

ACTA DE EVALUACIÓN DE LA TESIS DOCTORAL

Año académico 2016/17

DOCTORANDO: **VILLAFANA RAMÍREZ, LISETH**

PROGRAMA DE DOCTORADO: **D325 DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA SALUD**
DEPARTAMENTO DE: **MEDICINA Y ESPECIALIDADES MÉDICAS**
TITULACIÓN DE DOCTOR EN: **DOCTOR/A POR LA UNIVERSIDAD DE ALCALÁ**

En el día de hoy 29/09/17, reunido el tribunal de evaluación nombrado por la Comisión de Estudios Oficiales de Posgrado y Doctorado de la Universidad y constituido por los miembros que suscriben la presente Acta, el aspirante defendió su Tesis Doctoral, elaborada bajo la dirección de **MARÍA BELÉN DE LA HOZ CABALLER // CRISTINA CAMARERO SALCES**.

Sobre el siguiente tema: **EFICACIA Y SEGURIDAD DE LA INMUNOTERAPIA ORAL CON HUEVO COCIDO EN NIÑOS CON ALERGIA PERSISTENTE AL HUEVO**

Finalizada la defensa y discusión de la tesis, el tribunal acordó otorgar la CALIFICACIÓN GLOBAL¹⁶ de (**no apto, aprobado, notable y sobresaliente**): **SOBRESALIENTE**

Alcalá de Henares, de 29 SEP de 2017

EL PRESIDENTE


Fdo.: A. Azbillos

EL SECRETARIO


Fdo.: Gertrudis Roy

EL VOCAL


Fdo.: González de Obano

Con fecha 31 de octubre de 2017 la Comisión Delegada de la Comisión de Estudios Oficiales de Posgrado, a la vista de los votos emitidos de manera anónima por el tribunal que ha juzgado la tesis, resuelve:

- Conceder la Mención de "Cum Laude"
 No conceder la Mención de "Cum Laude"

La Secretaria de la Comisión Delegada



FIRMA DEL ALUMNO,


Fdo.: Liseth Villafana

¹⁶ La calificación podrá ser "no apto" "aprobado" "notable" y "sobresaliente". El tribunal podrá otorgar la mención de "cum laude" si la calificación global es de sobresaliente y se emite en tal sentido el voto secreto positivo por unanimidad.

INCIDENCIAS / OBSERVACIONES:



Universidad
de Alcalá

COMISIÓN DE ESTUDIOS OFICIALES
DE POSGRADO Y DOCTORADO

En aplicación del art. 14.7 del RD. 99/2011 y el art. 14 del Reglamento de Elaboración, Autorización y Defensa de la Tesis Doctoral, la Comisión Delegada de la Comisión de Estudios Oficiales de Posgrado y Doctorado, en sesión pública de fecha 31 de octubre, procedió al escrutinio de los votos emitidos por los miembros del tribunal de la tesis defendida por VILLAFANA RAMÍREZ, LISETH, el día 29 de septiembre de 2017, titulada *EFICACIA Y SEGURIDAD DE LA INMUNOTERAPIA ORAL CON HUEVO COCIDO EN NIÑOS CON ALERGIA PERSISTENTE AL HUEVO*, para determinar, si a la misma, se le concede la mención "cum laude", arrojando como resultado el voto favorable de todos los miembros del tribunal.

Por lo tanto, la Comisión de Estudios Oficiales de Posgrado **resuelve otorgar** a dicha tesis la

MENCIÓN "CUM LAUDE"

Alcalá de Henares, 2 de noviembre de 2017

EL PRESIDENTE DE LA COMISIÓN DE ESTUDIOS
OFICIALES DE POSGRADO Y DOCTORADO



Juan Ramón Velasco Pérez

Copia por e-mail a:

Doctorando: VILLAFANA RAMÍREZ, LISETH

Secretario del Tribunal: GARBIÑE ROY ARIÑO.

Directores de Tesis: MARÍA BELÉN DE LA HOZ CABALLER // CRISTINA CAMARERO SALCES



Universidad
de Alcalá

ESCUELA DE DOCTORADO
Servicio de Estudios Oficiales de
Posgrado

DILIGENCIA DE DEPÓSITO DE TESIS.

Comprobado que el expediente académico de D./D^a _____
reúne los requisitos exigidos para la presentación de la Tesis, de acuerdo a la normativa vigente, y habiendo
presentado la misma en formato: soporte electrónico impreso en papel, para el depósito de la
misma, en el Servicio de Estudios Oficiales de Posgrado, con el nº de páginas: _____ se procede, con
fecha de hoy a registrar el depósito de la tesis.

Alcalá de Henares a _____ de _____ de 20 _____



Fdo. El Funcionario



Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud

**EFICACIA Y SEGURIDAD DE LA
INMUNOTERAPIA ORAL CON HUEVO COCIDO
EN NIÑOS CON ALERGIA PERSISTENTE AL
HUEVO**

Tesis Doctoral Presentada por

LISETH JARDELINA VILLAFANA RAMÍREZ

Directoras:

Dra Belén de la Hoz Caballer

Dra Cristina Camarero Salces

Alcalá de Henares, 2017





Universidad
de Alcalá

**DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y
ESPECIALIDADES MÉDICAS**

Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud
Campus Científico Tecnológico
Ctra. Madrid-Barcelona, km 35,600
28805 Alcalá de Henares (Madrid)
Teléfono: 918854533 - 4707 - 4790
e-mail: dpto.medesp@uah.es

***Melchor Álvarez de Mon Soto, Catedrático de Medicina y Director del
Departamento de Medicina y Especialidades Médicas***

INFORMA QUE:

En su opinión, el trabajo de investigación presentado por D^a. **Liseth Jardelina Villafana Ramírez** titulado **"Eficacia y seguridad de la inmunoterapia oral con huevo cocido en niños con alergia persistente al huevo"**, realizado bajo la dirección de las Dres. D^a. Belén de la Hoz Caballer y D^a. Cristina Camarero Salces y, reúne los requisitos científicos, metodológicos, formales y de originalidad suficientes para ser defendido como Tesis Doctoral ante el Tribunal que legalmente proceda.

Y para que conste donde corresponda, a los efectos oportunos, se firma la presente, en Alcalá de Henares, a dieciocho de abril de dos mil diecisiete.



ORA DÑA. CRISTINA CAMARERO SALCES

CERTIFICA QUE

El trabajo de investigación presentado por Dña. LIBETH JARDELINA VELLAFANA RAMÍREZ, titulado "Eficacia y Seguridad de la inmunoterapia oral con huevo cocido en niños con alergia persistente al huevo" realizado bajo mi dirección, reúne los requisitos científicos, metodológicos y de originalidad suficientes para ser defendido como Tesis Doctoral ante el Tribunal que legalmente proceda.

Y para que surta los efectos oportunos, se firma la presente en
Madrid a seis de Abril de dos mil diecisiete.

DRA. DÑA. MARIA BELEN DE LA HOZ CABALLER

CERTIFICA QUE: El trabajo de investigación presentado por Dña. **LISETH JARDELINA VILLAFANA RAMÍREZ**, titulado "*Eficacia y Seguridad de la Inmunoterapia oral con huevo cocido en niños con alergia persistente al huevo*" realizado bajo mi dirección, reúne los requisitos científicos, metodológicos y de originalidad suficientes para ser defendido como Tesis Doctoral ante el Tribunal que legalmente proceda.

Y para que surta los efectos oportunos, se firma la presente en

Madrid a, seis de Abril de dos mil diecisiete



Dedicada a mis padres y hermanos

AGRADECIMIENTOS:

Quisiera agradecer en primer lugar a mis padres: Neri y Rodith, ejemplos de trabajo y superación, quienes siempre me enseñaron que todos podemos alcanzar nuestras metas con esfuerzo y dedicación.

A mis hermanos: Ana y Luis, quienes con su alegría de vivir me enseñaron que en la vida hay que ser equilibrados y disfrutar de cada momento.

A Soledad y Belén, dos profesionales íntegras, quienes me enseñaron con el ejemplo, que ayudar a los demás no es difícil si uno se lo propone. A ambas por el apoyo incondicional en todo momento de la elaboración de esta tesis, desde la idea inicial, en el proceso de elaboración hasta las correcciones finales, a veces a costa de sacrificios personales y gran inversión de tiempo.

A Ana, por soportar nuestro desorden y mantener guardados los sueros de los pacientes en el laboratorio.

A Óscar, Belisa, Paco y Yamilé, amigos peruanos, gracias por entender mi dedicación a esta tesis y por su ayuda en los momentos difíciles.

A los pacientes y sus familiares, gracias por su confianza y apoyo a este proyecto, gracias al cual, no sólo ellos, sino más niños se pueden beneficiar de esta nueva terapia en alergia al huevo.

5.4.2. Yema	Seroalbúmina de pollo (Gald 5 ó alta (vetina) YGH42 (Gal d 6) Otras proteínas de la yema	
5.4.3. Antigenicidad y alergenidad en alérgenos del huevo		
5.4.4. Efecto matriz en huevo		
5.5. Manifestaciones clínicas de la alergia al huevo		29
5.5.1. Alergia IgE mediada	Síndrome ave-huevo	
5.5.2. Alergia no IgE mediada		
5.6. Diagnóstico		30
5.6.1. Historia clínica		
5.6.2. Detección de IgE específica	Pruebas cutáneas IgE específicas en suero	
5.6.3. Pruebas de exposición controlada con huevo		
5.6.4. Pruebas diagnósticas futuras	Unión de epítomos Respuesta de células T Activación de biofófos	
5.7. Evolución natural de la alergia al huevo		34
5.8. Tratamiento de la alergia al huevo		34
5.8.1. Evitación		
5.8.2. Inmunoterapia	Generalidades e Historia Modelos murinos Análisis de los diversos Protocolos de inmunoterapia frente al huevo publicados en los últimos años Tipos de protocolos y fases de los Protocolos de desensibilización Características poblacionales baseles Criterios de Selección Controles y Placebo Huevo y productos derivados del huevo utilizados en los diferentes protocolos Dosis administradas en fases de incremento de dosis y de mantenimiento Eficacia del tratamiento Reacciones Adversas Calidad de vida tras la OIT	
5.8.3. Tratamientos Futuros		
II CAPÍTULO 2:		53
1. HIPÓTESIS:		54
III CAPÍTULO 3: OBJETIVOS:		56
1. PRINCIPALES		
2. SECUNDARIOS		
IV CAPÍTULO 4: METODOLOGIA:		57
1. DISEÑO DEL ESTUDIO:		57
2. SUJETOS DE ESTUDIO:		57
2.1. Criterios de inclusión:		
2.2. Criterios de exclusión:		
3. CÁLCULO DEL TAMAÑO MUESTRAL:		59
4. PROTOCOLO DE ESTUDIO:		60
4.1. Historia Clínica		
4.2. Pruebas Auxiliares		
4.2.1. Pruebas cutáneas		
4.2.2. Determinación de IgE específica		
4.3. Prueba de Provocación oral Abierta (POA)		
4.3.1. Preparación del batido de huevo cocido		
4.3.2. Metodología de la prueba de provocación		
4.4. Metodología del Protocolo de Inmunoterapia		
4.5. Fases del protocolo de Inmunoterapia		
4.5.1. Fase de Inducción		
4.5.2. Fase de Mantenimiento		
4.6. Materiales		
4.6.1. Historia clínica		
4.6.2. Pruebas cutáneas		
4.6.3. Pruebas "in vitro"		

INDICE

I	CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO.....	8
1.	EL HUEVO: COMPOSICIÓN, VALOR NUTRICIONAL E IMPORTANCIA.....	7
	1.1. Composición y valor nutricional	
	1.2. Huevo en la alimentación del niño	
	1.3. Importancia no nutricional y otros usos del huevo	
2.	INMUNOLOGÍA INTESTINAL.....	8
	2.1. Procesamiento de antígenos en el lumen intestinal	
	2.2. Captación de antígenos en el intestino	
3.	MECANISMOS DE TOLERANCIA INMUNOLÓGICA.....	10
4.	ALERGIA A ALIMENTOS EN GENERAL.....	10
	4.1. Definición de Alergia a Alimentos.....	11
	4.2. Inmunología de la Alergia a Alimentos.....	12
	4.2.1. Alergia Alimentaria mediada por IgE	
	Sensibilización alérgica	
	Exposición primaria del alérgeno	
	Exposición secundaria de los alérgenos	
	Liberación de mediadores	
	Inmunidad innata y alergia a alimentos	
	Alergia como falta de regulación de los mecanismos de Tolerancia	
	4.2.2. Alergia alimentaria no mediada por IgE y mixtas	
	Proctocolitis inducida por proteína alimentaria	
	Síndrome de enterocolitis inducida por proteínas alimentarias (FPIES)	
	Mixtas: Esofagitis Eosinofílica	
4.3.	Epidemiología de la alergia a alimentos.....	15
	4.3.1. Mundial	
	4.3.2. Europa	
	4.3.3. España	
4.4.	Factores de riesgo para alergia.....	16
	4.4.1. Historia familiar de atopias	
	4.4.2. Genética	
	Flagrina	
	Otros genes	
	4.4.3. Factores ambientales	
	4.4.4. Alimentos y complementos	
	Vitamina D	
	Diversificación y alimentación complementaria	
4.5.	Alérgenos.....	18
	4.5.1. Definición	
	4.5.2. Alérgenos principales en alergia a alimentos	
	4.5.3. Antigenicidad y alergenidad	
	4.5.4. Efecto matriz en general	
	4.5.5. Reacción de Maillard	
4.6.	Problemas Nutricionales en alergia a alimentos.....	22
4.7.	Calidad de vida en Alergia a alimentos.....	23
4.8.	Tratamiento de la alergia a alimentos.....	23
	4.8.1. Inmunoterapia	
	Definición y objetivos	
	Mecanismos de la inmunoterapia	
	Reacciones Adversas de la inmunoterapia	
	Resultados a largo plazo	
5.	ALERGIA AL HUEVO.....	24
	5.1. Epidemiología.....	24
	5.2. Prevalencia.....	24
	5.3. Factores de Riesgo de Alergia a huevo.....	26
	5.4. Alérgenos implicados.....	26
	5.4.1. Clases	
	Ovomucóide (Gal d 1)	
	Ovalbumina (Gal d 2)	
	Ovotransferrina (Gal d 3)	
	Lisozima (Gal d 4)	

4.6.4.	Provocación oral	
5.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	66
5.1.	Variables de los Resultados del Estudio	
5.1.1.	Eficacia	
5.1.2.	Seguridad	
5.2.	Estadística descriptiva	
5.3.	Estadística Analítica	
	Comparación de las características básicas de los sujetos entre ambos grupos de estudio	
	Evolución de las pruebas cutáneas, IgE específica e IgG4 tras la inmunoterapia en el tiempo	
	Factores asociados a eficacia y seguridad de la inmunoterapia	
	Datos de tiempo de mantenimiento transcurrido hasta alcanzar o no la tolerancia de un huevo crudo	
6.	ASPECTOS ÉTICOS	68
7.	LIMITACIONES DEL ESTUDIO	68
V	CAPÍTULO 5: RESULTADOS	69
1.	PACIENTES	70
1.1.	Características Generales	
1.2.	Características clínicas e inmunológicas al momento del diagnóstico inicial	
2.	CARACTERÍSTICAS DE LA PROVOCACIÓN ORAL INICIAL CON HUEVO COCIDO	72
3.	RESULTADOS DEL PROTOCOLO DE INMUNOTERAPIA	73
3.1.	Características de los pacientes y controles al inicio y a un año de la inmunoterapia	
3.2.	Cambios inmunológicos producidos durante el proceso de la inmunoterapia	
3.3.	Seguridad: Reacciones adversas durante la inmunoterapia	
3.3.1.	Durante la fase de inducción	
3.3.2.	Durante la fase de mantenimiento	
3.4.	Tolerancia al huevo crudo	
3.4.1.	Tiempo en alcanzar la tolerancia al huevo crudo	
4.	FACTORES ASOCIADOS	81
4.1.	Con la duración de la inmunoterapia	
4.2.	Con la seguridad de la inmunoterapia	
	Durante la fase de inducción	
	Durante la fase de mantenimiento	
4.3.	Con la tolerancia al huevo crudo	
VI	CAPÍTULO 6:	
	DISCUSIÓN	94
1.	LIMITACIONES DEL ESTUDIO	95
2.	CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS PACIENTES	95
2.1.	Edad	
2.2.	Presencia de comorbilidades	
2.3.	Selección de los pacientes	
3.	CARACTERÍSTICAS DEL PROTOCOLO	97
3.1.	Eficacia	
3.2.	Seguridad	
3.3.	Características inmunológicas al inicio de la inmunoterapia (T0)	
3.4.	Tipo de protocolo: Tipo de material (huevo) utilizado	
3.5.	Duración de la Inmunoterapia	
3.5.1.	Duración de la fase de inducción	
3.5.2.	Duración del mantenimiento	
3.6.	Cambios inmunológicos con la inmunoterapia	
3.6.1.	Pruebas cutáneas	
3.6.2.	Niveles de IgE	
3.6.3.	Niveles de IgG4	
3.7.	Tolerancia al huevo crudo	
3.8.	factores Asociados	
3.8.1.	Factores Asociados a Seguridad	
3.8.2.	Factores asociados a Duración de la inmunoterapia:	
3.8.3.	Factores asociados a tolerancia al huevo crudo	
VII	CAPÍTULO 7: CONCLUSIONES	104
VIII	CAPÍTULO 8 : ANEXOS	106
	1. Consentimiento Informado de Participar en el estudio	
	2. Provocación Oral con Huevo cocido	
	3. Consentimiento Informado de Participar en la Inmunoterapia	
	4. Protocolo de Inmunoterapia	
	5. Provocación Oral con Huevo crudo	
IX	CAPÍTULO 9: RESUMEN EN INGLÉS	117
X	CAPÍTULO 10: REFERENCIAS	119

	<p>CAPÍTULO I</p> <p>MARCO TEÓRICO</p>
--	------------------------------------------------------

I CAPÍTULO I : MARCO TEÓRICO

1. EL HUEVO: COMPOSICIÓN, VALOR NUTRICIONAL E IMPORTANCIA

1.1. Composición y valor nutricional

Un huevo está formado, básicamente, por una yema central (31%) rodeada por el albumen o clara (58%) y todo ello envuelto por una cáscara externa (11%). El huevo proporciona más de 6 g/unidad de proteínas de fácil digestión y alta calidad (con un valor biológico de 94 en una escala de 100). Un huevo mediano aporta aproximadamente 75 kcal. (1)

Tabla 1 : Huevos de gallina (composición por 100 g de porción comestible)

Composición por 100 g de porción comestible de huevo de gallina			
	Huevo	Yema	Clara
Agua (g)	74,5	51,7	88
Energía (Kcal)	162	353	49,1
Proteínas (g)	12,7	16,1	11,1
Carbohidratos (g)	0,68	0,3	0,7
Azúcares sencillos (g)	0,68	0,3	0,7
Lípidos (g)	12,1	31,9	0,2
Colesterol (mg)	410	1260	0
Acido oleico (g)	4,4	11,7	--
Acido linoleico (g)	1,6	4,8	--
Acido linolénico (g)	0,098	0,26	--
Tiamina (mg)	0,11	0,29	0,022
Riboflavina (mg)	0,37	0,4	0,32
Niacina (mg)	3,3	4,2	3,4
Vitamina B6 (mg)	0,12	0,3	0,012
Folato dietético (µg)	51,2	159	9,2
Vitamina B12 (µg)	2,1	2	0,1
Vitamina C (mg)	0	0	0,3
Pantoténico (mg)	1,8	3,7	0,14
Vitamina A (µg)	227	886	0
Retinol (µg)	225	881	0
Carotenoides (µg)	10	29	0
Vitamina D (µg)	1,8	5,6	0
Vitamina E (µg)	1,9	5,5	0
Vitamina K (µg)	8,9	2	0,01
Calcio (mg)	56,2	140	11
Fósforo (mg)	216	590	21
Hierro (mg)	2,2	7,2	0,2
Yodo (µg)	12,7	12	6,8
Cinc (mg)	2	3,8	0,02
Magnesio (mg)	12,1	16	12
Sodio (mg)	144	51	170
Potasio (mg)	147	138	154
Manganeso (mg)	0,071	0,13	0,04
Cobre (mg)	0,065	0,35	0,006
Selenio (mg)	10	19	5,4

Un huevo aporta cantidades significativas de una amplia gama de vitaminas (A, B2, Biotina, B12, D, E, etc.) y minerales (fósforo, selenio, hierro, yodo y cinc) que contribuyen a cubrir gran parte de las necesidades diarias de nutrientes (ver tabla 1) El huevo es la mejor fuente dietética de colina. La colina y sus diferentes metabolitos son necesarios en diversos procesos de nuestro organismo, en la

construcción de membranas y en la síntesis del neurotransmisor acetilcolina. En las primeras etapas de la vida es esencial para el desarrollo del sistema nervioso y del cerebro.

1.2 Huevo en la alimentación del niño

La introducción del huevo en la dieta tiene lugar tradicionalmente en este país alrededor del año de vida. Entre el año y los 3 años de vida, el niño tiene unas altas necesidades proteicas, debido al crecimiento de músculos y otros tejidos. Se estima que la ingesta de proteínas en ese rango de edad debe alcanzar los 1,2 g/kg de peso/día, debiendo ser el 65% de origen animal. Progresivamente al avanzar la edad del niño, aumentan las necesidades calóricas, debido a un mayor gasto por la práctica deportiva, disminuyendo las necesidades proteicas a 1,1 g/kg peso/día entre los 4 y los 6 años, y 1 g/kg peso/día entre los 7 y 14 años. El huevo, como alimento eminentemente proteico, junto con carnes, pescados, lácteos, legumbres y frutos secos, tiene un importante papel en el cumplimiento de estos requerimientos proteicos. Por otra parte, el huevo es fuente de otros nutrientes fundamentales para el correcto crecimiento y desarrollo del niño, cubriendo una parte importante de las ingesta diarias recomendadas de estos.

Debido a su alto valor proteico, por un lado, y a su alto valor culinario como ingrediente de múltiples preparados alimenticios, el huevo tiene un papel protagonista en la dieta en la edad infantil.

La Sociedad Española de Nutrición Comunitaria -SENC- en sus Guías Alimentarias para la Población Española indica que «para un niño, persona de tamaño pequeño, o mediano, o inactiva, podría ser conveniente un consumo de tres a cuatro huevos por semana, mientras que una persona corpulenta, o físicamente activa, podría consumir hasta 7 huevos por semana» en el contexto de una dieta variada y equilibrada.

También la Guía de la Alimentación Saludable recomienda, para la población en general, un consumo de tres a cuatro raciones de huevos por semana (una ración de huevos equivale a unos 100-125 g con cáscara y en peso neto -parte comestible-, serían dos huevos de tamaño mediano, 53-63 g)(2).

1.3 Importancia no nutricional y otros usos del huevo

El huevo tiene además propiedades tecnofuncionales que lo hacen un producto muy útil y versátil: adhesiva (útil para dar consistencia a barritas de cereales, aperitivos, etc), espumante (utilizado en merengues, mousses, etc), aglutinante, clarificante (evita turbidez en bebidas como vinos y zumos), coagulante y gelificante (tartas, glaseados, flanes), colorante (bollería), emulsionante (aderezos de ensaladas), acabado brillante (bollería, galletas), aromatizante (natillas) y da cuerpo y suavidad al pan y dulces, espesante (salsas y recubrimientos), entre otras.(1)

Por otro lado, existen también otros numerosos usos del huevo y sus derivados para fines ajenos al sector alimentario, tales como la preparación de medios de cultivo para microbiología, en vacunas virales que se preparan en tejidos del embrión del pollo (gripe, fiebre amarilla, rubeola, parotiditis), colirios (lisozima), en la conservación del semen para inseminación artificial o la elaboración de champús y adhesivos.(3)

2. INMUNOLOGÍA INTESTINAL

El tracto gastrointestinal es el órgano inmunológico más grande en el cuerpo. La superficie del tejido epitelial intestinal es constantemente bombardeada por miles de bacterias y de proteínas alimentarias. A pesar de esta constante exposición a antígenos alimentarios, únicamente un pequeño porcentaje de individuos son alérgicos a alimentos. Esto es debido al desarrollo de tolerancia oral a

las proteínas de la dieta. La tolerancia oral, se refiere al estado de inhibición activa de la respuesta inmune a un antígeno por medio de la exposición previa a antígeno por vía oral. La hipersensibilidad o alergia a los alimentos es una reacción adversa inmunológica que supone una respuesta anómala frente a la ingestión de los alimentos

2.1. Procesamiento de antígenos en el lumen intestinal

El tracto gastrointestinal es un aparato cuyas funciones más importantes son la digestión, absorción de nutrientes y mantenimiento de las funciones inmunológicas de reconocimiento de lo propio y extraño y de protección frente a patógenos.

Los alimentos en el tracto gastrointestinal sufren una serie de transformaciones encaminadas a la extracción de los nutrientes. Las proteínas de los alimentos son hidrolizadas por distintas proteasas del estómago, páncreas y mucosa intestinal, dando lugar a péptidos y aminoácidos fácilmente absorbibles. En ocasiones se absorben algunas proteínas intactas y grandes péptidos(4) .

La mucosa intestinal es una barrera que aísla al organismo del exterior. La presencia de sustancias reconocidas como extrañas desencadena 2 tipos de respuesta inmune: la innata y la adquirida o específica. La primera es ejercida por leucocitos polimorfonucleares, macrófagos, células epiteliales y linfocitos citolíticos; y la segunda se lleva a cabo por los linfocitos de la lámina propia, las placas de Peyer, la IgA secretora y algunas citosinas.

La mayoría de las proteínas de la dieta pasan a aminoácidos por acción de las enzimas proteolíticas, pero el 2% de las proteínas ingeridas se absorben como péptidos, inmunológicamente reconocibles. Las estructuras proteicas reconocibles por el sistema inmunológico pueden ser epítopos lineales o bien epítopos conformacionales con una estructura tridimensional. A medida que tiene lugar la maduración intestinal, se producen cambios en la permeabilidad intestinal que impiden la entrada a los epítopos conformacionales. Por este motivo, la alergia a alimentos una patología más frecuente en los primeros 2 años de vida, coincidiendo con la etapa de la vida de inmadurez en la barrera intestinal. En modelos animales, se ha visto que una alteración de estos factores predispone a hipersensibilidad a alimentos más que a tolerancia. Otros factores importantes en la luz intestinal son el peristaltismo y la barrera mucosa que recubre el epitelio intestinal y evita el contacto de algunas proteínas.

Aquellas proteínas que escapan de la digestión y procesamiento contactan con el epitelio, el cual es un sistema inmunológico capaz de generar una gran variedad de respuestas inmunológicas.

2.2 Captación de antígenos en el intestino

Los antígenos desde la luz intestinal acceden al sistema inmune de la mucosa intestinal por distintas vías(5):

- Los antígenos solubles pueden cruzar las células epiteliales a través de rutas transcelulares o paracelulares llegando a los linfocitos T y a los macrófagos de la lámina propia, o bien pueden alcanzar la circulación.
- A través de las células dendríticas que se introducen en la luz intestinal.
- A través de las células M, que son células epiteliales especializadas en la captación y transporte de macromoléculas desde la luz intestinal hasta el tejido subepitelial.

Las placas de Peyer constituyen la parte más importante del tejido linfoide organizado del sistema inmune y el sitio inductor de inmunidad de las mucosas. Son permeables a la entrada de antígeno y son las responsables de la regulación de la respuesta inmune frente a antígenos

alimentarios y bacterianos. En una respuesta normal, el sistema inmune intestinal actúa en la defensa de los órganos internos de las agresiones del medio ambiente. En condiciones patológicas, la respuesta de dicho sistema inmune intestinal reacciona frente a estructuras propias, dando lugar a enfermedades autoinmunes o bien frente a agentes externos alimentarios inocuos.

Tras la exposición inicial al antígeno, los linfocitos dejan las placas de Peyer y migran a los tejidos mucosos: intestino, pulmón, mucosa nasal y tracto urogenital. En esos tejidos ejercerán sus funciones efectoras: síntesis de anticuerpos, muerte de células infectadas por virus.

La migración preferencial de los linfocitos de mucosas estimuladas a las mucosas a través del organismo da idea de lo que es el sistema inmune asociado a mucosas. Tras una inmunización frente a un antígeno determinado, administrado oralmente, se producen importantes cambios en la migración linfocitaria.

Tras la entrada de los alimentos en el tracto intestinal pueden ocurrir tres tipos de respuestas inmunes(6):

- Tolerancia sistémica para inmunidad celular y humoral. Es la respuesta normal.
- Respuesta inmune local en la mucosa con la producción de IgA.
- Activación sistémica que puede afectar tanto a la inmunidad innata como adquirida

3. MECANISMOS DE TOLERANCIA INMUNOLÓGICA

La tolerancia oral es un proceso natural de falta de respuesta inmune a un antígeno específico, es a la vez local y sistémico. Muchos mecanismos pueden explicar la tolerancia oral. En estudios de modelos animales se han encontrado 2 tipos de tolerancia(6):

- A altas dosis, mediada por anergia o por delección de linfocitos.
- A bajas dosis de antígeno, lo que implica la generación de células T reguladoras específicas.

Aunque en estudios recientes refieren que esta afirmación no siempre es así. Se ha demostrado también que con dosis altas de alérgenos se puede inducir la producción de células CD4 reguladoras. Por lo que se dice actualmente que tanto la anergia, como la delección y la activación de la regulación juegan un papel importante en el mantenimiento de la tolerancia inmunológica frente a antígenos alimentarios(7).

Las células T reguladoras evitan la respuesta inmune excesiva y establecen un estado de tolerancia a las sustancias inocuas. Se han identificado varios tipos de células Treg: Las TCD8 supresores y las TCD4, que comprende 2 subgrupos Th3, Tr1 y las células iTreg o CD4CD25FOXP3. El mecanismo supresor se ejerce por distintas vías, mientras los CD8 y Th3 lo hacen a través del TGF-Beta, las Tr1 lo hacen a través de la secreción de IL10 y las CD4CD25 a través del factor de transcripción FOXP3 (7).

4. ALERGIA A ALIMENTOS EN GENERAL

Las reacciones adversas a alimentos, pueden tener un mecanismo inmunológico (alergia) o no inmunológico (intolerancias). Las intolerancias suelen ser de origen metabólico (intolerancia a la lactosa), farmacológico (ejemplo la cafeína) o tóxicas (ver figura 1)

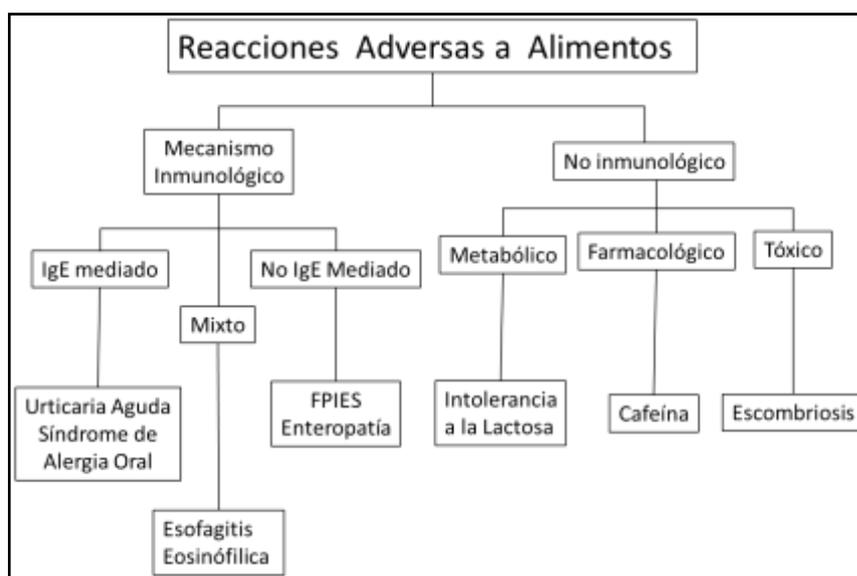


Figura 1: Reacciones adversas a alimentos (8)

4.1 Definición de Alergia a Alimentos

La Alergia a alimentos se definió por un panel de expertos del Instituto Nacional de Alergia y enfermedades de Estados Unidos como: Un efecto adverso, derivado de una respuesta inmune específica que ocurre con la exposición a un alimento. Esta respuesta comprende todo tipo de reacciones inmunes, incluyendo al sistema inmune innato y adaptativo. La última guía de la academia Europea(9) de alergia e inmunología, reafirma este concepto y agrega que el mecanismo inmunológico tiene que haber sido demostrado. El término alergia a alimentos incluye a tanto los mediados por inmunoglobulina E (IgE), como a los no mediados por IgE y mixtos.

Tabla 2. Enfermedades alérgicas inducidas por alimentos(9) (clasificación basada en la inmunopatología subyacente)

Inmunopatología	Trastorno	Características clínicas	Grupo étnico Típico	Pronóstico
IgE mediadas	Síndrome de alergia oral	Prurito, edema leve confinado a la cavidad oral	Inicio después de establecida la polinosis (más frecuente en adultos)	Podría ser persistente y podría variar de estación en estación
	Urticaria/Angioedema	Desencadenado por ingestión o contacto directo	Mayor en niños que en adultos	Dependiente del alimento
	Rinoconjuntivitis/Asma	Acompaña la reacción inducida por alimentos pero raramente como síntomas aislados. Podría ser desencadenado por inhalación de proteínas aerolizadas	Más frecuente en niños, excepto en enfermedad ocupacional	Dependiente del alimento
	Síntomas gastrointestinales	Síntomas tales como náuseas, emesis, dolor abdominal, y diarrea	A cualquier edad	Depende del alimento

		desencadenados por la ingesta		
	Anafilaxia inducida por alimentos	Rápido, progresivo, multisistémico	Cualquier edad	Depende del alimento
	Anafilaxia inducida por ejercicio dependiente de alimentos	Los alimentos sólo desencadenan anafilaxia si tras la ingesta se hace ejercicio.	Inicio en la infancia tardía, adultez	Presumiblemente persistente
Enfermedades Mixtas: IgE mediadas y celulares	Dermatitis atópica	Asociada a alimentos 30-40% de niños con dermatitis moderada/severa	Mayor en infantes, luego en niños y menos en adultos	Usualmente se resuelve
	Enfermedades eosinofílicas gastrointestinales	Síntomas varían dependiendo de la zona del tracto gastrointestinal afectada y del grado de inflamación eosinofílica	A cualquier edad	Es probable que sea persistente
No IgE mediadas	Proctocolitis	Diarreas sanguinolentas	Infancia	Usualmente se resuelve
	Enterocolitis inducida por proteínas de alimentos (FPIES)	La exposición crónica produce: Vómitos, diarrea, pobre crecimiento, letargia. Re-exposición tras evitación: vómitos, diarrea, hipotensión dos horas tras la ingesta	Infancia	Usualmente se resuelve

De acuerdo a la clasificación de Coombs y Gell(10), existen 4 grandes tipos de reacciones alérgicas basadas en mecanismos patogénicos. Las formas más comunes de reacciones adversas frente a alimentos son las tipo I, que se caracterizan por la producción de IgE frente a alérgenos alimentarios. Puede acompañarse de inflamación inducida por componentes celulares y mediadas por células T y eosinófilos.

4.2 Inmunología de la Alergia a Alimentos

4.2.1 Alergia Alimentaria Mediada por IgE

Sensibilización alérgica

El término sensibilización alérgica describe la primera inducción de una respuesta inmune por un alérgeno. Hay 2 rutas de sensibilización bien establecidas: Alérgenos alimentarios clase 1 (ejemplo leche, huevo o cacahuete) son alérgenos orales que causan sensibilización alérgica vía el tracto gastrointestinal. Los alérgenos alimentarios clase 2 son aeroalergenos (ejemplo polen de abedul) que produce sensibilización a través de la vía respiratoria. Las respuestas inmunológicas pueden presentar reacciones cruzadas con alérgenos alimentarios de otros alimentos (por ejemplo la manzana) para provocar síntomas.

Recientemente se ha propuesto una tercera vía de sensibilización: a través de la piel, pero existen pocos estudios. Estudios en modelos animales, han demostrado que la sensibilización epicutánea lleva a una expansión de los mastocitos intestinales, dependiente de la IgE.

Exposición primaria del alérgeno(11)

Una vez que los alérgenos son internalizados, son detectados por la ubiquitina, que se encuentra en el citosol de las células dendríticas. La unión selectiva de esta proteína con los alérgenos es la señal inicial para su degradación, así estos alérgenos se dirigen hacia los proteosomas en donde son degradados en fragmentos peptídicos. Estos fragmentos son luego presentados al complejo mayor de histocompatibilidad tipo II (MHC II) y reconocido por las células TCD4 vírgenes.

Estas células CD4 colaboradoras se dividen en Th1 ó Th2 en función de las citosinas predominantes que producen. Las CD4 se diferencian hacia Th2 en presencia de IL4. Estas Th2 secretan IL4 y IL13 que inducen el cambio de clase de las células B hacia la producción de IgE. Este cambio de clase, necesita además de niveles adecuados de IL4 y IL13, sino también la interacción del CD40 de las células B con CD40 ligando de las células Th2. Estas 2 señales traducen su señal a través de las quinasas JAK1 y JAK3, lo que lleva a la fosforilización del regulador de transcripción STAT-6. Se ha demostrado que el interferón gamma inhibe estos fenómenos.

Tras ser activadas por los alérgenos, las células CD4 secretan una serie de citosinas, como la IL4, IL5, IL6, IL9, IL10 y IL13, que incrementan los niveles de IgE total en sangre y los niveles de eosinófilos.

La IgE se une a su receptor FcεR1 de los mastocitos y basófilos. Este receptor tiene 4 subunidades: alfa, beta, gamma1 y gamma2. Las 2 primeras participan en la unión de la IgE, mientras que las gamma participan en procesos de fosforilación. El FcεR1 también se encuentra en las células de Langerhans, eosinófilos, mastocitos y basófilos.

Exposición secundaria de los alérgenos(11)

La IgE activa la cascada alérgica a través de su receptor de alta afinidad, el FcεR1 en la sangre y a nivel de los tejidos. Una vez que la IgE se encuentra unida a su receptor a nivel de los mastocitos, se forma un complejo estable a nivel de la superficie. Tras la unión del alérgeno a este complejo IgE-receptor, las moléculas ITAM (asociadas a tirosina), son las que inician la señalización al fosforilarse y con esto exponer sitios de unión para diversas quinasas como las Src, Lyn, Syk y Fyn. La fosforilación de estas moléculas puede llevar a la activación de otras moléculas como la SLP76, Grb2, Vav, Gads, Sos, PLC, PI3K y GNEF. Esto produce una salida de Calcio de los depósitos intracelulares incluyendo el retículo endoplásmico, lo que lleva finalmente al mastocito a degranularse.

Liberación de mediadores (11)

Con la degranulación de los mastocitos y basófilos se liberan una serie de mediadores como: prostaglandinas, citosinas, leucotrienos, histamina, heparina, factor activador de las plaquetas, factor quimiotáctico de eosinófilos y otras enzimas proteolíticas.

La histamina actúa sobre sus receptores y provoca contracción del músculo liso de las vías aéreas y tracto gastrointestinal, aumenta la permeabilidad capilar y vasodilatación, aumenta la producción de moco, sudoración y secreción gástrica. La triptasa es una proteasa importante que actúa sobre el complemento y es considerada como un buen marcador de activación mastocitaria. Dentro de las interleucinas liberadas tras la degranulación se encuentran la IL4 y la 13, que estimulan y mantienen la proliferación de Th2 y la producción de IgE.

Inmunidad Innata y alergia a alimentos (11)

La inmunidad innata en la alergia a alimentos implica a una serie de células como las células dendríticas, células epiteliales, basófilos, nuocitos, NK, etc. Los alérgenos pueden interactuar directamente con las células dendríticas a través de receptores de reconocimiento de patrón. Las

células epiteliales tienen un papel muy importante por ser los que permiten la entrada de los alérgenos y por su estrecha relación con las células dendríticas. Además, las células dendríticas secretan TSLP, que es una citosina que tras su interacción con el alérgeno, estimula a estas células a producir más citosinas que atraen a las Th2, por eso se le considera como un adyuvante natural. Los basófilos no sólo actúan como células efectoras, sino como células presentadoras de antígenos y en la inducción de respuestas Th2, como ha sido demostrado con la papaína y la ovoalbúmina.

Las NK invariables también están implicadas en la alergia a alimentos, pero sólo en alérgenos de naturaleza esfingolípida. Se ha demostrado que estas células también secretan citosinas tipo Th2 tras la exposición a alérgenos. Se ha encontrado también que los nuocitos (células helper naturales) secretan IL5 y 13.

Alergia como falta de regulación de los mecanismos de Tolerancia

La exposición de antígenos en las mucosas, tanto de animales de experimentación como de seres humanos, induce inicialmente una respuesta IgE que en la mayoría de los casos disminuye con la exposición reiterada hasta desaparecer. Esta situación de tolerancia inmunológica se conoce como tolerancia oral, cuando el antígeno penetra por vía oral, y tolerancia respiratoria cuando el contacto del antígeno con la mucosa es a través de tracto respiratorio. El mecanismo exacto de la tolerancia oral no es bien conocido, pero parece que, en definitiva, la tolerancia oral es el producto final del contacto de los antígenos alimentarios con la mucosa gastrointestinal y estaría relacionada con las células Th3 que inhiben la producción de citoquinas inflamatorias mientras que promueven la producción de IgA. Un defecto de regulación llevaría a la inducción de células Th2 responsable de la alergia a alimentos.

La mucosa intestinal está especialmente diseñada para la tolerancia, por ejemplo, para suprimir la respuesta inmune frente a la flora intestinal y frente a los antígenos alimentarios. Tiene altos niveles de IL10 (secretada por los macrófagos intestinales) y altos niveles de ácido retinoico (producido por las células estromales). Estas sustancias, junto con el TGF beta, inducen selectivamente el desarrollo de células T reguladoras inducidas(7).

En un estudio(12) realizado en 54 niños alérgicos a alimentos y 26 controles sanos, se evaluó la expresión de los genes de FOXP3 e IL10, y evidenciaron que los niños alérgicos tenían menores niveles de expresión de dichos genes que los controles. En aquellos niños alérgicos que posteriormente adquirieron la tolerancia al alimento al que eran alérgicos, se encontró mayor expresión de estos genes en que los que mantenían su alergia.

En un estudio reciente(13), realizado aplicando citometría de flujo en las células mononucleares periféricas de 58 niños de 1 a 18 años, se evidenció un aumento de las células T reguladoras productoras de IL10 en aquellos pacientes que habían superado una alergia previa a cacahuete o huevo.

4.2.2 Alergia alimentaria no mediada por IgE y mixtas

Se entiende por alergia alimentaria no mediada por IgE, las reacciones de base inmunológica probablemente mediadas por mecanismo celular, cuya patogenia no es bien conocida.

Son menos frecuentes y resultan de la producción de células T que responden directamente a la proteína, llevando a una liberación de mediadores que dirigen ciertas respuestas inflamatorias y que pueden causar una serie de enfermedades subagudas y crónicas.

Incluye cuadros digestivos que son de carácter crónico y no se asocian con los alimentos de una manera muy clara. Estos tipos de reacciones afectan típicamente al sistema gastrointestinal e incluye la enterocolitis inducida por proteínas de alimentos (FPIES), la proctocolitis y los síndromes de enteropatía asociada a alimentos. Estas enfermedades afectan primariamente a lactantes e infantes quienes presentan dolores abdominales crónicos tales como vómitos, dolor abdominal tipo cólicos, diarrea y pobre ganancia ponderal.(14,15)

Ejemplos de enfermedades con mecanismos mixtos son la Esofagitis Eosinofílica y la dermatitis atópica. En estas enfermedades la asociación con alimentos no se demuestra en todos los pacientes.

Proctocolitis inducida por proteína alimentaria

Típicamente se inicia a los 6 meses de edad y se manifiesta por la aparición de sangre en heces, asociada en ocasiones a mucosidad y sin otros síntomas acompañantes. Cursa con buen estado general. Se dice que esta patología es la responsable de hasta un 60% del sangrado rectal en lactantes sanos. En ocasiones se puede acompañar de meteorismo, cólico del lactante. Aunque el alimento causante se continúe ingiriendo y el sangrado persiste, no hay déficit pondero estatural. Representa una forma infantil de colitis eosinofílica. Es raro en adultos, en quienes suele ser más severo, con síntomas que incluyen diarrea, dolor abdominal y pérdida de peso.(16)

Síndrome de enterocolitis inducida por proteínas alimentarias (FPIES)

El FPIES producido por leche de vaca suele empezar a los 3-6 meses, el producido por alimentos sólidos suele ser más tardío, desde los 4 a 7 meses, lo cual refleja la edad de introducción de los alimentos a la dieta(16).

Los síntomas agudos se desarrollan con la ingesta intermitente o re-exposición después de un periodo de evitación y se manifiesta por vómitos severos, en proyectil y repetitivos, que empiezan entre 2 a 3 horas de la ingesta. Se asocia a palidez y letargia con o sin diarrea. Se ha reportado hipotensión hasta en un 15% de los pacientes. Los síntomas crónicos se desarrollan en niños con la ingesta regular del alimento y se caracteriza por vómitos intermitentes, diarrea y pobre ganancia ponderal(17).

Mixtas: Esofagitis Eosinofílica

Consiste en la inflamación eosinofílica del esófago. Los síntomas digestivos en los niños muy pequeños son inespecíficos. Pueden presentarse como rechazo del alimento, vómitos, regurgitaciones, estancamiento ponderal o síntomas de reflujo gastroesofágico refractario al tratamiento farmacológico.

En niños mayores la clínica puede ser semejante a la del adulto, con síntomas de disfagia, dolor abdominal, episodios de dolor torácico y episodios de impactación. El diagnóstico debe confirmarse mediante biopsia esofágica.

4.3 Epidemiología de la alergia a alimentos

4.3.1 Mundial

La alergia a alimentos se ha convertido en un problema de salud de primer orden en los países industrializados en las dos últimas décadas, afectando a un 1-2% de la población general y de 4- 6% en niños(18,19).

En un estudio poblacional en Australia en niños de un año de edad, utilizando pruebas de provocación oral, obtuvieron una prevalencia de 3.0% de alergia al cacahuete, 8.9% de alergia al

huevo crudo y 0.8% de alergia al sésamo. En general, más de un 10% de la población tenía alguna alergia a alimentos(20).

Los estudios de prevalencia llevados a cabo en adultos y niños de diferentes países, concluyen que los alimentos más frecuentemente implicados en reacciones alérgicas son el huevo, la leche, el cacahuete, los frutos secos, el pescado, marisco, la soja, el trigo, las frutas y las legumbres. En niños, el huevo y la leche de vaca son los alimentos más frecuentemente implicados en todos los estudios(21,22).

La alergia a las proteínas de huevo comienza mayoritariamente alrededor de los 11 meses de vida (56.5%), ocurriendo el 97% de los casos en los 2 primeros años. El huevo se incluye dentro de los alimentos que producen reacciones sistémicas graves, por detrás de frutos secos y mariscos.

4.3.2 Europa

Un metaanálisis europeo reciente sobre alergia a alimentos, refiere una prevalencia de alergia reportada por el mismo paciente de 5.9% desde el año 2000 al 2012. Hay que recalcar que varios de los estudios tenían al menos un potencial moderado de sesgo(23).

4.3.3 España

En España, en 2005 se realizó un estudio epidemiológico multicéntrico de ámbito nacional auspiciado por la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica (SEAIC), en el que se incluyeron más de 4000 pacientes, y se recoge que el 7.5% de los pacientes derivados a consultas de alergia presentaban sensibilización a algún alimento(24).

4.4 Factores de riesgo para alergia

4.4.1 Historia familiar de atopia

Como en otras enfermedades atópicas, una historia familiar de atopia es un factor de riesgo importante. En un estudio poblacional de más de 5000 niños de un año de edad, diagnosticados con test de provocación oral, el riesgo de alergia a alimentos se incrementó un 40% en pacientes con un miembro de la familia con cualquier enfermedad alérgica y hasta un 80% en pacientes con dos familiares cercanos con cualquier enfermedad alérgica, comparados con niños sin historia familiar de alergia(25)

4.4.2 Genética

Existe cierta evidencia de ciertos genes podrían estar implicados en la alergia a alimentos, sin embargo estos estudios no han sido replicados a gran escala.

Filagrina

Las mutaciones del gen de la filagrina que producen una pérdida de su función (FLG LOF), están asociadas con alteraciones de la función de barrera epitelial de los individuos afectados, así como con el desarrollo de eccema. Un estudio demostró que las FLG LOF desempeñan un papel importante en la sensibilización frente a alérgenos alimentarios(26) y esto que implicaría a la piel como ruta de sensibilización(27). Los alérgenos alimentarios entran en contacto con la mucosa oral, en consecuencia, si la filagrina se expresa en la boca así como en la piel, los individuos afectados tienen comprometidos la barrera epitelial de la boca, así como la de la piel, lo que contribuiría a la alergia alimentaria. Sin embargo, en un estudio realizado en 158 niños de un año de edad, llegó a la

conclusión de que no hay evidencia suficiente para darle un papel a la metilación de ADN del gen de la filagrina en la expresión del mismo en las células del epitelio bucal, ni tampoco que esta expresión sea importante en la tolerancia oral(28).

