, Bindslev-Jensen C et al. EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines. Diagnosis and management of food allergy. *Allergy* 2014; 69:1008–1025.
 34. Sampson HA. Food allergy—accurately identifying clinical reactivity. *Allergy* 2005; 60(79):19–24.
 35. Fiocchi A, Brozek J, Schünemann H, Bahna SL, von Berg A, Beyer K et al. World Allergy Organization (WAO) Diagnosis and Rationale for Action against Cows Milk Allergy (DRACMA) Guidelines. *Pediatr Allergy Immunol*. 2010; 21:1-125.
 36. Host A, Halken S, Jacobsen HP, et al. Clinical course of cow's milk protein allergy/intolerance and atopic diseases in childhood. *Pediatr Allergy Immunol* 2002;13(suppl 15):23–8.
 37. Nowak-Węgrzyn A, Assa'ad AH, Bahna SL, Bock SA, Sicherer SH, Teuber SS. Work group report: oral food challenge testing. *J Allergy Clin Immunol*. 2009; 123(S):365-83.
 38. Dunn Galvin A, Daly D, Cullinane C, Stenke E, Keeton D, Erlewyn-Lajeunesse M, et al. Highly accurate prediction of food challenge outcome using routinely available clinical data. *J Allergy Clin Immunol*. 2011; 127:633-9.
 39. Bindslev-Jensen C, Ballmer-Weber BK, Bengtsson U, Blanco C, Ebner C, Hourihane J, et al. Standardization of food challenges in patients with immediate reactions to foods-position paper from the European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Allergy*. 2004; 59:690-7.
 40. Sampson HA, Gerth van Wijk R, Bindslev-Jensen C, Sicherer S, Teuber SS, Burks AW et al. Standardizing double-blind, placebo-controlled oral food challenges: American Academy of Allergy, Asthma & Immunology-European Academy of

- Allergy and Clinical Immunology PRACTALL consensus report. *J Allergy Clin Immunol*. 2012; 130:1260-74.
41. Longo G, Berti I, Barbi E, et al. Diagnosed child, treated child: food challenge as the first step toward tolerance induction in cow's milk protein allergy. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2012; 44(2):54-60.
 42. Dupont C. Diagnosis of cow's milk allergy in children: determining the gold standard? *Expert Rev Clin Immunol*. 2014; 10(2):257-67.
 43. Dupont C. How to reintroduce cow's milk?. *Pediatr Allergy Immunol*. 2013; 24:627-32.
 44. Pongracic JA, Bock SA, Sicherer SH. Oral food challenge practices among allergists in the United States. *J Allergy Clin Immunol*. 2012; 129:564-6.
 45. van der Velde JL, Flokstra-de Blok BM, de Groot H, Oude-Elberink JN, Kerkhof M, Duiverman EJ, et al. Food allergy-related quality of life after double-blind, placebo-controlled food challenges in adults, adolescents, and children. *J Allergy Clin Immunol*. 2012; 130:1136-43.
 46. Boyce JA, Assa'ad A, Burks AW, Jones SM, Sampson HA, Wood RA et al. Guidelines for the diagnosis and management of food allergy in the United States: summary of the NIAID-sponsored expert panel report. *Nutr Res*. 2011 Jan; (1):61-75.
 47. D'Urbano LE, Pellegrino K, Artesani MC, Donnanno S, Luciano R, Riccardi C, et al. Performance of a component-based allergen-microarray in the diagnosis of cow's milk and hen's egg allergy. *Clin Exp Allergy*. 2010; 40:1561-70.
 48. Alessandri C, Zennaro D, Scala E, Ferrara R, Bernardi ML, Santoro M, et al. Ovomucoid (Gal d 1) specific IgE detected by microarray system predict tolerability to boiled hen's egg and an increased risk to progress to multiple environmental allergen sensitisation. *Clin Exp Allergy*. 2012; 42:441-50.
 49. Bartnikas LM, Sheehan WJ, Larabee KS, Petty C, Schneider LC, Phipatanakul W. Ovomucoid is not superior to egg white testing in predicting tolerance to baked egg. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2013; 1:354-60.
 50. Caubet JC, Nowak-Wegrzyn A, Moshier E, Godbold J, Wang J, Sampson HA. Utility of casein-specific IgE levels in predicting reactivity to baked milk. *J Allergy*

- Clin Immunol. 2013; 131:222-4.
51. Vila L, Beyer K, Järvinen KM, Chatchatee P, Bardina L, Sampson HA. Role of conformational and linear epitopes in the achievement of tolerance in cow's milk allergy. *Clin Exp Allergy*. 2001; 31(10):1599-606.
 52. Wang J, Lin J, Bardina L, Goldis M, Nowak-Wegrzyn A, Shreffler WG, et al. Correlation of IgE/IgG4 milk epitopes and affinity of milk-specific IgE antibodies with different phenotypes of clinical milk allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2010; 125:695-702.
 53. Ebo DG. Basophil activation tests in food allergy. *Clin Exp Allergy*. 2009; 39(8):1115-6.
 54. Sato S, Tachimoto H, Shukuya A, Kurosaka N, Yanagida N, Utsunomiya T et al. Basophil Activation Marker CD203c Is Useful in the Diagnosis of Hen's Egg and Cow's Milk Allergies in Children. *Int Arch Allergy Immunol*. 2010; 152(s1):54-61.
 55. Ebo DG, Bridts CH, Hagendorens MM, Aerts NE, De Clerck LS, Stevens WJ et al. Basophil Activation Test by Flow Cytometry: Present and Future Applications in Allergology. *Clinical Cytometry*. 2008; 74:201-10.
 56. Rubio A, Vivinus-Nébot M, Bourrier T, Saggio T, Albertini M, Bernard A. Benefit of the basophil activation test in deciding when to reintroduce cow's milk in allergic children. *Allergy* 2010; *Allergy*. 2010; 66(1):92-100.
 57. Ocmant A, Mulier S, Hanssens L, Goldman M, Casimir G, Mascart F et al. Basophil activation tests for the diagnosis of food allergy in children. *Clin Exp Allergy*. 2009; 39(8):1234-45.
 58. Osborn DA, Sinn J. Formulas containing hydrolysed protein for prevention of allergy and food intolerance in infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006:CD003664.
 59. Greer FR, Sicherer SH, Burks AW; American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition; American Academy of Pediatrics Section on Allergy and Immunology. Effects of early nutritional interventions on the development of atopic disease in infants and children: the role of maternal dietary restriction, breastfeeding, timing of introduction of complementary foods, and hydrolyzed formulas. *Pediatrics*. 2008; 121(1):183-91.

60. Szajewska H1, Horvath A. Meta-analysis of the evidence for a partially hydrolyzed 100% whey formula for the prevention of allergic diseases. *Curr Med Res Opin.* 2010; 26(2):423-37.
61. Fiocchi A, Assa'ad A, Bahna S. Adverse Reactions to Foods Committee; American College of Allergy, Asthma and Immunology. Food allergy and the introduction of solid foods to infants: a consensus document. Adverse Reactions to Foods Committee, American College of Allergy, Asthma and Immunology. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2006; 97(1):10-20.
62. Agostoni C, Decsi T, Fewtrell M, Goulet O, Kolacek S, Koletzko B et al. Complementary feeding: a commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2008; 46(1):99-110.
63. Koletzko S, Niggemann B, Arato A, Dias JA, Heuschkel R, Husby S et al. Diagnostic approach and management of cow's-milk protein allergy in infants and children: ESPGHAN GI Committee practical guidelines. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012; 55(2):221-9.
64. Sojo Aguirre A, Bousoño García C. Manifestaciones gastrointestinales de la alergia alimentaria. En: Argüelles Martín F, García Novo MD, Pavón Relinchón P, Román Riechmann E, Silva García G, Sojo Aguirre A (eds). *Tratado de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica aplicada de la SEGHP.* Madrid: Ergon: 2010. P. 292-302.
65. Cantani A, Micera M. Immunogenicity of hydrolysate formulas in children (part 1). Analysis of 202 reactions. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2000; 10(5):261-76.
66. Pecquet S, Bovetto L, Maynard F, Fritsché R. Peptides obtained by tryptic hydrolysis of bovine blactoglobulin induce specific oral tolerance in mice. *J Allergy Clin Immunol.* 2000; 105:514-21.
67. Vandenas Y. Infant formula with partial protein hydrolysates: evidence and remaining questions. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2010; 50(4):356-8.
68. Pecquet et al. Peptides obtained by tryptic hydrolysis of bovine betalactoglobulin induce specific oral tolerance in mice. *J Allergy Clin Immunol.* 2000; 105:514-21.

