



VNIVERSITAT
DE VALÈNCIA

Programa de Doctorado 3139 Medicina.

Departamento de Pediatría.

Facultad de Medicina.

**INMUNOTERAPIA ORAL
EN NIÑOS CON ALERGIA AL HUEVO:
EFICACIA, SEGURIDAD Y
REPERCUSIONES INMUNOLÓGICAS**

TESIS DOCTORAL

M^a Cristina Martorell Calatayud

Enero, 2023

Directores:

Dra. M^a Flora Martín Muñoz

Dra. Amparo Escribano Montaner

Dr. Miguel Tortajada Girbés

INFORME DIRECTORES PARA DEPÓSITO Y DEFENSA DE TESIS DOCTORAL

Director / Codirectores:

- 1.- Apellidos y nombre: MARTIN MUÑOZ, MARIA FLORA. N.I.F. 02086837R. Departamento: IdiPaz, Servicio de Alergia. Centro: Hospital Universitario Pediátrico La Paz, Madrid, España.
- 2.- Apellidos y nombre: ESCRIBANO MONTANER, AMPARO. N.I.F. 22496856G. Departamento: Servicio de Pediatría. Neumología Infantil. Centro: Hospital Clínico Universitario de Valencia, Valencia, España.
- 3.- Apellidos y nombre: TORTAJADA GIRBES, MIGUEL. N.I.F. 25389967Z. Departamento de Pediatría, Obstetricia i Ginecología. Centro: Facultat de Medicina, Universitat de València, Valencia, España.

Directores de la tesis doctoral: "INMUNOTERAPIA ORAL EN NIÑOS CON ALERGIA AL HUEVO: EFICACIA, SEGURIDAD Y REPERCUSIONES INMUNOLÓGICAS"

de D/Dña. MARIA CRISTINA MARTORELL CALATAYUD,

estudiante del Programa de Doctorado **3139 Medicina** (RD99/2011) en Medicina de la Universitat de València, emiten informe FAVORABLE para la realización del depósito y la defensa de la tesis doctoral.

Fecha: 22 de Diciembre de 2022



Firmado:MARIA FLORA
MARTIN MUÑOZ

Directora



Firmado:AMPARO
ESCRIBANO MONTANER

Directora



Firmado: MIGUEL
TORTAJADA GIRBES

Director

**ESCUELA DOCTORAL
UNIVERSITAT DE VALÈNCIA**

AGRADECIMIENTOS

A mis directores de tesis, la Dra. Flor Martín, la Dra. Amparo Escribano y el Dr. Miguel Tortajada, por su dedicación, constante apoyo, guía, dirección y paciencia.

A todos los niños participantes del estudio, a sus familias, y a todos los médicos y enfermeras colaboradores del estudio.

A mi familia, a mi hijo Alejandro, a mi marido, a mis padres, a mis hermanos y amigos, por su apoyo y estímulo para conseguir realizar y finalizar mi tesis.

Especialmente a mi padre, el Dr. Antonio Martorell, mi principal impulsor, por su apoyo incondicional, ayuda, ánimo, perseverancia y comprensión, ya que sin él no hubiera sido posible.

ÍNDICE

Aportaciones y ayudas de investigación	13
Abreviaturas	15
Índice de tablas y figuras	17
Definición de conceptos	25
Capítulo I: Introducción	
I.1. Alergia a los alimentos. Definición... ..	29
I.2. Alergia al huevo mediada por IgE	30
I.2.1. Prevalencia e incidencia	30
I.2.2. Historia natural y pronóstico.....	31
I.2.3. Alérgenos del huevo.....	33
I.2.4. Mecanismo patogénico.....	37
I.2.4.1. Reacción alérgica mediada por IgE.....	39
I.2.4.1.1. Sensibilización alérgica	40
I.2.4.1.2. Reacción alérgica inmediata.....	42
I.2.4.1.3. Reacción alérgica tardía	44
I.2.5. Fisiopatología	46

I.2.6. Tratamiento	46
I.2.6.1. Problemas que plantea la dieta de eliminación ...	49
I.2.6.2. Inmunoterapia oral (ITO) con huevo	50
I.2.6.2.1. Indicaciones.....	52
I.2.6.2.2. Eficacia de la ITO para la desensibilización ...	53
I.2.6.2.3. Eficacia de la ITO para la adquisición de la tolerancia sostenida o permanente.....	56
I.2.6.2.4. Cambios inmunológicos	58
I.2.6.2.5. Seguridad	59
I.2.6.2.6. Factores asociados a la aparición de reacciones adversas y fracasos del tratamiento	61
I.2.6.3. Otras estrategias terapéuticas	62
I.2.6.3.1. Anticuerpos anti-IgE: Omalizumab	62
I.2.6.3.2. Inmunoterapia sublingual.....	64
I.2.6.3.3. Inmunoterapia subcutánea	65
I.2.6.3.4. Inmunoterapia epicutánea.....	66
I.2.6.3.5. Inmunoterapia rectal	67

CAPÍTULO II: JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS DEL TRABAJO

II.1. Justificación	69
II.2. Hipótesis	74
II.3. Objetivos.....	75

CAPÍTULO III: MATERIAL Y MÉTODOS

III.1. Diseño del estudio	77
III.2. Ámbito del estudio	79

III.3. Pacientes.....	80
III.3.1. Criterios de inclusión	80
III.3.2. Criterios de exclusión	80
III.4. Propuesta de tratamiento con inmunoterapia oral a los padres ...	82
III.5. Tamaño de la muestra	83
III.6. Material para la inmunoterapia oral.....	84
III.7. Procedimientos	85
III.8. Metodología	89
III.8.1. Pruebas cutáneas	89
III.8.2. Test “in vitro”	89
III.8.3. Prueba de provocación oral doble ciego	90
III.9. Variables de estudio	91
III.10. Análisis estadístico	92
III.11. Seguro de responsabilidad civil... ..	95
III.12. Cuaderno de recogida de datos... ..	96

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

IV.1. Población de estudio. Análisis descriptivo basal	97
IV.2. Análisis de eficacia	100
IV.2.1. Eficacia en la totalidad de pacientes de los grupos activos A y B	100
IV.2.2. Eficacia en el grupo activo A	101
IV.2.3. Eficacia en el grupo activo B... ..	101
IV.2.4. Evolución del grupo control C.....	102
IV.2.5. Valoración de la eficacia de la ITO frente a la dieta de evitación, a los 12 meses de seguimiento.....	102
IV.2.6. Valoración de la eficacia de la ITO a los 12 meses de seguimiento, en los grupos activos A y B	103

IV.3. Análisis de los cambios inmunológicos y reactividad cutánea inducidos por la ITO	104
IV.3.1. Evolución de los parámetros inmunológicos	104
IV.3.2. Cambios en la reactividad cutánea (titulación a punto final).....	107
IV.4. Factores asociados con el desarrollo de tolerancia en el grupo control	107
IV.5. Análisis de factores de riesgo de fracaso de la ITO.....	108
IV.5.1. Relación del fracaso de la ITO, a los 12 meses de seguimiento, con la tolerancia basal de clara cocida	108
IV.5.2. Relación del éxito de la ITO, a los 12 meses de seguimiento, con los niveles basales de IgE específica.....	108
IV.5.3. Relación del éxito de la ITO, a los 12 meses de seguimiento, con la gravedad de la última reacción clínica	109
IV.5.4. Relación del éxito de la ITO, a los 12 meses de seguimiento, con la dosis umbral en la PPDC basal con clara cocida	110
IV.6. Seguridad de la ITO	111
IV.7. Análisis de los factores de riesgo de reacción adversa durante la ITO.....	117
IV.7.1. Relación de la gravedad de las reacciones adversas durante la ITO, con los niveles de IgE específica basal.....	117
IV.7.2. Relación de la gravedad de las reacciones adversas durante la ITO, con la dosis umbral en la PPDC basal.....	118
IV.7.3. Relación de la gravedad de las reacciones adversas durante la ITO, con la gravedad de la última reacción clínica	119
IV.8. Estudio del valor predictivo de los factores de riesgo de fracaso de la ITO	122
IV.8.1. Rentabilidad diagnóstica de los niveles séricos de IgE específica basal para clara, OVA y OVM, en la predicción del fracaso de la ITO.....	122
IV.8.1.1. En la fase de inducción de la ITO	122
IV.8.1.2. A los 12 meses de tratamiento de ITO	126

IV.9. Estudio predictivo de los factores de riesgo de reacción adversa moderada-grave durante la ITO	131
IV.9.1. Rentabilidad diagnóstica de los niveles séricos de IgE específica basal para clara, OVA y OVM, y de reacción adversa moderada o grave en la última reacción clínica, para predecir la aparición de reacción adversa moderada o grave durante la ITO	131
IV.9.1.1. En la fase de inducción de la ITO	131
IV.9.1.2. A los 12 meses de tratamiento de ITO	140
IV.10. Análisis de citocinas	146

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

V.1. Contribuciones principales del presente trabajo	147
V.2. Pacientes	150
V.3. Eficacia de la ITO.....	151
V.3.1. Resultados de eficacia tras la fase de inducción	151
V.3.2. Valoración de la eficacia de la ITO frente a la dieta de evitación a los 12 meses de seguimiento	151
V.3.3. Resultados de eficacia de la ITO a los 12 meses de seguimiento	152
V.4. Evolución de los parámetros inmunológicos y de la reactividad cutánea.....	155
V.5. Seguridad de la ITO	157
V.6. Análisis de los factores de riesgo de fracaso de la ITO	161
V.7. Análisis de los factores de riesgo de reacción adversa moderada o grave durante la ITO	162
V.8. Predicción de riesgo de reacción adversa y de fracaso de la ITO ...	163
V.9. Análisis de citocinas	166
Conclusiones	167

BIBLIOGRAFÍA	171
---------------------------	------------

Anexos

I. Provocación oral doble ciego frente a placebo con clara de huevo...	193
II. Información sobre la inmunoterapia oral para los padres del paciente y documento de consentimiento informado	195
III. Tabla de números aleatorios. Número de entrada en el estudio y grupo asignado	204
IV. Pauta de inmunoterapia oral con clara de huevo pasteurizada....	208
V. Informe para los padres o tutores	214
VI. Cartilla de seguimiento de la inmunoterapia.....	218
VII. Clasificación de la gravedad de las reacciones	221

APORTACIONES Y AYUDAS DE INVESTIGACIÓN

Ayuda de investigación de la Sociedad Española de Inmunología Clínica, Alergología y Asma Pediátrica, promotora del estudio.

ABREVIATURAS.

Ara h 1, Ara h 2 y Ara h 3: componentes alérgicos del cacahuete.

AUC: área bajo la curva.

CI: intervalo de confianza.

Curva ROC: curva de características operativas para el receptor.

DE: desviación estándar.

FcεRII (CD23): receptores de baja afinidad de mastocitos y basófilos.

Fce RI: receptores de alta afinidad de mastocitos y basófilos.

GEMA: Guía Española para el Manejo del Asma.

IgE: inmunoglobulina E.

IgG: inmunoglobulina G.

IgG4: inmunoglobulina G4.

IL: interleucina.

IT: población por intención de tratar.

ITO: inmunoterapia oral.

ITSL: inmunoterapia sublingual.

kU: kilounidades.

L: litro.

MALT: tejido linfoide asociado a mucosas.

OMZ: omalizumab.

OR: odds ratio.

OVA: ovoalbúmina.

OVM: ovomucoide.

p: dintel de significación estadística.

PPDC: provocación doble ciego

Pru p 3: componente alérgico LTP (proteína transportadora de lípidos) de melocotón.

RAMG-12: reacción adversa moderada o grave en los 12 meses de tratamiento con ITO.

RAMG-FI: reacción adversa moderada o grave en la fase de inducción de la ITO.

RAMG-UR: reacción adversa moderada o grave en la última reacción clínica.

RIC: rango intercuartiles.

RR: riesgo relativo.

SD: desviación estándar.

SEAIC: Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica.

SEICAP: Sociedad Española de Inmunología Clínica, Alergología y Asma Pediátrica.

sIgE: inmunoglobulina sérica específica.

T0: tiempo basal.

T12: tiempo a los 12 meses de seguimiento.

TGF-beta: citocina factor de crecimiento transformante beta.

Th: linfocito T colaborador.

TNF- α : citocina factor de necrosis tumoral alfa.

Treg: linfocito T regulador.

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS.

TABLAS	PÁGINA
Tabla 1. Mediadores producidos por mastocitos, basófilos y eosinófilos	43
Tabla 2. Protocolo de estudio. Grupos activos (A y B) y grupo control (C)	88
Tabla 3. Parámetros clínicos e inmunológicos basales	99
Tabla 4.- Niveles de IgE sérica específica para clara, OVA, OVM y de IgG4 a clara de huevo, basales y a los 12 meses de seguimiento	105
Tabla 5.- Niveles de IgE sérica específica para OVA a los 12 meses	106
Tabla 6.- Reactividad cutánea basal y a los 12 meses	107
Tabla 7.- Distribución de los niveles basales de IgE sérica específica para clara, OVA, y OVM en relación con el éxito o fracaso de la ITO	109
Tabla 8.- Distribución de la gravedad de la última reacción clínica en relación con el éxito o fracaso de la ITO	109

Tabla 9. Distribución de la dosis umbral de la PPDC basal con clara cocida o cruda, en relación con el éxito o fracaso de la ITO	110
Tabla 10. Reacciones adversas (RA) durante la fase de inducción en los grupos A y B	112
Tabla 11. Reacciones adversas (RA) durante la fase de mantenimiento de la ITO, en los grupos A y B	113
Tabla 12. Reacciones adversas (RA) desde los 6 a los 12 meses desde el inicio de la ITO, en los grupos A y B	114
Tabla 13. Evolución del número de reacciones adversas a lo largo de los 12 meses de tratamiento	115
Tabla 14. Evolución del porcentaje y gravedad de las reacciones adversas a lo largo de los 12 meses de tratamiento	116
Tabla 15. Niveles de IgE específica en relación con la gravedad de las reacciones adversas, durante la fase de inducción de la ITO	117
Tabla 16. Niveles de IgE específica en relación con la gravedad de las reacciones adversas, a lo largo de los 12 meses desde inicio de la ITO	118
Tabla 17. Dosis umbral de la PPDC basal con clara cocida y cruda en relación con la gravedad de las reacciones adversas, durante la fase de inducción de la ITO	118

Tabla 18. Dosis umbral de la PPDC basal con clara cocida y cruda en relación con la gravedad de las reacciones adversas a lo largo de los 12 meses desde inicio de la ITO	119
Tabla 19. Gravedad de las reacciones adversas durante la fase de inducción de la ITO, en relación con la gravedad de la última reacción clínica	120
Tabla 20. Gravedad de las reacciones adversas durante el periodo de 6 a 12 meses de la ITO, en relación con la gravedad de la última reacción clínica	120
Tabla 21. Gravedad de las reacciones adversas a lo largo de los 12 meses desde inicio de la ITO, en relación con la gravedad de la última reacción clínica	121
Tabla 22. Asociación entre el resultado de la fase de inducción y cada una de las variables inmunológicas basales: modelos de regresión logística binaria simple con variable dependiente probabilidad de fracaso. Odds ratio (OR) e IC95%	122
Tabla 23. Validez diagnóstica de las variables inmunológicas basales en la predicción del resultado de la fase de inducción: resumen resultados análisis ROC	125

Tabla 24. Asociación entre el resultado de la fase de inducción y las variables inmunológicas basales: modelo de regresión logística binaria múltiple con variable dependiente probabilidad de fracaso y método <i>backward</i> para la introducción de variables. Odds ratio (OR) e IC95%	126
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----

Tabla 25. Asociación entre el resultado a los 12 meses de tratamiento y cada una de las variables inmunológicas basales: modelos de regresión logística binaria simple con variable dependiente "probabilidad de fracaso". Odds ratio (OR) e IC95%	127
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----

Tabla 26. Validez diagnóstica de las variables inmunológicas basales en la predicción del resultado a los 12 meses: resumen resultados análisis ROC	128
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----

Tabla 27. Asociación entre el resultado a los 12 meses y las variables inmunológicas basales: modelo de regresión logística binaria múltiple con variable dependiente "probabilidad de fracaso" e introducción forzosa de variables. Odds ratio (OR) e IC95%	129
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----

Tabla 28. Asociación entre el resultado a los 12 meses y las variables inmunológicas basales: modelo de regresión logística binaria múltiple con variable dependiente "probabilidad de fracaso" y método <i>backward</i> para la eliminación de variables. Odds ratio (OR) e IC95%	130
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----

<p>Tabla 29. Asociación entre reacción adversa moderada/ grave en la fase de inducción, cada una de las variables inmunológicas basales y última reacción adversa moderada/ grave: modelos de regresión logística binaria simple con variable dependiente "probabilidad de reacción moderada/ grave". Odds ratio (OR) e IC95%</p>	132
<p>Tabla 30. Validez diagnóstica de las variables inmunológicas basales y gravedad de la última reacción adversa en la predicción de reacción adversa en la fase de inducción: resumen de los resultados análisis ROC</p>	134
<p>Tabla 31. Asociación entre reacción adversa moderada/ grave en la fase de inducción y variables inmunológicas basales + reacción moderada/grave en la última reacción clínica: modelo de regresión logística binaria múltiple con variable dependiente probabilidad de reacción moderada/ grave e introducción forzosa de variables. Odds ratio (OR) e IC95%</p>	135
<p>Tabla 32. Asociación entre reacción adversa moderada/ grave en fase de inducción y variables inmunológicas basales + reacción moderada/grave en la última: modelo de regresión logística binaria múltiple con variable dependiente probabilidad de reacción moderada/grave y método <i>backward</i> para la eliminación de variables. Odds ratio (OR) e IC95%</p>	136
<p>Tabla 33. Regla de predicción para un punto de corte de 0,5</p>	137

Tabla 34. Asociación entre reacción adversa moderada/ grave en 12 meses, cada una de las variables inmunológicas basales y la última reacción adversa moderada/grave: mo- delos de regresión logística binaria simple con variable de- pendiente probabilidad de reacción moderada/grave. Odds ratio (OR) e IC95%	141
Tabla 35. Validez diagnóstica de las variables inmunológicas basales y gravedad de la última reacción adversa en la pre- dicción de reacción adversa en 12 meses: resumen de los resultados análisis ROC	143
Tabla 36. Asociación entre reacción adversa moderada/ grave en 12 meses y variables inmunológicas basales + re- acción moderada/grave en la última: modelo de regresión logística binaria múltiple con variable dependiente proba- bilidad de reacción moderada/grave e introducción forzosa de variables. Odds ratio (OR) e IC95%	144
Tabla 37. Asociación entre reacción adversa moderada/ grave en 12 meses y variables inmunológicas basales + re- acción moderada/grave en la última: modelo de regresión logística binaria múltiple con variable dependiente probabi- lidad de reacción moderada/grave y método <i>backward</i> para la eliminación hacia atrás de variables. Odds ratio (OR) e IC95%	145

FIGURAS

Figura 1. Esquema patogénico de la reacción alérgica mediada por IgE	41
<hr/>	
Figura 2. Diagrama de flujo y resultados de eficacia de la ITO con clara de huevo	102
<hr/>	
Figura 3. Análisis de la curva ROC mostrando la rentabilidad diagnóstica de las pruebas inmunológicas (IgE específica clara, OVA y OVM), en relación con el fracaso de la ITO en la fase de inducción	123
<hr/>	
Figura 4. Análisis de la curva ROC mostrando la rentabilidad diagnóstica de las pruebas inmunológicas (IgE específica clara, OVA y OVM), en relación con el fracaso de la ITO a los 12 meses de tratamiento	127
<hr/>	
Figura 5. Análisis de la curva ROC mostrando la rentabilidad diagnóstica de las pruebas inmunológicas (IgE específica clara, OVA y OVM) y reacción adversa moderada/grave en la última reacción clínica, en relación con la aparición de reacción adversa moderada/grave en la fase de inducción de la ITO	133
<hr/>	
Figura 6. Probabilidad estimada según el valor basal de la IgE OVA y la RMG-UR	137
<hr/>	

Figura 7. Análisis de la curva ROC mostrando la rentabilidad diagnóstica de la IgE -OVA y reacción adversa moderada/grave en la última reacción clínica, en relación con la aparición de reacción adversa moderada/grave en la fase de inducción de la ITO	138
Figura 8. Probabilidad estimada según el valor basal de la IgE-OVA y la RMG-UR. Punto de corte en 0,5 kU/L de IgE OVA	139
Figura 9. Probabilidad estimada según el valor basal de la IgE-OVA y la RMG-UR. Punto de corte de IgE-OVA, en 0,24 kU/	140
Figura 10. Análisis de la curva ROC mostrando la rentabilidad diagnóstica de las pruebas inmunológicas (IgE específica clara, OVA y OVM) y reacción adversa moderada/grave en la última reacción clínica, en relación con la aparición de reacción adversa moderada/grave durante los 12 meses de tratamiento	142

DEFINICIÓN DE CONCEPTOS.

Alérgeno: antígeno capaz de estimular la producción de IgE mediante la inducción selectiva de una respuesta de célula T helper tipo 2 en un individuo genéticamente predispuesto, y de desencadenar una reacción alérgica en un individuo previamente sensibilizado.

Alergia alimentaria: efecto adverso sobre la salud debido a una respuesta inmune específica que ocurre de forma reproducible con la exposición a un determinado alimento.

Alergia: reacción inmunológica sintomática frente a un antígeno inocuo del ambiente.

Alimento: cualquier sustancia -procesada, semiprocada o cruda- que está destinada al consumo humano.

Anafilaxia: reacción de hipersensibilidad, generalizada o sistémica, grave y que amenaza la vida.

Asma: enfermedad inflamatoria crónica que asocia un grado variable de obstrucción al flujo aéreo e hiperreactividad bronquial.

Atopia: tendencia personal o familiar a desarrollar sensibilización y producir anticuerpos IgE, en respuesta a la exposición habitual a alérgenos.

Dermatitis atópica: enfermedad cutánea inflamatoria pruriginosa.

Desensibilización: estado reversible de reducción de la reactividad clínica logrado tras la exposición a dosis gradualmente crecientes de un alimento. Este estado puede desaparecer en el plazo de pocos días o semanas, tras suspender la ingestión regular del mismo.

Desensibilización completa: cuando el paciente consigue tolerar una dosis equivalente a una ración del alimento, lo que permite introducirlo en la dieta sin restricciones. En el caso del huevo, se considera desensibilización completa la tolerancia de una clara, cruda o cocinada, en función del objetivo propuesto.

Desensibilización parcial: cuando el paciente consigue aumentar el umbral de tolerancia al alimento, en comparación con la dosis previa tolerada al inicio de la ITO, sin alcanzar una dosis equivalente a una ración del alimento, o no tolerando alguna de sus presentaciones consumidas habitualmente en la dieta.

Hipersensibilidad: respuestas inmunológicas a antígenos inocuos que llevan a reacciones sintomáticas con la re-exposición.

Inmunoterapia específica con alérgenos: práctica de administrar cantidades crecientes de un producto alérgico a un individuo alérgico, con el fin de mejorar sus síntomas en exposiciones posteriores al alérgeno causal.

Inmunoterapia oral (ITO) con alimentos: es un tratamiento activo que consiste en la administración de dosis progresivamente crecientes del alimento que produce reacción alérgica para reducir los síntomas frente a su exposición natural; es decir, conseguir la desensibilización y, si es posible, la tolerancia permanente o sostenida al alimento.

Rinitis alérgica: inflamación de la mucosa nasal por una respuesta inmune mediada por IgE contra alérgenos, generalmente inhalantes.

Sensibilización: producción de IgE específica frente a un alérgeno y unión de esta IgE a la superficie de los mastocitos y basófilos.

Tolerancia inmunológica: fallo específico adquirido del mecanismo inmune de respuesta a un determinado antígeno, inducido por la exposición a éste.

Tolerancia oral natural: ausencia de manifestaciones clínicas tras la ingesta de un alimento, no dependiente de su toma regular o de la toma de fármacos, y que viene dada por un mecanismo fisiológico de supresión específica de respuestas inmunes frente a antígenos alimentarios.

Tolerancia permanente o sostenida: estado permanente de falta de reactividad clínica frente al alimento, a pesar de no ingerirlo de forma regular.

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

I.1. ALERGIA A LOS ALIMENTOS: DEFINICIÓN

La alergia a los alimentos es una reacción adversa y reproducible, de mecanismo inmunológico, en función del cual se puede clasificar en mediada por IgE, no mediada por IgE y mixta (1).

La **alergia a alimentos no mediada por IgE** provoca alteraciones digestivas, con tres cuadros clínicos característicos inducidos por proteínas alimentarias: la proctocolitis, la enteropatía y la enterocolitis. Cada vez se describen mas casos de esofagitis eosinofílicas relacionadas con alergia a alimentos que las hipótesis actuales achacan a un mecanismo patogénico mixto IgE y no IgE mediado por IgE (2).

La **alergia mediada por IgE**, que es la que nos ocupa, se caracteriza por la aparición de síntomas típicos de este tipo de reacciones (urticaria, angioedema, rinitis, broncoespasmo, anafilaxia...) minutos después de la ingesta del alimento, y por la detección de IgE específica al alimento, mediante pruebas cutáneas o determinación de IgE específica sérica. La sola detección de IgE específica por una u otra técnica, no es suficiente para el diagnóstico, ya que puede también evidenciarse en pacientes que toleran el alimento; en este caso se habla, de *sensibilización asintomática o con tolerancia establecida* al alimento. Para que un paciente pueda ser catalogado de *alérgico*, la presencia de IgE específica debe ir acompañada de una historia reciente e inequívoca de reacción clínica al alimento, o bien demostrar que tal reacción ocurre tras una exposición oral controlada, ante personal experimentado en la detección y tratamiento de este tipo de reacciones.

I.2. ALERGIA AL HUEVO MEDIADA POR IGE

I.2.1. Prevalencia e incidencia.

El elevado consumo de huevo, junto a su alto contenido en proteínas e introducción en el primer año de vida, hacen que sea la causa mas frecuente de alergia a alimentos en los primeros años de vida (3, 4).

En España, en un estudio observacional (5), en el que se seleccionaron 4991 pacientes que acudían a la consulta del alergólogo, se diagnosticó alergia a alimentos en 369 pacientes (7,4%); la alergia a huevo fue la causa del 16% de las alergias alimentarias, siendo el cuarto alimento implicado por orden de frecuencia en la población general y el primero en los niños menores de 5 años. En el subgrupo de niños menores de 5 años, esta frecuencia fue del 78,9% y representaba la sensibilización principal junto con la leche. En un estudio previo en el que se incluyeron 355 niños diagnosticados de alergia alimentaria (3), los resultados fueron similares, con una prevalencia de alergia a las proteínas del huevo del 20,1%. En otro reciente estudio realizado en Europa por el grupo EuroPrevall, la incidencia de alergia al huevo en los dos primeros años de vida es de 0,84% (0,78 % en los niños reclutados en España)(6).

La prevalencia de sensibilización y alergia al huevo es mayor en los niños con alergia a la leche de vaca y en los que presentan dermatitis atópica. En los lactantes con alergia a la leche de vaca se ha observado sensibilización al huevo en el 30-67% de los casos, antes de introducirlo en la dieta, y alergia con prueba de provocación positiva en el 36% de los mismos (7, 8, 9). En los lactantes con dermatitis atópica la sensibilización a proteínas de huevo se detecta en el 61% antes de introducirlo en la dieta, y la alergia con prueba de provocación positiva, en el 27-67 % (10, 11, 12).

I.2.2. Historia natural y pronóstico.

La mayoría de los pacientes desarrolla alergia clínica al huevo en los dos primeros años de la vida, típicamente con la primera ingesta (13). La sensibilización ha debido tener lugar, por tanto, a través de otras vías diferentes a la oral, como la trasplacentaria, la lactancia materna o la cutánea, ya que, al tratarse de un proceso inmunológico antígeno-específico, es precisa una exposición previa para el cambio de isotipo de inmunoglobulina y la maduración de las células T específicas.

Los alérgicos al huevo, suelen desarrollar tolerancia al alimento en los primeros años de vida, especialmente a partir de los 4 años: 50 % de los pacientes alcanzan tolerancia a los 3-4 años y 66-74 % a los 5 (14,15,16). Además, el desarrollo de tolerancia al huevo cocido precede a la de huevo crudo (17). Sin embargo, estudios más recientes sugieren la tendencia a una mayor persistencia de esta alergia (32 % no han alcanzado tolerancia a los 16 años de edad) (18).

En el estudio español antes citado (3), de los 355 niños incluidos con alergia alimentaria, 56.5% habían iniciado la sintomatología entre los 6 y los 12 meses de vida y 97%, en los dos primeros años de edad; además, 16% de los niños con alergia al huevo tenían 3 o más alergias alimentarias asociadas.

Otra de las peculiaridades de la alergia al huevo es la elevada asociación, no sólo con la dermatitis atópica, sino también con el asma y algunos estudios apoyan la idea de que la sensibilización a este alimento en la infancia, supone un factor de riesgo para el desarrollo de alergia a aeroalérgenos (19,20). Hay varios estudios en los que se demuestra que la sensibilización al huevo, al año de edad, se asocia con una mayor frecuencia de sensibilización a aeroalérgenos a los 3 años (21,22), y recientemente estudio sobre una cohorte de niños con alergia sintomática a alimentos, encontró una asociación significativa con el asma, especialmente en el caso de alergia a varios alimentos o

de alergias graves (23). A pesar de ello, aunque el huevo sea uno de los alimentos más frecuentemente implicado, parece comportarse como uno más, dentro de la secuencia de acontecimientos que tienen lugar en la denominada *marcha atópica*, en la que la presencia de alergia a alimentos y dermatitis atópica en los primeros años de vida se sucedería de alergia respiratoria en años posteriores. Por todo ello, su papel –especial o diferenciado– en la predicción de asma en edades más tardías, es controvertido y su significado podría ser similar al de la alergia a otros alimentos como la leche.

I.2.3. Alérgenos del huevo.

La alergia al huevo se produce por el reconocimiento, por parte del organismo, de sus proteínas o alérgenos, como algo extraño y el desarrollo de una respuesta inmunológica de rechazo a las mismas.

Los dos componentes del huevo, clara y yema, pueden provocar sensibilización alérgica, aunque habitualmente, sobre todo en los niños, las proteínas de la clara son las que provocan la respuesta alérgica. En la **clara de huevo** han podido determinarse por inmunoelectroforesis cruzada, al menos, 24 proteínas diferentes, siendo sólo algunas de ellas alérgenos responsables de alergia mediada por IgE. Excepcionalmente algunos pacientes pueden desarrollar alergia a las proteínas de la yema conservando tolerancia a las de la clara.

La ovoalbúmina (Gal d2), constituye el 54% de las proteínas de la clara; la ovotransferrina o conalbúmina (Gal d3), el 12%; el ovomucoide (Gal d1), el 11%; la lisozima (Gal d4), el 3,5%; la ovomucina el 1,5%, y más del 18% estaría constituido por otras proteínas entre las que se encuentran la avidina, el ovoinhibidor, las flavoproteínas y la catalasa.

Los alérgenos mayores de la clara son el ovomucoide (OVM) y la ovoalbúmina (OVA). El ovomucoide, mantiene su inmunogenicidad tras 20 minutos de hervor. Por su resistencia al calor y a la acción enzimática digestiva, y por sus características físicas, es la proteína más importante de la clara como causa de reacción alérgica. La sensibilización a ovomucoide es un marcador de persistencia de la alergia al huevo y de la ausencia de tolerancia al huevo cocido. La ovoalbúmina es la proteína más abundante en la clara de huevo, pero es más sensible al calor por lo que pierde su capacidad alérgica al ser sometida a altas temperaturas tras un menor tiempo de cocción. Los pacientes que presentan sensibilización únicamente a la ovoalbúmina, toleran el huevo bien cocinado (24,25, 26).

Como la conalbumina (Gal d3) y la lisozima (Gal d4) son menos estables al calor, se comportan como antígenos más débiles, pero también pueden ser responsables de reacciones alérgicas cuando se consumen más o menos crudas. La sensibilización con IgE específica a lisozima, puede ser la responsable de reacciones alérgicas por medicamentos o alimentos elaborados con esta proteína. Más raramente, la ovotransferrina puede producir reacciones alérgicas en pacientes alérgicos al huevo que reciben feroterapia oral con productos a base de esta proteína.

Existe una reacción cruzada entre las proteínas de los huevos de diferentes aves (gallina, pavo, pato, gaviota); esto significa que los pacientes que presentan reacciones alérgicas a huevo de gallina suelen también presentar reacción clínica tras la ingestión o contacto con huevo de otras aves (27).