Sin embargo, en un estudio realizado en 3471 adultos daneses, con alergia a alimentos sólo diagnosticada por cuestionario, se encontró una asociación entre FLG LOF y alergia a huevo, leche, trigo y pescado, así como a niveles elevados de IgE específica frente a leche (29).

Otros genes

Se han encontrado asociaciones entre diversos polimorfismos en el gen STAT6 y un incremento de la edad de tolerancia en caso de niños alérgicos a la leche de vaca, con sensibilización a alimentos(30) y riesgo de alergia a frutos secos (31). Sin embargo aunque parece muy probable que exista una base genética en el desarrollo de la alergia a alimentos, hacen falta más estudios para determinar cuáles serían los loci implicados(31).

4.4.3 Factores Ambientales

Se ha demostrado en diversos estudios la asociación entre ambiente y riesgo de alergia a alimentos (27). Por ejemplo, los niños con hermanos mayores y con mascotas en casa tienen menor riesgo de alergia al huevo a la edad de 12 meses, apoyando la hipótesis de que un incremento de la estimulación microbiana en la infancia podría tener un efecto protector en términos de desarrollo de alergia.

Una investigación japonesa, aplicada por cuestionario a padres de 14 669 niños entre 7 y 15 años de edad, llegó a la conclusión de que existe una menor prevalencia ($p=0.01$) de alergia a alimentos (leche, huevo, trigo y mariscos) y posteriormente de rinitis y rinoconjuntivitis en niños con más de un hermano mayor. Esto no fue demostrado en el caso de asma bronquial o dermatitis atópica(32). Existen 2 mecanismos propuestos para explicar este fenómeno. En primer lugar se encuentra la hipótesis de la higiene, que sugiere que el desarrollo de una desviación hacia TH2 y alergia es prevenida al tener hermanos mayores por una mayor exposición a patógenos a edades tempranas. Una segunda hipótesis es la de origen prenatal, que explica que el sistema inmune de las madres podría cambiar tras varias gestaciones, lo que podría causar en el feto una menor polarización inmunológica hacia TH2(32). Esta hipótesis se apoya en la relación inversa hallada entre número de gestaciones previas y disminución de sensibilización a alérgenos alimentarios en sangre de cordón umbilical, hallada como parte del estudio PASTURE en 922 recién nacidos de madres de diferentes poblaciones rurales de varios países europeos (Alemania, Francia, Austria, Suiza y Finlandia)(33).

En el estudio NHANES realizado en EEUU entre el 2005 y 2006, realizado en 3550 niños, se encontró que los nacidos en EEUU o que migraron en la infancia temprana a EEUU tenía mayor riesgo de sensibilización a leche, cacahuete y huevo que los niños nacidos en el extranjero. Entre los niños nacidos en EEUU, aquellos que tenía padres inmigrantes tenían mayor riesgo (34)

4.4.4 Alimentos y complementos alimentarios

Vitamina D

El papel de la vitamina D en la alergia a alimentos, sigue siendo controvertido. En muchos estudios se le asigna un papel protector frente a la aparición de alergia a alimentos, ya que se ha encontrado que niveles plasmáticos bajos durante el primer año de vida está asociado a aumento de

alergia a alimentos(35). Niveles bajos de vitamina D aumentan la susceptibilidad a colonización intestinal anormal e infecciones gastrointestinales, contribuyendo a una permeabilidad intestinal anormal y exceso de exposición inapropiada del sistema inmune a alérgenos de la dieta, así como a un desbalance inmunológico que favorece la sensibilización y podría alterar la inmunidad de la mucosa intestinal, contribuyendo a la alergia a alimentos. (36).

Niveles de vitamina D durante el embarazo, tienen efectos diversos según los estudios, algunos les dan un papel protector de sibilancias precoces (37) , mientras que otros han encontrado que niveles altos en embarazo y sangre de cordón umbilical, están asociados a mayor riesgo de alergia y disminución de las células Treguladoras (38), mayor riesgo de sibilancias (37), asma, dermatitis atópica y rinitis alérgica (37). Además mutaciones de la proteína ligadora de vitamina D, que hacen que aumente su biodisponibilidad (independientemente de los niveles plasmáticos), parece tener un efecto protector frente a alergia, siendo esta mutación más frecuente en la raza caucásica(39).

En resumen, existe actualmente en gran interés en el efecto de la vitamina D a nivel inmunológico. La evidencia epidemiológica sugiere que tanto un déficit como un exceso en esta vitamina podrían contribuir en la falla en la tolerancia oral, con una subsecuente alergia a alimentos en niños. Es evidente que la vitamina D tiene una amplia gama de efectos en el sistema inmune, pero el cómo modularía la función inmunológica en la alergia a alimentos no está muy clara y los mecanismos subyacentes a la disfunción del sistema inmune innato y adaptativo necesita aún mayor investigación. A nivel clínico, también hace falta demostrar por medio de estudios randomizados y controlados, su eficacia y seguridad en la prevención de alergia a alimentos.(40)

Diversificación y Alimentación Complementaria

Según las guías de alimentación complementaria de la OMS(41), a partir de los 6 meses de edad, existe una cantidad de requerimientos calóricos que la leche materna no es capaz de satisfacer, por este motivo se recomienda la introducción de la alimentación complementaria, de forma progresiva, tanto en cantidad como en consistencia. Esta guía de la OMS, así como la de la sociedad Europea de Gastroenterología (42), y la de la Academia Americana de Pediatría (43)también recomiendan el inicio de la alimentación complementaria entre los 4 y 6 meses y no recomiendan retraso en la introducción de alimentos potencialmente alérgicos por falta de evidencia científica que sustente que esta práctica previene la alergia.

Tanto los procesos fisiológicos del desarrollo como los cambios en la microbiota como resultantes de la diversificación alimentaria, pueden afectar la constitución y desarrollo del sistema inmune asociado a las mucosas, por lo que se habla de un periodo crítico en el desarrollo llamado como la “Ventana de oportunidad”, que se encuentra aparentemente entre los 4-6 meses de edad en la cual la introducción de los alimentos conduce naturalmente a su tolerancia(44). Actualmente se acepta que esta ventana de oportunidad sería diferente según el tipo de alimento(45).

Estudios recientes muestran un papel protector de la introducción temprana y variada de alimentos en la prevención de alergia a alimentos aunque no se conozcan completamente los mecanismos de maduración de la inmunidad de las mucosas.

Una revisión sistemática encontró que una diversificación antes de los 4 meses estaba asociada a una mayor comunicación de síntomas alérgicos, pero no de alergia confirmada(46). Otros por el contrario, encontraron de que si se retrasaba la introducción de los alimentos había menos sensibilización a los 2 años, pero a los 6 años de edad, la alergia a alimentos era igual(47). En un estudio poblacional en Australia, HealthNuts, encontraron que la introducción más tardía de huevo incrementaba la alergia al huevo hasta 3,4 veces. Además se observó que la introducción de huevo

cocido o frito tenía un mayor efecto protector que sólo los productos con huevo horneado. La introducción de huevo cocido entre los 4 y 6 meses se asociaba a hasta 5 veces menos probabilidad de desarrollar alergia que aquellos que esperaban hasta los 12 meses (48).

En un estudio derivado de la cohorte PASTURE/EFRAIM (49), con 856 niños de poblaciones rurales de diversos países europeos antes de los 12 meses, encontraron que a más alimentos introducidos antes del primer año de vida, más disminuía el riesgo de asma, alergia a alimentos y sensibilización a alimentos. Incluso se encontró una reducción del 26% de desarrollo de asma por cada grupo de alimento introducido antes de los 12 meses de vida, esta relación era más fuerte en el caso de sibilancias persistentes de inicio tardío. Esta misma relación inversa se encontró con alergia y con sensibilización a alimentos, incluso, se hizo también un grupo que había introducido 6 grupos de alimentos antes de los 6 meses de vida y la relación fue más importante. También se encontró que disminuye la expresión de un factor de transcripción de células reguladoras (Foxp3) a los 6 años de vida a los niños con menor diversificación alimentaria en el primer año de vida.

En el año 2015, con la publicación de los resultados del estudio LEAP(50), que indica que la introducción temprana del cacahuete (desde los 4 meses de edad hasta los 11 meses) realmente tiene un impacto importante en cuanto a la disminución de la prevalencia de alergia a dicho vegetal, se ha replanteado las recomendaciones actuales de inicio de alimentación complementaria. Ahora existe evidencia tipo I que la introducción temprana de cacahuete, supervisada por un especialista en alergología en niños de alto riesgo previene la alergia. Aún faltan estudios para hacer esta recomendación con otros alimentos(51).

4.5 Alérgenos

4.5.1 Definición

Los alérgenos alimentarios son aquellos antígenos (generalmente proteínas o glicoproteínas, y más raramente carbohidratos(4), capaces de inducir una respuesta de anticuerpos de clase IgE . Su peso molecular oscila entre 10 y 70kD. Las proteínas alergénicas suelen tener unas características comunes aunque no se sabe exactamente dónde radica su alergenicidad. Generalmente son solubles en agua y resistentes a altas temperaturas, a pH ácido y a la acción enzimática. El estado de glicosilación y la actividad enzimática condiciona también la alergenicidad de las proteínas.

Los epítomos son las regiones de la proteína alergénica en donde se fija el anticuerpo. Se distinguen dos tipos de epítomos: secuenciales y conformacionales. Los primeros están constituidos por aminoácidos consecutivos de una cadena polipeptídica. Los conformacionales por aminoácidos próximos en la estructura plegada, aunque no necesariamente en la cadena lineal.

Muchos alérgenos han sido identificados, aislados y clonados. La mayoría de ellos pertenecen a un número limitado de familias proteicas: parvalbúminas, tropomiosinas o albúminas en alimentos de origen animal; cupinas, prolaminas, proteínas del sistema de defensa de las plantas o profilinas en vegetales. Las bases de datos www.allergen.org y www.allergome.org ofrecen amplia información actualizada sobre alérgenos.

4.5.2 Alérgenos principales en alergia a alimentos

Las alergias alimentarias surgen de la interacción entre el sistema inmune intestinal y los alérgenos presentes en las comidas que ingerimos diariamente. Los alimentos más alergénicos son la leche, el huevo, los frutos secos, y el pescado, porque los alérgenos presentes en estas comidas son responsables de reacciones de hipersensibilidad inmediata mediada por IgE.

En general, los clásicamente llamado alérgenos alimentarios tipo 1 o completos(52) (ejemplo leche de vaca, clara de huevo, cacahuete o soja), que tienen la capacidad de inducir sensibilización IgE mediada vía la mucosa gastrointestinal son estables al calor y a los ácidos, suelen ser glicoproteínas hidrosolubles de un tamaño de 10 a 70 kDa. Estos alérgenos son menos afectados por el procesamiento de los alimentos. Por el contrario, los alérgenos tipo 2 (incompletos), se dice que no tienen la capacidad de inducir sensibilización IgE mediada por medio del tracto gastrointestinal debido a su susceptibilidad a los procesamientos térmicos y digestión gástrica(52). Estas proteínas desencadenan síntomas sólo tras una sensibilización primaria con alérgenos inhalantes (elicitantes no sensibilizantes). Por ejemplo el caso del polen de Betv1, que reacciona de forma cruzada con las proteínas de la manzana (Mald1) y zanahoria (Dauc1), que crudos producen síntomas orales, pero no si se someten al calor.

4.5.3 Antigenicidad y alergenidad

Las proteínas sufren cambios cuando son sometidas al calor (ver figura 2). La naturaleza y extensión de dichos cambios están determinadas por la temperatura y duración del calentamiento, las características de la proteína, las condiciones fisicoquímicas de su ambiente, etc. Típicamente la pérdida de la estructura terciaria es seguida por un desdoblamiento reversible, luego una pérdida de la estructura secundaria (55-70°C), la escisión de los puentes disulfuro (80-90°C) y la posterior formación de agregados (90-100°C)(53). Las modificaciones químicas como la reacción de Maillard podrían también ocurrir a altas temperaturas (>100°C).

Hay que diferenciar antigenicidad (unión a la IgG) de alergenidad (unión a la IgE) (54). La alergenidad puede disminuir por una destrucción de epítopos conformacionales, así como reacciones químicas entre proteínas, lípidos y carbohidratos en la matriz del alimento, que limiten la accesibilidad de la proteína al sistema inmune(55). Cuando los alérgenos alimentarios se desnaturalizan por calor, puede que su capacidad alérgica quede inalterable, disminuida o incluso aumentada. Este fenómeno puede ser explicado por inactivación, denaturalización, destrucción de estructura de epítopos, formación de nuevos epítopos, o exposición de epítopos antes ocultos (54).

Las inmunoglobulinas E (IgE) producidas por las células B podrían dirigirse contra epítopos secuenciales (determinados por aminoácidos contiguos) o conformacionales, que comprenden residuos de aminoácidos de diferentes regiones del alérgenos, que se unen al doblarse las proteínas. Como los alérgenos alimentarios se suelen someter numerosos procesos digestivos tanto químicos, como proteolíticos antes de su absorción y llevada hacia el tejido linfático asociada a mucosas, se asume que en la alergia alimentaria más frecuente, las respuestas inmunes están dirigidas predominantemente por epítopos secuenciales.

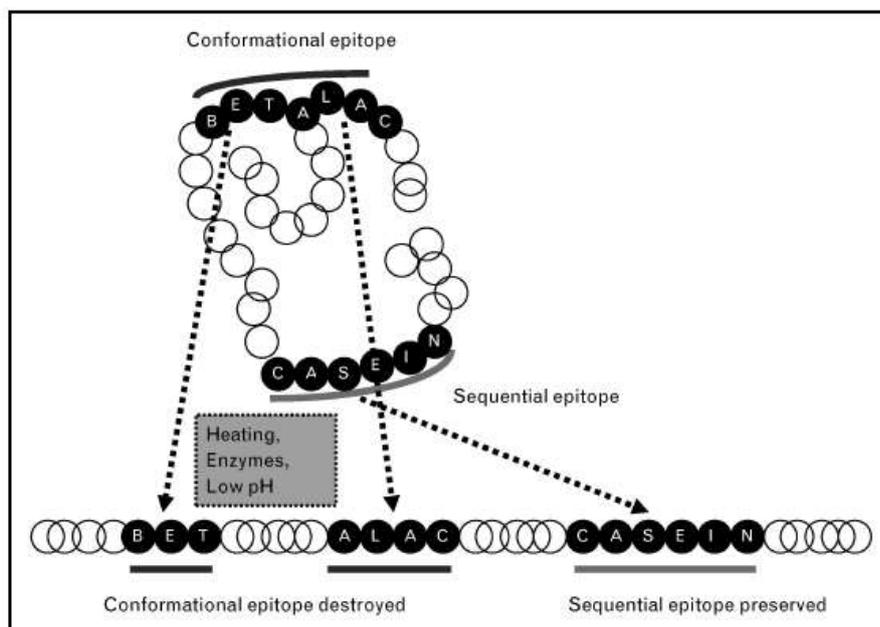


Figura 2: Efecto del procesamiento en la integridad de los epítomos proteicos

Los procesos en la industria alimentaria como altas temperaturas, bajo pH y digestión enzimática podrían alterar (destruir) epítomos conformacionales que dependen del plegamiento de las proteínas, pero generalmente no afectan los epítomos secuenciales. BETALAC (betalactoglobulina) (54)

4.5.4 Efecto matriz en general

La interacción de las proteínas con otras sustancias, tales como el azúcar, grasas u otras proteínas que se encuentran en los alimentos procesados son también importantes, en general resultan en una disminución de la biodisponibilidad de las proteínas con el sistema inmune. Por ejemplo, el calentamiento de la betalactoglobulina resulta en la formación de puentes disulfato y subsecuente unión a otras proteínas, haciendo la betalactoglobulina menos alergénica.

4.5.5 Reacción de Maillard

La reacción de Maillard ocurre entre azúcares reducidos y las proteínas durante el procesamiento térmico de los alimentos y produce proteínas glicadas. Ilchmann (56) demostró que estas proteínas glicadas incrementan la inmunogenicidad mediada por células T CD4+ al alérgeno alimentario, sugiriendo la importancia de la reacción de Maillard.

El calor puede hacer más fuertes ciertas uniones proteínicas o crear nuevos epítomos, tales como cuando nuevos aminoácidos reaccionan con grupos cetónicos o aldehídos en los azúcares (glicación) en procesos industriales de tostar al calor o enzimáticamente. Esta reacción, llamada reacción de Maillard está demostrada al tostar cacahuetes(57)(58) o al cocer mariscos(59). Una proteína del cacahuete llamada Arah2 forma agregados durante esta reacción que son más difíciles de digerir y son más fáciles de reconocer por IgE específicas.

4.6 Problemas nutricionales en alergia a alimentos

Se conoce que la desnutrición en etapas tempranas de la vida conduce a alteraciones cognitivas y del coeficiente intelectual, sobretodo antes de los 2 años de vida y esta etapa coincide con la mayor prevalencia de alergia a alimentos, por lo que es muy importante una adecuada supervisión nutricional en los niños alérgicos. La evitación de ciertos alimentos fundamentales, como la leche y huevo, puede producir disminución de la ingesta de ciertos nutrientes y disminución del ritmo de crecimiento.

En el caso de niños con dermatitis atópicas extensas, se ha encontrado niveles más bajos de albúmina que controles sanos, a pesar de tener una ingesta similar de proteínas en la dieta. Además a mayor número de sensibilizaciones, eosinofilia y niveles de IgE los percentiles de peso y talla para la edad estaban disminuidos (60). En caso de dietas muy restrictivas, sin un adecuado soporte nutricional, puede llevar a desnutrición (61,62), o incluso kwashiorkor(63). En otro estudio, por el contrario, se encontraba hasta un 8.5% de niños con peso bajo para la edad pese a una supervisión nutricional(64), por lo que surge la hipótesis de que la atopia per se, provoca un estado de inflamación alérgico, por la influencia de algunas citosinas, como la IL-6 y el TNF alfa, que se ha demostrado que están asociados a talla baja y poco apetito. Sin embargo otro estudio(65) encontró que basalmente los niños alérgicos se encontraban por debajo del promedio en talla para la edad, pero al iniciar el estudio y ser seguidos estrechamente por un nutricionista, estos percentiles de peso y talla se mantuvieron estables (ver figura 3).

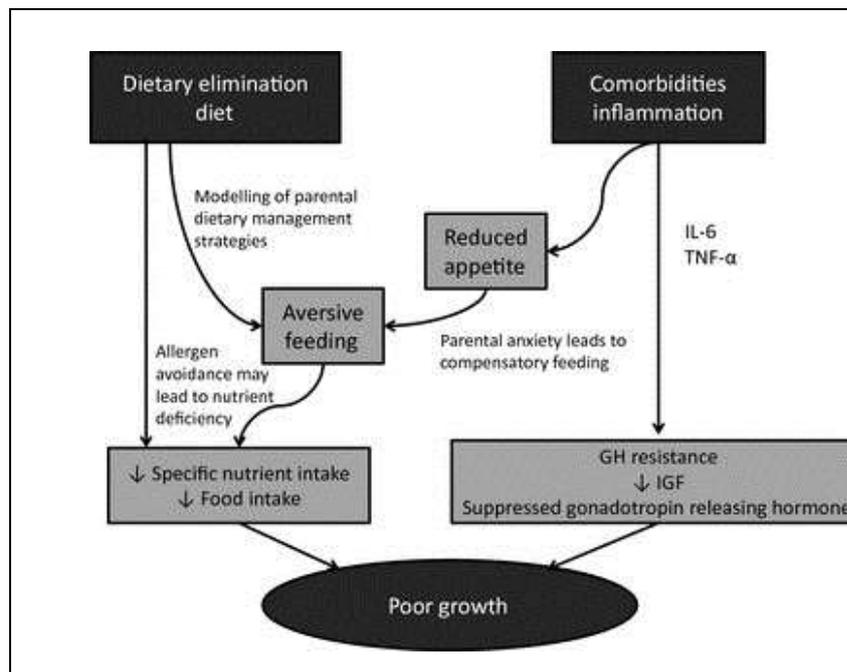


Figura 3: Esquema de hipótesis sobre causas de problemas nutricionales en niños alérgicos (64)

4.7 Calidad de vida en alergia a alimentos

En una revisión sistemática del año 2010(66), se buscaron los artículos relacionados con calidad de vida y alergia a alimentos, en ese momento aún no se había validado internacionalmente alguna escala específica, por lo que los estudios eran muy heterogéneos, pero coincidían en el impacto que tienen las alergias alimentarias en diversos campos, como se comenta a continuación.

Por ejemplo, en el caso de los padres, tienen una percepción de mala salud y refieren que sus hijos tienen un peor desenvolvimiento físico, limitaciones sociales y pobre salud en general que sus compañeros no alérgicos. En otros estudios refieren disminución de las actividades familiares, eventos sociales para evitar estados de ansiedad para los padres y niños también. Incluso actividades de la vida diaria, suelen ser muy estresantes. Muchos padres experimentan ansiedad al separarse de sus hijos y los acompañan a toda actividad social creando un ambiente sobreprotector, sobre todo en aquellos niños que hayan tenido algún episodio de anafilaxia. Algunos niños alérgicos son objeto de burlas y acoso.

Las principales características de alergia que empeoran a calidad de vida de los pacientes y sus padres son: historia de reacción anafiláctica (mayor impacto sobre todo a los padres), la presencia de otras enfermedades atópicas, mayor número de alérgenos a evitar y dietas de evitación más duraderas.

También se ha encontrado una mayor prevalencia de enfermedades psiquiátricas entre los alérgicos a alimentos, como depresión, trastorno bipolar, episodios de pánico y fobia social.

Se ha visto que la ansiedad de los padres y niños cambia a lo largo del tiempo. Hablando de los padres, existe mucha ansiedad tras el diagnóstico, que luego se transforma en miedo. Conforme pasa el tiempo y los padres establecen rutinas para minimizar riesgos, la ansiedad y el miedo disminuyen. Se ha encontrado mayor ansiedad entre los 6 y 11 años de edad, ya que los niños son capaces de comprender su alergia, pero sus habilidades para protegerse ellos mismos aún no están plenamente desarrolladas. Además en esta edad se desarrolla el inicio de la independencia y situaciones menos supervisadas, lo que genera también mayor ansiedad en los padres.

En un estudio multicéntrico realizado en Europa(67), para analizar los costos de la alergia a alimentos, se encontró que el gasto en salud para adultos con alergia a alimentos fue casi el doble que los controles sin alergia. En el estudio EuroPrevall, se validó un cuestionario para evaluar el costo de la alergia alimentaria, el cual se utilizó para analizar los costos de tener un familiar con alergia a alimentos en Suecia(68). Los costos totales fueron significativamente más elevados en los casos, comparados con los controles: diferencia de 8164 €/año, sobre todo atribuibles a costos indirectos, como el tiempo invertido en labores domésticas, como el tiempo en comprar y preparar alimentos especiales, leyendo etiquetas, etc. Esta diferencia fue más importante si había habido algún caso de anafilaxia.

4.8 Tratamiento de la alergia a alimentos

4.8.1 Inmunoterapia

La evitación del alimento no es curativa y en muchos casos la alergia es persistente. Por eso se ha intentado buscar tratamientos para los niños que llegados a una determinada edad no han tenido la evolución esperada.

En los últimos años se ha desarrollado las técnicas de inmunoterapia oral (IT) a proteínas de alimentos, particularmente en niños. El enfoque principal de la investigación se ha dirigido a la inmunoterapia específica de alérgeno, la cual ha abarcado 3 vías o rutas: La inmunoterapia oral (ITO), la inmunoterapia sublingual (ITSL) y la inmunoterapia epicutánea. Los alimentos sobre los que se han realizado el mayor número de ensayos son la leche, huevo y cacahuete. La relación riesgo/beneficio de otras vías, como la subcutánea o rectal, cuando se ha utilizado en el tratamiento de la alergia al

cacahuete, han sido por el momento inaceptables por la elevada incidencia de reacciones adversas sistémicas(69).

Definición y objetivos

El procedimiento consiste en la administración del alimento en cantidades progresivamente crecientes hasta alcanzar la de consumo habitual o al menos la máxima cantidad tolerada. Se ha realizado con la leche, huevo y cacahuete principalmente(70).

El objetivo final de la inmunoterapia es la de establecer la tolerancia a los alérgenos, de una forma curativa y definitiva. Sin embargo, para conseguirlo se pasan por 2 etapas(70): En un primer lugar una desensibilización y luego una tolerancia mantenida y definitiva. La desensibilización implica la capacidad de ingerir un alimento sin reacción mientras se mantenga su ingesta regular, esto quiere decir que el individuo sigue siendo alérgico y si se deja de ingerir el alimento por un periodo, una nueva ingesta conlleva a una reacción alérgica aguda. Por el contrario, la tolerancia mantenida es la habilidad de tolerar un alimento (una vez concluida la desensibilización) tras un periodo de evitación. Esto se debería demostrar con una prueba de provocación al menos 4 semanas de haber dejado de ingerir el alimento.

Mecanismos de la Inmunoterapia

Se sabe, que la IOT produce una modulación de la respuesta inmunológica pasando de la reactividad clínica a la tolerancia, y suponemos que esto conlleva una modificación del reconocimiento epitópico en los alérgenos del huevo.

Basados en estudios previos con inmunoterapia específica de alérgenos, se dice que teóricamente la IT podría ejercer su acción en cualquiera de los escalones de la cadena inflamatoria alérgica, como lo demuestra la inhibición de la respuesta inmediata y tardía a los alérgenos tras una prueba de provocación en el paciente tratado. De forma simplificada, la inmunoterapia puede producir:

- Cambios en los anticuerpos: respuesta humoral
- Cambios en las células efectoras
- Cambios en los linfocitos T y B

Cambios en los anticuerpos: respuesta humoral: En base a estudios de IT frente a pólenes(69), una vez que se inicia la IT, se observa una elevación de la IgE en suero, que se sigue de una disminución a los 3-6 meses de tratamiento. El efecto de la dosis administrada sobre el tipo de respuesta humoral es que a bajas dosis de antígenos favorecen la respuesta IgE, son las dosis altas las que se ligan a un descenso de la misma. El descenso en los niveles de IgE aparece mucho más tarde que la mejoría clínica y tampoco se correlaciona con la magnitud de la mejoría tras el tratamiento. Se ha observado además que las IgG1 e IgG4 se incrementan de 10 a 100 veces sus valores basales(69).

Cambios en las células efectoras: Mediante la inmunoterapia con veneno de abejas se ha demostrado que se inhibe la activación de mastocitos y basófilos, dependiente de la dosis, degranulan algunos mastocitos, pero en cantidades inferiores a las necesarias para producir anafilaxia. Además la IT inhibe la migración celular al foco tras la exposición alérgica, e inhibe los mediadores proinflamatorios(69).

Cambios en los linfocitos T y B: Utilizando el modelo de alergia a himenópteros, se ha demostrado que tras la administración de inmunoterapia, se produce un aumento del interferón gamma junto a la muerte por apoptosis de los linfocitos T CD4+, este cambio en los patrones de citocinas, indican un predominio Th1 sobre el Th2(69) y promueve la circulación de las células Treg de sangre periférica hacia los nódulos linfáticos (71). Se ha demostrado que los pacientes alérgicos a pólenes, durante la inmunoterapia presentan un aumento de la expresión de FoxP3 CD4+ y CD25+, lo que sugiere un fenotipo regulador.

La desensibilización está mediada por cambios en las células efectoras (mastocitos y basófilos), sin cambios profundos en la inmunomodulación ni en los mecanismos patogénicos subyacentes. La adquisición de una tolerancia permanente se cree que refleja la programación de la respuesta inmune hacia el alérgeno a través de las células reguladoras u otras subfamilias de células T, anergia alérgeno-específica o delección clonal.

Reacciones Adversas de la Inmunoterapia

En los diferentes ensayos clínicos de inmunoterapia oral a alimentos, se han encontrado muchos efectos colaterales, que no están limitados sólo a prurito oral, sino también a síntomas respiratorios, síntomas gastrointestinales como dolor abdominal, vómitos y diarreas así como reacciones que han requerido el uso de adrenalina(72–74). Si estas reacciones ocurren, es preferible posponer la desensibilización o suspenderla(74). Las reacciones suelen ser más frecuentes durante los días iniciales y más bajas en los días donde las dosis son más elevadas(74). Existe además un riesgo potencial de desarrollo de enfermedades gastrointestinales eosinófilas tales como la esofagitis eosinofílica(75).

Resultados a largo plazo

Pese a que algunos estudios sugieren que algunos pacientes pueden haber desarrollado tolerancia (al pasar una prueba de provocación oral doble ciego tras interrumpir la inmunoterapia oral), no es posible concluir que haya sido la IT la que provocó la tolerancia (76).

La evidencia actual sugiere que los estudios cortos con relativamente poco tiempo de dosis de mantenimiento solo provocan una desensibilización transitoria, mientras que una verdadera tolerancia, si es que ocurre con IT, requeriría tratamientos más largos o con dosis más altas (76).

El paso riguroso para diferenciar desensibilización (que depende la ingesta regular del alimento) de tolerancia oral permanente que no depende de la ingesta, consiste en eliminar el alimento de la dieta por al menos de 1 a 2 meses y superar el test de provocación.

5. ALERGIA AL HUEVO

5.1. Epidemiología

La alergia al huevo es una reacción adversa con un mecanismo patogénico inmunológico producido por la ingesta o el contacto con el huevo y sus proteínas. Aunque pueden estar implicados otros mecanismos inmunológicos, en el caso de la alergia al huevo el mecanismo más conocido actualmente es el de reacciones adversas mediadas por IgE(69).

5.2. Prevalencia

La hipersensibilidad a huevo de gallina, es una enfermedad bastante extendida, que afecta principalmente a niños aunque también se han reportado algunos casos de inicio adulto (77). Según un reciente metaanálisis(22) , su prevalencia se sitúa entre 0.5 – 2.5% de niños, aunque en un estudio poblacional australiano, el 8-9% de los niños son alérgicos al huevo(20).

En el estudio Alergológica en España, se evidenció que la alergia al huevo constituía el 16% de los pacientes con alergia a alimentos, siendo el cuarto en frecuencia de la población adulta y la primera en niños menores de 5 años. En este grupo etáreo, el huevo llega a representar hasta el 78.9% de la alergia a alimentos, siendo el más importante junto con la leche. En pacientes con dermatitis atópica, la leche y el huevo son los alérgenos más importantes(79,80).

La alergia a las proteínas de huevo comienza mayoritariamente alrededor de los 11 meses de vida (56.5%) coincidiendo con su introducción a la dieta, ocurriendo el 97% de los casos en los 2 primeros años de vida.

El desarrollo de la sensibilización frente a alérgenos del huevo se postula que podría iniciarse in útero (80) o vía exposición a la leche materna(83,84). Modelos en ratones sugieren que la sensibilización puede ocurrir mediante exposición epicutánea (antes que la exposición intestinal) y podría jugar un papel en el desarrollo de dermatitis atópica(83,84). En niños con alergia a la leche, se ha documentado sensibilización al huevo en 30-67% de casos antes de su introducción en la dieta y las pruebas de provocación resultaron positivas en el 36% (85,86).

5.3. Factores de Riesgo de Alergia a huevo

En un estudio australiano (HealthNuts), con 5276 niños, a quienes a los 12m de edad, se les realizó pruebas cutáneas y pruebas de provocación, hallándose 453 alérgicos al huevo. Los factores de riesgo, observados por regresión logística multivariable fueron: Mayor número de hermanos mayores, (OR:0.72), tener un perro en casa (OR:0.83) e historia de alergia en la familia cercana (OR: 1.82). No se encontró asociación con tipo de parto, ni utilización de antibióticos en la infancia (87).

En un estudio randomizado controlado por placebo realizado en Australia(88) en niños con eccema severo, se encontró que la ingesta precoz de huevo (a partir de los 4 meses)no produce mayor alergia al huevo, sino que; por el contrario, se encontró menos alergia al huevo en este grupo que en el control, y también menor sensibilización, aunque no de forma significativa. Esta introducción temprana del huevo, no se manifestó en mejoría del eccema.

5.4. Alérgenos implicados

El alérgeno más importante de la clara de huevo es el OVM (ovomucoide o gald1), seguido por la OVA (ovoalbúmina o gald2, la conalbúmina o transferrina (gald3) y la lisozima (gald4). La sensibilización más frecuente es frente a OVA (87% de los casos), seguida del OVM (72%), la conalbúmina (69%) y lisozima (58%)(89). No obstante el orden de alergenidad es ovomucoide>ovoalbúmina>conalbúmina>lisozima(90).

Tabla3: Principales alérgenos del huevo

Alérgeno	Proteína	Tipo y función biológica	kDa	Termoestabilidad
Gald1	Ovomucoide	Inhibe serin proteasas	28	Alta resistencia
Gald2	Ovoalbúmina	Proteína de reserva	44	Termolábil
Gald3	Conalbúmina	Transporte de hierro	77	Termolábil
Gald4	Lisozima	Glicosil hidrolasa	14	Termolábil
Gald5	alfa livetina	Albúmina	66	Termolábil
Gald6	YGP42	Proteína de reserva	31	Resistente

5.4.1. Clara

La clara está compuesta por agua (88%) y proteínas (12%). Aporta cinco componentes proteínicos principales: Ovoalbúmina (OVA), Ovomucoide (OVM), Ovotransferrina (OTr), Ovomucina (OMc) y Lisozima (Lsz). Estas cinco proteínas conforman casi un 75% del total de proteínas de la clara de huevo. Con las nuevas tecnologías como la espectrometría de masas, se han podido identificar en la clara de huevo más de 78 proteínas; un nuevo estudio utilizando un nuevo instrumento llamado Orbitrap Velos, identificó 158 proteínas en la clara del huevo de gallina con 2 o más péptidos únicos(91).

Ovomucoide (Gal d 1)

El ovomucoide (OVM) es el alérgeno dominante en el huevo, es relativamente estable contra el calor y digestión por proteinasas comparado con otros componentes del huevo. La digestión gástrica y el pH también han demostrado reducir su alergenicidad (54). Es una proteína altamente glicosilada y comprende casi el 11% del total de proteína de la clara de huevo.

Tiene un peso molecular de 28kDa. Está compuesta de 186 aminoácidos, distribuidos en 3 dominios, cada uno aproximadamente de 60 aminoácidos de largo, conteniendo 9 puentes disulfuro intradominios y 5 cadenas laterales de carbohidratos (92). Tiene una actividad inhibidora de tripsina limitada al segundo dominio. La disposición de los 3 dominios es similar a la del inhibidor pancreático de la tripsina. Estudios previos han demostrado que la alergenicidad o la capacidad de unión a la IgE no se ve afectada por el calor ni por proteasas (93). Esto sugiere que la estructura de los epítomos de unión de la IgE al ovomucoide son principalmente lineales, sin embargo existen algunos epítomos conformacionales presentes en todos los dominios. Además, se ha visto que el tercer dominio es el que tiene más sitios de unión a la IgE que los otros 2 dominios. Esto sugiere que el tercer dominio podría ser un objetivo óptimo para la producción de variantes hipoalérgicas de ovomucoide.(92)

Sin embargo, en un estudio reciente(94) se ha demostrado que la electrólisis puede afectar la composición de esta proteína, llevando de esta manera a una forma hipoalérgica, como fue demostrado con la disminución estadísticamente significativa del diámetro de las pruebas cutáneas en 21 pacientes alérgicos.

Ovoalbúmina (Gal d 2)

La ovoalbúmina (OVA) es una glicoproteína fosforilada con función biológica desconocida. Es considerada un alérgeno mayor en pacientes sensibilizados al huevo. Es la proteína más abundante (58%) de la clara de huevo y el segundo en importancia como alérgeno en hipersensibilidad al huevo. Es una glicoproteína hidrosoluble conformada por 385 aminoácidos y tiene un peso molecular de 45kDa.

La función principal de la OVA en el huevo de gallina es actualmente desconocida, no tiene actividad inhibidora de proteasas. Se conoce que tiene propiedades antibacterianas e inmunomoduladoras, pero no son ejercidas por la albúmina intacta, sino una vez haya sufrido de proteólisis. También se considera que podría ser utilizada como una fuente de aminoácidos para el desarrollo del embrión(92).

A diferencia del ovomucoide, la ovoalbúmina es termolábil, y sufre cambios conformacionales hacia formas más estables y posiblemente menos alérgicas. Esto sugiere que los niños quienes tienen IgE específica para OVA podrían tolerar el huevo cocido. Sin embargo se ha observado que bajo efectos del calor, la OVA se glicosila por la reacción de Maillard, aumentando la inmunogenicidad de las células T (54).

Ovotransferrina (Gal d 3)

Las transferrinas son un grupo de proteínas que se unen al hierro presentes los vertebrados. El peso molecular de esta glicoproteína monomérica es aproximadamente de 76.6 kDa. Una molécula de transferrina puede unirse a 2 Fe³⁺ con alta afinidad. Es una de las transferrinas expresadas en el oviducto de la gallina y se encuentra bajo control estrogénico y se diferencia de la transferrina sérica de la gallina por un carbohidrato. In vitro, la ovotransferrina posee actividades antimicrobianas e inmunomoduladoras. En un estudio se demostró que la alergenicidad de la ovotransferrina aumentaba con el desdoblamiento de la estructura, mientras que la ruptura y reorganización de los puentes disulfuro llevan a una disminución de la alergenicidad. Esto sugiere que la ovotransferrina podría ser el responsable de hipersensibilidad causada por consumo de huevo tanto cocido como crudo (92).

Lisozima (Gal d 4)

Es una proteína de 14.3kDa que tiene actividad enzimática y antimicrobiana en gallinas. Se sabe que ejerce su actividad lítica en las paredes celulares de los microbios, por lo que se utiliza en muchos productos farmacéuticos. Por este motivo, aunque sea menos alergénica que el ovomucoide o la ovoalbúmina, su presencia en tantos productos, la hace importante en alergias(92).

5.4.2. Yema

La yema es la parte central y anaranjada del huevo. En la yema se encuentran las principales vitaminas, lípidos y minerales del huevo. Su contenido en agua es de aproximadamente el 50%. La yema contiene tres fracciones proteicas. Las más importantes son las livetinas.

A diferencia de la alergia a la clara, que es más frecuente en niños, sobre todo con dermatitis atópica; la alergia a la yema de huevo suele aparecer en la adultez. Sin embargo, los mecanismos son también IgE mediados, y se producen síntomas como urticaria, vómitos, dolor abdominal y diarrea.

Seroalbúmina de pollo (Gal d 5 ó alfa livetina)

La seroalbúmina de pollo, ha sido el primer alérgeno identificado de la yema del huevo de gallina. Es una glicoproteína con un peso molecular de 69kDa. La función principal de esta proteína es de transportar metales en el torrente sanguíneo. Está presente en las plumas, carne y huevo. Al encontrarse en las plumas, se ha confirmado su rol como alérgeno inhalante en test de provocación bronquial y como alérgeno alimentario en provocaciones orales. La principal ruta de sensibilización principal es a través de las vías respiratorias, como se ha comprobado en el síndrome ave-huevo. Es termolábil a 90 °C, por lo que muchos pacientes toleran huevo yema hervida, pero no cruda(92).

YGP42 (Gal d 6)

La glicoproteína de yema 42 ha sido el segundo alérgeno identificado de la yema. Es una glicoproteína de un peso molecular de 35kDa. Es un fragmento del precursor vitelogenina-1. Su peroxidación no disminuye su capacidad de unión a la IgE, lo que indica que los residuos de carbohidratos no están relacionados con su alergenicidad. Además, ni el calor, ni la reducción tampoco afectaron su alergenicidad, mientras que la digestión ácida sí lo hizo. Se considera que no está involucrada en el síndrome de Ave-huevo (92).

Otras proteínas de la yema

Existen otras proteínas encontradas en la yema de huevo con capacidad de unión a la IgE. Por ejemplo la apovitelina I, VI y la fosvitina se unen eficientemente a la IgE específica frente a yema. Sin embargo la importancia clínica de estos hallazgos no se ha establecido hasta la fecha actual, por lo que su estatus como alérgenos aún es incierto.

5.4.3. Antigenicidad y alergenicidad en alérgenos del huevo

El calor puede reducir la alergenicidad del ovomucoide y la ovoalbúmina por varios mecanismos. En un estudio realizado in vitro(95), compararon la distribución e intensidad de las proteínas del huevo mediante SD-PAGE, luego con un Inmunoblot utilizando sueros de pacientes alérgicos al huevo y finalmente comprobaron los resultados con ELISA inhibición. Separaron las proteínas del huevo en un grupo crudo (lío-filizado) y 4 sometidos al calor: Frito 3 minutos en aceite, hervido 10 minutos, hervido 30 minutos y horneado a 170°C durante 20 min. Encontraron una disminución de la

intensidad de bandas correspondientes a OVM y OVA (34-49kD) que formaban una banda superpuesta al hervir, sobre todo durante 30 minutos. Esto también fue evidente al realizar el inmunoblot con los sueros de los pacientes alérgicos al huevo. Al realizar ELISA inhibición, se pudo ver que disminuía la intensidad de la OVA en todos los sometidos al calor, excepto en el hervido 10 minutos y horneado a 170°C, mientras que la actividad del OVM no se alteró en ningún grupo. Lo que lleva a la conclusión que la actividad alérgica de la OVA se altera al calentarse, pero sobre todo si está más tiempo sometido a altas temperaturas. La antigenicidad del OVM no se alteró con el calentamiento.

En otro estudio(96), se analizó las características y distribución de las proteínas en SDS-PAGE de las proteínas de huevo. Se formaron los siguientes grupos: Muffin (176°C durante 30 minutos), waffle (260°C durante 3 minutos), huevo hervido (90°C durante 10 minutos) y huevos revueltos (90°C durante 4-6 minutos). Confirmaron la más alta estabilidad del OVM comparada con la OVA, ovotransferrina y globulina. La unión de la IgE fue más intensa en las formas crudas de huevo y disminuía su unión conforme aumentaba la temperatura. Esto además se correlacionaba con la clínica, ya que con las provocaciones orales se confirmó esta disminución de la alergenicidad con el calor. Además la presencia de trigo disminuía la alergenicidad comparada con el aumento solo de la temperatura.

Así en un modelo murino de Martos (97) demostró que las formas absorbidas de ovomucoide hervido no eran capaces de activar a los basófilos, sugiriendo que probablemente exista una degradación adicional del ovomucoide hervido durante la digestión.

5.4.4. Efecto Matriz en huevo

El efecto matriz es decir el hecho de hervir el huevo con sustancias con harina de trigo, induce la formación de complejos que disminuyen la antigenicidad de la ovoalbúmina (98,99) .

Kato (99) demostró una marcada disminución en la solubilidad del ovomucoide cuando la clara de huevo era mezclada con harina de trigo y luego calentada a 180°C durante 10 minutos, simulando el procesamiento del pan. El inmunoblot sugería que el ovomucoide se polimerizaba y formaba complejos de alto peso molecular con el gluten, llevando a una agregación e insolubilización del ovomucoide.

Shin (98), comparó clara de huevo calentada a 180°C durante 10 minutos con clara más harina de trigo sometida al mismo horneado. Finalmente aplicaron técnicas de SDS-PAGE, inmunoblot y ELISA con un pool de suero de niños alérgicos al huevo. Encontraron que la banda correspondiente a la ovoalbúmina disminuyó al someterlo al calor, con y sin trigo. Sin embargo la banda correspondiente a OVM se hizo menos intensa sólo cuando estuvo mezclado con el trigo. Asimismo la unión de la IgE disminuyó en su unión al OVM mezclado con trigo y calentado, lo cual no ocurrió sólo al calentarse. En conclusión, el estudio sugiere que la alergenicidad del OVM disminuye al calentarse en presencia de harina de trigo.

5.5. Manifestaciones clínicas de la alergia al huevo

5.5.1. Alergia IgE mediada

Tradicionalmente la yema se suele introducir primero en la dieta del lactante y posteriormente la clara. La yema cocida es generalmente bien tolerada, y es con la primera o primeras tomas de clara cuando se manifiestan los síntomas alérgicos(100).

Las manifestaciones clínicas son similares a las de otros alérgenos alimentarios. Generalmente se producen tras la ingesta del alimento, aunque son frecuentes las reacciones desencadenadas por contactos directos o indirectos a través de las manos u objetos contaminados(4). El periodo de latencia es inferior a los 30 minutos en una alta proporción de las reacciones (83%)(101).

En la alergia al huevo la frecuencia de presentación de síntomas cutáneos es del 80-95%, principalmente en forma de urticaria o angioedema; gastrointestinales en el 10% al 44%, siendo los

vómitos el síntoma dominante; y respiratorios en el 5-21%, afectando sobretodo la vía respiratoria superior. En más de la mitad de las reacciones son exclusivamente cutáneas y leves(54,101). Puede ocurrir anafilaxia por exposición al huevo, en particular en asmáticos. El huevo fue la causa desencadenante de anafilaxia severa en el 7% de los niños en una cohorte alemana(102) y en UK (103).

Otra manifestación clínica de alergia al huevo es el rechazo al alimento, algo que puede retrasar el diagnóstico en varios años, mientras que el paciente no esté expuesto a cantidades suficientes de alérgenos para permitir una clara aparición de los síntomas(100).

La alergia al huevo se encuentra asociada a otros tipos de alergia IgE mediada, como en asma ocupacional. Se han reportado casos de panaderos que se encuentra frecuentemente expuestos a huevo en forma de aerosol(104) y en trabajadores de fábricas de ovoproductos (105,106)

En una cohorte italiana de 163 niños con anafilaxia(107), encontraron como causa el huevo en un 15%. La mayoría de estas reacciones ocurrieron en niños menores de 2 años (64%) y el 40% de los episodios fueron anafilaxias severas.

Síndrome ave-huevo

El síndrome ave-huevo es una hipersensibilidad en la que un ser humano desarrolla alergia a la yema de huevo, específicamente a la seroalbúmina tras una sensibilización a antígenos inhalatorios aviares derivados del suero de las aves, que se encuentran también en la piel y faneras. La mayoría de los pacientes con este síndrome cuentan haber tenido exposición a aves como mascotas o como aves de corral, en donde se sensibilizaron y posteriormente empezaron con alergia a la yema de huevo. Estos pacientes tienen síntomas respiratorios y gastrointestinales, como asma, rinoconjuntivitis, diarrea y vómitos. Este síndrome es más frecuente en adultos, sobretodo en mujeres. Se ha reconocido que el alérgeno responsable es la alfa livetina o seroalbúmina de pollo. Se ha demostrado por pruebas de RAST inhibición (radioalergoabsorbente), que la unión de la IgE a las livetinas de la yema de huevo de gallina, es inhibida por antígenos aviares de aves de otras especies. Esto nos indica que estas proteínas tienen epítomos altamente conservados que hace posible esta reactividad cruzada.

5.5.2. Manifestaciones clínicas de alergia al huevo no IgE-mediada

La alergia al huevo no IgE mediada es mucho menos frecuente. EL huevo puede ser la causa desencadenante de esofagitis eosinofílica, gastroenterocolitis o enterocolitis, aunque la frecuencia en la que el huevo sea la causa desencadenante de estas enfermedades es baja(16,108).

En el caso de la gastroenterocolitis, las manifestaciones suelen iniciarse con vómitos a las 2-3 horas de la ingesta, con afectación grave del estado general, hipotensión y diarrea. La esofagitis se caracteriza por vómitos, dolor abdominal, disfagia, impactación. En niños más pequeños, se puede manifestar como pérdida de apetito, rechazo del alimento, baja de peso, mientras que en niños mayores puede haber disconfort abdominal, impactación de alimentos, náuseas y dolor retroesternal (109).

5.6 Diagnóstico

5.6.1 Historia clínica

Como la alergia a alimentos, la historia clínica es fundamental que incluya además los siguientes detalles (100):

Respecto al huevo:

- Edad de introducción del huevo completo o yema y clara por separado y edad de la primera reacción, especificando si fue con el huevo completo o no y si correspondía a la primera ingesta o ya venía consumiendo el huevo por algún tiempo.
- Tolerancia a las diferentes presentaciones del huevo: cocido, crudo en tortilla, etc
- Si estos síntomas aparecen también sólo con la ingesta o también con el contacto directo o indirecto.