69. Adel-Patient K. Immunomodulatory potential of partially hydrolyzed β -lactoglobulin and large synthetic peptides. *J Agric Food Chem.* 2012; 60(43):10858-66.
70. Kim JS, Nowak-Węgrzyn A, Sicherer SH, Noone S, Moshier EL, Sampson HA. Dietary baked-milk accelerates resolution of cow's milk allergy in children. *J Allergy Clin Immunol.* 2011; 128(1):125-131.
71. Leonard SA, Sampson HA, Sicherer SH, Noone S, Moshier EL, Godbold J, Nowak-Węgrzyn A. Dietary baked egg accelerates resolution of egg allergy in children. *J Allergy Clin Immunol.* 2012; 130(2):473-80.
72. Niggemann B, Staden U, Rolinck-Werninghaus C, Beyer K. Specific oral tolerance induction in food allergy. *Allergy.* 2006; 61(7):808-11.
73. Nelson HS, Lahr J, Rule R, Bock A, Leung D. Treatment of anaphylactic sensitivity to peanuts by immunotherapy with injections of aqueous peanut extract. *J Allergy Clin Immunol.* 1997; 99:744-51.
74. Vila L, García V. Oral tolerance induction with wheat: a valid therapeutic option in allergic patients. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2015; 25(1):77-8.
75. Mori F, Pucci N, Rossi ME, de Martino M, Azzari C, Novembre E. Oral desensitization to milk: how to choose the starting dose! *Pediatr Allergy Immunol.* 2010 Mar; 21(2):e450-3.
76. Itoh N, Itagaki Y, Kurihara K. Rush specific oral tolerance induction in school-age children with severe egg allergy: one year follow up. *Allergol Int.* 2010 Mar;59(1):43-51.
77. García Rodríguez R, Urra JM, Feo-Brito F, Galindo PA, Borja J, Gómez E et al. Oral rush desensitization to egg: efficacy and safety. *Clin Exp Allergy.* 2011; 41(9):1289-96.
78. Pajno GB. Oral desensitization for milk allergy in children: state of the art. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2011; 11(6):560-4.
79. Fisher HR, du Toit G, Lack G. Specific oral tolerance induction in food allergic children: is oral desensitisation more effective than allergen avoidance?: a meta-analysis of published RCTs. *Arch Dis Child.* 2011; 96(3):259-64.
80. Nurmatov U, Devereux G, Worth A, Healy L, Sheikh A. Systematic review with

- meta-analysis. Effectiveness and safety of orally administered immunotherapy for food allergies: a systematic review and meta-analysis *British Journal of Nutrition*. 2014; 111:12–22.
81. Brozek JL, Terracciano L, Hsu J, Kreis J, Compalati E, Santesso N et al. Oral immunotherapy for IgE-mediated cow's milk allergy: a systematic review and meta-analysis. *Clin Exp Allergy*. 2012; 42(3):363-74.
 82. Martorell A, De la Hoz B, Ibáñez MD, Bone J, Terrados MS, Michavila A. Oral desensitization as a useful treatment in 2-year-old children with cow's milk allergy. *Clin Exp Allergy*. 2011; 41(9):1297-304.
 83. García-Ara C, Pedrosa M, Belver MT, Martín-Muñoz MF, Quirce S, Boyano-Martínez T. Efficacy and safety of oral desensitization in children with cow's milk allergy according to their serum specific IgE level. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2013; 110(4):290-4.
 84. Scurlock AM, Vickery BP, Hourihane JO, Burks AW. Pediatric food allergy and mucosal tolerance. *Mucosal Immunol*. 2010; 3(4):345-54.
 85. Sopo SM, Onesimo R, Giorgio V, Fundarò C Specific oral tolerance induction (SOTI) in pediatric age: clinical research or just routine practice? *Pediatr Allergy Immunol*. 2010; 21(2):e446-9.
 86. Aaronov D, Tasher D, Levine A, Somekh E, Serour F, Dalal I. Natural history of food allergy in infants and children in Israel. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2008; 101(6):637-40.
 87. Santos A, Dias A, Pinheiro JA. Predictive factors for the persistence of cows milk allergy. *Pediatr Allergy Immunol*. 2010; 21:1127-34.
 88. Gupta RS, Lau CH, Sita EE, Smith B, Greenhawt MJ. Factors associated with reported food allergy tolerance among US children. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2013; 111(3):194-98.
 89. Venter C, Pereira B, Voigt K, Grundy J, Clayton CB, Higgins B et al. Prevalence and cumulative incidence of food hypersensitivity in the first 3 years of life. *Allergy*. 2008; 63(3):354-9.
 90. Nwaru BI, Hickstein L, Panesar SS, Roberts G, Muraro A, Sheikh A et al. Prevalence of common food allergies in Europe: a systematic review and meta-analysis. *Allergy*. 2014; 69(8):992-1007.

91. Ahrens B, Lopes de Oliveira LC, Grabenhenrich L, Schulz G, Niggemann B, Wahn U et al. Individual cow's milk allergens as prognostic markers for tolerance development? *Clin Exp Allergy*. 2012; 42(11):1630-7.
92. Saarinen KM, Pelkonen AS, Mäkelä MJ, Savilahti E. Clinical course and prognosis of cow's milk allergy are dependent on milk-specific IgE status. *J Allergy Clin Immunol*. 2005; 116(4):869-75.
93. Host A, Halcken S. A prospective study of cow milk allergy in Danish infants during the first 3 years of life. Clinical course in relation to clinical and immunological type of hypersensitivity reaction. *Allergy*. 1990; 45:587-96.
94. Järvinen KM, Sicherer SH. Diagnostic oral food challenges: procedures and biomarkers. *J Immunol Methods*. 2012; 383(1-2):30-8.
95. Sampson HA, Ho DG. Relationship between food-specific IgE concentrations and the risk of positive food challenges in children and adolescents. *J Allergy Clin Immunol*. 1997; 100(4):444-51.
96. Sampson HA. Utility of food-specific IgE concentrations in predicting symptomatic food allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2001; 107(5):891-6.
97. Perry TT, Matsui EC, Kay Conover-Walker M, Wood RA. The relationship of allergen specific IgE levels and oral food challenge outcome. *J Allergy Clin Immunol*. 2004; 114(1):144-9.
98. Castro AP, Pastorino AC, Gushken AK, Kokron CM, Filho UD, Jacob CM. Establishing a cut-off for the serum levels of specific IgE to milk and its components for cow's milk allergy: results from a specific population. *Allergol Immunopathol*. 2015; 43(1):67-72.
99. Soares-Weiser K, Takwoingi Y, Panesar SS, Muraro A, Werfel T, Hoffmann-Sommergruber K et al. The diagnosis of food allergy: a systematic review and meta-analysis. *Allergy*. 2014; 69:76-86.
100. Diéguez MC, Cerecedo I, Muriel A, Zamora J, Abraira V, Camacho E et al. Utility of diagnostic tests in the follow-up of egg-allergic children. *Clin Exp Allergy*. 2009; 39(10):1575-84.
101. Peters RL, Allen KJ, Dharmage SC, Tang ML, Koplin JJ, Ponsonby AL et al. Skin prick test responses and allergen-specific IgE levels as predictors of peanut, egg, and sesame allergy in infants. *J Allergy Clin Immunol*. 2013; 132(4):874-80.