En la yema se encuentran tres fracciones proteicas principales capaces de unirse a la IgE, que se identifican como gránulos, livetinas y lipoproteínas de baja densidad. Entre las lipoproteínas tienen importancia la apovitelina I y la apovitelina VI. Las apovitelinas serían los antígenos mayores y la α -livetina o albúmina sérica de la gallina (Gal d 5) juega un papel etiológico importante en el "síndrome ave-huevo". La α -livetina o albúmina sérica, está presente en las plumas, la carne y el huevo de gallina lo que explica que el paciente con este síndrome experimente manifestaciones clínicas al inhalar las partículas de las plumas y al ingerir huevo y carne de pollo o gallina. La albúmina sérica de gallina es termolábil; su reactividad clínica en presencia de IgE específica se reduce en un 88% tras calentamiento a 90°C durante 30 minutos. En el síndrome ave-huevo, la sensibilización inicial pueda producirse por aeroalergenos procedentes de otras aves como loros, canarios y periquitos. Se ha demostrado la presencia de partículas

aerotransportadas de albúmina sérica de ave en el ambiente doméstico de los pacientes (28, 29, 30).

Los individuos alérgicos a la clara de huevo, raramente tienen sensibilización a carne de aves, y sólo ocasionalmente tienen pruebas alérgicas positivas. Aún así, suelen presentar buena tolerancia para estos alimentos.

En la alergia inmediata al huevo en la infancia, el ovomucoide es el alérgeno dominante, a pesar de que la ovoalbúmina es el más abundante. A diferencia de la ovoalbúmina y de la conalbúmina, el ovomucoide es resistente al calor y parcialmente a la digestión enzimática por proteasas, probablemente por la presencia de fuertes puentes disulfuro que estabilizan la molécula, o por poseer epítomos secuenciales. La digestión gástrica, no obstante, reduce en parte la alergenicidad del ovomucoide, de ahí que algunos pacientes presenten urticaria de contacto con huevo, pero toleren su ingesta.

Efectivamente, el huevo es uno de los alimentos cuya alergenicidad más se altera con la cocción o el procesamiento. Según demuestran Lemon-Mulé y cols. (31), la clara cruda es más alérgica que la forma de preparación habitual para su consumo (en revuelto, cocida) y ésta, lo es mucho más que la horneada con harina a altas temperaturas. Este hecho se debe no sólo a la termolabilidad de la ovoalbúmina, sino también a que el ovomucoide, a pesar de ser termoestable, es capaz de formar polímeros con el gluten del trigo al ser sometido a muy elevadas temperaturas (180°C, durante 10 minutos), lo que lo insolubilizaría y reduciría su interacción con el sistema inmune (32). Según este estudio (31), al igual que en la alergia a la leche (33), 74% de los alérgicos al huevo lo toleran en bollería al horno, pero sólo algo más del 26% lo toleran cocinado de la forma habitual. Otros estudios (34) muestran cifras menores (43% de los alérgicos) de tolerancia a huevo sometido a calentamiento (90°C, durante 60 minutos). En otro estudio

de 2013 (35), se analiza el suero de 7 pacientes alérgicos al huevo, demostrando que para reducir la alergenidad de la clara de huevo es más trascendental la duración del calentamiento que la temperatura alcanzada, y que un huevo cocido durante 30 minutos, es menos alérgico que el horneado a 170°C durante 20 minutos y éste, menos que el frito o el cocinado durante menos tiempo.

Estas consideraciones tienen su trascendencia no sólo en el manejo clínico de estos pacientes, sino también en la elección de la forma de preparación del huevo a utilizar en las pruebas de exposición oral, para confirmar o descartar alergia clínica a huevo, y en las pautas de desensibilización a este alimento en los pacientes con alergia confirmada.

I.2.4. Mecanismo patogénico.

Las proteínas del huevo suelen entrar en contacto con el sistema inmunológico del individuo a través del aparato digestivo. Ya desde las primeras etapas de la vida, el niño puede entrar en contacto con las proteínas de los alimentos a través de la leche materna (36), por vía inhalatoria o por contacto a través de la piel y, ocasionalmente, durante la vida fetal a través de la placenta.

Existen barreras fisiológicas que protegen al organismo de antígenos extraños. En el aparato digestivo están formadas por dos grupos de componentes:

- 1) No inmunológicos: ácido gástrico; enzimas pancreáticas; enzimas intestinales; moco; membrana de las microvellosidades y capa mucosa, y el peristaltismo intestinal,
- 2) inmunológicos: IgA, IgM, IgG, linfocitos y macrófagos, placas de Peyer, IgA secretora intestinal e IgA secretora de la leche humana.

En el momento en que la naturaleza de la dieta se altera, como sucede con la introducción de alimentos o con el destete, ocurren complejos cambios fisiológicos. De esta situación pueden resultar efectos profundos en la respuesta inmune no sólo porque los antígenos en el lumen son diferentes, sino también por la ingestión y digestión alteradas. El moco y las enzimas proteolíticas de las secreciones digestivas, la motilidad intestinal, la rapidez de absorción y el tránsito digestivo, influyen sobre la cantidad de antígeno presente en un segmento particular del intestino.

La mayoría de las proteínas de la dieta pasan a aminoácidos por acción de las enzimas proteolíticas en la digestión, pero 2% de las proteínas ingeridas se absorben como péptidos, inmunológicamente reconocibles. Estas estructuras proteicas pueden ser epítopos lineares o bien epítopos conformacionales con una estructura tridimensional. La respuesta inmune de la mucosa gastrointestinal está caracterizada por

un intrincado balance entre defensa del huésped e inmunoregulación. Normalmente, tras el reconocimiento por el sistema inmunológico de las proteínas de los alimentos como extrañas para el huésped, se establecen mecanismos inmunoreguladores con adquisición de tolerancia. Las alteraciones en estos mecanismos de regulación alteran la inducción de tolerancia resultando en alergia a alimentos. Diversos factores incluyendo edad, susceptibilidad genética y flora comensal del individuo; vía de exposición y solubilidad del antígeno; presencia de otras proteínas, lípidos y vitaminas y, sobre todo, tipo de células presentadoras de antígeno, pueden determinar la inducción de tolerancia (37, 38).

Los mecanismos de inducción de tolerancia oral incluyen la anergia/delección, o la supresión activa mediante los linfocitos T reguladores (Treg), que tienen un papel primordial en el desarrollo de tolerancia periférica. Actúan suprimiendo la respuesta inmune, al inhibir la generación de células T efectoras en el tejido linfoide y en los órganos diana a través de la producción de citoquinas (39-41). Además, el factor de transcripción FOXP3 es un factor regulador esencial de la línea de células Treg (42). La alergia a alimentos resulta del fallo en el establecimiento de tolerancia, o de la pérdida de la tolerancia adquirida.

Para el desarrollo de tolerancia oral, una población especial de células presentadoras de antígenos del tejido MALT, las células dendríticas CD103+, tiene un papel crítico. Estas células migran a los nódulos linfoides mesentéricos, donde, en presencia del microambiente adecuado, presentan el antígeno e inducen la activación y diferenciación de subpoblaciones de células T antígeno-específicas que suprimen la reactividad inmune. En concreto, la inducción de la subpoblación de células T reguladoras inducibles Fox p 3+, es el mecanismo más relevante para lograr la tolerancia oral, y la exposición repetida a dosis bajas de antígeno por vía oral, se considera el estímulo óptimo para

su desarrollo. Estas células reguladoras migran, a través del conducto torácico y el torrente sanguíneo, a órganos linfoides y a órganos diana y cumplen una función supresora mediante la liberación de citocinas antiinflamatorias (43). Se diferencian dos tipos celulares: células Tr1, que producen IL10, y células Th3, que producen TGF-beta. La IL10 reduce la capacidad de presentación antigénica; inhibe células T, macrófagos y monocitos activados; reduce la síntesis de IgE total y específica, e incrementa la síntesis de IgG4 sérica. Por su parte, el TGF-beta es necesario para la expansión y capacidad inmunosupresora de las células CD4+ CD25+ al inducir la expresión de Fox p3 (44).

Por tanto, el balance entre las células T reguladoras y Th2 es crucial para lograr la tolerancia a los alérgenos alimentarios. Así, en sujetos con alergia a las proteínas de la leche de vaca se ha observado un predominio de respuesta de citocinas Th2, así como reducción de Th1, células T reguladoras, IL10 y TGF-beta en sangre periférica y/o en los linfocitos de la mucosa intestinal (44-46).

Por otro lado, la interacción entre la célula presentadora de antígeno y la célula T, puede inducir una respuesta de anergia o deleción clonal de las células T frente al antígeno alimentario en caso de ausencia de señal co-estimuladora. Este mecanismo está, asimismo, implicado en la tolerancia oral y se derivaría de la exposición a dosis altas del antígeno.

I.2.4.1. Reacción alérgica mediada por IgE

Las reacciones alérgicas a huevo, mediadas por IgE, son las mejor caracterizadas. Un fallo para desarrollar tolerancia oral resulta en una excesiva producción de anticuerpos IgE específicos. Estos anticuerpos se unen a los receptores de alta afinidad (Fce RI) de los mastocitos y basófilos, y a los de baja afinidad FceRII (CD23) sobre macrófagos, monocitos, linfocitos y plaquetas. Cuando los alérgenos del huevo

penetran las barreras mucosas y se unen a la IgE de los mastocitos y basófilos, se produce la liberación de los mediadores de estas células provocando vasodilatación, contracción del músculo liso y secreción mucosa, dando lugar a los síntomas típicos de hipersensibilidad inmediata. Los mastocitos activados pueden también liberar citoquinas que contribuirían a la fase retardada de esta respuesta. En las primeras 4-8 horas hay neutrófilos y eosinófilos invadiendo el lugar de la respuesta y liberando diferentes mediadores, como el factor activador de las plaquetas, peroxidasa, proteína básica mayor y proteína catiónica del eosinófilo (47).

1.2.4.1.1. Sensibilización alérgica

La reacción alérgica requiere de la sensibilización previa, es decir de la producción de sIgE frente al alérgeno, que se une a la superficie de los mastocitos y basófilos (48). El alérgeno, inhalado, ingerido, o en contacto con la superficie cutánea, es procesado por la célula dendrítica, que es una célula presentadora de antígenos. Ésta migra al nódulo linfático, donde estimula a los linfocitos Th0 que contienen receptores específicos para ese antígeno. Las células Th0 son células indiferenciadas CD4+ que pueden liberar citocinas de las diferentes líneas celulares (Th1, Th2, Th17, Th22, Th9) y que pueden diferenciarse hacia cualquiera de estos tipos celulares en función de las señales de células y quimiocinas del microentorno, induciendo diferentes tipos de respuesta inflamatoria. En sujetos genéticamente predispuestos, las células Th0, en presencia de interleucina (IL) 4, se diferencian a células Th2, que liberan más IL4 e IL13. Ambas citocinas actúan sobre el linfocito B, induciendo la producción de anticuerpos IgE específicos frente al alérgeno. Para que esto ocurra, el linfocito B ha tenido que unirse también al alérgeno mediante receptores específicos, internalizarlo, procesarlo y presentar sus péptidos antigénicos junto a moléculas del complejo

mayor de histocompatibilidad de tipo II al receptor antigénico de la célula Th2. De esta unión entre el linfocito B y la célula Th2, en presencia de IL4 e IL13 producidas por la célula Th2, se deriva un cambio en la clase de Ig producida por el linfocito B, que pasa de ser IgM a ser IgE. A continuación, se produce una expansión clonal de linfocitos B memoria, productores de sIgE frente al alérgeno. Así, estos anticuerpos IgE específicos pueden unirse a los receptores de alta afinidad de la superficie de los mastocitos y basófilos (FcεRI), dando lugar al estado de sensibilización alérgica. Los mastocitos se localizan y maduran en el tejido conjuntivo. Los basófilos, como los eosinófilos, maduran en la médula ósea y se localizan en el torrente circulatorio, pudiendo migrar a determinados tejidos, como la piel, el tracto respiratorio o el gastrointestinal (Figura 1) (49).

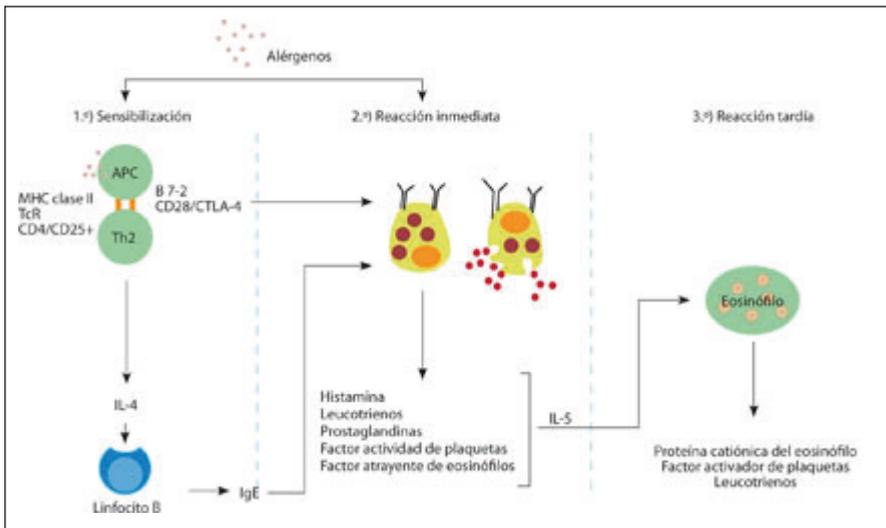


Figura 1.- Esquema patogénico de la reacción alérgica mediada por IgE (49).

I.2.4.1.2. Reacción alérgica inmediata

Tras el proceso de sensibilización, ante una re-exposición al alérgeno, éste puede unirse a la sIgE. De la interacción entre dos complejos sIgE-alérgeno en la superficie de los mastocitos y basófilos, se deriva la liberación de mediadores químicos preformados (Tabla 2), como la histamina, o de rápida formación, como las prostaglandinas y leucotrienos, que dan lugar a las manifestaciones clínicas de la reacción alérgica inmediata (de tipo I o mediada por IgE).

Tabla 1. Mediadores producidos por mastocitos, basófilos y eosinófilos (49).

Tipo celular	Categoría de mediador	Mediador	Función / efectos patológicos
Mastocitos y basófilos			
	Preformados y almacenados en los gránulos citoplásmicos	Histamina	Incrementa la permeabilidad vascular, estimula la contracción del músculo liso
		Enzimas: proteasas neutras (triptasa y quimasa), hidrolasas ácidas, catepsina G, carboxipeptidasa	Degradan las estructuras microbianas, lesión/remodelado del tejido
		prostaglandina D ₂	Vasodilatación, broncoconstricción, quimiotaxis de los neutrófilos
	Mediadores lipídicos principales sintetizados cuando se activan	Leucotrienes C ₄ , D ₄ , E ₄	Broncoconstricción prolongada, secreción de moco, aumento de permeabilidad vascular
		Factor activador de las plaquetas	Quimiotaxis y activación de los leucocitos, broncoconstricción, aumento de la permeabilidad vascular
	Citocinas sintetizadas cuando se activan	IL-3	Estimula la proliferación de los mastocitos
		TNF-alfa, MIP-1 alfa	Estimulan inflamación/reacción de fase tardía
		IL-4, IL-13	Producción de IgE, secreción de moco
		IL-5	Estimula la producción y activación de los eosinófilos
Eosinófilos			
	Preformados y almacenados en los gránulos citoplásmicos	Proteína básica principal, proteína catiónica eosinófila	Tóxica para helmintos, bacterias y células huésped
		Peroxidasa eosinófila, hidrolasas lisosómicas, lisofosfolipasa	Degradan las paredes celulares de helmintos y protozoos; lesión/remodelado del tejido
	Mediadores lipídicos principales sintetizados cuando se activan	Leucotrienos C ₄ , D ₄ , E ₄	Broncoconstricción prolongada, secreción de moco, aumento de permeabilidad vascular
Citocinas sintetizadas cuando se activan	IL-3, IL-5, GM-CSF	Estimula la producción y activación de los eosinófilos	
	IL-8, IL-10, RANTES, MIP-1 alfa, eotaxina	Quimiotaxis de los leucocitos	
Abreviaturas: GM-CSF, factor estimulador de las colonias de granulocitos-monocitos; IL-3, interleucina-3; MIP-1 alfa, proteína inflamatoria de los monocitos-1 alfa; RANTES, expresado y secretado por los linfocitos T normales en función de su grado de activación; TNF, factor de necrosis tumoral			

1.2.4.1.3. Reacción alérgica tardía

Asimismo, durante la reacción alérgica inmediata se liberan otros mediadores y citocinas que potencian la respuesta inflamatoria, reclutando eosinófilos y neutrófilos y activando linfocitos T en los tejidos diana, que pueden dar lugar a respuestas tardías varias horas después de la exposición al alérgeno, con clínica similar a la de la reacción inmediata. Las citocinas IL5, clave en la activación de eosinófilos, IL9 y otras de más reciente conocimiento, como IL33, IL31 e IL25, contribuyen a la respuesta Th2 (44).

1.2.5. Fisiopatología

La acción de los múltiples factores solubles, conocidos como mediadores bioquímicos, liberados por los mastocitos y las diversas células implicadas en la reacción inicial inmunológica y en la posterior inflamatoria, serán los responsables de los trastornos fisiopatológicos en los órganos en los que tiene lugar la reacción alérgica.

Los principales trastornos fisiopatológicos asociados a la acción de los mediadores son: vasodilatación, aumento de la permeabilidad vascular postcapilar, edema, contracción de la musculatura lisa y aumento de la secreción de las glándulas mucosas.

A *nivel bronquial*, el edema de la mucosa, la constricción del músculo liso y el aumento de las secreciones producen obstrucción bronquial que tiene como consecuencia el aumento en la resistencia al flujo aéreo, el cierre espiratorio prematuro de las vías respiratorias y el trastorno en la relación ventilación /perfusión.

A *nivel nasal*, la liberación de mediadores produce edema de la mucosa, aumento de la secreción de las glándulas mucosas y dilatación de los vasos de capacitancia que conducen a la obstrucción de la vía aérea nasal, y estímulo de los receptores sensitivos por vía del trigémino produciendo estornudos. A *nivel ocular*, se produce vasodilatación

con hiperemia conjuntival, edema subconjuntival y aumento de la secreción lacrimal. *En la piel*, la vasodilatación y el aumento de la permeabilidad vascular produce eritema y tumefacción por edema en la dermis (urticaria), que puede alcanzar la dermis profunda y el tejido celular subcutáneo (angioedema), y el estímulo de las terminaciones nerviosas sensoriales por la histamina produce prurito a nivel de la piel y mucosas.

Si se produce una liberación masiva de mediadores al torrente circulatorio se puede agravar la reacción alérgica con hipotensión que conduce a taquicardia, arritmia y shock con amenaza de la vida del paciente.

I.2.6. Tratamiento

En la actualidad, el único tratamiento aceptado para la alergia alimentaria se basa en la dieta de eliminación del alimento responsable, el control de las reacciones adversas cuando se producen trasgresiones dietéticas y el seguimiento a lo largo del tiempo de la evolución natural de la tolerancia (50).

El paciente, la familia y el medio escolar deberán recibir educación y entrenamiento en las medidas de evitación del huevo y en el manejo de las reacciones adversas cuando éstas se produzcan. Deberán extremarse las medidas de vigilancia, verificando cuidadosamente el etiquetado de los alimentos elaborados, en los que es obligatorio (según el Real Decreto 1245/2008, de 18 de julio y del reglamento (UE) N° 1169/2011 del Parlamento Europeo y del Consejo de 25 de octubre de 2011, que recoge la lista de ingredientes alergénicos de declaración obligatoria), la identificación de aquellos productos que lleven en su composición huevo o derivados.

Muchos productos y platos preparados que contienen huevo, se venden en lugares de comida rápida, panaderías o restaurantes, y sus ingredientes no son en ocasiones fácilmente identificables; en estos casos, la contaminación con huevo es mucho más probable. Así mismo, alguna proteína cuyo origen es el huevo, como la lisozima, se emplea como bactericida en diversos alimentos; otros productos alimenticios (caramelos, embutidos, pasta, cerveza y vino) pueden llevar en su composición proteínas de huevo y algunos cosméticos pueden contener también proteínas de huevo.

Ya se ha comentado anteriormente que existe reactividad cruzada entre las proteínas de huevo de otras aves, por lo que también deberá evitarse su ingesta. No suele existir reactividad clínica cruzada entre el huevo y la carne de pollo (51) y no es necesario evitar esta fuente proteica, en la mayoría de los casos. Se han descrito casos de alergia

a la carne de aves, sin alergia concomitante al huevo (52). En los alérgicos a plumas de aves habrá que comprobar la tolerancia al huevo y, recíprocamente, los alérgicos al huevo tendrán que tener precaución con la exposición a los antígenos aviarios (53,28).

Los niños en los que se haya demostrado la tolerancia al huevo cocinado realizarán únicamente una dieta de exclusión de huevo crudo, o poco cocinado (mayonesa fresca, merengues, tortilla, helados). El consumo continuado de huevo cocinado puede favorecer la tolerancia (54). Se ha demostrado que con la ingesta continuada de productos con huevo cocido, tras 3, 6 y 12 meses, disminuye el diámetro de las pruebas cutáneas, la IgE específica a ovoalbúmina y aumentan los valores de IgG4 a ovoalbúmina y ovomucoide (31).

El huevo horneado con harina puede disminuir su alergenicidad mediante la destrucción de los epitopos configuracionales (55), bloqueando el acceso de la IgE específica al epitopo mediante la formación de una matriz con el trigo (56). Aproximadamente 70-80 % de los niños con alergia a huevo que no toleran el huevo crudo o poco cocinado, toleran el huevo en alimentos horneados elaborados con harinas (18,57-60) y la toma regular en tolerantes de alimentos con huevo y harina horneados, puede acelerar la evolución hacia la tolerancia del huevo. (57).

A pesar de la educación del paciente o de sus familiares en las medidas de exclusión de huevo, no son infrecuentes las reacciones. En un estudio prospectivo multicéntrico en EEUU (61) sobre una cohorte de 514 alérgicos a leche o huevo, menores de 15 meses, seguidos durante 3 años, se observó la presencia de 0,82 reacciones anuales en cada niño, 42% de ellas ocasionadas por huevo. Un 11,4% de las reacciones fueron graves, pero sólo se utilizó adrenalina en un tercio de ellas. Las reacciones se debieron a ingestiones accidentales, errores en el etiquetado o contaminación de otros alimentos.

La alergia alimentaria es la causa mas frecuente de anafilaxia, especialmente en niños y adultos jóvenes (62). Un reciente meta-análisis (63) cifra la tasa de reacciones anafilácticas en niños, en 4,93 por 100 personas alérgicas a alimentos.

Entre los años 1998 y 2011 se observó un aumento en las admisiones por anafilaxia en los hospitales españoles especialmente en niños causada por alimentos siendo la leche de vaca y el huevo los más frecuentemente implicados (64).

Las muertes son sin embargo raras, y su tasa se ha mantenido estable en los últimos años, calculándose en 1,8 por millón de alérgicos a los alimentos y por año. A pesar de ello, el riesgo de muerte por anafilaxia no debe ser infravalorado, especialmente en asmáticos y adolescentes. Se trata de un acontecimiento infrecuente pero que se da en la población infanto-juvenil y es una causa de muerte prematura, susceptible de ser evitada mediante una correcta intervención sanitaria preventiva o terapéutica. Es preciso, por tanto, que el paciente o sus familiares y cuidadores sepan reconocer precozmente las reacciones adversas e instaurar las primeras medidas terapéuticas mientras se solicita atención médica urgente. Estas medidas consistirán fundamentalmente en la administración precoz de adrenalina en el caso de reacciones graves que afecten a varios órganos, a la vía respiratoria, o que progresen rápidamente. Deberá entrenarse a las personas implicadas (padres, cuidadores, pacientes en su caso), en el uso de autoinyectores de adrenalina disponibles en el mercado, con los que se deberá contar no sólo en el domicilio sino en la escuela, vigilando periódicamente la fecha de caducidad del fármaco. El alergólogo responsable deberá proporcionar por escrito, instrucciones claras, sobre los fármacos a administrar según la sintomatología presentada y el momento en que debería solicitarse atención médica urgente.

I.2.6.1. Problemas que plantea la dieta de eliminación

La dieta de eliminación de alimentos es muy fácil de indicar, pero resulta difícil llevarla a la práctica con algunos de ellos como las proteínas de huevo, dada su elevada presencia en muchas comidas elaboradas. A ello se añade actualmente, informaciones poco claras en los etiquetados, por parte de las casas comerciales, acerca de que "contienen trazas de huevo", o de que "pueden contener trazas de huevo", en cada vez mas alimentos de este tipo.

En caso de que el paciente mantenga una alergia grave, con reacciones -incluso- con trazas del alimento y en cualquier forma de preparación, la dieta deberá ser muy estricta, realizando una estrecha vigilancia de la composición de los alimentos ingeridos (lectura del etiquetado, información sobre la composición de platos culinarios) y evitando lugares o situaciones de riesgo (comedor del colegio, comidas colectivas, *buffets*...).

La dieta estricta de exclusión de huevo, no supone un problema nutricional pero tampoco evita el riesgo de reacciones, a veces graves, por su ingestión inadvertida (65, 66). La alimentación es una actividad cotidiana y la posibilidad de ingerir accidentalmente huevo es, por tanto, constante al tratarse de un alimento muy ubicuo; ello exige una vigilancia continua y conlleva una limitación importante de las actividades sociales del paciente ya que el miedo a sufrir reacciones se incrementa ante la dudas sobre el correcto etiquetado de los alimentos, la posible toma accidental o inadvertida de proteínas de huevo y la amenaza omnipresente de anafilaxia lo que ocasiona un grave deterioro en la calidad de vida del paciente y de su familia (67,68), especialmente en los adolescentes, por lo que sería extraordinariamente beneficioso que se pudiera alcanzar esta edad habiendo logrado la tolerancia.

En definitiva, no sólo importan los síntomas físicos provocados por la alergia alimentaria, sino que la necesidad de realizar dieta, causa

por sí misma, problemas emocionales, psíquicos y de relación social, especialmente en los que han sufrido un episodio grave, que viven con el temor a un daño que puede incluir la muerte (68,69,70,71,72)

Todos estos motivos empujan a los pacientes y sus familias a solicitar una solución a sus problemas que vayan más allá de la mera evitación y motivan a los alergólogos y pediatras alergólogos a buscar nuevas terapias como la inmunoterapia oral con alimentos.

1.2.6.2. Inmunoterapia oral con huevo

La inmunoterapia oral (ITO) con alimentos es un tratamiento activo que consiste en la administración de dosis progresivamente crecientes del alimento que produce reacción alérgica para reducir los síntomas frente a su exposición natural, es decir, para conseguir la desensibilización y, si es posible, la tolerancia permanente o sostenida al alimento.

La desensibilización oral se define como un estado reversible de reducción de la reactividad clínica logrado tras la exposición a dosis gradualmente crecientes de un alimento. Este estado puede desaparecer tras suspender la ingestión regular del mismo, en el plazo de pocos días o semanas.

La **tolerancia permanente o sostenida** se define como un estado permanente de falta de reactividad clínica frente al alimento a pesar de no ingerirlo de forma regular.

Aunque los mecanismos inmunológicos que intervienen en la ITO no son completamente conocidos, se sabe que induce la reducción de la activación y liberación de mediadores de los mastocitos y basófilos, el aumento de los niveles de IgG4 específica, el descenso en los niveles de IgE específica y la activación de las células T reguladoras específicas, inhibiendo la respuesta Th2 (73-76).

La ITO no es un tratamiento nuevo; ya en 1908, Schofield comunica, en la revista *Lancet*, la desensibilización con éxito de un paciente

con alergia grave al huevo mediante la administración de dosis progresivamente crecientes de este alimento (77). Es de resaltar que esto ocurrió antes de que, en 1911, Noon y Fiedman introdujeran la inmunoterapia con alérgenos para tratar la polinosis. Sin embargo, es llamativa la poca atención que se prestó a esta posibilidad terapéutica. Habría que esperar muchos años, hasta 1984, para que a partir de los estudios del grupo italiano de Patriarca (78), se volviera a considerar este tratamiento. En nuestro país, Martorell y cols., en 2002, comunicaron en los Congresos de las Sociedades Españolas de Inmunología Clínica, Alergología y Asma Pediátrica (SEICAP) (79) y de Alergología e Inmunología Clínica (SEAIC) (80), el tratamiento con éxito de 4 niños con alergia a leche de vaca. En 2007, se publica el primer estudio abierto controlado de ITO con leche y huevo (81) y, posteriormente, en 2008 y 2012, los primeros estudios doble ciego de ITO con leche (82) y huevo (83).

Hasta la actualidad todos los estudios publicados sobre ITO, indican que es un método efectivo para inducir desensibilización en pacientes con alergia a leche de vaca y huevo (84).

La ITO con leche y huevo induce cambios en el sistema inmune y promueve el desarrollo de un estado de desensibilización en la mayoría de los pacientes, pero existe escasa evidencia acerca de su seguridad y eficacia a largo plazo (85). Las reacciones adversas son frecuentes y pueden aparecer también en la fase de mantenimiento. Aunque generalmente son leves, a veces pueden ser más graves requiriendo la administración de adrenalina y aunque en ocasiones se asocian con cofactores (ej. ejercicio, infecciones), pueden aparecer de forma impredecible con dosis previamente bien toleradas (86,87). No se conoce la evolución a largo plazo, ni el tiempo necesario para conseguir la tolerancia permanente al alimento (86-88) y además, debe considerarse

que la prolongación de la fase de mantenimiento puede producir problemas de adherencia (89).

Estos factores de incertidumbre hacen que, por el momento, la ITO siga recomendándose en el ámbito de la investigación y no en la práctica clínica (86-88).

1.2.6.2.1. Indicaciones de la ITO

Siguiendo las recomendaciones de la Guía de ITO para leche y huevo, recientemente publicada (90), la ITO puede considerarse como una alternativa a la dieta de eliminación de huevo en pacientes:

- Con alergia mediada por IgE a huevo
- Que mantienen reactividad clínica al huevo cocinado a los 5 años de edad, confirmada mediante una prueba de exposición controlada. Opcionalmente pueden incluirse pacientes que tolerando huevo cocinado, presenten síntomas con pequeñas cantidades de huevo crudo o poco cocinado.
- Que él/ella y/o su familia, tras informarles sobre el riesgo y beneficio de la ITO y la necesidad de su mantenimiento prolongado, la acepten.

* Podría considerarse sin límite de edad inferior en los casos más graves, cuando la IgE específica no se ha reducido en sucesivos controles, y en pacientes con reacciones anafilácticas o asmáticos, por la menor probabilidad de tolerancia espontánea y el mayor riesgo de reacciones graves.

En cualquier caso, siempre se tendrán en cuenta las circunstancias y preferencias personales y familiares y los medios disponibles para llevar a cabo este procedimiento con todas las garantías.

I.2.6.2.2. Eficacia de la ITO para la desensibilización

La eficacia de la desensibilización se valora por el aumento en el umbral de exposición sin reacción y se mide por la dosis de alimento tolerada por el paciente.

Se consideran dos grados de eficacia en la desensibilización:

- **Desensibilización completa**, cuando el paciente consigue tolerar una dosis, equivalente a una ración del alimento, lo que permite introducirlo en la dieta sin restricciones. En el caso del huevo, se define por la tolerancia de una clara cruda o cocinada en función del objetivo propuesto.
- **Desensibilización parcial**, cuando el paciente consigue aumentar el umbral de tolerancia al alimento en comparación con la dosis previa tolerada al inicio de la ITO, sin alcanzar una dosis equivalente a una ración del alimento, o no tolerando alguna de sus presentaciones consumidas habitualmente en la dieta. La dosis mínima de seguridad no ha sido establecida. Su mantenimiento se justificaría para prevenir reacciones adversas con la ingestión inadvertida de pequeñas cantidades del alimento y para facilitar el proceso de desensibilización tras un periodo mayor de tiempo.

En los dos estudios iniciales de Patriarca y cols. (91,92) la desensibilización fué eficaz en 5 de los 5 y en 11 de los 15 pacientes que recibieron ITO, respectivamente. Buchanan y cols. (93), trataron 7 niños entre los 14 meses y 7 años de edad y, a los 24 meses, tras un periodo de mantenimiento con dosis de 300 mg/día de clara de huevo, 57 % de los pacientes toleraron el huevo en la prueba de exposición con un huevo entero. En un estudio de seguimiento realizado por el mismo grupo (94), los pacientes fueron tratados con dosis de mantenimiento mas altas (mediana de 2400 mg) y durante mas tiempo (mediana de 33

meses), con el objetivo de reducir los niveles de IgE específica a la clara de huevo por debajo de 2 kU/L. 6 de los 8 (75%) pacientes incluidos en el estudio que completaron el protocolo de tratamiento, pasaron la prueba de provocación doble ciego después de interrumpir el tratamiento durante un mes y se consideraron tolerantes.