Respecto a los síntomas

- Descripción precisa de los síntomas
- Tiempo de latencia, si es menor de 1 hora
- Tratamiento requerido para su resolución o si persistieron los síntomas.
- Número de episodios y su descripción

Respecto al paciente

- Sensibilizaciones y alergias a otros alimentos
- Familiares con atopia
- Historia de sibilancias y dermatitis atópica

5.6.2 Detección de IgE específica

Pruebas cutáneas

Se deben evaluar los alérgenos del huevo: clara, yema, OVA, OVM y podría ser complementada por otros alérgenos minoritarios, tales como la lizosima o livetinas en caso de sospecha de síndrome ave-huevo. Los test cutáneos tienen una sensibilidad alta pero variable, entre un 73-100%, y una menor especificidad, entre 46%-71%. Su valor predictivo negativo es muy alto, por lo que unas pruebas negativas utilizando extractos adecuados podrían excluir alergia.(70,100,110). Los resultados respecto a la especificidad y VPP no son trasladables entre distintas edades o distintos grupos de población(69).

IgE específicas en suero

La determinación de IgE específica presenta para su interpretación los mismos problemas que las pruebas cutáneas, su VPP varía según la población, prevalencia de enfermedad y el tipo de patología (dermatitis atópica, urticaria, anafilaxia, etc)(111)

En un reciente metanálisis y revisión sistemática sobre las pruebas diagnósticas en alergia a alimentos, concluyeron que las pruebas son sensibles pero no muy específicas(112). Analizaron 312 estudios e hicieron un análisis de los resultados de 2831 pacientes y una sensibilidad general de 93% (IC 82-98%) y especificidad 49% (40-58%) (ver figura 4)

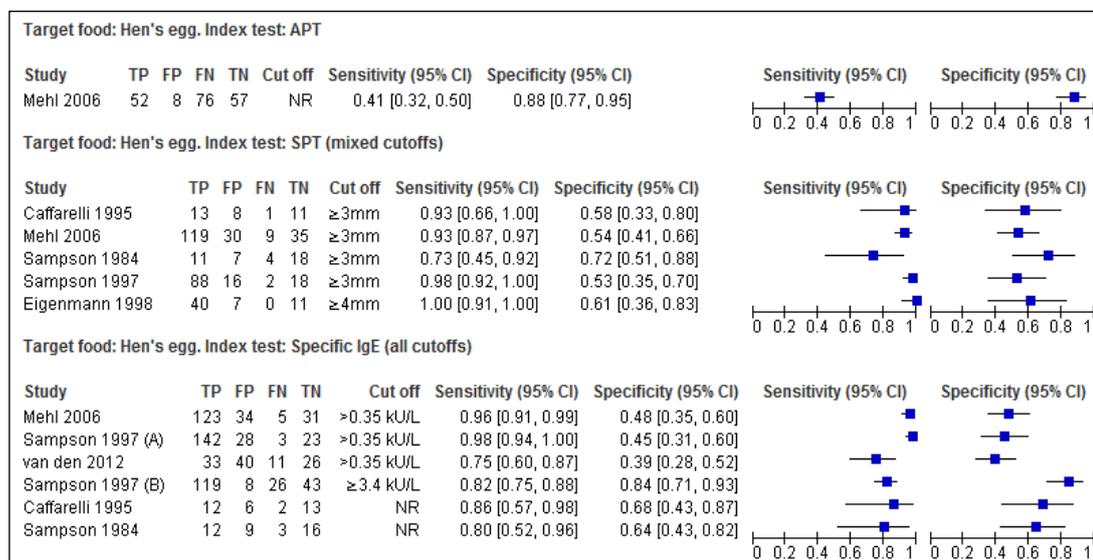


Figura 4: Sensibilidad y especificidad para Parches epicutáneos (APT), pruebas cutáneas (SPT) y niveles de IgE específica en el diagnóstico de alergia al huevo.(112)

TP=Verdadero positivo, FP= falso positivo, FN=falso negativo, FP=falso positivo. El estudio de Sampson mostró 2 puntos de corte A y B para la acuosidad de los niveles de IgE específica.

5.6.3 Pruebas de exposición controlada con huevo

La prueba de exposición controlada es el procedimiento definitivo para confirmar o descartar, en la mayoría de los casos, el diagnóstico de alergia clínica a este alimento. (69) Sólo en caso de anafilaxia, o de una historia clínica muy sugestiva reciente, un resultado positivo de pruebas cutáneas y/o determinación de IgE específica es diagnóstico(27). En todos los demás casos debe hacerse una prueba de exposición oral o provocación oral según la metodología publicada (100,113). En el caso de pacientes sensibilizados al huevo, y que no hayan introducido previamente este alimento en la dieta, debe confirmarse su tolerancia mediante una prueba de exposición controlada(86).

En la práctica habitual, se siguen las recomendaciones de la SEIAC(100), se comienza con clara cocida (10 minutos en ebullición) y si es tolerada se realiza después con clara cruda pasteurizada. Las pautas son variables, pero se debe tratar de llegar a dar la cantidad de consumo habitual según la edad del niño y se harán bajo supervisión médica con personal entrenado en el tratamiento de anafilaxia. Estas pruebas están contraindicadas en pacientes con antecedentes de anafilaxia reciente y cuando tampoco cuando las probabilidades de un resultado positivo sean muy elevadas.

Según un estudio español(101), se podría establecer que en niños menores de 2 años, niveles de IgE clara ≥ 0.35 kU/L contraindican la prueba de provocación oral con clara cruda. A partir de los 2-3 años podría realizarse si los niveles son $\leq 1.3 - 1.5$ KU/L. En un estudio se demostró que una reducción de los niveles de IgE específica en los últimos 12 meses se asocia a un aumento en la probabilidad de tolerancia(114). Así: una disminución del 50% se asocia a 0.52 de probabilidad de tolerancia, reducción del 75% con 0.65, 90% con 0.78 y reducción del 95% con un 0.95. En pacientes con alergia persistente al huevo, en un estudio el cociente IgE/IgG4 frente a la OVA demostró ser más útil identificando niños con alérgicos, con respecto a las determinaciones de IgE específica(115). En los últimos años se han realizado numerosos estudios (116–124), que proponen la realización de una prueba de provocación con huevo horneado (180°C durante 30 minutos). Si el paciente toleraba esta prueba, se le indicaba que continúe con la ingesta de productos con huevo horneado de la misma manera. En general, la prueba de provocación con huevo horneado fue más segura que la que utiliza clara cruda, pero también hubo casos de anafilaxia (121–123). A los 6 meses al provocarles con un huevo entero, un menor porcentaje de pacientes reaccionó. . También llegaron a la conclusión de que la tolerancia al huevo cocido no predice la severidad de las reacciones tras la ingesta de huevos revueltos o en tortilla francesa. Esto favorece la hipótesis de que la ingesta de huevo horneado en niños alérgicos altera el curso natural de la alergia.

A continuación se resume a manera de algoritmo de diagnóstico de alergia al huevo (figuras 5 y 6).

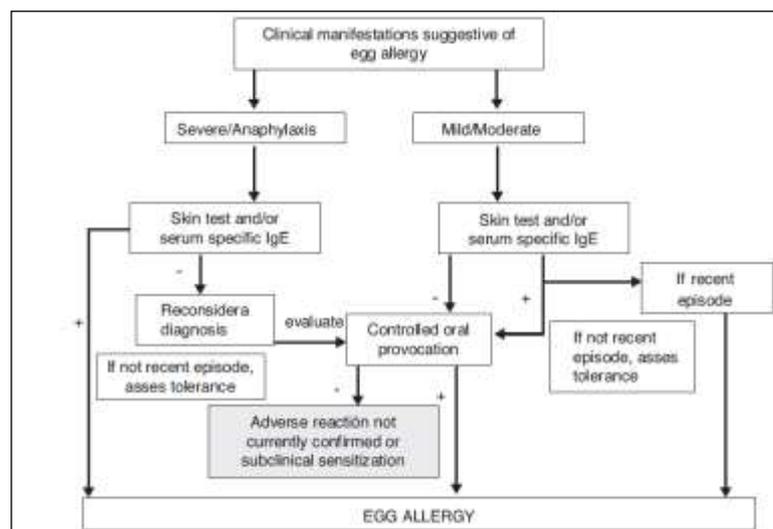


Figura 5: Algoritmo de pruebas diagnósticas en el diagnóstico inicial (100)

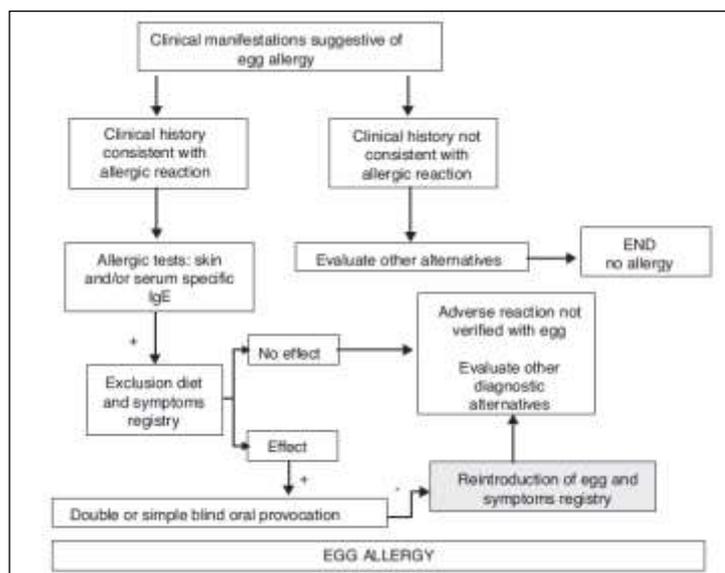


Figura 6: Algoritmo de pruebas diagnósticas en el seguimiento (100)

5.6.4 Pruebas diagnósticas futuras

Unión de epítomos

Así como la unión a diferentes proteínas de un mismo alimento puede acarrear diferentes implicancias clínicas, la localización (epítomos) así como la fuerza de afinidad de los anticuerpos IgE en una proteína son importantes. Tener IgE frente a un mayor número de epítomos o frente a epítomos que no son fácilmente destruidos por desnaturalización o digestión (epítomos secuenciales o lineales) podrían estar asociados a alergia clínica. El rol de la unión de la IgE a epítomos secuenciales se ha reportado en pacientes con alergia a leche persistente en varios estudios(125,126). En el caso de la alergia al huevo, un estudio español analizó los sueros de 50 pacientes con alergia al huevo con la técnica de microarrays y encontraron que 60% de los pacientes alérgicos reconocían al menos 1 epítomo secuencial frente al ovomucoide y el 20% reconocía más de 10 péptidos, lo que indica la acuciosidad de esta nueva técnica para el diagnóstico de alergia. En otro estudio previo(93), también en pacientes con alergia al huevo, se demostró que los pacientes con alergia persistente tenían más altas concentraciones de IgE frente a epítomos secuenciales del ovomucoide y ovalbúmina.

Respuestas de células T

Recientemente se han evaluado las respuestas de las células T a los alérgenos alimentarios y se ha reportado que este análisis podría ser útil en distinguir una sensibilización de una verdadera reactividad clínica. En un ensayo clínico australiano(127), examinaron los sueros de niños de 4 meses de edad con eccema, sin ingesta previa de huevo y encontraron que había un aumento de las respuestas Th2 en células mononucleares llevadas a cultivo e incubadas con alérgenos de huevo (demostrados por aumento en la producción de IL5 e IL13) en aquellos niños que posteriormente desarrollaron alergia al huevo demostrada por provocación a los 12 meses.

Activación de basófilos

Varios estudios han reportado que ciertos marcadores de activación de basófilos, especialmente aquellos que aparecen en la superficie celular tales como el CD63 y el CD203c, usando citometría de flujo, podrían ser útiles en el diagnóstico de alergia a alimentos.

En una cohorte japonesa en donde evaluaron el desempeño de la activación de basófilos para predecir los resultados de pruebas de provocación frente a leche y huevo. En un grupo de 71 niños con alergia a leche y/o huevo previamente diagnosticada por provocación, encontraron que evaluando la expresión del CD203c inducida por alimento en los basófilos sería útil para determinar si un niño va a superar su alergia y en decidir a quien realizar o no realizar una prueba de provocación. Este descubrimiento podría ayudar a buscar potenciales test diagnósticos de alergia y marcadores asimismo de severidad(128).

5.7 Evolución natural de la alergia al huevo

Existen diversos estudios de seguimiento a niños con alergia al huevo, con porcentajes muy dispares de resolución espontánea que oscilan entre un 31 y 70%(129,130). La edad de tolerancia espontánea de los niños alérgicos al huevo es muy variable según los diferentes estudios. Por ejemplo en un estudio español(131) encontraron una media de tolerancia espontánea a huevo crudo a los 35 meses de edad. Las probabilidades acumuladas de tolerancia, fueron del 16% a los 12 meses, 28% a los 24 meses, 52% a los 36 meses, 57% a los 48 meses y 66% a los 60 meses. Esta cifras contrastan con otro estudio que sólo el 4% de los niños supera su alergia de forma espontánea a los 4 años de edad, un 48% a los 12 y un 68% a los 16 (132). Sin embargo en un reciente estudio realizado en una cohorte poblacional en Australia (117), de 471 con alergia a huevo demostrada con TPO con huevo crudo, el 47% ya la había superado a la edad de 2 años. En otro estudio, casi el 50% había resuelto su alergia a los 6 años de edad(129). La persistencia de alergia al huevo a los 9 años de edad puede considerarse como un factor de mal pronóstico(69).

En un estudio australiano(133), se siguió una cohorte de 620 niños seguidos desde el nacimiento hasta los 18 años de edad a quienes se les realizó test cutáneos a los 6 meses de edad, al año, a los 2, 12 y 18 años, frente a alérgenos alimentarios e inhalantes. Se encontró que la sensibilización a alimentos era más alta en la infancia (26.3% de los niños a los 12 meses) y declinó a los 18 años (8.4%). Casi todos los sensibilizados a alimentos, al llegar a los 18 años tenía al menos una sensibilización a inhalantes. La historia natural de la sensibilización al huevo se veía afectada por el sexo y eccema. Los niños varones con eccema durante los primeros 6 meses de vida eran más propensos a sensibilizarse al huevo, comparado con las niñas con eccema. Los niños y niñas sin eccema, tenían la misma prevalencia de sensibilización. Nuevas sensibilizaciones a alimentos en niños mayores de 2 años se observó en un 24 pacientes (6.7 % de los participantes) de estos se encontró monosensibilización en 9 (37.5%), 7 (29.2%) y 2 (8.3%) frente a cacahuete, clara de huevo y leche de vaca respectivamente.

Varios factores clínicos y de laboratorio están asociados al desarrollo de tolerancia o persistencia de alergia a determinado alimento alergénico que orientan acerca del momento evolutivo de la enfermedad en el que se encuentra el paciente (131,134,135). Así por ejemplo, los niveles de IgE específico encontrados como punto de corte para predecir alergia persistente al huevo van de >1.7 UI/L, >3.5 UI/L, 7 UI/L (117,131), llegando incluso a 50 UI/L (132) dependiendo del tipo de población estudiada.

Järvinen (93) demostró que los pacientes con alergia al huevo de mayor duración, tenían mayores proporciones de anticuerpos IgE dirigidos frente a epítomos lineales del ovomucoide y la ovoalbúmina que frente a epítomos conformacionales, comparados con niños que adquirieron tolerancia clínica más precozmente. Esto podría reflejar diferencias en cuanto a digestión, absorción y/o procesamiento de antígenos.

5.8 Tratamiento de la alergia al huevo

5.8.1 Evitación

Una vez establecido el diagnóstico de alergia al huevo, el único tratamiento disponible eficaz al 100% en la actualidad es evitar estrictamente su ingesta en todas sus formas y derivados. En el caso de niños con tolerancia al huevo cocido, solo se prohíbe el huevo crudo (mayonesa, tortilla, helados)(100)

La dieta de evitación de este alimento resulta especialmente problemática en los niños, dada la importancia nutricional del mismo, y su amplia utilización en la preparación de múltiples alimentos, tanto a nivel familiar como en restauración. Los problemas se intensifican a medida que la edad del niño alérgico avanza, debido a la escolarización y la progresiva socialización, que con frecuencia incluye comidas fuera del domicilio familiar (comedor escolar, cumpleaños, excursiones), sin olvidar que la coexistencia de alergia a varios alimentos puede repercutir en los aspectos nutricionales de los niños y en su calidad de vida(136)

La mínima dosis observada desencadenante de una reacción podría ser tan baja como 2 mcgr en uno cada cuatro pacientes con alergia al huevo y 3.4mg en uno cada 100 casos(137).

Al existir una relación directa entre cantidad de huevo consumido por la madre y las concentraciones de ovoalbúmina en la leche materna(81), en aquellos niños sensibilizados a huevo y estén amamantando, se debe considerar la exclusión del huevo en la dieta de la madre si se observan síntomas en el niño tras la lactancia (100).

El paciente, la familia y el ambiente escolar deben estar adecuadamente educados y entrenados en la evitación del huevo y en el manejo de posibles reacciones. La vigilancia debe ser máxima y un adecuado etiquetado según la ley.

Las exigencias sobre la declaración de sustancias susceptibles de causar alergias e intolerancias, actualmente recogidas en el Real Decreto 1334/1999, cuya última modificación la constituye el Real Decreto 1245/2008, sustituidas a partir del 13 de diciembre de 2014 por el Reglamento (UE) nº 1169/2011, sobre la información alimentaria facilitada al consumidor(138), son las siguientes: Todos los alimentos envasados deben incluir la lista de ingredientes, y si alguno pertenece a la lista de ingredientes de notificación obligatoria (moluscos, crustáceos, **huevo**, pescado, cacahuets, soja, leche, frutos secos, apio, mostaza, sésamo, sulfitos, altramuces), ésta deberá destacarse mediante una composición tipográfica distinta.

A partir del 13 de diciembre de 2014 deberá informarse en relación con la presencia de las sustancias enumeradas en la lista también en los alimentos que se presentan sin envasar, o se envasan en el punto de venta para su venta inmediata o a petición del comprador. Los alimentos sin envasar (por ejemplo, en un restaurante o cafetería) también deben informar de la presencia de este tipo de sustancias, pero el reglamento permite a los Estados miembro decidir cómo. En el caso de España, se ha permitido que esta información pueda ofrecerse de forma verbal.

En Australia, más del 65% de los productos envasados, contienen etiquetado con alguno de los ingredientes potencialmente alergénicos, variando las frases, como “puede contener...”, lo cual lleva nuevamente a una gran dificultad para las familias de niños alérgicos(139). Por este motivo, un grupo de investigadores hizo una revisión sistemática(140) de algunos estudios de alergia a alimentos publicados y sin publicar en diferentes países, buscando la mínima dosis desencadenante de reacción en test de provocación oral, de los diversos alimentos y luego aplicando un modelo estadístico, dieron unas concentraciones mínimas, a partir de las cuales darían reacción. Existen numerosas variables que pueden afectar estas cifras, como la localización geográfica, la edad y el procesamiento del alimento, por este motivo, en el caso del huevo, se especificó:

Huevo cocido 4.9 mg de proteína (2.1-11.5)

Huevo crudo 3.4 mg de proteína (0.6-20.1)

Clara cruda 0.2 mg de proteína (0.05-0.6)

Estas cifras dan una idea de los alimentos envasados que contengan menos cantidad de proteínas, son seguros para el 99% de las personas alérgicas a dicho alimento. El uso de estas cifras para el etiquetado ampliaría mucho la variedad de alimentos para consumir a los niños alérgicos.

Existe reactividad cruzada entre las proteínas del huevo de gallina y el de otras aves, por lo que se sugiere evitar el consumo de huevo de otras aves. No suele haber reacción cruzada con la carne del pollo o la gallina, por lo que normalmente no se prohíbe evitar estas carnes(100). Sin embargo si

se ha demostrado reacción cruzada entre las plumas y las proteínas del huevo, por lo que los pacientes alérgicos al huevo, especialmente a la yema, deben evitar contacto con aves(141).

Existen muchas reacciones accidentales con la dieta de evitación, así en un estudio(142) en 92 niños alérgicos al huevo, con una mediana de edad de 52 meses, de los cuales 19 (21%) habían tenido alguna reacción accidental en los últimos 12 meses. El 42 % de las reacciones fueron leves, el 50% moderadas y el 8% graves. La mitad de las reacciones tuvo lugar en la casa del paciente y el 83% se produjeron en circunstancias habituales de la vida cotidiana. Los factores de riesgo para sufrir reacciones moderadas a graves en esa población fueron valores elevados de IgE frente a clara de huevo.

5.8.2 Inmunoterapia con huevo

Generalidades e historia

La inmunoterapia oral se describió por primera vez en 1908, con un paciente con anafilaxia por huevo, pero no fue hasta un siglo después que Patriarca lo utilizó con el objetivo de tratar la alergia a alimentos (69).

Se ha estudiado en las últimas 3 décadas, pero sobretodo en los 10 últimos años se han publicado numerosos estudios y diversos protocolos. No se han realizado protocolos de inmunoterapia frente al huevo con otras vías de administración como subcutánea, epicutánea o sublingual(143).

Modelos Murinos

En un modelo murino Leonar et al(144,145) evaluaron las respuestas de ratones sensibilizados a ovoalbumina y ovomucoide en quienes se les pautó un protocolo de OIT con huevo crudo comparado con otro grupo a quienes se les desensibilizó con huevo cocido (hervido por 30 min) con la misma dosis creciente y a la misma velocidad. Se confirmó que la OIT reduce la anafilaxia por desensibilización, es decir se ha confirmado una protección temporal en este modelo. Se evidenció un incremento de varias citosinas supresoras (IL13, LI10, IFNgamma) en los ratones tratados con la OIT. Curiosamente, estos niveles se mantuvieron reducidos tras 2 semanas de suspendida la OIT comparado con los no tratados a pesar de un regreso a la susceptibilidad clínica observada. Además, concluyeron que la inmunoterapia confiere protección clínica frente a la anafilaxia inducida por alimentos a través de nuevos mecanismos localizados en la mucosa intestinal el cual se asocia a cambios significativos en la expresión génica del intestino delgado y por otra parte muestra cómo los antígenos de huevo calentados disminuyen la alergenidad y aumentan la seguridad conservando la habilidad para inducir una desensibilización eficaz.

De forma parecida, en otro estudio en ratas y posteriormente en humanos, multicéntrico (146), demostraron que mediante un procesamiento de hidrólisis de las proteínas del huevo por aumento de temperatura y de forma enzimática(147), se disminuyó su alergenidad, manteniendo su inmunogenicidad. Esta afirmación se basa en los siguientes marcadores de alergenidad: prueba de provocación positiva, aumento de IgE específicas y marcadores de inmunogenicidad: disminución de la respuesta Th2 (menor proliferación y menor producción de citosinas), aumento de la activación de las células TcD4 efectoras y aumento de las células reguladoras (ICOS+CD4, CD25 foxp3).

Análisis de los diversos Protocolos de inmunoterapia frente al huevo publicados en los últimos años:

Debido a la gran cantidad de estudios y protocolos en alergia al huevo, es muy difícil de compararlos, tanto a nivel de eficacia y como de seguridad, debido sobre todo a su gran diversidad. Desde los criterios de inclusión (con o sin anafilaxia previa, edad, con o sin prueba de provocación), el tipo extracto utilizado (huevo crudo, clara, completo, pasteurizado líquido, liofilizado, etc), tipo de protocolo en sí mismo, etcétera. Por este motivo a continuación se comenta brevemente las

características principales los protocolos publicados hasta el momento en general, primero se evalúa su calidad metodológica siguiendo la guía CONSORT(148)(ver tabla 4) y los detalles se visualizan en las tablas 5 a la 10).

Tipos de protocolos y Fases de los Protocolos de desensibilización:

Los protocolos actuales en general tienen varias fases(70) (ver figura 7)

- Fase de inducción: O fase de incrementos, que se realiza bajo supervisión médica, usualmente tiene una fase inicial, con incremento de dosis rápidas, usualmente en un día y luego una segunda fase, en la cual se incrementan las dosis semanalmente, hasta llegar a la dosis objetivo.
- Fase de mantenimiento: Se refiere a la ingesta en domicilio del alimento regularmente y se dice que el paciente se encuentra desensibilizado.

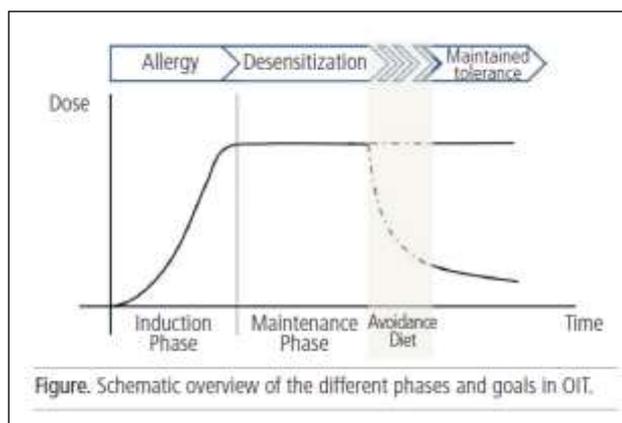


Figura 7: Esquema de las diferentes fases y objetivos de la IT(70)

Una forma de clasificación arbitraria, utilizada por Ibáñez(70), separa los estudios de acuerdo a la duración de la fase de inducción y mantenimiento, (hasta llegar al objetivo de una ración) en rápidos (menos de 3 meses), intermedios (3-6meses) y lentos (+ de 6 meses).

La mayoría de los estudios publicados han sido lentos, programados para desarrollarse a lo largo de varias semanas o varios meses. La eficacia de los protocolos rápidos(72,149–152) no ha sido inferior a la de los protocolos lentos. Es decir, el éxito de la inmunoterapia no depende de la duración de la fase del incremento de dosis.

Características poblacionales basales

La mayoría de los estudios publicados con IT con huevo se han llevado a cabo en niños mayores de 4-5 años o en adolescentes, quizás porque a partir de esa edad la probabilidad de alergia persistente es mayor, así como el riesgo de contactos accidentales con el alimento(69) Los estudios más antiguos tenían pocos pacientes y no eran controlados, sin embargo los nuevos sí tienen mayor número de participantes y poseen en su mayoría grupo control. La cantidad de pacientes estudiados oscila entre 6-10 en los más antiguos, hasta 50 en el grupo activo y de 5-10 a 30 como grupo control. Si sumamos la cantidad de niños participantes en grupos activos en los 15 estudios publicados, son 314 y 174 como controles. Estos niños proceden de distintos países del mundo: Estados Unidos, España, Italia, Japón.

En el 2014 se publicó un metanálisis(143) que analizó las publicaciones sobre inmunoterapia oral frente al huevo (última búsqueda el 5 de diciembre del 2013). Encontraron 83 estudios, de los cuales, finalmente seleccionaron 4 ensayos clínicos randomizados (152–155), estudiaron 165 individuos (OIT 100 y 67 controles), todos niños de 4 a 15 años de edad.

Criterios de Selección

Sólo en 3 estudios(153,156,157)no utilizaron una prueba de provocación oral para la inclusión de pacientes en su estudio.

Algunos estudios excluyeron los pacientes con anafilaxia severa (72,149,150,153,157), por el contrario Itoh(158) seleccionó 6 pacientes y todos con antecedentes de anafilaxia previa. Otros excluyeron asma no controlada(151,153,154,157,159,160).Sólo 2 estudios excluyeron a aquellos pacientes con dermatitis atópica severa(156,160).

Controles y Placebo

La mayoría de estudios fueron controlados, en los que el grupo control eran pacientes que seguían una dieta de evitación estricta. Solo 3 estudios administraron placebo (153,155,161). Solo 5 estudios(149,153–156) fueron aleatorizados.

Huevo y productos derivados del huevo utilizados en los diferentes protocolos

Los extractos de huevo utilizados en los diferentes protocolos de inmunoterapia son productos naturales(155,162) o modificados. Incluso, hay protocolos en los que no se utiliza el mismo tipo de producto en las diferentes fases del protocolo(158,159). La mayoría de protocolos utilizan la clara cruda liofilizada o en polvo (149,151,153,156,163–166) o clara cruda líquida pasteurizada (150,160,167,168)en la fase de inducción. Para la fase de mantenimiento, una vez alcanzado el objetivo previamente establecido, se ha utilizado en la mayoría de los casos el mismo producto que en la inducción, aunque varios protocolos utilizan ya el huevo normalmente cocinado (tortilla, revuelto) por ser seguro y evitar mayores restricciones dietéticas.

En los productos modificados, la alergenicidad del producto puede ser menor o igual a la del huevo natural. Esto depende del proceso por el cual son modificados. En la mayoría de los casos son procedimientos térmicos en lo que se alcanzan ciertas temperaturas por determinado tiempo, con fines de evitar contaminación bacterial y facilitar el almacenamiento. Ya he descrito la influencia de la temperatura en la alergenicidad e inmunogenicidad de las fracciones proteicas del huevo (ver antes), tanto in vitro como in vivo.

Ninguna de estas diferentes fuentes ha demostrado ser más eficaz que otra en general (tasa de éxito entre un 55-100%), pero hay que destacar que el protocolo con peores resultados fue precisamente uno de los que utilizaron huevo crudo, pero en pacientes con antecedentes de anafilaxia(154).

Dosis administradas en fases de incremento de dosis y de mantenimiento

En la mayoría de protocolos se inicia por dosis inferiores a 1 mg de proteína de clara de huevo, dosis recomendada por la EAACI para el inicio de la prueba de provocación con huevo(169). Las fases de incremento de dosis son muy variables, y generalmente se obtiene multiplicando la dosis previa por 1.2 o 2 cada varios días o cada semana. En los protocolos rápidos o en las fases iniciales o rápidas de las pautas lentas, este incremento se hace a intervalos de 30 a 120 minutos.

Las dosis finales a administrarse en la fase de mantenimiento también suelen ser muy variables. La mayoría de estudios buscan lograr la cantidad equivalente a medio huevo a un huevo entero crudo, a una clara entera cruda, aunque en algunos los rápidos se buscó la tolerancia a una moderada cantidad de clara cruda y un huevo cocinado. El estudio de Buchanan(72), es el más diferente, ya que su objetivo era simplemente llegar a una dosis protectora (baja) por mucho tiempo (24meses) para probar su efecto terapéutico con una dosis de exposición controlada con clara en polvo a dosis alta, obteniendo una eficacia de sólo un 50%.

La dosis máxima de incremento de dosis y criterio que se tiene para considerar a un paciente desensibilizado influye en los resultados de las diferentes pautas de inmunoterapia.

La dosis de mantenimiento tras alcanzar la dosis máxima de la fase de inducción, en algunos estudios suelen ser esa misma dosis administrada regularmente, pero varios introducen el huevo cocinado(152,158,167).

Eficacia del tratamiento

En el único metanálisis publicado con IT con huevo (143), se destaca que el 39% de los pacientes activos fueron capaces de tolerar una ración completa de huevo, comparando con un 11.9% de los controles (RR 3.39, 95%CI 1.74 a 6.62). El 45% de los participantes podían ingerir una ración parcial de huevo (1g-7.5g RR 5.73,95%CI3.13-10.5)

Considerando que el objetivo de la inmunoterapia es modificar el curso clínico de la enfermedad para lograr la tolerancia permanente al alimento es importante conocer en qué porcentaje de pacientes se alcanza est estado. Sólo se ha evaluado la tolerancia clínica en 6 estudios (149,153,156,157,161,166), con resultados de eficacia desalentadores entre un 28% y 30%. El único estudio con mejores resultados (157) tuvo una eficacia del 100%, pero sólo estudiaron 6 pacientes tras un periodo menor(1 mes) de dieta de evitación. Por todo esto, la IT induce la desensibilización al huevo en un elevado número de pacientes tratados y en menor medida induce una tolerancia persistente, al menos en las condiciones estudiadas hasta el momento.

Reacciones Adversas

Las reacciones adversas durante la fase de inducción de la inmunoterapia oral a huevo han sido frecuentes, ningún protocolo publicado ha estado exento de riesgos, aunque la frecuencia y gravedad han sido variables desde un 25%(153) a un 100%(156,158,162,166) de pacientes con reacciones. Los síntomas más frecuentes han sido prurito oral, dolor abdominal y urticaria. Con menos frecuencia se han descrito reacciones anafilácticas, aunque hay estudios que refieren la necesidad de adrenalina hasta en un 26% de los pacientes(160). Hasta el momento no se han comunicado reacciones fatales.

El número o gravedad de las reacciones no depende aparentemente de la fuente alergénica utilizada durante la fase de inducción y ningún producto protege de la aparición de reacciones moderadas. Se han reportado reacciones con todas las pautas utilizadas: rápidas, lentas o combinadas, si bien los incrementos de dosis de menor cuantía parecen tener menos riesgo(155). La seguridad tampoco depende de la dosis máxima propuesta para la fase de inducción. La mayoría de autores no aportan información sobre la tolerancia en la fase de mantenimiento, se han referido reacciones graves en este periodo con huevo crudo(151,153,160), siendo más frecuentes en los primeros meses de seguimiento.

En el único metanálisis en IT huevo (143) el 69% de los pacientes presentaron reacciones adversas moderadas- severas durante la OIT (RR 5.73, 95% CI 3.11-11.83) y un 5% de los participantes activos necesitaron utilizar adrenalina

Con frecuencia las reacciones son imprevisibles, pudiendo desencadenarse con la misma dosis y forma de preparación del huevo que hasta entonces había sido bien tolerada por el paciente, por eso es importante también tomar en cuenta otros factores externos que pueden encubrir o alterar las reacciones durante la desensibilización a alimentos, como el ejercicio, la menstruación e infecciones virales, las cuales obligan a ajustes de dosis (23–25).

Calidad de vida tras la OIT

En un estudio realizado en España(172), se aplicó el cuestionario de calidad de vida (FQLQ) para alergia a alimentos en 22 niños de 8 a 12 años de edad (y sus respectivos padres) con alergia al huevo, al inicio de la inmunoterapia y al finalizarla. Estos cuestionarios evalúan 4 dominios en los

niños: restricción dietética, evitación del alérgeno, riesgo de exposición accidental e impacto emocional, los cuales fueron significativamente diferentes al inicio y al final de la OIT. En el caso de los padres, se evalúa la limitación social y dietética, la que sí mejoró significativamente tras la OIT, pero los otros dominios evaluados, como el riesgo de exposición accidental e impacto emocional no se alteró significativamente. También encontraron que las reacciones adversas durante la OIT influyen en el impacto de la OIT en la calidad de vida. En el cuestionario aplicado a los padres, la frecuencia de reacciones adversas mostró una moderada correlación inversa con la reducción en el total de puntos al finalizar la OIT en los 3 dominios estudiados.

5.8.3 Tratamientos Futuros

Muchos equipos de investigación en todo el mundo se encuentran buscando respuestas o tratamientos para los diferentes tipos de alergia. El desarrollo de variantes hipoalergénicas de huevo es actualmente una prioridad de investigación, porque estas variantes podrían utilizarse en inmunoterapia y desensibilizar a los pacientes alérgicos.

Un grupo canadiense ya ha estudiado la eficacia de un dominio de ovomucoide en la desensibilización en modelos murinos(173,174), así como conjugando con azúcares reducidos mediante la reacción de maillard(175).

Un equipo en Zelandia utilizando técnicas moleculares y genéticas han creado una ternera trasngénica que es capaz de producir leche sin la betalactoglobulina(176). Métodos similares podrían utilizarse en la laergia al huevo, con la tecnología deRNAi. Otros métodos como el CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats) basados en la edición del genoma(177), podría permitir la producción de genoma de gallina que cambien los epítomos que se unen a la IgE y esto permitir la creación de gallinas trasngénicas capaces de poner huevos hipoaleregénicos(92).

Tabla 4: Calidad Metodológica de los diferentes estudios de IT al huevo siguiendo CONSORT(148) : Si=1, No=0

	Burks (153)	Meglio (155)	Staden (156)	Itoh (158)	Vickery (157)	García- Rodríguez (167)	Caminiti (161)	Fuentes- Aparicio (152)
1 ^a	0	0	0	0	0	0	1	0
1b	1	1	1	1	1	1	1	1
2 ^a	1	1	1	1	1	1	1	1
2b	1	1	1	1	1	1	1	1
3 ^a	1	1	1	0	0	1	1	1
3b	0	0	0	0	0	0	0	0
4 ^a	1	1	1	1	1	1	1	1
4b	1	0	1	0	1	1	1	1
5	1	1	1	1	1	1	1	1
6 ^a	1	1	1	1	1	1	1	1
6b	0	0	0	0	0	0	0	0
7 ^a	1	0	0	0	0	0	0	0
7b	1	0	0	0	0	0	0	0
8 ^a	1	1	0	0	0	0	1	0
8b	1	1	0	0	0	0	0	1
9	1	1	0	0	0	0	1	0
10	1	1	0	0	0	0	1	0
11 ^a	1	1	1	0	0	0	1	0
11b	1	0	0	0	0	0	1	0
12 ^a	1	1	1	1	1	1	1	1
12b	1	1	1	1	0	1	0	1
13 ^a	1	1	1	0	1	1	1	1
13b	1	0	1	0	1	1	1	0
14 ^a	1	0	0	0	0	0	0	1
14b	1	0	1	1	0	0	0	0
15	1	0	0	1	1	1	1	0
16	1	0	1	1	1	0	1	1

17 ^a	1	1	1	1	1	1	1	1
17b	1	1	0	0	1	0	0	0
18	1	1	1	1	1	1	1	1
19	1	1	1	0	0	0	0	1
20	1	1	1	1	1	1	1	1
21	1	1	0	1	1	0	1	0
22	1	1	1	1	1	1	1	1
23	1	0	0	0	1	0	0	0
24	1	1	1	0	0	0	0	0
25	1	0	1	1	1	1	1	1
Total	25	19	18	15	16	16	20	17

Tabla 4 (continuación): Calidad Metodológica de los estudios de IT al huevo siguiendo CONSORT(148): Si=1, No=0

	Dello lacono (154)	Ruiz- García (151)	Sudo (159)	Ojeda (150)	Vazquez- Ortiz (160)	Escudero (149)	Perezábad (168)	Buchanan (162)
1 ^a	1	0	0	0	0	1	0	0
1b	1	0	1	1	1	1	1	1
2 ^a	1	1	1	1	1	1	1	1
2b	1	0	1	1	1	1	1	1
3 ^a	1	1	1	0	1	1	1	1
3b	0	0	1	0	0	0	0	0
4 ^a	1	1	1	1	1	1	1	1
4b	0	0	1	0	1	1	1	1
5	1	1	1	1	1	1	1	1
6 ^a	1	0	1	1	1	1	1	1
6b	0	0	0	0	0	1	0	0
7 ^a	0	0	0	0	0	1	0	0
7b	0	0	0	0	0	0	0	0
8 ^a	1	0	0	0	0	1	0	0
8b	1	0	0	1	0	0	0	0
9	1	0	0	0	0	1	0	0
10	1	0	0	0	0	1	0	0
11 ^a	1	0	0	0	0	0	0	0
11b	0	0	0	0	0	0	0	0
12 ^a	1	0	1	1	1	1	1	1
12b	1	0	1	0	1	1	0	1
13 ^a	1	1	1	1	1	1	1	0
13b	0	0	1	1	1	0	0	0
14 ^a	1	1	1	0	1	1	1	1
14b	0	0	0	0	0	0	0	0
15	1	1	1	1	1	1	1	1
16	1	0	1	1	1	1	1	1
17 ^a	1	1	1	1	1	1	1	1
17b	1	0	1	0	0	0	0	0
18	1	1	1	1	1	1	1	1
19	0	0	0	0	0	0	0	1
20	1	0	1	1	1	1	1	1
21	1	0	0	0	1	1	0	1
22	1	1	1	1	1	1	1	1
23	0	0	0	1	0	0	0	0
24	1	0	0	0	0	0	0	0
25	1	0	1	1	1	1	1	1
Total	22	10	16	16	18	21	18	17

Tabla5: Estudio de IT al huevo publicados y características poblacionales basales

	Criterios de Selección	Criterios de exclusión	Recogida de datos	N	Edad	Otras alergias
Burks 2012(153)	Multicéntrico: De 5-18 años Historia sugestiva IgEs >5 (<res de 6 años) IgEs>12 a los 5 años No TPO al inicio	Anafilaxia severa (hipotensión) Por huevo No ingesta previa de huevo Asma severa	Doble ciego Randomizado Controlado por placebo	40 OIT 15 PCB	Activo: 7 años (5-11) Placebo: : 7 años (5-10)	91% otra alergia alimentaria
Meglio 2012(155)	Alergia moderada-severa >4 años. Historia sugestiva Test cutáneos y/o IgE huevo>0.35 confirmado DBPCFC		Randomizado Controlado por placebo	10 OIT 10 control	Activo:8.4 años Control:9 años	11/20 dermatitis atópica 10/20 rinitis 6/20 asma
Staden 2007(156)	Alergia a leche y huevo confirmada por DBPCFC	DA severa (SCORAD>75)	Randomizado	11 OIT 11 contr		60% DA
Itoh 2010(158)	Escolares con Niveles altos de IgE Al menos 1 episodio de reacción grave (grado4-5) en el año previo con menos de 2g de proteína de huevo, que requirió hospital A todos DBPCOC			6	9.7 años (7-12)	Todos asma y Dermatitis atópica 67% alergia a otro alimento
Vickery 2010(157)	1-16 años Con Historia sugestiva TC positivos + IgEs >7 (<res de 2 años) IgEs>2 a los menores de 2 años No TPO al inicio	Anafilaxia severa (hipotensión) Por huevo Asma severa no controlada	No hay randomización ni grupo control	8	5 (3-13)	87% DA 5/8 alergia al cacahuete 3/8 asma
García-Rodríguez 2011(167)	Niños mayores de 5 años. Historia sugestiva + TC positivos + IgEs >0.35 Test de provocación positivo	Inestabilidad respiratoria	Prospectivo, abierto, no controlado	23	8.1 (5-17)	14/23 DA 15/23 asma
Caminiti 2015(161)	Niños de 4 a 11 años Historia sugestiva + TC positivos + IgEs >0.35 Test de provocación positivo	Consumo de huevo en productos horneados	Doble ciego Controlado con placebo	31	6 (4-11)	9/331 alguna alergia
Fuentes-Aparicio 2013(152)	Niños de 4-15 años TC positivos + IgEs >0.35 Test de provocación positivo (excepto si reacción reciente) Con o sin anafilaxi previa		Grupo control	72 OIT 40 Control 32	8.7 (5-15)	50% alergia a otros alimentos 70% asma 92.5% Dermatitis atópica

Buchanan 2007(72)	Niños de 1-16 años Historia sugestiva + TC positivos IgEs >7 (<res de 2 años) IgEs>2 a los menores de 2 años	Anafilaxia severa (hipotensión) Por huevo	No control	7	44.7 meses (14-84)	100% DA 3/7 asma(43%) alimentos 86%
Dello Iacono 2013(154)	Niños de 5-11 años Al menos un episodio de anafilaxia por huevo Tc + IgE positivos DBPCFC+ con huevo crudo	Asma no controlada Padres no fiables Alergia al cacao	Randomizado controlado	26	SOTI 6.6 (5-10.2) Control 8.6(4.2-11)	SOTI: DAtópica 2(20%) Asma 4(40%) Alimentos 7(70%) Controles: DAtópica 0(0%) Asma 4(40%) Alimentos(70%)
Ruiz-García 2012(151)	Niños y adultos con Historia sugestiva TC positivos + IgEs positivas Provocación oral positiva		No controles	16 niños 1 adulto	Niños 7,88 (SD 2.3) Adulto 28.3	¿?
Sudo 2014(159)	Historia sugestiva IgEs huevo>5 en mayores de 5 años IgE huevo>12 en menores de 5 Provocación Positiva	Asma inestable D atópica persistente	No randomizado Con Controles	43 niños OIT 30 Contr13	OIT 6(5-12 años) Control 7(5-8 años)	Otras Alergia a alimentos: OIT:86.7% Control 69.2%
Ojeda 2013(150)	Niños >5 años con Historia sugestiva TC positivos + IgEs positivas Provocación oral positiva	Anafilaxia grado4	No randomizado No controles	36 niños OIT 31 Controles 3	9.6 (6-15)	31/36 historia de alguna alergia
Vazquez-Ortiz 2014(160)	Niños 5-18 con Historia sugestiva TC positivos + IgEs positivas Provocación oral positiva	Asma no controlada DA severa (SCORAD>60)	No randomizado Controles	82 niños OIT 50 Controles 32	8.3 (6,5 – 10.4 años)	Asma 60%, Rinitis 65% alimentos 73.5% Dermatitis atópica 63%
Escudero 2015	Niños entre 5-17 años Historia sugestiva + TC>3mm sIgE>0.7 DBPCFC	Anafilaxia muy severa, reacciones no IgE, autoinmunidad, enf inmnlógicas	Randomización computarizada. Controles No placebo	61 niños	5-17 años OIT:7.8 Controles: 8.71 años	OIT: DA90%, Asma40% Otras Alimentos 60% Controles: DA83.8% Asma 41.9%, Otras FA67.7%
Perazábad 2015	Historia clínica compatible + TC >3mm q el control negativo IgEs + frente a proteínas huevo + TPO positiva simple ciego Control: Niños no alérgicos de la misma edad		No randomizado Controlado	21 niños alérgico 15 controles no alérgicos	Activo 5-15 años Control 5-14 años	

Tabla 6: Comparación de los diferentes Protocolos de inmunoterapia frente al huevo publicados: Características de la Inmunoterapia

	Inducción	Mantenimiento	Duración de la OIT	Forma de huevo	Premedicación
Burks 2012(153)	10 dosis en un día hasta llegar a 50mg. Incrementos progresivos de un 25% de la dosis previa,semanalmente hasta 2gr	Mantenimiento2g de clara de huevo liofilizada (1/3 huevo)	32 semanas por protocolo	clara de huevo liofilizada 2gr de polvo equivalen a 1.6gr de proteína	
Meglio 2012(155)		Nro dosis; 2123	181 días protocolo Media 215 (178-287)	Huevo crudo natural 60gr de huevo:7gr de prt	Cetirizina todo el protocolo
Staden 2007	67 días de escalada progresiva desde 0,006mg hasta 2800mg de proteína (1/2 huevo diario)	21 meses de 1600mg (1/4 huevo diario)		Liofilizado de huevo completo 7g=5.6 gr de prt (1huevo)	No cetirizina
Itoh	Empieza con 1/10 de la dosis desencadenante Se aumenta la dosis 1.2x cada 20 min de 3 a 5 veces al día de L a V.al llegar a 1000mg se aumenta 1.5x hasta llegar a 60gr (un huevo)	1 huevo entero 2 veces en semana	12d de media hasta llegara a la dosis de un huevo, luego reevaluaron tras 9-12m de mant.	Clara en polvo y a partir de 8g se pasa a huevo revuelto	
Vickery 2010	Inicio desde 0.1mg y lo doblan cada 30 min Cada 15 días aumentan 25 mg hasta llegar a 150mg y luego aumentan 50mg hasta 300mg	Ciclos de 4m manteniendo la dosis y aumentando según niveles de IgE y tolerancia por TPO. Media de 2400mg de huevo de mantenimiento Al llegar a IgE<2, TPO y si pasaban : 1 mes sin huevo y nuevo TPO	33 meses (18-50)	Clara en polvo 2gr de polvo equivalen a 1.6g de proteína de huevo	
García-Rodríguez 2011	Pauta rush en 5 días Aumento progresivo hasta llegar a un huevo cocido entero + 8ml de clara cruda	Un huevo cocido diario durante 3 meses, luego cada 48h durante 3 meses y después cada 72h		Clara pasteurizada líquida mezclada con algún alimento (57°C durante 4-25 min)	No profilaxis con antihistamínicos
Caminiti 2015	1ra dosis: 0.1 mg de polvo Se duplica la dosis previa semanalmente hasta 16 semanas y llegar a 4gr de polvo (1huevo), luego TPO	Tras el TPO con huevo cocido y crudo permanecen 6m con dieta con huevo y nuevo TPO. Luego 3m sin huevo y nuevo TPO	16ss mantenimiento 6m con huevo 3m sin huevo Total:13m	Clara deshidratada. 4gr de polvo equivalen a un huevo	
Fuentes-Aparicio 2013	1mg hasta 18mg cada 30min Incrementos semanales hasta 10gr de huevo liofilizado (equivalente a un huevo)	2 huevos por semana durante 6 meses y luego TPO con huevo crudo (abierto, no doble ciego)	13ss por protocolo Media 10 (4-28) semanas	Huevo completo pasteurizado liofilizado 10gr de polvo=un huevo	
Buchanan 2007	Desde 0.1mg hasta 200mg o dosis máxima tolerada Aumento de 25mg cada 2semanas hasta 150mg, luego aumento de 50mg cada 2 semanas hasta 300mg	300mg diarios durante 24 meses Al final TPO hasta 8gr de proteína, si negativo: un huevo revuelto (6.7gr de proteína)Luego 3-4m de evitación y nuevo TPO	24meses	Clara en polvo 2gr de polvo=1.6gr de proteína de huevo	
Dello Iacono 2013	Desde 0.015ml cada 20 min hasta 5ml. Aumentos progresivos en casa y luego doblar la dosis en el hospital		Duración 176 días para llegar a 40 ml según prototocolo	Huevo crudo natural	