102. Calvani M, Arasi S, Bianchi A, Caimmi D, Cuomo B, Dondi A, et al. Is it possible to make a diagnosis of raw, heated, and baked egg allergy in children using cutoffs? A systematic review. *Pediatr Allergy Immunol*. 2015; 26(6):509-21.
103. Keskin O, Tuncer A, Adalioglu G, Sekerel BE, Sackesen C, Kalayci O. Evaluation of the utility of atopy patch testing, skin prick testing, and total and specific IgE assays in the diagnosis of cow's milk allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2005; 94(5):553-60.
104. Kim J, Kim HY, Park MR, Choi J, Shim JY, Kim MJ et al. Diagnostic Decision Points of Specific IgE Concentrations in Korean Children With Egg and Cow's Milk Allergies. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2015; 7(4):332-8.
105. Alvaro M, Garcia-Paba MB, Giner MT, Piquer M, Dominguez O, Lozano J et al. Tolerance to egg proteins in egg-sensitized infants without previous consumption. *Allergy*. 2014; 69:1350- 56.
106. García-Ara MC, Boyano-Martínez MT, Díaz-Pena JM, Martín-Muñoz MF, Martín-Esteban M. Cow's milk-specific immunoglobulin E levels as predictors of clinical reactivity in the follow-up of the cow's milk allergy infants. *Clin Exp Allergy*. 2004; 34(6):866-70.
107. Mehl A, Verstege A, Staden U, Kulig M, Nocon M, Beyer K et al. Utility of the ratio of food-specific IgE/total IgE in predicting symptomatic food allergy in children. *Allergy*. 2005 Aug;60(8):1034-9.
108. Gupta RS, Lau CH, Hamilton RG, Donnell A, Newhall KK. Predicting outcomes of oral food challenges by using the allergen-specific IgE-total IgE ratio. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2014; 2(3):300-5.
109. Komata T, Söderström L, Borres MP, Tachimoto H, Ebisawa M. The predictive relationship of food-specific serum IgE concentrations to challenge outcomes for egg and milk varies by patient age. *J Allergy Clin Immunol*. 2007; 119(5):1272-4.
110. Boyano-Martínez T, García-Ara C, Díaz-Pena JM, Martín-Esteban M. Prediction of tolerance on the basis of quantification of egg white-specific IgE antibodies in children with egg allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2002; 110(2):304-9.
111. Ando H, Movérare R, Kondo Y, Tsuge I, Tanaka A, Borres MP et al. Utility of ovomucoid-specific IgE concentrations in predicting symptomatic egg allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2008; 122(3):583-8.

112. Bartnikas LM, Sheehan WJ, Hoffman EB, Permaul P, Dioun AF, Friedlander J. Predicting food challenge outcomes for baked milk: role of specific IgE and skin prick testing. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2012; 109(5):309-13.
113. Okamoto S, Taniuchi S, Sudo K, Hatano Y, Nakano K, Shimo T et al. Predictive value of IgE/IgG4 antibody ratio in children with egg allergy. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2012; 8(1):9.
114. Ahrens B, Lopes de Oliveira LC, Schulz G, Borres MP, Niggemann B, Wahn U et al. The role of hen's egg-specific IgE, IgG and IgG4 in the diagnostic procedure of hen's egg allergy. *Allergy.* 2010; 65: 1554-57.
115. Jarvinen KM, Beyer K, Vila L, Chatchatee P, Busse PJ, Sampson HA et al. B-cell epitopes as a screening instrument for persistent cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2002; 110:293-97.
116. Jarvinen KM, Beyer K, Vila L, Bardina L, Mishoe M, Sampson HA. Specificity of IgE antibodies to sequential epitopes of hen's egg ovomucoid as a marker for persistence of egg allergy. *Allergy.* 2007; 62:758-65.
117. Rubio A, Vivinus-Nebot M, Bourrier T, Saggio B, Albertini M, Bernard A. Benefit of the basophil activation test in deciding when to reintroduce cow's milk in allergic children. *Allergy.* 2011; 66:92-100.
118. Celik-Bilgili S, Mehl A, Verstege A, Staden U, Nocon M, Beyer K et al. The predictive value of specific immunoglobulin E levels in serum for the outcome of oral food challenges. *Clin Exp Allergy.* 2005; 35(3):268-73.
119. Martorell A, García Ara MC, Plaza AM, Boné J, Nevot S, Echeverria L et al. The predictive value of specific immunoglobulin E levels in serum for the outcome of the development of tolerance in cow's milk allergy. *Allergol Immunopathol (Madr).* 2008; 36(6):325-30.
120. van der Gugten AC, den Otter M, Meijer Y, Pasmans SG, Knulst AC, Hoekstra MO. Usefulness of specific IgE levels in predicting cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2008; 121(2):531-3.
121. Yavuz ST, Buyuktiryaki B, Sahiner UM, Birben E, Tuncer A, Yakarisik S et al. Factors that predict the clinical reactivity and tolerance in children with cow's milk allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2013; 110(4):284-9.
122. Ito K, Futamura M, Movérare R, Tanaka A, Kawabe T, Sakamoto T et al. The

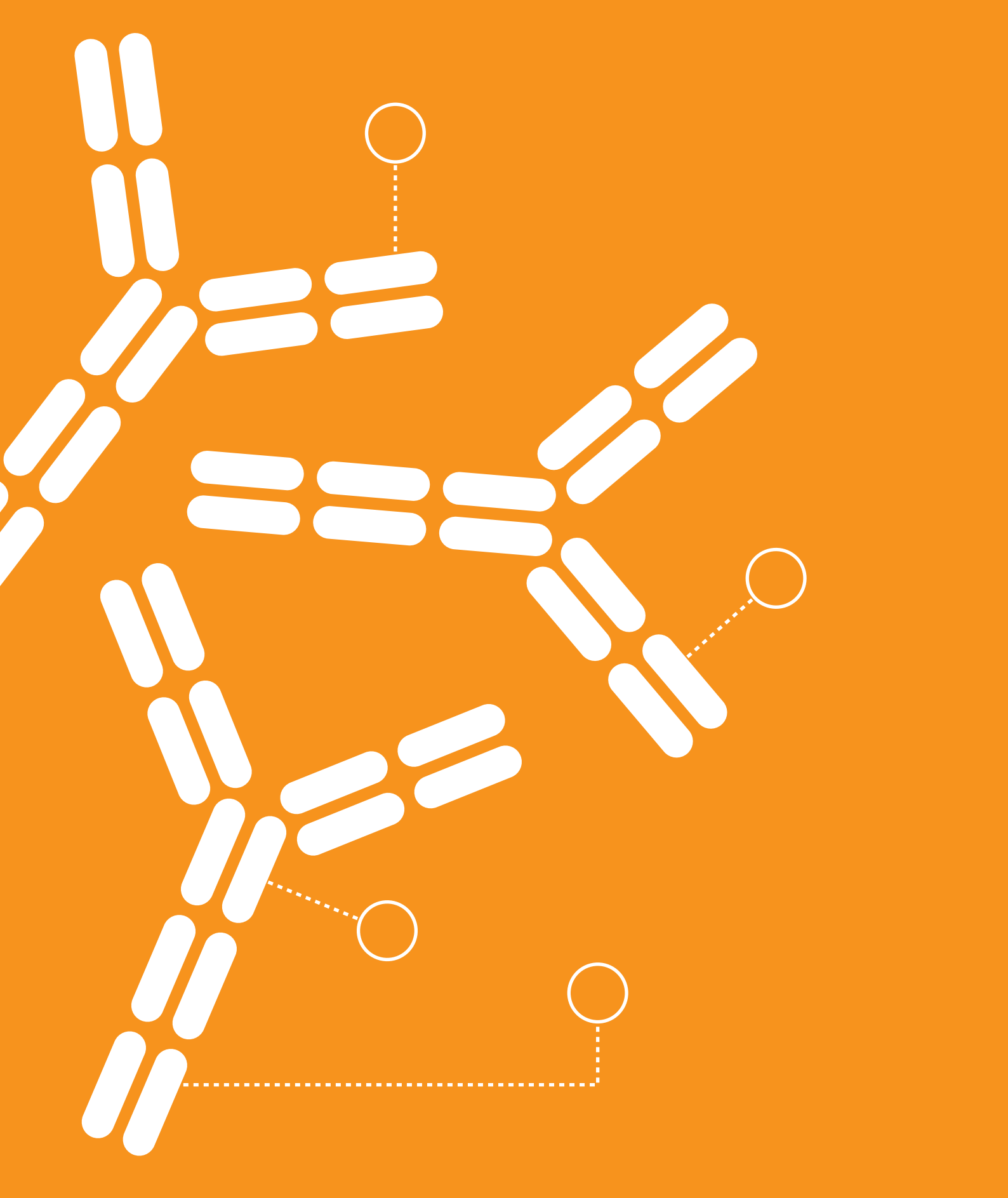
- usefulness of casein-specific IgE and IgG4 antibodies in cow's milk allergic children. *Clin Mol Allergy*. 2012; 10(1):1.
123. Montesinos E, Martorell A, Félix R, Cerdá JC. Egg white specific IgE levels in serum as clinical reactivity predictors in the course of egg allergy follow-up. *Pediatr Allergy Immunol*. 2010; 21:634-39.
124. Min TK, Jeon YH, Yang HJ, Pyun BY. The Clinical Usefulness of IgE Antibodies Against Egg White and Its Components in Korean Children. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2013; 5(3):138-42.
125. Benhamou Senouf AH, Borres MP, Eigenmann PA. Native and denatured egg white protein IgE tests discriminate hen's egg allergic from egg-tolerant children. *Pediatr Allergy Immunol*. 2015; 26:12-17.
126. Wood RA, Sicherer SH, Vickery BP, Jones SM, Liu AH, Fleischer DM et al. The natural history of milk allergy in an observational cohort. *J Allergy Clin Immunol*. 2013; 131(3):805-12.
127. Sicherer SH, Wood RA, Vickery BP, Jones SM, Liu AH, Fleischer DM et al. The natural history of egg allergy in an observational cohort. *J Allergy Clin Immunol*. 2014 Feb;133(2):492-9.
128. Burks AW, Land MH. Long-term follow-up of IgE-mediated food allergy: determining persistence versus clinical tolerance. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2014; 112(3):200-6.
129. Shek LP, Soderstrom L, Ahlstedt S, Beyer K, Sampson HA. Determination of food specific IgE levels over time can predict the development of tolerance in cow's milk and hen's egg allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2004; 114(2):387-91.
130. Savilahti EM, Saarinen KM, Savilahti E. Duration of clinical reactivity in cow's milk allergy is associated with levels of specific immunoglobulin G4 and immunoglobulin A antibodies to beta-lactoglobulin. *Clin Exp Allergy*. 2010; 40(2):251-6.
131. Dias A, Santos A, Pinheiro JA. Persistence of cow's milk allergy beyond two years of age. *Allergol Immunopathol*. 2010; 38(1):8-12.
132. Vanto T, Helppilä S, Juntunen-Backman K, Kalimo K, Klemola T, Korpela R et al. Prediction of the development of tolerance to milk in children with cow's milk hypersensitivity. *J Pediatr*. 2004; 144(2):218-22.