En el primer estudio abierto controlado, Morisset y cols. trataron 51 niños (media de edad: 3,5. SD: 1,8 años) y tras 6 meses de tratamiento, 69% finalizó con éxito la ITO (81).

En 2012, Burks y cols. (83) publicaron los resultados del primer estudio doble ciego controlado con placebo de ITO con huevo, en el que se incluyeron 55 niños de 5 a 11 años de edad con alergia persistente al huevo. En la fase de mantenimiento se administró diariamente 2 g de proteína de huevo y se realizó una prueba de exposición controlada doble ciego a los 10 y 22 meses. En esta última, en los que no presentaron reacción en la prueba de exposición, se suspendió la administración de huevo durante 6 a 8 semanas y se repitió la prueba de exposición para valorar la evolución hacia tolerancia permanente. A los 10 meses de tratamiento, la prueba de exposición seguía siendo positiva en todos los pacientes del grupo control mientras que en el 55 % de los pacientes del grupo activo resultó negativa. A los 22 meses de tratamiento alcanzaron la desensibilización el 75 % de los pacientes tratados con ITO, pero tras suspender la administración de huevo durante 6 a 8 semanas solo en el 28 % mantenían la tolerancia.

Más recientemente, en 2015, Caminiti y cols. (95) realizaron otro estudio doble ciego, controlado con placebo, con un protocolo de ITO con huevo con una fase de inducción de 4 meses de duración. 16 de los 17 niños del grupo tratado fueron desensibilizados y pudieron incorporar el huevo en su dieta. A los 6 meses de tratamiento de mantenimiento, se suspendió la administración de huevo durante 3 meses, con posterior prueba de exposición controlada doble ciego- para valorar

la adquisición de tolerancia permanente. Sólo 31% de los pacientes desensibilizados permanecía tolerante tras 3 meses de una nueva dieta de eliminación de huevo.

En el estudio español de Escudero y cols. (96), 61 niños de 5 a 17 años, con prueba de exposición doble ciego, controlada frente a placebo, con clara de huevo, fueron aleatorizados para recibir tratamiento de ITO con clara de huevo deshidratada durante 3 meses, o para continuar con la dieta de eliminación de huevo. Los niños que completaron la ITO evitaron la ingesta de huevo durante un mes. A los 4 meses, se realizó una prueba de exposición oral, doble ciego, con clara de huevo, a los pacientes de ambos grupos, activo y control. 93 % (28/30) de los niños tratados con ITO fueron desensibilizados. Sólo en 1/31 pacientes (3%) del grupo control y en 11/30 (37%) de los del grupo con ITO (tras un mes de nueva dieta de eliminación) la prueba de exposición resultó negativa (95% CI, 14 a 51%; $P = 0.003$).

En otros tres estudios controlados abiertos y aleatorizados, se consiguió la desensibilización entre el 80 y 92, % de los 80 niños que se trataron con ITO con huevo (97-99).

Utilizando una pauta rápida agrupada de ITO, de 5 días de duración, García Rodríguez y cols. (100) trataron 33 niños y adolescentes de 5 a 17 años de edad con alergia al huevo. Veinte (86,9%) finalizaron la pauta de tratamiento tolerando la dosis final de un huevo entero cocinado, 14 de ellos en los 5 días programados y en 6, se prolongo unos días mas (menos de 10 días) por reacciones adversas.

Un meta-análisis de de la Cochrane concluye que la ITO es un método efectivo para inducir desensibilización en la mayoría de pacientes con alergia IgE a huevo, aunque se desconoce la instauración de tolerancia a largo plazo (101).

La desensibilización puede ser más eficaz en niños pequeños, lo que sugiere que la inmunomodulación se podría conseguir más

fácilmente si se inicia a edades más tempranas, como se especula con la inmunoterapia subcutánea con aeroalérgenos (101). En la mayoría de los pacientes con clínica grave de anafilaxia y niveles elevados de IgE específica, sólo se consigue una desensibilización parcial al alimento (98, 102).

En el último meta-análisis, recientemente publicado, se demuestra la eficacia de la ITO con alimentos en términos de desensibilización (RR = 0.16, 95% CI 0.10-0.26), aunque no se confirma la adquisición de tolerancia sostenida (RR = 0.29, 95% CI 0.08-1.13) (103). En él se analiza un subgrupo de 11 estudios de ITO con huevo demostrándose también su eficacia, por separado, para la desensibilización de la alergia a este alimento (RR = 0.22, 95% CI 0.11-0.45).

1.2.6.2.3. Eficacia de la ITO para la adquisición de tolerancia sostenida o permanente.

La tolerancia sostenida se define como un estado permanente de falta de reactividad clínica frente al alimento a pesar de no ingerirlo de forma regular. El objetivo final de la ITO es alcanzar la tolerancia al alimento, sin reacción adversa y sin tener que consumirlo regularmente. En cuatro estudios que analizan la tolerancia sostenida tras un periodo prolongado de tratamiento de mantenimiento, entre 12 y 33 meses, la tolerancia se consigue en el 28 a 100% de los pacientes tratados (83,93,94,104). La variabilidad de los resultados podría explicarse por la variación de las dosis de mantenimiento utilizadas en los diferentes estudios, que oscilan entre de 300-1600 mg de proteína (una clara de huevo de tamaño medio contiene aproximadamente 2.800 mg de proteína).

Los resultados del estudio controlado de Escudero y cols. (96) muestran que el estado de tolerancia sostenida puede alcanzarse, incluso, tras un periodo corto de tratamiento. En este estudio se analizó

la tolerancia de 2808 mg de proteína de clara de huevo mediante una prueba de exposición doble ciego, tras conseguir la desensibilización con la ITO en 3 meses y un mes de dieta de eliminación. A los 4 meses, tras tres meses de ITO, 37% (11/30) de los pacientes alcanzó la tolerancia comparados con sólo 3% (1/31) del grupo control ($p= 0,003$).

En la actualidad se desconocen los factores que influyen en la adquisición del estado de tolerancia permanente, aunque podrían estar en relación con la duración y dosis administradas durante el tratamiento de mantenimiento, con el grado de sensibilización al alimento y con otros factores individuales del paciente, como la adherencia al tratamiento. Tampoco se conoce si puede ser alcanzada por todos los pacientes alérgicos manteniendo la ITO durante un tiempo suficientemente largo, o si algunos pacientes alérgicos nunca podrán alcanzarla.

El estado de tolerancia, sostenida o permanente, permite al paciente tomar el alimento en cualquier forma y cantidad, cuando lo desee y sin reacción alérgica. En este estado, a diferencia de la desensibilización, no es necesario tomar el alimento periódicamente de forma estricta. Sin embargo, es recomendable que el paciente siga tomando el alimento regularmente porque la evitación total puede conducir a la pérdida de la tolerancia, tal como se ha observado en la evolución espontánea en el modelo de alergia a cacahuete (105).

Por tanto, la ITO se ha demostrado eficaz para conseguir la desensibilización en alérgicos a huevo, pero se desconoce el tiempo de mantenimiento necesario para alcanzar la tolerancia y sí podría lograrse en todos los pacientes. Esta evidencia procede principalmente de estudios realizados en niños y, por lo tanto, no está tan clara y demostrada su efectividad en adultos.

I. 2.6.2.4. Cambios inmunológicos

Los mecanismos por los que la ITO induce desensibilización y la posibilidad de evolución a tolerancia sostenida, están actualmente en investigación. Los estudios han demostrado cambios inmunológicos específicos que incluyen, fundamentalmente, el incremento en los niveles de IgG4, que tiene un efecto bloqueante del alérgeno; de respuesta de los mastocitos y basófilos (83,106-108); descenso de los niveles de IgE específica, de la reactividad de las pruebas cutáneas y de la activación de los basófilos a los 12 meses de la ITO (107-109).

Algunos estudios han demostrado cambios en el patrón de unión del alérgeno con la IgE específica, bien por descenso de la cantidad de IgE específica, por la diversidad en el reconocimiento de los epitopos y/o por la alteración en la afinidad de la IgE (110).

Tras 6 a 12 meses de ITO, parece producirse un cambio en el patrón Th2 de producción de citocinas hacia un perfil proinflamatorio con incremento en la producción de IL-1 β y TNF- α (107). La inmunosupresión por células T reguladoras y la anergia clonal parece que se producen más tardíamente en el curso de la ITO. Syed y cols. han demostrado un incremento en la función de las células T reguladoras específicas CD4+CD25+FoxP3+ tras la ITO, reforzando la teoría de una supresión activa de la respuesta inmune (105, 108).

En modelos murinos se ha demostrado la delección de células T alimento-específicas en las placas de Peyer inducida por la administración oral del alérgeno (111).

Gorelik y cols. estudiaron los mecanismos y duración de la supresión de la respuesta inmune durante la ITO con cacahuete y observaron la anulación (o eliminación) de la reactividad espontánea de los basófilos y la inducida por el alérgeno, incluyendo la producción de IL-4 durante la fase de incremento de las dosis y después de 6 meses de estar con la dosis de mantenimiento (108). Muchos marcadores de

supresión inmunológica revirtieron tras suspender la inmunoterapia y, en algunos casos, durante el tratamiento de mantenimiento. Los autores concluyen que mientras la ITO con cacahuete induce una supresión rápida de las funciones efectoras de los basófilos, de las células dendríticas y de la respuesta de citocinas Th2, en muchos pacientes parece ser transitoria.

En una reciente publicación, Begin y cols. secuenciaron los receptores de células proliferativas T CD4 específicas de cacahuete (112) y observaron una respuesta inicial con elevada diversidad policlonal a la incubación con cacahuete, pero sólo un pequeño número de clones persistieron a lo largo del tiempo. Cuando estos clones fueron seguidos a largo plazo, sólo observaron cambios sugestivos de posible delección o anergia de las células proliferativas T CD4 específicas de cacahuete en los sujetos tratados con ITO, comparados con los que sólo recibieron dieta de eliminación.

1.2.6.2.5. Seguridad

La ITO con alimentos no está exenta de riesgos. Las reacciones adversas son frecuentes durante la ITO con similar prevalencia para los diferentes alimentos como leche, huevo y cacahuete. El mayor porcentaje de reacciones adversas corresponde a reacciones leves, si bien se debe considerar la posibilidad de que se produzcan reacciones de mayor gravedad.

Los síntomas locales como el prurito oral, el exantema peribucal y el dolor abdominal transitorio son los más comunes; generalmente de carácter leve y no requieren tratamiento, o se controlan fácilmente sólo con antihistamínicos. El dolor abdominal es el síntoma que, con mayor frecuencia, conduce a suspender el tratamiento y las reacciones moderadas con broncoespasmo, vómitos y urticaria se presentan en un pequeño porcentaje de casos (113).

Varias revisiones sistemáticas y meta-análisis analizan la evidencia sobre la seguridad de la ITO durante los tres últimos años concluyendo que las reacciones adversas son frecuentes, produciéndose hasta en el 91,5% de los pacientes tratados (71) y en el 16% de las dosis administradas (114). La mayor parte son leves y autolimitadas: prurito oral y labial (RR 34,4), urticaria perioral (RR 8,2), urticaria o eritema generalizados (RR 12,1); síntomas abdominales (RR 16,6); rinoconjuntivitis (RR 15,9), laringoespasma leve (RR 12,9) y broncoespasma leve (RR 10,) (97,115), pero también se han descrito reacciones anafilácticas graves (116, 117) y, en los ensayos clínicos controlados publicados, se describe que entre 6,7% y 30,8% de los pacientes que recibieron ITO con leche de vaca y 20% de los tratados con ITO con huevo, precisaron la administración de adrenalina (83,109).

Se han descrito casos de esofagitis eosinofílica que sugieren una asociación de esta patología con la ITO con alimentos (98,118). En una reciente revisión sistemática de la evidencia de esta asociación se concluye que la prevalencia combinada de esofagitis eosinofílica de nueva aparición tras la ITO (leche, huevo, cacahuete o trigo) es de 2,7% (IC del 95%, 1,7%-4%) (119).

Según la revisión realizada por Begin P y cols. (84), el porcentaje de pacientes en los que la ITO con leche de vaca es abandonada, oscila entre 10-36%, mientras que en la ITO con huevo varía entre 0-43% (68). Esta revisión realiza un análisis por intención de tratar y, por tanto, es posible que también incluyan pacientes que abandonaron el tratamiento por motivos diferentes al de reacciones adversas durante la ITO. Al analizar los abandonos debidos exclusivamente a reacciones adversas, el porcentaje en la ITO con leche de vaca se estima entre 3-20% y para huevo entre 0-36% (120).

I.2.6.2.6. Factores asociados con la aparición de reacciones adversas y fracasos del tratamiento.

Se han identificado varios marcadores que aumentan el riesgo de padecer reacción adversa durante la ITO. Utilizando un modelo de regresión multivariable se han identificado 3 variables [IgE a leche \geq 50 kU/L, prueba cutánea para leche de vaca \geq 9 mm y reacciones de grado 2, 3 y 4 (escala de Sampson) (121) en la provocación oral basal como marcadores de riesgo independiente para la aparición de reacciones adversas recurrentes durante el tratamiento con ITO con leche de vaca]. La combinación de 2 ó 3 de estos marcadores supondría un RR de desarrollar reacciones recurrentes de 2,26 y 6,06, respectivamente (122). Al mismo tiempo, los niveles de IgE a leche de vaca antes de iniciar la ITO son mayores en los niños en los que fracasa el tratamiento que en aquellos que consiguen la desensibilización ($P < 0.05$) (123, 124).

Respecto a la ITO con huevo, su seguridad fue evaluada en un ensayo clínico controlado (125). Los niños fueron clasificados en tres grupos: aquellos que dejaron de tener reacciones durante la ITO (reacciones resueltas); los que continuaron presentando reacciones durante el tratamiento (reacciones persistentes) y los que tuvieron que abandonar el tratamiento por reacciones graves o frecuentes que no se resolvían con medicación, ni con reajustes en la dosis de ITO (interrupción temprana). La interrupción se asoció con antecedentes de asma (sobre todo las formas graves), niveles elevados de IgE específica a huevo y un umbral bajo en la prueba de provocación basal (dosis \leq 1/4 clara cocinada) ($p=0.021$). Por el contrario, niveles bajos de IgE específica, niveles elevados de IgE total y reacciones menos graves en la provocación basal se asociaron al grupo de reacciones resueltas ($p < 0.05$). En un análisis de regresión multivariable, la IgE específica a OVM se reveló como un factor protector independiente para pertenecer al subgrupo

de reacciones resueltas. Los niveles por debajo del punto de corte para la IgE a OVM de 8,85 kU/L, indicaban una probabilidad del 77% de pertenecer al grupo de reacciones resueltas, mientras que niveles por encima del punto de corte indicaban una probabilidad del 95% de discontinuar el tratamiento de manera temprana o de presentar reacciones persistentes. Uno de los factores de riesgo más importantes fue la gravedad de la paciente basada en la reactividad frente a huevo según la historia clínica previa o prueba de exposición (69,98).

Los parámetros basales de gravedad del paciente basados en la reactividad clínica según la historia clínica previa o la prueba de exposición y, en particular, los niveles de IgE específica, pueden ayudar a identificar a los niños de mayor riesgo.

La mala adherencia al tratamiento de ITO y el asma no controlada son factores de riesgo para que se produzcan reacciones graves durante la misma (116).

I.2.6.3. Otras estrategias terapéuticas

I.2.6.3.1. Anticuerpos Anti-IgE: Omalizumab

La desensibilización se consigue en la mayoría de pacientes, pero en, al menos, un 20% no puede lograrse por la aparición de reacciones adversas. Por este motivo, es necesario desarrollar nuevas estrategias terapéuticas, como por ejemplo el tratamiento adyuvante con anti-IgE, para poder ampliar su ámbito de aplicación (86).

El tratamiento con omalizumab (OMZ) reduce los niveles séricos de IgE libre lo que conduce a una pérdida de receptores Fcε de los mastocitos, basófilos y células presentadoras de antígeno (126). El tratamiento con OMZ ha demostrado su capacidad de aumentar el umbral de tolerancia en la alergia alimentaria (127). Por este motivo se ha utilizado combinado con las pautas de ITO con alimentos, para aumentar

la posibilidad de tolerar los incrementos de dosis con el doble objetivo de conseguir pautas más rápidas y con menos efectos secundarios.

Los estudios publicados demuestran que el tratamiento concomitante con OMZ es eficaz para mejorar la seguridad de la ITO reduciendo las reacciones adversas y su gravedad, especialmente en pacientes con clínica de anafilaxia, altamente sensibilizados (84,98,128-132), lo que se ha confirmado en un reciente estudio controlado con placebo (50), y que además puede conseguir completar la ITO con éxito en pacientes en los que previamente había fracasado por las reacciones alérgicas que presentaban. (133-135).

La tolerancia inmediata tras la suspensión del OMZ es buena. Así lo demuestra un estudio en el que 100% de los pacientes que alcanzaban la dosis de mantenimiento podían seguir tomando la leche tras la retirada (132); en el caso del cacahuete, el porcentaje es del 90% (130) y parece que puede mantenerse la ingestión del alimento con normalidad clínica o síntomas leves tolerables tras suspender el OMZ (84,130,136). Sin embargo, un porcentaje de pacientes recaen con descenso en el umbral de reactividad clínica a los 2-4 meses de su suspensión (137,135). La diferencia puede radicar en el grado de respuesta clínica y sensibilización de los pacientes.

Además, en los estudios que prolongan el tiempo de seguimiento, se observa una recaída en cuanto a la reaparición de síntomas con el alimento a medida que pasa el tiempo sin OMZ. Tras 6 a 8 meses de la suspensión, aparecen reacciones hasta en el 50% de los pacientes, la mayoría de ellas leves, pero en algunos casos las reacciones son graves, con requerimiento de adrenalina en ese periodo (130, 132).

Todo ello sugiere la necesidad de aumentar el periodo de tratamiento de mantenimiento con OMZ y de realizar estudios que ayuden a definir la duración del mismo .

El OMZ no altera la evolución hacia la tolerancia persistente o sostenida como indican los resultados de un reciente estudio aleatorizado, controlado, doble ciego con placebo, con 57 pacientes a los que se les realiza ITO con leche y tratamiento con OMZ, sin que al suspender este tratamiento con posterior dieta de exclusión de leche durante 8 semanas, se observaran diferencias significativas en el desarrollo de tolerancia sostenida entre los dos grupos (48,1% en el grupo activo con OMZ vs 35,7% en el grupo placebo)(50).

1.2.6.3.2. Inmunoterapia sublingual

Los estudios controlados con placebo realizados con inmunoterapia sublingual (ITSL) en alérgicos a kiwi (138), cacahuete (139,140-143), leche (144,145), avellana (146), melocotón Pru p3 (147), y otros estudios controlados sin placebo (145,148), demuestran un mejor perfil de seguridad de la ITSL que de la ITO, pero con una eficacia en general modesta, inferior a la obtenida con la ITO o sin conseguir diferencia significativa respecto a placebo, como se observa en un estudio con cacahuete (142). Con huevo no hay ningún estudio publicado realizado con ITSL.

En relación con la adquisición de tolerancia, o arreactividad sostenida, en un estudio abierto de ITSL realizado en niños y adultos, a los tres años de tratamiento sólo 11% de los pacientes mantuvieron la tolerancia tras suspender el tratamiento durante 4 a 6 semanas (140).

Estudios comparativos con leche y cacahuete muestran que la ITSL es menos eficaz para la desensibilización que la ITO, pero con la ventaja de tener un mejor perfil de seguridad, con efectos adversos en general leves y raramente sistémicos (139,142-144). Dos de ellos compararon directamente la eficacia de la ITO y de la ITSL, el primero con leche de vaca (144), y el segundo con cacahuete (139). En el primero se aleatorizaron 30 niños con alergia a leche de vaca para recibir

ITSL sola, o ITSL seguida de ITO, demostrando que la ITO fue mas eficaz para conseguir la desensibilización y la arreactividad sostenida tras suspender el tratamiento durante 6 semanas. En el segundo estudio, se incluyeron 21 niños con alergia al cacahuete que se aleatorizaron para recibir ITSL activa/ITO placebo o ITO activa/ITSL placebo. Como en el anterior, la ITO con cacahuete demostró ser mas efectiva que la ITSL en el tratamiento de la alergia al cacahuete con un aumento significativamente mayor del umbral de tolerancia en los pacientes del grupo activo de inmunoterapia.

Se sugiere que el pretratamiento con ITSL seguido de ITO podría beneficiar el perfil de seguridad y eficacia de la ITO permitiendo alcanzar un mayor nivel de tolerancia al alimento (149). El estudio ya comentado, con cacahuete (139), apoya esta hipótesis, al demostrar una protección significativa con menos efectos adversos y una mayor dosis alcanzada en la provocación en el grupo con pre-tratamiento con ITSL seguida de ITO, comparado con el grupo sin pre-tratamiento. Aunque con las dos terapias (ITO y ITSL) se observan cambios inmunológicos como reducción de la IgE específica, aumento de la IgG4 específica, disminución de la liberación de histamina por los basófilos y de los test cutáneos, son más marcados en la ITO que en la ITSL (139,142,143).

1.2.6.3.3. Inmunoterapia subcutanea

La inmunoterapia subcutánea se utiliza, en la actualidad, para el tratamiento de la rinoconjuntivitis alérgica, asma bronquial alérgico y en la alergia al veneno de los himenopteros. En la década de los 90 se intentó utilizar esta modalidad con extractos completos de cacahuete para el tratamiento de la alergia al cacahuete, pero tuvo que ser abandonada por la elevada frecuencia de reacciones adversas incluyendo reacciones anafilácticas graves. (150, 151)

Actualmente se está volviendo a valorar esta alternativa frente a la inmunoterapia oral, pero utilizando proteínas recombinantes hipoalérgicas y proteínas de cacahuete modificadas químicamente para que sean menos alérgicas y no produzcan tantas reacciones. Así, se están poniendo en marcha ensayos clínicos con recombinantes hipoalérgicos de parvalbumina (proteína alérgica del pescado) y de LTP (proteína transportadora de lípidos, alérgeno ampliamente presente en alimentos vegetales: melocotón y otras frutas, verduras y frutos secos) (152, 153) y también con cacahuete modificado químicamente (154).

1.2.6.3.4. Inmunoterapia por vía epicutánea

En la actualidad se está investigando la utilización de la vía epicutánea para la inmunoterapia con alimentos. La inmunoterapia epicutánea utiliza una vía novedosa de liberación del alérgeno mediante la aplicación sobre la piel, de un parche que contiene un extracto no modificado del alérgeno alimentario, diseñado para activar las células de Langerhans de la piel que conduciría a una regulación de las células efectoras (155, 156).

Muchos estudios preclínicos han demostrado este mecanismo patogénico; por ejemplo, ratones sensibilizados a ovoalbumina, cacahuete o aeroalérgenos, fueron asignados a recibir inmunoterapia epicutánea, subcutánea, o a un grupo control sin tratamiento (157). Después de un tratamiento semanal de 8 semanas de duración, la prueba de provocación demostró un descenso de la respuesta bronquial en el grupo con inmunoterapia epicutánea, a un nivel similar al del grupo tratado con inmunoterapia subcutánea. Los niveles de IgG2a para todos los alérgenos se incrementaron de forma similar con ambas, mientras que se observó un descenso en el cociente IgE/IgG2a.

Se han publicado estudios utilizando la vía epicutánea con leche y cacahuete. En uno de ellos, doble ciego controlado con placebo, se incluyeron 18 niños con alergia a la leche vaca, de los que 10 recibieron inmunoterapia epicutánea durante 3 meses. (158). Las reacciones adversas fueron muy frecuentes y ocurrieron en la mayoría de los pacientes del grupo activo, pero quedaron limitadas a eritema local o eczema en el área de aplicación. El umbral de tolerancia de la leche de vaca, al finalizar el tratamiento, mostró cierta evidencia de desensibilización, aunque sin diferencia significativa con el grupo control.

En otro estudio multicéntrico doble ciego, controlado con placebo, recientemente publicado, se incluyeron 74 pacientes de 4 a 25 años (159). Tras 52 semanas de inmunoterapia epicutánea se observó una modesta respuesta al tratamiento, mayor en niños de 4 a 11 años. En los pacientes tratados se observó un incremento en la IgG_4 y en el cociente IgG_4/IgE para cacahuete, y la mayoría de ellos (80%) presentó reacciones adversas, predominantemente locales y leves.

1.2.6.3.5. Inmunoterapia por vía rectal

En un ensayo clínico, Fase 1, se trataron 10 pacientes, de 18 a 50 años de edad, con alergia a cacahuete utilizando un extracto modificado de cacahuete (160). En él se administró, por vía rectal, una suspensión de un extracto recombinante de Ara h1, Ara h2 y Ara h3 de cacahuete, modificado por sustitución de aminoácidos en los epítopos- IgE mayores y encapsulados en *Escherichia coli* inactivado. Las reacciones adversas llevaron a una finalización anticipada del ensayo. Uno de los pacientes presentó intensos dolores abdominales y otros 4 tuvieron también que interrumpir el tratamiento por reacciones sistémicas anafilácticas, lo que indica que la capacidad de unión de la IgE no se había reducido suficientemente con la modificación realizada.

CAPÍTULO II: JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

II.1. JUSTIFICACIÓN

Como se ha descrito en el capítulo de introducción, la alergia alimentaria constituye en la actualidad un problema importante de salud pública por su prevalencia, que va en aumento, su aparición en los primeros años de vida y la posibilidad de originar cuadros graves de anafilaxia.

El huevo es la causa más frecuente de alergia alimentaria en los niños españoles (3,5), con una incidencia del 0.78 % en los dos primeros años (6).

Dado que las reacciones alérgicas a huevo pueden ser graves (64,161) la evitación estricta del alimento y el tratamiento de las reacciones agudas, que pueden requerir la administración de adrenalina, son la única opción de manejo aceptada en la actualidad (50,162)

La dieta estricta de exclusión de huevo no supone un problema nutricional pero mantiene al paciente en riesgo de reacciones, a veces graves, con su ingestión inadvertida. La dieta de evitación y sobre todo, el miedo a una reacción grave pueden conducir a una alteración significativa en la calidad de vida, con un impacto negativo a nivel emocional, psicológico y social que puede llevar a una limitación de las actividades del niño alérgico y su familia.

Aunque la mayoría de niños alérgicos desarrollan tolerancia de forma natural al huevo antes de los 6 años (14-16), una proporción importante que puede alcanzar el 32% (17), mantiene una alergia

persistente a los 16 años de edad. A partir de los 6 años el niño adquiere más independencia y amplía su círculo de convivencia, con asistencia a nuevas actividades escolares o sociales como excursiones, fiestas de cumpleaños,... lo que supone un reto al encontrarse fuera de la estricta vigilancia de los padres y en un ambiente de riesgo de ingestión inadvertida de huevo, por intercambio de alimentos con otros niños, exposición a nuevos alimentos elaborados que lo contienen, o contaminación de los mismos con huevo.

Estos problemas han conducido a buscar nuevas estrategias terapéuticas. Como recomienda la Guía Europea de Alergia Alimentaria y Anafilaxia (162) es necesario urgentemente disponer de un tratamiento más proactivo para hacer frente a los riesgos para la salud y la carga social asociados a la alergia alimentaria.

La inmunoterapia oral es, en la actualidad, la opción terapéutica más estudiada para la alergia persistente al huevo.

La ITO con huevo induce cambios en el sistema inmune y promueve el desarrollo de un estado de desensibilización en la mayoría de los pacientes, pero existe escasa evidencia acerca de la seguridad y eficacia a largo plazo, lo que hace que sólo siga recomendándose en el ámbito de la investigación (50, 85).

La mayoría de los estudios de ITO con huevo no son aleratorizados, ni controlados e incluyen pocos pacientes, con amplios rangos de edad. La heterogeneidad de los estudios (edad de la población estudiada, diferencias en el diagnóstico, confirmación de la alergia mediante pruebas de exposición doble ciego controladas con placebo, material de huevo utilizado, duración del tratamiento, dosis diana objetivo de la desensibilización, intervalo entre las dosis de mantenimiento), hace difícil elegir el mejor protocolo para su implementación en la práctica clínica.

Con estas premisas, la Sociedad Española de Inmunología Clínica, Alergología y Asma Pediátrica ha patrocinado la realización de este estudio aleatorizado, controlado, multicéntrico, de ITO en niños de 6 a 9 años con alergia persistente al huevo, para valorar y comparar la eficacia y seguridad de varios protocolos de inducción y mantenimiento de ITO con clara de huevo pasteurizada, con el fin de determinar la mejor estrategia y el protocolo más seguro y efectivo para alcanzar la desensibilización total, mantener el estado de desensibilización y conseguir normalizar la dieta.

Con estos objetivos se diseñó un estudio de ITO con clara de huevo, con una gran muestra de pacientes (la mayor entre los publicados hasta la actualidad), con homogeneidad en la edad de los pacientes, con alergia confirmada mediante prueba de exposición doble ciego controlada con placebo y utilizando el mismo material de huevo para alcanzar una dosis final equivalente a un huevo crudo de tamaño medio.

En los estudios controlados publicados hasta la actualidad se ha utilizado huevo entero crudo, huevo entero deshidratado en polvo y clara deshidratada en polvo (83, 95-99,163). Nuestro estudio es el primero en el que se utiliza clara cruda pasteurizada y plantea como objetivo alcanzar, en la fase de inducción, la tolerancia de una dosis de 30 ml equivalente al contenido de un huevo mediano y en el que se utiliza el mismo producto para el tratamiento de mantenimiento.

Conseguir la tolerancia de dosis altas de clara cruda, permite al paciente la toma de huevo sin restricciones culinarias (crudo o cocinado) con mayor seguridad. La clara pasteurizada, al estar comercializada, puede ser utilizada por el paciente para el tratamiento de mantenimiento durante el tiempo necesario y a la dosis adecuada, lo que que permite, a su vez, ajustarla fácilmente a las diversas circunstancias que puedan producirse en el camino hacia la tolerancia permanente.

La inmunoterapia oral con alimentos se inicia con una fase de inducción en la que se realizan incrementos progresivamente crecientes de la dosis del alimento, con el objetivo de conseguir la desensibilización. Ésta consiste en una reducción de la respuesta, o de la reactividad clínica, que permita al paciente tolerar el alimento, siendo lo ideal conseguir la tolerancia de una dosis que posibilite incorporarlo en la dieta, sin restricciones. Pero esta desensibilización es transitoria y se puede perder a los pocos días o semanas de suspender la toma regular del alimento. Por este motivo es necesario que la fase de inducción se siga de una fase de mantenimiento con la toma diaria, o casi diaria del alimento, para mantener el estado de tolerancia hasta lograr la tolerancia permanente o sostenida.

En el tratamiento de mantenimiento se han utilizado diferentes protocolos, desde la administración diaria de las dosis a dos días por semana, y diferentes preparaciones del huevo (crudo o cocinado) que pueden influir en la persistencia de la tolerancia y en su evolución hacia una tolerancia permanente o sostenida (83,95-99,163). El uso de huevo cocinado durante la fase de mantenimiento de la ITO, no implica la tolerancia de presentaciones que contengan huevo crudo durante la misma (68,72)

En este estudio se ha utilizado clara cruda pasteurizada para asegurar la tolerancia del huevo en sus diferentes preparaciones y los pacientes del grupo activo se han distribuido en dos subgrupos, según la secuencia temporal en la administración de la dosis de mantenimiento, con el fin de comprobar si la administración de las dosis, tres días a la semana, es suficiente frente a su administración diaria para mantener la tolerancia de los 30 ml de clara alcanzados durante la fase de inducción.

Como aspecto importante del estudio, además de la seguridad y respuesta clínica al tratamiento, se ha analizado la respuesta

inmunológica mediante la valoración de marcadores inmunológicos (pruebas cutáneas, IgE e IgG4 específicas de huevo) a lo largo del tratamiento. Además, con este trabajo pretendemos demostrar que determinados parámetros clínicos e inmunológicos basales son útiles para predecir el perfil de seguridad del tratamiento. Estos datos pueden ayudar a los clínicos a estratificar los niveles de riesgo antes de iniciar el tratamiento, para seleccionar a aquellos pacientes con alta probabilidad de completar la ITO de forma segura e indicar alternativas (pautas más lentas, premedicación o asociación de tratamiento con omalizumab) en los pacientes con riesgo de fracaso por reacciones adversas. Igualmente puede permitir aportar a los padres y pacientes información personalizada sobre los riesgos del tratamiento antes de decidirse por él.