Ruiz-García 2012	Inicio con máxima dosis tolerada en TPO Aumento de dosis semanal durante 7ss	3 huevos por semana durante 9 meses		Clara deshidratada 3.6gr de polvo=2.8 gr de prt de huevo = un huevo	polaramine a todos sólo inducción.
Sudo 2014	Inicio con ½ o ¼ de la dosis máxima tolerada en TPO en el hospital. Esta misma cantidad 2 veces por semana durante 2 meses. Luego se duplicaba la dosis en el hospital cada 2 meses hasta llegar a 32 gr de huevo (1/2 huevo)	½ huevo en omelet 2-3 veces por semana durante un año y a los que toleraban los siguieron 2 años		Huevo en omelet japonés frito y luego puesto al vapor 10 min adicionales	
Ojeda 2013(150)	1er día 0.151mg de proteína de huevo en el hospital, con una solución diluida. Dosis diarias sucesivas en casa, aumentando progresivamente. En el hospital, sólo la dosis desencadenante de reacción en el TPO y la 1ra dosis de solución no diluida y la dosis final		Duración 37d por protocolo. Media :43días (37-85d)	Huevo completo pasteurizado líquido 50ml=1 huevo Pasteurizado a 64.5°C por 150 segundos	Premedicados con cetirizina durante todo el protocolo
Vazquez-Ortiz 2014	2días en el hospital, dosis progresivas hasta llegar a 0.4ml 16ss de incrementos semanales hasta 30 ml y luego un huevo crudo entero	1 huevo crudo 3 veces en semana	Built-up 16ss Mantenimiento 11m. 13551 dosis	Clara líquida pasteurizada 1ml=0.083gr de proteína de clara de huevo	No premedicación
Escudero 2015	Incremento progresivo cada 20 min hasta llegar a 280mg de proteína acumulada Incrementos semanales hasta llegar a 2080mg de proteínas	Un huevo no tan cocido cada 48h + huevo en cualquier forma hasta completar 3m desde el inicio. Luego un mes de evitación completa de huevo y nuevo TPO.	Seguimiento 36 meses de termina tomando huevo ad libitum (a los que toleraron el TPO a los 4m)	Clara deshidratada 3600mg del polvo=2080mg de proteínas de huevo =1 huevo mediano	
Perazábad 2015	Inicio: dosis max tolerada en TPO en 1 día (1ra dosis) Dosis con aumento progresivo semanal en el hospital. TPO con productos horneados al tolerar 2ml de clara. TPO con rebozados al tolerar 4ml de clara TPO con huevo cocido a los 12ml de clara. TPO tortilla francesa a los 20ml TPO huevo frito 32ml Fin: Si tolera 32ml	16ml de clara pasteurizada diaria durante 6 meses (excepto 2 días a la semana en los q tomaban un huevo en tortilla, hervido o frito) Si la tolerancia era correcta a los 6m, se daba dieta libre con la recomendación de comer huevo 2-3 veces por semana	1 año después de dieta libre, los 12/20 desensibilizados seguían tolerando el huevo sin problemas Duración: 92 días por protocolo (3meses)de built-up y luego 6m de mantenimiento. Media de 11meses	Clara pasteurizada 32ml =1 huevo	

Tabla 7: Comparación de los diferentes Protocolos de inmunoterapia frente al huevo publicados: Características inmunológicas basales

	IgE total al inicio	IgE específica frente a huevo	IgG4 frente al huevo (mg/l)	Diámetro de TC clara(mm)
Burks 2012(153)	Activo:1095.5 (38.3-10 097) Placebo:1060 (137.2-3340.9)	Activo:10.3 (3.7-231.1) Placebo:25.7 (4.1-89)	Activo:0.2 (0-10.8) Placebo:0.3 (0-9.7)	Activo:10.5 (2.3-26) Placebo:13(7.5-20)
Meglio 2012(155)		Ovomucoide: Mediana Activo:6.8 (1-150) Placebo:4.9 (0.5-32) Ovoalbúmina: Activo:11.3 (5.6-150) Placebo:10.5 (2.1-98)	Ovomucoide: Mediana Activo:0.6 (0.2-0.8) Placebo:1.0(0.4-39) Ovoalbúmina: Activo:2.4(2.2-3.3) Placebo:2.4 (2.3-3.4)	Activo: 5(2.5-7) Placebo:4.5(1-7)
Staden		'	¿	
Itoh 2010				
Vickery 2010		IgE clara 12.5 (0.7-127) IgE OVM 8.6 (0.4-110)		Clara: 9mm(5-14)
García-Rodríguez 2011		IgE clara:9.87(SD21.11)	IgG clara 0.59 (SD 0.8)	TC clara:9.09 (SD 2.61)
Caminiti 2015		IgE huevo media Activo:36.6(5.2-110) Placebo 38.4(4.6-98.3)	IgG4 media Activo:0.9 (0-6.8) Placebo 0.7(0-4.6)	TC clara Activo: 11 (6.5-18) Placebo:9(6-16)
Fuentes-Aparicio 2013		Grupo activo Clara: 9.03 kU/(0.35---100 kU/l) OVM: 7.98 kU/l (0.35---100 kU/l) Grupo control Clara 9.43 (0.35-100) OVM 7.23 (0.35-100)		TC clara 8.74 mm (4-16mm) OVM 8.35(4---16 mm).
Buchanan 2007		Media clara: 23.75 (16-43)	IgG clara:8.24 (SD 5.57)	
Dello Iacono 2013		SOTI: IgE 23.30 (8.9-35.5) Control: IgE 19.1 (8.5-39.9)		SOTI TC clara 10(7-15) Control 9.25(5.5-15)
Jones 2010		IgE frente a huevo 12.66		TC huevo 6.5mm
Ruiz-García 2012	439 (147-833)	IgE huevo:3.6 (0.73-29.2) IgEOVM 2.4 (0.3-24.5)		
Sudo 2014	OIT:905(108,5-9978) Control 618(82.8-2054)	IgE huevo OTI:17.95 (5,25-100) Control 17.8 (5,23-100)		
Vazquez-Ortiz 2014(160)		IgE clara de huevo: 6.44		
Escudero 2015	OIT:603(143-5000) Control:370(33,2-3582)	OIT: Clara6.4 (1-245) OVA6.3(0.7-185) OVM:3.1(0.7-162) Controles: Clara2.2(0.7-73) OVA2.2(0.7-43.5) OVM:2.3(0.7-89.1)	OIT: IgG4 clara:0.45(0.1-6.2) Control: IgG4 clara:0.2(0.1-3.6)	OIT TC clara6(3-11) Control TC clara: 6(3-12)
Perazábad 2015		Niveles de IgE OVA-OVM más elevados en activos que los controles no alérgicos (sólo gráfica)	Niveles de IgG4 frente a OVA, OVM más elevados en los controles no alérgicos que en los activos	¿

Tabla 8: Comparación de los diferentes Protocolos de inmunoterapia frente al huevo publicados: Cambios inmunológicos con la Inmunoterapia

	IgG4	IgE	Prueba Cutánea	Actividad de basófilos	Citocinas
Burks 2012(153)	Los desensibilizados y los que alcanzaron la tolerancia tenían IgG4 huevo más alta que los que no. Niveles de IgG4 predicen DS a los 10m, 22m y tolerancia a los 24m	Niveles de IgEs fueron menores en los DS a los 22m pero no se correlacionó con los que toleraron a los 24m	Tamaño PC: inversamente proporcional a la posibilidad de DS a los 22m y no respuesta a los 24m. Disminución de PC a los 22m predice tolerancia a los 24m	A los 10m , la act de basófilos fue menor en los DS a los 22m, pero no se correlacionó con los que toleraron a los 24m. Fue menor en los que recibieron la OIT comparado con placebo	-
Meglio 2012	Hubo un aumento de IgG4, pero sólo significativo en el grupo activo frente a OVA	Disminución de niveles de OVM (inicio y final) signif en activos. Descenso no sig OVA. Más altos niveles al inicio, mayor posibilidad de no completar el protocolo	Disminución de PC entre el inicio y el final de la DS fue significativo		Incremento significativo de IL5(inicio-final) en el grupo activo
Staden2007		Disminución de IgE (inicio y final) fue signif en activos y en caso de tolerancia espontánea, en el resto no fue signif. IgE total sin cambios			
Itoh	Aumento IgG4 clara a los 12 meses.	Aumento de la IGE clara al terminar la pauta rush (12d) y luego descenso progresivo, siendo significativo a los 12m	Disminuyeron de forma no significativa entre el inicio y el final	Histamine release test disminuyó en 4/6 y no cambió en 2/6 de forma no significativa comparando al inicio y al final ni a los 12m.	RatioTh1/Th2 disminuyó signif a los 6m pero no sig a los 12m. No cambio IL4, IFNgamma. A los 6 meses: Menos IL10 y más TGF bet
García-Rodríguez 2011	Los niveles de IgG aumentaron significativamente desde las 3ss de terminada la DS y también los 3m y 6m.	Media de clara/OVM DS en 5d:4.35/2.15 DS en +días:18.6/11.6 Disminución IgE signif a los 6 meses.	Mayor media de PC en desensibilizados en 5 días que la de los q necesitaron más días. Disminución de PC signif a los 6 meses.		
Vickery 2010	Indetectable al inicio, aumenta en el tiempo hasta caer nuevamente luego de la OIT.				Producción de IL10, TGF beta, y un cambio de Th2 a Th1, pero no significativo
Buchanan 2007		Disminuyó IgE clara del inicio a los 24meses aunque no signif.			
Fuentes-Aparicio 2013	Aumento de la IgG clara del inicio all final de forma significativa	Descenso no significativo de IgEs del inicio al final.	Disminuyó signif del tamaño de los PC al final.		
Dello Iacono 2013		Descenso significativo de las IgE al inicio y al final en el grupo SOTI. No cambios en el grupo control.	SOTI: media PC disminuyó del inicio al final .No cambios en grupo control.		
Jones 2010		Disminución de los niveles de IgE	Disminución del diámetro	Disminución de act de basófilos del	

		del inicio al final	de PC en el grupo SOTI	inicio al final en el grupo control	
Caminiti 2015	Mayor IgG4 al final en activo vs PCB. Mayor IgG4 al final sólo en controles. Mayor IgG4 a los 6m de mantenimiento en activos vs PCB. Mayor IgG4 en tolerantes	No diferencias entre IgE al inicio y al final en activos y controles. Menor IgE a los 6m de mantenimiento en activos. Menor IgE en tolerantes.	Activo:Disminución de PC del inicio al final. Menor PC a los 6 meses de mantenimiento. Menor PC en tolerantes		
Sudo 2014		Disminución de IgE en OIT y control al inicio y tras un año			
Vázquez-Ortiz 2014	Los pacientes que concluyeron la desensibilización sin problemas, tuvieron niveles de IgE total + elevadas	Los pacientes que tuvieron que discontinuar la DS por reacciones adversas tenían niveles + altos de IgE específica frente a clara, OVA y OVM. IgEOVA > 6.49 ò IgEOVM >8.85 tiene 95% de no tolerancia.			
Escudero 2015	Aumento del IgG4 en grupo activo a los 4m comparado con el inicio y también si comparamos grupo activo versus control de forma significativa.	Los niveles de IgE a clara, OVA y OVM fueron más elevados basalmente el grupo de pacientes que tuvieron reacciones y en aquellos cuya desensibilización fue más larga. Disminución del IGE a los 4 meses comparado en el grupo activo. IgE clara>7.1 daba 90% de probabilidad q fallen el TPO . Si OVM>1.7 daba 73% de probabilidad de fallar el TPO	Disminución de tamaño de los TC desde el inicio a los 4 meses, siendo significativo sólo OVA y OVM en el grupo activo		
Perazábad 2015	En el grupo que terminó exitosamente la DA, los niveles de IgG4 aumentaron significativamente al terminar la DS.	En el grupo que terminó exitosamente la DA, los niveles de IgEs disminuyeron hasta 5 veces al terminar la DS. Los niveles de IgEs en los que terminaron exitosamente la DS fueron basalmente más bajos, que lo que no completaron el protocolo			En DS exitosa, menor producción de IL5 y IL13 y mayor producción de IFNgamma y TNF alfa, siendo significativo el aumento de IL10 al comparar el inicio versus el final y al comparar los niveles basales del grupo que concluyó el protocolo, con los que no lo completaron.

Tabla 9: Comparación de los diferentes Protocolos de inmunoterapia frente al huevo publicados: Reacciones Adversas durante la IT.

	Fase de Inducción	Fase de Mantenimiento	Reacciones adversas en general	Reacciones adversas graves
Burks 2012(153)	Leves: Activo:25% de 11890 dosis; 78% de los pacientes Placebo3.9% de 4018 dosis; 20% de pacientes	Leves: Activo:8.3% de 15815 dosis	Grado 1: 99% Grado 2:1% Grado3: 0	Ninguna
Meglio 2012 (155)			3/8 no síntomas 5/8reacciones leves sin medicación	
Staden 2007			Todos tuvieron alguna reacción. 4/25 reacción moderada ue mejoró con antihistamínico + corticoide	Ninguna En el grupo control hubieron 5 reacciones leve-moderada 4por ingesta accidental
Itoh 2010			Todos reacción leve-moderada. Todos mejoraron con antihistamínicos, Solo uno además corticoide	Ninguna
Vickery 2010	3/6 prurito oral	Ninguno		
García-Rodríguez 2011			78.3% de pacientes al menos 1 reacción: 35 leves y 20 moderadas	No reacción severa
Caminiti 2015	3 pacientes reacciones leves-moderadas	En los 6m de dieta con huevo un paciente tuvo urticaria + Dolor abdominal con ejercicio.	No reacciones adversas en el grupo control	
Buchanan 2007	1/7 reacción leve una vez	Ninguno	No reacciones ni con ingestas accidentales	No reacciones graves
Fuentes-Aparicio 2013	21/40 (52.5%) algún síntoma 8/21 leve, sin tratamiento 13 (61.9%) moderado			5 necesitaron adrenalina
Della Iacono 2013		100% alguna reacción 3(5.6%) grado1 10 (18.9%) grado2 35(66%)grado3 5(9%) grado4	Las reacciones fueron en 53 eventos: 81% en los primeros 6ml 100% en los primeros 20 ml25/36 tuvieron reacción al doblar las dosis en el hospital versus 28/200 de las dosis encasa 3(30%) controles tuvieron reacción grado 3-4 con ingesta accidental	Ninguno reacción grado 5, ni uso de adrenalina
Jones 2010		74.87% de las dosis sin reacción	Las reacciones fueron leves, sólo oral 15.46% en	

		(11802 en el grupo SOTI) 96.14% de las 4014 dosis de placebo no tuvo reacción	el grupo activo y 0.22% en el placebo	
Ruiz-García 2012			12(70%) algún síntoma: 41% prurito oral, 18% tos	3 casos de anafilaxia
Sudo 2014	31 eventos de 477 aumentos de dosis en hospital: 25(80.6%) grado1 6(19.4%)grado2 0 grado 3-4	45/10380 dosis en casa (0.43%) 34(75%) grado1 10(22.2%) grado2 1(2.2%) grado 3	16/30 (53.3%) pacientes presentaron reacciones adv	No anafilaxia ni necesidad de adrenalina
Ojeda 2013(150)		No especificaron reacciones adversas en el hospital versus en casa.	180 eventos adversos 155(86%) leves 25(13.9%) moderadas No reacciones severas 8/31 pacientes no tuvieron ningún evento adverso	Utilizaron en 4 casos adrenalina (0.02%) en casa por casos de anafilaxia moderada
Vazquez-Ortiz 2014			Grupo activo: 45 niños(90%) alguna reacción. Del total de dosis, registraron 1024 reacciones(7.6%).	18 adrenalinas en 13 pacientes Reacciones según severidad: 1:30% 2:31.2% 3:15.9% 4:22.9% Ninguna grado5
Escudero 2015	79(54.5% de todas las reacciones) 82% gastrointestinales, 21.5% orofaríngeos, 11.4% rinitis, 6.3% dificultad respiratoria 1 anafilaxia	45(31% de todas las reacciones) Todas fueron leves	Total de 145 reacciones. 21/30 (70%)	1 anafilaxia y tto con adrenalina
Perazabad			50% de los pacientes necesitó antihistamínicos durante la DS y 7/20 tuvieron síntomas	En 2 pacientes se detuvo el protocolo por anafilaxias recurrentes y brotes de dermatitis atópicas severas.

Tabla 10: Comparación de los diferentes Protocolos de inmunoterapia frente al huevo publicados: Eficacia

	N	Definición de Éxito	Desensibilización	Tolerancia
Buchanan 2007	7	300mg de proteína de huevo a diario TPO:8gr de proteína	4/7 Pasaron 3/7 No pasaron, pero al menos toleraron más dosis que al inicio	2/4 (50%) Pasaron tras 3-4 meses de dieta sin huevo
Burks 2012(153)	55 Activo40 Placebo15	DS:5gr de clara liofilizada TPO:10gr clara cruda liofilizada + huevo cocido completo	A los 10m: Activo 22/40 55% Placebo 0% A los 22m Pasaron 30/40 (75%)	Tras 2 m de evitación 11/29 desensibilizados 11/40 activos (28%) 0/15 placebo
Meglio 2012(155)	20 Activo 10 Placebo 10	25ml de huevo crudo diario (3 huevos semanales)	8/10 éxito en grupo activo 2/10 tolerancia espontánea en grupo control	No evaluada
Staden 2007	47 Activo 25 Placebo 22	1600mg huevo liofilizado (1/4 huevo diario) TPO:4600mg de proteína de huevo (1 huevo)	16/25 activos respondieron (64%): 12/16 dosis completo 4/16dosis parcial 9/25 fracaso	Tras 2meses de evitación: 9/25 Tolerancia 7/22 Tolerancia espontánea (35%)
Itoh	6	1 huevo entero (60gr)	6/6 (100%)	No evaluada
Vickery 2010	6	3600mg de clara en polvo	6/6 (100%)	6/6 pasaron el TPO tras un mes de evitación
García-Rodríguez 2011	23	TPO:1 huevo entero omelette + 8ml de clara cocida	20/23 (86.9%) 14/23 en 5días 6/23 en menos de 10d	No evaluada
Caminiti 2015	31 Activo17 Placebo14	1 huevo cocinado	Se desensibilizaron 16/17 activo 0 placebo	Tras 6m de mantenimiento y luego 3meses de evitación 5/16 (31%) Tras 9m de haber terminado la DS con placebo 1/12 tolerancia espontánea
Fuentes-Aparicio 2013	72 Activo 40 Control 32	Mantenimiento 2 huevos por semana TPO: huevo crudo	37/40 (92.5%) un huevo entero 7/32 (21.8%) controles con tolerancia espontánea.	No evaluada
Dello lacono 2013	20 SOTI 10 Control 10	Mantenimiento 40 ml de huevo crudo Parcial 10-40 ml de huevo crudo	SOTI Ninguno llegó a 40 ml 9/10 tolerancia parcial 1/10 No tolerancia Control Ninguno tolerante ni tolerante parcial	No evaluada
Jones 2010	55 SOTI 40 Control 15	TPO 5gr de huevo	SOTI 21/40 (52.5%) pasaron el TPO al final Controles 0/15 pasó el TPO	No evaluada
Ruiz-García 2012	17	Mantenimiento 3600mg diarios	14/16llegaron a la dosis de mantenimiento	No evaluada
Sudo 2014	43 OIT 30	32 gr de huevo bien cocido al cabo de 1 año	OIT 9/30 (30%) llegaron a la	No evaluada

	Control 13	Dieta libre incluyendo huevo crudo	dosis de huevo objetivo en 1 año. 17/30 llegaron a la dosis de huevo en los 2 primeros años 14/17 fueron seguidos más tiempo y 11 de ellos toleraban incluso huevo crudo Controles: 0%	
Ojeda 2013	36 OIT 31 Control 5	DS 50 ml de huevo pasteurizado (1 huevo)	25/31 (80%) toleró la dosis de huevo 1/31 (3.2%) tolerancia parcial 3/31 (9.7%) no llegó a tolerar cantidades suficientes para llevar una dieta normal, pero incrementó su umbral de tolerancia. 2/31 no pudieron ni subir su umbral de tolerancia. 23/25 toleraron huevo crudo natural	No evaluada
Vazquez-Ortiz 2014	82 niños OIT 50 Controles 32	DS : 1 huevo crudo 3v/semana TPO:0.12gr de clara cocida (1/32 huevo) y se dobla cada 60 min hasta una dosis acumulada de 3.7gr proteína(1 huevo) Y si(-) al día sgt con clara cruda hasta llegar a un huevo.	Desensibilización (tras fase de build-up) 40/50(80%) total 1(2%) parcial 9(18%) discontinuar pronto por reacciones Tras fase de mantenimiento 28/40 (54%) completa 4/40 parcial 9/40 (18%) discontinuaron Controles a los 12m 27/32(84.4%) alergia persistente 5/32 resolución espontánea	No evaluada
Escudero 2015	61 niños OIT:30 Controles: 31	DS: un huevo no muy cocido cada 48h Tolerancia: TPO tras 3m de DS + 1 mes de evitación. TPO: 2080mg de dosis acumulada de proteína	28/30 (93%) completaron la desensibilización a los 3 meses.	Pasaron el TPO a los 4m (1 mes tras evitación de huevo) OIT:11/30(37%) desensibilizados Control:1/31(3%) Todos los tolerantes continuaron tolerando el huevo sin reacción hasta los 36m de seguimiento
Perazabad 2015	OIT 21 niños Controles 15 no alérgicos	DS: 32 ml de clara cruda pasteurizada en menos de 24 meses	12/20 completaron la DS 4/20 llegaron a tolerar de 2 a 4ml 2/20 se detuvo x RA	No evaluada

	<p>CAPÍTULO II</p> <p>HIPÓTESIS</p>
--	---------------------------------------------------

II CAPÍTULO 2: HIPÓTESIS

La inmunoterapia oral con huevo cocido es un método eficaz y seguro en niños con alergia persistente al huevo para alcanzar la tolerancia oral sin reacción al mismo

	<p>CAPÍTULO III</p> <p>OBJETIVOS</p>
--	----------------------------------------------------

III CAPÍTULO 3: OBJETIVOS

1. OBJETIVO PRINCIPAL

Evaluar la eficacia y seguridad de la inmunoterapia oral con huevo cocido en pacientes con alergia persistente al huevo.

2. OBJETIVOS SECUNDARIOS:

2.1. Determinar la tolerancia oral al huevo crudo en los pacientes que se logre la tolerancia a huevo cocido completa.

2.2. Describir los posibles diferentes fenotipos de pacientes en cuanto a eficacia y seguridad de la Inmunoterapia

2.3. Describir los cambios inmunológicos que produce la Inmunoterapia con huevo cocido.

2.4. Evaluar si existen factores clínicos o inmunológicos asociados con :

- La duración de la inmunoterapia
- Tolerancia al huevo crudo
- Con las reacciones adversas

	<p>CAPÍTULO IV</p> <p>METODOLOGÍA</p>
--	-----------------------------------------------------

IV CAPÍTULO 4: METODOLOGÍA

1. DISEÑO DEL ESTUDIO

El diseño del estudio es una cohorte prospectiva, longitudinal, de intervención terapéutica, controlado, no aleatorizado.

2. SUJETOS DE ESTUDIO (POBLACIÓN)

Se seleccionó de forma prospectiva, desde junio del 2010 hasta junio 2015, una serie consecutiva de niños, entre 5 y 16 años, pertenecientes al área sanitaria Este (antigua área 4) de la Comunidad de Madrid, que acudieron a la consulta del Servicio de Alergología Infantil del Hospital Universitario Ramón y Cajal, diagnosticados de alergia al huevo persistente (niños mayores de 5 años con provocación positiva a huevo).

A los pacientes que cumplían los criterios de inclusión (ver criterios de inclusión) se les proporcionó información verbal y escrita respecto a las características, riesgos y beneficios del estudio. Si los padres del paciente aceptaban participar en el estudio y someter a sus hijos a tratamiento con inmunoterapia, se les incluyó en el grupo activo y en caso de que rechazaran dicho tratamiento, se les ofreció participar como grupo control durante al menos un año de seguimiento. Si no aceptaban participar en la inmunoterapia, ni tampoco en el estudio, se les excluía del mismo.

2.1. Criterios de Inclusión

- Niños entre 5 y 16 años con el diagnóstico de alergia a las proteínas del huevo.

Se consideró diagnóstico de alergia a huevo si presentaron una reacción adversa tras la ingesta de huevo clínicamente compatible con alergia mediada por IgE, junto con presencia de prueba cutánea positiva frente a huevo (≥ 3 mm) y fracciones o presencia de anticuerpos IgE específicos frente a las proteínas del huevo ($\geq 0,35$ KU/l). Se consideró una reacción adversa clínicamente compatible con alergia mediada por IgE frente a huevo aquella que se caracteriza por la aparición de síntomas cutáneos (prurito, urticaria aguda, angioedema), digestivos (dolor abdominal, náuseas, vómitos, diarrea), respiratorios (rinorrea, congestión nasal, estornudos, tos, disnea, sibilancias) o cardiovasculares (taquicardia, hipotensión), después de la ingestión del huevo o derivados. El intervalo de tiempo desde la ingesta de huevo hasta la aparición de los síntomas debería ser inferior a 2 horas.

- Historia de reacciones inmediatas tras ingestión de huevo en los últimos 3 meses y/o prueba de provocación oral positiva con huevo cocido dentro del mes previo al inicio de la desensibilización.
- Presentar en el momento de la inclusión, prueba cutánea y niveles de IgE ($\geq 0,35$ KU/L) positivos para Huevo y/o Clara, OVA y OVM.
- Firma del consentimiento informado de participación en el estudio. Tras explicación del protocolo, quienes aceptaron participar en la inmunoterapia pertenecían al grupo activo y quienes rechazaban el procedimiento, pero aceptaron participar en el estudio, tuvieron un seguimiento igual al grupo activo pero sin llevar a cabo la inmunoterapia, formando parte del grupo control (ver figura 8)

2.2. Criterios de Exclusión

- Alergia a huevo no IgE mediada o alergia a yema exclusiva.
- Co-morbilidades que afecten seriamente el estado general del niño.
- Contraindicación para realización de la prueba provocación.
- Deseo de los padres de no firmar el consentimiento.
- Recibir medicación inmunosupresora

3. CÁLCULO DEL TAMAÑO MUESTRAL

Según los datos de un metaanálisis previo(143), la eficacia desde este tipo de tratamiento es de un 39% de éxito y una tolerancia espontánea en los controles de 11.9%. De acuerdo a la historia natural de la alergia a proteínas de huevo, en los niños mayores de 4 años con alergia a las proteínas de huevo, la tolerancia espontánea no supera el 3% de los casos(149)

Utilizando el programa estadístico STATA, la cantidad de pacientes necesarios para estimar la proporción de pacientes con tolerancia al huevo crudo después de una inmunoterapia y sin ella, con un alfa del 95% y un poder estadístico (1-beta) del 85%, con una expectativa de un 39% en el grupo activo y 3% en el grupo control(149), considerando una mayor cantidad en el grupo activo, es de un mínimo de 42 en el grupo activo y 14 en el control.

4. PROTOCOLO DEL ESTUDIO

Todos los pacientes incluidos llevaban a cabo un estudio protocolizado que se resume en un flujograma. (ver figura 8)

A todos los pacientes incluidos se les realizó al momento de su revisión en la consulta una historia clínica exhaustiva, se les explicó en qué consiste el estudio y se les pidió que firmen el consentimiento informado de participación en el estudio (ver anexo1).

A continuación, a todos los pacientes que aceptaron participar en el estudio, se les realizó pruebas cutáneas y extracción de sangre para la obtención de IgE e IgG4 específicas frente a huevo y fracciones.

Dentro del mes siguiente a la realización de la historia clínica, la extracción de sangre y las pruebas cutáneas, si referían una historia clínica de reacción asociada a la ingesta de huevo en los 3 meses previos a la visita se procedió al inicio del protocolo de inmunoterapia. Si no había habido transgresiones en los últimos 3 meses, se procedió a la realización de una prueba de provocación abierta con huevo cocido según nuestro protocolo (ver anexo2).

En función del resultado de la provocación oral, los pacientes fueron clasificados de la siguiente manera:

- Provocación oral positiva: niños con *alergia persistente al huevo*, pacientes que presenten en las 2 primeras horas tras la ingesta de huevo síntomas cutáneos (urticaria, angioedema), síntomas digestivos o síntomas respiratorios durante la provocación oral con el huevo.
- Provocación oral negativa: niños *tolerantes*, pacientes que no presentaron ninguna reacción durante la provocación con huevo y fueron excluidos del estudio.

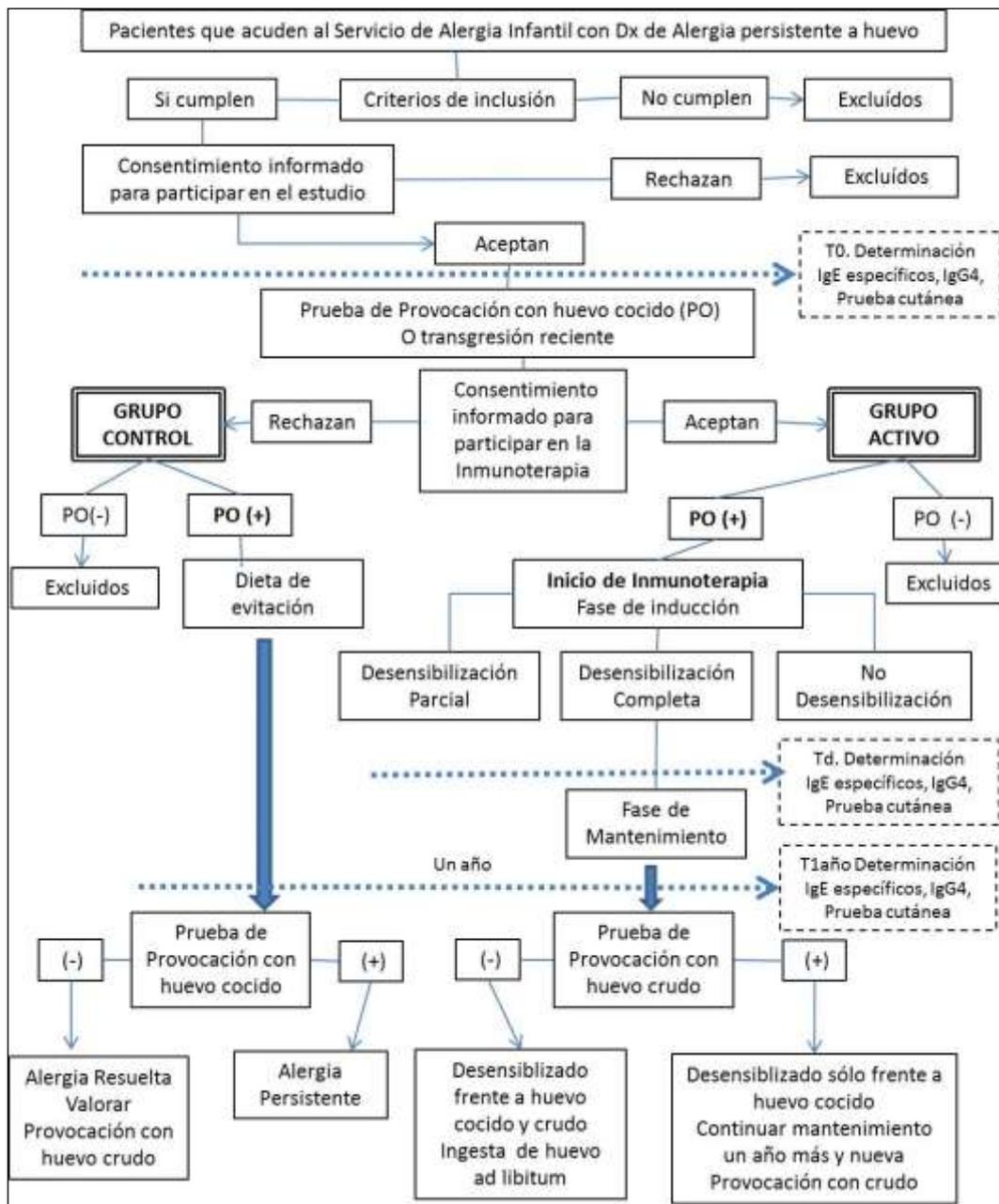


Figura 8: Protocolo de Investigación. T0: inicio de la IT, Td: final de fase de inducción de la inmunoterapia, T1: a un año de la inmunoterapia. Línea discontinua: Determinación de niveles de IgE específica y de prueba cutánea.

A los pacientes con alergia persistente al huevo, demostrado por prueba de provocación o por transgresión reciente sintomática, se les explicaba en qué consistía el procedimiento de la inmunoterapia y se solicitó a los padres la firma del consentimiento informado de la inmunoterapia (ver anexo3)

Al grupo activo se le realizó el procedimiento de inmunoterapia (ver más adelante y anex04) Aquellos pacientes que rechazaron participar en la inmunoterapia, se les propuso participar en el estudio como grupo control, siempre previo consentimiento informado (anexo 1). Estos pacientes tuvieron sus correspondientes revisiones rutinarias anuales en las que se recogió su historia clínica, pruebas cutáneas y determinaciones de niveles de IgE e IgG4, frente a clara, yema y fracciones (ver figura 8).

Al alcanzar el final del periodo de inducción de la inmunoterapia, se realizó una segunda determinación de pruebas complementarias (pruebas cutáneas, niveles de IgE específica e IgG4). Si se finalizó esta fase de inducción con éxito, se inició la fase de mantenimiento durante un año, con ingesta de 3 huevos cocidos por semana así como aquellos alimentos que contuvieran huevo cocinado, como galletas, rebozados, etc, con evitación completa del huevo crudo.

Al cumplir un año, se realizó una tercera determinación de las pruebas complementarias (pruebas cutáneas, niveles de IgE específica e IgG4). Si se desconocía la tolerancia a huevo crudo, se realizaba una prueba de provocación con huevo crudo (ver anexo 5).

Si toleraba el huevo crudo, se indicaba una dieta de huevo ad libitum en todas sus formas, con la sugerencia de mantener una ingesta constante de al menos 3 huevos en semana de cualquier forma y nueva revisión de forma anual (figura 9).

Si la provocación con huevo crudo era positiva, se mantuvo la dieta de 3 huevos por semana bien cocido, tal y como lo habían realizado el año anterior y nueva revisión en un año.

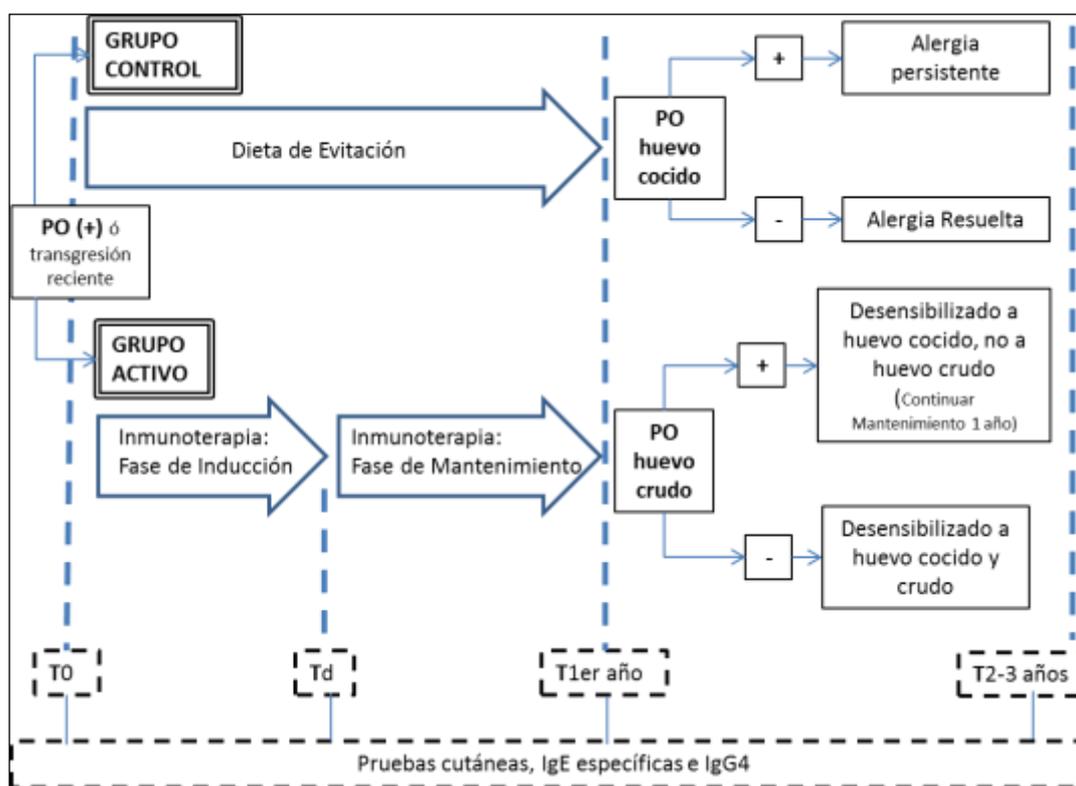


Figura 9: Protocolo de Investigación. T0: inicio de la IT, Td final de fase de inducción de la inmunoterapia, T1: a un año de la inmunoterapia. Línea discontinua: Determinación de niveles de IgE específica y de prueba cutánea.

4.1. Historia clínica

Se realiza una historia clínica, con recogida de los siguientes datos:

- Sexo
- Fecha de nacimiento
- Edad de diagnóstico inicial de alergia al huevo
- Antecedentes de patologías alérgicas y otras relacionadas: dermatitis atópica, rinoconjuntivitis, asma y alergia a otros alimentos.
- Síntomas al momento del diagnóstico inicial: síntomas atribuidos al alimento síntomas mucocutáneos, urticaria y/o angioedema; síntomas digestivos, como vómitos, náuseas, diarrea y/o dolor abdominal; síntomas respiratorios, que afecten a vías altas (rinorrea,

estornudos, conjuntivitis y/o congestión nasal) o vías respiratorias bajas (disnea, tos, sibilancias); síntomas cardiovasculares: taquicardia e hipotensión.

- Transgresiones con huevo en los últimos 3 meses.

Esta información se recogió en una base de datos de Excel.

4.2. Pruebas Auxiliares

4.2.1. Pruebas cutáneas (intraepidérmicas o prick test)

Se realizaron las pruebas cutáneas mediante la técnica intraepidérmica (siguiendo las normas aceptadas internacionalmente (178) con extractos estandarizados de clara, yema, ovoalbúmina y ovomucoide, de los laboratorios ALK-Abelló. Como control positivo se utilizó histamina a una concentración de 10 mg/ml y como control negativo solución salina.

Las pruebas cutáneas se realizaron siempre por el mismo personal entrenado en la técnica y en el manejo de reacciones sistémicas graves. Siempre se realizaron en el Área técnica del Hospital Ramón y Cajal, en el que se dispone del material y la medicación necesarios para el tratamiento de una reacción sistémica, y realizar una reanimación en el caso de que fuera preciso (adrenalina, beta-adrenérgicos, vasoconstrictores, teofilinas, antihistamínicos, oxígeno, y sistema de fluidoterapia). Las pruebas se hicieron en todos los casos por personal de enfermería entrenado en la realización de esta técnica, y la valoración del resultado fue llevada a cabo por el médico de dicha área técnica.

Antes de su realización se tuvo en cuenta los siguientes aspectos:

- que el paciente no estuviera en tratamiento con fármacos que pudieran enmascarar el resultado de las pruebas: fármacos con efecto antihistamínico (antihistamínicos, antidepressivos,...) fármacos beta-adrenérgicos (vía sistémica), ni corticoides tópicos.
- las condiciones de la piel sobre la que se iban a realizar las pruebas para evitar posibles errores en la interpretación del resultado (por ejemplo, la presencia de una placa de dermatitis atópica en la zona).

Revisión de los extractos para confirmar que estaban en condiciones adecuadas (fecha de caducidad, conservación en frío).

4.2.2. Determinación de IgE específica

Se obtuvo sangre de todos los pacientes. Dichas muestras se procesaron para la obtención de suero, que se congeló para su conservación hasta su utilización para la determinación de IgE total y específica a clara, yema, ovomucoide y ovoalbúmina e IgG4 frente a ovoalbúmina y ovomucoide en el laboratorio de Inmunoalergia de nuestro hospital, mediante la técnica de Inmunocap, al inicio del protocolo, al finalizar y un año después de finalizado y anualmente de forma sucesiva.

En el caso de los controles sólo tuvieron 2 determinaciones: Al inicio del protocolo y un año después de la dieta de evitación estricta.

Se realizó la determinación de IgE total y específica con la técnica de Inmunocap en el servicio de Inmunología. El sistema utiliza alérgenos adheridos de forma covalente a un dispositivo específico al que se enfrenta el suero del paciente. Tras un periodo de incubación, se añade un anticuerpo anti-IgE (anticuerpo monoclonal de ratón) marcado enzimáticamente (beta-galactosidasa) para formar un inmunocomplejo (alérgeno + IgE problema + anti-IgE [enzima]) sobre Inmunocap. A continuación se lava para eliminar las anti-IgEs marcadas no unidas y se añade una solución (4-metil-umbeliferil beta-D galactosidasa) que forma un compuesto coloreado. Finalmente la reacción fluorescente se interrumpe con una solución stop (carbonato cálcico). La fluorescencia es medida por un fluorímetro, que sitúa los valores obtenidos en cada suero problema sobre la curva de calibración expresando los resultados en KU/l. El cambio de coloración de la muestra es directamente

proporcional a la cantidad de IgE presente en el suero del paciente. El sistema permite una gama de medida de IgE de 0,35 a 100 KU/l . Se consideran resultados negativos los inferiores a 0,35 KU/l.

Los resultados de las determinaciones de la IgE total y los anticuerpos IgE específicos frente a los antígenos del huevo se recogieron como variables numéricas en KU/l. Esta información se recogió mediante una base de datos en Excel.

4.3. Prueba de provocación oral abierta (POA)

4.3.1. Preparación del batido de huevo cocido.

Se cocina un huevo en agua hirviendo durante al menos 10 minutos. Luego se quita la cáscara y se pesa. El peso se multiplica por 2 y se agrega esa cantidad en mililitros de leche de vaca o leche de soja y se procede a mezclar con batidora hasta que no queden grumos.

Esta preparación nos permite una concentración de 333,3 mg de proteínas de huevo por mililitro de batido.

Al ser una provocación abierta, tanto los familiares, como el paciente, como el médico conocen la composición del batido que se está administrando.

Luego se administró al niño dosis progresivas según protocolo (ver anexo 4)

4.3.2. Metodología de la prueba de provocación

Antes de realizar una provocación oral se tuvieron en cuenta los siguientes aspectos:

- El paciente no debía presentar ninguna enfermedad concomitante (infecciones respiratorias, fiebre etc...) y debía estar asintomático desde el punto de vista alérgico o con la mínima sintomatología posible. En pacientes asmáticos se realizó en fase estable, con cifras de FEV1 de al menos el 80% de su teórico, con control espirométrico.
- Se suspendió la medicación que pueda enmascarar, atrasar, aumentar o evitar las reacciones alérgicas o interferir en el tratamiento de las reacciones (antihistamínicos, neurolépticos, esteroides orales (más de 5mg/día), AINES, inhibidores de la ECA, beta-bloqueantes.
- Se confirmó que el paciente estaba realizando una dieta de evitación previa de huevo

Las pruebas de provocación se llevaron a cabo en el hospital, de forma ambulatoria, en el hospital de día médico quirúrgico pediátrico, con observación de, al menos, dos horas después de la última dosis.

En el caso de presentar una reacción durante la prueba de provocación, se detuvo la prueba, el paciente recibió el tratamiento correspondiente en función de la clínica en cada caso (antihistamínicos, corticoides, adrenalina, oxigenoterapia, fluidoterapia y se mantuvo en observación el tiempo necesario hasta su completa recuperación.

Aquellos pacientes que completaron la prueba de provocación sin presentar ninguna reacción se clasificaron como niños tolerantes o no alérgicos al huevo y no entraron al estudio.

Aquellos pacientes que presentaron una reacción en cualquiera de los pasos de la prueba de provocación, fueron clasificados como alérgicos al huevo o no tolerantes.

Se registraron las siguientes características de las pruebas de provocación:

* Los síntomas clínicos que presentaron los pacientes: síntomas mucocutáneos, incluyendo urticaria y/o angioedema; síntomas digestivos, como vómitos, náuseas, diarrea y/o dolor abdominal; síntomas respiratorios, que afecten a vías altas (rinorrea, estornudos, conjuntivitis y/o congestión nasal) o vías respiratorias bajas (disnea, tos, sibilancias); síntomas cardiovasculares, taquicardia e hipotensión.

* Con qué dosis del protocolo presentó la reacción (mg de proteína)

* Medicación recibida: antihistamínicos, corticoides orales, adrenalina, otros

Esta información se recogió en una base de datos de excel.

4.4. Metodología del Protocolo de inmunoterapia

En la Inmunoterapia con huevo cocido se utilizó un batido con huevo cocido y leche de vaca o de soja, preparado de igual forma que la descrita en la prueba de provocación. Para su administración se empleó el siguiente protocolo (ver anexo 4)

Las dosis de inicio y en cada incremento de dosis se administraron en el hospital de día médico quirúrgico pediátrico. En esta área el paciente se encuentra en cama, monitorizado, con la presencia de enfermera y médico alergólogo.

Antes de la administración de una dosis se comprueba:

- el paciente no debía presentar ninguna enfermedad concomitante (infecciones respiratorias, fiebre etc...) y debía estar asintomático desde el punto de vista alérgico o con la mínima sintomatología posible en los casos de dermatitis atópica. En pacientes asmáticos se realizó en fase estable, con cifras de FEV1 de al menos el 80% de su teórico, con control espirométrico.

- se suspendió la medicación que pudiera enmascarar, atrasar, aumentar o evitar las reacciones alérgicas o interferir en el tratamiento de las reacciones (antihistamínicos, neurolépticos, esteroides orales (más de 5mg/día), AINES, inhibidores de la ECA, beta-bloqueantes.

Antes de la administración de una dosis en el hospital, se preguntaba al paciente y al familiar, si las dosis recibidas en casa habían sido bien toleradas. Si hubo reacciones, éstas se registraban y se valoraba de forma personalizada, el porcentaje de incremento de dosis, en función de la gravedad de los síntomas y las características de riesgo del paciente (niveles de IgE, dosis desencadenante al momento de la provocación, etc.)

Tras la administración de la/las dosis pautadas en ese día, se mantenía 2 horas de observación tras la última dosis correspondiente. Si el paciente no presentaba ninguna reacción, se le daba de alta, con la indicación de tomar a partir del día siguiente la dosis tolerada, con las siguientes recomendaciones:

- no hacer ejercicio intenso ese día.
- Los días siguientes, evitar hacer ejercicio intenso 2 horas antes y después de la ingesta de la dosis correspondiente del batido de huevo.
- Evitar la ingesta de antiinflamatorios no esteroideos durante todo el proceso de inmunoterapia

En el caso de presentar una reacción durante el procedimiento, el paciente recibió el tratamiento correspondiente en función de la clínica en cada caso (antihistamínicos, corticoides, adrenalina, oxigenoterapia, fluidoterapia) y se mantuvo en observación el tiempo necesario hasta su completa recuperación. Al alta, se le indica al paciente continuar en casa con la dosis previa que venía tolerando y en la próxima cita, el incremento de dosis es menor, de manera de que el paciente sea capaz de tolerarla sin presentar reacción.

Se registraron las siguientes características de las reacciones en el procedimiento de la inmunoterapia en cada fase:

- Dosis desencadenante de la reacción.
- Los síntomas clínicos que presentaron los pacientes: síntomas mucocutáneos, incluyendo rash pruriginoso morbiliforme, urticaria y/o angioedema; síntomas digestivos, como vómitos, náuseas, diarrea y/o dolor abdominal; síntomas respiratorios, que afecten a vías altas (hidrorrea, estornudos, conjuntivitis y/o congestión nasal) o vías respiratorias bajas (disnea, tos, sibilancias); síntomas cardiovasculares, taquicardia e hipotensión.
- Medicación recibida: antihistamínicos, corticoides orales, adrenalina, otros

Esta información se recogió en una base de datos de Excel.

4.5. Fases del protocolo de inmunoterapia

4.5.1. Fase de inducción

Incrementos exponenciales desde concentraciones de 1/100 de batido de huevo cocido, cada 30 min en 1 día, hasta llegar a una cantidad mínima de tolerancia, en lo posible sin diluir. Esto se hacía así para facilitar a los padres su posterior administración en casa, ya que la dosis máxima tolerada se administraba en casa a diario hasta la siguiente cita en una semana.