133. Elizur A, Rajuan N, Goldberg MR, Leshno M, Cohen A, Katz Y. Natural course and risk factors for persistence of IgE-mediated cow's milk allergy. *J Pediatr.* 2012; 161(3):482-487.
134. Kim J, Chung Y, Han Y, Ahn K, Lee SI. The natural history and prognostic factors of egg allergy in Korean infants with atopic dermatitis. *Asian Pac J Allergy Immunol.* 2009; 27(2-3):107-14.
135. Kaczmarek M, Wasilewska J, Cudowska B, Semeniuk J, Klukowski M, Matuszewska E. The natural history of cow's milk allergy in north-eastern Poland. *Adv Med Sci.* 2013; 58(1):22-30.
136. Järvinen KM, Celestin J. What's on the menu for prediction of natural history of cow's milk allergy beyond casein cocktails and epitope soup? *Clin Exp Allergy.* 2012; 42(11):1549-51.
137. Savage JH, Matsui EC, Skripak JM, Wood RA. The natural history of egg allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2007; 120(6):1413-7.
138. Fiocchi A, Terracciano L, Bouygue GR, Veglia F, Sarratud T, Martelli A et al. Incremental prognostic factors associated with cow's milk allergy outcomes in infant and child referrals: the Milan Cow's Milk Allergy Cohort study. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2008; 101(2):166-73.
139. Peters RL, Dharmage SC, Gurrin LC, Koplin JJ, Ponsonby AL, Lowe AJ et al. The natural history and clinical predictors of egg allergy in the first 2 years of life: a prospective, population-based cohort study. *J Allergy Clin Immunol.* 2014; 133(2):485-91.
140. Leonard SA, Sampson HA, Sicherer SH, Noone S, Moshier EL, Godbold J et al. Dietary baked egg accelerates resolution of egg allergy in children. *J Allergy Clin Immunol.* 2012; 130(2):473-80.
141. Nowak-Węgrzyn A, Bloom KA, Sicherer SH, Shreffler WG, Noone S, Wanich N et al. Tolerance to extensively heated milk in children with cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2008; 122(2):342-7.
142. Kim JS, Nowak-Węgrzyn A, Sicherer SH, Noone S, Moshier EL, Sampson HA. Dietary baked milk accelerates the resolution of cow's milk allergy in children. *J Allergy Clin Immunol.* 2011; 128(1):125-31.
143. Marriage DE, Erlewyn-Lajeunesse M, Unsworth DJ, Henderson AJ. Unscrambling

- Egg Allergy: The Diagnostic Value of Specific IgE Concentrations and Skin Prick Tests for Ovomuroid and Egg White in the Management of Children with Hen's Egg Allergy. *ISRN Allergy*. 2012; (9):627545.
144. Sicherer SH. An expanding evidence base provides food for thought to avoid indigestion in managing difficult dilemmas in food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117:1419-22.
145. Oppenheimer JJ, Nelson HS, Bock SA, Christensen F, Leung DY et al. Treatment of peanut allergy with rush immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 90: 256-62.
146. Burks AW, Jones SM, Wood RA, Fleischer DM, Sicherer SH, Lindblad RW et al. Consortium of Food Allergy Research (CoFAR). Oral immunotherapy for treatment of egg allergy in children. *N Engl J Med*. 2012; 367:233-43.
147. Nucera E, Pecora V, Buonomo A, Rizzi A, Aruanno A, Pascolini L Utility of Basophil Activation Test for monitoring the acquisition of clinical tolerance after oral desensitization to cow's milk: Pilot study. *United European Gastroenterol J*. 2015; 3(3):272-6.
148. Vila L, Moreno A, Gamboa PM, Martínez-Aranguren R, Sanz ML. Decrease in antigen-specific CD63 basophil expression is associated with the development of tolerance to egg by SOTI in children. *Pediatr Allergy Immunol*. 2013; 24(5):463-8.
149. Barbi E, Longo G, Berti I, Matarazzo L, Rubert L, Saccari A. Adverse effects during specific oral tolerance induction: in home phase. *Allergol Immunopathol*. 2012; 40(1):41-50.
150. Bousquet J, Lockey R, Malling HJ. Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic disease. A WHO position paper. *J Allergy Clin Immunol*. 1998; 102 (4): 558-62.
151. Staden U, Rolinck-Werninghaus C, Brewe F, Wahn U, Niggemann B, Beyer K et al. Specific oral tolerance induction in food allergy in children: efficacy and clinical patterns of reaction. *Allergy*. 2007; 62:1261-1269.
152. Factor JM, Mendelson L, Lee J, Nouman G, Lester MR. Effect of oral immunotherapy to peanut on food-specific quality of life. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2012; 109:348.
153. Carraro S, Frigo AC, Perin M, Stefani S, Cardarelli C, Bozzetto S et al. Impact of

- oral immunotherapy on quality of life in children with cow milk allergy: a pilot study. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2012; 25:793-8.
154. Anagnostou K, Islam S, King Y, Foley L, Pasea L, Bond S et al. Assessing the efficacy of oral immunotherapy for the desensitisation of peanut allergy in children (STOP II): a phase 2 randomised controlled trial. *Lancet*. 2014; 383:1297-304.
155. Meglio P, Giampietro PG, Gianni S, Galli E. Oral desensitization in children with immunoglobulin E-mediated cow's milk allergy follow-up at 4 years and 8 months. *Pediatr Allergy Immunol*. 2008; 19:412-9.
156. Vickery BP, Pons L, Kulis M, Steele P, Jones SM, Burks AW, et al. Individualized IgE-based dosing of egg oral immunotherapy and the development of tolerance. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2010; 105:444-50.
157. Jones SM, Pons L, Roberts JL, Scurlock AM, Perry TT, Kulis M et al. Clinical efficacy and immune regulation with peanut oral immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*. 2009; 124:292-300.
158. Patriarca G, Nucera E, Roncallo C, Pollastrini E, Bartolozzi F, De Pasquale T et al. Oral desensitizing treatment in food allergy: clinical and immunological results. *Aliment Pharmacol Ther*. 2003; 17:459-65.
159. Skripak JM, Nash SD, Rowley H, Brereton NH, Oh S, Hamilton RG et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled study of milk oral immunotherapy for cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2008; 122:1154-60.
160. Pajno GB, Caminiti L, Ruggeri P, De Luca R, Vita D, La Rosa M et al. Oral immunotherapy for cow's milk allergy with a weekly up-dosing regimen: a randomized single-blind controlled study. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2010; 105:376-81.
161. Buchanan AD, Green TD, Jones SM, Scurlock AM, Christie L, Althage KA et al. Egg oral immunotherapy in nonanaphylactic children with egg allergy *J Allergy Clin Immunol*. 2007; 119(1):199-205.
162. Meglio P, Caminiti L, Pajno GB, Dello Iacono I, Tripodi S, Verga MC et al. The oral food desensitization in the Italian allergy centres. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2015; 47(3):68-76.
163. Bégin P, Winterroth LC, Dominguez T, Wilson SP, Bacal L, Mehrotra A, et al.