II.2. HIPÓTESIS

Dados los problemas que produce la dieta de exclusión de huevo, tanto en los niños como en sus familias, con la posibilidad de que se mantenga la reactividad clínica durante años y el riesgo de reacción grave por ingestión accidental, se plantea la hipótesis de que sería posible adelantar la instauración de tolerancia en niños alérgicos al huevo que mantienen reactividad clínica a los 6 años de edad, utilizando una pauta de desensibilización con la administración progresiva de dosis crecientes de clara de huevo (que es la responsable de la sensibilización y reacción alérgica al huevo).

Esta hipótesis se puede formular de forma operativa como sigue:

- *Hipótesis nula*: en la proporción de pacientes que tolera el huevo, no existen diferencias entre los que siguen una pauta de desensibilización con huevo y los que siguen una dieta de exclusión de huevo

$\% \text{ de niños tolerantes con pauta de desensibilización} = \% \text{ de niños tolerantes con dieta de exclusión}$

- *Hipótesis alternativa*: en la proporción de pacientes que tolera el huevo, existen diferencias entre el grupo de pacientes que siguen una pauta de desensibilización y los que llevan una dieta de exclusión de huevo:

$\% \text{ de niños tolerantes con pauta de desensibilización} \neq \% \text{ de niños tolerantes con dieta de exclusión}$

Los resultados de la inmunoterapia oral con huevo podrían estar condicionados por el número de pacientes estudiados, edad de los mismos, intensidad de la respuesta clínica, hallazgos en los tests diagnósticos (prick test, IgE específica o IgG específica), niveles de citoquinas y dosis mínima de respuesta al inicio del tratamiento.

II.3. OBJETIVOS

Primarios

1. Valorar la eficacia y seguridad del tratamiento de la alergia a huevo de gallina, mediada por IgE, mediante la inducción de tolerancia con inmunoterapia oral con clara de huevo pasteurizada.
2. Valorar la eficacia y seguridad de dos pautas diferentes de mantenimiento de la inmunoterapia (diaria *vs* 3 veces/semana), para asegurar la persistencia de la tolerancia.

Secundarios

1. Valorar los parámetros inmunológicos (IgE específica para clara, OVA, OVM e IgG₄ específica para clara), la reactividad cutánea a la clara, ovoalbúmina y ovomucoide y observar sus cambios a lo largo de la ITO
2. Valorar los cambios en los niveles séricos de citocinas IL10, TGF-beta1 (patrón de respuesta de linfocitos T reguladores), IL4 (patrón de respuesta de los linfocitos Th2) e INF gamma (patrón de respuesta de los linfocitos Th1) inducidos por la ITO.
3. Valorar la eficacia y seguridad de la ITO en relación con:
 - la tolerancia basal a huevo cocido.
 - los niveles de basales de IgE específica para clara, OVA y OVM.
 - la dosis umbral en la prueba de PPDC basal.
 - la gravedad de la última reacción clínica.

CAPÍTULO III: MATERIAL Y MÉTODOS

III.1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio clínico controlado, aleatorizado, de cohortes paralelas, multicéntrico, para investigar la eficacia y seguridad de un protocolo de desensibilización a las proteínas de la clara de huevo en niños sensibilizados a las mismas, que acuden a los Servicios / Unidades de Alergología de los Hospitales participantes a partir de la fecha de inicio del estudio, mediante la introducción de dosis diarias progresivas de clara de huevo, durante un mínimo de 16 semanas y con seguimiento de 1 año.

En el momento de la inclusión los niños se aleatorizaron a dieta exenta de huevo o a ITO con clara de huevo pasteurizada, durante 1 año, distribuyéndose en los siguientes grupos:

Grupo Activo, que recibe ITO, con dos subgrupos: *Grupo activo A* que, al alcanzar la desensibilización total (30 ml de clara de huevo pasteurizada), mantienen 30 ml todos los días y *Grupo activo B* que, al alcanzar desensibilización total (30 ml de clara de huevo pasteurizada), mantienen 30 ml a días alternos; *Grupo Control C*, formado por los pacientes que continúan con la dieta habitual de exclusión.

El reclutamiento de los pacientes se ha realizado por muestreo no probabilístico consecutivo, a medida que acudían a las consultas de los diferentes centros durante el periodo de tiempo suficiente para reclutar todos los casos estimados. No se ha planteado una distribución proporcional de pacientes a aportar por los centros participantes, sino

que cada uno incluía aquellos que acudían a sus consultas y cumplían los criterios de inclusión, hasta alcanzar el tamaño total estimado de la muestra.

El estudio ha sido clasificado por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) como "Estudio no observacional sin medicamentos".

III.2. ÁMBITO DEL ESTUDIO

El estudio se ha llevado a cabo en los Servicios/ Unidades de Alergología/ Alergología Pediátrica de 9 Hospitales españoles: Gregorio Marañón (Madrid), Severo Ochoa (Leganés), La Paz (Madrid), General Universitario (Valencia), Althaia-Sant Joan de Deu (Manresa), San Joan de Déu (Barcelona), Carlos Haya (Málaga), De Cruces (Baracaldo), Vall d'Hebron (Barcelona).

III.3. PACIENTES

Niños diagnosticados previamente de alergia al huevo con, al menos, una reacción alérgica por ingestión inadvertida de huevo durante el último año.

III.3.1. Criterios de inclusión:

1. Edad: entre los 5 años (60 meses) y 9 años (108 meses) de edad.
2. Diagnosticados de alergia a huevo mediada por IgE.
3. Historia clínica de reacción adversa al huevo compatible con reacción alérgica de tipo inmediato: manifestaciones cutáneas (urticaria y/o angioedema), digestivas (vómitos y/o diarrea aguda) y/o respiratorias (broncoespasmo y/o rinitis) en las primeras 2 horas tras la ingestión de clara de huevo.
4. Pruebas cutáneas positivas (\geq de 3 mm) e IgE sérica específica $>$ 0,35 KU/l para clara de huevo y ovoalbúmina o ovomucoide.
5. Prueba de provocación oral, controlada, doble ciego, con clara de huevo cocida y/o pasteurizada, con desarrollo de respuesta alérgica inmediata (Anexo I).
6. Firma del consentimiento informado de padres o tutores para llevar a cabo el estudio (Anexo II).
7. Disponibilidad de los padres o tutores para acudir a las visitas programadas para el tratamiento.
8. Nivel de comprensión y cooperación adecuado por parte de los pacientes y los tutores para llevar a cabo el tratamiento.

III.3.2. Criterios de exclusión:

1. Asma no controlada según los criterios de la guía GEMA 2009 (164).
2. Asma en tratamiento con corticosteroides orales o anticuerpos anti IgE.

3. Dermatitis atópica moderada-grave, valorada según la escala SCORAD (165).
4. Padecimiento de enfermedades autoinmunes, psiquiátricas o cardiovasculares graves, que contraindiquen la administración de adrenalina o requieran tratamiento con beta bloqueantes, o síntomas compatibles con esofagitis o reflujo gastroesofágico.
5. Tratamiento de desensibilización para cualquier otro alimento recibido en el último año.
6. Fase inicial de inmunoterapia con aeroalergenos.

El estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital La Paz de Madrid y aceptado por los Comités Éticos de Investigación Clínica de los demás Hospitales participantes.

III.4. PROPUESTA DE TRATAMIENTO DE INMUNOTERAPIA ORAL A LOS PADRES

Tras comprobar que el niño cumplía todos los criterios de inclusión y ninguno de exclusión, el investigador ofrecía a los padres o tutores información escrita sobre el estudio (Anexo II), y les informaba oralmente tratando de resolver cualquier duda sobre los riesgos y beneficios del tratamiento, así como sobre la posibilidad de abandonarlo en cualquier momento. Se les explicaba que, al tratarse de un estudio aleatorizado, los pacientes que finalmente participaran en él, serían aleatorizados para seguir un tratamiento activo de inmunoterapia oral o ser incluidos en el grupo control.

Los padres debían firmar el consentimiento antes de incluir a los niños en el estudio.

III.5. TAMAÑO DE LA MUESTRA

Partiendo de los datos de otros estudios con leche de vaca, el primer objetivo del estudio (determinar la eficacia de la inmunoterapia oral), podría lograrse con un nº reducido de pacientes (menos de 20), con una seguridad del 95% y potencia del 80%. En concreto se podrían alcanzar valores de éxito por encima del 80%, frente a cifras de desensibilización "espontánea" entre los controles de menos de un 5%. Sin embargo, dado que para lograr el segundo objetivo se requería aleatorizar a los individuos adscribiéndolos a dos pautas diferentes de mantenimiento, este nº podría no ser válido. Desafortunadamente, al no existir datos objetivos (bibliográficos o derivados de experiencias previas) que permitan estimar el tamaño muestral idóneo para este segundo objetivo, se planteó abrir una ventana temporal de conveniencia de 1 año, para incluir pacientes. En este período se estimó que podrían reclutarse más de 100 pacientes entre casos y controles con una relación 3:1. De este modo, el primer objetivo quedaba cubierto sobradamente con ese tamaño muestral, dejando un nº de unos 60 (80% de éxito en la desensibilización entre los 76 casos) para distribuirlos aleatoriamente entre las dos pautas de mantenimiento propuestas para lograr el segundo objetivo.

III.6. MATERIAL PARA LA INMUNOTERAPIA ORAL

Se eligió clara pasteurizada (Clara pasteurizada Guillen SL, Paterna, Valencia, España) dado que la gran mayoría de los niños con alergia a huevo, lo son frente a las proteínas de la clara. Estudios previos han demostrado la identidad alérgica "in vitro" e "in vivo" entre la clara de huevo cruda y la clara pasteurizada (166).

III.7. PROCEDIMIENTOS

1. Una vez obtenido el consentimiento, los pacientes incluidos en el estudio se asignaban aleatoriamente a los diferentes grupos de tratamiento activo (ITO), A o B, o al grupo control C (Anexo III).
2. En los pacientes con tratamiento activo se programaban visitas de acuerdo al protocolo de inmunoterapia oral. Los pacientes control se revisaban al año.
3. El tratamiento con inmunoterapia oral se recoge en el anexo IV e incluye dos fases, una inicial de desensibilización (fase de inducción de tolerancia) y posteriormente, una etapa de mantenimiento:
 - a. Durante la fase de inducción el paciente permanece ingresado en régimen de hospital de día, hasta 2 horas después de observar tolerancia a la dosis de ITO administrada, o del completo control de la reacción, en caso de desencadenarse.

En cada visita programada se recogen datos sobre su estado de salud, exploración física, presencia de comorbilidades, aparición de reacciones y grado de control del asma en los pacientes con esta enfermedad.

- b. En cada visita programada el paciente recibe las dosis correspondientes que se administran tras comprobar su perfecto estado de salud, exigiendo, en los asmáticos, valores de FEV1 que, en ningún caso deben ser inferiores al 15% respecto a los teóricos.
- c. Durante los 4 primeros días del protocolo de desensibilización, las dosis se administran a intervalos de 60 minutos y tras ellas el paciente permanece en observación durante, al menos, 2 horas.
- d. A partir de la segunda semana de tratamiento, tras cada visita, se pauta por escrito la dosis que los padres deberán administrar

- cada día en casa, junto con las instrucciones de tratamiento (Anexo V) y una cartilla semanal para la recogida diaria de los síntomas. (Anexo VI).
- e. En caso de que el paciente presentara una reacción adversa, con cualquier dosis, se administra el tratamiento pertinente de forma inmediata. En este caso se mantiene la dosis previamente tolerada a diario, hasta la siguiente visita.
 - f. A partir de la 4^a visita programada, tras comprobar la tolerancia a la cantidad correspondiente, el paciente recibe la misma-dosis en su domicilio, a diario. Su administración se hace siempre bajo la supervisión de uno de los padres o en su caso, del tutor, evitando realizar ejercicio físico intenso en las 4 horas siguientes a la ingestión.
 - g. Los pacientes que toleran la dosis máxima (30 ml de clara de huevo pasteurizada) se considera que han alcanzado la "*desensibilización completa*" y los que toleran una dosis menor, la "*desensibilización parcial*".
 - h. Tras finalizar el protocolo de desensibilización, los niños que alcanzan la desensibilización completa pasan a la fase de mantenimiento, hasta completar un total de 12 meses desde el inicio del tratamiento. Desde entonces pueden comer huevo a voluntad, en cualquier forma. El tratamiento de mantenimiento consiste en 30 ml de clara pasteurizada diaria para los pacientes del grupo activo A y a días alternos para los del grupo activo B.
4. Seguimiento:
- a. Todos los pacientes incluidos en el estudio realizaban 2 visitas programadas:
 - a) Visita de inclusión.
 - b) Visita a los 12 m de la inclusión.

- b. En cada visita se realizaba:
 - a) Valoración clínica: recogida de posibles reacciones y valoración de otros procesos alérgicos.
 - b) Pruebas cutáneas intraepidérmicas (Prueba de puntura o Prick test) dobles, con clara de huevo (10mg/ml, 5mg/ml, 1mg/ml, 0,5mg/ml) (Laboratorios Diater).
 - c) Extracción sanguínea para determinación de parámetros inmunológicos:
 - IgE específica para clara de huevo, ovoalbúmina (OVA) y ovomucoide (OVM) (CAP-FEIA, Pharmacia Diagnostics, Uppsala -Suecia)
 - IgG₄ clara de huevo; citocinas: IL10 y TGF- beta1, IL4, INF-gamma. Dos alicuotas diferentes de 1-2ml para IgG4 y de 1ml para citocinas.
 - d) Comprobación de la tolerancia al huevo mediante provocación oral doble ciego controlada con placebo (Anexo I).
- c. Los pacientes en tratamiento activo realizaban una visita intermedia a los 3 y 6 meses del inicio del mismo, con los mismos tests cutáneos y determinación de parámetros inmunológicos.

En la Tabla 2 se recogen las intervenciones realizadas en cada grupo con su cronología .

Tabla 2. Protocolo de estudio. Grupos activos (A y B) y grupo control (C).

		ITO Fases de Inducción y Mantenimiento Visitas de seguimiento			
	RECLUTAMIENTO y aleatorización	T0	T3	T6	T12
Información y firma del consentimiento	A, B, C				
Valoración clínica	A, B, C	A, B	A, B	A, B	A, B, C
Administración Dosis					
Prick test Exploración funcional respiratoria	A, B, C	A, B	A, B	A, B	A, B, C
sIgE , sIgG4	A, B, C	A, B	A, B	A, B	A, B, C
Diario de trans- gresiones/dosis Reac.iones y tratamiento		A, B, C	A, B,	A, B	A, B, C
Prueba de provocación doble ciego	A, B, C				A, B, C

T0 (inicio); T3, T6, T12 (a los 3, 6 y 12 meses del inicio)

III.8. METODOLOGÍA

III.8.1. Pruebas cutáneas

Mediante la técnica de puntura (prick) se han realizado pruebas intraepidérmicas por duplicado con clara de huevo (10 mg/ml, 5 mg/ml, 1 mg/ml, 0,5 mg/ml) de los Laboratorios Diater, siguiendo las directrices de la Academia Europea de Alergia (167). El control negativo se efectuaba con el disolvente de los extractos (suero fisiológico glicerinado con fenol al 0,4 %) y el control positivo con una solución de histamina (10 mg/ml). La lectura se realizaba a los 15 minutos de la punción.

El resultado se expresa como la semisuma de los diámetros mayor y menor de la pápula en mm. y se valora mediante la técnica de medición a punto final, tomando como variable la dilución que produce una pápula de tamaño 3 mm mayor que el control negativo.

III.8.2. Test "*in vitro*"

- Los niveles de anticuerpos IgE para clara de huevo, ovoalbúmina y ovomucoide y de los anticuerpos IgG4 para clara de huevo en el suero de los pacientes, se han determinado mediante la técnica CAP-FEIA (Pharmacia Diagnostics, Uppsala, Suecia). Se ha considerado positivo, al inicio del estudio, un valor de IgE específica superior a 0,35 KU/l.
- Los niveles de IL10, IL 4, TGF- beta 1 e Interferon-gamma en el suero de los pacientes se han analizado utilizando una técnica de ensayo múltiple mediante citometría de flujo (BD cytometric bead array, human TH1/TH2 cytokine kit; BD Biosciences, San Diego, Calif), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. (168, 169).

III.8.3. Prueba de provocación oral doble ciego:

Se ha seguido la metodología indicada en el anexo I hasta completar la dosis total, o hasta la aparición de manifestaciones clínicas (cutáneas, digestivas o respiratorias) compatibles con alergia de tipo inmediato.

Tras la última dosis, el paciente se mantenía en observación durante dos horas.

Las pruebas de provocación con placebo y con clara de huevo cocida o pasteurizada se realizaron en días diferentes.

La prueba se ha considerado positiva cuando se observaban manifestaciones cutáneas (urticaria, angioedema y/o eritema), digestivas (vómitos y/o diarrea aguda) o respiratorias (broncoespasmo), en las dos horas siguientes a la toma del alimento.

Las pruebas de provocación se han realizado por personal cualificado, siguiendo las recomendaciones de las Academias Europea de Alergia (170) y Americana de Alergia (AAAAI) (171), en ámbito hospitalario y disponiendo de los medios necesarios para el tratamiento adecuado de las reacciones anafilácticas.

III.9. VARIABLES DE ESTUDIO

1. Se ha considerado como variable principal de eficacia la tolerancia de 30 ml de clara de huevo pasteurizada.
2. Para valorar la seguridad se han estudiado las siguientes variables: Aparición de urticaria generalizada, edema facial, vómitos, broncoespasmo, dificultad respiratoria con estridor inspiratorio, e hipotensión en relación con la toma de clara de huevo.

En todas las reacciones se han anotado en el diario de recogida de datos, la fecha, dosis administrada, síntomas y medicación requerida, periodo de latencia y cofactores, la gravedad asignada por el investigador (Anexo VII) y el desenlace.

- 3.- Como factores que podrían influir en el resultado de la tolerancia, se han estudiado las siguientes variables:
 - Tolerancia previa al huevo cocido.
 - Niveles de IgE específica al inicio de la desensibilización.
 - Asociación a alergia a otros alimentos mediada por IgE.
 - Asociación a dermatitis atópica.
 - Asociación a asma (alérgica o no alérgica)
- 4.- Para valorar los cambios inmunológicos se han estudiado las siguientes variables: Pruebas cutáneas con clara de huevo a titulación final, niveles séricos de IgE específica (clara, OVA, OAM), IgG4 específica (clara), IL10, IL 4, TGF- beta1, Interferon-gamma basales y a los 6 y 12 meses del inicio del tratamiento

III.10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Los datos del estudio se han recogido en formato electrónico mediante una tabla de Microsoft Excel (diseñada *ad hoc* para este estudio), a través de la Web de la Sociedad Española de Inmunología Clínica, Alergología y Asma Pediátrica, con clave de acceso restringida a los investigadores.

Los resultados se presentan en forma de tablas y figuras mediante el programa informático Microsoft Word. Para el análisis estadístico se ha utilizado la aplicación estadística SPSS versión 22.

Para realizar el análisis estadístico se han considerado dos poblaciones:

- Población por intención de tratar (IT), definida como todos los pacientes incluidos. El análisis principal se ha basado en la población IT.
- Población por protocolo, definida como la proporción de pacientes de la población IT que cumplen todos los criterios de inclusión y exclusión del protocolo del estudio y alcanzaron desensibilización total (30 ml de clara pasteurizada).

Todos los pacientes que abandonaron el estudio antes de terminar la pauta de desensibilización, sin tener en cuenta el tiempo o el motivo de su retirada, se han considerado como no respondedores.

Para una interpretación adecuada de los resultados, inicialmente se ha realizado un análisis descriptivo de la muestra, proporcionando la distribución de frecuencias de las variables cualitativas; las variables cuantitativas se han analizado mediante las medidas de centralización (media y mediana) y de dispersión (desviación típica y rango intercuartil).

Se ha utilizado la prueba de Shapiro Wilk para muestras de menos de 50 datos, para analizar si los resultados obtenidos para los diferentes parámetros en los grupos A, B y C seguían una distribución normal.

Se ha realizado un análisis comparativo univariante de los parámetros clínicos e inmunológicos, utilizando la prueba apropiada en cada caso (T de *student*, prueba no paramétrica de Mann-Whitney, Chi-cuadrado de Pearson y prueba exacta de Fisher).

Para valorar la eficacia de la ITO se ha utilizado la prueba de Chi-cuadrado de Pearson y prueba exacta de Fisher.

Para analizar los cambios inmunológicos y de la reactividad cutánea inducidos por la ITO se han utilizado las pruebas no paramétricas de Wilcoxon para muestras relacionadas y la prueba Mann-Whitney para muestras independientes en el caso de variables cuantitativas y, en el caso de variables cualitativas, las pruebas de Chi-cuadrado de Pearson, exacta de Fisher y no paramétrica de Friedman para muestras relacionadas.

Para el análisis de factores de riesgo de fracaso de la ITO (tolerancia basal de clara cocida o cruda, niveles basales de IgE específica, gravedad de la última reacción clínica, dosis umbral en la PPDC basal) se ha utilizado la prueba no paramétrica de Mann-Whitney para muestras independientes en el caso de variables cuantitativas y la prueba de Chi-cuadrado de Pearson y prueba exacta de Fisher en el caso de variables cualitativas.

Para analizar la seguridad de la ITO (número de reacciones adversas y su gravedad) en relación con el grupo de tratamiento A o B y su evolución durante los 12 meses de tratamiento, se han utilizado las pruebas no paramétricas de Wilcoxon para muestras relacionadas y la prueba Mann-Whitney para muestras independientes, en el caso de variables cuantitativas y la prueba de Chi-cuadrado de Pearson y prueba exacta de Fisher, en el caso de variables cualitativas.

Para analizar la relación de la gravedad de las reacciones adversas durante la ITO con los niveles de IgE específica basal dosis umbral en la PPDC y gravedad de la última reacción clínica, se ha utilizado la prueba no paramétrica de Mann-Whitney para muestras independientes, en el caso de variables cuantitativas y la prueba de Chi-cuadrado de Pearson y prueba exacta de Fisher, en el caso de variables cualitativas.

Para valorar la rentabilidad diagnóstica de los parámetros clínicos e inmunológicos para predecir el fracaso de la ITO y la aparición de una reacción adversa moderada/grave durante su aplicación, se ha realizado -en primer lugar- la estimación de un modelo de regresión logística binaria simple y, en segundo lugar, se ha planteado un modelo de regresión logística binaria múltiple para identificar aquellas variables que configuran el conjunto óptimo para la predicción.

Para cada uno de los modelos realizados se han proporcionado curvas ROC y una serie de estadísticos para evaluar la validez diagnóstica:

- Área bajo la curva (AUC), para valorar el poder discriminante del modelo y contraste de igualdad $AUC=0,5$.
- Punto de corte óptimo, en el sentido de que presenta el máximo índice de Youden, es decir, la mejor combinación de sensibilidad y especificidad.
- Sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos, razones de verosimilitud positiva y negativa para la regla de predicción basada en ese punto de corte óptimo.

Para el estudio de la correlación entre las variables cuantitativas IgE-clara, IgE-OVA e IgE-OVM se ha utilizado el análisis de correlación de Spearman.

El nivel de significación empleado en los análisis ha sido el 5% ($\alpha=0.05$).

III.11. SEGURO DE RESPONSABILIDAD CIVIL

Se contrató una póliza de seguro de responsabilidad civil, con el fin de cubrir los posibles daños personales causados en los sujetos como consecuencia del estudio, así como los perjuicios económicos derivados directamente de los mismos, de acuerdo con el art. 61 de la ley 29/2006 de 26 de julio de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios y con el art. 8 del Real Decreto 223/2004, de 6 de Febrero, (B.O.E. de 7 de febrero de 2004).

III.12. CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS

Los datos del estudio se han recogido en formato electrónico mediante una tabla de Microsoft Excel (diseñada *ad hoc* para el mismo)) a través de la Web de la Sociedad Española de Inmunología Clínica, Alergología y Asma Pediátrica con clave de acceso restringida a los investigadores.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

IV.1. POBLACIÓN DE ESTUDIO. ANÁLISIS DESCRIPTIVO BASAL

Entre enero de 2011 y mayo de 2012 se reclutaron 101 pacientes (género femenino: 46%), de 5 años (60 meses) a 9 años (108 meses) de edad, que fueron distribuidos de forma aleatoria: 38 pacientes al grupo activo A (mediana de edad: 82 meses, rango intercuartiles (RIC): 72-82,2), 38 pacientes al grupo activo B (mediana de edad: 84 meses, RIC: 71,5-90,5) y 25 pacientes al grupo control C (mediana de edad 75 meses, RIC:61-83,5). No se observaron diferencias significativas entre los tres grupos en relación con la edad (Tabla 3).

La intensidad de la última reacción alérgica con huevo, presentada por los pacientes en el año previo al estudio, fue: grado leve en 44 pacientes (43,5 %), moderado en 42 pacientes (41,5 %) y grave en 15 pacientes (15 %). No se observaron diferencias significativas entre los tres grupos A, B y C en relación con la gravedad (Tabla 3).

Mediante la prueba de SHAPIRO WILK para muestras de menos de 50 datos, se comprobó que los resultados obtenidos para los diferentes parámetros en los grupos A, B y C no seguían una distribución normal, por lo que, como estadísticos descriptivos se consideraron mas adecuados la mediana y rango intercuartiles y para el análisis estadístico de comparaciones entre grupos, las pruebas no paramétricas.

La prueba de provocación doble ciego (PPDC) con clara cocida resultó positiva en 85 pacientes (84 % de la muestra total) con una mediana de 270 mg de proteína (RI: 160 - 600 mg) en la dosis umbral

(Dosis que provoca una respuesta clínica positiva). No se observaron diferencias significativas entre los tres grupos A, B y C en la aparición de respuesta, o en la dosis umbral a la PPDC con clara cocida. (Tabla 3).

En los 16 pacientes con PPDC negativa con clara cocida, la PPDC con clara cruda fue positiva con dosis umbral mediana 440 mg de proteína (RI: 110-700 mg). No se observaron diferencias entre los 3 grupos. (Tabla 3).

Las pruebas cutáneas con clara de huevo resultaron positivas en todos los pacientes incluidos en el estudio con 0,5 mg/ml, la menor concentración del extracto de clara cruda, en el 93 % de los pacientes estudiados.

Los pacientes tenían niveles basales elevados de IgE total, mediana 462 kU/L (RIC: 225-903 kU/L). Con mediana de IgE específica para: clara de huevo 6,80 kU/L (RIC: 2,01-19,80 kU/L), ovoalbúmina (OVA) 3,81 kU/L (RIC: 1,11-9,62 kU/L) y ovomucoide (OVM) 5,53 kU/L (RIC: 1,20-20,42 KU/L); niveles basales de IgG4 para clara de huevo 0,30 mgA/L (RIC: 0,09-1.98 mgA/L). No se observaron diferencias significativas entre los tres grupos A, B y C (Tabla 3).

En resumen, las muestras correspondientes a los tres grupos de pacientes A, B y C resultaron homogéneos en relación con las variables de interés estudiadas

Tabla 3.- Parámetros clínicos e inmunológicos basales

	Grupo A (n= 38)	Grupo B (n=38)	Grupo C (n=25)	Significación p A vs B vs C	Significación p A vs B	Significación p A vs C	Significación p B vs C
Edad (meses)	82 (72-82,2)	84 (71,5-90,5)	75 (61-83,5)		^a 0,799	0,131	0,123
Genero (femenino) (% pacientes)	40 %	47 %	48 %	^b 0,726			
Gravedad clínica	2 (1-2)	2 (1-2)	2(1-2)	^b 0,345			
Grado 1	45%	47 %	36 %				
Grado 2	42%	32 %	56%				
Grado 3	13%	21 %	8%				
PPDC positiva clara cocida (% pacientes)	82 %	82 %	88%	^b 0,501			
PPDC positiva clara cruda (% pacientes)	18 %	18 %	12 %				
PPDC positiva clara cocida (g dosis umbral)	0,495 (0,160-1,175)	0,270 (0,110- 0,550)	0,355 (0,102- 0,577)		^a 0,321	0,268	0,928
PPDC positiva clara cruda (g dosis umbral)	0,275 (0,016- 1,100)	0,440 (0,110- 0,700)	0,275 (0,110- 0,520)		^a 0,615	1,000	0,455
Prick test clara huevo							
0,5 g	92 %	94 %	95 %				
1 g	8 %	3 %	0				
5 g	0	3 %	5 %				
10 g	0	0	0				
IgE total (KU/L)	530 (217-932)	496 (227-981)	410 (203-768)		^a 0,795	0,623	0,396
IgE clara (KU/L)	7,38 (2,10-27,10)	5,85 (1,97-16,60)	8,82 (2,15-18,05)		^a 0,723	0,590	0,444
IgE OVA (KU/L)	3,70 (0,92-16,25)	2,71 (0,94-8,26)	4,04 (2,37-13,40)		^a 0,791	0,883	0,506
IgE OVM (KU/L)	3,35 (1,10-22,92)	5,37 (1,15-16,07)	8,71 (1,42-22,57)		^a 0,655	0,203	0,308
IgG4 clara (mgA/L)	0,47 (0,06-3,05)	0,38 (0,10-1,51)	0,16 (0,06-1,76)		^a 0,780	^a 0,334	^a 0,348

PC: pruebas cutáneas intraepidérmicas. PPDC: prueba de provocación doble ciego frente a placebo.

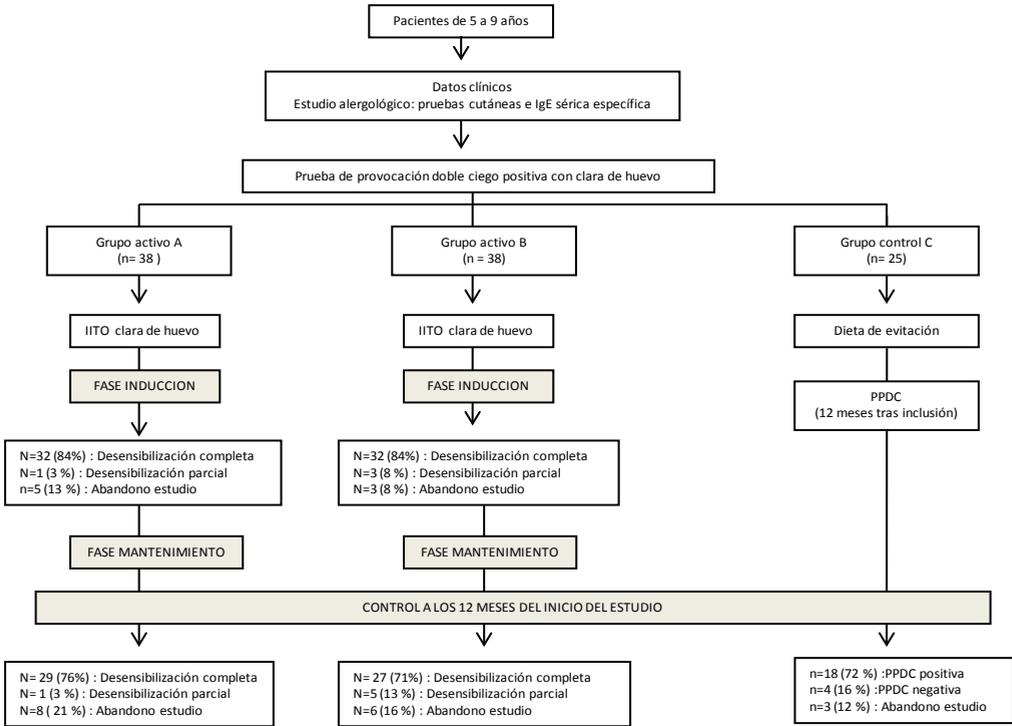
Mediana (Rango intercuartiles)

^a Prueba no paramétrica de Mann-Whitney para muestras independientes. ^b Chi-cuadrado de Pearson y prueba exacta de Fisher

A los valores de IgE específica inferiores a 0,35 (límite inferior de detección de la técnica) se les asigna el valor de 0,34 KU/L

A los valores de IgE específica superiores a 100 (límite superior de detección de la técnica) se les asigna el valor de 101 KU/L

Figura 2.- Diagrama de flujo y resultados de eficacia de la ITO con clara de huevo



IV.2. ANÁLISIS DE EFICACIA

En la Figura 2 se presentan resumidos los resultados de eficacia de la ITO con clara de huevo.

IV.2.1. Eficacia de la ITO en el total de pacientes de los grupos activos A y B

Del total de pacientes que iniciaron la ITO, 64/76 (84%) alcanzaron desensibilización completa (30 ml de clara de huevo pasteurizada): 36 pacientes (56%) en el periodo previsto de 16 semanas y 28 (44 %) en un periodo de inducción variable ajustes de las dosis después de reacciones adversas [10 (16 %) pacientes alcanzaron desensibilización completa entre 16 y 20 semanas; 7 (11%) entre 21 y 24; 4 (6%) entre 25 y 28; 3 (5%) entre 29 y 32; 2 (3%) en 33 y 36 semanas; uno tardó 39 y otro 52 semanas]. Doce pacientes no completaron el tratamiento (4 alcanzaron entre 5 y 15 ml y 8 pacientes se retiraron del estudio por las reacciones adversas que impidieron continuar con el tratamiento).