Incrementos de aproximadamente un 30% de la dosis previamente tolerada semanalmente en el hospital, con la repetición de la dosis en casa durante la semana, hasta llegar a la ingesta de un huevo cocido. Esta fase se podía modificar según las reacciones del paciente. (ver anexo 4)

4.5.2. Fase de mantenimiento:

Se mantenía la ingesta de 3 huevos cocidos por semana además de huevo en productos industriales y cualquier otro tipo de procesamiento (excepto huevo crudo o poco hecho) durante 1 año.

4.6. Materiales

4.6.1. Historia clínica

Las variables previamente detalladas se recogieron mediante una base de datos en Excel para su posterior análisis usando paquetes estadísticos.

4.6.2. Prueba cutánea

Extractos para pruebas cutáneas:

Extracto comercial de yema (10 mg/ml) (Laboratorios ALK- Albelló)

Extracto comercial de clara (10 mg/ml) (Laboratorios ALK- Albelló)

Extractos de ovoalbúmina, (Laboratorios ALK- Albelló)

Extracto comercial de ovomucoide (10 mg/ml) (Laboratorios ALK- Albelló)

Controles para pruebas cutáneas:

Control positivo: clorhidrato de histamina a 10 mg/ml (Laboratorios ALK- Albelló)

Control negativo: solución salina (Laboratorios ALK- Albelló)

Lancetas estériles de un solo uso (Laboratorios ALK- Albelló)

4.6.3. Pruebas “in vitro”

InmunoCAP :IgE total, clara, yema, ovoalbúmina, ovomucoide, IgG4 (Pharmacia Diagnostics, Uppsala, Suecia).

4.6.4. Provocación oral

Batido de huevo cocido según nuestro protocolo, aportado por los padres

Clara cruda pasteurizada

Vasos, platos y cubiertos de plástico

5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

5.1. Variables de los Resultados del Estudio

5.1.1. Eficacia:

- **Grupo Activo:** La respuesta a la inmunoterapia fue clasificada de tres formas:
 - **Desensibilización completa:** Si el niño es capaz de ingerir la cantidad de batido equivalente a un huevo cocido entero sin presentar síntomas.
 - **Desensibilización parcial:** Si hay un aumento en el umbral de tolerancia respecto a la provocación inicial. Es decir si es capaz de tolerar una cantidad de batido equivalente a mayor cantidad de proteína que la que dosis desencadenante de reacción en la provocación inicial, pero que no llega a tolerar un huevo cocido entero por reacciones adversas incontrolables.
 - **No desensibilización:** Si el niño no es capaz de tolerar una cantidad de batido con un contenido de proteínas de huevo superiores a la dosis desencadenante de reacción en la provocación inicial.
- **Grupo control:** Se repetirá una prueba de provocación oral según la metodología ya descrita previamente a los 12 meses. De acuerdo a los resultados, se clasificará al niño como Alérgico persistente o Alergia resuelta.

5.1.2. Seguridad

Se recogieron todas las reacciones adversas en el transcurso de la inmunoterapia, tanto en el hospital como en el domicilio. Se recogen el número y la gravedad de las mismas. Se consideraba reacción adversa relacionada con la inmunoterapia según la EAACI(9). Para la gravedad, utilizamos la clasificación CoFar(153).

- **Grupo activo:**
Todas las reacciones alérgicas ocurridas dentro de las 2 horas de la ingesta de las dosis de inmunoterapia, se registraron (número y medicación requerida) y se clasificaron, según los criterios ya mencionados (153).
- **Grupo Control:**
En el grupo control se registraron las transgresiones con huevo, si son sintomáticas o no y la gravedad de las mismas, mediante los mismos criterios mencionados anteriormente. Para la recogida de las mismas se contactará con los familiares vía telefónica preferente. Posteriormente el resumen de las transgresiones se revisó a los 12 meses, previa a una nueva provocación con huevo cocido.

5.2. Estadística descriptiva.

Las variables cualitativas se presentarán con su distribución de frecuencias e intervalo de confianza al 95% (IC 95%) y las cuantitativas se resumirán en su mediana y rango intercuartílico. Para comprobación de la normalidad se aplicaron las pruebas de Shapiro-Wilk (normalidad si $p > 0,05$).

5.3. Estadística analítica.

Comparación de las características basales de los sujetos entre ambos grupos de estudio

Se evaluó la asociación entre variables cualitativas con el test de chi-cuadrado ó prueba exacta de Fisher, en el caso de que más de un 25% de los esperados fueran menores de 5. Las comparaciones de medias se realizaron mediante el test de la t de Student, previa realización del test de homogeneidad de varianzas de Levene si las variables siguieran una distribución normal. Para las variables que se describen con mediana y Rango intercuartílico (p25-p75) se utilizó el test no paramétrico U de Mann-Whitney.

Evolución de las pruebas cutáneas, IgE específica e IgG4 tras la inmunoterapia en el tiempo

Se estudió la evolución dentro de cada grupo de estudio del tamaño de las pápulas de las pruebas cutáneas, los niveles de IgE específica e IgG4 entre al momento inicial, al finalizar la fase de inducción de la desensibilización y al año. Posteriormente de forma anual durante el seguimiento de los pacientes.

Se comparó la evolución entre el momento basal y cada uno de los tiempos de seguimiento mediante la prueba no paramétrico de Wilcoxon para datos apareados. Estas pruebas se utilizaron para estudiar las diferencias intra-grupo.

Factores asociados a eficacia y seguridad de la inmunoterapia

Análisis de los tamaños de las pápulas de las pruebas cutáneas, los niveles de IgE específica, dosis de reacción y síntomas en la provocación oral con huevo cocido, al inicio del estudio como factores predictores del resultado de la inmunoterapia y de la provocación con huevo crudo.

Se estudió la relación entre las variables independientes y las variables de resultado, mediante el cálculo del coeficiente de correlación lineal de Pearson en caso de que ambas variables siguieran una distribución normal. Se utilizó el cálculo del coeficiente de correlación no paramétrico de Spearman si no se cumplieran la condición de normalidad de las variables. Estos coeficientes presentan la propiedad de estar comprendido entre +1 (asociación lineal perfecta positiva) y -1 (asociación lineal perfecta negativa). Un valor nulo no indica ausencia de relación, sino ausencia de asociación lineal entre las variables.

La relación entre las variables independientes cuantitativas y las variables de resultados cualitativas dicotómicas se llevó a cabo mediante una comparación una regresión logística, obteniendo OR.

Para aquellas variables cuantitativas que presentaron una relación significativa con las variables de resultado cualitativas dicotómicas se calcularon las curvas ROC ("Receiver Operating Characteristic") con el objetivo de identificar el mejor punto de corte con mayor sensibilidad y especificidad. El área bajo la curva ROC es un valor comprendido entre 0,5 y 1 que se utiliza como medida de exactitud global; un área igual a 1 indica que una prueba diagnóstica perfecta, mientras que una prueba sin poder diagnóstico le corresponde un área igual a 0,5. Se calculó la sensibilidad y especificidad para aquellos puntos de corte que maximizaron los valores de sensibilidad y especificidad en función de las coordenadas de la curva ROC.

Datos de tiempo de mantenimiento transcurrido hasta alcanzar o no la tolerancia de un huevo crudo

Para realizar esta evaluación, se realizará un análisis de supervivencia, el cual estima la probabilidad de supervivencia acumulada a lo largo del tiempo por el método de Kaplan- Meier. En este caso, se considerará como evento a la tolerancia de huevo crudo. Se comparará el grupo activo a un año, con el grupo control a un año, ya que a este grupo control solo se le ha seguido durante un año, por medio de la comparación de curvas de supervivencia con el test del log-rank (Harzard Ratio). En todos los contrastes de hipótesis se rechazó la hipótesis nula con un error de tipo I o error alfa menor a 0,05. Se considera como significativo un valor de $p < 0,05$.

Como herramientas para realizar el la limpieza de datos y el análisis estadístico se utilizarán los paquetes informáticos STATA

Todas las metas clínicas fueron analizadas por intención a tratar.

6. ASPECTOS ÉTICOS

Todas las actividades clínicas se realizarán de acuerdo a los principios éticos (Declaración Helsinki-Seoul 2008 y normas de Buena Práctica Clínica) y a las Directivas Nacionales y/o Europeas (Directivas EU 2001/20/EC, 2001/83/EC y FP7 Decision N° 1982/2006EC) y la ley de Protección de datos de carácter personal15/99, respetándose la confidencialidad de estos datos en todo momento.

El proyecto se encuentra aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Ramón y Cajal.

7. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

La principal limitación del presente estudio es que no es aleatorizado, y las pruebas de provocación realizadas en los pacientes, no siguieron la metodología con un doble ciego controlado por placebo, sino que fueron abiertas.

	<p>CAPÍTULO V</p> <p>RESULTADOS</p>
--	---------------------------------------------------

V CAPÍTULO 5: RESULTADOS

1. PACIENTES

1.1 Características Generales

De los 70 pacientes que acudieron a las consultas del Servicio de Alergia del hospital universitario Ramón y Cajal en el período comprendido entre junio del 2010 y junio del 2015, con diagnóstico de alergia persistente al huevo, 68 cumplían los criterios de inclusión y aceptaron participar en el estudio.

Tras una prueba de provocación oral positiva o transgresión reciente positiva, se incluyeron un total de 47 pacientes consecutivos que aceptaron recibir la pauta de la Inmunoterapia y 21 pacientes que no recibieron la inmunoterapia(IT) y se consideraron controles (ver figura 10). Los 47 pacientes concluyeron el protocolo de inmunoterapia con un 100% de desensibilización completa.

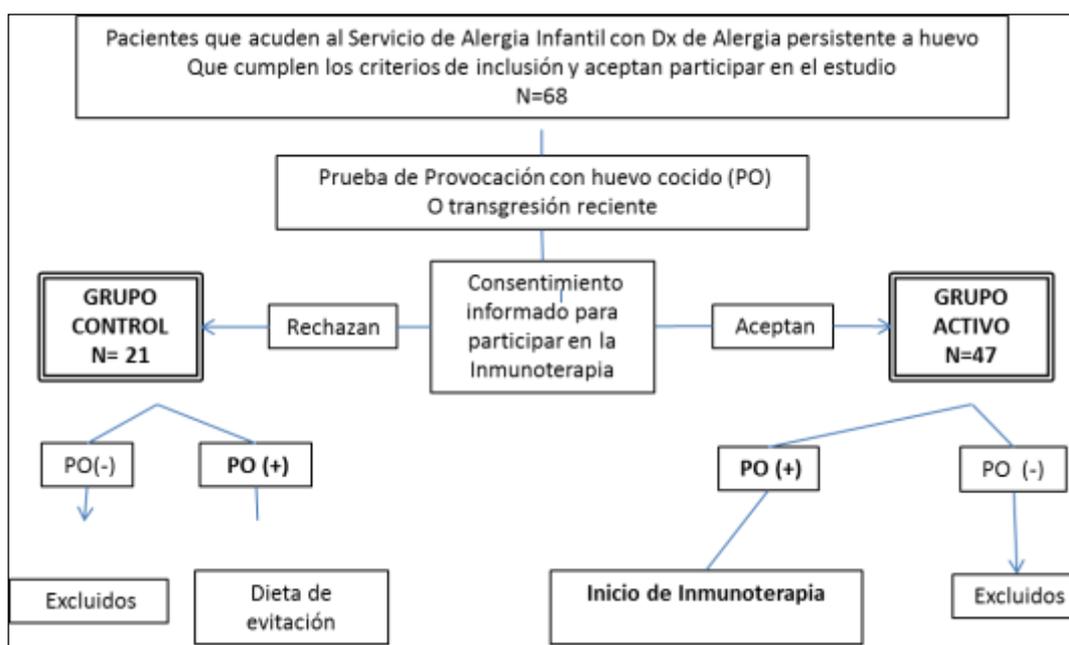


Figura 10: Flujograma de pacientes incluidos en el estudio.

De los 47 pacientes activos, 27 fueron varones (57% IC95% 42,8-72) y de los 21 controles un total de 8 fueron varones (38% IC95% 16,4-59,7).

La media de edad al T0 de la inmunoterapia en el grupo de los activos es 9.2 años (IC95%: 7,7-10,65) y la media de edad de los controles al T0 es 10,11 años (IC95%: 9,3-10,9) (p=0,23)

Tabla11: Características de los pacientes al T0(inicio) de la IT

Sexo	Casos N(%)	Controles N(%)	P
Varón	27(57%) IC95%: 42.8-72%	8 (38%) IC95%: 16.4-59.7	0.134
Mujer	20 (42%) IC95% 28-57.1)	13 (61.9%) IC95% 40.2-83.5).	
Edad	Casos	Controles	P
Al T0	9.2 años (IC95%: 7.7-10.65)	10.11 años (IC95%: 9.3-10.9)	0.231
Pruebas cutáneas al T0	Casos	Control	P
	Mediana (P25-p75)	Mediana (P25-p75)	
Huevo	8.5(6-11.5)	9 (7-11)	0.5511
Clara	10(7-14)	10 (7-11)	0.30
Yema	9(6-11)	7(6-10)	0.2012
OVA	10(8-15)	9(6-13)	0.1651
OVM	12(9-17)	9(7-12)	0.029*
Niveles de IgE en T0	Casos	Controles	P
	Mediana (P25-p75)	Mediana (P25-p75)	
IgE total	222.5(121-599)	200(125-688)	0.8414
IgE Clara	3.79 (1.66-9.78)	3.51(1.7-8.5)	0.8943
IgE yema	0.91 (0.39-2.23)	1.18 (0.54-1.94)	0.8336
IgE OVA	1.82(1-5.3)	2.27(1.07-4.96)	0.8348
IgE OVM	4.02(1.34-8.14)	3.29 (0.72-8.9)	0.6587
Niveles de IgG4 en T0	Casos Mediana	Controles Mediana (P25-p75)	P
	(P25-p75)		
IgG4 OVA	0.12 (0.045-0.48)	0.195 (0.13-1.3)	0.16
IgG4 OVM	0.09 (0.03-0.27)	0.09 (0.02-0.18)	0.91
Proporción de	Casos	Controles	P
IgE OVM/IgE Clara	Mediana (P25-p75)	Mediana (P25-p75)	
En la T0			
IgEOVM/IgEclara	1.06 (0.75-1.22)	0.84 (0.44-1.18)	0.297
Enfermedades Atópicas	Casos	Controles	P
	Porcentaje (IC 95%)	Porcentaje (IC 95%)	
Rinitis alérgica	74.4 (61.6-87.3)	57.14 (35-79.2)	0.1531
Asma por HS a pólenes	59.5 (45.1-74)	57.14 (35-79.2)	0.8507
Asma por HS a epitelios	27.6 (14.4-40.8)	33.3 (12.2-54.37)	0.6352
Dermatitis Atópica	68 (54.3-81.8)	80 (63.4-98.4)	0.2746
Alergia a algún alimento (además del huevo)	61.7 (47.3-76)	71.4 (51.2-91.5)	0.585
Alergia a frutos secos	34 (20-48)	66.6 (45.6-87.7)	0.018*
Alergia a las proteínas de leche de vaca	17 (5.9-28)	9.5 (0-22.6)	0.712
Alergia a pescados	19 (1.5-36.5)	21.2 (9.2-33.3)	0.8337
Alergia al kiwi	8.5 (0-16.7)	4.7 (0-14.2)	0.5842
Alergia a mariscos	10.6 (1.5-19.7)	19 (1.5-36.5)	0.442
Otros alimentos	12.7 (2.9-22.5)	0	0.166
Ninguna otra enfermedad atópica	6.3 (0-13.5)	4.7 (0-14.2)	1.000

Las características inmunológicas al inicio de la inmunoterapia (T0), fueron muy parecidas entre los casos y controles, con excepción del diámetro de la prueba cutánea frente al OVM, que fue estadísticamente significativa más grande en los casos respecto a los controles (ver tabla11). En los casos, los niveles de IgE específico frente a clara y OVM tenían una mediana entre 3,5 y 4 UI/l respectivamente, sin diferencia significativa con los controles. Los niveles de IgE específica frente a OVM fueron similares a los valores de IgE específica frente a clara, sobre todo en los casos, sin llegar a una significación estadística comparada con los controles. Las cifras de IgG4 frente a OVA y OVM oscilan entre 0,09-0,12UI/L tanto en los casos como en los controles. (ver tabla11).

Entre el 93,7-95,3% de los pacientes, tanto del grupo activo como de los controles respectivamente, tiene alguna otra enfermedad alérgica concomitante. Por ejemplo, un 74 % de los pacientes del grupo activo tiene rinitis, un 59% asma y un 68% dermatitis atópica. Si consideramos el porcentaje de pacientes que tiene alergia a algún alimento, es un 61% en el grupo activo y 71% en los controles. Los alimentos más frecuentemente hallados como causa de alergia en este estudio son: frutos secos (34% en activos y 66% controles), leche de vaca (17 y 9,5% activos y controles respectivamente), pescados 19 y 21%), kiwi (8,5 y 4,7%), mariscos (10 y 19%). Dentro de la alergia a otros alimentos, encontramos alergia a legumbres (lenteja, garbanzos) y frente a LTP (ver tabla 11).

1.2 Características clínicas e inmunológicas al momento del diagnóstico inicial

Tabla12: Características al momento del diagnóstico inicial

Síntomas al diagnóstico inicial	Casos Porcentaje (intervalo de confianza al 95%)	Controles Porcentaje (intervalo de confianza al 95%)	P
Vómitos	34% (20-48%)	52% (30-74.6%)	0.186
Urticaria Generalizada	40.4%(25,8 – 54.9%)	47.6% (25.3-69.9%)	0.606
Dermatitis atópica	6.3% (0-13.5%)	4.7% (4.7-14.2%)	1.000
Dolor abdominal	4.2% (0,17-10,2%)	9.5%(3.5-22%)	0.582
Urticaria de contacto	34% (19-48%)	38% (16.4-59.7%)	0.788
Angioedema	8,5% (0-16%)	9,5% (3.5-22.6%)	1.000
Diarrea	6,3% (0-13%)	0%	0.547
Anafilaxia	4.2% (0-10%)	9.5% (3.5-22.6%)	0.582
Ninguno. Solo sensibilizado	12% (2.8-22%)	0%	0.166
Pruebas cutáneas al diagnóstico inicial	Casos activos Media en mm (DE)	Controles Media en mm (DE)	P
Clara	10.48 (3.5)	10.5 (5.11)	0.6387
Yema	7.76 (3.97)	9 (4.96)	0.6620
OVA	10.36 (3.64)	10.8 (5.18)	0.8461
OVM	12.2 (5.04)	11.25 (5.27)	0.5110
Niveles de IgE	Casos Mediana (P25-p75)	Controles Mediana (P25-p75)	P
IgE total	95.5 (28-208)	43 (25-299)	0.5022
IgE Clara	5.5 (2,28-14.6)	2.7 (1.33-7.12)	0.1920
IgE yema	0.92 (0.35-2.12)	0.6 (0.34-1.51)	0.2871
IgE OVA	5.8 (2.3-13.9)	2.53 (1.06-8.51)	0.13
IgE OVM	4.22 (1.71-11.4)	1.66 (0.81-6.34)	0.068

La media de edad al momento del diagnóstico inicial de alergia al huevo fue de 11,7 meses (IC95% 10,2-13 meses) en los casos y 11,2 meses (IC95% 9,8-12) en los controles (p=0,23). La sintomatología más frecuente que suscitó la consulta inicial fue la urticaria generalizada (ver tabla12). No se han encontrado diferencias significativas entre los síntomas referidos en la reacción por la que consultaron los pacientes al momento del diagnóstico inicial y los controles.

En cuanto a las características inmunológicas de los pacientes al momento del diagnóstico inicial, no se encontraron diferencias significativas entre el grupo activo y el grupo control. La mediana de los niveles de IgE total al diagnóstico es de 95,5 KUI/L (p25-75: 28-208kUI/L), con unos valores mínimos de 7 kUI/l hasta unos máximos de 1052kUI/l. Al diagnóstico, la mediana de tamaño de pápula de la prueba cutánea fue de 10,48mm (clara), 10,36mm (OVA) y 12,2mm (OVM), sin diferencias significativas respecto a los controles (ver tabla12). La mediana de valores de IgE específica frente a huevo y sus fracciones fue ligeramente más alta en los casos, pero sin significancia estadística. (ver tabla12)

2. CARACTERÍSTICAS DE LA PROVOCACIÓN ORAL INICIAL CON HUEVO COCIDO

Se realizó una provocación oral con huevo cocido antes de la inmunoterapia en 39 de los 47 pacientes (82.9% IC95%:71.9-94%) y en 8 de los 21 controles (38% IC95%: 18.1-61.5%). La dosis desencadenante en la provocación de los casos activos tiene una mediana 3.65g de huevo cocido (p25-75: 2-13gr). Se diagnosticaron con transgresión en los 3 meses previos a la inclusión del estudio, 8 pacientes en el grupo activo y 13 pacientes del grupo control.

Los síntomas más frecuentes durante la provocación oral con huevo cocido fueron dolor abdominal (36%), angioedema (19%), urticaria de contacto (17%)(ver tabla 13). En los casos se evidenció hasta un 34% de anafilaxia, comparado con un 70% de anafilaxia en los controles, sin significancia estadística. Los casos también tuvieron más urticaria generalizada que los controles (12.7%). Los controles tuvieron más rinitis (57%) que los casos (14.8%) siendo significativo (p=0.04) (ver tabla13). El grado de severidad de la provocación no fue diferente de forma significativa entre los casos y los controles. El 50% de los casos tuvo una provocación con huevo cocido de grado 2.

Tabla13: Síntomas con la provocación oral inicial con huevo cocido

Síntomas con la Provocación oral con huevo cocido	Casos (39/47) Porcentaje (intervalo de confianza al 95%)	Controles (8/10) Porcentaje (intervalo de confianza al 95%)	P
Vómitos	14% (4-25%)	14.8%(4.3-25%)	0.604
Urticaria generalizada	12.7% (2-22%)	71.4%(34.4-100%)	0.005*
Dolor abdominal	36.1% (21-50%)	28.57% (0-65%)	1.000
Angioedema	19.1% (7-30%)	42.8% (2-83.3%)	0.352
Rinitis	14.8% (4.3-25%)	57.1%(16.6-97.66%)	0.042*
Urticaria de contacto	17% (5.8-28%)	0%	1.000
Urticaria peribucal	10.6% (1.4-19.7%)	0%	1
Tos	8.5% (0.2-16%)	14.2% (0-42.9%)	0.559
Anafilaxia	34% (19.9-48%)	70%(34-93%)	0.07
Prurito faríngeo	12.7% (2.8-22.6%)	0%	0.575
Grado de Severidad de la reacción en la Provocación oral con huevo cocido	Casos Porcentaje (intervalo de confianza al 95%) N=47	Controles Porcentaje (intervalo de confianza al 95%) N=8	P
Grado 1	65.95 (51.9-79.96)	50 (12.11-87.88)	0.39
Grado 2	34.04 (20-48)	50 (12.11-87.88)	
Grado 3	0	0	
Grado 4	0	0	

3. RESULTADOS DEL PROTOCOLO DE INMUNOTERAPIA

El 100% de los 47 pacientes sometidos a la inmunoterapia fue capaz de llegar al objetivo de tolerancia de un huevo completo cocido. Es decir, no se tuvo ningún paciente con desensibilización parcial o no desensibilizado.

De los 47 pacientes, 43 continuaron tolerando huevo cocido 3 veces por semana, sin presentar ningún tipo de sintomatología. 4 pacientes (8.5%), tras unos meses de mantener la tolerancia, abandonaron la toma de huevo cocido tres veces por semana por rechazo del alimento y/o presencia de síntomas esporádicos asociados a su ingesta. Por este motivo, se les retiró la ingesta de huevo completo, pero se les permitió la toma de alimentos con huevo como bollería y todos los alimentos cocinado o manufacturados con trazas con huevo.

A continuación, se detallan las características y evolución de estos 4 pacientes considerados como pérdida de la desensibilización en el mantenimiento: El paciente 27, concluyó la fase de inducción de inmunoterapia en 16 semanas, pero persistía con dolor abdominal tras la ingesta de huevo, por lo que tras 6 meses, los padres decidieron dejar de darle huevo, pero tolera bollería con huevo sin problemas.

El paciente 17 tras una fase de inducción de IT de 14 semanas, tuvo una provocación positiva a un año con huevo crudo, pero continuó con la ingesta de huevo cocido, con dolor abdominal esporádico. A los 6 meses de esta provocación, suspendió la ingesta regular de huevo por rechazo y desde entonces sólo ingiere rebozados y bollería con huevo.

El Paciente 37 tras una fase de inducción de 25 semanas de duración, con 3 reacciones adversas, continuó con la ingesta de huevo cocido, pero con dolor abdominal leve esporádico. Por este motivo a los 9 meses de terminada la inducción de la IT, los padres dejaron de darle huevo, pero tolera bollería con huevo.

El paciente 19, fue capaz de consumir un huevo tras una fase de inducción de 20 semanas, teniendo 8 reacciones en esta fase, requiriendo adrenalina en una de ellas. Por problemas logísticos, se perdió en el mantenimiento.

De los 21 pacientes controles, sólo se llevó a cabo una prueba de provocación oral al año en 8 pacientes, por lo tanto la información de estos pacientes sólo se utilizará para las comparaciones de los valores analíticos inmunológicos, pero no para el procesamiento de datos clínicos, que se detallarán más adelante. Todos los pacientes controles provocados reaccionaron al huevo cocido al año de su inclusión al estudio (provocación oral Positiva en el 100% de los controles)

En cuanto a la duración de la inmunoterapia, según protocolo, la inducción estaba calculada para 16 semanas. La duración media de esta fase en los pacientes fue de 18.9 semanas (IC95% 14.29-21.57), con un mínimo de 7 semanas hasta un máximo de 40.86 semanas. Se consideró una inmunoterapia larga si la duración de ésta era mayor de la media (≥ 19 semanas).(ver figura10)

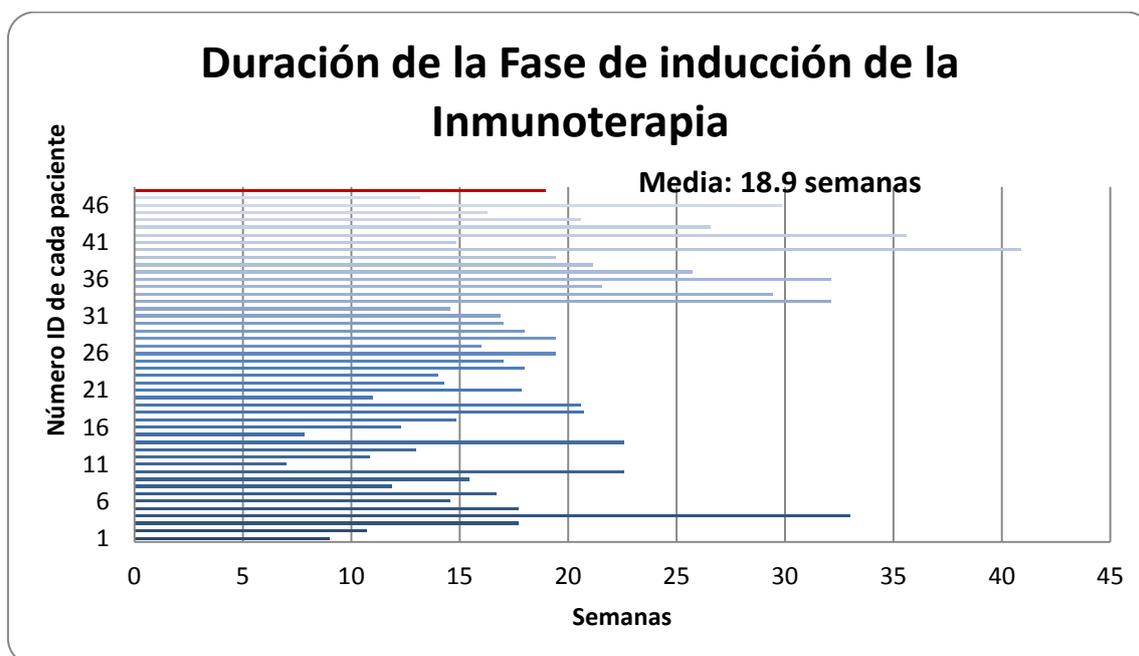


Figura 10: Duración de la Fase de inducción de la Inmunoterapia

La fase de mantenimiento de los pacientes tiene una mediana de 25.6 meses (P25-75: 13.1-44), con un valor mínimos de 1.55 meses (40 días) y unos máximos de 71.8 meses(5.9 años). Un 55.3% (IC95% 40.1-70%) de los pacientes, tienen un tiempo de mantenimiento mayor de 2 años y un 44.6% (IC95% 30-59.8%) entre 1 y 2 años (ver tabla 14).

Tabla 14: Tiempo de duración de la fase de mantenimiento de la Inmunoterapia.

Fase de mantenimiento	Número de pacientes	Porcentaje del total (IC95%)
Menos de 1 año	11	23.4% (12.3-38)
1-2 años	10	21.27% (10.7-35.6)
2-3 años	11	23.4% (12.3-38)
+ de 3 años	15	31.9%(19-47.1)
Total	47	100%

3.1 Características de los pacientes y controles a un año de la Inmunoterapia

Se encontraron diferencias significativas en el diámetro de la prueba cutánea frente a clara y OVA al T1a entre los casos y controles (ver tabla 15).

Al evaluar los cambios en los niveles de IgE en los casos, al año de la inmunoterapia, se observa un descenso significativo en todas las fracciones, sobretodo en la IgE OVA y yema. Para confirmar esta disminución, se estudió también el porcentaje de descenso de los niveles de IgE desde el T0 hasta un año después, y se encontró una diferencia significativa comparada con los controles. Al evaluar sólo a los controles, también se evidencia un descenso, pero no significativo para ninguna fracción. (ver tabla15). Se evidencia un aumento significativo en los niveles de IgG4 frente a OVA y OVM en los casos al año de la inmunoterapia y si se compara estos niveles al año con los controles, también se encuentran diferencias significativas (ver tabla15).

Otra variable analizada es la proporción de OVM respecto a la clara en cada paciente al T0 de la inmunoterapia y no se encontró diferencias significativas con los controles (ver tabla 15)

En resumen, se encontraron diferencias significativas entre los casos y controles a un año de la inmunoterapia (T1a), tanto en prueba cutánea (clara y OVA), niveles de IgE específica (OVA y yema) e IgG4 (OVA y OVM).

Tabla15: Características inmunológicas al Inicio(T0) y a un año (T1a) de la Inmunoterapia en casos y controles

Pruebas Cutáneas	Casos al T0 Mediana (P25-p75)	Control al T0 Mediana (P25-p75)	P	Casos T1a Mediana (P25-p75)	Control T1a Mediana (P25-p75)	P
Huevo	8.5(6-11.5)	9 (7-11)	0.5511	6 (5-10)	9 (7-11)	0.122
Clara	10(7-14)	10 (7-11)	0.30	6 (5-11)	12 (9-14)	0.029*
Yema	9(6-11)	7(6-10)	0.2012	5(3-6)	4(3-6)	0.237
OVA	10(8-15)	9(6-13)	0.1651	6(5-8)	8(5-9)	0.012*
OVM	12(9-17)	9(7-12)	0.029*	8(6-11)	9(7-12)	0.134
Niveles de IgE	Casos al T0 Mediana (P25-p75)	Controles al T0 Mediana (P25-p75)	P	Casos: Niveles al T1a Mediana (P25-p75)	Controles T1a Mediana (P25-p75)	P
IgE Clara	3.79 (1.66-9.78)	3.51(1.7-8.5)	0.8943	1.31 (0.74-3.15)	1.84(0.57-5.52)	0.6125
IgE yema	0.91 (0.39-2.23)	1.18 (0.54-1.94)	0.8336	0.27(0.11-0.445)	0.78(0.28-1.1.7)	0.013*
IgE OVA	1.82(1-5.3)	2.27(1.07-4.96)	0.8348	0.615(0.25-0.96)	1.32 (0.4-2.09)	0.0489*
IgE OVM	4.02(1.34-8.14)	3.29 (0.72-8.9)	0.6587	1.1(0.65-2.84)	1.22 (0.49-7.13)	0.8748
Niveles de IgG4	Casos al T0 Mediana (P25-p75)	Controles al T0 Mediana (P25-p75)	P	Casos: al T1a Mediana (P25-p75)	Controles: al T1a Mediana (P25-p75)	P
IgG4 OVA	0.12 (0.045-0.48)	0.195 (0.13-1.3)	0.16	2.11 (0.61-5.52)	0.25(0.08-1.27)	0.0012*
IgG4 OVM	0.09 (0.03-0.27)	0.09 (0.02-0.18)	0.91	3.07 (0.88-7.6)	0.05 (0.02-0.24)	0,00*
Proporción de IgE OVM/IgE clara	Casos al T0 Mediana (P25-p75)	Controles al T0 Mediana (P25-p75)	P			
IgEOVM/IgEclara	1.06 (0.75-1.22)	0.84(0.44-1.18)	0.297			

3.2 Cambios inmunológicos producidos durante el proceso de la inmunoterapia

Para evidenciar los cambios producidos con la inmunoterapia, se compararon los parámetros inmunológicos al inicio de la inmunoterapia (T0) con los del final de la fase de inducción o final de la desensibilización (Td), con el T1a y T2a. En pruebas cutáneas e IgE específica frente a los alérgenos probados, el diámetro de la prueba cutánea disminuyó del T0 al Td y del T0 al T1a, siendo estadísticamente significativa en el caso de la yema y OVA (ver tabla 16). Si comparamos las pruebas cutáneas del T0 con las obtenidas a los 2-3 años de la inmunoterapia, encontramos un descenso significativo en todas las fracciones del huevo (ver tabla 16). Asimismo, los niveles de IgE específica frente a todas las fracciones de huevo disminuyeron de forma estadísticamente significativa en el tiempo (ver tabla 16 y figura 11)

También se calculó el porcentaje de descenso de la IgE específica frente a las diferentes proteínas del huevo desde el T0 al Td, del T0 al T1a y del T0 al T2. Se encontró que el descenso más importante se dio en la IgE frente a OVA y yema, que descendieron en casi un 50% al Td (ver tabla 16), entre un 60-70% al año y entre un 72-77% al T2a (ver tabla 17).

Los niveles de IgG4 frente a OVA y OVM son muy bajos al T0 y aumentaron de forma significativa al T1a (ver figura 12).

Tabla 16: Evolución de las pruebas inmunológicas en el tiempo

Pruebas cutáneas	T0 Mediana (P25-p75)	Td Mediana (P25-p75)	T0vs Td P	(T1a) Mediana (P25- p75)	T0 vs T1a P	(T2a) (en mm de diámetro)	T0vs T2a P
Clara	10(7-14)	5(4-10)	0.1200	6 (5-11)	0.003*	6(3.5-8.5)	0.0004*
Yema	9(6-11)	4(3-5)	0.0016*	5(3-6)	0.0015*	5(2.5-6)	0.0016*
OVA	10(8-15)	5(4-9)	0.0044*	6(5-8)	0.0065*	4(3-6)	0.0004*
OVM	12(9-17)	9(4-12)	0.0632	8(6-11)	0.02	7(5-10)	0.0008*

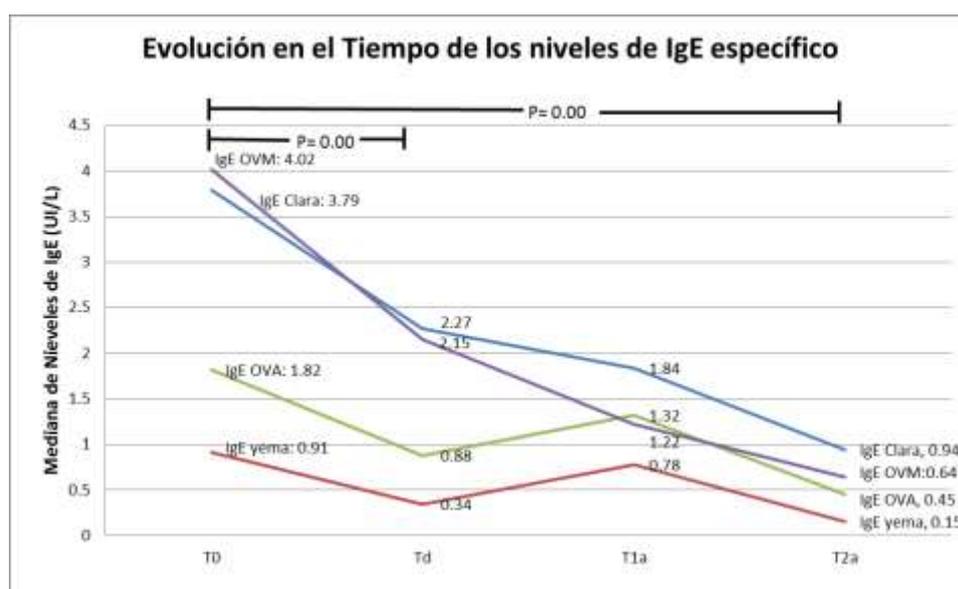


Figura 11: Evolución en el tiempo de los niveles de IgE OVA y OVM

Tabla17: Porcentaje de disminución desde el T0, Td y T1a N=47 (casos)

Porcentaje de disminución de IgE específica	Mediana Porcentaje de disminución del T0 al Td (P25-p75)	Mediana Porcentaje de disminución del T0 al T1a (P25-P75)	Mediana Porcentaje de disminución desde el T0 al T2a (P25-P75)
IgE Clara	36(7-42)	51 (37.5-70)	68 (47.6-77.8)
IgE yema	49.5(27-62)	59 (35.6-78)	72(41.1-81.5)
IgE OVA	48(32-65)	67 (52-83)	77(54.6-85.3)
IgE OVM	26.5(13-49)	51 (31-67)	65(50.6-71.2)

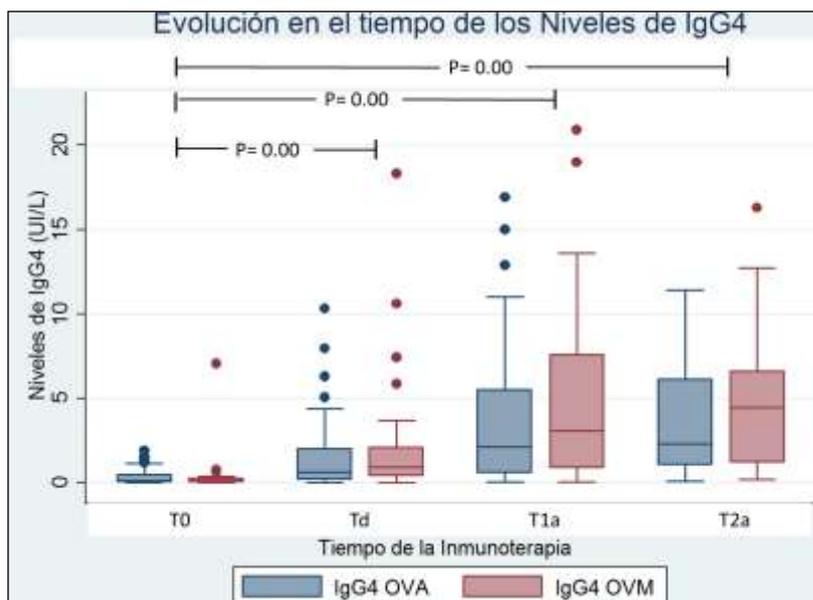


Figura 12: Evolución en el tiempo de los niveles de IgG4 frente a OVA y OVM

3.3 Seguridad

En total, se evidenció que 30 pacientes tuvieron alguna reacción alguna vez durante el proceso de la inmunoterapia (63.8% IC95%:48.5-77.3%). El número total de reacciones adversas han sido 124, de un total de 19715 dosis (0.62% IC95%: 0.52-0.74%).

3.3.1.1 Reacciones durante la fase de Inducción

De los 47 pacientes que participaron en este protocolo, 30 tuvieron al menos alguna reacción (63.8%). El número total de reacciones durante esta fase es de 105. La media de reacciones es de 2.3 reacciones por paciente (DE=2.76), siendo la mínima ninguna reacción y la máxima 9 reacciones por paciente.

Los síntomas observados durante la fase de inducción fueron los siguientes: 40.4 % dolor abdominal, 27.6% prurito faríngeo, 14.8% vómitos y 12.7% urticaria peribucal. De forma importante, hay que destacar que un 4.2% de las reacciones ésta fue una anafilaxia (ver tabla 18) Se evidenciaron 43 reacciones en el hospital durante esta fase en 27 pacientes y 62 reacciones en domicilio en 13 pacientes.

Si se considera el porcentaje de dosis totales (6242), la anafilaxia se presentó sólo en un 0.003% de las dosis. Hubo más reacciones proporcionalmente al número de dosis administradas en el hospital (4.8%) que en el domicilio (1.1%) (ver tabla19)

Tabla18: Reacciones durante la fase de Inducción

Reacciones durante la fase de Inducción	Porcentaje del número de pacientes con reacción N=47 (IC 95%)	Porcentaje del número de dosis totales (6242), IC 95%
Dolor abdominal	19(40.4%)(26-55.7%)	19 (0.304%)0.002- 0.005
Vómitos	7(14.8%)(6.2-28.3%)	7 (0.001%)0.0005 - 0.002
Urticaria peribucal	6(12.7%)(4.8-25.7%)	6 (0.0001%)0.0003 - 0.002
Prurito faríngeo	13(27.6%)(15.6-42.6%)	13 (0.002%)0.001- 0.0034
Anafilaxia	2(4.2%)(0.5-14.5%)	2 (0.003%)0.000- 0.001

Tabla 19: Reacciones durante la fase de Inducción en grados en hospital y domicilio

Dosis en fase de Inducción	Número de dosis Total	Número de reacciones	Porcentaje de reacción	Intervalo de confianza 95%
Hospital	892	43	4.8%	3.5-6.4%
		Grado1: 41	4.5%	3.3-6.2%
		Grado 2:2	0.002%	0.00-0.008%
Domicilio	5350	62	1.1%	0-1.4%
		Grado1:58	1%	0.008-0.014%
		Grado2:3	0.05%	0- 0.001%
Total	6242	105	1.6%	0-2%
		Grado1:99	1.58%	1.2-1.9%
		Grado2:5	0.08%	0-2%

La mediana de la dosis desencadenante de reacción, en el caso de que hubiera alguna fue de 8.6 gr (1/7 de huevo) (P25-p75: 1-16gr) y un rango de 0.2gr-33gr.

La mayoría de las reacciones fueron grado1 tanto en el hospital (4.5% de las dosis), como en domicilio (1% de las dosis) (ver tabla14). En un 80% de las reacciones no fue necesario administrar ninguna medicación. En un 25% se administró un antihistamínico vía oral, corticoides orales en un 12.7% y adrenalina fue empleada sólo en un 4.2% de las reacciones (ver tabla 20)

Tabla 20. Porcentaje de pacientes que requirieron tratamiento y tipo de tratamiento recibido durante la fase de Inducción

Utilización de medicación durante reacciones en fase de Inducción	N=47 Número de pacientes Porcentaje (%)	Intervalo de confianza 95%
Ninguno	38(80%)	66.7-90.8
Antihistamínico	12(25.5%)	13.9-40.3
Corticoides orales	6(12.7%)	4.8-25.7
Adrenalina	2(4.2%)	0-14.5

3.3.2 Reacciones Adversas en fase de Mantenimiento

Se observaron 19 reacciones en el mantenimiento en 12 pacientes (25.5% IC95%:13.9-40.3%). Si se considera las veces que han ingerido un huevo completo (2-3 veces en semana durante el periodo de mantenimiento), se obtienen 13473 dosis en los 47 pacientes, en las cuales sólo hubo reacción en 19, lo que da un 0.14% (IC: 0.001-0.22%).

La principal sintomatología fue prurito faríngeo. Las reacciones fueron en un 100% de grado 1 en esta fase. No hubo ningún caso de anafilaxia en la fase de mantenimiento (ver tabla21).

Los pacientes contaban alguna vez prurito oral con tortilla no muy hecha, pero no las consideramos como reacciones propias del proceso de desensibilización, pues la indicación era ingerir la tortilla muy cuajada.

Tabla 21: Reacciones en fase de mantenimiento

Reacciones en fase de Mantenimiento	Número de reacciones	Porcentaje del número de pacientes (N= 47)	IC 95%	Porcentaje del número de dosis (N=13473)	IC 95%
Vómitos	1	2.1	0-6.4	0.007	0-0.04
Urticaria peribucal	1	2.1	0-6.4	0.007	0-0.04
Prurito faríngeo	17	36.1	22.6-51.4	0.12	0- 0.2
Anafilaxia	0	0	0	0	0

3.4 Tolerancia al huevo crudo

Al año de mantenimiento de la inmunoterapia se realizaba la prueba de provocación con huevo crudo. La prueba de provocación, en caso de ser negativa, se repetía, si no había habido ninguna trasgresión, al año siguiente, obteniéndose los siguientes resultados:(ver flujograma en figura 13):

En total durante todo el estudio, se realizaron 40 provocaciones orales con huevo crudo en un total de 32 pacientes, hasta la fecha de cierre de la base datos. De estos 32 pacientes se encontró que 23 toleraron huevo crudo, lo que supone un 66.5% de los provocados (IC95% : 48.17-82%) ó por intención a tratar, un 48.9% de todos los pacientes (IC95%: 34-63.9%)

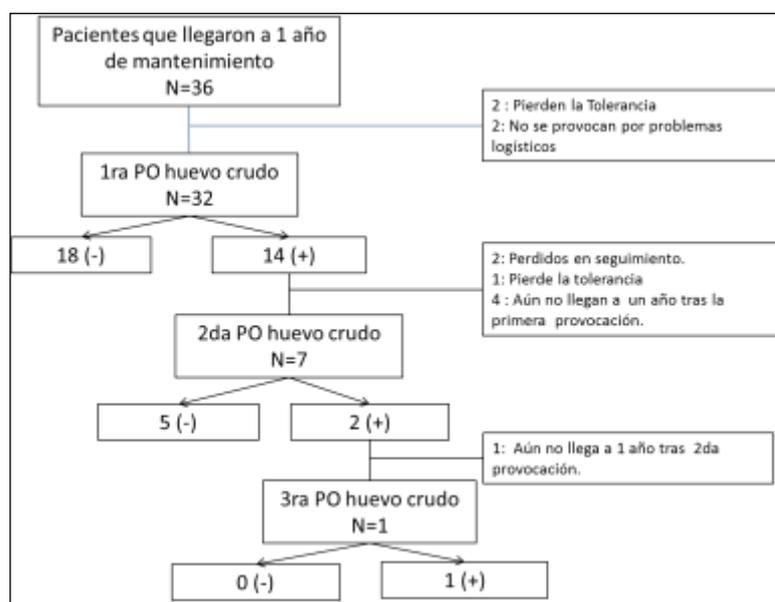


Figura 13: Flujograma de Resultados de Prueba de Provocación oral (PO) con huevo crudo.

De los 36 pacientes que llegaron a un año de mantenimiento, se provocaron 32, ya que 2 perdieron la tolerancia y con otros 2 pacientes no se logró coordinar la provocación por problemas logísticos al momento del cierre de la base de datos. De los 32 pacientes provocados en 18 pacientes la prueba fue negativa (56.25% IC95%: 37.6-73.6%) y en los 14 restantes fue positiva (ver figura 13)

Al año siguiente, de los 14 niños que habían tenido una provocación positiva, se volvieron a provocar sólo 7, ya que 2 se perdieron, 4 aún no llegaban al año de mantenimiento tras la primera provocación y uno perdió la tolerancia durante ese año. De los 7 pacientes provocados, 5 no tuvieron reacción y 2 tuvieron una provocación positiva. Sólo uno de ellos llegó con la terapia de mantenimiento un año más, teniendo por tercera vez una provocación positiva con huevo crudo (ver figura 13)

Los síntomas más frecuentes con la provocación con huevo crudo fueron: prurito oral (31%), anafilaxia (21%) y urticaria peribucal (12.5%). De las 40 provocaciones con huevo crudo, 17 (41%) fueron positivas grado1 y solo una fue grado 2 (2.5%). (ver tabla 22)

Tabla 22: Síntomas con la provocación con huevo crudo (N=32 pacientes provocados)

Síntomas con la Provocación con huevo crudo (N=32)	Número de pacientes provocados (%)	(Intervalo de confianza al 95%)
Ninguno	18 (56.2%)	26.6-63.7
Prurito Oral	10 (31%)	14.2-48.2
Anafilaxia	7 (21%)	6.7-37
Urticaria Peribuca	4 (12.5%)	0.3-24
Vómitos	3 (9.3%)	1.3-20
Rinitis	3 (9.3%)	1.3-20
Angioedema	2 (6.2%)	2.6-15.1
Grado de Reacción con la provocación con huevo crudo (N=40 provocaciones)	Número de provocaciones (%)	Intervalo de confianza 95%
Provocación negativa	22(53.8%)	37.1-70
Provocación positiva grado 1	17(41%)	25.5-58
Provocación positiva grado 2	1(2.5%)	0-13.4

3.4.1 Tiempo en alcanzar la tolerancia al huevo crudo

En un análisis de supervivencia para valorar el tiempo necesario en alcanzar la tolerancia al huevo crudo, se encontraron los siguientes resultados:

La mediana de supervivencia, es decir la mediana del tiempo de adquisición de tolerancia al huevo crudo fue 20 meses (P25-75: 13.2-42.53 meses).