- Safety and feasibility of oral immunotherapy to multiple allergens for food allergy. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2014; 10:1.
164. Savage JH, Courneya JP, Sterba PM, Macglashan DW, Saini SS, Wood RA. Kinetics of mast cell, basophil, and oral food challenge responses in omalizumab-treated adults with peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2012; 130:1123.
165. Burggraf M, Nakajima-Adachi H, Hachimura S, Ilchmann A, Pemberton AD, Kiyono H et al. Oral tolerance induction does not resolve gastrointestinal inflammation in a mouse model of food allergy. *Mol Nutr Food Res.* 2011; 55(10):1475-83.
166. Martorel CM, García AM, Aragonés AM, Caballer B de L. Safety and efficacy profile and immunological changes associated with oral immunotherapy for IgE-mediated cow's milk allergy in children: systematic review and meta-analysis. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2014; 24(5):298-307.
167. Longo G, Barbi E, Berti I, Meneghetti R, Pittalis A, Ronfani L et al. Specific oral tolerance induction in children with very severe cow's milk-induced reactions. *J Allergy Clin Immunol.* 2008; 121:343-7.
168. Morisset M, Moneret-Vautrin DA, Guenard L. Oral desensitization in children with milk and egg allergies obtains recovery in a significant proportion of cases. A randomized study in 60 children with cow's milk allergy and 90 children with egg allergy. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* 2007; 39:12–9.
169. Salmivesi S, Korppi M, Mäkäela MJ, Paasilta M. Milk oral immunotherapy is effective in school-aged children. *Acta Paediatr.* 2013; 102:172-6.



10. ANEXOS

10. ANEXOS



XUNTA DE GALICIA
CONSELLERÍA DE SANIDADE
 Secretaría Xeral

Comité Ético de Investigación Clínica de Galicia
 Edificio Administrativo de San Lázaro
 15781 SANTIAGO DE COMPOSTELA
 Tlf: 881 546425 Fax: 881 541804
 ceic@sergas.es

DICTAMEN DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DE GALICIA

Dña. Paula M. López Vázquez, Secretaria suplente del Comité Ético de Investigación Clínica de Galicia

CERTIFICA:

Que este Comité evaluó en su reunión del día 28/10/2010 el estudio:

Título: Estudio sobre alergia alimentaria en la edad pediátrica

Promotor: Ana Moreno Álvarez

Código de Registro CEIC de Galicia: 2010/423

Y que este Comité aceptó, de conformidad con sus Procedimientos Normalizados de Trabajo, que dicho estudio fuera realizado en los siguientes centros:

Centros	Investigadores principales
C.H.Universitario de A Coruña	Ana Moreno Álvarez

Nota: Incluir un teléfono de contacto con el equipo investigador en la hoja de información.*

Lo que certifico a petición del equipo investigador.

En Santiago de Compostela a 05 de noviembre de 2010

La Secretaria suplente



Paula M. López Vázquez

ORIGINAL ARTICLE

Decrease in antigen-specific CD63 basophil expression is associated with the development of tolerance to egg by SOTI in children

Leticia Vila¹, Ana Moreno¹, Pedro M. Gamboa², Rubén Martínez-Aranguren³ & Maria L. Sanz³

¹Department of Pediatrics, Hospital Teresa Herrera, La Coruña, Spain; ²Allergy Service, Hospital Basurto, Bilbao, Spain; ³Department of Allergy and Clinical Immunology, Clínica Universidad de Navarra, Pamplona, Spain

To cite this article: Vila LS, Moreno AA, Gamboa P, Martínez-Aranguren R, Sanz ML. Decrease in antigen-specific CD63 basophil expression is associated with the development of tolerance to egg by SOTI in children. *Pediatr Allergy Immunol* 2013; **00**.

Keywords

basophil activation; CD63; egg allergy; specific oral tolerance induction

Correspondence

Leticia Sexto Vila, Department of Pediatrics, Hospital Teresa Herrera. Xubias de Abaixo s/n. 15006, La Coruña, Spain.
Tel.: (34)981178688
E-mail: leticia.vila.sexto@sergas.es

Accepted for publication 17 February 2013

DOI:10.1111/pai.12070

Abstract

Background: In the last decade, there have been an increasing number of studies on achieving tolerance to foods by specific oral tolerance induction (SOTI). Still, the underlying mechanism of SOTI is unknown. Our aim was to describe changes in CD63 expression on basophils following *in vitro* Ag-specific stimulation by basophil activation test (BAT), after SOTI with egg in a pediatric population.

Methods: Ten children with persistent allergy to egg were included. Skin prick tests (SPTs) and open food challenges (OFCs) were performed before SOTI. Specific IgE determination and BAT with egg white (EW), ovomucoid (OM), and ovalbumin (OVA) were performed before and after 1 month of the buildup phase of SOTI.

Results: Total tolerance to egg was achieved in 9 cases and partial in one. After SOTI, there was a significant decrease in mean specific IgE levels ($p < 0.05$). CD63 expression also decreased ($p < 0.05$) in all patients.

Conclusion: Decrease in Ag-specific basophil responsiveness is associated with the development of clinical tolerance by SOTI.

Egg is one of the main food allergens in children. Although about two-thirds of affected children will outgrow egg allergy by the age of 6 yr, a significant percentage will remain allergic through their school years (1). Until recently, the standard therapy for food allergy was strict avoidance of the allergen and family education in case of accidental exposure. However, an exclusion diet is frequently difficult to follow, and it could become nutritionally poor. Moreover, accidental intake of the offending food is not rare, with the potential risk of life-threatening reactions. Indeed, as it has been reported, prolonged elimination of a food to which IgE is detectable might be associated with severe reactions on reintroduction. This may happen even in patients without any symptoms for whom the state of tolerance, maintained by continuous exposure to the food, seems to be broken down by allergen avoidance (2).

In the last few years, there have been an increasing number of studies focused on achieving tolerance by SOTI, mostly with milk, egg, and peanut, with promising although variable outcomes (3). The goal of SOTI is to obtain permanent tolerance to the offending food by repeated exposure to it. Some patients, though, will experience loss or decrease in

tolerance when food is not regularly ingested, suggesting temporary desensitization.

Although the underlying mechanism of developing tolerance by SOTI is unknown, immunologic changes have been described as decrease in food allergen-specific IgE and increase in specific IgG4 (4). Basophils are important effector cells for allergic diseases, and hypotheses to explain how tolerance is achieved by SOTI are currently focused on demonstrating changes in basophil activation (5). Previously, basophil activation test (BAT) has proven to be useful in differential diagnosis between sensitization and allergy in pollen-associated food allergy (6) and peanut and egg allergy (7).

Our aim was to describe changes in CD63 expression on basophils following *in vitro* stimulation with EW, OVA, and OM by BAT, after SOTI with egg in a pediatric population.

Methods

Ten children allergic to egg were recruited from the Pediatric Allergy Unit of Teresa Herrera Hospital, Spain. Four were boys and 6 girls, with ages from 5 to 14 yr (mean 7 yr). The

diagnosis was based on the following criteria: clinical history of an immediate allergic reaction to egg, demonstration of specific IgE, and positive food challenge.