Cincuenta y seis de los 64 pacientes (88%) que concluyeron con éxito la fase de inducción, completaron 1 año de ITO con el patrón asignado de mantenimiento y pasaron en T12 la PDCPC (30 ml de clara de huevo pasteurizada); el resto, 8 pacientes, no completó el tratamiento.

IV.2.2. Eficacia en el grupo activo A

En la fase de inducción, 32 de los 38 pacientes (84%) del grupo A alcanzaron la desensibilización completa (30ml de clara pasteurizada), 1 paciente (3%) la desensibilización parcial (5 ml) y 5 pacientes (13%) se retiraron del estudio por las reacciones adversas que impidieron continuar con el tratamiento.

Veintinueve de los 32 pacientes (91%) del grupo A que concluyeron con éxito la fase de inducción, completaron 1 año de ITO con el

patrón asignado de mantenimiento (30 ml de clara pasteurizada al día) y pasaron en T12 la PDCPC (30 ml de clara de huevo pasteurizada); el resto, 3 pacientes abandonó el tratamiento)

IV.2.3. Eficacia en el grupo activo B

En la fase de inducción 32 de los 38 pacientes (84%) del grupo B, alcanzaron la desensibilización completa (30 ml de clara pasteurizada); 3 (8%) la desensibilización parcial (5-15 ml) y los otros 3 (8 %) se retiraron del estudio por las reacciones adversas que impidieron continuar con el tratamiento.

Veintisiete de los 32 pacientes (84%) del grupo B que concluyeron con éxito la fase de inducción, completaron 1 año de ITO con el patrón asignado de mantenimiento (30 ml de clara pasteurizada a días alternos) y pasaron en T12 la PDCPC (30 ml de clara de huevo pasteurizada); el resto, 5 pacientes, no completó el tratamiento (2 alcanzaron 15 ml y 3 pacientes abandonaron el tratamiento)

IV.2.4. Evolución del grupo control C (T0-T12):

En T12, 3 de los 25 pacientes (12 %) del grupo C, habían abandonado el estudio (uno por cambio de domicilio, uno por rechazo de la PPDC debido a reacción alérgica 2 meses antes de T12 y otro por no cumplir el protocolo). Tras 12 meses de dieta de evitación 4 de los 22 pacientes (18.18%) del grupo C que completaron el estudio habían alcanzado la desensibilización completa y no mostraron reacción en la PPDC (30 ml de clara de huevo pasteurizada) y el resto, 18 pacientes (81.81 %) mantenía su alergia al huevo y desarrolló reacción alérgica en la PPDC con menos de 30 ml de clara de huevo pasteurizada.

IV.2.5. Valoración de la eficacia de la ITO frente a la dieta de evitación a los 12 meses de seguimiento:

En el análisis por intención de tratar, a los 12 meses de seguimiento desde el inicio de la ITO, 74 % de los pacientes de los grupos activos A y B, mantenían la desensibilización completa frente al 28 % de los pacientes del grupo control que habían adquirido tolerancia natural en el mismo periodo de tiempo (Chi cuadrado de Pearson y prueba exacta de Fisher, $p: < 0.001$) con una OR de 7,2 (95 % CI: 2,6-19,7) y un NNT: 2,2. Es decir que la ITO ofrece 7,2 veces más probabilidad de tolerar la clara de huevo a los 12 meses de seguimiento que la ausencia de este tratamiento.

IV.2.6. Valoración de la eficacia de la ITO a los 12 meses de seguimiento en los grupos activos A y B:

En el análisis por intención de tratar a los 12 meses de seguimiento, no hay diferencia significativa, entre los grupos A y B, en el porcentaje de pacientes con desensibilización completa (Chi cuadrado de Pearson y prueba exacta de Fisher, $p: 0,602$), ni en el porcentaje de pacientes con desensibilización completa en la fase de inducción que la pierden durante la fase de mantenimiento (Chi cuadrado de Pearson y prueba exacta de Fisher, $p: 0,450$).

En resumen, las dos pautas de mantenimiento establecidas para los grupos A y B se mostraron igualmente eficaces.

IV.3. ANÁLISIS DE LOS CAMBIOS INMUNOLÓGICOS Y REACTIVIDAD CUTÁNEA INDUCIDOS POR LA ITO.

IV.3.1. Evolución de los parámetros inmunológicos

En nuestro estudio se observa una disminución significativa de los niveles séricos de IgE específica para clara, OVA y OVM a los 12 meses en relación con el nivel basal, en los pacientes de los grupos activos A y B (Tabla 4).

En el grupo control C sólo se observan cambios significativos de los niveles séricos de IgE específica para OVA a los 12 meses en relación con el nivel basal y no se observa una disminución significativa de los niveles séricos de IgE específica para clara y OVM (Tabla 4). Aunque hay una disminución en los niveles de IgE específica para OVA en el grupo control a los 12 meses de seguimiento, este descenso es inferior al observado en los pacientes de los grupos activos A y B (Tabla 5).

Se observó un aumento significativo en los niveles de IgG4 frente a clara de huevo a los 12 meses de tratamiento en relación con el nivel basal, en los grupos activos A y B (Tabla 4) y no se evidenciaron cambios en los pacientes del grupo control C (Tabla 4).

Tabla 4.- Niveles de IgE sérica específica para clara, OVA, OVM y de IgG4 a clara de huevo basales y a los 12 meses de seguimiento.

	IgE clara (KU/L)	IgE OVA (KU/L)	IgE OVM (KU/L)	IgG4 clara (mgA/L)
Basal grupo A	7,38 (2,10-27,10)	3,70 (0,92-16,25)	3,35 (1,10-22,92)	0,47 (0,06-3,05)
Basal grupo B	5,85 (1,97-16,60)	2,71 (0,94-8,26)	5,37 (1,15-16,07)	0,38 (0,10-1,51)
Basal grupo C	8,82 (2,15-18,05)	4,04 (2,37-13,40)	8,71 (1,42-22,57)	0,16 (0,06-1,76)
12 meses grupo A	1,42 (0,68-4,38)	1,19 (0,47-2,83)	0,84 (0,37-3,52)	31,00 (10,50-31,00)
12 meses grupo B	2,41 (1,11-5,18)	1,02 (0,40-4,16)	1,52 (0,34-3,07)	16,15 (6,63-23,82)
12 meses grupo C	9,26 (2,19-42,35)	2,92 (1,47-13,20)	6,63 (1,25-21,85)	0,95 (0,12-1,95)
Significación valor p basal-12 mes Grupo A	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Significación valor p basal-12 mes Grupo B	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Significación valor p basal-12 mes Grupo C	0,339	0,005	0,19	0,878

Mediana (RIC)

Prueba no paramétrica de WILCOXON para muestras relacionadas (variables cuantitativas)

Tabla 5.- Niveles de IgE sérica específica para OVA a los 12 meses.

	12 meses grupo A	12 meses grupo B	12 meses grupo C	Significación valor p Grupo A vs C	Significación valor p Grupo B vs C	Significación valor p Grupo A vs B
IgE OVA (KU/L)	1,19 (0,47-2,83)	1,02 (0,40-4,16)	2,92 (1,47-13,20)	0,011	0,016	0,963

Mediana (RIC)

Prueba no paramétrica de Mann-Whitney para muestras independientes

IV.3.2. Cambios en la reactividad cutánea (titulación a punto final)

En relación con los cambios en la reactividad cutánea mediante la valoración de la titulación a punto final (Tabla 6), se observó una reducción en la reactividad cutánea con aumento de la concentración necesaria de clara para producir un resultado positivo, en los grupos A ($p: < 0.001$) y B ($p:<0.001$), pero sin cambios en el grupo C ($p:0.564$) (Prueba no paramétrica de FRIEDMAN para muestras relacionadas (variables cualitativas)). No se observaron diferencias significativas en la titulación a punto final a los 12 meses, entre los grupos A y B ($p: 0.140$) (Prueba de Chi cuadrado de Pearson).

Tabla 6.- Reactividad cutánea basal y a los 12 meses

PC clara (titulación punto final)	Basal grupo A	Basal grupo B	Basal grupo C	12 meses grupo A	12 meses grupo B	12 meses grupo C
0,5 g	92 %	94 %	95 %	19 %	30 %	86 %
1 g	8 %	3 %	0	22 %	12 %	9 %
5 g	0	3 %	5 %	16 %	37 %	5 %
10 g	0	0	0	9 %	6 %	0
negativa	0	0	0	34 %	15 %	0

PC: prueba cutánea intraepidérmica.

IV. 4. FACTORES ASOCIADOS CON EL DESARROLLO DE TOLERANCIA EN EL GRUPO CONTROL

En T12, los 4 pacientes del grupo C que habían evolucionado espontáneamente a tolerancia con dieta exenta de huevo, no mostraban cambios significativos en los niveles de IgE específica (clara de huevo [p: 0,715], OVA [p: 0,414], OVM [p:0,715], y de IgG4 para clara de huevo [p: 0,655]) en relación con los niveles basales. [Prueba no paramétrica de WILCOXON para muestras relacionadas (variables cuantitativas)], Sin embargo, estos pacientes tenían niveles basales mas bajos de IgE específica (clara de huevo [p= 0,009], OVA [p:0,000] , OVM [p: 0,012]) que los pacientes en los que persistía la alergia. (Prueba no paramétrica de Mann-Whitney para muestras independientes)

IV.5. ANÁLISIS DE FACTORES DE RIESGO DE FRACASO DE LA ITO

IV.5.1. Relación del fracaso de la ITO a los 12 meses de seguimiento, con la tolerancia basal de clara cocida.

Análisis para valorar si la ITO fue más eficaz en los pacientes con prueba de provocación basal negativa con clara cocida:

De los 62 niños con PPDC positiva con clara cocida: 44 (71 %) toleraron y 18 (29 %) no toleraron 30 ml de clara CRUDA PASTEURIZADA a los 12 meses.

De los 14 con PPDC negativa con clara cocida y positiva con clara cruda: 12 (86 %) toleraron y 2 (14 %) no toleraron 30 ml de clara cruda pasteurizada a los 12 meses.

De los tolerantes a los 12 meses, 79 % habían presentado una PPDC positiva con clara cocida y 21 % con clara cruda. De los no tolerantes a los 12 meses, 90 % habían presentado una PPDC positiva con clara cocida y 10% con clara cruda. No se observaron diferencias significativas (Chi cuadrado de Pearson y prueba exacta de Fisher, p: 0,258).

En resumen, en nuestro estudio no se observa que la eficacia de la ITO sea superior en los pacientes con tolerancia basal para clara cocida.

IV.5.2. Relación del éxito de la ITO a los 12 meses de seguimiento con los niveles basales de IgE específica

La tabla 7 muestra la distribución de los niveles basales de IgE específica para clara, OVA y OVM en relación con el éxito o fracaso de la ITO.

Tabla 7.- Distribución de los niveles basales de IgE sérica específica para clara, OVA, OVM en relación con el éxito o fracaso de la ITO

	Exito ITO	Fracaso ITO	Significación valor p
IgE clara (KU/L)	3,99(1,56-11,20)	23,85 (7,32-43,70)	< 0,001
IgE OVA (KU/L)	2,24 (0,84-7,32)	11,60 (2,88-28,20)	0,002
IgE OVM (KU/L)	2,20 (0,80-9,70)	19,60 (5,29-43,50)	< 0,001

Mediana (Rango intercuartiles)

Prueba no paramétrica de Mann-Whitney para muestras independientes

Se observan niveles basales más bajos de IgE específica para clara, OVA y OVM en los pacientes que finalizaron con éxito la ITO (Tabla 7).

IV.5.3. Relación del éxito de la ITO, a los 12 meses de seguimiento, con la gravedad de la última reacción clínica.

La tabla 8 muestra la distribución de la gravedad clínica en relación con el éxito o fracaso de la ITO. No se observa relación entre la gravedad de la última reacción antes de iniciar la ITO y el éxito o fracaso de la ITO.

Tabla 8.- Distribución de la gravedad de la última reacción clínica en relación con el éxito o fracaso de la ITO

	Exito ITO	Fracaso ITO
Porcentaje de pacientes con clínica leve	46 %	45 %
Porcentaje de pacientes con clínica moderada-grave	54 %	55 %

Prueba Chi-cuadrado de Pearson y prueba exacta de Fisher: p=0,913

IV.5.4. Relación del éxito de la ITO a los 12 meses de seguimiento con la dosis umbral en la PPDC basal con clara cocida o cruda

La tabla 9 muestra la distribución de la dosis umbral de la PPDC basal con clara cocida o cruda en relación con el éxito o fracaso de la ITO.

No se observan diferencias en la dosis umbral de la PPDC entre los pacientes que completaron o no con éxito la ITO.

Tabla 9. Distribución de la dosis umbral de la PPDC basal con clara cocida o cruda en relación con el éxito o fracaso de la ITO

	Exito ITO	Fracaso ITO	Significación valor p
Dosis umbral PPDC (g)	0,440 (0,160-0,880)	0,250 (0,080-0,550)	0,148

Mediana (Rango intercuartiles)

Prueba no paramétrica de Mann-Whitney para muestras independientes

En resumen, los niveles séricos basales de IgE específica para clara, OVA y OVM pueden ser un factor de riesgo de fracaso de la ITO.

IV.6. SEGURIDAD DE LA ITO

Un 81% de los pacientes de los grupos activos desarrollaron reacciones alérgicas con la ITO frente a un 27% de los pacientes del grupo control que tuvieron reacciones por exposición inadvertida o accidental. El 4,9% del total de las dosis administradas (420/8448) desencadenaron reacciones alérgicas, 84 % de ellas durante la fase de inducción. La mayoría (76%) fueron calificadas como leves, el 22% moderadas y 2% graves. Estas últimas afectaron a 7 pacientes, (5 durante la fase de inducción y 2 en la de mantenimiento) y todas se acompañaron de broncoespasmo. Seis de los pacientes con reacciones graves recibieron tratamiento con adrenalina y, en 5 de ellos se ~~tuvo que~~ suspendió la ITO. Durante el periodo de ITO 7 pacientes (9%) fueron tratados con adrenalina: 6 por reacciones calificadas como graves y acompañadas de broncoespasmo y uno por dos reacciones calificadas como moderadas (3 pacientes recibieron una dosis, 2 precisaron adrenalina en 2 ocasiones y 2 en 3). Ningún paciente presentó edema laríngeo, hipotensión, shock anafiláctico, o esofagitis eosinofílica.

En las tablas 10, 11 y 12 se recoge el número de reacciones adversas por paciente y los porcentajes en relación con la gravedad durante las fases de inducción y de mantenimiento y el periodo entre los 6 y 12 meses de ITO. Este periodo de tiempo se ha considerado idóneo para analizar, de forma más homogénea, la evolución de las posibles reacciones adversas, teniendo en cuenta que los periodos individuales de la fase de mantenimiento son muy variables.

**Tabla 10. Reacciones adversas (RA)
durante la fase de inducción en los grupos A y B**

	Grupos A y B	Grupo A	Grupo B	Significación valor p A vs B
Nº Reacciones por paciente	3 (1-7)	2 (1-7)	3 (1-7,7)	*0,942
Porcentaje de pacientes con ausencia de RA	19 %	16 %	22 %	
Porcentaje de pacientes con RA leves	48 %	46 %	50 %	
Porcentaje de pacientes con RA moderadas	26 %	35 %	17 %	
Porcentaje de pacientes con RA graves	7 %	3 %	11 %	

Mediana (Rango intercuartiles)

*Prueba no paramétrica de Mann-Whitney para muestras independientes

Tabla 11. Reacciones adversas (RA) durante la fase de mantenimiento de la ITO en los grupos A y B

	Grupos A y B	Grupo A	Grupo B	Significación valor p
Nº Reacciones por paciente	0 (0-3)	0 (0-1)	0 (0-5,5)	*0,05
Porcentaje de pacientes con ausencia de RA	62 %	72 %	53 %	
Porcentaje de pacientes con RA leves	22 %	22 %	22 %	
Porcentaje de pacientes con RA moderadas	11 %	6 %	16 %	
Porcentaje de pacientes con RA graves	5 %	0 %	9 %	

Mediana (Rango intercuartiles)

*Prueba no paramétrica de Mann-Whitney para muestras independientes

Tabla 12. Reacciones adversas (RA) desde los 6 a los 12 meses desde el inicio de la ITO en los grupos A y B

	Grupos A y B	Grupo A	Grupo B	Significación valor p
Nº Reacciones por paciente	0 (0-2)	0 (0-2)	1 (0-5)	*0,054
Porcentaje de pacientes con ausencia de RA	69 %	78 %	59 %	
Porcentaje de pacientes con RA leves	18 %	13 %	23 %	
Porcentaje de pacientes con RA moderadas	10 %	9 %	12 %	
Porcentaje de pacientes con RA graves	3 %	0 %	6 %	

Mediana (Rango intercuartiles)

*Prueba no paramétrica de Mann-Whitney para muestras independientes

No se observan diferencias significativas en los porcentajes de gravedad de las reacciones adversas entre los grupos A y B, ni en la fase de inducción (p: 0,201), ni en la de mantenimiento (p: 0,175) ni en el periodo de 6 a 12 meses desde el inicio de la ITO (p:0,296) (Prueba Chi-cuadrado de Pearson y prueba exacta de Fisher), lo que indica que no se produce un incremento en la gravedad de las reacciones adversas al reducir a 3 días por semana las dosis de mantenimiento en el grupo B, frente a la administración diaria en el grupo A.

En la tabla 13 y 14 se recoge la evolución de la frecuencia y gravedad de las reacciones adversas en los diversos periodos de tratamiento. Entre 0-3 y 3-6 meses estas reacciones disminuyen significativamente

tanto en número como en gravedad ($p=0,005$). Esta disminución también se produce entre los 3-6 y 6-12 meses, con una tendencia bastante fuerte, pero sin suficiente evidencia estadística ($p=0,063$).

En resumen, durante la ITO se presentan con frecuencia reacciones adversas, generalmente de carácter leve y que se van reduciendo en frecuencia y gravedad a lo largo del periodo de tratamiento.

Tabla 13. Evolución en el número de reacciones adversas a lo largo de los 12 meses de tratamiento

Periodo de tratamiento	Número de reacciones adversas por paciente	Significación valor p
Inicio a 3 meses	3 (1-6)	
Desde lo 3 a los 6 meses	0 (0-3)	*3 meses vs 3 a 6 meses p: 0,002
Desde los 6 a los 12 meses	0 (0-2)	*3 a 6 meses vs 6 a 12 meses p: 0,021

Mediana (Rango intercuartiles)

*Prueba no paramétrica de WILCOXON para muestras relacionadas (variables cuantitativas)

Tabla 14. Evolución en el porcentaje y gravedad de las reacciones adversas a lo largo de los 12 meses de tratamiento

	0 a 3 meses de tratamiento	3 a 6 meses de tratamiento	6 a 12 meses de tratamiento	0 a 3 vs. 3 a 6 m Significación valor p	3 a 6 vs. 6 a 12 m Significación valor p
Porcentaje de pacientes con ausencia de RA	22 %	54 %	68 %	*0,005	*0,063
Porcentaje de pacientes con RA leves	50 %	28 %	18 %		
Porcentaje de pacientes con RA moderadas	24 %	12 %	11 %		
Porcentaje de pacientes con RA graves	4 %	6 %	3 %		

*Prueba no paramétrica de WILCOXON para muestras relacionadas (variables cuantitativas)

IV.7. ANALISIS DE LOS FACTORES DE RIESGO DE REACCION ADVERSA DURANTE LA ITO

IV. 7.1. Relación de la gravedad de las reacciones adversas durante la ITO con los niveles de IgE específica basal.

En las Tablas 17 y 18 se presenta la distribución de los niveles de IgE sérica específica en relación con la ausencia de reacciones; con la presencia de reacciones leves, moderadas o graves durante la fase de inducción de la ITO (Tabla 15) y a lo largo de los 12 meses de tratamiento (Tabla 16). Los pacientes que presentaron reacciones adversas moderadas/graves durante la fase de inducción de la ITO y a lo largo de los 12 meses de tratamiento, tenían niveles séricos basales de IgE específica para clara, OVA y OVM, mas elevados.

Tabla 15. Niveles de IgE específica en relación con la gravedad de las reacciones adversas durante la fase de inducción de la ITO

	Pacientes con reacciones leves o ausentes	Pacientes con reacciones moderadas o graves	Significación valor p
IgE clara (KU/L)	4,16 (1,57-10,91)	15,95 (3,98-41,52)	0,005
IgE OVA (KU/L)	1,91 (0,64-5,88)	7,36 (2,50-28,27)	0,001
IgE OVM (KU/L)	2,12 (0,73-9,11)	16,05 (2,34-41,35)	0,002

Mediana (Rango intercuartiles)

Prueba no paramétrica de Mann-Whitney para muestras independientes

Tabla 16. Niveles de IgE específica en relación con la gravedad de las reacciones adversas a lo largo de los 12 meses desde inicio de la ITO

	Pacientes con reacciones leves o ausentes	Pacientes con reacciones moderadas o graves	Significación valor p
IgE clara (KU/L)	4,26 (1,20-11,50)	11,20 (2,77-38-65)	0,011
IgE OVA (KU/L)	2,00 (0,61-5,79)	6,58 (1,93-27,85)	0,002
IgE OVM (KU/L)	2,12 (0,71-7,93)	9,05 (1,63-38,25)	0,006

Mediana (Rango intercuartiles)

Prueba no paramétrica de Mann-Whitney para muestras independientes

IV.7.2. Relación de la gravedad de las reacciones adversas durante la ITO con la dosis umbral en la PPDC basal.

En las Tablas 17 y 18 se presenta la distribución de la dosis umbral de la PPDC basal en relación con la ausencia de reacciones; con la presencia de reacciones leves, moderadas o graves durante la fase de inducción de la ITO (Tabla 17) y a lo largo de los 12 meses de tratamiento (Tabla 18). No se observan diferencias significativas en la dosis umbral de la PPDC basal entre los pacientes con reacciones adversas leves o ausentes y los pacientes con reacciones adversas moderadas o graves.

Tabla 17. Dosis umbral de la PPDC basal con clara cocida y cruda en relación con la gravedad de las reacciones adversas durante la fase de inducción de la ITO

	Pacientes con reacciones leves o ausentes	Pacientes con reacciones moderadas o graves	Significación valor p
Dosis umbral PPDC (g)	0,440 (0,135-1,100)	0,300 (0,205-0,585)	0,713

Mediana (Rango intercuartiles)

Prueba no paramétrica de Mann-Whitney para muestras independientes

Tabla 18. Dosis umbral de la PPDC basal con clara cocida y cruda en relación con la gravedad de las reacciones adversas a lo largo de los 12 meses desde inicio de la ITO

	Pacientes con reacciones leves o ausentes	Pacientes con reacciones moderadas o graves	Significación valor p
Dosis umbral PPDC (g)	0,440 (0,160-1,100)	0,300 (0,175-0,572)	0,604

Mediana (Rango intercuartiles)

Prueba no paramétrica de Mann-Whitney para muestras independientes

IV.7.3. Relación de la gravedad de las reacciones adversas durante la ITO con la gravedad de la última reacción clínica

En las Tablas 19, 20 y 21 se presenta la distribución del porcentaje de pacientes con ausencia de reacciones y con reacciones leves, moderadas o graves, durante la fase de inducción de la ITO (Tabla 19), durante el periodo de 6 a 12 meses (Tabla 20) de tratamiento y a lo largo de los 12 meses de tratamiento (Tabla 21), en relación con la gravedad de la última reacción clínica (clasificada como leve y moderada, o grave).

Se observa un mayor porcentaje de reacciones adversas moderadas o graves durante la fase de inducción en los pacientes que habían presentado clínica moderada o grave en la última reacción ($p= 0,027$). No se aprecian diferencias en el porcentaje de niños con reacciones adversas, moderadas o graves, durante los 6 a 12 meses ($p= 0,484$), ni a lo largo de los 12 meses ($p= 0,156$) desde inicio de la ITO, en los que habían presentado clínica moderada o grave en la última reacción, respecto a los que habían presentado clínica leve.

Tabla 19. Gravedad de las reacciones adversas durante la fase de inducción de la ITO en relación con la gravedad de la última reacción clínica

	Pacientes con última reacción clínica leve	Pacientes con última reacción clínica moderada o grave
Porcentaje de pacientes con reacciones leves o ausentes	81 %	56 %
Porcentaje de pacientes con reacciones moderadas o graves	19 %	44 %

Prueba Chi-cuadrado de Pearson y prueba exacta de Fisher: $p=0,027$

Tabla 20. Gravedad de las reacciones adversas durante el periodo de 6 a 12 meses de la ITO en relación con la gravedad de la última reacción clínica

	Pacientes con última reacción clínica leve	Pacientes con última reacción clínica moderada o grave
Porcentaje de pacientes con reacciones leves o ausentes	90 %	83 %
Porcentaje de pacientes con reacciones moderadas o graves	10 %	17 %

Prueba Chi-cuadrado de Pearson y prueba exacta de Fisher: $p= 0,484$

Tabla 21. Gravedad de las reacciones adversas a lo largo de los 12 meses desde inicio de la ITO en relación con la gravedad de la última reacción clínica

	Pacientes con última reacción clínica leve	Pacientes con última reacción clínica moderada o grave
Porcentaje de pacientes con reacciones leves o ausentes	69 %	51 %
Porcentaje de pacientes con reacciones moderadas o graves	31 %	49 %

Prueba Chi-cuadrado de Pearson y prueba exacta de Fisher: p= 0,156

En resumen, los niveles séricos basales de IgE específica para clara, OVA y OVM pueden ser un factor de riesgo de reacción adversa moderada o grave en la ITO y la clínica moderada o grave en la última reacción, antes de iniciar la ITO, puede ser un factor de riesgo de reacción adversa moderada o grave durante la fase de inducción de la misma.

IV. 8.- ESTUDIO DEL VALOR PREDICTIVO DE LOS FACTORES DE RIESGO DE FRACASO DE LA ITO

IV. 8.1.- Rentabilidad diagnóstica de los niveles séricos de IgE específica basal para clara, OVA y OVM, para predecir el fracaso de la ITO.

IV. 8.1.1. En la fase de inducción de la ITO

Se han descrito 12 fracasos, en el total de 76 pacientes de los grupos tratados. En los modelos de regresión logística se considera el fracaso como un 'evento', es decir, se investigan los factores de riesgo que influyen sobre la probabilidad de fracaso.

Modelo de regresión logística binaria simple

El *modelo de regresión logística binaria simple* mostraba que los niveles basales de IgE específica para clara, OVA y OVM ejercen una influencia significativa sobre la probabilidad de fracaso (Tabla 22).

Tabla 22. Asociación entre el resultado de la fase de inducción y cada una de las variables inmunológicas basales: modelos de regresión logística binaria simple con variable dependiente probabilidad de fracaso. Odds ratio (OR) e IC95%.

	B	E.T.	Wald	gl	p	OR	I.C. 95,0% OR	
							Inferior	Superior
IgE clara	0,047	0,015	10,23	1	0,001	1,048	1,018	1,078
IgE OVA	0,043	0,016	7,445	1	0,006	1,044	1,012	1,076
IgE OVM	0,045	0,014	10,768	1	0,001	1,046	1,018	1,075

B: coeficiente beta del modelo de regresión; E.T.: error estándar del coeficiente B;
Wald: valor exacto del estadístico Chi2 de Wald

Cada incremento en 1 kU/L de la IgE específica para clara de huevo, eleva el riesgo de fracaso de la ITO un 4,8% ($p = 0,001$); para la IgE específica a OVA un 4,4% ($p: 0,006$) y el mismo incremento unitario para la IgE específica a OVM lo hace en un 4,6% ($p: 0,001$).

El análisis de las curvas ROC muestra la rentabilidad diagnóstica de las pruebas inmunológicas (IgE específica clara, OVA y OVM) en relación con el fracaso en la fase de inducción de la ITO. (Figura 3).

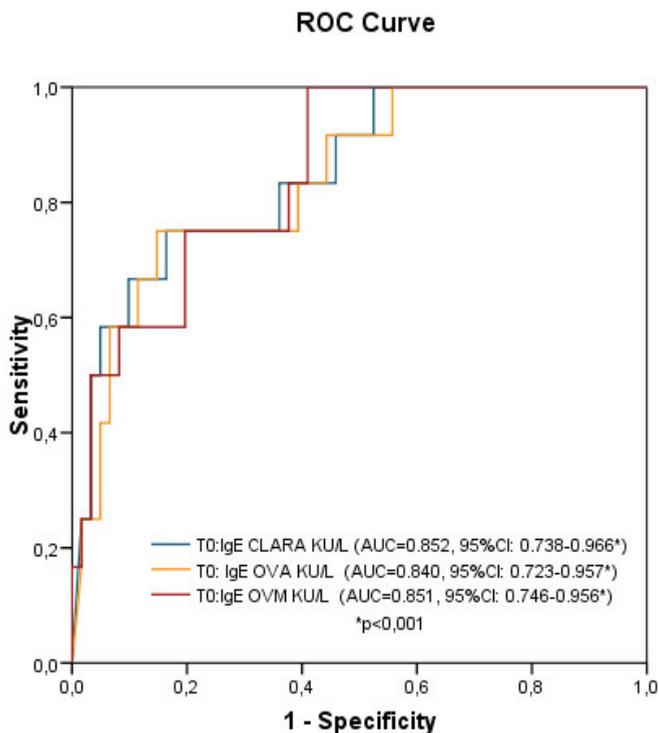


Figura 3. Análisis de la curva ROC mostrando la rentabilidad diagnóstica de las pruebas inmunológicas (IgE específica clara, OVA y OVM) en relación con el fracaso de la ITO en la fase de inducción.

La IgE-clara, IgE-OVA e IgE-OVM mostraron una buena capacidad discriminante global para predecir el fracaso en la fase de inducción de la ITO con un AUC similar (AUC: 0.852, 0.840 y 0.851 respectivamente, $p < 0.001$). Entre estos tres parámetros, la IgE-OVA tiene un mayor índice de Youden (0,602) para el punto de corte de 9,63 kU/L (Tabla 23), con una sensibilidad del 75% y una especificidad del 85%. Los pacientes con niveles de IgE-OVA inferiores a 9,63 kU/L tienen una probabilidad del 94 % de éxito en la fase de inducción de la ITO. El VPP es bajo: los pacientes con niveles de IgE-OVA superiores a 9,63 kU/L tienen una probabilidad del 33 % de fracaso en la fase de inducción de la ITO.

La IgE-clara para el punto de corte de 19,3 kU/L tiene una sensibilidad (75%) y especificidad (82,5 %) similar. Los pacientes con niveles de IgE-clara inferiores a 19,3 kU/L tienen una probabilidad del 95% de éxito en la fase de inducción de la ITO. El VPP es un poco mas alto que el observado para la IgE OVA: Los pacientes con niveles de IgE-clara superiores a 19,3 kU/L tienen una probabilidad del 45% de fracaso en la fase de inducción de la ITO.

Tabla 23. Validez diagnóstica de las variables inmunológicas basales en la predicción del resultado de la fase de inducción: resumen resultados análisis ROC.

	IgE clara	IgE OVA	IgE OVM
AUC (95% CI)	0,852 (0,738 – 0,966)	0,840 (0,723 – 0,957)	0,851 (0,746 – 0,956)
Optimal cut-off a	19,3 kU/L	9,63 kU/L	5,13 kU/L
Sensitivity (%)	75,0%	75,0%	100%
Specificity (%)	83,6%	85,2%	59,0%
Youden 's index	0,586	0,602	0,590
PPV	45,0%	33,3%	28,1%
NPV	94,5%	93,9%	92,9%
PLR	4,570	5,083	2,440
NLR	0,103	0,120	-0,694

^abasado en el índice de Youden (S+E-1). PPV: Valor predictivo positivo.

NPV: Valor predictivo negativo. PLR: Razón verosimilitud positiva

NLR: Razón verosimilitud negativa

Modelo de regresión logística binaria múltiple

El coeficiente de correlación de Spearman concluye un grado alto de correlación entre la IgE clara/OVA, IgE clara/OVM e IgE OVA/OVM ($r=0,842$, $r=0,764$ y $r=0,773$ respectivamente).

El modelo de regresión múltiple selecciona la IgE-clara como la más predictiva (Tabla 24).

Tabla 24. Asociación entre resultado de la fase de inducción y variables inmunológicas basales: modelo de regresión logística binaria múltiple con variable dependiente "probabilidad de fracaso" y método backward para la introducción de variables. Odds ratio (OR) e IC95%.