Entre los pacientes que adquirieron la tolerancia al huevo crudo tras alguna provocación, se encontró que a los 2 años, ya el 50% de los pacientes era tolerante al huevo crudo (ver tabla 23)

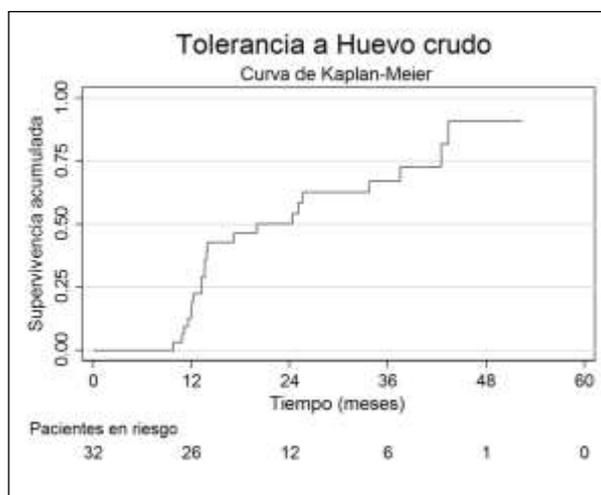


Figura 14: Gráfica de Kaplan-Meier de Tolerancia la huevo crudo

Tabla 23: Tabla de supervivencia de tolerancia al huevo crudo

Tolerancia de huevo crudo (años de concluida la DS)	Porcentaje acumulado de los que alcanzaron la tolerancia	IC 95%
1 año	16.4%	7-34.3
2 años	50.1%	33.7 -69.5
3 años	67.26	49.3 84
4 años	90.9	68.8-99.2

4. FACTORES ASOCIADOS

4.1 Con la duración de la fase de Inducción de la Inmunoterapia

Al correlacionar la edad de inicio (T0) de la inmunoterapia con la duración de la fase de inducción, se encontró una correlación inversa muy leve (RHO -0.13), sin significancia estadística (p=0.371). No existe diferencia entre la duración de esta fase entre niños y niñas (p= 0.8548). No se encontró diferencias significativas entre los pacientes que tuvieron una reacción grado 1 o grado 2 con la provocación inicial con huevo cocido y la duración de la inducción de la ITO (p=0.621) (ver tabla 23)

Tabla 23: Relación de la gravedad de la reacción en grados de la provocación inicial con huevo cocido con la duración de la inducción de la inmunoterapia.

Relación con la duración de la inducción de la Inmunoterapia			
Grado de reacción con la provocación	Media de duración (semanas)	Desviación estándar	P
1	19.4	8.01	0.621
2	17.9	6.46	

Se encontró que la dosis desencadenante de reacción en la provocación oral con huevo cocido está correlacionada inversamente con la duración de la inducción de la IT. Así, por cada disminución de un gramo en la dosis desencadenante de reacción, la duración de la inducción de la IT aumenta en 1.26 días (Coeficiente de regresión -0.18 IC95%:-0.34—0.02 p=0.03)(ver tabla 24)

En este estudio, las pruebas cutáneas al T0 han mostrado una correlación inversa muy débil con la duración de la inducción de la inmunoterapia, sin llegar a ser significativa en ningún caso (ver tabla 24).

Tabla 24: Correlación de con el tamaño de Pruebas Cutáneas e IgE específica frente a las proteínas alergénicas del huevo con la duración de la inducción de la Inmunoterapia

Correlación con la duración de la IT			
	Coef de Regresión	IC 95%	P
Edad al T0	-0.35	-1.17-0.47	0.390
Dosis desencadenante de reacción en PO	-0.18	-0.34-0.002	0.003*
Prueba cutánea al T0			
Clara	0.59	-0.2-1.3	0.139
Yema	-0.25	-0.94-0.43	0.459
OVA	-0.26	-0.88-0.35	0.392
OVM	-0.12	-0.62-0.38	0.631
Niveles de IgE específica al T0			
IgE Clara	0.15	0.04-0.27	0.008*
IgE yema	0.10	-0.09-0.31	0.300
IgE OVA	0.35	0.13-0.57	0.002*
IgE OVM	0.50	0.3-0.7	0.000*
Niveles de IgG4			
T0 IgG4 OVA	2.18	-3.79-8.15	0.459
T0 IgG4 OVM	-0.68	-3.11-1.75	0.571
Td IgG4 OVA	0.44	-0.62-1.51	0.400
Td IgG4 OVM	-0.04	-0.7-0.69	0.896
T1a IgG4 OVA	-0.13	-0.59-0.32	0.540
T1a IgG4 OVM	-0.02	-0.4-0.36	0.890
T2a IgG4 OVA	-0.13	-0.88-0.61	0.705
T2a IgG4 OVA	-0.02	-0.5-0.49	0.907
% de ascenso desde el T0 al TdIgG4			

IgG4 OVA	-0.01	-0.06-0.2	0.380
IgG4 OVM	0.04	-0.02-0.11	0.540
Cociente OVM/clara al T0	-0.45	-6.7-5.8	0.884
Reacciones adversas			
Fase de inducción	1.58	0.93-2.24	0.000*
Dosis desencadenante	0.23	0-3.4	0.176

Los niveles de IgE específica, frente a la clara, OVA y sobretodo OVM tienen una correlación directa débil al T0 con la duración de la fase de inducción de forma significativa (ver tabla 24 y figura 15). Es decir por un aumento de 1UI/ml de IgE específica frente a clara en T0, la duración de la inmunoterapia aumenta en 0.15 semanas (1 día).

El número de reacciones durante la fase de inducción ha mostrado un correlación débil, pero estadísticamente significativa con la duración de esta fase IT0; así, la presencia de una reacción más, aumenta la duración de esta fase en 1.58 semanas (11.06 días) (ver tabla 24 y figura 15)

Al realizar la prueba de correlación de la dosis de desencadenante de reacción y la duración de la inducción de la inmunoterapia, se encontró una asociación inversa débil ($r:-0.23$), sin significancia estadística ($p=0.176$).

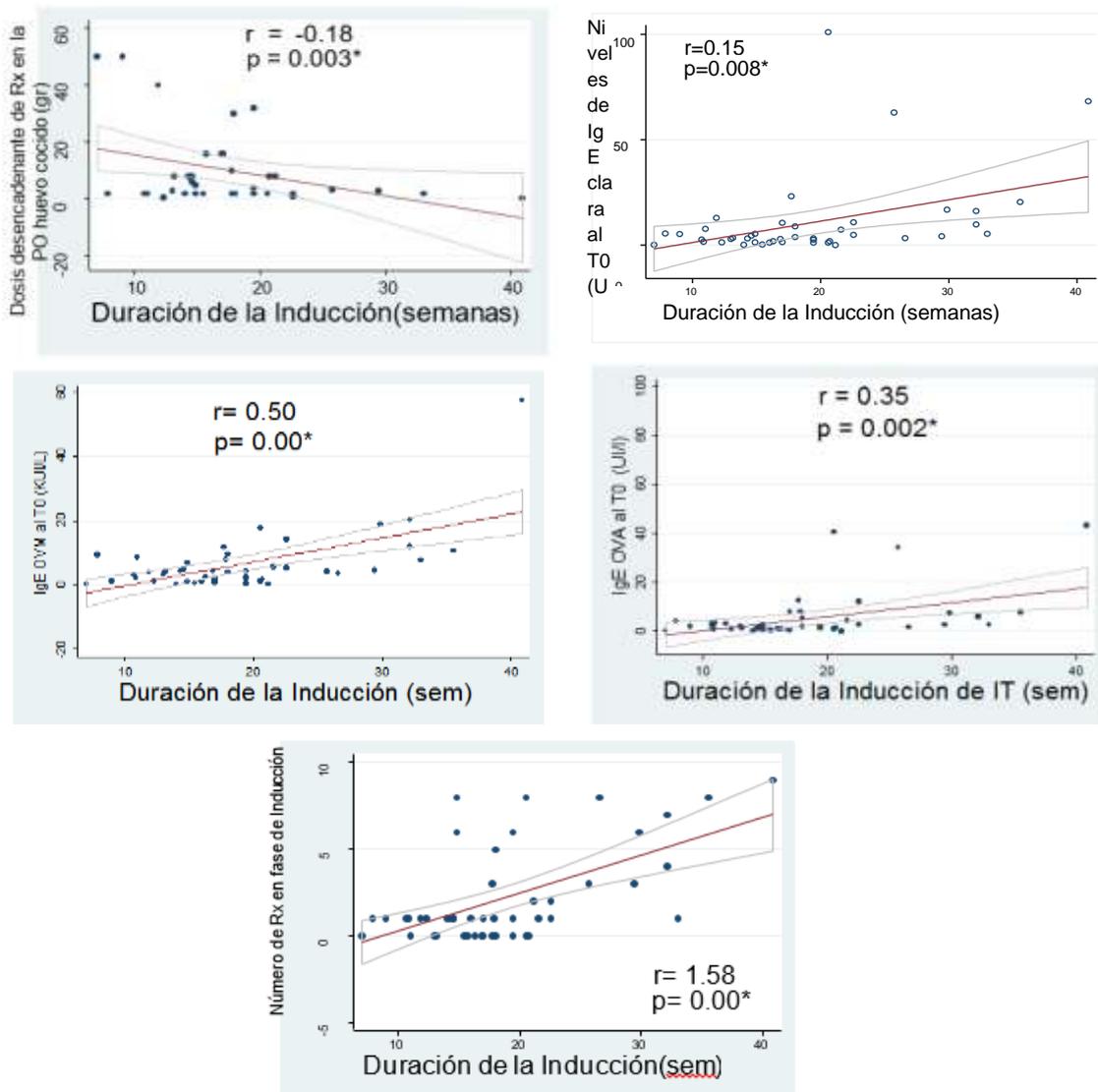


Figura 15: Correlación entre la duración de la inducción de la IT y los niveles de IgE específica al T0 (clara y OVM), dosis desencadenante de reacción en la PO con huevo cocido inicial y número de reacciones en inducción.

Para establecer una diferencia entre los pacientes de acuerdo a la duración de la inmunoterapia, se consideró una ITO Larga si la duración de la fase de inducción era superior a la media (≥ 19 semanas) y una ITO de corta duración si es inferior a ésta. Ni edad ni sexo, ni la provocación con huevo cocido predicen esta duración. La dosis desencadenante de reacción con la provocación con huevo cocido, aunque como se ha visto anteriormente (ver tabla 25). Se correlaciona de forma significativa con la duración de la inmunoterapia, no se pudo demostrar que esta dosis de provocación sea un factor de riesgo para que el paciente tenga una inmunoterapia larga. (ver tabla 25).

Tabla 25. Características inmunológicas y su asociación con Inmunoterapia larga

Factores de Riesgo para Inmunoterapia larga			
	OR	IC 95%	P
Edad al T0	0.91	0.73-1.15	0.450
Dosis desencadenante de reacción en PO	1.41	0.46-4.31	0.54
Prueba cutánea al T0			
Clara	0.96	0.84-1.10	0.633
Yema	0.94	0.81-1.09	0.435
OVA	0.93	0.83-1.03	0.202
OVM	0.92	0.83-1.03	0.161
Niveles de IgE específica al T0			
IgE Clara	0.07	0.97-1.19	0.131
IgE yema	1.09	0.93-1.29	0.257
IgE OVA	1.14	0.96-1.34	0.121
IgE OVM	1.16	1-1.33	0.039*
Niveles de IgG4			
T0 IgG4 OVA	1.47	0.35-6.17	0.592
T0 IgG4 OVM	0.68	0.21-2.11	0.506
% de ascenso desde el T0 al Td de IgG4			
IgG4 OVA	0.99	0.97-1.01	0.538
IgG4 OVM	1	0.96-1.04	0.855
Cociente OVM/clara al T0	0.63	0.13-3	0.564
Reacciones adversas en inducción			
Dosis desencadenante de reacción	0.99	0.98-1	0.256
Nro de Reacciones	1.43	1.10-1.87	0.007*
Grado de Reacción	3.94	1.37-11	0.010*

Las pruebas cutáneas tanto al T0 como al Td no son un factor de riesgo para una inmunoterapia larga (ver tabla 25). Si consideramos los niveles de IgE específicos al T0, sólo se encontró que un aumento de 1 UI/L de IgE específica frente al OVM aumenta en un 1.16 el riesgo de tener una inmunoterapia larga ($p=0.039$) (ver tabla 25 y figura 15). Los niveles de IgG4 al T0, no son un factor de riesgo para una inmunoterapia larga, ni tampoco el porcentaje de descenso de sus niveles del T0 al Td (ver tabla 25). El aumento de un grado en la severidad de la reacción durante la fase de inducción, aumenta 3.94 veces el riesgo de tener una IT larga ($p=0.010$) (ver tabla 25). No existe asociación estadísticamente significativa ($p=0.256$) entre la dosis desencadenante de reacción durante la inmunoterapia y la inmunoterapia larga (OR:0.99 IC95% 0.98-1)

El número de reacciones durante la fase de inducción resultó ser un factor de riesgo para una inmunoterapia larga. Así, por cada reacción, se incrementó el riesgo de tener una IT larga 1.43 veces y al aumentar un grado la severidad de la reacción, se incrementa el riesgo en 3.94 veces.

En las variables en las que se encontró una significación estadística, se llevó a cabo la representación de las curvas ROC y se calculó del área bajo la curva para establecer los puntos de corte de la variable de interés que con mejor Sensibilidad y especificidad predicen si el paciente va a tener una fase de inducción de IT larga:

Al realizar una curva ROC, encontramos que el área bajo la curva para IgE OVM al T0 de la Inmunoterapia es 0.67, esto significa que si los niveles de IgE OVM ≥ 11.8 KUI/L predicen una inmunoterapia larga con una Sensibilidad de 100% y de Especificidad de 70.5% (ver tabla 26 y figura 16). En el caso del número de reacciones durante la fase de inducción, se encontró un punto de corte de ≥ 2 , con una sensibilidad del 63% y una especificidad de 85% para predecir que el paciente tendrá una IT larga. (ver tabla 26 y figuras 16). Un grado de reacción durante la fase de inducción mayor o igual a 2, tiene una sensibilidad del 36.8% y especificidad del 100% para predecir una IT larga (ver tabla 26).

Tabla 26: Curva ROC para IT larga

Relación con una IT larga						
	Curva ROC	IC 95%	Punto de corte	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Correctamente clasificado (%)
IgE OVM al T0 de la IT	0.670	0.50-0.84	≥ 11.8	100	70.5	70.45
Nro de Rx en fase de inducción	0.750	0.6-0.89	≥ 2	63	85	76
Grado de reacción en inducción	0.703	0.55-0.85	≥ 2	36.8	100	74.4

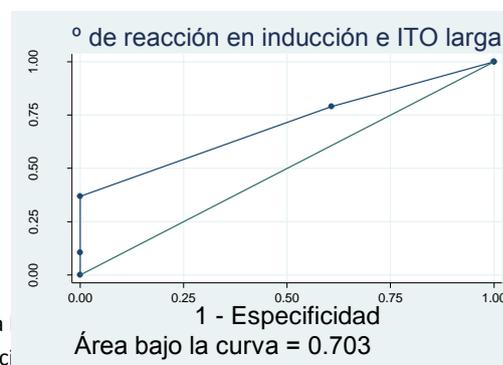
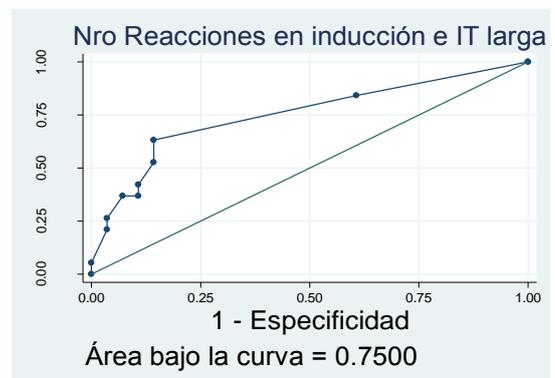
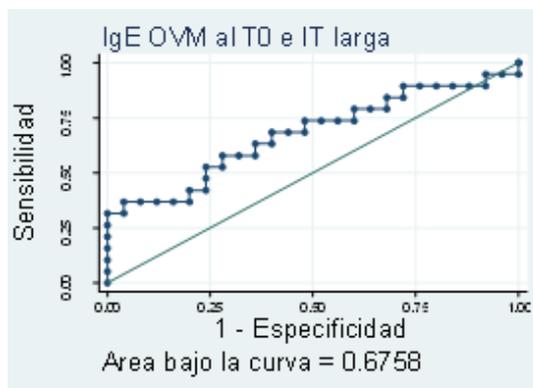


Figura 16: Curvas ROC para reacciones y grado de reacción

IgE OVM en T0, número de

4.2 Factores que afectan a la Seguridad de la Inmunoterapia

4.2.1 Durante la fase de Inducción

La edad al T0 de la inmunoterapia no está asociada al hecho de tener o no tener reacciones adversas durante la fase de inducción (OR:1.33 IC95%: 0.40-4.42, p=0.639). Al correlacionar la edad al T0 inmunoterapia el número de reacciones durante ésta, se encontró una correlación inversa débil (r=-0.052), sin significancia estadística (p=0.724).

No existe diferencia entre el número de reacciones adversas durante la inmunoterapia entre niños y niñas (p= 0.487). Los varones tienen 1.33 (IC95% 0.40-4.42) veces más riesgo de tener reacciones adversas durante la fase de inducción, pero no es estadísticamente significativo (p=0.639).

Ni el grado de reacción con la provocación con huevo cocido, ni la dosis desencadenante de la reacción, mostraron ser un factor de riesgo para la presencia de reacciones adversas durante la fase de inducción de la IT (ver tabla 27). El grado de reacción con la provocación con huevo cocido, no mostró asociación con el número de reacciones adversas en el hospital (ver tabla 27).

Al hacer una correlación entre la dosis desencadenante de reacción con la provocación oral con huevo cocido, no se encontró asociación con el número de reacciones durante la inmunoterapia (r=-0.008 IC95% -0.03-0.13 p=0.43).

Tabla 27: Provocación y su relación con las reacciones durante la fase de inducción

Relación con la presencia de reacciones durante la fase de inducción			
	OR	Intervalo de confianza 95%	P
Grado de reacción con la provocación con huevo cocido	1.38	0.38-5.0	0.615
Dosis desencadenante	0.98	0.93-1.037	0.613
Relación con el número de reacciones adversas			
Grado de reacción con la provocación con huevo cocido	Media del número de reacciones en hospital	Desviación estándar	P
1	1.03	1	0.231
2	0.68	0.7	

Ni el mayor diámetro de las pruebas cutáneas ni los niveles de IgE o IgG4 al T0 de la inmunoterapia han demostrado ser un factor de riesgo para la presencia de reacciones adversas durante la fase de inducción (ver tabla 28)

Tabla 28: Pruebas inmunológicas y su relación con la presencia de reacciones durante la fase de inducción

Pruebas cutáneas al T0	OR	IC 95%	P
Clara	1.13	0.97-1.33	0.112
Yema	1.15	0.96-1.38	0.124
OVA	1	0.911-1.11	0.850
OVM	1.02	0.92-1.14	0.587
IgE específica al T0	OR	IC 95%	P
IgE Clara	0.732	0.399-1.34	0.315
IgE yema	1.684	0.595-4.76	0.326
IgE OVA	1.028	0.634-1.66	0.908
IgE OVM	1.304	0.88-1.91	0.175
Niveles IgG4 al T0	OR	IC 95%	P
IgG4 OVA	0.493	0.107-2.26	0.364
IgG4 OVM	0.559	0.100-3.12	0.509

Al correlacionar las diferentes pruebas inmunológicas con el número de reacciones adversas, encontramos que los niveles de IgE específica frente a todas las fracciones de huevo, al T0 mostró

una asociación directa, estadísticamente significativa con el número de reacciones adversas durante la IT. (ver tabla 29 y figura 17). Sin embargo, el cociente OVM/clara al T0, no mostró ninguna correlación con el número de reacciones adversas ($r = -0.208$ $p = 0.180$).

Tabla 29: Pruebas inmunológicas al T0 de la IT y su relación con el número de reacciones adversas

Al T0 de la Inmunoterapia	Pruebas cutáneas		Niveles de IgE específica		Niveles de IgG4	
	r	p	r	p	r	p
Clara	0.263	0.799	0.457	0.002*	-	--
Yema	0.229	0.129	0.399	0.007*	-	-
OVA	0.198	0.190	0.444	0.003*	-0.206	0.291
OVM	0.090	0.555	0.458	0.002*	-0.200	0.305

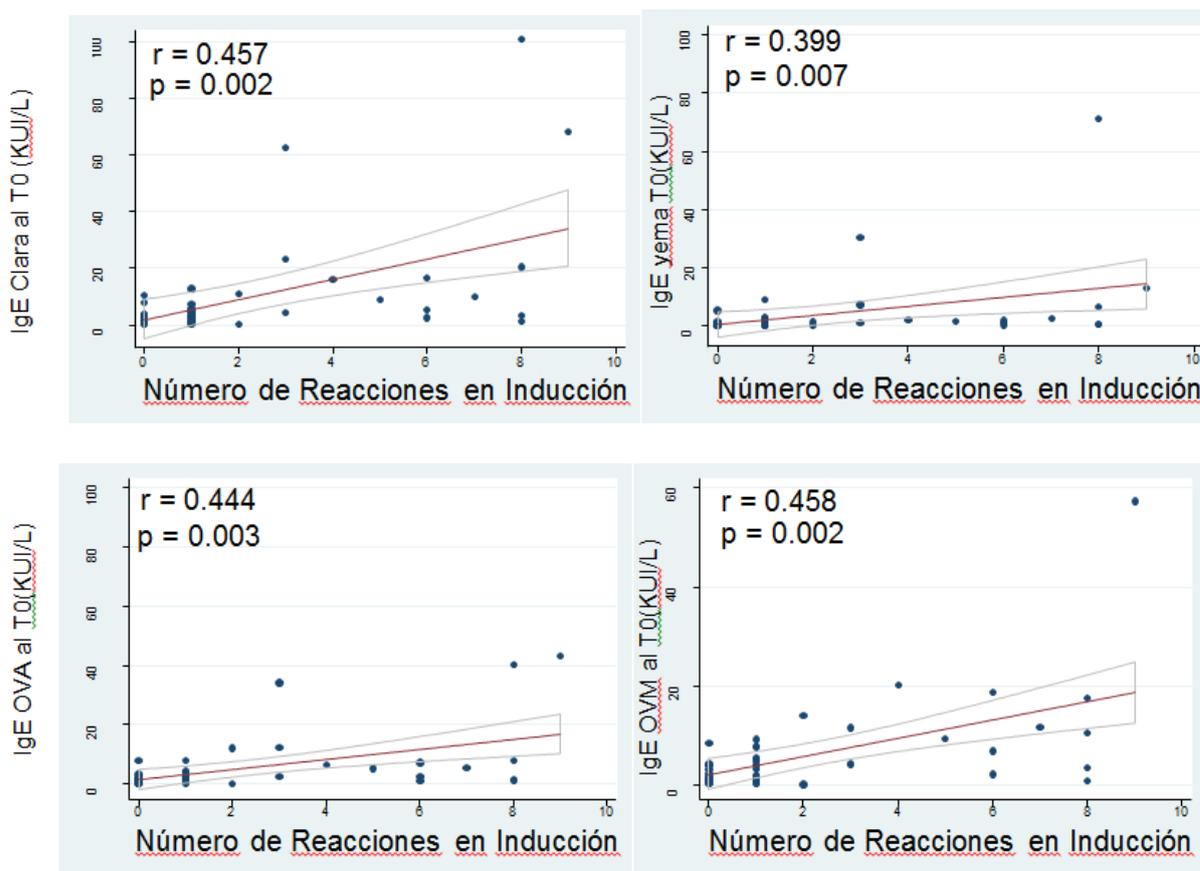


Figura 17: Gráficas de correlación de IgE específicas al T0 de la Inmunoterapia y número de reacciones en fase de inducción.

4.2.2 Durante la fase de mantenimiento

La edad al T0 no está asociada al hecho de tener reacciones adversas en la fase de mantenimiento (OR:0.97 IC95%:0.764-1.25, $p = 0.867$). El sexo de los pacientes no está asociada al hecho de tener reacciones adversas en la fase de mantenimiento (OR:0.42 IC95%:0.11-1.60, ($p = 0.20$))(ver tabla 30)

El grado de reacción con la provocación con huevo cocido, ni la dosis desencadenante de la reacción, mostraron ser un factor de riesgo para la presencia de reacciones adversas durante la fase de mantenimiento de la IT (ver tabla 30).

Tabla 30: Provocación oral inicial con huevo cocido y su relación con la presencia de reacciones durante la fase de mantenimiento

Relación con la presencia de reacciones durante la fase de mantenimiento

	OR	intervalo de confianza 95%	P
Grado de reacción	0.95	0.239-3.84	0.95
Dosis desencadenante	1	0.95-1.06	0.853

Si se evalúan las pruebas cutáneas, podemos ver que sólo un mayor diámetro frente a clara al Td de la inmunoterapia es un factor de riesgo para tener reacción durante la fase de mantenimiento de la IT (ver tabla 31). Los niveles absolutos de IgE específica frente a huevo y sus fracciones, tanto al T0, Td, T1a y T2a de a IT no han demostrado ser factores de riesgo para la presencia reacciones durante la fase de mantenimiento de la IT (ver tabla 31). Sin embargo, si se evalúa el porcentaje de disminución de estos niveles, encontramos que de forma significativa, el porcentaje de disminución de clara, del T0 al Tdl es un factor de riesgo para la presencia de reacciones en la fase de mantenimiento (ver tabla 31). El cociente OVM/clara al T0, Td, no mostró ser un factor de riesgo para la presencia de reacciones durante la fase de mantenimiento (ver tabla 31). En cuanto a los valores de IgG4, sólo los niveles de IgG4 frente a OVM al T1a, demostraron ser un factor protector de la presencia de reacciones en la fase de mantenimiento de la IT, de forma significativa (ver tabla 31). Sin embargo el porcentaje de aumento de los niveles de aumento de IgG4, del T0 al Tdo, ni del T1a al T2a, no mostró ser un factor de riesgo o protección para la presencia de reacciones en fase de mantenimiento (ver tabla 31).

No existe asociación entre la dosis desencadenante de reacción adversa y la presencia de reacciones adversas en la fase de mantenimiento (OR 1, IC95%: 0.99-1.01 p=0.091).

Tabla 31: Pruebas inmunológicas y su relación con la presencia de reacciones durante la fase de mantenimiento

Pruebas cutáneas	T0			Td			T1a		
	OR	IC 95%	P	OR	IC 95%	P	OR	IC 95%	P
Clara	0.88	0.69-1.14	0.36	1.53	0.98-2.39	0.05*	1.05	0.83-1.34	0.64
Yema	1.11	0.90-1.36	0.30	2.62	0.49-13.9	0.257	1.19	0.84-1.67	0.32
OVA	1.09	0.98-1.22	0.09	1.28	0.71-2.29	0.40	0.87	0.67-1.14	0.34
OVM	1.08	0.97-1.21	0.13	1.06	0.86-1.32	0.54	1	0.83-1.21	0.95
IgE	T0			Td			T1a		
	OR	IC 95%	P	OR	IC 95%	P	OR	IC 95%	P
IgE Clara	0.92	0.59-1.45	0.74	1.08	0.67-1.73	0.74	5.5	0.26-115	0.272
IgE yema	1.07	0.70-1.62	0.74	1.24	0.7-2.18	0.44	0.46	0.00-102	0.782
IgE OVA	1.05	0.63-1.74	0.85	0.61	0.3-1.26	0.18	0.23	0.00-13.7	0.485
IgE OVM	0.95	0.76-1.20	0.72	1.08	0.70-1.66	0.72	0.41	0.09-1.86	0.251
% dismin	T0 al Td			desde el T0 al T1a					
	OR	IC 95%	P	OR	IC 95%	P			
IgE Clara	18.4	0.64-531	0.05*	6.6	0.38-116	0.194			
IgE yema	0.60	0.04-8.56	0.71	1.1	0.0-172.2	0.968			
IgE OVA	0.72	0.06-8.34	0.79	0.95	0.07-13.9	0.973			
IgE OVM	6.23	0.72-53	0.09	6.9	0.07-614	0.398			
Cociente OVM/	T0			Td					
	OR	IC 95%	P	OR	IC 95%	P			
Clara	1.24	0.22-6.8	0.80	0.58	0.10-3.17	0.53			
Niveles IgG4	T0			Td			T1a		
	OR	IC 95%	P	OR	IC 95%	P	OR	IC 95%	P
OVA	0.77	0.11-5.2	0.79	0.48	0.23-0.99	0.05	1.3	0.85-2.07	0.21
OVM	1.27	0.27-6.0	0.75	2.64	0.7-9.9	0.149	0.62	0.4-0.96	0.03*
% de aumento	desde el T0 al Td			desde el T0 al T1a			desde el T1a al T2a		
	OR	IC 95%	P	OR	IC 95%	P	OR	IC 95%	P
IgG4 OVA	1.03	0.81-1.29	0.8	1.07	0.85-1.33	0.6	4.2	0.4-43.7	0.23
IgG4 OVM	0.99	0.91-1.07	0.82	1.03	0.94-1.13	0.69	6.9	0.31-156.09	0.22

En los valores que se encontró significancia estadística se buscaron las áreas bajo la curva:

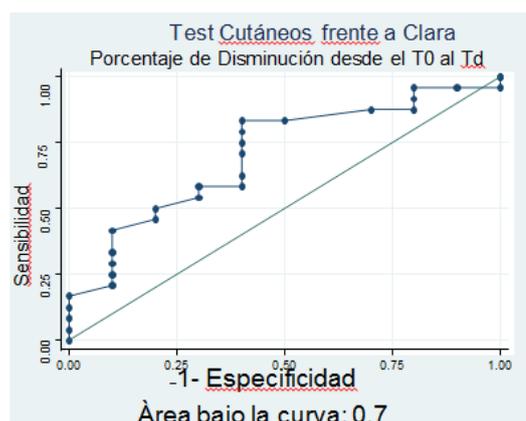
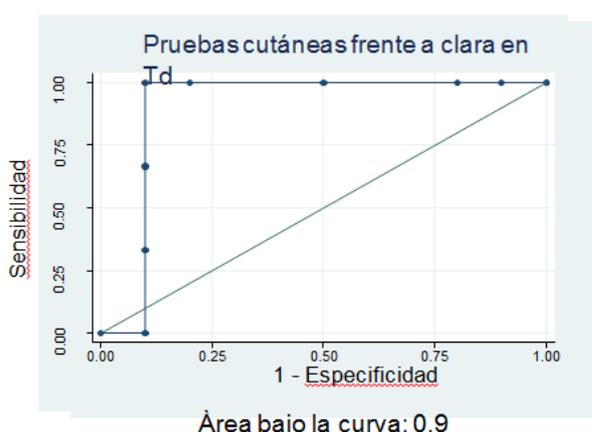
La prueba cutánea frente a clara al Td tiene una curva ROC significativa para predecir la presencia de reacciones en la fase de mantenimiento (ver tabla 32 y figura 18). Por ejemplo, una prueba cutánea mayor de 10 mm frente a la clara tiene una sensibilidad de un 100% y una especificidad de 90% para predecir la presencia de reacciones durante la fase de mantenimiento (ver tabla 80).

La curva ROC, del porcentaje de disminución de IgE a clara (de T0 a Td) de la s muestra un punto de corte de 0.09 (disminución de menos de un 9%), presenta una sensibilidad de 83% y una especificidad del 60% para predecir la presencia de reacciones adversas durante la fase de mantenimiento (ver tabla 32 y figura 18).

Al hacer la curva ROC, encontramos que niños con niveles ≥ 4.31 UI/l de IgG4 frente a OVM, tiene una Sensibilidad de 62.5% y especificidad de 80.9% para predecir la ausencia de reacciones en la fase de mantenimiento de la IT (ver tablas 32y figura 18).

Tabla 32: Curvas roc y presencia de reacciones en fase de mantenimiento

Prueba Inmunológica	Tiempo	OR (IC95%)	p	Curva ROC (IC95%)	Punto de corte	Sensibilidad	Especificidad
PC clara	Td	1.53 (0.98-2.39)	0.05*	0.9 (0.7-1)	≥ 10 mm	100	90
% disminución de IgE clara	Desde el T0 al Td	18.47(0.64-531)	0.049*	0.70 (0.51-0.90)	0.09	83.3	60
IgG4 OVM	T 1a	0.62 (0.4-0.96)	0.03*	0.76 (0.52-1)	≥ 4.31 UI/L	62.5%	80.9%



Figuras 18: Gráficas de área bajo la curva y presencia de reacciones en fase de mantenimiento.

4.3 Factores asociados con la tolerancia de huevo crudo

Se provocó con huevo crudo a 32 pacientes, de los cuales 18 toleraron el huevo crudo tras la primera provocación y un año después 5 pacientes más lo llegaron a tolerar (ver fluxograma en figura 13)

La edad al inicio (T0) de la inmunoterapia no está asociada al hecho de tolerar o no tolerar huevo crudo (OR:0.75 IC95%:0.53-1.07, $p=0.117$). Los varones tienen 3.75 (IC95% 0.73-19) veces más riesgo de no tolerar el huevo crudo, pero no es estadísticamente significativo ($p=0.112$) (ver tabla 33)

El grado de reacción con la provocación, ni la dosis desencadenante de reacción se mostraron como factores de riesgo para la no tolerancia de huevo crudo (ver tabla33).

Tabla33: Edad, sexo, Grado de reacción y dosis desencadenante de reacción con la provocación con huevo cocido y su relación con tolerancia al huevo crudo

Relación con la tolerancia de huevo crudo			
	OR	IC al 95%	p
Edad al T0	0.75	0.53-1.07	0.117
Sexo	3.75	0.73-19	0.112
Grado de reacción con la provocación con huevo cocido	1.28	0.34-10.8	0.765
Dosis desencadenante	1.02	0.95-1.12	0.455

Las pruebas cutáneas tanto al T0 como al Td, no han resultado como un factor de riesgo para la tolerancia al huevo crudo (ver tabla 34).

Si se consideran los valores absolutos de IgE frente a huevo y a sus diferentes fracciones, como factores de riesgo independientes para la tolerancia o no tolerancia al huevo crudo, no se encuentra asociación estadísticamente significativa, ni al T0, Td, T1a ni T2a, excepto para los niveles de OVM al T1a (ver tabla 34)

Sin embargo, al evaluar el porcentaje de disminución de los niveles de IgE, se observa que una disminución porcentual de la IgE frente a clara, yema, OVA y OVM, son factores de riesgo para tolerar el huevo crudo. (ver tabla 46 El cociente entre OVM y clara, no mostró ser un factor predictivo de tolerancia al huevo crudo (ver tabla 34). Los niveles de IgG4, no demostraron ser factores predictivos de tolerancia al huevo crudo. En ningún tiempo (ver tabla 34), ni tampoco el porcentaje de aumento del T0 al Td del T0 al T1a (ver tabla 34)

No existe asociación estadísticamente significativa ($p=0.902$) entre la dosis desencadenante de reacción durante la inmunoterapia y la tolerancia de huevo crudo (OR:0.99 IC95% 0.99-1)

Al hacer una regresión logística entre a duración de la inducción de la inmunoterapia y la tolerancia de huevo crudo, no se encuentra asociación (OR=0.91 IC95%: 0.8-1.04) estadísticamente significativa ($p=0.203$). Al buscar asociación entre tolerancia de huevo crudo y duración larga de la inmunoterapia (mayor o igual de la media), tampoco se encuentra asociación ($P=0.208$).

Tabla 34: Factores asociados a tolerancia al huevo crudo

Pruebas cutáneas	al T0			al Td		
	OR	IC 95%	P	OR	IC 95%	P
Clara	1.16	0.74-2.27	0.147	0.66	0.38-1.12	0.127
Yema	1	0.86-1.10	0.930	0.97	0.48-1.95	0.941
OVA	1.03	0.8-1.10	0.666	0.95	0.7-1.27	0.740
OVM	0.98	0.87-1.10	0.750	1.24	0.68-2.27	0.470
Niveles de IgE específica	T0			Td		
	OR	IC 95%	P	OR	IC 95%	P
IgE Clara	0.65	0.28-3.3	0.103	0.75	0.35-1	0.097
IgE yema	0.65	0.04-4.13	0.113	0.61	0.0-1.45	0.268
IgE OVA	0.87	0.66-2.7	0.186	0.87	0.6-1.2	0.480
IgE OVM	0.93	0.39-1.62	0.393	0.74	0.4-1.1	0.149
	T1a			T2a		
IgE Clara	0.34	0-1.35	0.380	0.44	0-2.02	0.096
IgE yema	0.50	0.16-1.52	0.228	0.46	0.15-1.39	0.171
IgE OVA	0.67	0.25-1.71	0.431	0.29	0-0.78	0.036
IgE OVM	0.28	0.1-0.7	0.014*	0.40	0.01-1.1	0.063
%disminución IgE	desde el T0 al Td			desde el T0 al T1a		
	OR	IC 95%	P	OR	IC 95%	P
IgE Clara	9.58	0.2-449	0.250	718667	0.06-81765	0.017*
IgE yema	1.7	0.06-42	0.746	6.60	0.63-68	0.157
IgE OVA	2.41	0.09-63.8	0.597	59.7	0.5-2075.4	0.149
IgE OVM	1.35	0.096-18.9	0.821	8178.1	5.11-11377	0.010*
Niveles IgG4	al T0			al Td		
	OR	IC 95%	P	OR	IC 95%	P
IgG4 OVA	1.16	0.16-8.41	0.877	0.81	0.42-1.56	0.272
IgG4 OVM	12521	0.00-61465	0.230	1.17	0.6-15.2	0.630
	al T1a			Al T2a		
	OR	IC 95%	P	OR	IC 95%	P

IgG4 OVA	1.11	0.81-1.52	0.801	1.15	0.65-35.1	0.557
IgG4 OVM	0.96	0.67-1.13	0.674	1.08	0.15-1.14	0.649
% aumento	desde el T0 al Td			desde el T0 al T1a		
IgG4	OR	IC 95%	P	OR	IC 95%	P
IgG4 OVA	1	0.98-1.02	0.672	1	0.98-1.02	0.272
IgG4 OVM	0.99	0.95-1.04	0.944	1	0.97-1.04	0.593
Cociente	Al T0			Al Td		
Clara/OVM	OR	IC 95%	P	OR	IC 95%	P
	2.09	0.59-19.7	0.468	1.59	0.23-10	0.632
Reacciones	Fase de inducción			Fase de mantenimiento		
Adversas	OR	IC 95%	P	OR	IC 95%	P
Presencia	0.42	0.12-1.38	0.372	0.44	0.13-1.5	0.499
Número	0.61	0.37-1	0.054	0.77	0.45-1.38	0.366
Grado	0.44	0.087-1.55	0.372	0.52	0.13-1.5	0.276
Duración de la IT	Duración de la inducción			IT larga		
	OR	IC 95%	P	OR	IC 95%	P
	0.91	0.8-1.04	0.203	0.34	0.06-1.8	0.208

En los valores que se encontró significancia estadística se buscaron las áreas bajo la curva:

Al realizar una curva ROC, se encontró que el área bajo la curva para el porcentaje de disminución de los niveles de IgE frente a clara y OVM son significativas (0.95 y 0.87 respectivamente). Esto significa que si la IgE baja a la mitad al 1er año de la inmunoterapia, el paciente tolerará el huevo crudo con una sensibilidad del 87.5% y una especificidad del 100%. Lo mismo se puede predecir con una disminución de un 44% en los niveles de IgE OVM, con una sensibilidad del 88.24% y especificidad del 87.5%. (ver tabla 35 y figura 19)

Tabla 35: Curvas ROC con Tolerancia a huevo crudo

Relación con un Tolerancia al huevo crudo						
Porcentaje de disminución desde el T0 al T1a	Curva ROC	IC 95%	Punto de corte	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Correctamente clasificado (%)
IgE Clara	0.95*	0.88-1	≥ 0.5	87.5	100	91.3
IgE OVM	0.87*	0.67-1	≥ 0.44	88.24	85.75	87.5
IgE OVM a T1a	0.08	0-0.2

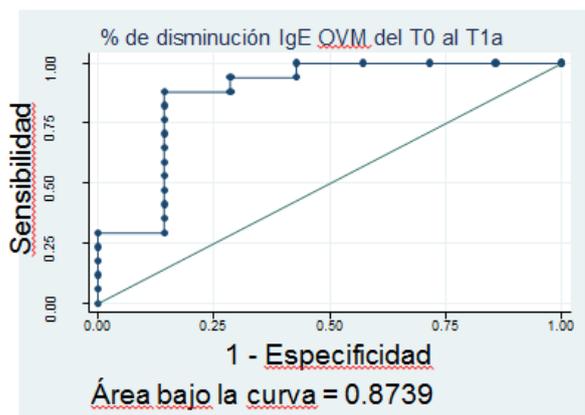
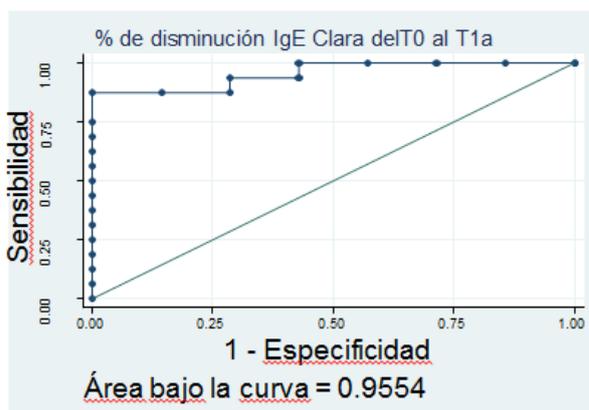


Figura 19: Curvas ROC para tolerancia al huevo crudo

Por ejemplo, una disminución mayor del 50% de los niveles de IgE frente a clara desde el T0 al T1, tiene una sensibilidad de 87.5% y especificidad del 100% para predecir correctamente que el paciente tolerará el huevo crudo (ver tabla 35 y figura 19).

Con el tiempo en adquirir la tolerancia de huevo crudo

Dado que a los pacientes se les provocó en varias ocasiones para ver la tolerancia al huevo crudo se calcula los factores que pueden influir en el tiempo en adquirir la tolerancia.

El sexo de los pacientes no está asociado al tiempo en adquirir la tolerancia a huevo crudo (HR 1.7, IC95%: 0.68-4.25) $p=0.24$. La edad de inicio de la inmunoterapia tampoco está asociada al tiempo en adquirir tolerancia (HR 0.85, IC95% 0.70-1.03) $p=0.11$. Ni el grado de reacción con la provocación con huevo cocido ni la dosis desencadenante de reacción han demostrado ser un factor de riesgo para tardar más en adquirir la tolerancia al huevo crudo (ver tabla 36)

Tabla 36: Provocación con huevo cocido y su relación con el tiempo en adquirir la tolerancia de huevo crudo

Relación con el tiempo en adquirir la tolerancia de huevo crudo			
	HR	IC 95%	P
Grado de reacción con PO huevo cocido	1.34	0.55-3.25	0.50
Dosis desencadenante	0.99	0.96-1.02	0.64

Si analizamos los diámetros de las pruebas cutáneas frente al huevo y a sus diferentes fracciones, podemos observar que un mayor diámetro de OVM al diagnóstico (HR: 0.84 $p=0.004$) y clara al final de la IT (HR 0.49 $p=0.0037$) son un factor de riesgo para tardar en tolerar el huevo crudo ($p=0.004$) (ver tabla 37).

Asimismo, los niveles de IgE frente a todas las fracciones del huevo al diagnóstico, cuanto más elevadas, mostraron ser un factor de riesgo de demora en tolerar el huevo crudo, mientras que si evaluamos los niveles iniciales, sólo los niveles elevados de IgE frente a clara mostraron estar asociados a demora en tolerancia de huevo crudo (ver tabla 37). Al primer año de finalizada la IT, sólo los valores elevados de OVM estuvieron asociados a demora en tolerancia al huevo crudo de forma significativa ($p=0.05$) (ver tabla 37). A los 2 años de la inmunoterapia, el único valor asociado de forma significativa a mal pronóstico de tolerancia a huevo crudo fueron los niveles elevados de IgE OVA (ver tabla 37).

La disminución de las cifras de IgE frente a clara y OVM mostraron ser un factor de riesgo para tolerar el huevo crudo más tempranamente (ver tabla 37), mientras que el cociente OVM/clara, ni al diagnóstico, ni al inicio ni al final de la IT ha demostrado tener asociación significativa con el tiempo en adquirir la tolerancia al huevo crudo (ver tabla 37).

Los niveles de IgG4 ni al inicio, final, ni al primer año ni a los 2 años de terminada la IT mostraron ser factores de riesgo para tardar en alcanzar la tolerancia al huevo crudo (ver tabla 37). El porcentaje de incremento de los niveles de IgG4 tampoco mostró asociación con el tiempo en tolerar huevo crudo (ver tabla 37).

Tabla 37: PC al diagnóstico y al inicio y su relación con el tiempo en adquirir la tolerancia de huevo crudo.

Pruebas cutáneas	Al diagnóstico			T0		
	HR	IC 95%	P	HR	IC 95%	P
Clara	0.79	0.66-0.94	0.10	0.98	0.88-1.08	0.72
Yema	0.97	0.86-1.0	0.61	0.91	0.83-1.01	0.096
OVA	0.89	0.77-1.03	0.150	0.96	0.89-1.04	0.41
OVM	0.84	0.75-0.94	0.004*	0.98	0.91-1.05	0.58
Pruebas Cutáneas	Td			T1a		
	HR	IC 95%	P	HR	IC 95%	P
Clara	0.49	0.25-0.95	0.037*	0.92	0.80-1.07	0.33
Yema	0.94	0.67-1.31	0.72	0.78	0.64-0.94	0.13

OVA	1	0.72-1.4	0.96	0.9	0.79-1.01	0.095
OVM	1	0.89-1.12	0.92	0.93	0.84-1.03	0.18
Niveles de IgE	T0			Td		
Especifica	HR	IC 95%	P	HR	IC 95%	P
IgE Clara	0.87	0.75-0.99	0.04*	0.83	0.66-1.04	0.11
IgE yema	0.53	0.29-0.97	0.04*	0.68	0.34-1.33	0.26
IgE OVA	0.87	0.73-1.02	0.11	0.97	0.58-1.61	0.9
IgE OVM	0.95	0.85-1.06	0.35	0.83	0.65-1.06	0.15
Niveles de IgE	T1a			T2a		
Especifica	HR	IC 95%	P	HR	IC 95%	P
IgE Clara	0.66	0.42-1.03	0.072	0.49	0.25-0.96	0.04
IgE yema	0.64	0.31-1.34	0.24	0.14	0.0-4.3	0.14
IgE OVA	0.81	0.54-1.22	0.33	0.23	0.05-0.99	0.05*
IgE OVM	0.67	0.45-0.99	0.05*	1.01	0.99-1.03	0.21
Niveles de IgG4	T0			Td		
Especifica	HR	IC 95%	P	HR	IC 95%	P
IgG4 OVA	2.2	0.72-6.6	0.16	0.93	0.69-1.26	0.67
IgG4 OVM	2.2	0.09-48.9	0.61	0.97	0.81-1.16	0.76
Niveles de IgG4	T1a			T2a		
Especifica	HR	IC 95%	P	HR	IC 95%	P
IgG4 OVA	0.98	0.87-1.1	0.77	1.08	0.83-1.41	0.54
IgG4 OVM	0.97	0.9-1.0	0.58	1.0	0.8-1.24	0.99
% disminución de IgE		desde T0 al Td			Desde T0 a T1a	
	HR	IC 95%	P	HR	IC 95%	P
IgE Clara	4.7	0.39-56.3	0.27	10.56	1.14-97.4	0.04*
IgE yema	0.68	0.13-3.5	0.65	3.01	0.68-13.25	0.15
IgE OVA	0.23	0.02-2.71	0.24	4.62	0.55-38.72	0.16
IgE OVM	2.04	0.32-12.71	0.45	6.5	0.99-42.86	0.05*
Cociente OVM/clara	T0			Td		
	HR	IC 95%	P	HR	IC 95%	P
	2.01	0.62-6.44	0.24	0.85	0.34-2.05	0.71
% de Aumento IgG4		Del T0 a Td			Del T0 al T1a	
	HR	IC 95%	P	HR	IC 95%	P
IgG4 OVA	0.99	0.99-1.00	0.82	0.99	0.99-1.00	0.47
IgG4 OVM	0.98	0.95-1.00	0.2	0.99	0.98-1.01	0.98

La presencia de reacciones durante la fase de inducción está asociadas a mayor retraso en la adquisición de tolerancia al huevo crudo (ver tabla 38 y figura 20). Por cada reacción, el riesgo de no tolerar el huevo crudo aumenta en un 36%. Sin embargo, el número de reacciones, o el grado de reacción no están asociados de forma estadísticamente significativa. (ver tabla 38)

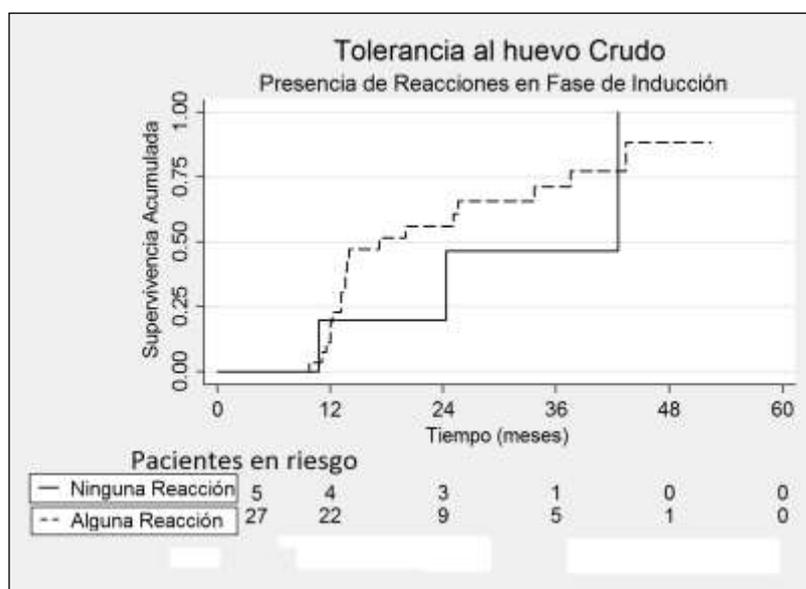


Figura 20: Gráfica de Kaplan-Meier de Tolerancia a Huevo crudo comparando presencia de reacciones en fase de inducción.