The study was approved by the local ethics committee. All patients provided written informed consent before enrollment into the study.

Skin prick tests (SPT) were performed with commercial extract of hen's egg white (EW), ovalbumin (OVA), and ovomucoid (OM) (Leti Laboratories, Madrid, Spain). A negative control of saline 0.9% and a positive control of histamine, 10 mg/ml, were used. The reaction was regarded as positive if the mean wheal diameter was at least 3 mm in the presence of appropriate reactions to both controls.

Specific IgE to EW, OVA, and OM was determined by ImmunoCAP system FEIA (Phadia Diagnostics, Uppsala, Sweden). Levels were considered to be positive when higher than 0.35 kU/l.

Open food challenges (OFCs) with scrambled egg were performed 2 wk before SOTI to estimate the starting dose. The buildup phase of SOTI was carried out in an outpatient setting using a weekly uposing schedule. Doses were doubled at the hospital under medical supervision and then subsequently maintained at home, administered on a daily basis. Initially, egg was administered as powdered egg dissolved in water. When 1 g was reached, due to low palatability, we changed the material to scrambled egg starting with 3 g. Our goal was to reach 50 g (one egg). Afterward, during the maintenance phase, patients were advised to ingest at least 1 cooked egg 2–3 times a week.

The length of the buildup phase varied among patients depending on their tolerance to the dose administered. If a patient developed symptoms with a new dose, the previous amount of egg was maintained during one more week, and afterward, dose was increased as planned. Mean length of the buildup was 124.8 days (42–224 days).

On the same day that oral desensitization was started, blood was drawn for egg-specific IgE determination and BAT. Between one and 4 months after finishing the buildup phase, depending on patient's availability, blood was again collected. At this moment, all patients were on maintenance phase for at least 1 month and <4 months.

For flow cytometry, peripheral blood was collected in sodium heparin tubes. Aliquots were resuspended in 100 mcg HEPES calcium buffer containing IL-3 (10 ng/ml). Then, pre-activated blood samples were incubated with antigens: EW, OVA, and OM (Bial-Aristegui Laboratories, Bilbao, Spain) at three different concentrations (500 ng/ml; 50 ng/ml; and 5 ng/ml) and plates were incubated. A monoclonal anti-IgE receptor antibody (1 mcg/ml) (Bühlmann Laboratories, Allschwil, Switzerland) as a positive control and washing solution as a negative control were used. After erythrocytes lysis, washing, and centrifugation, supernatant was discarded, and basophils were double-labeled with anti-CD63 antibody and anti-IgE FITC-labeled antibody, and samples were studied for expression and upregulation of CD63. Flow cytometric analysis of basophil activation was performed at 488 nm with a flow cytometer FACS-Canto (BD Biosciences, San José, California, USA). Mean fluorescent intensity was determined

by using Diva software. Dose–response curve was plotted to know the threshold concentration of allergen to obtain an adequate capacity to discriminate between patients and controls. The optimal cut-off point that combines sensitivity and specificity was calculated by receiver operating characteristics (ROC) curves. Results were expressed as percentage activation more than 15% and stimulation index (specific antigen response/basal response) >2.

The Wilcoxon matched-pair test was used to compare the values of specific IgE and basophil percentage of activation before and after SOTI. Statistical analyses were performed with SPSS (version 16.0 for Windows; SPSS Inc, Chicago, Ill).

Results

Demographic and clinical characteristics, SOTI outcomes, and immunologic changes are shown in Table 1.

Mean specific IgE to EW, OM, and OVA before SOTI was 2.98 kU/l, 2.53 kU/l, and 2.33 kU/l, respectively. We observed significant decrease in specific IgE levels ($p < 0.05$) to the three allergens (Mean values: EW: 1.32 kU/l; OM: 1.25 kU/l; and OVA: 0.91 kU/l) after buildup phase of SOTI.

Regarding BAT, we observed a significant decrease in CD63 expression ($p < 0.05$) in basophils from all patients after the buildup phase of SOTI following Ag-specific exposure (Fig. 1, Table 1). Also, basophils were between 30 and 50% less reactive than before SOTI.

Patient 7 showed relevant basophil basal activation before SOTI compared with the other patients, which decreased after oral desensitization (Table 1).

Discussion

All patients with persistent egg allergy included in this study finished the buildup phase of SOTI. Total tolerance was achieved in 9 cases and partial tolerance in one (patient 3 reached 20 g of scrambled egg) (Table 1). At the present time, they have been on maintenance phase for at least 6 months, and during this time, 8 patients tolerated 1 cooked egg 2–3 times a week, and patient 3 tolerates 20 g of cooked egg every other day. Patient 4 developed progressive abdominal pain after egg ingestion, and he tolerates only extensively heated egg.

All children were advised to avoid raw egg (mayonnaise, meringue, etc.) for at least 6 months, until food challenge was performed. In our experience (so far, 50 children have undergone SOTI at our unit), even after 2 months after SOTI with cooked egg, a significant number of children does not tolerate it in its raw form (data not shown), but usually become tolerant after 6 months of continued ingestion of heated and baked egg. In fact, recent reports point out that a large subset of children allergic to milk and egg can tolerate them in extensively heated forms. Long-term follow-up of these patients suggests that the continued ingestion of baked milk and egg enables and even accelerates the immune system to tolerate their unheated forms (8).

The underlying immunologic mechanism that leads to tolerance by SOTI remains unknown. During SOTI,

Table 1 Demographics and clinical characteristics of egg-allergic patients and immunologic changes related to SOTI outcomes

Patient	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Sex	F	M	F	M	M	M	F	F	F	F
Clinical manifestation with egg associated allergic conditions	AE	AP	AE, generalized urticaria	Generalized urticaria	Perioral urticaria	Vomiting, worsening AD	Perioral urticaria	Generalized urticaria, vomiting	Generalized urticaria	Facial urticaria
Associated allergic conditions	BA, RC, FA	RC	BA, RC	BA, RC	BA, RC, AD	BA, RC, AD, FA	BA, FA	RC, FA	None	None
Age at SOTI (years)	14	5	6	5	6	5.5	7.5	6	8	6.5
Symptoms during SOTI	None	Perioral urticaria, AP	AP	AP, vomiting	None	None	None	AP	Oral pruritus	Oral pruritus
Outcome	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I
buildup phase										
Specific IgE before SOTI (kU/l)										
EW	1.52	2.04	0.92	7.19	0.51	9.89	3.04	0.44	1.16	3.10
OVA	N.D.	1.11	0.35	5.92	0.35	6.74	1.92	0.39	0.85	3.34
OM	N.D.	1.11	0.35	5.92	0.35	6.74	1.92	0.39	0.85	3.34
Specific IgE after SOTI (kU/l)										
EW	<0.35	0.87	1.22	3.32	<0.35	3.93	N.D.	<0.35	0.66	1.35
OVA	<0.35	0.80	0.61	1.20	<0.35	3.99	N.D.	<0.35	0.40	0.60
OM	<0.35	<0.35	<0.35	2.68	<0.35	5.84	N.D.	0.37	0.59	1.05
BAT Before SOTI % (SI)										
Basal (negative control)	8.7	5.2	4.9	9.6	5.0	7.0	24.8	1.4	2.8	3.4
Anti-IgE receptor (positive control)	37.4 (4.3)	41.3 (7.9)	48.5 (9.9)	31.6 (3.3)	83.7 (16.7)	70.0 (10.0)	63.7 (2.6)	19.9 (14.2)	59.1 (21.1)	71.3 (21.0)
WE										
500 ng/ml	9.3 (1.1)	70.1 (13.5)	42.8 (8.7)	17.4 (1.8)	10.8 (2.2)	43.8 (6.6)	49.7 (2.0)	28.5 (20.4)	26.6 (9.5)	69.2 (20.4)
50 ng/ml	10.5 (1.2)	37.8 (7.3)	27.4 (5.6)	42.6 (4.4)	7.8 (1.6)	40.4 (5.8)	36.9 (1.5)	43.1 (30.8)	31.6 (11.3)	70.8 (20.8)
5 ng/ml	6.0 (0.7)	4.8 (0.9)	12.8 (2.6)	27.2 (2.8)	4.5 (0.9)	10.3 (1.5)	20.9 (0.8)	22.1 (15.8)	6.7 (2.4)	43.0 (12.6)
OVA										
500 ng/ml	11.3 (1.3)	62.9 (12.1)	36.6 (7.5)	25.5 (2.7)	11.2 (2.2)	56.1 (8.0)	53.6 (2.2)	42.2 (30.1)	23.0 (8.2)	60.6 (17.8)
50 ng/ml	4.1 (0.5)	38.6 (7.4)	27.8 (5.7)	43.6 (4.5)	7.6 (1.5)	37.9 (5.4)	53.0 (2.1)	18.4 (13.1)	20.4 (7.3)	68.3 (20.1)
5 ng/ml	3.4 (0.4)	8.2 (1.6)	7.6 (1.6)	41.3 (4.3)	8.3 (1.7)	14.8 (2.1)	25.3 (1.0)	3.6 (2.6)	5.0 (1.8)	55.3 (16.3)
OM										
500 ng/ml	10.6 (1.2)	56.9 (10.9)	10.3 (2.1)	20.7 (2.2)	13.5 (2.7)	43.8 (6.3)	58.9 (2.4)	39.7 (28.4)	2.9 (1.0)	16.4 (4.8)
50 ng/ml	6.8 (0.8)	50.6 (9.7)	9.3 (1.9)	33.7 (3.5)	7.6 (1.5)	36.0 (5.1)	56.4 (2.3)	27.3 (19.5)	9.2 (3.3)	31.4 (9.2)
5 ng/ml	3.9 (0.4)	21.8 (4.2)	3.5 (0.7)	40.4 (4.2)	3.6 (0.7)	25.6 (3.7)	28.9 (1.2)	2.5 (1.8)	6.9 (2.5)	32.7 (9.6)
BAT After SOTI % (SI)										
Basal (negative control)	6.3	6.0	9.4	2.6	2.7	8.2	5.1	7.4	11.2	29.6