	B	E.T.	Wald	gl	p	OR	I.C. 95,0% OR	
							Inferior	Superior
IgE clara	0,046	0,015	10,096	1	0,001	1,048	1,018	1,078
Constante	-2,660	0,499	28,377	1	0,000	0,070		

B: coeficiente beta del modelo de regresión; E.T.: error estándar del coeficiente B; Wald: valor exacto del estadístico Chi2 de Wald

La ecuación del modelo obtenido puede expresarse como:

$$\frac{p}{1-p} = 0,070 \cdot 1,048^{IgE\text{ clara}} \quad (\text{siendo } p \text{ la probabilidad de fracaso})$$

Si llamamos R al valor de la expresión $0,070 \times 1,048^{IgE\text{ clara}}$ podemos despejar p y resulta:

$$p = R: (1+R)$$

IV. 8.1.2. A los 12 meses de tratamiento de ITO

Se han descrito 20 fracasos por intención de tratar en el total de los 76 pacientes de los grupos tratados. En los modelos se considera el fracaso como 'evento', es decir, se investigan los factores de riesgo que influyen sobre la probabilidad de fracaso.

Modelo de regresión logística binaria simple

El modelo de regresión logística binaria simple mostraba que los niveles basales de IgE específica para clara, OVA y OVM ejercen una influencia significativa sobre la probabilidad de fracaso (Tabla 25).

Tabla 25. Asociación entre el resultado a los 12 meses de tratamiento y cada una de las variables inmunológicas basales: modelos de regresión logística binaria simple con variable dependiente "probabilidad de fracaso".

Odds ratio (OR) e IC95%

	B	E.T.	Wald	gl	p	OR	I.C. 95,0% OR	
							Inferior	Superior
IgE clara	0,038	0,014	7,864	1	0,005	1,039	1,012	1,067
IgE OVA	0,037	0,016	5,494	1	0,019	1,038	1,006	1,070
IgE OVM	0,038	0,013	8,237	1	0,004	1,038	1,012	1,065

B: coeficiente beta del modelo de regresión; E.T.: error estándar del coeficiente B; Wald: valor exacto del estadístico Chi2 de Wald

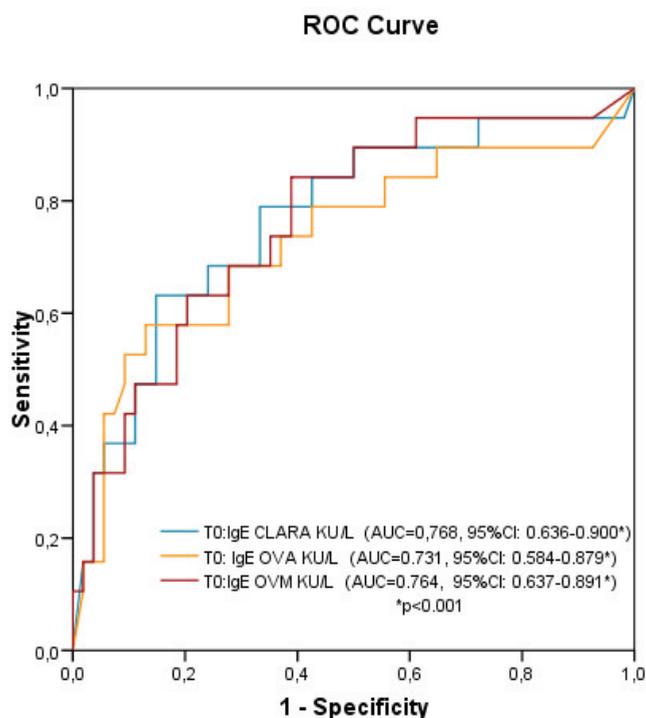


Figura 4. Análisis de la curva ROC mostrando la rentabilidad diagnóstica de las pruebas inmunológicas (IgE específica clara, OVA y OVM) en relación con el fracaso de la ITO a los 12 meses de tratamiento.

Cada incremento en 1 KU/L de la IgE específica para clara de huevo eleva el riesgo de fracaso un 3,9% (p: 0,005); el mismo incremento de la IgE específica para OVA lo hace en un 3,8% (p: 0,019) y el de la IgE específica para OVM lo hace en un 3,8% (p: 0,004). El análisis de las curvas ROC (Figura 3) de la rentabilidad diagnóstica de las pruebas inmunológicas (IgE específica frente clara, OVA y OVM), en relación con el fracaso de la ITO a los 12 meses de tratamiento, muestra mayor capacidad predictiva de la IgE específica para clara de huevo. Los pacientes con niveles de IgE-clara inferiores a 18,3 kU/L tienen una probabilidad de éxito de la ITO a los 12 meses de tratamiento, del 87%. Los pacientes con niveles de IgE-clara superiores a 18,3 kU/L, tienen una probabilidad del 62 % de fracaso de la ITO (Tabla 26).

Tabla 26. Validez diagnóstica de las variables inmunológicas basales en la predicción del resultado a los 12 meses: resumen resultados análisis ROC

	IgE clara	IgE OVA	IgE OVM
AUC (95% CI)	0,768 (0,636 – 0,900)	0,731 (0,584 – 0,879)	0,764 (0,637 – 0,891)
Optimal cut-off^a	18,3 kU/L	9,63 kU/L	5,13 kU/L
Sensitivity (%)	63,20%	57,9%	84,2%
Specificity (%)	85,2%	87,0%	61,1%
Youden´s index	0,483	0,449	0,453
PPV	61,9%	61,1%	44,7%
NPV	87,0%	85,7%	92,1%
PLR	4,263	4,466	2,165
NLR	0,259	0,335	-0,378

^abasado en el índice de Youden (S+E-1). PPV: Valor predictivo positivo. NPV: Valor predictivo negativo. PLR: Razón verosimilitud positiva. NLR: Razón verosimilitud negativa

Modelo de regresión logística binaria múltiple

En una primera estimación se incluyen forzosamente los 3 parámetros inmunológicos (IgE específica clara, OVA y OVM). El modelo no detecta ningún aspecto determinante del fracaso (Tabla 27). Sin embargo, dado que se hallaron diferencias significativas en las distribuciones de los mismos según el resultado de la ITO, todo parece indicar que estamos ante 3 parámetros muy relacionados entre sí. En efecto, el coeficiente de correlación de Spearman concluye un grado alto de correlación entre IgE clara/OVA, IgE clara/OVM e IgE OOVA/OVM ($r=0,842$, $r=0,764$ y $r=0,773$ respectivamente). Por tanto, el modelo simplemente está indicando que, en presencia de IgE-clara e IgE-OVA, incluir IgE-OVM no aporta nada nuevo para explicar el fracaso. Lo mismo ocurre intercambiando los parámetros.

Tabla 27. Asociación entre el resultado a los 12 meses y las variables inmunológicas basales: modelo de regresión logística binaria múltiple con variable dependiente "probabilidad de fracaso" e introducción forzosa de variables. Odds ratio (OR) e IC95%

	B	E.T.	Wald	gl	p	OR	I.C. 95,0% OR	
							Inferior	Superior
IgE clara	0,040	0,038	1,129	1	0,288	1,041	0,966	1,122
IgE OVA	-0,014	0,037	0,154	1	0,695	0,986	0,917	1,060
IgE OVM	0,010	0,030	0,103	1	0,748	1,010	0,952	1,070
Constante	-1,771	0,392	20,444	1	0,000	0,170		

B: coeficiente beta del modelo de regresión; E.T.: error estándar del coeficiente B;
Wald: valor exacto del estadístico Chi² de Wald

El modelo de regresión múltiple selecciona la IgE-clara como la más predictiva (Tabla 28).

Tabla 28. Asociación entre el resultado a los 12 meses y las variables inmunológicas basales: modelo de regresión logística binaria múltiple con variable dependiente "probabilidad de fracaso" y método backward para la eliminación de variables. Odds ratio (OR) e IC95%

	B	E.T.	Wald	gl	p	OR	I.C. 95,0% OR	
							Inferior	Superior
IgE clara	0,038	0,014	7,864	1	0,005	1,039	1,012	1,067
Constante	-1,704	0,368	21,418	1	0,000	0,182		

B: coeficiente beta del modelo de regresión; E.T.: error estándar del coeficiente B; Wald: valor exacto del estadístico Chi2 de Wald

La ecuación del modelo obtenido puede expresarse como:

$$\frac{p}{1-p} = 0,182 \cdot 1,039^{IgE_{clara}} \quad (\text{siendo } p \text{ la probabilidad de fracaso})$$

Si llamamos R al valor de la expresión $0,182 \times 1,039^{IgE_{clara}}$ podemos despejar p y resulta: $p = R: (1+R)$

IV.9. ESTUDIO PREDICTIVO DE LOS FACTORES DE RIESGO DE REACCIÓN ADVERSA MODERADA O GRAVE DURANTE LA ITO

IV.9.1. Rentabilidad diagnóstica de los niveles séricos de IgE específica basal para clara, OVA y OVM y de reacción adversa moderada o grave en la última reacción clínica, para predecir la aparición de reacción adversa moderada o grave durante la ITO

Se ha observado una diferencia significativa en los niveles basales de Ig específica para clara, OVA y OVM y en la existencia de una reacción adversa moderada o grave en la última reacción clínica (RAMG-UR), en los pacientes que presentaron reacción adversa moderada/grave durante la ITO. En base a estos resultados se analiza la relación entre la aparición de una reacción adversa moderada o grave en la fase de inducción (RAMG-FI) y a los 12 meses de tratamiento (RAMG-12), con los niveles basales de IgE específica para clara, OVA y OVM y con la RAMG-UR.

IV.9.1.1. En la fase de inducción de la ITO

Modelo de regresión logística binaria simple

Se ha estimado un modelo de regresión logística binaria simple considerando como variable independiente cada uno de los 3 parámetros inmunológicos (IgE específica para clara, OVA y OVM) y la existencia, o no, de RAMG-UR (tabla 29).

Tabla 29. Asociación entre reacción adversa moderada/grave en la fase de inducción y cada una de las variables inmunológicas basales y última reacción adversa moderada/grave: modelos de regresión logística binaria simple con variable dependiente "probabilidad de reacción moderada/grave". Odds ratio (OR) e IC95%

	B	E.T.	Wald	gl	p	OR	I.C. 95,0% OR	
							Inferior	Superior
IgE clara	0,043	0,016	7,369	1	0,007	1,043	1,012	1,076
IgE OVA	0,085	0,032	6,965	1	0,008	1,089	1,022	1,160
IgE OVM	0,046	0,016	8,035	1	0,005	1,047	1,014	1,081
Última reacción mod./grave	1,221	0,552	4,903	1	0,027	3,391	1,151	9,996

B: coeficiente beta del modelo de regresión; E.T.: error estándar del coeficiente B;

Wald: valor exacto del estadístico Chi2 de Wald

Las 4 variables ejercen una influencia significativa sobre la posibilidad de RAMG-FI.

Cada incremento en 1 kU/L de la IgE-clara, eleva el riesgo de RAMG-FI un 4,3% ($p= 0,007$). El mismo incremento unitario para IgE-OVA lo hace en un 8,9% ($p= 0,008$) y para IgE-OVM en un 4,7% ($p= 0,005$). Por otra parte, haber tenido una RAMG-UR eleva casi 3,4 veces la probabilidad de una recurrente ($p= 0,027$).

Para estudiar la capacidad predictiva de cada uno de los 4 parámetros sobre el evento de aparición de RAMG-FI, se realizó el análisis de la curva de características operativas para el receptor (curva ROC) (figura 5).

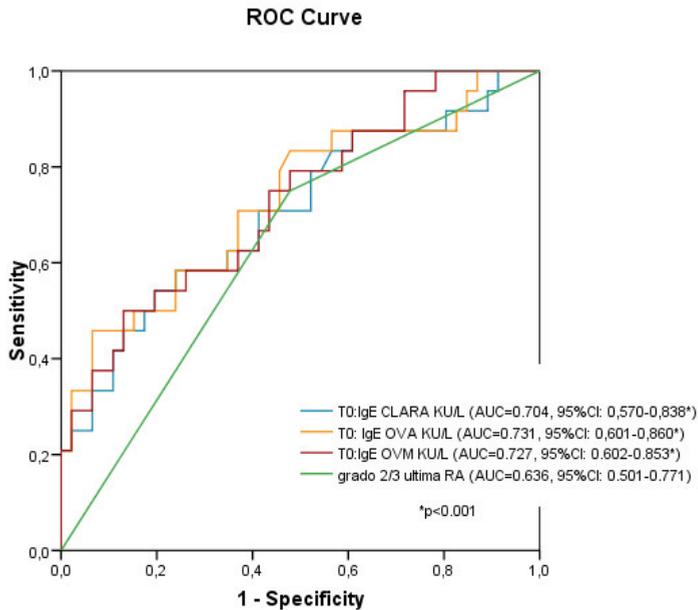


Figura 5. Análisis de la curva ROC mostrando la rentabilidad diagnóstica de las pruebas inmunológicas (IgE específica clara, OVA y OVM) y reacción adversa moderada/grave en la última reacción clínica, en relación con la aparición de reacción adversa moderada/grave en la fase de inducción de la ITO.

La IgE-OVA e IgE-OVM mostraron la mejor rentabilidad diagnóstica para predecir la aparición de RAMG-FI (AUC: 0.731 y 0.727 respectivamente, $p < 0.001$). Entre estos dos parámetros la IgE-OVA tiene un mayor índice de Youden para el punto de corte de 14,45 kU/L. (Tabla 30) Los pacientes con niveles de IgE-OVA superiores a 14,45 kU/L tienen una probabilidad del 79 % de presentar RAMG-FI.

Tabla 30. Validez diagnóstica de las variables inmunológicas basales y gravedad de la última reacción adversa, en la predicción de reacción adversa durante la fase de inducción: resumen resultados análisis ROC.

	IgE clara	IgE OVA	IgE OVM	Última RA mod./grave
AUC (95% CI)	0,704 (0,570 – 0,838)	0,731 (0,601 – 0,860)	0,727 (0,602 – 0,853)	0,636 (0,501 – 0,771)
Optimal cut-off^a	10,2 kU/L	14,45kU/L	17,1kU/L	0,5
Sensitivity (%)	41,7%	45,8%	50,0%	75,0%
Specificity (%)	76,1%	93,5%	87,0%	47,8%
Youden´s index	0,483	0,393	0,370	0,272
PPV	53,8%	78,6%	63,2%	43,9%
NPV	78,3%	77,2%	77,8%	81,3%
PLR	2,439	7,028	3,833	1,568
NLR	0,233	0,510	0,425	-0,438

^a basado en el índice de Youden (S+E-1). PPV: Valor predictivo positivo. NPV: Valor predictivo negativo. PLR: Razón verosimilitud positiva. NLR: Razón verosimilitud negativa

Modelo de regresión logística binaria múltiple

En la estimación de un *modelo de regresión logística binaria múltiple*, considerando como variable independiente cada uno de los 3 parámetros inmunológicos (IgE específica para clara, OVA y OVM) y la existencia, o no, de RAMG-UR, se observa que el nivel de gravedad de la última reacción tiene un efecto significativo sobre el de la registrada en la fase de inducción (p= 0,033) (Tabla 31).

Ninguna variable inmunológica muestra relación alguna, si bien ya hemos detectado que pueden anularse simultáneamente por el alto grado de correlación entre los 3 indicadores inmunológicos, como se ha indicado anteriormente.

Tabla 31. Asociación entre reacción adversa moderada/grave durante la fase inducción y variables inmunológicas basales + reacción moderada/grave en la última reacción clínica: modelo de regresión logística binaria múltiple con variable dependiente "probabilidad de reacción moderada/grave" e introducción forzosa de variables. Odds ratio (OR) e IC95%.

	B	E.T.	Wald	gl	p	OR	I.C. 95,0% OR	
							Inferior	Superior
IgE clara	-0,040	0,062	0,425	1	0,514	0,961	0,851	1,084
IgE OVA	0,114	0,081	1,985	1	0,159	1,121	0,956	1,313
IgE OVM	0,033	0,036	0,882	1	0,348	1,034	0,964	1,108
Última reacción mod./grave	1,494	0,702	4,526	1	0,033	4,456	1,125	17,652
Constante	-1,756	0,463	14,360	1	0,000	0,173		

B: coeficiente beta del modelo de regresión; E.T.: error estándar del coeficiente B; Wald: valor exacto del estadístico Chi2 de Wald

El modelo de regresión logística binaria múltiple muestra que la historia de la última reacción y el parámetro IgE OVA son los factores pronósticos significativos de una reacción adversa en la fase de inducción (Tabla 32).

Tabla 32. Asociación entre reacción adversa moderada/grave en fase inducción y variables inmunológicas basales + reacción moderada/grave en última: modelo de regresión logística binaria múltiple con variable dependiente probabilidad de reacción moderada/grave y método backward para la eliminación de variables. Odds ratio (OR) e IC95%.

	B	E.T.	Wald	gl	p	OR	I.C. 95,0% OR	
							Inferior	Superior
IgE OVA	0,097	0,036	7,448	1	0,006	1,102	1,028	1,182
Última reacción mod./grave	1,488	0,679	4,800	1	0,028	4,430	1,170	16,775
Constante	-1,729	0,444	15,172	1	0,000	0,177		

B: coeficiente beta del modelo de regresión; E.T.: error estándar del coeficiente B; Wald: valor exacto del estadístico Chi2 de Wald

Por cada 1 kU/L adicional de IgE-OVA basal, el riesgo de RAMG-FI se eleva un 10,2% (OR= 1,102; p= 0,006).

Si la última reacción fue moderada/grave, el riesgo de que ocurra una reacción moderada/grave durante la fase de inducción se multiplica por 4,43 respecto a una previa leve o inexistente (p= 0,028).

La ecuación del modelo obtenido puede expresarse como

$$\frac{p}{1 - p} = 0,1771,102^{IgE\ OVA} 4,43^{Última\ mod/grave}$$

(siendo p la probabilidad de reacción adversa moderada o grave en la fase de inducción)

Si llamamos R al valor de la expresión $0,177 \times 1,102^{IgE\ OVA} \times 4,43^{RAMG-UR}$ podemos despejar p y resulta: $p = R:(1+R)$

En la figura 6 se representa la probabilidad estimada según el valor basal de la IgE OVA y para la RMG-UR

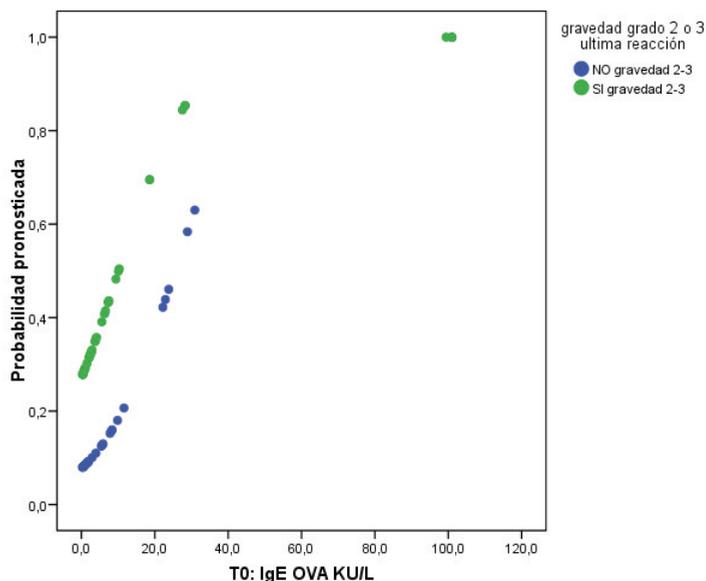


Figura 6. Probabilidad estimada según el valor basal de la IgE OVA y para la RMG-UR

La regla de predicción (tabla 33) para un punto de corte 0,5 genera los siguientes resultados: 77,5% de casos correctos, con una S=45,8% y E=93,6%.

Tabla 33. Regla de predicción para un punto de corte de 0,5

Tabla de clasificación¹

Observado		Pronosticado			Porcentaje correcto
		gravedad grado 2 o 3 en fase de inducción		Porcentaje correcto	
		NO reacción grado 2-3	SI reacción grado 2-3		
Paso 1	gravedad grado 2 o 3 en fase de inducción	NO reacción grado 2-3	44	3	93,6
		SI reacción grado 2-3	13	11	45,8
Porcentaje global					77,5

1. El valor de corte es ,500

En la figura 7 se presenta la curva ROC para este modelo.

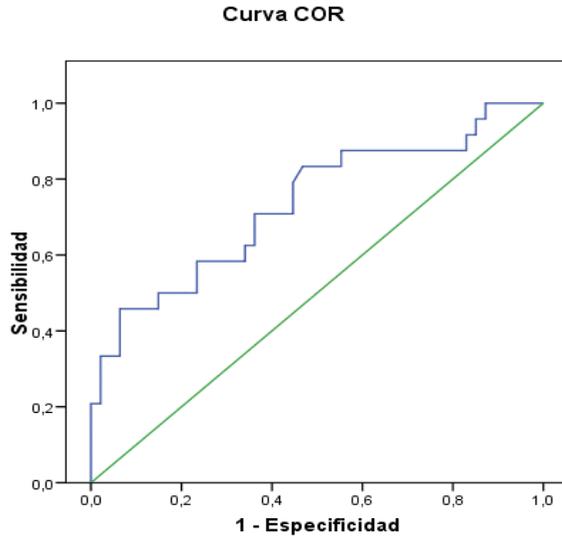


Figura 7. Análisis de la curva ROC mostrando la rentabilidad diagnóstica de la IgE OVA y la reacción adversa moderada/grave en la última reacción clínica, en relación con la aparición de reacción adversa moderada/grave en la fase de inducción de la ITO

Estableciendo el punto de corte en 0,5, la sensibilidad es de 45,8% y la especificidad de 93,6%. Para este punto de corte (figura 7), si hubo RAMG-UR, el nivel de IgE OVA es de 10,5 kU/L y si no hubo RAMG-UR, el nivel de IgE OVA es de 26 kU/L para predecir una RAMG-FI con esta sensibilidad y especificidad.

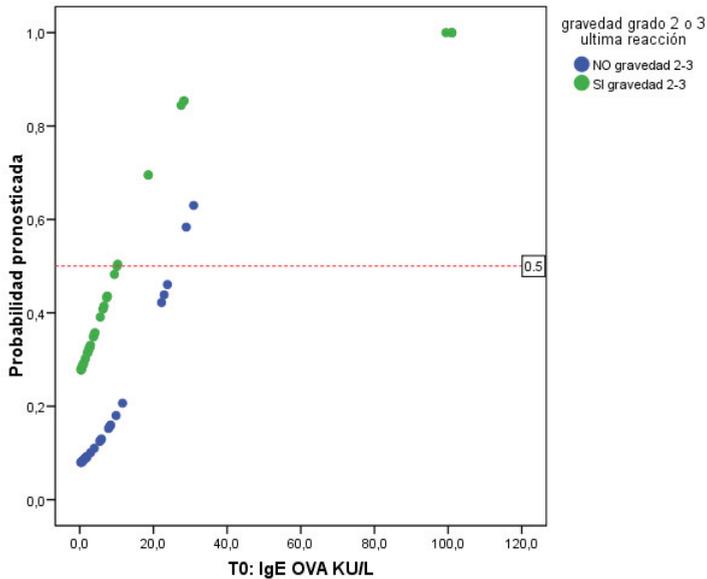


Figura 8. Probabilidad estimada según el valor basal de la IgE OVA y para la RMG-UR. Punto de corte en 0,5 kU/L de IgE OVA

Establecer el punto de corte en 0,24 (figura 8) lleva a un modelo más equilibrado con una sensibilidad de 66,7% y especificidad de 63,8%, siendo los niveles de IgE OVA de 1 kU/L si hay RAMG-UR y de 15 kU/L si no hay RAMG-UR, para predecir una RAMG-Fi con esta sensibilidad y especificidad. Sin embargo, este punto de corte no se asocia a un índice de Youden óptimo, como lo era el anterior en 0,5.

En resumen, considerar estos dos predictores en un modelo multivariable incrementa la capacidad predictiva. Con este nuevo modelo el índice de Youden es 0,394, superior al que se obtenía en el modelo univariante que incluía la última reacción (índice 0,272) y, sólo ligeramente superior al de la IgE OVA sola (índice=0,393).

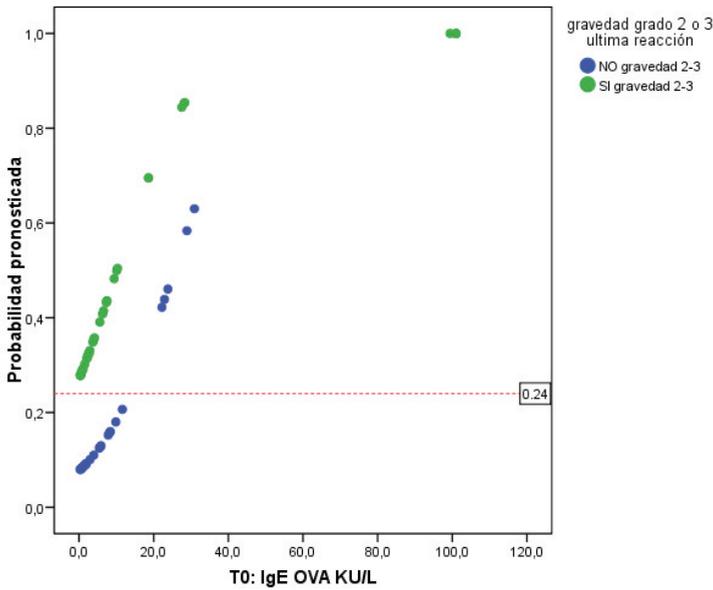


Figura 9. Probabilidad estimada según el valor basal de la IgE OVA para la RAMG-UR. Punto de corte en 0,24 kU/L de IgE OVA

IV.9.1.2. A los 12 meses de tratamiento de ITO

Modelo de regresión logística binaria simple

Se ha estimado un modelo de regresión logística binaria simple considerando como variable independiente cada uno de los 3 parámetros inmunológicos (IgE específica clara, OVA y OVM) y la existencia o no de RAMG-UR (Tabla 34).

Las 3 variables IgE ejercen una influencia significativa sobre la probabilidad de reacción adversa moderada/grave (RAMG-12). Cada incremento en 1 KU/L de IgE-clara eleva el riesgo de RAMG-12 un 4,4% (p: 0,007). El mismo incremento unitario para IgE-OVA lo hace en un 9,1% (p: 0,008) y para IgE-OVM en un 4,7% (p: 0,005). Por otra parte, haber tenido una última reacción moderada o grave no implica una modificación relevante del riesgo (p: 0,134).

Para estudiar la capacidad predictiva de cada uno de los 4 parámetros sobre el evento de aparición de RAMG-12, se realizó el análisis de la curva ROC (figura 9)

Tabla 34. Asociación entre reacción adversa moderada/grave, en 12 meses, y cada una de las variables inmunológicas basales y última reacción adversa moderada/grave: modelos de regresión logística binaria simple con variable dependiente probabilidad de reacción moderada/grave. Odds ratio (OR) e IC95%.

	B	E.T.	Wald	gl	p	OR	I.C. 95,0% OR	
							Inferior	Superior
IgE clara	0,043	0,017	6,609	1	0,010	1,044	1,010	1,079
IgE OVA	0,087	0,034	6,530	1	0,011	1,091	1,020	1,166
IgE OVM	0,046	0,017	6,962	1	0,008	1,047	1,012	1,084
Última reacción mod./grave	0,740	0,493	2,251	1	0,134	2,095	0,797	5,507

B: coeficiente beta del modelo de regresión; E.T.: error estándar del coeficiente B; Wald: valor exacto del estadístico Chi2 de Wald

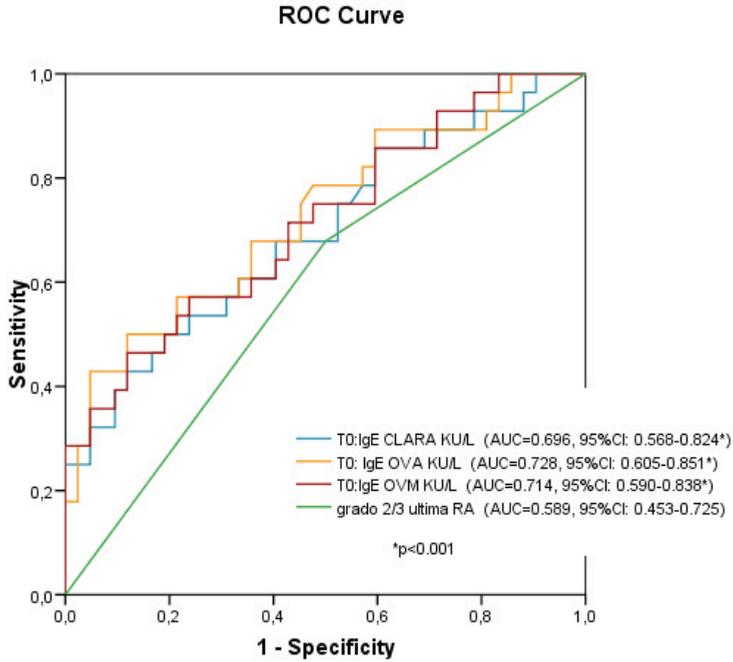


Figura 10. Análisis de la curva ROC mostrando la rentabilidad diagnóstica de las pruebas inmunológicas (IgE específica clara, OVA y OVM) y reacción adversa moderada/grave en la última reacción clínica, en relación con la aparición de una reacción adversa moderada/grave durante los 12 meses de tratamiento.

El modelo basado en la IgE OVA es el de mayor AUC (0,728, $p<0.001$) y también el índice de Youden (0,381) (Tabla 35). Los pacientes con niveles de IgE-OVA superiores a 7,97 kU/L muestran una probabilidad del 74 % de presentar RAMG-12.

Tabla 35. Validez diagnóstica de las variables inmunológicas basales y gravedad de última reacción adversa en la predicción de reacción adversa en 12 meses: resumen resultados análisis ROC

	IgE clara	IgE OVA	IgE OVM	Última RA mod./grave
AUC (95% CI)	0,696 (0,568 – 0,824)	0,728 (0,605 – 0,851)	0,714 (0,590 – 0,838)	0,589 (0,453 – 0,725)
Optimal cut-off^a	14,2 kU/L	7,97kU/L	17,1 kU/L	0,5
Sensitivity (%)	50,0%	50,0%	53,6%	67,8%
Specificity (%)	81,0%	88,1%	88,1%	50,0%
Youden's index	0,310	0,381	0,345	0,179
PPV	60,9%	73,7%	68,4%	48,8%
NPV	69,4%	71,2%	68,5%	68,8%
PLR	2,625	4,200	3,900	1,357
NLR	0,382	0,432	0,473	-0,357

^abasado en el índice de Youden (S+E-1). PPV: Valor predictivo positivo. NPV: Valor predictivo negativo. PLR: Razón verosimilitud positiva. NLR: Razón verosimilitud negativa

Modelo de regresión logística binaria multiple

En el modelo de introducción forzosa no se detectan factores significativos (Tabla 36).

Ninguna variable inmunológica muestra relación alguna, si bien ya hemos detectado que pueden anularse simultáneamente por el alto grado de correlación entre los 3 indicadores inmunológicos, tal como se indicaba en el análisis de la fase de inducción (tabla 27).

Tabla 36. Asociación entre reacción adversa moderada/grave en 12 meses y variables inmunológicas basales + reacción moderada/grave en la última: modelo de regresión logística binaria múltiple con variable dependiente "probabilidad de reacción moderada/grave" e introducción forzosa de variables. Odds ratio (OR) e IC95%.

	B	E.T.	Wald	gl	p	OR	I.C. 95,0% OR	
							Inferior	Superior
IgE clara	-0,024	0,053	0,206	1	0,650	0,976	0,880	1,083
IgE OVA	0,088	0,073	1,441	1	0,230	1,092	0,946	1,261
IgE OVM	0,036	0,033	1,177	1	0,278	1,036	0,972	1,106
Última reacción mod./grave	0,901	0,605	2,215	1	0,137	2,461	0,752	8,059
Constante	-1,345	0,399	11,369	1	0,001	0,261		

B: coeficiente beta del modelo de regresión; E.T.: error estándar del coeficiente B;
Wald: valor exacto del estadístico Chi2 de Wald

El modelo de regresión múltiple selecciona la IgE-OVA como la más predictiva (Tabla 37).