Tabla 38: Reacción durante la inmunoterapia y su relación con el tiempo en adquirir la tolerancia de huevo crudo

Reacción durante la inmunoterapia	Presencia de reacción durante la inmunoterapia			Número de reacciones durante la inmunoterapia			Grado de reacción durante la inmunoterapia		
	HR	IC 95%	P	HR	IC 95%	P	HR	IC 95%	P
Fase de inducción	0.36	0.13-0.97	0.04*	0.77	0.52-1.16	0.22	0.57	0.25-1.29	0.18
Fase mantenimiento	0.49	0.16-1.46	0.20	0.79	0.55-1.13	0.21	0.49	0.16-1.46	0.20
Duración de la Inducción	Duración de la Inducción			IT larga					
	HR	IC 95%	P	HR	IC 95%	P			
	1	0.74-1.33	0.99	1	0.40-2.5	0.99			

No existe asociación estadísticamente significativa ($p=0.73$) entre la dosis desencadenante de reacción durante la inmunoterapia y el tiempo en adquirir la tolerancia de huevo crudo. (HR:1.0, IC 0.99-1, $p=0.73$). La duración de la inmunoterapia no mostró asociación con el tiempo en adquirir la tolerancia al huevo crudo (ver tabla 38).

Tabla39: Resumen de Variables asociadas al tiempo en tolerar huevo crudo

Prueba Inmunológica	Tiempo	HR	IC95%	P
Prueba cutánea OVM	Diagnóstico inicial	0.84	0.75-0.94	0.004*
Prueba cutánea clara	Td	0.49	0.25-0.95	0.037*
IgE clara	T0	0.87	0.75-0.99	0.04*
IgE yema	T0	0.53	0.29-0.97	0.04*
IgE OVM	T1a	0.67	0.45-0.99	0.05*
IgE OVA	T2a	0.23	0.05-0.99	0.05*
% disminución IgE clara	T0 a T1a	10.56	1.14-97.4	0.04*
% disminución IgE OVM	T0 a T1a	6.5	0.99-42.86	0.05*

	<p>CAPÍTULO VI</p> <p>DISCUSIÓN</p>
--	---------------------------------------------------

VI CAPÍTULO VI: DISCUSIÓN

En los últimos años ha habido un gran y creciente interés en la inmunoterapia oral (ITO) como tratamiento activo frente a la alergia a alimentos. El objetivo de esta alternativa terapéutica es alcanzar la desensibilización como primer paso para la tolerancia definitiva. La desensibilización se define como el “aumento en la dosis umbral capaz de producir síntomas alérgicos tras la toma del alimento”.

En la actualidad la inmunoterapia oral es la forma de inmunoterapia más utilizada e investigada en alergia a alimentos. Hasta la fecha se ha acumulado una amplia experiencia, sobretudo con la inmunoterapia con leche de vaca. En el caso de la inmunoterapia con huevo, esta experiencia es algo menor, pero aún así se han publicado varios estudios y ensayos clínicos. En las tablas 5-10 de la introducción se han resumido los principales estudios de inmunoterapia al huevo. Los resultados respecto a la eficacia en alcanzar la desensibilización son positivos en la mayoría de los trabajos aunque como se ha expuesto previamente existen importantes diferencias metodológicas entre ellos.

El presente estudio cuenta con un número muy importante de pacientes y es uno de los que tiene un mayor tiempo de seguimiento publicado hasta el momento, realizado desde el inicio y durante todas sus fases únicamente con huevo cocido. Se trata de un protocolo de inmunoterapia, con una fase de inducción de 18.9 semanas de duración media, con huevo cocido en niños con alergia persistente, con una prueba de provocación previa a la inclusión, con el que se ha logrado la desensibilización a huevo cocido en un 100% de los casos y tras un año de mantenimiento, se exploró la tolerancia al huevo crudo, obteniéndose una eficacia del 66.5%.

El perfil de seguridad de este trabajo ha sido muy bueno respecto a los datos comunicados previamente en la bibliografía. Durante la inmunoterapia se obtuvieron pocas reacciones adversas, teniendo en cuenta el elevado número de dosis administradas en un 4.8% de las dosis administradas en el hospital y en 1.1% de las dosis en domicilio. Un 63.8% de los pacientes tuvo alguna reacción, siendo éstas sólo de grado 1 o 2.

1. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Nuestro estudio no fue aleatorizado y no se utilizó placebo. Se incluyeron a los pacientes que de forma consecutiva acudían a la consulta de alergia cumpliendo con los criterios de inclusión. Por el tipo de diseño clínico, no resultaba ético privar de la inmunoterapia a pacientes que realmente necesitaban este tratamiento, o tenerlos el tiempo de duración de ésta tomando placebo.

Las pruebas de provocación fueron abiertas, no doble ciego, porque nos pareció justificado no someter a los niños y sus padres a una prueba que implica un mayor número de visitas al centro. Además, al ser el batido de huevo que se utiliza en la provocación el mismo que posteriormente es preparado por los padres a lo largo de la inmunoterapia, una provocación abierta era lo más práctico.

Otra limitación de este estudio es que muchos de los controles no fueron provocados nuevamente a los 12 meses, ya que la mayoría de ellos habían rechazado la inmunoterapia por temor a las posibles reacciones durante el procedimiento, por lo que tampoco consintieron someterse a una segunda provocación. Por lo tanto se decidió utilizar la información procedente de ellos sólo para el análisis de variables analíticas inmunológicas.

2. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS PACIENTES

2.1. Edad

En este estudio, la edad media de inicio de la IT fue de 9.2 años (mínimo de 4 años y máximo de 17 años). Esta edad es parecida a la de los otros estudios, ya que de acuerdo a la historia natural de la alergia al huevo, el 50% de los pacientes que supera espontáneamente su alergia, lo hace a una edad que oscila entre los 4 y 6 años de vida (131).

La edad mínima con la que iniciaron la desensibilización en la mayoría de los estudios fue 5 años (excepto el de Buchanan(166) que tuvo un paciente de 2 años y Vickery (157) con 3 años), pero la media oscila entre 7 y 10 años. La edad máxima de los pacientes incluidos en los diversos estudios oscila entre 12 a 17 años.

2.2. Presencia de comorbilidades

En los diferentes estudios, la presencia de alergia a otros alimentos además de al huevo, varía entre un 60%(149) a un 91%(153). En el presente estudio, un 61.7% de los pacientes tenía alergia a otros alimentos. Un 74% tenía rinitis alérgica y casi un 60% presentaba asma con sensibilización alérgica. Estos porcentajes son parecidos a los descritos en los diferentes estudios, en donde el porcentaje de rinitis oscila entre un 50% y un 65%(154,159) y asma alérgica entre 40%-100%(148,153,157).

No se ha evidenciado, analizando los estudios previos, que aquellos que tengan pacientes con mayor porcentaje de pacientes con asma tengan peores resultados, por ejemplo, en el estudio de Itoh y col.(158) todos los pacientes tenían asma y se obtuvo una eficacia del 100%, aunque fueron solo 6 pacientes y no especifica el grado de control de asma de los pacientes. En otro estudio de 50 pacientes(160), con un 60% de ellos asmáticos, se obtuvo una eficacia de 80% de tolerancia total. En dicho estudio al hacer un análisis estadístico no encontraron que el padecer asma esté asociado a peores resultados, si bien los pacientes con formas más graves de asma tenían mayor probabilidad de pertenecer al grupo de pacientes que tienen que detener el protocolo por la presencia de reacciones frecuentes durante la fase de inducción de la inmunoterapia.

Un aspecto que sí es diferente en los estudios, es la presencia de dermatitis atópica. En algunos de estos estudios excluyeron pacientes con dermatitis atópica severa(155,159). En el resto de estudios, el porcentaje de pacientes con dermatitis atópica oscila entre un 20% a un 100%. En el presente estudio un 68% de los pacientes tenía dermatitis atópica.

2.3. Selección de los pacientes

De acuerdo a la forma en la que se seleccionan los pacientes para su inclusión en los diferentes estudios, podemos clasificar a los estudios en 4 grupos, de los cuales podemos definir diferentes tipos de pacientes con diferentes pronósticos a priori.

Grupo 1: (72,153,157) Estudios en los que no se hace una prueba de provocación oral para la inclusión de los pacientes. En estos estudios el diagnóstico de alergia al huevo se basa sólo en una historia sugestiva y/o en cifras de IgE específicas superiores a unos niveles que según estudios previos, la tolerancia sería muy poco probable. Sin embargo, no se ha probado la reactividad clínica de estos pacientes antes de la desensibilización

Grupo 2:(159) Estudios que sólo incluyen pacientes con prueba de provocación positiva frente a huevo cocido. Sólo se ha publicado un estudio que considera para la inmunoterapia este tipo de pacientes. Los pacientes con prueba de provocación oral con huevo cocido negativa no son incluidos. El hecho de sólo admitir niños con esta prueba positiva en este estudio, los pone en una situación conocida de pacientes con peor pronóstico (179). Estos son los casos que se han incluido en este estudio.

Grupo 3:(150,160,161,167): Estudios en los que se realiza una prueba de provocación oral con huevo cocido. Si esta resulta positiva, los incluyen sin hacer provocación con huevo crudo. Si la provocación con huevo cocido resulta negativa, realizan una provocación oral con huevo crudo y si ésta resulta positiva, los incluyen. Es decir incluyen pacientes en el presente estudio no son considerados para inmunoterapia con huevo cocido.

Grupo 4:(149,151,154–156,158,165,168,180): Estudios que realizan la provocación oral sólo con huevo crudo. Al considerar a los pacientes de esta manera, podrían incluir pacientes que sí tolerarían huevo cocido, que en este estudio no son considerados para inmunoterapia. De esta manera

también se trata de un fenotipo de pacientes probablemente de mejor pronóstico que los incluidos en el presente protocolo.

La dosis media desencadenante de reacción en la prueba de provocación en nuestro estudio fue de 3.6 gr de huevo cocido, si se expresa como gramos de proteína de huevo, equivale a 0.25gr. En un trabajo que utilizó huevo cocido en una primera provocación(160), más de la mitad de sus pacientes reaccionaron con las dosis más altas de su protocolo (entre 0.96 y 1.9 gr de proteína), si esto se compara con la dosis media desencadenante de reacción en las provocaciones de este trabajo, es de 0.25gr de proteína, es mucho más baja, lo que indica además que los pacientes tenían menor umbral de reacción y por lo tanto eran de mayor riesgo y, presumiblemente de peor pronóstico.(179)

La comparación de la seguridad en inmunoterapia es difícil, ya que existen diversas clasificaciones y escalas para las reacciones adversas. Si se analizan los síntomas aparecidos durante la prueba de provocación inicial con huevo cocido, los resultados de este estudio son similares a otras provocaciones con huevo cocido publicadas (158,159), se observa que un 34% de los pacientes de este estudio tuvo una anafilaxia. El resto de pacientes tuvo: dolor abdominal (36.1%), angioedema(19.1%), vómitos (14%), urticaria generalizada (12.7%). Comparando con los estudios en los que solo llevan a cabo la provocación inicial con huevo crudo(155,160,168), reportan anafilaxia entre un 30-70%. En estos pacientes la reacción tras provocación con huevo cocido sería presumiblemente más leve o, incluso, inexistente.

Otro punto importante son los factores predictores de tolerancia espontánea a huevo crudo. En un estudio(160), se encontró que un factor asociado a tolerancia de huevo crudo, era la tolerancia a huevo cocido en la prueba de provocación inicial. Hasta un 45% de los niños que toleraron huevo cocido en la provocación inicial, toleraron huevo crudo espontáneamente al año. Por lo tanto al evaluar los porcentajes de éxito de la ITO este es un factor por lo que se debería ajustar. En el presente estudio no se incluyó este grupo de pacientes, ni como grupo control ni como activo, a diferencia de otros estudios (160).

3. CARACTERÍSTICAS DEL PROTOCOLO

3.1. Eficacia

Los diferentes estudios de IT oral a huevo, tienen unos porcentajes de eficacia muy variables, que oscilan desde ningún paciente(sólo desensibilización parcial)(154), hasta un 100% de los pacientes(157,158). Por esta gran variabilidad se explica que el único metanálisis de ITO con huevo(143), en donde consideraron 4 ensayos clínicos, estudiando 165 individuos, obtuvieron un porcentaje de éxito de 39% (una ración completa de huevo), comparando con un 11.9% en los controles.

Esta enorme variabilidad en la eficacia puede ser explicada por diferentes causas. Por ejemplo, el fenotipo clínico de los pacientes incluidos, tanto en edad, como la presencia de anafilaxia previa con huevo, los niveles de IgE específica frente a las proteínas alergénicas del huevo, etc. Por otro lado es importante saber cómo fueron seleccionados, si con prueba de provocación previa al inicio de la inmunoterapia o no, entre otros factores (149,160)

Los estudios controlados con placebo son pocos(153,155,161), ya que se trata de un procedimiento bastante lento y tedioso, que implica mucho compromiso por parte de los padres y familias de los pacientes. Por esta razón en la literatura se encuentran otros muchos estudios que han comparado sus hallazgos con un grupo control de semejantes características (149,152,154,156,159,160,168)

El presente estudio cuenta con un grupo control, definido por un grupo de pacientes que cumplían los criterios de inclusión, pero que no se sometieron a la inmunoterapia sino que se mantuvieron con la dieta de evitación estricta durante un año.

Una limitación de este estudio es que muchos de los controles no fueron provocados nuevamente a los 12 meses, ya que la mayoría de ellos habían rechazado la inmunoterapia por temor a las posibles reacciones durante el procedimiento, por lo que tampoco consintieron someterse

a una segunda provocación. Por lo tanto se decidió utilizarla la información procedente de ellos sólo para el análisis de variables analíticas inmunológicas

Por este motivo, la eficacia de este trabajo, no pude ser exactamente comparada con nuestros controles, pero asumimos que es parecida a la descrita en la literatura: los niveles de tolerancia espontánea en controles oscila entre un ningún paciente(153,154,159,161) en la mayoría de estudios, hasta un máximo de un 20% (154,159).

La eficacia del presente estudio ha sido alta, comparada con los 2 únicos estudios que utilizaron huevo cocido (159,180). En el de Moriset (180), tras 6 meses de IT con huevo cocido llegaron a una eficacia de un 69.44% (tolerancia de 965mg de clara cruda) y en el de Sudo(159) quien utilizó huevo cocido al vapor, sólo llegó a obtener una eficacia del 50% tras 2 años de inducción de IT, considerando eficacia a la tolerancia de 32g de huevo cocido en omelette japonés (equivalente a medio huevo cocido).

Nosotros hemos llegado a una eficacia de un 66.5% de tolerancia a huevo crudo, situándolo de forma parecida al resto de trabajos en los que hicieron la inmunoterapia con huevo crudo en donde oscila de un 50-60% (153,156,168), de un 80-90% (151,155,159,160,167) y la mayor de un 90% de los pacientes (6,149,152,158,161), pero con un mejor perfil de seguridad que los trabajos comentados, además con una forma más sencilla y natural de administrar el alérgeno (huevo cocinado) porque el consumo de huevo crudo es mínimo y fácil de evitar en nuestra sociedad.

3.2. Seguridad

Para decir que un estudio es seguro debemos tomar en cuenta diferentes aspectos, como el número de reacciones adversas, expresado tanto como porcentaje de pacientes afectados, como porcentaje de reacciones según el número de dosis, número de reacciones en las diferentes fases del protocolo y la gravedad clínicas de las reacciones.

Reacciones adversas durante la ITO

En general la incidencia de reacciones sin especificar la fase, oscila en los diferentes estudios desde un 53.3% hasta un 100% de pacientes (148,149,153,155,157,158,159,166). El único metanálisis publicado hasta la fecha reporta una incidencia de reacciones adversas en inmunoterapia al huevo en un 69%, por encima de la media de este trabajo, en el que sólo se llegó a un 63.8% de los pacientes, con alguna reacción.

En aquellos estudios que reportan las reacciones adversas por fases, encontramos que en la fase de inducción, las reacciones oscilan entre un 52% a un 78% de los pacientes (151,152,156). En este trabajo se encontró que un 63.8% de los pacientes tuvo alguna reacción en esta fase. Si se considera el número de reacciones respecto a la cantidad de dosis administradas, se observa que nuestros pacientes tuvieron alguna reacción sólo en un 4.8% de las dosis en el hospital y un 1.1% de las dosis que se administraron en domicilio, siendo menor que en otros trabajos, en donde las reacciones oscilan desde un 6.5% hasta un 25% de las dosis administradas (152, 158,159)

El periodo de mantenimiento ha sido muy variable en los distintos estudios. El porcentaje de pacientes con alguna reacción oscila entre el 5%(161) hasta un 31%(149). Respecto al número de dosis en las presentan reacción los porcentajes varían de un 0.43%(159) hasta un un 8.3% de las dosis con reacción(153). En esta fase, el presente protocolo fue mucho más seguro, obteniendo reacción en un 0.14% de las dosis administradas, siendo todas leves, sin necesidad de medicación de rescate.

Gravedad de las reacciones

En la ITO con alimentos el número de reacciones es alto, pero las más frecuentes son las leves, siendo las más raras pero más importantes las moderadas y graves. En nuestro estudio, sólo un 4,2% de los pacientes pacientes tuvo anafilaxia leve (grado2), si consideramos el porcentaje de dosis totales (6242), la anafilaxia se produjo en un 0.003%. En otros estudios el porcentaje de reacciones graves oscila entre de un 9 hasta un 22.9% (153,159) siendo incluso motivo de que algunos pacientes no puedan finalizar el protocolo(168).

3.3. Características inmunológicas al inicio de la inmunoterapia (T0)

En la mayoría de estudios se realizan las pruebas cutáneas al inicio del estudio y se comunican únicamente los resultados frente a clara, con un tamaño medio de 10 mm (153,154,157,161,167) igual que en el presente trabajo. Sólo 4 estudios mencionan diámetros de inicio menores: 5mm(155),6mm(149) y 9mm(157,167).

Los niveles de IgE específica, frente a huevo y a sus diferentes fracciones al inicio de la inmunoterapia, han sido similares a la mayoría de estudios. El nivel medio de IgE frente a clara de nuestros pacientes fue de 3.79 UI/l, que es semejante a la de la mayoría de estudios, cuyas cifras medias van de 3 a 23 UI/L. En el caso de la IgE frente a OVM, en los estudios, la media oscila entre 2.4-8.6 UI/l y la media de nuestros pacientes fue de 4.02 UI/l. La IgE frente a OVA en este estudio tiene una media de 1.82 UI/l, mientras que en otros estudios oscila entre 2-11 UI/l.

Comparativamente a los niveles de IgE, los niveles de IgG4 al inicio de la inmunoterapia son bajos en todos los estudios, oscilando frente a OVM entre (0.2-0.9 UI/L)y a la OVA (2.4-8 UI/l). En el presente estudio, la media niveles de IgG4 frente a OVM fue 0.09 UI/l y frente a OVA de 0.12 UI/l al inicio de la inmunoterapia (T0).

Es decir, los parámetros inmunológicos de nuestros pacientes al inicio de la inmunoterapia son muy parecidos al resto de estudios de inmunoterapia al huevo.

3.4. Tipo de protocolo: Tipo de material (huevo) utilizado

La mayoría de estudios utiliza la clara de huevo cruda liofilizada, ya que es equivalente alérgicamente a la clara cruda (181), pero de más fácil manejo y exento de contaminantes bacterianos (70). En este trabajo se ha utilizado huevo cocido (más de 10 min a más de 90°C), al ser más adaptado a la vida diaria y como se ha demostrado ha sido más seguro e igual de eficaz que la clara cruda liofilizada.

Las desensibilizaciones con huevo crudo tienen sus desventajas, ya que en los que utilizan como materia prima de la inmunoterapia huevo liofilizado o pateurizado, al terminar ésta, deben programar pruebas de provocación adicionales, para ver la tolerancia de los pacientes frente a huevo cocido natural, lo cual implica más gasto de tiempo y dinero además del coste del preparado utilizado (153,165).

Premedicación

La utilización de premedicación está discutida en cualquier tipo de inmunoterapia. En algunos protocolos, se administra premedicación con antihistamínicos durante todo el proceso de la inmunoterapia (150,151,155). En el presente protocolo no se administraba premedicación, pero sí se mantuvo en todos los incrementos de dosis una adecuada supervisión en el hospital. Se tenía un estrecho contacto con los padres de los pacientes vía telefónica, por si hubiese algún tipo de reacción en domicilio. Sólo en aquellos pacientes que presentaron reacciones leves frecuentes (locales) se les prescribió antihistamínicos de forma transitoria hasta que se comprobaba que esas reacciones desaparecían.

3.5. Duración de la Inmunoterapia

3.5.1. Duración de la fase de inducción

La duración depende básicamente de dos causas. Por un lado está el protocolo y cómo se planteó la inmunoterapia desde un principio y por otro la presencia de reacciones de los pacientes a lo largo del protocolo que modifican esa duración.

De acuerdo a la duración de la fase de inducción o de ascenso de dosis, Los protocolos se clasifican en rápidos (menos de 3 meses), intermedios (3-6meses) y lentos (+ de 6 meses) (70). El presente protocolo diseñado para una duración de 16 semanas, tuvo una media de 18.9 semanas, lo cual lo sitúa como un protocolo de duración intermedia. Debido a las reacciones que fueron

teniendo los niños en el transcurso de la inmunoterapia, éste tuvo que adaptarse y llevar un ritmo más lento. A pesar del riesgo de nuestros pacientes, éstos no tuvieron muchas reacciones que hayan hecho desviar mucho la duración de la inducción, del tiempo planteado inicialmente. Esto se debe a que si un niño presentaba una reacción moderada con alguna dosis, se retrocedía a probar la dosis previa tolerada (lo cual alarga el protocolo en una semana) o si tenía reacciones leves en casa, se mantenía la misma dosis, sin aumentarla, una o dos semanas más.

Otra causa importante que motivó a alargar el procedimiento fue la presencia de infecciones intercurrentes y, por último, motivos personales de los pacientes que imposibilitaron acudir a la cita.

3.5.2. Duración del mantenimiento

En este estudio, para equipararlo al resto de estudios, la fase en la cual los pacientes continúan con la ingesta de huevo 3 veces en semana, la llamamos mantenimiento. A diferencia de otros estudios, esta fase es compatible a una dieta variada en este país, lo cual mejora la adherencia.

La mayoría de estudios tienen aproximadamente un año de mantenimiento, considerado éste como el tiempo en que el paciente está tomando en domicilio la dosis de inmunoterapia objetivo (clara liofilizada, pasteurizada ...etc) (151,158,160,161,167,168), otros entre 2 y 3 años (153,155,166) y recientemente se ha publicado uno de 4 años de mantenimiento(182).

El tiempo de mantenimiento permite ver las reacciones y conocer mejor la historia natural de la evolución de los pacientes, pero por otro lado es difícil mantener la IT por mucho tiempo. Por ejemplo en el estudio con el más largo mantenimiento de la dosis objetivo una vez terminada la fase de inducción, publicado hasta ahora(182), de los 17 pacientes que llegaron a empezar el tercer año de mantenimiento, 8 abandonaron y no llegaron a completar los 4 años de inmunoterapia. En nuestro estudio 4 pacientes que ya habían tolerado el huevo cocido, durante la fase de mantenimiento no ingerían el huevo como se recomendó y perdieron la tolerancia a éste, comenzando a tener síntomas tras la su ingesta esporádica. No los consideramos como un fracaso total, ya que se comprobó que ya no tenían reacción con trazas, ni con bollería industrial con huevo, lo cual justifica con creces, todo el esfuerzo realizado en la inmunoterapia. Un problema observado en este estudio y confirmado en otro estudio previo (149), es que a muchos pacientes no les gustaba el huevo(apariencia, textura o sabor).

3.6. Cambios inmunológicos con la inmunoterapia

3.6.1. Pruebas cutáneas

En el presente trabajo, como en otros estudios en los que mencionan los cambios en las pruebas cutáneas, se encontró un descenso del diámetro al final de la inducción (Td) respecto al inicio de la inmunoterapia. En algunos estudios este descenso es significativo (154,155,161,165) y en otros no (158) y el único trabajo que no encontró este descenso inmediato al final, lo encontró después, a los 6 meses (167). A un año de la IT, en nuestro trabajo se encontró un descenso significativo frente a todas las fracciones, este hallazgo no ha sido evidenciado en otros estudios.

3.6.2. Niveles de IgE

Los niveles de IgE en nuestro trabajo disminuyeron al final de la inmunoterapia, de forma significativa frente a todas las fracciones proteicas, siendo la IgE frente a OVA y yema, más importantes, ya que descendieron casi un 50% al Td. También se observó un descenso significativo de la IgE específica frente a todas las fracciones en T1a y T2a. En la mayoría de los trabajos también se reporta un descenso en los niveles de IgE, pero algunos es significativo al Td(154–156) y otros sólo alcanza la significación a los 6(161,167), 12(158,159) o 22(153,166) meses de terminada la inmunoterapia. En los estudios que realizaron la inmunoterapia con huevo cocido(159,180) encontraron un descenso de los niveles de IgE específica frente a clara de huevo, sin determinarse niveles frente a OVM o OVA.

Un hallazgo importante deducible de nuestro trabajo, es que se ha evidenciado, que la inmunoterapia con una proteína termolábil (como la ovoalbúmina) calentada induce respuestas inmunológicas frente a esta proteína (disminución de IgE y aumento IgG4). En otras palabras, a nuestros pacientes les hemos administrado una mezcla de huevo cocido, es decir principalmente ovomucoide, ya que la ovoalbúmina en parte se desnaturaliza con este proceso(95,96,183). Sin embargo, se ha producido cambios inmunológicos frente a la OVA: disminución de la IgEs y disminución de los diámetros de la prueba cutánea.

En modelos murinos se plantea una explicación para este fenómeno, en donde muestran que la inmunoterapia con ovomucoide calentado (ebullición durante 30 minutos) aumenta la producción de citocinas supresoras (IL-13, IL-10, and IFN-gamma) , evitando anafilaxia en los ratones desensibilizados(144) y además produciendo cambios significativos en la expresión génica del intestino delgado(145)

En estudios clínicos, se han obtenido hallazgos similares con la utilización de proteínas sometidas a muy altas temperaturas (horneado) en pacientes alérgicos al huevo(116,120) y también con leche horneada(55,184) en alérgicos a la leche de vaca.

3.6.3. Niveles de IgG4.

Se ha descrito que un incremento de los niveles de IgG4 está asociado a resultados exitosos de inmunoterapia, tanto en inmunoterapia oral frente a leche de vaca (125)y en el caso de tolerancia a huevo horneado(116)

En nuestro trabajo, los niveles de IgG4 frente a OVA y OVM aumentaron de forma significativa desde el T0 al Td, sin embargo el incremento fue más importante al T1a. De forma interesante al T2a, el aumento fue más discreto. En los diferentes trabajos en los que se analizaron los niveles de IgG4 encontraron resultados semejantes, con un incremento de los mismos al Td (157,161,167,168), a los 6 meses(167) y de forma más importante al T1a (158).

De nuevo evidenciamos que la ovoalbúmina desnaturalizada ha sido capaz de inducir cambios inmunológicos (aumento de los niveles de IgG4).

3.7. Tolerancia al huevo crudo

Una de las aportaciones más importantes de este trabajo y que no se encuentra en otros estudios con huevo cocido (159,180), es que un 66.5% de los pacientes son capaces de tomar clara cruda, tras un año de mantenimiento de la inmunoterapia con huevo cocido e ingiriéndolo 3 veces en semana. Este hallazgo está en concordancia con los resultados de las pruebas inmunológicas ya que utilizando proteínas casi totalmente desnaturalizadas se ha podido desensibilizar frente a huevo crudo.

Fisiopatológicamente este hallazgo clínico puede explicarse por una aparente inmunoregulación que es capaz de inducir el alérgeno administrado bajo la forma de inmunoterapia, al elevar la producción las citocinas supresoras y reguladoras, como ha sido demostrado en diversos estudios(155,158,168) al medir los niveles de estas citocinas y la actividad de basófilos.

En ratones se ha demostrado que el OVM sometido a altas temperaturas, utilizado como materia prima para la desensibilización es capaz de producir cambios inmunológicos y reducir la anafilaxia tras provocación con OVM nativo(145)

3.8. Factores Asociados

Existen dos aspectos importantes, susceptibles de ser analizados en lo que respecta a la inmunoterapia. Por ejemplo, es fundamental poder predecir, antes de empezar, si ésta será eficaz, si durará más de la pauta planteada o bien si tendremos reacciones adversas. Por este motivo estudiamos los posibles factores que podrían predecir estas cuestiones. No pudimos analizar estadísticamente si hay factores que predigan eficacia, ya que en el presente estudio, el 100% tuvo

una tolerancia total al huevo cocido. Se analizaron los factores asociados a la seguridad, a la duración de la inmunoterapia y lo que es de mayor interés, el alcanzar la tolerancia sin reacción al huevo crudo.

3.8.1. Factores Asociados a Seguridad

Al igual que en otros estudios en lo que se evaluó la posible asociación entre ciertas características con la presencia o el número de reacciones adversas, no se encontró que la edad de inicio de la inmunoterapia o sexo de los pacientes estén asociados.

En un estudio(160)se buscó además puntos de corte que predigan la presencia de reacciones adversas durante más tiempo en la inmunoterapia. Así encontraron que cifras de IgE OVA y OVM menores de 6.49UI/L y 8.85UI/L respectivamente predicen con una sensibilidad de 79% y especificidad del 77% que los pacientes pertenezcan al grupo que tiene reacciones sólo al inicio de la inmunoterapia. De forma parecida, nosotros encontramos que los niveles altos de IgE específicos al T0 se correlacionan con mayor número de reacciones en esta fase, por cada aumento de 2 UI/l de IgE OVM, el paciente tiene una reacción más.

Además, encontramos que una menor disminución de IgE específica frente a clara desde el inicio al final de la inmunoterapia, está correlacionada con la presencia de reacciones adversas en el mantenimiento.

En el mismo estudio mencionado previamente(160), encontraron que la presencia de reacciones grado 4 en la prueba de provocación inicial, es un factor de riesgo independiente de tener reacciones grado 4 durante la inmunoterapia y que los pacientes con formas más graves de asma tienen mayor probabilidad de pertenecer al grupo de pacientes que tienen que detener el protocolo por la presencia de reacciones frecuentes durante la fase de inducción de la inmunoterapia. En el presente estudio no encontramos dichas asociaciones.

Aunque en algunos estudios se han monitorizado los niveles de IgG4(155,158,167,168), siendo en algunos un marcador de eficacia de la inmunoterapia (149,153,160,161), en el presente trabajo resulta ser también un marcador de seguridad al correlacionarse con menores reacciones en la fase de mantenimiento. Todos estos hallazgos, nos ayudarían a individualizar el tratamiento con inmunoterapia de los pacientes.

3.8.2. Factores asociados a Duración de la inmunoterapia:

En la revisión de los diferentes estudios publicados, no se encuentra que se haya investigado factores predictivos de duración de la inmunoterapia. En el presente estudio encontramos que los niveles de IgE OVM, OVA y clara elevados al T0, menor dosis desencadenante de reacción en la prueba de provocación inicial y un mayor número de reacciones adversas, están asociadas a mayor duración de la inmunoterapia.

No encontramos asociación entre las características basales, como edad de inicio de la inmunoterapia o sexo, con la duración de la inmunoterapia. Sin embargo se encontró que un nivel de IgE OVM al inicio de la inmunoterapia mayor de 11.8 UI/L predice un fase de inducción mayor de 19 semanas (S=100% y E=70.5)

Además, la dosis desencadenante de reacción en la prueba de provocación inicial con huevo cocido está inversamente correlacionada con la duración de la inducción de la inmunoterapia de forma significativa. Este hallazgo tiene una explicación lógica, ya que si tiene un umbral de reacción bajo, la inmunoterapia se inicia con una dosis muy baja lo cual hace que ésta tenga una mayor duración.

Finalmente, el número de reacciones adversas durante la fase de inducción, se correlaciona directamente con la duración de la inmunoterapia, esta correlación es consecuencia directa del protocolo, pues implica reducir o repetir dosis. Así por cada reacción adversas en esta fase, el riesgo es 1.44 veces de tener una inmunoterapia mayor de 19 semanas. Además, la severidad de la reacción también está correlacionada con una mayor duración de la inmunoterapia.

3.8.3. Factores asociados a tolerancia al huevo crudo

En el presente estudio, no se encontró que ciertas características basales, como el sexo o la edad de inicio de la inmunoterapia influyan en la tolerancia al huevo crudo. Tampoco influyeron el grado de reacción con la provocación inicial con huevo cocido, ni la dosis desencadenante de reacción en dicha provocación inicial.

Se ha encontrado que diámetros elevados de prueba cutánea con OVM al diagnóstico y clara al final de la inmunoterapia son factores de riesgo para tardar en tolerar el huevo crudo y predictor de presencia de alguna reacción adversa en el seguimiento de la inmunoterapia. Sólo en el estudio de Burks se reporta que la disminución del diámetro de las pruebas cutáneas predicen una inmunoterapia exitosa y tolerancia al huevo crudo (153). Otros estudios no reportan la utilidad predictora de las pruebas cutáneas.

Esta asociación encontrada es de una utilidad práctica importante ya que si al diagnóstico, encontramos unas pruebas cutáneas muy grandes frente al OVM, sabemos de antemano que este paciente tardará más en lograr la tolerancia de huevo crudo, no la de huevo cocido. Esto nos ayudaría a pensar en posponer las pruebas de provocación con huevo crudo en estos pacientes.

Se encontró que los niveles de IgE frente a yema y clara al inicio de la inmunoterapia, la IgE específica frente a OVM al año de la inmunoterapia y el nivel de IgE específica frente a OVA a los 2 años, son marcadores que se correlacionan con la probabilidad de tolerar el huevo crudo de forma más o menos temprana, una vez tolerado el huevo cocido. De manera que niveles altos de IgE específica frente a los alérgenos indican una tardanza en lograr la desensibilización a huevo crudo. Este interesante dato no ha sido analizado en otros estudios previos.

Otro hallazgo interesante que se ha encontrado fue que la disminución en más de un 50% de los niveles de IgE específico a clara y/o OVM predice la posibilidad de tolerar el huevo crudo una vez terminada la inmunoterapia con huevo cocido. Además se demostró que existe una correlación entre un mayor descenso de los niveles de IgE específica frente a clara y ovomucoide con una tolerancia más rápida al huevo crudo.

A diferencia de otros estudios en los que se encuentra una asociación entre niveles de IgG4 al final de la desensibilización, entre el cociente IgE a OVA /IgG4 OVA y entre el cociente IgE específico OVA /IgE total y tolerancia al huevo crudo, nosotros no encontramos dicha asociación (115,152,160,185).

De forma novedosa, se encontró que la presencia de reacciones en las fases de inducción de la inmunoterapia, no sólo hace que ésta dure más sino también que se tarde más en alcanzar la tolerancia a huevo crudo.

En resumen, con este trabajo, se ha demostrado que la inmunoterapia con huevo cocido es una alternativa segura y eficaz, con menos reacciones adversas durante el proceso y en el seguimiento, pese a tratarse de una población de niños particularmente difíciles por la seriedad de las reacciones y con mal pronóstico de tolerar el huevo a largo plazo. En otras palabras, se ha utilizado una preparación menos alérgica al cocinar el huevo, pero igualmente inmunogénica e inductora de tolerancia.

Además, se han encontrado algunos factores asociados a seguridad, como los niveles de IgE al inicio de la IT, el descenso importante de los niveles de IgE específicos durante la IT y el aumento de IgG4. También algunos factores asociados a tolerancia al huevo crudo, habiendo ya tolerado el huevo cocido con la IT, como niveles de IgE específico al inicio de la IT y un descenso importante de los niveles de IgE al final de la IT.

	<p>CAPÍTULO VII</p> <p>CONCLUSIONES</p>
--	-------------------------------------------------------

VII CAPÍTULO VII: CONCLUSIONES

1. La Inmunoterapia oral con huevo cocido completo ha demostrado ser tan eficaz como otras formas de inmunoterapia con huevo y con un perfil de seguridad mayor que los estudios publicados.
2. La inmunoterapia oral con huevo cocido logra una desensibilización al huevo crudo en al menos 66.5% de los pacientes tras 1 -2 años de mantenimiento.
3. Este tipo de Inmunoterapia oral da lugar a cambios inmunológicos similares a los observados en otras formas de inmunoterapia: disminución de las pruebas cutáneas y de los niveles de IgE específica y un aumento de la respuesta IgG4 frente a los alérgenos del huevo.
4. La duración de la inducción de la inmunoterapia se asocia de forma estadísticamente significativa a los niveles de IgE específica, al número y gravedad de las reacciones adversas durante esta fase y a la dosis de huevo que desencadena una reacción en la provocación oral inicial.
5. Los factores que se asocian a la seguridad del protocolo de inmunoterapia son la disminución de las pruebas cutáneas al final de la inducción, al porcentaje de disminución de IgE frente a clara al final de la inducción y al aumento de los niveles de IgG4 al año de la inmunoterapia.
6. Un 50% de disminución de IgE frente a clara y frente a ovomucoide tras un año de inmunoterapia está asociado a mayor tolerancia a huevo crudo.
7. La probabilidad de alcanzar la tolerancia al huevo crudo, es mayor en los pacientes que presentaban en el momento del diagnóstico un menor tamaño de las pruebas cutáneas frente a todas las fracciones y menores niveles de IgE específica frente a clara y yema. También en aquellos en los que los niveles de IgE frente a clara y ovomucoide disminuyen con más intensidad tras un año de inmunoterapia.

	<p>CAPÍTULO VIII</p> <p>ANEXOS</p>
--	--------------------------------------------------

VIII ANEXOS

1. ANEXO 1 : Consentimiento informado de Participar en el estudio

TÍTULO DEL PROYECTO: Eficacia y Seguridad de la Inmunoterapia oral con huevo cocido en niños con alergia persistente al huevo.

Propósito y antecedentes del estudio: ¿Qué es este estudio y cuáles son sus objetivos?

La alergia a alimentos se ha convertido en un problema de salud de primer orden en los países industrializados en las dos últimas décadas, afectando a un 1-2% de la población general y de 4- 6% en niños. La alergia a las proteínas de huevo comienza mayoritariamente alrededor de los 11 meses de vida (56.5%), ocurriendo el 97% de los casos en los 2 primeros años. El huevo se incluye dentro de los alimentos que producen reacciones sistémicas graves, por detrás de frutos secos y mariscos.

En la actualidad existen varios tratamientos para la alergia alimentaria, establecidos ya dentro de la práctica clínica habitual, habiendo sido demostrada su utilidad en numerosos grupos de pacientes.

Sin embargo, hacen falta estudios que nos ayuden a caracterizar mejor estos tratamientos en las diferentes poblaciones, ya que conociendo mejor y más a fondo cómo responden los pacientes a los diferentes tipos de tratamiento utilizados actualmente, podremos mejorarlos y hacerlos más seguros y eficaces en un futuro cercano.

Este estudio busca en primer lugar describir las características demográficas de la población de niños con alergia persistente al huevo en nuestro hospital. En segundo lugar, describir las características desde el punto de vista alérgico de estos niños y los tipos de respuestas frente a los tratamientos utilizados.

Procedimientos: ¿Cómo se va a llevar a cabo este estudio?

En caso de aceptar participar en el estudio, se recopilará la información demográfica y datos inmunológicos que constan en las historias clínicas y mediante cuestionarios que se rellenarán durante las visitas al hospital.

Beneficios: ¿Cuáles son los beneficios esperados para los participantes?

No significará ningún beneficio adicional el hecho de participar en el estudio. Asimismo, con los estudios realizados en todos los voluntarios como su hijo/a, podremos estudiar mejor la alergia al huevo y avanzar hacia una mejora en el tratamiento.

Riesgos: ¿Cuáles son los riesgos potenciales esperados para los participantes?

No significará ningún riesgo adicional el hecho de participar en el estudio.

Su participación es voluntaria

La participación de su hijo/a en este estudio es completamente voluntaria. Incluso después de haber firmado el consentimiento, usted puede reconsiderar su decisión y retirar su consentimiento en cualquier momento, sin necesidad de dar explicaciones y sin que ello afecte a la atención médica de su hijo/a en el futuro.

Para cualquier ampliación de la información, si lo desea, puede contactar con los investigadores responsables del estudio. En caso de urgencia podrá contactar con los teléfonos de los investigadores responsables.

En caso de duda respecto a sus derechos debe dirigirse al Comité de Ética de Investigación Clínica del Hospital Ramón y Cajal o al Defensor del Paciente.

Pago a los participantes

Le informamos que la realización de este estudio no está financiada. Ni usted, ni los profesionales, que participan en el mismo, incluido el equipo investigador, recibirán compensación económica alguna.

Confidencialidad y protección de datos personales

El tratamiento de los datos clínicos del paciente se hará con las medidas de seguridad establecidas en cumplimiento de la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de carácter personal y si además se transmiten datos a terceros se hará según lo establecido en la mencionada Normativa y el R.D. 994/99. . Para ello todos los datos del paciente se introducirán en una base de datos anonimizada.

Sólo aquellos datos de la historia clínica que estén relacionados con el ensayo serán objeto de comprobación. Esta comprobación se hará en la medida de lo posible en presencia del Investigador Principal/Investigadores Colaboradores, responsables de garantizar la confidencialidad de todos los datos de las historias clínicas pertenecientes a los sujetos participantes en el ensayo clínico. Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código y solo el investigador principal/colaboradores podrán relacionar dichos datos con usted y con su historia clínica.

Del mismo modo, sus muestras de sangre se identificarán con un código numérico y se enviarán a los investigadores básicos del proyecto, quienes no tendrán acceso a sus datos personales

Usted tiene derecho de acceso, rectificación y cancelación de los datos referentes a su hijo en cualquier momento.

Investigador responsable

La Dra Soledad Terrados del Servicio de Alergia del Hospital Ramón y Cajal es la investigadora responsable de este estudio. Si tiene cualquier duda durante la participación de su hijo/a en el estudio, por favor, contacte con ella en el teléfono 88338.

FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PACIENTES INCLUIDOS EN EL PROTOCOLO DE INMUNOTERAPIA ORAL CON HUEVO

Como representante legal del paciente, manifiesto que he sido informado por el Dr./a. Investigador principal/Investigador Colaborador de los siguiente aspectos:

- | | SÍ | NO |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| • He recibido, leído y entendido la hoja de información al paciente | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • He podido hacer preguntas sobre el estudio y para todas ellas he recibido una respuesta satisfactoria | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • He recibido suficiente información acerca del estudio | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • He tenido tiempo suficiente para decidir si deseaba participar | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Soy consciente de que la participación de mi hijo/a es voluntaria | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Soy consciente de que la historia de mi hijo/a será revisada por personal autorizado y que su identidad será confidencial tal y como exige la ley | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Comprendo que puedo retirarme del estudio en cualquier momento, sin tener que dar explicaciones y sin que ello repercuta en la atención médica futura de mi hijo/a | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

Por ello, en pleno uso de mis facultades mentales y libremente, doy mi CONSENTIMIENTO para que mi representante participe en el estudio.

Nombre del participante menor: _____

Nombre del representante: _____

En calidad de (madre, padre, tutor/a, etc.): _____

D.N.I. del representante: _____ Fecha: _____

Firma: _____

Nombre del investigador responsable: _____

Firma: _____ Fecha: _____

2. ANEXO 2: Pauta de Provocación Oral a Huevo

PAUTA DE PROVOCACION ORAL A HUEVO

Identificación:

Batido de huevo cocido en doble del peso del huevo cocido en cc de leche de vaca o de soja.

Cada 30 MiN Y AL FINAL ESPERAR 90 MiN

DOSIS	HORA	REACCIÓN
0,5 ml		
5 cc		
15 cc		
45cc		
Resto 90-100cc		

INCIDENCIAS Y COMENTARIOS:

3. Anexo 3: CONSENTIMIENTO INFORMADO DE PARTICIPAR EN LA INMUNOTERAPIA

TÍTULO DEL PROYECTO: Eficacia y Seguridad de la Inmunoterapia oral con huevo cocido en niños con alergia persistente al huevo.

Propósito y antecedentes del estudio: ¿Qué es este estudio y cuáles son sus objetivos?

La alergia a alimentos se ha convertido en un problema de salud de primer orden en los países industrializados en las dos últimas décadas, afectando a un 1-2% de la población general y de 4- 6% en niños.

La alergia a las proteínas de huevo comienza mayoritariamente alrededor de los 11 meses de vida (56.5%), ocurriendo el 97% de los casos en los 2 primeros años. El huevo se incluye dentro de los alimentos que producen reacciones sistémicas graves, por detrás de frutos secos y mariscos.

Una vez establecido el diagnóstico de alergia al huevo, el único tratamiento disponible en la actualidad es evitar estrictamente su ingesta en todas sus formas y derivados. La dieta de evitación de este alimento resulta especialmente problemática en los niños, dada la importancia nutricional del mismo, y su amplia utilización en la preparación de múltiples alimentos, tanto a nivel familiar como en restauración. Los problemas se intensifican a medida que la edad del niño alérgico avanza, debido a la escolarización y la progresiva socialización, que con frecuencia incluye comidas fuera del domicilio familiar (comedor escolar, cumpleaños, excursiones), sin olvidar que la coexistencia de alergia a varios alimentos puede repercutir en los aspectos nutricionales de los niños y en su calidad de vida.

Afortunadamente, en muchos de los casos, la alergia al huevo es una patología transitoria que evoluciona hacia la tolerancia. Cuando un paciente es diagnosticado de alergia a proteínas de huevo, se le indica una dieta de evitación de este alimento y se le revisa de forma regular en la consulta.

En los últimos años se ha desarrollado las técnicas de Inducción oral de tolerancia ó inmunoterapia oral frente a proteínas de alimentos, particularmente en niños. Se sabe, que la inmunoterapia oral produce una modulación de la respuesta inmunológica pasando de la reactividad clínica a la tolerancia, y suponemos que esto conlleva una modificación del reconocimiento epitópico en los alérgenos del huevo.

Desde hace muchos años se han ido publicando poco a poco diversos estudios, de posibles tratamientos con inmunoterapia para niños con alergia al huevo. Todos bajo el concepto de un incremento gradual de la administración de las proteínas del huevo. En los últimos años varios investigadores han publicado algunos estudios que establecieron la seguridad y efectividad de la inmunoterapia oral con huevo.

La inducción de la tolerancia oral para alérgenos alimentarios se encuentra aún en fase de investigación, no obstante algunos estudios han demostrado resultados prometedores Sin embargo hay reacciones adversas con relativa frecuencia.