Table 1 (Continued)

Patient	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Anti-IgE receptor (positive control)	39.2 (6.2)	43.6 (7.3)	55.8 (6.9)	21.5 (8.3)	61.9 (22.9)	85.4 (10.4)	78.0 (15.3)	32.1 (4.3)	95.0 (8.5)	78.3 (2.6)
WE										
500 ng/ml	6.3 (1.0)	40.8 (6.8)	6.6 (0.7)	0.9 (0.3)	4.0 (1.5)	48.3 (5.9)	10.5 (2.1)	2.0 (0.3)	24.0 (2.1)	29.4 (1.0)
50 ng/ml	5.0 (0.8)	28.4 (4.7)	3.4 (0.4)	1.0 (0.4)	2.3 (0.9)	16.1 (2.0)	5.4 (1.1)	1.4 (0.2)	13.5 (1.2)	26.0 (0.9)
5 ng/ml	2.1 (0.3)	15.3 (2.6)	3.9 (0.4)	0.3 (0.1)	4.1 (1.5)	4.1 (0.5)	4.1 (1.7)	1.6 (0.2)	14.9 (1.3)	18.7 (0.6)
OVA										
500 ng/ml	3.4 (0.5)	54.6 (9.1)	8.8 (0.9)	10.5 (4.0)	2.6 (1.0)	4.9 (0.6)	11.4 (2.2)	3.3 (0.4)	29.9 (2.7)	34.7 (1.2)
50 ng/ml	3.0 (0.5)	24.6 (4.1)	7.4 (0.8)	9.8 (3.8)	3.8 (1.4)	4.8 (0.6)	6.3 (1.2)	2.2 (0.3)	15.0 (1.3)	19.4 (0.7)
5 ng/ml	2.4 (0.4)	9.1 (1.5)	3.0 (0.3)	4.9 (1.9)	3.6 (1.3)	5.8 (0.7)	4.3 (0.8)	2.6 (0.4)	11.1 (1.0)	20.5 (0.7)
OM										
500 ng/ml	1.7 (0.3)	4.6 (0.8)	2.5 (0.3)	9.8 (3.8)	4.5 (1.7)	9.4 (1.1)	5.5 (1.1)	2.0 (0.3)	13.5 (1.2)	23.8 (0.8)
50 ng/ml	2.1 (0.3)	16.2 (2.7)	3.4 (0.4)	11.7 (4.5)	1.0 (0.4)	6.7 (0.8)	4.0 (0.8)	1.2 (0.2)	15.8 (1.4)	22.3 (0.8)
5 ng/ml	1.4 (0.2)	6.8 (1.1)	2.5 (0.3)	6.8 (2.6)	4.6 (1.7)	2.8 (0.3)	3.3 (0.6)	1.4 (0.2)	11.6 (1.0)	21.7 (0.7)

F, female; M, male; AE, angioedema; AP, abdominal pain; BA, bronchial asthma; RC, rhinoconjunctivitis; AD, atopic dermatitis; FA, food allergy; ND, not done, due to technical reasons; BAT, basophil activation test expressed as percentage activation (CD63 expression); EW, egg white; OM, ovomucoid; OVA, ovalbumin; SI, percentage antigen-specific response/percentage basal response; I, tolerate 50 g of cooked egg; II, tolerated 20 g of cooked egg.

egg-specific IgE levels tend to decrease, while specific IgG4 levels show a progressive increase. Accordingly, we found a significant decrease in specific IgE to OVA, OM, and EW at least 1 month after SOTI. Itoh et al. (9) reported progressive decrease in EW- and OM-specific IgE that became significant after 12 months from rush SOTI. On the other hand, Buchanan et al. (10) did not find a significant decrease in specific IgE levels even after 24 months of SOTI, suggesting that modification in IgE production is unlikely to be the main mechanism involved in acquisition of tolerance by SOTI.

Hypotheses to explain how tolerance is achieved by SOTI are currently focused on demonstrating changes in basophil activation. Ford et al. (11) demonstrated that basophil reactivity to milk significantly decreases in patients who tolerate baked milk and especially in those who had spontaneously outgrown their allergy compared with extensively heated milk-reactive patients. Interestingly, we observed that patients 9 and 10 showed increased basal CD63 expression on basophils after SOTI. This might imply that for some patients, other paths than basophil response modification are involved in achieving tolerance by SOTI. Both patients did not have associated other allergic conditions and did not show severe reactions after egg ingestion before and after SOTI. Ford et al. (11) described greater spontaneous basophil activation among patients with more severe clinical milk reactivity. We have observed this behavior in one of the patients included in this study (patient 7), although he showed mild clinical reaction after egg ingestion. Jones et al. showed a decrease in CD63 expression on basophils from patients undergoing peanut oral desensitization (5), and we found significant reduction in basophil CD63 expression after stimulus with OM, OVA, and EW, after SOTI. Keet and cols (12) found as well a significant decrease in CD63 expression in milk-allergic patients after SOTI and reported that those patients who had greater increases in CD63 expression early in therapy had poorer outcomes. In our case, those patients (patients 3 and 4) with partial tolerance on maintenance phase did not show greater expression of CD63, suggesting that CD63 might not be a good marker to predict which patient will finish SOTI successfully.

After addressing that basophils from children reactive to extensively heated cow's milk were significantly more reactive than basophils from extensively heated milk-tolerant children, Wanich and cols (13) suggested the presence of an inhibitory factor, postulated to be allergen-specific IgG, to be responsible for the decrease in basophil activation in those tolerant patients. The involvement of these antibodies in IgE receptor cross-linking and cellular signaling pathways in basophils has been previously demonstrated by Ebo and cols (14). During allergen-specific immunotherapy (SIT), subclasses of IgG, such as IgG1 and particularly IgG4, are thought to capture the allergen before reaching the effector cell-bound IgE, preventing activation of basophils.

Allergen-specific IgG might be directed against the same epitopes as IgE, resulting in direct competition for allergen binding and a 'blocking' effect. On the other hand, the decrease in IgE/IgG4 ratio during allergen-SIT might reflect skewing from allergen-specific TH₂ to Treg cell predomi-

Vila et al.