Tabla 37. Asociación entre reacción adversa moderada/grave en 12 meses y variables inmunológicas basales + reacción moderada/grave en la última: modelo de regresión logística binaria múltiple con variable dependiente "probabilidad de reacción moderada/grave" y método backward para la eliminación hacia atrás de variables. Odds ratio (OR) e IC95%

	B	E.T.	Wald	gl	p	OR	I.C. 95,0% OR	
							Inferior	Superior
IgE OVA	0,087	0,034	6,530	1	0,011	1,091	1,020	1,166
Constante	-1,092	0,342	10,177	1	0,001	0,335		

B: coeficiente beta del modelo de regresión; E.T.: error estándar del coeficiente B;

Wald: valor exacto del estadístico Chi² de Wald

La ecuación del modelo obtenido puede expresarse como:

$$\frac{p}{1-p} = 0,335 \cdot 1,091^{IgE\ OVA}$$

(siendo p la probabilidad de reacción adversa moderada o grave a los 12 meses de ITO)

Si llamamos R al valor de la expresión $0,335 \times 1,091^{IgE\ OVA}$, podemos despejar p y resulta:

$$p = R:(1+R)$$

IV.10. ANÁLISIS DE CITOCINAS SÉRICAS

Se analizaron inicialmente 23 muestras de sueros de pacientes que siguieron ITO (basales y a los 12 meses del inicio de la ITO) y se determinaron los niveles de citocinas IL-2, IL-4, IL-5, IL-10 e IFN- γ . Los resultados mostraron que se hallaban por debajo del umbral de detección de la técnica por lo que se suspendió la realización de nuevas determinaciones.

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

V.1. CONTRIBUCIONES PRINCIPALES DEL PRESENTE TRABAJO

La ITO con huevo induce cambios en el sistema inmune y promueve el desarrollo de un estado de desensibilización en la mayoría de los pacientes, pero existe escasa evidencia acerca de la seguridad y eficacia a largo plazo lo que hace que siga recomendándose sólo en el ámbito de la investigación (50,85). Los resultados de ese estudio pretenden contribuir a mejorar la evidencia acerca de su eficacia y seguridad para su introducción en la práctica clínica habitual.

En los estudios controlados publicados hasta la actualidad se ha utilizado huevo entero crudo, huevo entero deshidratado en polvo y clara deshidratada en polvo (83,95-99,163). Nuestro estudio es el primero en el que se utiliza clara cruda pasteurizada y se programa como objetivo alcanzar, en la fase de inducción, la tolerancia de una dosis de 30 ml., equivalente al contenido de un huevo mediano, y en el que, para el tratamiento de mantenimiento se utiliza el mismo producto.

Conseguir la tolerancia de dosis altas de clara cruda, permite al paciente la toma de huevo sin restricciones culinarias (crudo o cocinado) y con mayor seguridad. Al mismo tiempo, la clara pasteurizada al estar comercializada, puede ser utilizada en el tratamiento de mantenimiento el tiempo que sea necesario y a unas dosis ajustadas a las diversas circunstancias que pueden producirse en el camino hacia la tolerancia permanente.

La inmunoterapia oral con alimentos se inicia con una fase de inducción en la que se realizan incrementos progresivamente crecientes de la dosis del alimento con el objetivo de conseguir la desensibilización. Ésta consiste en una reducción de la respuesta o reactividad clínica, que permita al paciente tolerar el alimento, a ser posible con una dosis suficiente para poder incorporarlo en la dieta, sin restricciones. Pero esta desensibilización es transitoria y se puede perder a los pocos días o semanas de suspender la toma regular del alimento. Por este motivo es necesario que la fase de inducción se siga de una fase de mantenimiento con la toma diaria, o casi diaria del alimento, para mantener el estado de tolerancia hasta conseguir que sea permanente, o una arreactividad sostenida (traducción del término *sustained unresponsiveness* utilizado por la comunidad científica internacional). La tolerancia permanente, o arreactividad sostenida, puede definirse como la ausencia permanente de reactividad clínica frente a un alimento, incluso aunque no se consuma de forma regular, que permite mantener la tolerancia al suspender el tratamiento. Actualmente, el tiempo necesario de tratamiento de mantenimiento para alcanzar la tolerancia permanente no se conoce. Puede variar de un paciente a otro en función del grado de sensibilización y de otros factores, por lo que -en la actualidad- se impone la ingesta diaria, o casi diaria, de las dosis de mantenimiento, para lo cual, resulta más práctico utilizar alimentos adecuados y de consumo habitual, como la clara de huevo pasteurizada.

En el tratamiento de mantenimiento se habían utilizado hasta el momento, diferentes pautas para la administración de las dosis, desde su uso diario a dos días por semana, así como diferentes preparaciones del huevo (crudo o cocinado), lo que podría influir en el mantenimiento de la tolerancia y en la evolución hacia la tolerancia permanente o arreactividad sostenida (83,95-99,163).

El uso de huevo cocinado durante la fase de mantenimiento de la ITO, no implica la tolerancia de presentaciones que contengan huevo crudo, durante la misma (68, 72). Por ello, en este estudio, se ha utilizado clara cruda pasteurizada para asegurar la tolerancia del huevo en sus diferentes preparaciones. En él, los pacientes del grupo activo se han distribuido en dos subgrupos, según la secuencia temporal de administración de la dosis de mantenimiento, con el fin de comprobar si la pauta de tres días a la semana era suficiente frente a su administración diaria, para mantener la tolerancia de la dosis de 30 ml. de clara, alcanzada durante la fase de inducción.

En este nuestro trabajo, se ha podido demostrar que determinados parámetros clínicos e inmunológicos basales son útiles para predecir el perfil de seguridad del tratamiento. Estos datos pueden ayudar a los clínicos a estratificar los niveles de riesgo antes de iniciar el tratamiento con el fin de seleccionar a los pacientes con alta probabilidad de completar la ITO de forma segura, e indicar alternativas (pautas mas lentas, premedicación, o asociación de un tratamiento con omalizumab) en aquellos con riesgo de fracaso por reacciones adversas. Igualmente permiten aportar a los padres y al paciente, información personalizada sobre los riesgos del tratamiento antes de decidirse por él.

V.2. PACIENTES

En este estudio, 69% de los pacientes incluidos presentaban alergia a otros alimentos además del huevo y, de ellos, más de la mitad, alergia a tres o más alimentos. Esta circunstancia añade una mayor dificultad para llevar a cabo la dieta de eliminación en la vida diaria, de forma estricta y eficaz, ya que al tener que ampliarse a otros alimentos, aumenta los problemas emocionales, psicológicos y sociales que ocasiona la propia dieta (68,70,72), así como la posibilidad de reacción por exposición inadvertida o accidental, lo que ocurrió en el último año, con carácter moderado-grave, en el 56% de los casos.

En los pacientes que no toleraban la clara cocida se observan niveles de IgE sérica específica para ovomucoide (IgE-OVM), significativamente más elevados ($p: 0,008$) lo que confirma los resultados de estudios previos (172,173). El OVM y la OVA son los alérgenos mayores de la clara de huevo.

V.3. EFICACIA DE LA ITO

V.3.1. Resultados de eficacia tras la fase de inducción

En nuestro estudio, se alcanzó la desensibilización completa en 84% de los pacientes tratados con ITO con clara de huevo, resultados similares a los obtenidos (75 al 94 %) en los estudios controlados publicados (83,95-99,163), salvo en el estudio de Dello Iacono (97), en el que se trataron 10 niños con reacción grave anafiláctica por trazas o pequeñas cantidades de derivados de huevo y se consiguió la desensibilización con tolerancia de 30 ml., en sólo el 40% de los pacientes tratados. La selección de pacientes de Dello Iacono, incluye a uno de los fenotipos que fracasan en los estudios publicados y que precisan alternativas terapéuticas para mejora la seguridad y completar la desensibilización.

V.3.2. Valoración de la eficacia de la ITO frente a la dieta de evitación a los 12 meses de seguimiento

En nuestro estudio a los 12 meses desde el inicio de la ITO (tras la fase de inducción y en tratamiento de mantenimiento) 71% mantenía la tolerancia de 30 ml. de clara y estaba tomando huevo de forma libre frente al 16% de los pacientes del grupo control, que alcanzaron la tolerancia de forma espontánea, con una diferencia estadísticamente significativa [OR de 7,2 (95 % CI: 2,6-19,7) y un NNT: 2,2]. Es decir, la ITO ofrece 7,2 veces más probabilidad de tolerar la clara de huevo a los 12 meses de seguimiento que la ausencia de este tratamiento y el tratamiento de dos niños conduciría a un efecto positivo.

V.3.3. Resultados de eficacia de la ITO a los 12 meses de seguimiento:

Pocos estudios han analizado la evolución de la tolerancia de las dosis alcanzadas en la fase de inducción durante la fase de mantenimiento.

En el estudio de Fuentes-Aparicio y cols. (98), 92,5% de 40 pacientes alcanzaron la desensibilización completa al final de la fase de inducción de ITO con clara pasteurizada en polvo, pero -a los 6 meses- sólo 54% toleraron la prueba de provocación con clara cruda. A estos pacientes se les había indicado una dieta normal, sin restricciones de huevo, y sin utilizar una dosis concreta y regular durante la fase de mantenimiento.

En el estudio de Vázquez y cols. (116), 80% de 50 pacientes, alcanzaron la desensibilización completa al final de la fase de inducción de ITO con clara pasteurizada siguiendo un protocolo similar al de nuestro estudio, pero -a los 12 meses- sólo 56% mantenían la tolerancia completa. A estos pacientes se les había indicado tomar un huevo crudo dos días a la semana como dosis de mantenimiento. En 11 de ellos, se exacerbaron las reacciones al pasar de administrar dosis diariamente -en la fase de inducción-, a dosis dos días por semana -en la fase de mantenimiento- por lo que se les indicó administrar de nuevo las dosis todos los días.

Según los resultados de los estudios anteriormente referidos, para mantener la tolerancia no parece adecuado administrar las dosis dos días a la semana, o indicar la ingesta de huevo "ad libitum". Cuando se administra dos días a la semana, el olvido de una dosis puede aumentar excesivamente el intervalo entre las dosis y en la administración "ad libitum", puede ocurrir que el paciente no tome la dosis necesaria o que la preparación culinaria no sea la adecuada. Hay que tener en cuenta que la alergenicidad de la clara cruda es diferente a la de la clara cocinada y, además, muchos niños rechazan la ingesta de huevo

porque no aceptan su sabor tras tanto tiempo evitándolo. En el estudio de Escudero y cols. (96) hasta 57% de los niños tratados refieren dificultad en la toma de huevo durante la fase de mantenimiento, porque no les gusta su apariencia, textura o sabor. Si el objetivo es mantener la tolerancia del huevo en todas sus preparaciones culinarias, deben tomar una dosis de clara cruda suficiente, con la cadencia adecuada, o con la clara cocinada, si el objetivo es tolerarlo de esta forma.

Hasta que se realicen nuevos estudios que permitan reducirla, la dosis suficiente debería ser la máxima alcanzada durante el proceso de desensibilización en la fase de inducción.

La incertidumbre se plantea en la cadencia. Lo ideal es su administración diaria como en la fase de inducción, puesto que no se conoce el intervalo que conduce a una pérdida de la tolerancia y que, seguramente, tendrá un carácter individual y puede ser diferente para los distintos pacientes. Con la ITO con leche no se plantean dudas y se recomienda tomar las dosis diariamente, una vez al día, lo que no representa ningún problema nutritivo, ni de adherencia, ya que es un alimento cuya administración diaria forma parte de los hábitos alimentarios en nuestro entorno.

La administración diaria de clara de huevo (sin la yema), no produce trastornos en la nutrición, ni en la salud, pero es necesario forzar esta indicación ya que no forma parte de nuestra dieta habitual. El sabor y textura de la clara cruda es fácil de enmascarar en un yogurt y, de esta forma, generalmente no produce el rechazo del paciente, siendo mejor aceptada que la toma de huevo entero en sus preparaciones culinarias habituales, como la tortilla, que además, no sería lo adecuado si el objetivo es tolerar el huevo en todas sus formas culinarias.

Con el fin de analizar una alternativa a la pauta ideal, que sería la administración diaria, los pacientes de nuestro estudio que alcanzaron la desensibilización completa programada se distribuyeron

aleatoriamente en dos grupos en la fase de mantenimiento: Grupo A, que recibió dosis de 30 ml. de clara pasteurizada cruda todos los días y Grupo B, al que se le indicó una dosis de 30 ml, 3 días por semana, con uno-dos días entre ellas. (Recomendando domingo, martes y jueves).

A los 12 meses de tratamiento no se observaron diferencias significativas entre los grupos A y B, en el porcentaje de pacientes que toleraron 30 ml. de clara, ni en el de los que mostraron tolerancia durante la fase de inducción que perdieron durante la de mantenimiento. En base a estos resultados podemos considerar suficiente la administración de la dosis de clara pasteurizada, tres días a la semana, en la fase de mantenimiento, para conservar la tolerancia alcanzada en la fase de inducción.

V.4. EVOLUCIÓN DE LOS PARÁMETROS INMUNOLÓGICOS Y DE LA REACTIVIDAD CUTÁNEA

En nuestro estudio, confirmando lo observado por otros investigadores (83,95, 97,99,115,163), se constata un descenso en los niveles de IgE-clara, IgE-OVA e IgE- OVM y un aumento en la IgG4 en los pacientes que recibieron ITO.

Sin embargo, no se observaron cambios significativos en los niveles de IgE para clara, OVA y OVM en los pacientes del grupo control que evolucionaron espontáneamente hacia la tolerancia a los 12 meses, lo que contribuye a demostrar que los cambios en los niveles de sensibilización a las proteínas del huevo son consecuencia de la ITO. Este grupo de pacientes tenía unos niveles basales de IgE-clara, IgE-OVA e IgE-OVM, mas bajos que los no tolerantes, como se observa en la evolución natural de la alergia a clara de huevo (15). Además, en ellos, no se produjeron cambios en los niveles de IgG4 específica para clara, como cabría esperar puesto que estaban con dieta de eliminación de huevo y, por tanto, sin ningun estímulo antigénico.

En nuestro estudio, tras una ITO eficaz, se observa un aumento significativo de la IgG4 para clara y algunos autores asumen que su aumento es un signo de adquisición de tolerancia (174). Los anticuerpos IgG inducidos por la ITO podrían inhibir las reacciones de hipersensibilidad inmediata mediadas por IgE, a traves del receptor de IgG inhibidor FcgRIIb (175). Sin embargo, hay que considerar que la producción de IgG es una respuesta fisiológica a los antígenos alimenticios ingeridos, que se produce también en los individuos sanos y, por lo tanto, no se debe considerar un marcador de alergia, de ahí que su aumento tras la ITO, puede ser la respuesta normal a la reintroducción del huevo en la dieta.

Mas importancia puede tener la reducción en la reactividad cutánea, medida en la valoración de la titulación a punto final de las pruebas intraepidérmicas, que sólo se produce en el grupo que recibió ITO, confirmando así lo observado por otros investigadores (96-98,115,163) y que indicaría una reducción en la reactividad de la célula efectora al estímulo alérgico. Esta reducción, que sólo se produce en el grupo activo con ITO, parece ser específica como indica nuestra experiencia (datos no publicados) al comprobar que la respuesta a aeroalergenos a los que están sensibilizados algunos de nuestros pacientes, permanece inalterable.

V.5. SEGURIDAD DE LA ITO

Las reacciones adversas son muy frecuentes con la ITO, tanto con huevo como con otros alimentos como leche de vaca y cacahuete. Son generalmente leves, siendo los síntomas locales, como el prurito oral y el dolor abdominal transitorio, los más comunes y se resuelven espontáneamente o con antihistamínicos (50).

En el estudio doble ciego de ITO con clara de huevo de Burks y cols. (83), en el que se incluyeron pacientes con niveles de IgE específica a clara, con una mediana de 10,3 kU/l, se observó alguna reacción adversa con el 25% de las dosis, ninguna de ellas grave. 78% de los pacientes presentó prurito oral, pero ningún paciente precisó tratamiento con adrenalina. En el estudio de Fuentes-Aparicio (98), en el que se incluyeron pacientes con niveles de IgE específica a clara, con una mediana de 9,03 kU/l, 21 de los 40 pacientes (52,5%) tratados con ITO presentaron reacciones adversas. En 13 de ellos, se catalogaron como moderadas-graves (dolor abdominal, vómitos, urticaria, rinoconjuntivitis y disnea), precisando tratamiento con antihistamínicos y corticosteroides y, en 5, precisaron adrenalina, a pesar de que los síntomas referidos no parecían revestir gravedad.

En el estudio de Dello Iacono y cols. (97) se trataron 10 niños con clínica de reacción grave al huevo y niveles elevados de IgE específica (mediana de IgE para clara: 23,30 kU/l), presentando todas reacciones adversas con una o más dosis, pero sin necesidad de terapia corticoidea, ni adrenalina en ningún caso.

En el estudio de Vazquez y cols. (125) con pacientes que presentaban niveles de IgE específica más bajos (mediana IgE-clara: 5,54 kU/l), 90% de ellos tuvieron reacciones con una o más dosis, correspondientes al 7,6% del total de las administradas. La distribución de los síntomas observados en estos casos fue, por orden de frecuencia: vómitos:

19,7% de todas las reacciones; afectación de la vía respiratoria inferior: 18,8%; dolor abdominal: 15,7%; prurito bucal: 13,7%; urticaria: 13,1%; rinoconjuntivitis: 7,7%; angioedema: 6,7% disfonía: 2,1 %; diarrea: 1,5%; exacerbación de dermatitis: 0,7% y disfagia: 0,5%. Las reacciones mas graves consistieron en tos y/o broncoespasmo, considerados de caracter leve en el 78% de los casos. Se administraron 18 dosis de adrenalina durante la fase de inducción y ninguna en la de mantenimiento.

Escudero y cols. (96), en un grupo de 30 pacientes, con niveles de IgE específica para clara con una mediana de 6,4 kU/L, que recibieron tratamiento con ITO con clara de huevo deshidratada, no observaron ninguna reacción de carácter grave. Un tercio de ellos no presentó ningún tipo de reacción. Las reacciones mas frecuentes fueron gastrointestinales (4% de las dosis totales administradas), seguidas de síntomas orofaríngeos (2,2% de las dosis), rinitis (1,3% de las dosis), urticaria generalizada (0,3 % de las dosis), y afectación de las vías respiratorias bajas (0,2 %). Sólo se administró una dosis de adrenalina (0,04 % del total de las dosis administradas).

Caminiti y cols. (95), utilizando huevo pasteurizado y deshidratado, a pesar de los altos niveles de IgE específica de los pacientes incluidos en su estudio (mediana IgE para clara: 36,6 kU/l), únicamente detectan reacciones adversas en 5 de los 17 pacientes tratados (29%) requiriendo sólo uno de ellos adrenalina por presentar urticaria, prurito orofaríngeo, rinitis, broncoespasmo, vómitos, por lo que tuvo que abandonar el estudio.

En resumen, el porcentaje de dosis totales que cursaron con reacción va desde el 5,9 % de Escudero y cols. (96) al 25% de Burks y cols. (83).

En nuestro estudio se observó alguna reacción adversa en el 4,9% del total de dosis administradas (420/8448 dosis), 84% de ellas durante la fase de inducción. Sólo 2% tuvieron un carácter grave, 22% fueron de grado moderado y la mayoría (76%) leves. Las reacciones graves afectaron a 7 pacientes (5 en la fase de inducción y 2 en la fase de mantenimiento) y consistieron en broncoespasmo. Ningún paciente presentó edema laríngeo, hipotensión, ni shock anafiláctico.

En las Tablas 10, 11 y 12 se recoge el número de reacciones adversas por paciente y los porcentajes de gravedad, durante la fase de inducción, mantenimiento y periodo entre los 6 y 12 meses de la ITO. Este tipo de reacciones de produjo en 81% de los pacientes de los grupos activos A y B, y en 27% de los pacientes del grupo control por exposición inadvertida o accidental, siendo leves en el 48% de los casos, moderadas en el 26% y graves en el 7%. En general, se apreció una reducción de su frecuencia y gravedad a lo largo del periodo de tratamiento.

Algunos estudios describen la aparición de esofagitis eosinofílica en pacientes tratados con ITO con alimentos. Una revisión sistemática y meta-análisis (119), cifra su prevalencia en 2,7% aunque hay que considerar que este dato se extrae sólo de los estudios que refieren, al menos, un caso con esta afección, y no incluyen los que no recogen esta patología. En el meta-análisis citado, sólo se incluye un caso de ITO con huevo, en el que la esofagitis eosinofílica aparece a los 5 meses de finalizar la fase de inducción (176).

En nuestro estudio, como ya se ha referido, ningún paciente desarrolló esta complicación. Siete presentaron reacciones calificadas de graves, con síntomas de broncoespasmo, precisando 6 de ellos, tratamiento con adrenalina. En cinco, tuvo que suspenderse la ITO.

Fuera de los pacientes con reacción grave, sólo uno necesitó recibir dos dosis de adrenalina, en dos reacciones calificadas de moderadas.

En total se administró adrenalina a siete pacientes (9% de los que recibieron ITO). Tres pacientes recibieron una dosis; dos, 2 dosis y los otros dos, 3 dosis.

La administración de adrenalina varía ampliamente en los diferentes trabajos publicados (de 0 a 12,5%), como también varía la indicación de su administración en los diferentes Servicios de Alergia. En el estudio doble ciego de ITO con clara de huevo, de Burks y cols. (83), ninguno de los 40 pacientes del grupo activo la precisó; en el de Fuentes-Aparicio y cols. (98), 5 de los 40 pacientes (12,5%) tratados con ITO, la recibieron; sin embargo, en el de Dello Iacono y cols. (97), a pesar de que 10 niños sufrieron reacciones graves con huevo y niveles elevados de IgE específica (mediana IgE para clara: 23,30 kU/l), ninguno la recibió; Escudero y cols. (96) (mediana IgE-clara: 6,4 kU/l), administraron adrenalina por reacción adversa a sólo uno de los 30 pacientes que recibieron ITO y Caminiti y cols. (95) (mediana IgE-clara: 36,6 kU/l), a uno de los 17 pacientes con este tratamiento. Considerando globalmente a todos los pacientes tratados en estos estudios, 7 de los 137 pacientes (5 %), precisaron adrenalina.

V.6. ANÁLISIS DE FACTORES DE RIESGO DE FRACASO DE LA ITO

En nuestro estudio, se han analizado los factores clínicos e inmunológicos basales que podrían estar relacionados con el fracaso de la ITO. Hasta ahora, este aspecto había sido poco estudiado, probablemente por el número limitado de pacientes incluidos en la mayoría de los trabajos publicados.

Los hallazgos mas relevantes han sido los niveles basales de IgE para clara, OVA y OVM, tal y como ya habían detectado Meglio y cols. (99), Escudero y cols. (96) y Vazquez-Ortiz y cols. (125), indicando que, a mayores niveles de IgE sérica específica mayor es la probabilidad de fracaso de la ITO, aunque esta regla que no se cumple en todos los pacientes. Del mismo modo, en la evolución natural de la alergia al huevo, los pacientes con niveles más elevados de IgE tienden a tardar más tiempo en alcanzar la tolerancia (101).

No se ha observado ningún tipo de relación con los demás factores estudiados, como la dosis umbral de la PPDC o la gravedad de la última reacción clínica.

V.7. ANÁLISIS DE LOS FACTORES DE RIESGO DE REACCIÓN ADVERSA, MODERADA O GRAVE, DURANTE LA ITO

No se han apreciado diferencias significativas en los porcentajes de reacciones adversas graves, entre los grupos A y B, ni durante la fase de inducción, ni en la de mantenimiento, lo que indica que el aumento en el intervalo de las dosis de mantenimiento, en el grupo B, no incrementa ni el número de reacciones, ni su gravedad. Es decir, que el hecho de distanciar las dosis de mantenimiento a tres días por semana, no supone un riesgo de reacciones adversas. Esta aportación de nuestro estudio, de gran importancia en la práctica clínica, no había sido analizado en los estudios controlados publicados hasta la actualidad.

Se han observado niveles séricos basales mas altos de IgE para clara, OVA y OVM en aquellos pacientes que presentaron reacciones adversas moderadas o graves durante la fase de inducción de la ITO y un mayor porcentaje de reacciones adversas moderadas o graves durante esta fase, en aquellos que habían presentado una clínica moderada o grave en la última reacción. Es decir, que la gravedad de las reacciones adversas durante la ITO está relacionada con la gravedad de la reacción alérgica por huevo que había presentado el paciente y su nivel de sensibilización alérgica. Esta aportación de nuestro estudio no había sido analizada en ninguno de los estudios controlados publicados hasta la actualidad.

V.8. PREDICCIÓN DE RIESGO DE REACCIÓN ADVERSA Y DE FRACASO DE LA ITO

Con nuestro trabajo, hemos podido demostrar que determinados parámetros inmunológicos basales son útiles para predecir el perfil de seguridad del tratamiento. Estos datos pueden ayudar a los clínicos a seleccionar a aquellos pacientes con alta probabilidad de completar la ITO de forma segura. Igualmente permiten que se pueda aportar a los padres y al paciente, información personalizada sobre los riesgos del tratamiento antes de decidirse por él.

En nuestro estudio los pacientes que pudieron completar con éxito la ITO y mantenían la tolerancia a los 12 meses de seguimiento, tenían niveles basales más bajos de IgE para clara, OVA y OVM. Los que presentaron reacciones adversas moderadas o graves durante la fase de inducción de la ITO y a lo largo de los 12 meses de tratamiento, tenían niveles séricos basales más altos de IgE específica para clara, OVA y OVM, y los pacientes que habían presentado clínica moderada o grave en la última reacción presentaban un mayor porcentaje de reacciones adversas moderadas o graves durante la fase de inducción.

En base a estos resultados, se cumple uno de los objetivos del estudio que era identificar posibles predictores clínicos e inmunológicos que ayudaran a identificar aquellos niños en los que la ITO con huevo podría fracasar, o no ser suficientemente segura.

La IgE específica para clara, OVA y OVM, tiene la misma capacidad predictiva y estadísticamente significativa, de fracaso durante la fase de inducción. El modelo de regresión múltiple seleccionó la IgE para clara, como la variable con mayor capacidad predictiva para valorar el fracaso de la ITO. La IgE para clara es, en cualquier caso, la que presenta mejores resultados de validez diagnóstica: para un punto de corte 19,3 kU/L, la sensibilidad es del 75% y la especificidad del 84%.

Mediante el análisis de regresión logística se obtiene una ecuación que puede ayudar valorar la probabilidad de fracaso antes de iniciar la ITO. Como ejemplo de su aplicación, para un paciente con una IgE basal para clara de 50 kU/L, aplicando la ecuación de probabilidad de riesgo derivada del estudio ($p/1-p = 0,070 \times 1,048^{\text{IgE clara}}$) se obtiene una probabilidad de fracaso del 42 %.

Los resultados son similares al predecir el fracaso a los 12 meses con la IgE para clara, que es también la variable más relevante. Para un punto de corte de 18,3 kU/L, la sensibilidad es del 63% y la especificidad del 85%. La aplicación de la ecuación derivada de nuestro estudio ($p/1-p = 0,182 \times 1,039^{\text{IgE clara}}$) para un paciente con una IgE basal para clara de 50 kU/L, proporciona una probabilidad de fracaso, a los 12 meses de tratamiento, del 55%, similar a la obtenida durante la fase de inducción.

La probabilidad de reacción moderada o grave en la fase de inducción (RAMG-FI) depende también de los 3 parámetros inmunológicos y de la gravedad del último evento (RAMG-UR). Los modelos ajustados concluyen que la IgE OVA y la RAMG-UR, son suficientes para alcanzar la máxima predictibilidad en un modelo, con una sensibilidad y especificidad en torno al 65%.

La aplicación de la ecuación derivada de nuestro estudio ($p/1-p = 0,177 \times 1,102^{\text{IgE OVA}} \times 4,43^{\text{RAMG-UR}}$), para un paciente con IgE-clara basal de 50 kU/L y con antecedente de reacción alérgica adversa grave-moderada con el huevo, proporciona una probabilidad del 99 % de presentar RAMG-FI.

La probabilidad de reacción moderada/grave a los 12 meses (RAMG-12), depende de los 3 parámetros inmunológicos, pero no hay suficiente evidencia estadística para relacionarla con la RAMG-UR. La IgE OVA es el parámetro con mayor valor pronóstico, con una sensibilidad del 50% y una especificidad del 88%.

La aplicación de la ecuación derivada de nuestro estudio ($p/1-p = 0,335 \times 1,091^{IgE^{OVA}}$) para un paciente con una IgE basal para OVA de 50 kU/L, nos proporciona una probabilidad de RAMG-12 del 98 %.

Sólo un estudio publicado por Vázquez y cols. (125), analiza los niveles de IgE sérica específica, como predictores de riesgo de presentar reacciones adversas durante la ITO con huevo. Se trata de un estudio retrospectivo, no aleatorizado, con un periodo de seguimiento variable, no homogéneo (mediana de seguimiento de 18 meses en los grupos activo y control. RIC de 13-25 meses para el grupo control, y de 13-22 meses para el grupo activo). Los autores concluyen que los niveles de IgE para OVA eran el factor que mejor predecía la persistencia de las reacciones adversas. Niveles inferiores a 6,49 kU/L indicaban una probabilidad del 79% de pertenecer al grupo de reacciones transitorias (sin reacciones en los 4 meses previos al último control, mientras que niveles superiores, una probabilidad del 95% de pertenecer al grupo de reacciones adversas persistentes a lo largo de todo el periodo de tratamiento.

Nuestro trabajo es el primer estudio controlado en el que se analizan los parámetros clínicos e inmunológicos como predictores de riesgo de reacción adversa y fracaso de la ITO con huevo. Identificar a los pacientes con alto riesgo de presentar reacciones adversas graves-moderadas con la ITO, va a permitir considerar en ellos pautas de tratamiento más lentas (97,99,177), administrar premedicación (anti-histamínicos, cromonas, antileucotrienos)(178), o asociar tratamiento con omalizumab (86,135).

V.9. ANÁLISIS DE CITOCINAS

Los niveles de citocinas IL-2, IL-4, IL-5, IL-10 e IFN- γ , estaban por debajo del umbral de detección de la técnica, por lo que se tuvo que suspender su determinación y no han podido analizarse.

La técnica utilizada es la *BD cytometric bead array human TH1/TH2 cytokine kit*; *BD Biosciences, San Diego, Calif*, la misma aplicada en el estudio del grupo de Sampson del Hospital Monte Sinaí de Nueva York (referente internacional en alergia alimentaria) (169), en el que tras analizar la producción de citocinas en el sobrenadante de cultivos celulares estimulados con extracto de cacahuete y los niveles de IFN- γ , TNF- α , e IL-10, se vió -como en nuestro estudio- que estaban por debajo del nivel de detección.

En el trabajo de inmunoterapia sublingual con avellana de Ernesto Enrique y cols. (146), se analizaron las concentraciones de IL-4, IL-5, IL-10, TGF- β e IFN- γ con la técnica ELISA, utilizando *kits* de BLK (Biolink 2000, Barcelona, Spain) y obteniendo niveles detectables sólo para IL-10 y no detectables para IL-4, IL-5, IL-10, TGF- β e IFN- γ .

Con la técnica empleada en nuestro estudio no se pudieron determinar los niveles de citocinas IL-2, IL-4, IL-5, IL-10 e IFN- γ en suero

CAPITULO VI: CONCLUSIONES

- 1.- En nuestro estudio, la ITO con clara de huevo fue un tratamiento eficaz para el desarrollo de desensibilización completa en la mayoría (84%) de los niños de 6 a 9 años con alergia demostrada a huevo.
- 2.- Tras 12 meses de ITO (fase de inducción y mantenimiento), la mayoría (71%) de los pacientes mantenían desensibilización total y estaban tomando huevo de forma libre frente a sólo 16% de los pacientes del grupo control, que alcanzaron la tolerancia de forma espontánea.
- 3.- La administración de una dosis de clara pasteurizada tres días a la semana, en la fase de mantenimiento, puede considerarse suficiente para conservar la tolerancia alcanzada en la fase de inducción.
- 4.- Las reacciones adversas con ITO fueron frecuentes:
 - Casi todos los pacientes (81%) presentaron reacciones adversas durante la ITO
 - La mayoría de las dosis fueron toleradas, solo 4,9% desencadenaron reacción alérgica.
 - La mayor parte de las reacciones fueron leves y sólo 2% se catalogaron como "graves", por presentar clínica de broncoespasmo. Ningún paciente desarrolló edema laríngeo, hipotensión o shock anafiláctico.
- 5.- Ningún paciente desarrolló esofagitis eosinofílica, ni durante la fase de inducción de la ITO, ni en la de mantenimiento.