Este estudio busca poner en práctica un protocolo de inmunoterapia oral a proteínas de huevo, en pacientes diagnosticados de alergia al huevo de edad superior a 5 años, que no hubieran alcanzado la tolerancia de forma espontánea.

Este estudio se les propone ya que su hijo/a tiene una edad superior a 5 años y aún no ha alcanzado la tolerancia a proteínas de huevo

Procedimientos: ¿Cómo se va a llevar a cabo este estudio?

Si usted consiente que su hijo/a participe, él/ella será sometido a una evaluación alergológica completa, que comprende la recogida de una historia clínica detallada, pruebas cutáneas y una extracción de sangre (70 ml) para la determinación de IgE específica frente a los alérgenos del huevo para la caracterización de la respuesta del sistema inmunológico de su hijo a los alérgenos de la leche.

Todas estas pruebas se pueden realizar en la misma visita. Para completar el estudio, necesitamos evaluar la reactividad o tolerancia al huevo mediante una provocación oral que requerirá 1 día más. Si su hijo/a ha sufrido una anafilaxia grave con huevo en el último año no se realizará la provocación oral. Todas estas pruebas se realizan de forma rutinaria en la evaluación clínica de los pacientes con cualquier alergia alimentaria, y se llevarán a cabo en este hospital, por parte de personal entrenado y bajo estrecha supervisión médica.

Si confirmamos la reactividad de su hijo/a al huevo se llevará a cabo la inmunoterapia oral o desensibilización. La pauta de inmunoterapia con huevo, consiste en administrar dosis crecientes de huevo cocido mezclado en un batido con leche de vaca o de soja, semanalmente hasta alcanzar la tolerancia. Siempre bajo supervisión de personal de enfermería entrenado y con un médico responsable a cargo. Es una técnica utilizada en algunos estudios hasta el momento, no estandarizada, que ofrece una posibilidad terapéutica eficaz en pacientes diagnosticados de alergia al huevo

Durante este proceso es posible que aparezcan reacciones, para las que se administrará la medicación necesaria para el control de los síntomas.

En caso de incluirse en el protocolo de inducción de tolerancia se ha comentado que el número de visitas será de 2 visitas y luego una visita a la semana de forma continuada hasta completar la prueba.

Beneficios: ¿Cuáles son los beneficios esperados para los participantes?

El beneficio de la inmunoterapia oral con huevo de tolerancia es la posibilidad de llegar a tolerar el alimento al cual su hijo es alérgico. Comparativamente con otros estudios, este protocolo de inmunoterapia oral con huevo plantea el beneficio teórico adicional de provocar menos reacciones adversas, al ser realizado con huevo cocido, una forma menos alergénica del huevo pero igual de eficaz para inducir la tolerancia oral.

Asimismo, con los estudios realizados en todos los voluntarios como su hijo/a, podremos estudiar mejor la alergia al huevo y avanzar hacia una mejora en el tratamiento activo con desensibilización e incluso con inmunoterapia en un futuro.

Riesgos: ¿Cuáles son los riesgos potenciales esperados para los participantes?

Las pruebas cutáneas, las extracciones de sangre y las provocaciones orales son procedimientos diagnósticos comunes en alergia que se realizan de forma rutinaria en este hospital. El personal de este Servicio de Alergia tiene años de experiencia en la realización de estas pruebas y en el tratamiento de cualquier efecto adverso ocasional que pueda presentarse durante las mismas. Disponemos además de un equipo completo de emergencia y de medicación para tratar una eventual reacción.

Durante la prueba de provocación o la pauta de desensibilización pueden aparecer reacciones desde leves las más frecuentes hasta muy graves que son excepcionales. Los riesgos de la provocación y la inmunoterapia y las posibles complicaciones que se pueden presentar son derivados del desarrollo de una reacción alérgica igual o superior a la que originó la consulta y que

puede concretarse en cuadros dérmicos de urticaria y/o cuadros generales de hipotensión, dificultad respiratoria, palpitaciones, pérdida de conciencia. En casos excepcionales puede producir la muerte.

Su participación es voluntaria

La participación de su hijo/a en este estudio es completamente voluntaria. Incluso después de haber firmado el consentimiento, usted puede reconsiderar su decisión y retirar su consentimiento en cualquier momento, sin necesidad de dar explicaciones y sin que ello afecte a la atención médica de su hijo/a en el futuro.

Si usted no desea que a su hijo/a se le realice este tratamiento, o no quiere seguir, lo puede hacer en cualquier momento, su doctor le informará de la dieta de eliminación de proteínas de huevo, así como le recomendará un tratamiento para aplicar en caso de ingestión accidental mientras va de camino a un centro sanitario.

Para cualquier ampliación de la información, si lo desea, puede contactar con los investigadores responsables del estudio. En caso de urgencia podrá contactar con los teléfonos de los investigadores responsables.

En caso de duda respecto a sus derechos debe dirigirse al Comité de Ética de Investigación Clínica del Hospital Ramón y Cajal o al Defensor del Paciente.

Pago a los participantes

Le informamos que la realización de este estudio no está financiada. Ni usted, ni los profesionales, que participan en el mismo, incluido el equipo investigador, recibirán compensación económica alguna.

Confidencialidad y protección de datos personales

El tratamiento de los datos clínicos del paciente se hará con las medidas de seguridad establecidas en cumplimiento de la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de carácter personal y si además se transmiten datos a terceros se hará según lo establecido en la mencionada Normativa y el R.D. 994/99. . Para ello todos los datos del paciente se introducirán en una base de datos anonimizada.

Sólo aquellos datos de la historia clínica que estén relacionados con el ensayo serán objeto de comprobación. Esta comprobación se hará en la medida de lo posible en presencia del Investigador Principal/Investigadores Colaboradores, responsables de garantizar la confidencialidad de todos los datos de las historias clínicas pertenecientes a los sujetos participantes en el ensayo clínico. Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código y solo el investigador principal/colaboradores podrán relacionar dichos datos con usted y con su historia clínica.

Del mismo modo, sus muestras de sangre se identificarán con un código numérico y se enviarán a los investigadores básicos del proyecto, quienes no tendrán acceso a sus datos personales

Usted tiene derecho de acceso, rectificación y cancelación de los datos referentes a su hijo en cualquier momento.

Investigador responsable

La Dra Soledad Terrados del Servicio de Alergia del Hospital Ramón y Cajal es la investigadora responsable de este estudio. Si tiene cualquier duda durante la participación de su hijo/a en el estudio, por favor, contacte con ella en el teléfono 88338.

FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PACIENTES INCLUIDOS EN EL PROTOCOLO DE INMUNOTERAPIA ORAL CON HUEVO

Como representante legal del paciente, manifiesto que he sido informado por el Dr./a. Investigador principal/Investigador Colaborador de los siguiente aspectos:

- | | SÍ | NO |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| • He recibido, leído y entendido la hoja de información al paciente | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • He podido hacer preguntas sobre el estudio y para todas ellas he recibido una respuesta satisfactoria | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • He recibido suficiente información acerca del estudio | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • He tenido tiempo suficiente para decidir si deseaba participar | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Soy consciente de que la participación de mi hijo/a es voluntaria | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Soy consciente de que la historia de mi hijo/a será revisada por personal autorizado y que su identidad será confidencial tal y como exige la ley | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| • Comprendo que puedo retirarme del estudio en cualquier momento, sin tener que dar explicaciones y sin que ello repercuta en la atención médica futura de mi hijo/a | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

Por ello, en pleno uso de mis facultades mentales y libremente, doy mi CONSENTIMIENTO para que mi representante participe en el estudio.

Nombre del participante menor: _____

Nombre del representante: _____

En calidad de (madre, padre, tutor/a, etc.): _____

D.N.I. del representante: _____ Fecha: _____

Firma: _____

Nombre del investigador responsable: _____

Firma: _____ Fecha: _____

4. ANEXO 4: Protocolo de Inmunoterapia

PAUTA DE INMUNOTERAPIA ORAL A HUEVO COCIDO

Identificación del paciente (iniciales nombre y apellidos):

Nº Historia:

1 huevo cocido batido con el doble en cc de leche de vaca o de soja

Anotar peso del huevo y volumen final: _____

En un huevo medio de 55 gr la concentración de proteína es de aprox 333 mg/ ml

PRIMER DÍA:

Fecha:

Con 30 mn de intervalo

DOSIS	HORA	REACCIÓN
3,3 mg (0,1 al 1/10)		
9,9 mg (0, 3 cc 1/10)		
19,9 mg (0,6 cc 1/10)		
33,3 mg (0, 1cc 1/1)		
66,6 mg (0,2 cc)		

AUMENTOS SEMANALES

DOSIS	DÍA	REACCIÓN EN DOMICILIO	REACCIÓN EN CONSULTA
99,9 (0,3 cc)			
133,2 (0,4 cc)			
199,8mg (0,6cc)			
333 mg (1cc)			
499,9 mg (1, 5cc)			
666,6 mg (2 cc)			
999,9 gr (3cc)			
1, 66gr (5 cc)			
2, 66 gr (8cc)			
3,99gr (12 cc)			
6,6 g (20 cc)			
9,9 gr (30cc)			
16,6 gr (50 cc)			
25 gr (75 cc)			
½ huevo cocido			
¾ huevo cocido			
Huevo cocido (55 gr)			

5. ANEXO 5: Provocación oral con huevo crudo

PROVOCACIÓN ORAL CON HUEVO CRUDO

Identificación:

Clara cruda pasteurizada enmascarada en yogurt de leche de vaca o de soja

	Hora	Comentario
1/32 huevo (1ml)		
1/8 huevo (4ml)		
1/3 huevo (10 ml)		
Hasta 1 huevo (19ml)		

	<p>CAPÍTULO IX RESUMEN EN INGLÉS</p>
--	--------------------------------------------------------

Background

Food allergy has become an increasingly problem worldwide. Once the diagnosis of egg allergy is established, the only treatment available today is strictly avoiding its intake in all its forms and derivatives. Immunotherapy for food allergy is still under investigation, however some studies have shown good results.

Methods:

The study design is a prospective, longitudinal cohort of therapeutic, controlled, non-randomized intervention. This study is the application of a protocol of immunotherapy with boiled egg in children with persistent allergy. It consists of a weekly induction phase (progressive dose increment) and then a maintenance phase consisting of the ingestion of a boiled egg 3 times a week. Immunological changes are analyzed at the beginning of immunotherapy, at the end of the induction phase, at one year and at 2 years. Finally a provocation was performed with raw white egg.

Results

The oral immunotherapy with boiled egg has achieved a desensitization to boiled egg of 100% and to raw white egg in 66.5%. This IT produces immunological changes similar to other immunotherapies (decrease in skin tests, specific IgE levels and increase in specific IgG4. 63.8% of patients have had a reaction throughout immunotherapy.

Were found Several factors associated with duration of the induction phase (levels of specific IgE at baseline, number and severity of adverse reactions during induction), associated with safety (reduction of skin tests at the end of induction, Decrease in IgE against white egg from the beginning to end of induction phase and increase of IgG4 at 1year of IT) and to raw white egg tolerance (percentage of decrease in IgE against white egg and against OVM at 1 year of IT)

Conclusions

With this study, it has been demonstrated that boiled egg immunotherapy is a safe and effective therapy , with less adverse reactions during the process and in the follow-up. In other words, a less allergenic preparation has been used when boiling the egg, but it is equally immunogenic. In addition, some factors associated with safety, duration of IT and tolerance to raw egg have been found, which could be useful to improve the conditions of this technique in the future.

	<p>CAPÍTULO X REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</p>
--	---------------------------------------------------------------------------

X CAPÍTULO X: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Instituto de Estudios del Huevo. El gran libro del huevo. Primera edición. España: Editorial Everest; 2009.
2. Instituto de Estudios del Huevo. Lecciones sobre el huevo. primera edición. España; 2002.
3. Yu Z, Yin Y, Zhao W, Chen F, Liu J. Application and bioactive properties of proteins and peptides derived from hen eggs: opportunities and challenges. *J Sci Food Agric*. 2014 Nov;94(14):2839–45.
4. Boyano-Martínez MT, García Ara MC. Alergia a Alimentos en el niño. Mra ediciones. España; 2013. 198 p.
5. Corley DA, Schuppan D. Food, the immune system, and the gastrointestinal tract. *Gastroenterology*. 2015 May;148(6):1083–6.
6. Vickery BP, Scurlock AM, Jones SM, Burks AW. Mechanisms of Immune Tolerance Relevant to Food Allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2011 Mar;127(3):576–86.
7. Berin MC, Mayer L. Can we produce true tolerance in patients with food allergy? *J Allergy Clin Immunol*. 2013 Jan;131(1):14–22.
8. 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 Dec;126(6 Suppl):S1-58.
9. 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 Aug;69(8):1008–25.
10. Uzzaman A, Cho SH. Chapter 28: Classification of hypersensitivity reactions. *Allergy and Asthma Proceedings*. 2012 May;33(3):96–9.
11. Kumar S, Verma AK, Das M, Dwivedi PD. Molecular mechanisms of IgE mediated food allergy. *Int Immunopharmacol*. 2012 Aug;13(4):432–9.
12. Krogulska A, Borowiec M, Polakowska E, Dynowski J, Mlynarski W, Wasowska-Krolikowska K. FOXP3, IL-10, and TGF-(beta) genes expression in children with IgE-dependent food allergy. *J Clin Immunol*. 2011;31(2):205–15.
13. Qamar N, Fishbein AB, Erickson KA, Cai M, Szychlinski C, Bryce PJ, et al. Naturally Occurring Tolerance Acquisition to Foods in Previously Allergic Children is Characterized by Antigen Specificity and Associated with Increased Subsets of Regulatory T cells. *Clin Exp Allergy*. 2015 May 18;
14. Burks AW, Tang M, Sicherer S, Muraro A, Eigenmann PA, Ebisawa M, et al. ICON: food allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2012 Apr;129(4):906–20.
15. Wasserman S, Watson W. Food allergy. *Allergy, Asthma, and Clinical Immunology: Official Journal of the Canadian Society of Allergy and Clinical Immunology*. 2011;7(Suppl 1):S7.

16. Nowak-Węgrzyn A, Katz Y, Mehr SS, Koletzko S. Non-IgE-mediated gastrointestinal food allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2015 May;135(5):1114–24.
17. Feuille E, Nowak-Węgrzyn A. Food Protein-Induced Enterocolitis Syndrome, Allergic Proctocolitis, and Enteropathy. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2015 Aug;15(8):50.
18. Peters RL, Gurrin LC, Allen KJ. The predictive value of skin prick testing for challenge-proven food allergy: a systematic review. *Pediatr Allergy Immunol*. 2012 Jun;23(4):347–52.
19. Costa AJF, Sarinho ESC, Motta MEFA, Gomes PN, de Oliveira de Melo SM, da Silva GAP. Allergy to cow's milk proteins: what contribution does hypersensitivity in skin tests have to this diagnosis? *Pediatric Allergy and Immunology*. 2011;22(1pt2):e133–e138.
20. Osborne NJ, Koplin JJ, Martin PE, Gurrin LC, Lowe AJ, Matheson MC, et al. Prevalence of challenge-proven IgE-mediated food allergy using population-based sampling and predetermined challenge criteria in infants. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2011;127(3):668–676.
21. Liu AH, Jaramillo R, Sicherer SH, Wood RA, Bock SA, Burks AW, et al. National prevalence and risk factors for food allergy and relationship to asthma: results from the National Health and Nutrition Examination Survey 2005–2006. *J Allergy Clin Immunol*. 2010 Oct;126(4):798–806.e13.
22. Rona RJ, Keil T, Summers C, Gislason D, Zuidmeer L, Sodergren E, et al. The prevalence of food allergy: a meta-analysis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2007;120(3):638–646.
23. 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 Aug;69(8):992–1007.
24. Ibáñez MD, Garde JM. Allergy in patients under fourteen years of age in *Alergológica 2005*. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2009;19 Suppl 2:61–8.
25. Koplin JJ, Allen KJ, Gurrin LC, Peters RL, Lowe AJ, Tang MLK, et al. The impact of family history of allergy on risk of food allergy: a population-based study of infants. *Int J Environ Res Public Health*. 2013 Nov;10(11):5364–77.
26. Tan H-TT, Ellis JA, Koplin JJ, Matheson MC, Gurrin LC, Lowe AJ, et al. Filaggrin loss-of-function mutations do not predict food allergy over and above the risk of food sensitization among infants. *J Allergy Clin Immunol*. 2012 Nov;130(5):1211–1213.e3.
27. Sicherer SH, Sampson HA. Food allergy: Epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment. *J Allergy Clin Immunol*. 2014 Feb;133(2):291–307; quiz 308.
28. Tan H-TT, Ellis JA, Koplin JJ, Martino D, Dang TD, Suaini N, et al. Methylation of the filaggrin gene promoter does not affect gene expression and allergy. *Pediatr Allergy Immunol*. 2014 Oct;25(6):608–10.
29. Linneberg A, Fenger RV, Husemoen L-LN, Thuesen BH, Skaaby T, Gonzalez-Quintela A, et al. Association between loss-of-function mutations in the filaggrin gene and self-reported food allergy and alcohol sensitivity. *Int Arch Allergy Immunol*. 2013;161(3):234–42.

30. Hancock DB, Romieu I, Chiu GY, Sienna-Monge J-J, Li H, del Rio-Navarro BE, et al. STAT6 and LRP1 polymorphisms are associated with food allergen sensitization in Mexican children. *J Allergy Clin Immunol*. 2012 Jun;129(6):1673–6.
31. Savage J, Johns CB. Food allergy: epidemiology and natural history. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2015 Feb;35(1):45–59.
32. Kusunoki T, Mukaida K, Morimoto T, Sakuma M, Yasumi T, Nishikomori R, et al. Birth order effect on childhood food allergy. *Pediatr Allergy Immunol*. 2012 May;23(3):250–4.
33. Ege MJ, Herzum I, Büchele G, Krauss-Etschmann S, Lauener RP, Roponen M, et al. Prenatal exposure to a farm environment modifies atopic sensitization at birth. *J Allergy Clin Immunol*. 2008 Aug;122(2):407–12, 412-4.
34. Keet CA, Wood RA, Matsui EC. Personal and parental nativity as risk factors for food sensitization. *J Allergy Clin Immunol*. 2012 Jan;129(1):169-75-5.
35. Allen KJ, Koplin JJ, Ponsonby A-L, Gurrin LC, Wake M, Vuillermin P, et al. Vitamin D insufficiency is associated with challenge-proven food allergy in infants. *J Allergy Clin Immunol*. 2013 Apr;131(4):1109–16, 1116-6.
36. Vassallo MF, Camargo CA. Potential mechanisms for the hypothesized link between sunshine, vitamin D, and food allergy in children. *J Allergy Clin Immunol*. 2010 Aug;126(2):217–22.
37. Nurmatov U, Devereux G, Sheikh A. Nutrients and foods for the primary prevention of asthma and allergy: systematic review and meta-analysis. *J Allergy Clin Immunol*. 2011 Mar;127(3):724-733-30.
38. Weisse K, Winkler S, Hirche F, Herberth G, Hinz D, Bauer M, et al. Maternal and newborn vitamin D status and its impact on food allergy development in the German LINA cohort study. *Allergy*. 2013 Feb;68(2):220–8.
39. Koplin JJ, Suaini NHA, Vuillermin P, Ellis JA, Panjari M, Ponsonby A-L, et al. Polymorphisms affecting vitamin D-binding protein modify the relationship between serum vitamin D (25[OH]D3) and food allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2015 Aug 7;
40. Suaini NHA, Zhang Y, Vuillermin PJ, Allen KJ, Harrison LC. Immune Modulation by Vitamin D and Its Relevance to Food Allergy. *Nutrients*. 2015;7(8):6088–108.
41. Infant and Young Child Feeding: Model Chapter for Textbooks for Medical Students and Allied Health Professionals [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2009 [cited 2015 Sep 22]. (WHO Guidelines Approved by the Guidelines Review Committee). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK148965/>
42. 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 Jan;46(1):99–110.

43. 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 Jan;121(1):183–91.
44. Prescott SL, Smith P, Tang M, Palmer DJ, Sinn J, Huntley SJ, et al. The importance of early complementary feeding in the development of oral tolerance: concerns and controversies. *Pediatr Allergy Immunol*. 2008 Aug;19(5):375–80.
45. Koplin JJ, Allen KJ. Optimal timing for solids introduction - why are the guidelines always changing? *Clin Exp Allergy*. 2013 Aug;43(8):826–34.
46. Tarini BA, Carroll AE, Sox CM, Christakis DA. Systematic review of the relationship between early introduction of solid foods to infants and the development of allergic disease. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2006 May;160(5):502–7.
47. Zutavern A, Brockow I, Schaaf B, von Berg A, Diez U, Borte M, et al. Timing of solid food introduction in relation to eczema, asthma, allergic rhinitis, and food and inhalant sensitization at the age of 6 years: results from the prospective birth cohort study LISA. *Pediatrics*. 2008 Jan;121(1):e44-52.
48. Koplin JJ, Osborne NJ, Wake M, Martin PE, Gurrin LC, Robinson MN, et al. Can early introduction of egg prevent egg allergy in infants? A population-based study. *J Allergy Clin Immunol*. 2010 Oct;126(4):807–13.
49. Roduit C, Frei R, Depner M, Schaub B, Loss G, Genuneit J, et al. Increased food diversity in the first year of life is inversely associated with allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol*. 2014 Apr;133(4):1056–64.
50. Du Toit G, Roberts G, Sayre PH, Bahnson HT, Radulovic S, Santos AF, et al. Randomized trial of peanut consumption in infants at risk for peanut allergy. *N Engl J Med*. 2015 Feb 26;372(9):803–13.
51. Fleischer DM, Sicherer S, Greenhawt M, Campbell D, Chan ES, Muraro A, et al. Consensus communication on early peanut introduction and the prevention of peanut allergy in high-risk infants. *World Allergy Organ J*. 2015;8(1):27.
52. Nowak-Wegrzyn A, Fiocchi A. Rare, medium, or well done? The effect of heating and food matrix on food protein allergenicity. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2009 Jun;9(3):234–7.
53. Davis PJ, Williams SC. Protein modification by thermal processing. *Allergy*. 1998;53(46 Suppl):102–5.
54. Konstantinou GN, Kim JS. Paradigm shift in the management of milk and egg allergy: baked milk and egg diet. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2012 Feb;32(1):151–64.
55. Huang F, Nowak-Wegrzyn A. Extensively heated milk and egg as oral immunotherapy. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*. 2012;12(3):283.

56. Ilchmann A, Burgdorf S, Scheurer S, Waibler Z, Nagai R, Wellner A, et al. Glycation of a food allergen by the Maillard reaction enhances its T-cell immunogenicity: role of macrophage scavenger receptor class A type I and II. *J Allergy Clin Immunol*. 2010 Jan;125(1):175-183-11.
57. Beyer K, Morrow E, Li XM, Bardina L, Bannon GA, Burks AW, et al. Effects of cooking methods on peanut allergenicity. *J Allergy Clin Immunol*. 2001 Jun;107(6):1077-81.
58. Maleki SJ, Chung SY, Champagne ET, Raufman JP. The effects of roasting on the allergenic properties of peanut proteins. *J Allergy Clin Immunol*. 2000 Oct;106(4):763-8.
59. Carnés J, Ferrer A, Huertas AJ, Andreu C, Larramendi CH, Fernández-Caldas E. The use of raw or boiled crustacean extracts for the diagnosis of seafood allergic individuals. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2007 Apr;98(4):349-54.
60. Cho H-N, Hong S, Lee S-H, Yum H-Y. Nutritional status according to sensitized food allergens in children with atopic dermatitis. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2011 Jan;3(1):53-7.
61. Vieira MC, Morais MB, Spolidoro JVN, Toporovski MS, Cardoso AL, Araujo GTB, et al. A survey on clinical presentation and nutritional status of infants with suspected cow' milk allergy. *BMC Pediatr*. 2010;10:25.
62. Flammarion S, Santos C, Guimber D, Jouannic L, Thumerelle C, Gottrand F, et al. Diet and nutritional status of children with food allergies. *Pediatr Allergy Immunol*. 2011 Mar;22(2):161-5.
63. Liu T, Howard RM, Mancini AJ, Weston WL, Paller AS, Drolet BA, et al. Kwashiorkor in the United States: fad diets, perceived and true milk allergy, and nutritional ignorance. *Arch Dermatol*. 2001 May;137(5):630-6.
64. Meyer R, De Koker C, Dziubak R, Venter C, Dominguez-Ortega G, Cutts R, et al. Malnutrition in children with food allergies in the UK. *J Hum Nutr Diet*. 2014 Jun;27(3):227-35.
65. 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 Mar;26(2):133-8.
66. Cummings AJ, Knibb RC, King RM, Lucas JS. The psychosocial impact of food allergy and food hypersensitivity in children, adolescents and their families: a review. *Allergy*. 2010 Aug;65(8):933-45.
67. Fox M, Mugford M, Voordouw J, Cornelisse-Vermaat J, Antonides G, de la Hoz Caballer B, et al. Health sector costs of self-reported food allergy in Europe: a patient-based cost of illness study. *Eur J Public Health*. 2013 Oct;23(5):757-62.
68. Jansson S-A, Protudjer JLP, Arnlinde Heibert M, Bengtsson U, Kallström-Bengtsson I, Marklund B, et al. Socioeconomic evaluation of well-characterized allergy to staple foods in adults. *Allergy*. 2014 Sep;69(9):1241-7.
69. Dávila González, Jáuregui Presa, Olaguibel Rivera, Zubeldía Ortuño. *Tratado de Alergología*. 2a edición. Vol. tomo III. Madrid: Ergon; 2015.

70. Ibáñez MD, Escudero C, Sánchez-García S, Rodríguez del Río P. Comprehensive Review of Current Knowledge on Egg Oral Immunotherapy. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2015;25(5):316–28.
71. Kerstan A, Albert C, Klein D, Bröcker E-B, Trautmann A. Wasp venom immunotherapy induces activation and homing of CD4(+)CD25(+) forkhead box protein 3-positive regulatory T cells controlling T(H)1 responses. *J Allergy Clin Immunol*. 2011 Feb;127(2):495-501-6.
72. 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 Jan;119(1):199–205.
73. 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. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2003;17(3):459–465.
74. Crisafulli G, Caminiti L, Pajno GB. Oral desensitization for immunoglobulin E-mediated milk and egg allergies. *Isr Med Assoc J*. 2012 Jan;14(1):53–6.
75. Narisety SD, Skripak JM, Steele P, Hamilton RG, Matsui EC, Burks AW, et al. Open-label maintenance after milk oral immunotherapy for IgE-mediated cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2009 Sep;124(3):610–2.
76. Vickery BP. Egg oral immunotherapy. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*. 2012;12(3):278.
77. Unsel M, Sin AZ, Ardeniz O, Erdem N, Ersoy R, Gulbahar O, et al. New onset egg allergy in an adult. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2007;17(1):55–8.
78. Fernández Rivas M. Food allergy in *Alergológica-2005*. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2009;19 Suppl 2:37–44.
79. Caubet J-C, Wang J. Current understanding of egg allergy. *Pediatr Clin North Am*. 2011 Apr;58(2):427–443, xi.
80. Vance GHS, Grimshaw KEC, Briggs R, Lewis SA, Mullee MA, Thornton CA, et al. Serum ovalbumin-specific immunoglobulin G responses during pregnancy reflect maternal intake of dietary egg and relate to the development of allergy in early infancy. *Clin Exp Allergy*. 2004 Dec;34(12):1855–61.
81. Palmer DJ, Gold MS, Makrides M. Effect of maternal egg consumption on breast milk ovalbumin concentration. *Clin Exp Allergy*. 2008 Jul;38(7):1186–91.
82. de Boissieu D, Dupont C. Natural course of sensitization to hen's egg in children not previously exposed to egg ingestion. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2006 Apr;38(4):113–7.
83. Ming M, Zhao B, Shea CR, Shah P, Qiang L, White SR, et al. Loss of sirtuin 1 (SIRT1) disrupts skin barrier integrity and sensitizes mice to epicutaneous allergen challenge. *J Allergy Clin Immunol*. 2015 Apr;135(4):936–945.e4.

84. Oyoshi MK, Murphy GF, Geha RS. Filaggrin-deficient mice exhibit TH17-dominated skin inflammation and permissiveness to epicutaneous sensitization with protein antigen. *J Allergy Clin Immunol*. 2009 Sep;124(3):485–493, 493.e1.
85. 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 Apr;34(2):46–53.
86. 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 Jun;19(4):319–24.
87. Koplin JJ, Dharmage SC, Ponsonby A-L, Tang MLK, Lowe AJ, Gurrin LC, et al. Environmental and demographic risk factors for egg allergy in a population-based study of infants. *Allergy*. 2012 Nov;67(11):1415–22.
88. Palmer DJ, Metcalfe J, Makrides M, Gold MS, Quinn P, West CE, et al. Early regular egg exposure in infants with eczema: A randomized controlled trial. *J Allergy Clin Immunol*. 2013 Aug;132(2):387–392.e1.
89. Everberg H, Brostedt P, Oman H, Bohman S, Movérare R. Affinity purification of egg-white allergens for improved component-resolved diagnostics. *Int Arch Allergy Immunol*. 2011;154(1):33–41.
90. Urisu A, Ando H, Morita Y, Wada E, Yasaki T, Yamada K, et al. Allergenic activity of heated and ovomucoid-depleted egg white. *J Allergy Clin Immunol*. 1997 Aug;100(2):171–6.
91. Mann K, Mann M. In-depth analysis of the chicken egg white proteome using an LTQ Orbitrap Velos. *Proteome Sci*. 2011;9(1):7.
92. Dhanapala P, De Silva C, Doran T, Suphioglu C. Cracking the egg: An insight into egg hypersensitivity. *Mol Immunol*. 2015 Aug;66(2):375–83.
93. Järvinen 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(7):758–765.
94. Kido J, Matsumoto T. Attenuated Allergenic Activity of Ovomucoid After Electrolysis. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2015 Nov;7(6):599–604.
95. Shin M, Han Y, Ahn K. The influence of the time and temperature of heat treatment on the allergenicity of egg white proteins. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2013 Mar;5(2):96–101.
96. Bloom KA, Huang FR, Bencharitiwong R, Bardina L, Ross A, Sampson HA, et al. Effect of heat treatment on milk and egg proteins allergenicity. *Pediatr Allergy Immunol*. 2014 Dec;25(8):740–6.
97. Martos G, Lopez-Exposito I, Bencharitiwong R, Berin C, Nowak-Węgrzyn A. Mechanisms underlying differential food-allergic response to heated egg. *J Allergy Clin Immunol*. 2011 Apr;127(4):990-7-2.

98. Shin M, Lee J, Ahn K, Lee SI, Han Y. The influence of the presence of wheat flour on the antigenic activities of egg white proteins. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2013 Jan;5(1):42–7.
99. Kato Y, Watanabe H, Matsuda T. Ovomuroid rendered insoluble by heating with wheat gluten but not with milk casein. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2000 Jan;64(1):198–201.
100. Martorell A, Alonso E, Boné J, Echeverría L, López MC, Martín F, et al. Position document: IgE-mediated allergy to egg protein. *Allergol Immunopathol (Madr).* 2013 Oct;41(5):320–36.
101. 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. *Journal of allergy and clinical immunology.* 2002;110(2):304–309.
102. Hompes S, Köhli A, Nemat K, Scherer K, Lange L, Rueff F, et al. Provoking allergens and treatment of anaphylaxis in children and adolescents--data from the anaphylaxis registry of German-speaking countries. *Pediatr Allergy Immunol.* 2011 Sep;22(6):568–74.
103. Colver AF, Nevantaus H, Macdougall CF, Cant AJ. Severe food-allergic reactions in children across the UK and Ireland, 1998-2000. *Acta Paediatr.* 2005 Jun;94(6):689–95.
104. DeMasi JM. A unique cause of asthma in a baker. *J Asthma.* 2006 Jul;43(5):333–4.
105. Gomez Torrijos E, García Rodríguez C, Rodríguez J, De la Roca F, Cárdenas R, Alfaya F, et al. Occupational asthma and eosinophilic esophagitis in a patient with egg-bird syndrome. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2015;25(1):61–2.
106. Baur X. A compendium of causative agents of occupational asthma. *J Occup Med Toxicol.* 2013;8(1):15.
107. Calvani M, Cardinale F, Martelli A, Muraro A, Pucci N, Savino F, et al. Risk factors for severe pediatric food anaphylaxis in Italy. *Pediatr Allergy Immunol.* 2011 Dec;22(8):813–9.
108. Aceves SS. Eosinophilic esophagitis. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2015 Feb;35(1):145–59.
109. Molina-Infante J, Lucendo AJ. Eosinophilic esophagitis: a practical approach to diagnosis and management. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2014 Nov;8(8):925–34.
110. Borres MP, Ebisawa M, Eigenmann PA. Use of allergen components begins a new era in pediatric allergology. *Pediatr Allergy Immunol.* 2011;22(5):454–61.
111. Sampson HA. Utility of food-specific IgE concentrations in predicting symptomatic food allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2001 May;107(5):891–6.
112. 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 Jan;69(1):76–86.
113. 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. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2012 Dec;130(6):1260–74.

114. Shek LPC, 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 Aug;114(2):387–91.

115. Vazquez-Ortiz M, Machinena-Spera A, Giner MT, Alvaro M, Piquer M, Dominguez O, et al. Ovalbumin-specific IgE/total IgE ratio improves the prediction of tolerance development in egg-allergic children aged ≥5 years. *Pediatr Allergy Immunol*. 2015 Jun 3;

116. Lemon-Mulé H, Sampson HA, Sicherer SH, Shreffler WG, Noone S, Nowak-Węgrzyn A. Immunologic changes in children with egg allergy ingesting extensively heated egg. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2008;122(5):977–983.

117. Peters RL, Dharmage SC, Gurrin LC, Koplin JJ, Ponsonby A-L, 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 Feb;133(2):485–91.

118. Konstantinou GN, Giavi S, Kalobatsou A, Vassilopoulou E, Douladiris N, Saxoni-Papageorgiou P, et al. Consumption of heat-treated egg by children allergic or sensitized to egg can affect the natural course of egg allergy: hypothesis-generating observations. *J Allergy Clin Immunol*. 2008 Aug;122(2):414–5.

119. Tey D, Dharmage SC, Robinson MN, Allen KJ, Gurrin LC, Tang MLK. Frequent baked egg ingestion was not associated with change in rate of decline in egg skin prick test in children with challenge confirmed egg allergy. *Clin Exp Allergy*. 2012 Dec;42(12):1782–90.

120. 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):473–480.e1.

121. Turner PJ, Kumar K, Fox AT. Skin testing with raw egg does not predict tolerance to baked egg in egg-allergic children. *Pediatr Allergy Immunol*. 2014 Nov;25(7):657–61.

122. Cortot CF, Sheehan WJ, Baxi SN, Dioun AF, Schneider LC, Phipatanakul W. Role of specific IgE and skin-prick testing in predicting food challenge results to heated egg. *Allergy Asthma Proc*. 2011;32(1):81.

123. Lieberman JA, Huang FR, Sampson HA, Nowak-Węgrzyn A. Outcomes of 100 consecutive open, baked-egg oral food challenges in the allergy office. *J Allergy Clin Immunol*. 2012 Jun;129(6):1682–1684.e2.

124. Tan JW-L, Campbell DE, Turner PJ, Kakakios A, Wong M, Mehr S, et al. Baked egg food challenges - clinical utility of skin test to baked egg and ovomucoid in children with egg allergy. *Clin Exp Allergy*. 2013 Oct;43(10):1189–95.

125. Savilahti EM, Rantanen V, Lin JS, Karinen S, Saarinen KM, Goldis M, et al. Early recovery from cow's milk allergy is associated with decreasing IgE and increasing IgG4 binding to cow's milk epitopes. *J Allergy Clin Immunol*. 2010 Jun;125(6):1315–1321.e9.

126. Chatchatee P, Järvinen KM, Bardina L, Vila L, Beyer K, Sampson HA. Identification of IgE and IgG binding epitopes on beta- and kappa-casein in cow's milk allergic patients. *Clin Exp Allergy*. 2001 Aug;31(8):1256–62.
127. Metcalfe JR, D'Vaz N, Makrides M, Gold MS, Quinn P, West CE, et al. Elevated IL-5 and IL-13 responses to egg proteins predate the introduction of egg in solid foods in infants with eczema. *Clin Exp Allergy*. 2015 Aug 6;
128. 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 Suppl 1:54–61.
129. 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.
130. Fleischer DM, Perry TT, Atkins D, Wood RA, Burks AW, Jones SM, et al. Allergic reactions to foods in preschool-aged children in a prospective observational food allergy study. *Pediatrics*. 2012 Jul;130(1):e25-32.
131. 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. *Journal of allergy and clinical immunology*. 2002;110(2):304–309.
132. Savage JH, Matsui EC, Skripak JM, Wood RA. The natural history of egg allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2007;120(6):1413–1417.
133. Alduraywish SA, Lodge CJ, Vicendese D, Lowe AJ, Erbas B, Matheson MC, et al. Sensitisation to milk, egg and peanut from birth to 18 years: a longitudinal study of a cohort at risk of allergic disease. *Pediatr Allergy Immunol*. 2015 Aug 27;
134. Montesinos E, Martorell A, Félix R, Carlos Cerdá J. Egg white specific IgE levels in serum as clinical reactivity predictors in the course of egg allergy follow-up. *Pediatric Allergy and Immunology*. 2009;21(4p1):634–639.
135. 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 Sep;122(3):583–8.
136. Cohen BL, Noone S, Muñoz-Furlong A, Sicherer SH. Development of a questionnaire to measure quality of life in families with a child with food allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2004 Nov;114(5):1159–63.
137. Morisset M, Moneret-Vautrin DA, Kanny G, Guénard L, Beaudouin E, Flabbée J, et al. Thresholds of clinical reactivity to milk, egg, peanut and sesame in immunoglobulin E-dependent allergies: evaluation by double-blind or single-blind placebo-controlled oral challenges. *Clin Exp Allergy*. 2003 Aug;33(8):1046–51.

138. Agencia Española de Seguridad alimentaria y nutrición, Subdirección General de Gestión de Riesgos, www.aesan.msssi.gob.es. INFORMACIÓN SOBRE LA PRESENCIA EN LOS ALIMENTOS DE SUSTANCIAS SUSCEPTIBLES DE CAUSAR ALERGIAS E INTOLERANCIAS.
139. Zurzolo GA, Mathai ML, Koplin JJ, Allen KJ. Hidden allergens in foods and implications for labelling and clinical care of food allergic patients. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2012 Aug;12(4):292–6.
140. Allen KJ, Remington BC, Baumert JL, Crevel RWR, Houben GF, Brooke-Taylor S, et al. Allergen reference doses for precautionary labeling (VITAL 2.0): clinical implications. *J Allergy Clin Immunol*. 2014 Jan;133(1):156–64.
141. Urisu A, Kondo Y, Tsuge I. Hen's Egg Allergy. *Chem Immunol Allergy*. 2015;101:124–30.
142. Boyano-Martínez T, Pedrosa M, Quirce S, García-Ara C. Accidental allergic reactions in children allergic to hen's egg. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2012;22(2):109–15.
143. Romantsik O, Bruschetti M, Tosca MA, Zappettini S, Della Casa Alberighi O, Calevo MG. Oral and sublingual immunotherapy for egg allergy. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014;11:CD010638.
144. Leonard SA, Martos G, Lopez-Exposito I, Wang W, Nowak-Wegryzn A, Berin C. Oral immunotherapy in a murine model of food allergy induces desensitization with high dose antigen and heated or native antigen. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;127(2):AB26.
145. Leonard SA, Martos G, Wang W, Nowak-W\kegrzyn A, Berin MC. Oral immunotherapy induces local protective mechanisms in the gastrointestinal mucosa. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* [Internet]. 2012 [cited 2012 Nov 22]; Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0091674912006124>
146. Ballmer-Weber BK, Brockow K, Fiocchi A, Theler B, Vogel L, Ring J, et al. Hydrolysed egg displays strong decrease in allergenicity and is well tolerated by egg-allergic patients. *Allergy*. 2016 May;71(5):728–32.
147. Hacini-Rachinel F, Vissers YM, Doucet-Ladevéze R, Blanchard C, Demont A, Perrot M, et al. Low-allergenic hydrolyzed egg induces oral tolerance in mice. *Int Arch Allergy Immunol*. 2014;164(1):64–73.
148. Moher D, Hopewell S, Schulz KF, Montori V, Gøtzsche PC, Devereaux PJ, et al. CONSORT 2010 Explanation and Elaboration: Updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *J Clin Epidemiol*. 2010 Aug;63(8):e1-37.
149. Escudero C, Rodríguez Del Río P, Sánchez-García S, Pérez-Rangel I, Pérez-Farinós N, García-Fernández C, et al. Early sustained unresponsiveness after short-course egg oral immunotherapy: a randomized controlled study in egg-allergic children. *Clin Exp Allergy*. 2015 Dec;45(12):1833–43.
150. Ojeda P, Ojeda I, Rubio G, Pineda F. Home-based oral immunotherapy protocol with pasteurized egg for children allergic to hen's egg. *Isr Med Assoc J*. 2012 Jan;14(1):34–9.

151. Ruiz Garcia M, Haroun E, Landivar ME, Torres Hernandez JA, Sastre J. Commercial dehydrated egg white for specific oral tolerance induction (SOTI): an easier treatment for egg allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2012;22(7):529–31.
152. Fuentes-Aparicio V, Alvarez-Perea A, Infante S, Zapatero L, D’Oleo A, Alonso-Lebrero E. Specific oral tolerance induction in paediatric patients with persistent egg allergy. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2013 Jun;41(3):143–50.
153. Burks AW, Jones SM, Wood RA, Fleischer DM, Sicherer SH, Lindblad RW, et al. Oral Immunotherapy for Treatment of Egg Allergy in Children. *New England Journal of Medicine*. 2012;367(3):233–243.
154. Dello Iacono I, Tripodi S, Calvani M, Panetta V, Verga MC, Miceli Sopo S. Specific oral tolerance induction with raw hen’s egg in children with very severe egg allergy: a randomized controlled trial. *Pediatr Allergy Immunol*. 2013 Feb;24(1):66–74.
155. Meglio P, Giampietro PG, Carello R, Gabriele I, Avitabile S, Galli E. Oral food desensitization in children with IgE-mediated hen’s egg allergy: a new protocol with raw hen’s egg. *Pediatric Allergy and Immunology [Internet]*. 2012 [cited 2012 Dec 16]; Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1399-3038.2012.01341.x/full>
156. Staden U, Rolinck-Werninghaus C, Brewe F, Wahn U, Niggemann B, Beyer K. Specific oral tolerance induction in food allergy in children: efficacy and clinical patterns of reaction. *Allergy*. 2007;62(11):1261–1269.
157. Vickery BP, Pons L, Kulis M, Steele P, Jones SM, Burks AW. Individualized IgE-based dosing of egg oral immunotherapy and the development of tolerance. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2010 Dec;105(6):444–50.
158. 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.
159. Sudo K, Taniuchi S, Takahashi M, Soejima K, Hatano Y, Nakano K, et al. Home-based oral immunotherapy (OIT) with an intermittent loading protocol in children unlikely to outgrow egg allergy. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2014;10(1):11.
160. Vazquez-Ortiz M, Alvaro M, Piquer M, Dominguez O, Machinena A, Martín-Mateos MA, et al. Baseline specific IgE levels are useful to predict safety of oral immunotherapy in egg-allergic children. *Clin Exp Allergy*. 2014 Jan;44(1):130–41.
161. Caminiti L, Pajno GB, Crisafulli G, Chiera F, Collura M, Panasci G, et al. Oral Immunotherapy for Egg Allergy: A Double-Blind Placebo-Controlled Study, with Postdesensitization Follow-Up. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2015 Aug;3(4):532–9.
162. Dello Iacono I, Verga MC, Tripodi S. Oral immunotherapy for egg allergy in children. *N Engl J Med*. 2012 Oct 11;367(15):1471; author reply 1472-1473.
163. Vickery BP. Egg oral immunotherapy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2012 Jun;12(3):278–82.

164. Caminiti L, Pajno GB. Oral desensitization for immunoglobulin e-Mediated Milk and egg allergies. [cited 2012 Nov 22]; Available from: <http://www.ima.org.il/imaj/ar12jan-13.pdf>
165. Fuentes-Aparicio V, Alonso-Lebrero E, Zapatero L, Infante S, Lorente R, Ángeles Muñoz-Fernández M, et al. 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. *Pediatric Allergy and Immunology* [Internet]. 2012 [cited 2012 Nov 22]; Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1399-3038.2012.01333.x/full>
166. Buchanan AD, Green TD, Jones SM, Scurlock AM, Christie L, Althage KA, et al. Egg oral immunotherapy in nonanaphylactic children with egg allergy. *Journal of allergy and clinical immunology*. 2007;119(1):199–205.
167. Garcia Rodriguez R, Urra JM, Feo-Brito F, Galindo PA, Borja J, Gómez E, et al. Oral rush desensitization to egg: efficacy and safety. *Clinical & Experimental Allergy*. 2011;41(9):1289–1296.
168. Perezábad L, Reche M, Valbuena T, López-Fandiño R, Molina E, López-Expósito I. Clinical efficacy and immunological changes subjacent to egg oral immunotherapy. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2015 Jun;114(6):504–9.
169. Muraro MA. Diagnosis of food allergy: the oral provocation test. *Pediatr Allergy Immunol*. 2001;12 Suppl 14:31–6.
170. Varshney P, Steele PH, Vickery BP, Bird JA, Thyagarajan A, Scurlock AM, et al. Adverse reactions during peanut oral immunotherapy home dosing. *J Allergy Clin Immunol*. 2009 Dec;124(6):1351–2.
171. 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 Mar;62(3):335–6.
172. Vazquez-Ortiz M, Alvaro M, Piquer M, Dominguez O, Giner MT, Lozano J, et al. Impact of oral immunotherapy on quality of life in egg-allergic children. *Pediatr Allergy Immunol*. 2015 May;26(3):291–4.
173. Rupa P, Mine Y. Oral immunotherapy with immunodominant T-cell epitope peptides alleviates allergic reactions in a Balb/c mouse model of egg allergy. *Allergy*. 2011;67(1):74–82.
174. Yang M, Yang C, Mine Y. Multiple T cell epitope peptides suppress allergic responses in an egg allergy mouse model by the elicitation of forkhead box transcription factor 3-and transforming growth factor- β -associated mechanisms. *Clinical & Experimental Allergy*. 2010;40(4):668–678.
175. Rupa P, Nakamura S, Katayama S, Mine Y. Attenuation of allergic immune response phenotype by mannosylated egg white in orally induced allergy in BALB/c mice. *J Agric Food Chem*. 2014 Oct 1;62(39):9479–87.
176. Javed A, Wagner S, McCracken J, Wells DN, Laible G. Targeted microRNA expression in dairy cattle directs production of β -lactoglobulin-free, high-casein milk. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2012 Oct 16;109(42):16811–6.

177. Sander JD, Joung JK. CRISPR-Cas systems for editing, regulating and targeting genomes. *Nat Biotechnol.* 2014 Apr;32(4):347–55.
178. Bernstein IL, Li JT, Bernstein DI, Hamilton R, Spector SL, Tan R, et al. Allergy diagnostic testing: an updated practice parameter. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2008 Mar;100(3 Suppl 3):S1-148.
179. Clark A, Islam S, King Y, Deighton J, Szun S, Anagnostou K, et al. A longitudinal study of resolution of allergy to well-cooked and uncooked egg. *Clin Exp Allergy.* 2011 May;41(5):706–12.
180. Morisset M, Moneret-Vautrin DA, Guenard L, Cuny JM, Frentz P, Hatahet R, et al. 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 Jan;39(1):12–9.
181. Escudero C, Sánchez-García S, Rodríguez del Río P, Pastor-Vargas C, García-Fernández C, Pérez-Rangel I, et al. Dehydrated egg white: an allergen source for improving efficacy and safety in the diagnosis and treatment for egg allergy. *Pediatr Allergy Immunol.* 2013 May;24(3):263–9.
182. Jones SM, Burks AW, Keet C, Vickery BP, Scurlock AM, Wood RA, et al. Long-term treatment with egg oral immunotherapy enhances sustained unresponsiveness that persists after cessation of therapy. *J Allergy Clin Immunol.* 2016 Apr;137(4):1117-1127-10.
183. Thomas K, Herouet-Guicheney C, Ladics G, Bannon G, Cockburn A, Crevel R, et al. Evaluating the effect of food processing on the potential human allergenicity of novel proteins: international workshop report. *Food Chem Toxicol.* 2007 Jul;45(7):1116–22.
184. Leonard SA, Nowak-Węgrzyn AH. Baked Milk and Egg Diets for Milk and Egg Allergy Management. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2016 Feb;36(1):147–59.