CD63 basophil expression after SOTI

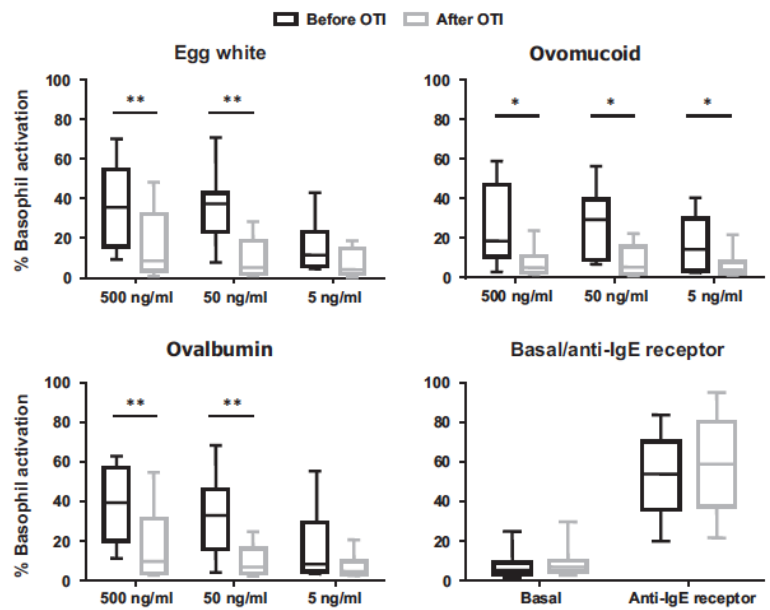


Figure 1 Median values of CD63 expression on basophils from children allergic to egg ($n = 10$), by basophil activation test (BAT) after EW, OM, and OVA stimulation and basal response/anti-IgE receptor, before and after SOTI. The Wilcoxon matched-pair test was used: ** $p < 0.01$ * $p < 0.05$.

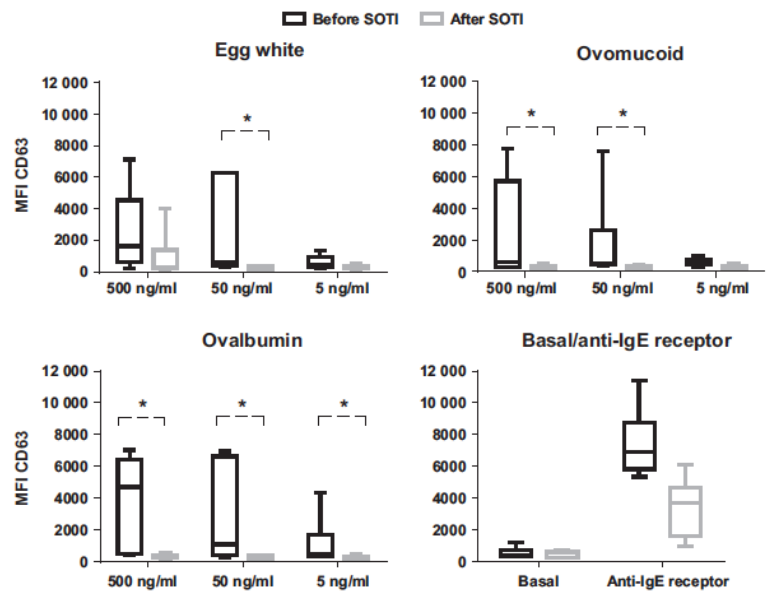


Figure 2 CD63 median fluorescence intensity (MFI) from basophils from 6 patients included in the study, after Ag-specific stimulation, before and after SOTI with egg. Box plot graphs show the highest and lowest CD63 MFI as well as 25th, 50th, and 75th percentiles. * significant differences ($p < 0.05$) between CD63 MFI before and after SOTI analyzed by the Wilcoxon matched-pair test.

nance. FOXP3⁺CD4⁺CD25⁺ Treg cells and Tr1 cells secrete cytokines such as IL-10, which increases IgG4 production (15).

Recently, Fuentes-Aparicio and cols (16) have demonstrated that acquisition of tolerance in children after oral immunotherapy is accompanied by a decrease in the T-effector memory CD4⁺ T-cell population and the increase in a particular subset of CD4⁺ T cells with a hypoproliferative and non-reactive phenotype.

Finally, we observed that the expression of the level of MFI-IgE-FITC on basophils after SOTI decreases significantly ($p < 0.01$) with and without Ag-specific stimulation (Fig. 2). This might be due to a reduction in the expression of IgE receptors on basophil surface after SOTI related to the decrease in serum IgE levels, as described previously (17, 18).

In summary, SOTI implies not only clinical modifications but also reflects immunologic changes with decrease in Ag-specific basophil activation associated with clinical improvement.

References

1. Boyano-Martinez T, Garcia-Ara C, Diaz-Pena JM, Martín-Esteban M. Prediction of tolerance on the basis of quantification of egg white-specific IgE antibodies in children with egg allergy. *JACI* 2002; **110**: 304–9.
2. Flinterman AE, Knulst AC, Meijer Y, Bruijnzeel-Koomen CA, Pasmans SG. Acute allergic reactions in children with AEDS after prolonged cow's milk elimination diets. *Allergy* 2006; **61**: 370–4.
3. Calvani M, Giorgio V, Miceli Sopo S. Specific oral tolerance induction for food. A systematic review. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* 2010; **42**: 11–19.
4. Niggeman B, Staden U, Rolinck-Werninghaus C, et al. Specific oral tolerance induction in food allergy. *Allergy* 2006; **61**: 808–11.
5. Jones S, Pons L, Roberts J, et al. Clinical efficacy and immune regulation with peanut oral immunotherapy. *JACI* 2009; **124**: 292–300.
6. Ebo DG, Hagendorens MM, Ridts CH, et al. Flow cytometric analysis of in vitro activated basophils, specific IgE and skin tests in the diagnosis of pollen associated food allergy. *Cytometry B Clin Cytom* 2005; **64**: 28–33.
7. Ocman A, Mulier S, Hanssens L, et al. Basophil activation test for the diagnosis of food allergy in children. *Clin Exp Allergy* 2009; **39**: 1234–45.
8. Huang F, Nowak-Węgrzyn A. Extensively heated milk and egg as oral immunotherapy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2012; **12**: 1–10.
9. Itoh N, Itagaki Y, Kurihara K. Rush specific oral tolerance induction in school-age children with severe egg allergy: one year follow up. *Allergol Int* 2010; **59**: 43–51.
10. Buchanan A, Green T, Jones S, et al. Egg oral immunotherapy in nonanaphylactic children with egg allergy. *JACI* 2007; **119**: 199–205.
11. Ford L, Bloom K, Nowak-Węgrzyn A, Shreffler W, et al. Basophil reactivity, wheal size, and immunoglobulin levels distinguish degrees of cow's milk tolerance. *J Allergy Clin Immunol* 2013; **131**: 180–6.
12. Keet C, Frishmeyer-Guerrero A, Thyagarajan A, et al. The safety and efficacy of sublingual and oral immunotherapy for milk allergy. *JACI* 2012; **129**: 448–55.
13. Wanich N, Nowak-Węgrzyn A, Sampson HA, Shreffler WG. Allergen-Specific Basophil Activation Associated with Clinical Tolerance in Patients with Milk Allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2009 April; **123**: 789–94.
14. Ebo DG, Dombrecht EJ, Bridts CH, Aerts NE, De Clerck LS, Stevens WJ. Combined analysis of intracellular signalling and immunophenotype of human peripheral blood basophils by flow cytometry: a proof of concept. *Clin Exp Allergy* 2007; **37**: 1668–75.
15. Akdis CA, Akdis M. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2011; **127**: 18–27.
16. Fuentes-Aparicio V, Alonso-Lebrero E, Zapatero L, Infante S, Lorente R, Angeles Muñoz-Fernández M, Correa-Rocha R. Oral immunotherapy in hen's egg-allergic children increases a hypo-proliferative subset of CD4+ T cells that could constitute a marker of tolerance achievement. *Pediatr Allergy Immunol* 2012; **23**: 648–53.
17. Hausmann OV, Gentinetta T, Fux M, Ducrest S, Pichler WJ, Dahinden CA. Robust expression of CCR3 as a single basophil selection marker in flow cytometry. *Allergy* 2011; **66**: 85–91.
18. MacGlashan D Jr, Schwartz LB, Gong J. IgE-regulated loss, not IgE-regulated synthesis, controls expression of FcεpsilonRI in human basophils. *J Leukoc Biol* 2001; **70**: 207–18.