- 6.- En el grupo control, 27% de los pacientes presentaron reacciones adversas por exposición inadvertida o accidental.
- 7.- Los pacientes que pudieron completar con éxito la ITO y mantenían la desensibilización total a los 12 meses de seguimiento, tenían unos niveles basales de IgE para clara, OVA y OVM, más bajos.
- 8.- La IgE para clara mostró ser la variable con mayor capacidad predictiva para valorar el fracaso de la ITO durante la fase de inducción. Un punto de corte de 19,3 kU/L de sIgE para clara de huevo, identificó a los pacientes con fracaso de la ITO (sensibilidad 75%, especificidad 84%) permite valorar la probabilidad de fracaso de la ITO en la fase de inducción ($p/1-p = 0,070 \times 1,048^{IgE \text{ clara}}$). Un punto de corte de 18,3 kU/L de sIgE de clara de huevo, identificó a los pacientes con fracaso de la ITO (sensibilidad 63%, especificidad del 85%) a lo largo de los 12 meses de tratamiento ($p/1-p = 0,182 \times 1,039^{IgE \text{ clara}}$).
- 9.- Los pacientes que desarrollaron reacciones adversas moderadas o graves durante la ITO, tenían niveles séricos basales de IgE específica (clara, OVA y OVM) más elevados y antecedentes de reacción adversa moderada-grave en la última reacción, antes de iniciar el tratamiento.
- La IgE OVA al inicio del tratamiento resultó ser la variable con mayor capacidad predictiva de reacción adversa moderada-grave a lo largo de los 12 meses de tratamiento (sensibilidad 50%, especificidad 88%), probabilidad de reacción ($p/1-p = 0,335 \times 1,091^{IgE \text{ OVA}}$).
 - Los niveles de IgE OVA y el antecedente de reacción adversa moderada-grave en el último evento, mostraron mayor capacidad

predictiva de reacción adversa moderada-grave durante la fase de inducción de la ITO (sensibilidad y especificidad en torno al 65%), probabilidad de reacción ($p = 0,177 \times 1,102^{\text{IgE OVA}} \times 4,43^{\text{RAMG-UR}}$).

BIBLIOGRAFIA.

1. Carrard A, Rizzuti D, Sokollik C. Update on food allergy. *Allergy*. 2015; 70: 1511-20.
2. Lucendo AJ, Arias Á, González-Cervera J, Yagüe-Compadre JL, Guagnozzi D, Angueira T, et al. Empiric 6-food elimination diet induced and maintained prolonged remission in patients with adult eosinophilic esophagitis: a prospective study on the food cause of the disease. *J Allergy Clin Immunol*. 2013; 131:797-804.
3. Crespo JF, Pascual C, Burks AW, Helm RM, Esteban MM. Frequency of food allergy in a pediatric population from Spain. *Pediatr Allergy Immunol*. 1995; 6:39-43.
4. Nwaru BI, Hickstein L, Panesar SS, Roberts G, Muraro A, Sheikh A, et al. On behalf of The EAACI Food Allergy Anaphylaxis Guidelines Group. Prevalence of common food allergies in Europe: a systematic review and meta-analysis. *Allergy*. 2014; 69:992-1007.
5. Fernández Rivas M. Food allergy in Alergológica-2005. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2009; 19 (Suppl 2):37-44.
6. Xepapadaki P, Fiocchi A, Grabenhenrich L, Roberts G, Grimshaw KE, Fiandor A, et al. Incidence and natural history of hen's egg allergy in the first 2 years of life – the Euro Prevall birth cohort study. *Allergy*. 2016; 71:350-7.
7. Martorell A, Plaza AM, Boné J, Nevot S, García Ara MC, Echeverría L, et al. Cow's milk protein allergy. A multi-centre study: clinical and epidemiological aspects. *Allergol Immunopathol*. 2006; 34:46-53.

8. Hill DJ, Bannister DG, Hosking CS, Kemp AS. Cow milk allergy within the spectrum of atopic disorders. *Clin Exp Allergy* 1994; 24: 1137-43.
9. Diéguez MC, Cerecedo I, Muriel A, Zamora J, Sánchez-Cano M, De la Hoz B. Skin prick test predictive value on the outcome of a first known egg exposure in milk-allergic children. *Pediatr Allergy Immunol.* 2008; 19:319-24.
10. García C, El-Qutob D, Martorell A, Febrer I, Rodríguez M, Cerdá JC, et al. Sensitization in early age to food allergens in children with atopic dermatitis. *Allergol Immunopathol.* 2007; 35:15-20.
11. Monti G, Muratore MC, Peltran A, Bonfante G, Silvestro L, Oggero R, et al. High incidence of adverse reactions to egg challenge on first known exposure in young atopic dermatitis children: predictive value of skin prick test and radioallergosorbent test to egg proteins. *Clin Exp Allergy.* 2002; 32: 1515-9.
12. Caffarelli C, Cavagni G, Giordano S, Stapane I, Rossi C. Relationship between oral challenges with previously uningested egg and egg-specific IgE antibodies and skin prick tests in infants with food allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 1995; 95:1215-20.
13. 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; 38:113-7.
14. Boyano-Martinez T, Garcia-Ara C, Diaz-Pena JM, Martín-Esteban M. Prediction of tolerance on the basis of quantification of egg white-specific IgE antibodies in children with egg allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2002; 110:304-9.
15. Montesinos E, Martorell A, Félix R, Cerdá JC. Egg white specific IgE levels in serum as clinical reactivity predictors in the course of egg allergy follow-up. *Pediatr Allergy Immunol.* 2010; 21:634-9.

16. Alonso Lebrero E, Fernández Moya L, Somoza Álvarez ML. Alergia a leche y huevo en niños. *Alergol Inmunol Clin*. 2001; 16 (Extraordinario Núm. 2): 96-115.
17. Savage JH, Matsui EC, Skripak JM, Wood RA. The natural history of egg allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2007; 120:1413-1417.
18. 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; 41: 706-12.
19. Rhodes HL, Sporik R, Thomas P, Holgate ST, Cogswell JJ. Early life risk factors for adult asthma: a birth cohort study of subjects at risk. *J Allergy Clin Immunol*. 2001; 108:720-725.
20. Wang J, Visness CM, Sampson HA. Food allergen sensitization in inner-city children with asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2005; 115:1076-1080.
21. Nickel R, Kulig M, Forster J, Bergmann R, Bauer CP, Lau S, et al. Sensitization to hen's egg at the age of twelve months is predictive for allergic sensitization to common indoor and outdoor allergens at the age of three years. *J Allergy Clin Immunol*. 1997; 99:613-7.
22. Dean T, Venter C, Pereira B, Arshad SH, Grundy J, Clayton CB, et al. Patterns of sensitization to food and aeroallergens in the first 3 years of life. *J Allergy Clin Immunol*. 2007; 120:1166-7.
23. Schroeder A, Kumar R, Pongracic JA, Sullivan CL, Caruso DM, Costello J, et al. Food Allergy is Associated with an Increased Risk of Asthma. *Clin Exp Allergy*. 2009; 39: 261-270.
24. Joo K, Kato Y. Assessment of allergenic activity of a heat-coagulated ovalbumin after in vivo digestion. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2006; 70:591-7.

25. 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; 100: 171-6.
26. Bernhisel-Broadbent J, Dintzis HM, Dintzis RZ, Sampson HA. Allergenicity and antigenicity of chicken egg ovomucoid (Gal d III) compared with ovalbumin (Gal d I) in children with egg allergy and in mice. *J Allergy Clin Immunol*. 1994; 93:1047-59.
27. Langeland T. A clinical and immunological study of allergy to hen's egg white. VI. Occurrence of proteins cross-reacting with allergens in hen's egg white as studied in egg white from turkey, duck, goose, seagull, and in hen egg yolk, and hen and chicken sera and flesh. *Allergy*. 1983; 38:399-412.
28. Szépfalusi Z, Ebner C, Pandjaitan R, Orlicek F, Scheiner O, Boltz-Nitulescu G, et al. Egg yolk a -livetin (chicken serum albumin) is a cross-reactive allergen in the bird-egg syndrome. *J Allergy Clin Immunol*. 1994; 93: 932-42.
29. De Blay F, Hoyet C, Candolfi E, Thierry R, Pauli G. Identification of alpha livetin as a cross reacting allergen in a bird-egg syndrome. *Allergy Proc*. 1994; 15:77-8.
30. Quirce S, Maranon F, Umpierrez A, de las Heras M, Fernandez-Caldas E, Sastre J. Chicken serum albumin (Gal d 5*) is a partially heat-labile inhalant and food allergen implicated in the bird-egg syndrome. *Allergy*. 2001; 56:754-62.
31. Lemon-Mule H, Sampson HA, Sicherer SH, Schreffler WG, Noone S, Novak-Wegrzyn A. Immunologic changes in children with egg allergy ingesting extensively heated egg. *J Allergy Clin Immunol*. 2008; 122:977-983.
32. Novak-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; 9:234-237.

33. Novak-Wegrzyn A, Bloom KA, Sicherer SH, Schreffler WG, Noone S, Wanich N, et al. Tolerance to extensively heated milk in children with cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 122:342-7.
34. Ando H, Moverare R, Kondo Y, Tsuge I, Tanaka A, Magnus P, et al. Utility of ovomucoid-specific IgE concentrations in predicting symptomatic egg allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2008; 122:583-8.
35. 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; 5:96-101.
36. Eigenmann PA, Sicherer SH, Borkowski TA, Cohen BA, Sampson HA. Prevalence of IgE-mediated food allergy among children with atopic dermatitis. *Pediatrics*. 1998; 101 (Suppl 1): E8.
37. Lack G. Epidemiologic risks for food allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2008; 121:1331-6.
38. Worbs T, Bode U, Yan S, Hoffmann MW, Hintzen G, Bernhardt G et al. Oral tolerance originates in the intestinal immune system and relies on antigen carriage by dendritic cells. *J Exp Med*. 2006; 203:519-27.
39. Chehade M, Mayer L. Oral tolerance and its relation to food hypersensitivities. *J. Allergy Clin Immunol*. 2005; 115: 3-12.
40. Friedman A, Weiner H L. Induction of anergy or active suppression following oral tolerance is determined by antigen dosage. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994; 91: 6688-92.
41. Strobel S, Mowat A M. Oral tolerance and allergic responses to food proteins. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2006; 6: 207-13.
42. Coombes JL, Siddiqui KR, Arancibia-Cárcamo CV, Hall J, Sun CM, Belkaid Y et al. A functionally specialized population of mucosal CD103+ DCs induces Foxp3+ regulatory T cells via a

- TGF-beta and retinoic acid-dependent mechanism. *J Exp Med.* 2007; 204:1757-64.
43. Vickery BP, Scurlock AM, Jones SM, Burks AW. Mechanisms of immune tolerance relevant to food allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2011; 127:576-84.
 44. Akdis CA, Akdis M. Mechanisms of allergen specific immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol.* 2011; 127:18-27.
 45. Savilahti EM, Savilahti E. Development of natural tolerance and induced desensitization in cow's milk allergy. *Pediatr Allergy Immunol.* 2013; 24: 114-21.
 46. Vocca I, Canani RB, Camarca A, Ruotolo S, Nocerino R, Radano G, et al. Peripheral blood immune response elicited by beta-lactoglobulin in childhood cow's milk allergy. *Pediatr Res.* 2011; 70: 549-54.
 47. Bloebaum RM, Dharajiya N, Grant JA. Mechanisms of IgE-mediated allergic reactions. *Clin Allergy Immunol.* 2004; 18:65-84.
 48. Janeway CA Jr, Travers P, Walport M, Schlomdik M . Immunobiology: The immune system in health and disease. 6th ed. New York: Garland Science ,2005.
 49. Abbas AK, Litchman AH, Pillai S. Inmunología celular y molecular. 6ª ed. Barcelona: Elsevier, 2008.
 50. Wood RA. Food allergen immunotherapy: Current status and prospects for the future. *J Allergy Clin Immunol.* 2016; 137:973-82.
 51. Liccardi G, Szépfalusi Z, Noschese P, Nentwich I, D Amato M, D Amato G. Allergy to chicken meat without sensitization to egg proteins: A case report. *J Allergy Clin Immunol.* 1997; 100:577-9.
 52. Sokolova, A, Célia-Costa A, Conceição M, Bartolomé B, Pereira M. Severe allergy to poultry meat without sensitisation to egg proteins with concomitant Leguminosae allergy. Case report. *Allergol Immunopathol (Madr).*2009; 37:168-70.

53. Añibarro B, García-Ara MC, Martín M, Boyano T, Diaz JM, Ojeda JA. Peculiarities of egg allergy in children with bird protein sensibilization. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1997; 78: 213-6.
54. 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; 122:414–415.
55. Martos G, Lopez-Exposito I, Bencharitiwong R, Berin MC, Nowak-Wegrzyn A. Mechanisms underlying differential food allergy response to heated egg. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;127: 990-7.
56. 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; 5: 42-7.
57. 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; 130:473-80.
58. Des Roches A, Nguyen M, Paradis L, Primeau MN, Singer S. Tolerance to cooked egg in an egg allergic population. *Allergy.* 2006; 61:900-1.
59. Lieberman JA, Huang FR, Sampson HA, Nowak-Wegrzyn A. Outcomes of 100 consecutive open, baked-egg oral food challenges in the allergy office. *J Allergy Clin Immunol.* 2012; 129:1682–4.
60. 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. *J Allergy Clin Immunol.* 2011; 127:668–76.
61. Fleischer DM, Tamara, Perry TT, Atkins D, Wood RA, Burks AW, et al. Allergic Reactions to Foods in Preschool-Aged Children in

- a Prospective Observational Food Allergy Study. *Pediatrics*. 2012; 130: e25-e32.
62. Worm M, Moneret-Vautrin A, Scherer K, Lang R, Fernandez-Rivas M, Cardona V, et al. First European data from the network of severe allergic reactions (NORA). *Allergy*. 2014; 69:1397-404.
 63. Umasunthar T, Leonardi-Bee J, Turner PJ, Hodes M, Gore C, Warner JO et al Incidence of food anaphylaxis in people with food allergy: a systematic review and meta-analysis. *Clin Exp Allergy*. 2015;45: 1621-36.
 64. Tejedor-Alonso MA, Moro-Moro M, Mosquera González M, Rodríguez-Alvarez M, Pérez Fernández E, Latasa Zamalloa P, et al. Increased incidence of admissions for anaphylaxis in Spain 1998-2011. *Allergy*. 2015; 70:880-3.
 65. Boyano T, García-Ara C, Larco J, Cuevas T, Díaz-Pena J, Quirce S. Accidental Allergic Reactions (AAR) in Children With Egg Allergy (EA). *J Allergy Clin Immunol*. 2008; 121 (suppl 1): S243.
 66. Allen CW, Kemp AS, Campbell DE. Dietary advice, dietary adherence and the acquisition of tolerance in egg-allergic children: a 5-yr follow-up. *Pediatr Allergy Immunol*. 2009; 20:213-8.
 67. Flokstra-de Blok BM, Dubois AE, Vlieg-Boerstra BJ, Oude Elberink JN, Raat H, DunnGalvin A, et al. Health-related quality of life of food allergic patients: comparison with the general population and other diseases. *Allergy*. 2010; 65:238-44.
 68. 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; 65:933-45.
 69. Bollinger ME, Dahlquist LM, Mudd K, Sonntag C, Dillinger L, McKenna K. The impact of food allergy on the daily activities of children and their families. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2006; 96:415-21.

70. Jones SM, Scurlock AM. The impact of food allergy: the real "fear factor". *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2006; 96:385-6.
71. Mikkelsen A, Mehlig K, Borres MP, Oxelmark L, Björkelund C, Lissner L. Monitoring the impact of cow's milk allergy on children and their families with the FLIP questionnaire - a six-month follow-up study. *Pediatr Allergy Immunol.* 2015; 26:409-15.
72. Wassenberg J, Cochard MM, Dunngalvin A, Ballabeni P, Flokstrade Blok BM, Newman CJ, et al. Parent perceived quality of life is age-dependent in children with food allergy. *Pediatr Allergy Immunol.* 2012; 23:412-9.
73. Akdis M, Akdis CA. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy: multiple suppressor factors at work in immunetolerance to allergens. *J Allergy Clin Immunol.* 2014; 133:621-31.
74. Berin MC, Sicherer S. Foodallergy: mechanisms and therapeutics. *Curr Opin Immunol.* 2011; 23:794-800.
75. Berin MC. Future therapies for IgE-mediated food allergy. *Curr Pediatr Rep.* 2014; 2: 119-26.
76. Keet CA, Wood RA. Emerging therapies for food allergy. *J Clin Invest.* 2014; 124: 1880-6.
77. Schofield AT. A case of egg poisoning. *Lancet.* 1908; 1:716.
78. Patriarca G, Romano A, Venuti A, Schiavino D, Di Rienzo V, Nucera E, et al. Oral specific hyposensitization in the management of patients allergic to food. *Allergol Immunopatol.* 1984; 12:275-281.
79. Martorell A, Perez C, Cerdá JC, Ferriols E, Alvarez V. Inducción de tolerancia clínica en alérgicos a leche de vaca. *Allergol Immunopathol.* 2002; 30 (Suppl 1): 183.
80. Martorell A. Avances en medidas de control dietético en las patologías alérgicas. *Alergol Inmunol Clin.* 2002; 17:145-52.

81. Morisset M, Moneret-Vautrin DA, Guenard L, Cuny JM, Frenzt 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; v39: 12-9.
82. Skripak JM, Nash SD, Rowley H, Brereton NH, Oh S, Hamilton RG, et al. A randomized, doubleblind, placebo-controlled study of milk oral immunotherapy for cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2008; 122:1154-60.
83. Burks AW, Jones SM, Wood RA, Fleischer DM, Sicherer SH, Lindblad RW, et al; Consortium of Food Allergy Research (CoFAR). Oral immunotherapy for treatment of egg allergy in children. *N Engl J Med.* 2012; 367:233-43.
84. Begin P, Dominguez T, Wilson SP, Bacal L, Mehrotra A, Kausch B, et al. Phase 1 results of safety and tolerability in a rush oral immunotherapy protocol to multiple foods using Omalizumab. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2014; 10:7-16.
85. Vazquez-Ortiz M, Turner PJ. Improving the safety of oral immunotherapy for food allergy. *Pediatr Allergy Immunol.* 2016; 27:117-25.
86. Wood RA, Kim JS, Lindblad R, Nadeau K, Henning AK, Dawson P et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled study of omalizumab combined with oral immunotherapy for the treatment of cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2016; 137:1103-10.
87. Burbank AJ, Sood P, Vickery BP, Wood RA. Oral Immunotherapy for Food Allergy. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2016; 36:55-69.
88. Peters RL, Dang TD, Allen KJ. Specific Oral Tolerance Induction in Childhood. *Pediatr Allergy Immunol.* 2016; 27: 784-94.

89. Keet CA, Seopaul S, Knorr S, Narisety S, Skripak J, Wood RA. Long-term follow-up of oral immunotherapy for cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2013; 132:737-9.
90. Martorell A, Alonso E, Echeverría L, Escudero C, García-Rodríguez R, Blasco C, et al. Oral Immunotherapy for Food Allergy: A Spanish Guideline. Immunotherapy Egg and Milk Spanish Guide (ITEMS Guide). Part I: Cow Milk and Egg Oral Immunotherapy: Introduction, Methodology, Rationale, Current State, Indications, Contraindications, and Oral Immunotherapy Build-up Phase. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2017; 27: 225-237.
91. Patriarca G, Nucera E, Roncallo C, Pollastrini E, Bartolozzi F, De Pasquale T, et al. Oral desensitizing treatment in food allergy: clinical and immunological results. *Aliment Pharmacol Ther*. 2003; 17: 459-65.
92. Patriarca G, Schiavino D, Nucera E, Schinco G, Milani A, Gasbarrini GB. Food allergy in children: results of a standardized protocol for oral desensitization. *Hepatogastroenterology*. 1998; 45:52-8.
93. Buchanan AD, Green TD, Jones SM, Scurlock AM, Christie L, Althage KA, et al. Egg oral immunotherapy in nonanaphylactic children with egg allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2007; 119:199-205.
94. 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; 105:444-50.
95. 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 post-desensitization follow-up. *Allergy*. 2015; 3:532-9.
96. Escudero C, del Rio PR, Sanchez-Garcia S, Perez-Rangel I, Perez-Farinos N, Garcia-Fernandez C, et al. Early sustained unresponsiveness after short-course egg oral immunotherapy: a randomized controlled study in egg-allergic children. *Clin Exp Allergy*. 2015; 45:1833-43.
 97. 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; 24:66-74.
 98. 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*. 2013; 41: 143-50.
 99. 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. *Pediatr Allergy Immunol*. 2013; 24:75-83.
 100. García Rodríguez R, Urrea JM, Feo-Brito F, Galindo PA, Borja J, Gómez E, et al. Oral rush desensitization to egg: efficacy and safety. *Clin Exp Allergy*. 2011; 41:1289-96.
 101. Romantsik O, Bruschetini M, Tosca MA, Zappettini S, Della Casa Alberighi O et al. Oral and sublingual immunotherapy for egg allergy. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014 Nov 18; 11:CD010638.
 102. Longo G, Barbi E, Berti I, Meneghetti R, Pittalis A, Ronfani L et al. Specific oral tolerance induction in children with very severe cow's milk-induced reactions. *J Allergy Clin Immunol*. 2008; 121:343-7.

103. Nurmatov U, Dhimi S, Arasi S, Pajno GB, Fernandez-Rivas M, Muraro A, et al. Allergen immunotherapy for IgE-mediated food allergy: a systematic review and meta-analysis. *Allergy*. 2017; 72:1133-1147.
104. 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; 62:1261-9.
105. Syed A, Garcia MA, Lyu SC, Bucayu R, Kohli A, Ishida S, et al. Peanut oral immunotherapy results in increased antigen-induced regulatory T-cell function and hypomethylation of forkhead box protein 3 (FOXP3). *J Allergy Clin Immunol*. 2014; 133:500-10.
106. Vickery BP, Scurlock AM, Kulis M, Steele PH, Kamilaris J, Berglund JP, et al. Sustained unresponsiveness to peanut in subjects who have completed peanut oral immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*. 2014; 133:468-75.
107. Jones SM, Pons L, Roberts JL, Scurlock AM, Perry TT, Kulis M, et al. Clinical efficacy and immune regulation with peanut oral immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*. 2009; 124:292-300.
108. Gorelik M, Narisety SD, Guerrero AL, Chichester KL, Keet CA, Bieneman AP, et al. Suppression of the immunologic response to peanut during immunotherapy is often transient. *J Allergy Clin Immunol*. 2015; 135:1283-92.
109. Martorell A, De la Hoz B, Ibáñez MD, Bone J, Terrados MS, Michavila A, et al. Oral desensitization as a useful treatment in 2-year-old children with cow's milk allergy. *Clin Exp Allergy*. 2011; 41:1297-304.
110. Vickery BP, Lin J, Kulis M, Fu Z, Steele PH, Jones SM, et al. Peanut oral immunotherapy modifies IgE and IgG4 responses to major peanut allergens. *J Allergy Clin Immunol*. 2013; 131:128-34.

111. Chen Y, Inobe J, Marks R, Gonnella P, Kuchroo VK, Weiner HL. Peripheral deletion of antigen-reactive T cells in oral tolerance. *Nature*. 1995; 376:177–80.
112. Begin P, Nadeau KC. Changes in peanut-specific T-cell clone type with oral immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2015; 135:1636-8.
113. Wood RA. Oral Immunotherapy for Food Allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2017; 27:151-159.
114. Brozek JL, Terracciano L, Hsu J, Kreis J, Compalati E, Santesso N, et al. Oral immunotherapy for IgE-mediated cow's milk allergy: a systematic review and meta-analysis. *Clin Exp Allergy*. 2012; 363-74.
115. Nurmatov U, Devereux G, Worth A, Healy L, Sheikh A. Effectiveness and safety of orally administered immunotherapy for food allergies: a systematic review and meta-analysis. *Br J Nutr* . 2014 ;111 :12-22.
116. Vazquez-Ortiz M, Alvaro M, Piquer M, Giner MT, Dominguez O, Lozano J, et al. Life-threatening anaphylaxis to egg and milk oral immunotherapy in asthmatic teenagers. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2014; 113:482-4(1).
117. Nieto A, Fernandez-Silveira L, Mazon A, Caballero L. Life-threatening asthma reaction caused by desensitization to milk. *Allergy*. 2010; 65:1342-3.
118. Sánchez-García S, Rodríguez Del Río P, Escudero C, Martínez-Gómez MJ, Ibáñez MD. Possible eosinophilic esophagitis induced by milk oral immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*. 2012; 129:1155-1157.
119. Lucendo AJ, Arias A, Tenias JM. Relation between eosinophilic esophagitis and oral immunotherapy for food allergy: a systematic

- review with meta-analysis. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2014; 113:624-9.
120. Trendelenburg V, Beyer K, Blumchen K. Efficacy and safety balance of oral and sublingual immunotherapy in food allergy. *Curr Treat Options Allergy*. 2014; 1: 117-132.
121. Sampson HA. Anaphylaxis and emergency treatment. *Pediatrics*. 2003; 111: 1601-8.
122. Vázquez-Ortiz M, Alvaro-Lozano M, Alsina L, Garcia-Paba MB, Piquer-Gibert M, Giner-Muñoz MT, et al. Safety and predictors of adverse events during oral immunotherapy for milk allergy: severity of reaction at oral challenge, specific IgE and prick test. *Clin Exp Allergy*. 2013; 43:92-102.
123. Savilahti EM, Kuitunen M, Valori M, Rantanen V, Bardina L, Gimenez G, et al. Use of IgE and IgG4 epitope binding to predict the outcome of oral immunotherapy in cow's milk allergy. *Pediatr Allergy Immunol*. 2014; 25:227-35.
124. García-Ara C, Pedrosa M, Belver MT, Martín-Muñoz MF, Quirce S, Boyano-Martínez T. Efficacy and safety of oral desensitization in children with cow's milk allergy according to their serum specific IgE level. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2013; 110:290-4.
125. Vázquez-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; 44:130-41.
126. Prussin CL, Griffith DT, Boesel KM, Lin H, Foster B, Casale TB. Omalizumab treatment downregulates dendritic cell FcεpsilonRI expression. *J Allergy Clin Immunol*. 2003; 112:1147-54.
127. Savage JH, Courneya JP, Sterba PM, Macglashan DW, Saini SS, Wood RA. Kinetics of mast cell, basophil, and oral food challenge

- responses in omalizumab-treated adults with peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2012; 130:1123–1129.
128. González I, Blasco A, Venturini M, Sánchez M, Navarro A, del Pozo MD et al. Desensibilización a huevo con omalizumab. *Allergol Immunopathol Proc*. 2013; 1:251.
129. Candón Morillo R, Burgos Montero AM, Ruiz León B, Moreno Mata E, González Sánchez LA. Inducción de tolerancia oral (ITO) a proteínas de leche de vaca con omalizumab en pacientes anafilácticos. *Allergol Immunopathol Proc*. 2014; 1:275-6.
130. Schneider LC, Rachid R, LeBovidge J, Blood E, Mittal M, Umetsu DT. A pilot study of omalizumab to facilitate rapid oral desensitization in high-risk peanut-allergic patients. *J Allergy Clin Immunol*. 2013; 132:1368-74.
131. Bedoret D, Singh AK, Shaw V, Hoyte EG, Hamilton R, DeKruyff RH, et al. Changes in antigen-specific T-cell number and function during oral desensitization in cow's milk allergy enabled with omalizumab. *Mucosal Immunol*. 2012; 5:267-76.
132. Nadeau KC, Schneider LC, Hoyte L, Borrás I, Umetsu DT. Rapid oral desensitization in combination with omalizumab therapy in patients with cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2011; 127:1622-4.
133. Perez Sención JO, Piraino Sosa PA, Miguel Polo LC, Hernández Agujetas R, Abengózar Múela R, C Senent Sánchez C. Omalizumab como tratamiento adyuvante en la inducción oral de tolerancia (IOT) a la leche de vaca. *J Investg Allergol Clin Immunol*. 2013;23 (supplement 2): 93.
134. Veza- Perdomo S, García González F, Benito MartínezP, Saura Foix P, Sastre Pérez I. Inducción a la tolerancia oral de proteínas de leche de vaca con omalizumab. *J Investg Allergol Clin Immunol*. 2013; 23 (Suppl 2): 95.

135. Martorell-Calatayud C, Michavila A, Martorell-Aragónés A, Molini N; Cerdá JC, Felix R, et al. Anti-IgE-assisted desensitization to egg and cow's milk in patients refractory to conventional oral immunotherapy. *Pediatr Allergy Immunol.* 2016; 27: 544-6.
136. Kim JS, Wood RA, Lindblad R, Noone SA, Paterakis MN, Henning A, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of omalizumab combined with oral immunotherapy (OIT) in the treatment of cow's milk allergy (CMA): Safety of dosing. *J Allergy Clin Immunol.* 2014; 133 (Suppl): AB 403.
137. Lafuente I, Mazon A, Nieto M, Uixera S, Pina R y Nieto A. Possible recurrence of symptoms after discontinuation of omalizumab in anti-IgE-assisted desensitization to egg. *Pediatr Allergy Immunol.* 2014; 25:717-9.
138. Mempel M, Rakosky J, Ring J, Ollert M. Severe anaphylaxis to kiwi fruit: immunological changes related to successful sublingual allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol.* 2003; 111:1406-9.
139. Narisety S D, Frischmeyer-Guerrero PA, Keet C A, Gorelik M, Schroeder J, Hamilton R G et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study of sublingual versus oral immunotherapy for the treatment of peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2015; 135:1275-82.
140. Burks AW, Wood RA, Jones SM, Sicherer SH, Fleischer DM, Scurlock AM, et al; Consortium of Food Allergy Research. Sublingual immunotherapy for peanut allergy: Long-term follow-up of a randomized multicenter trial. *J Allergy Clin Immunol.* 2015; 135:1240-8.
141. Kim EH, Bird JA, Kulis M, Laubach S, Pons L, Sheffler W et al. Sublingual immunotherapy for peanut allergy: clinical and

- immunologic evidence of desensitization. *J Allergy Clin Immunol.* 2011; 127:640–6.
142. Fleischer DM, Burks AW, Vickery BP, Scurlock A M, Wood R A, Jones Stacie M et al. Sublingual immunotherapy for peanut allergy: a randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter trial. *J Allergy Clin Immunol.* 2013; 131:119–27.
143. Chin S J, Vickery B P, Kulis M D, Kim E H, Varshney P, Steele P et al. Sublingual versus oral immunotherapy for peanut-allergic children: A retrospective comparison. *J Allergy Clin Immunol.* 2013; 132:476-8.
144. Keet C A, Frischmeyer-Guerrerio PA, Thyagarajan A, Schroeder J T, Hamilton R G, Boden S et al. The safety and efficacy of sublingual and oral immunotherapy for milk allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2012; 129:448-55.
145. De Boissieu D, Dupont C. Sublingual immunotherapy for cow's milk protein allergy: a preliminary report. *Allergy.* 2006; 61:1238-9.
146. Enrique E, Pineda F, Malek T, Bartra J, Basagana M, Tella R et al. Sublingual immunotherapy for hazelnut food allergy: a randomized, double-blind, placebo- controlled study with a standardized hazelnut extract. *J Allergy Clin Immunol.* 2005; 116:1073-9.
147. Fernandez-Rivas M, Garrido Fernandez S, Nadal JA,, Diaz de Duana, Garcia B E, Gonzales-Mancebo E et al. Randomized double-blind, placebo-controlled trial of sublingual immunotherapy with a Pru p 3 quantified peach extract. *Allergy.* 2009; 64:876-83.
148. Nucera E, Schiavino D, Buonomo A, Pollastrini E, Altomonte G, Pecora V et al. Sublingual-Oral Rush Desensitization to Mixed Cow and Sheep Milk: A Case Report. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2008; 18:219-222.

149. Khoriaty E, Umetsu DT. Oral Immunotherapy for food allergy: towards a new horizon. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2013; 5: 3-15.
150. Oppenheimer JJ, Nelson HS, Bock SA, Christensen F, Leung DY. Treatment of peanut allergy with rush immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol.* 1992; 90: 256-62.
151. Nelson HS, Lahr J, Rule R, Bock A, Leung D. Treatment of anaphylactic sensitivity to peanuts by immunotherapy with injections of aqueous peanut extract. *J Allergy Clin Immunol.* 1997; 99:744-51.
152. Zuidmeer-Jongejan L, Fernandez-Rivas M, Poulsen LK, Neubauer A, Asturias J, Blom L, et al. FAST: towards safe and effective subcutaneous immunotherapy of persistent life-threatening food allergies. *Clin Transl Allergy.* 2012; 2:5-14.
153. Zuidmeer-Jongejan L, Huber H, Swoboda I, Rigby N, Versteeg SA, Jensen BM, et al. Development of a hypoallergenic recombinant parvalbumin for first-in-man subcutaneous immunotherapy of fish allergy. *Int Arch Allergy Immunol.* 2015; 166:41-51.
154. Bindslev-Jensen C, van Twuijver E, Boot JD, de Kam PJ, Opstelten DJE, van Ree R, et al. Peanut specific immunoglobulin levels following SCIT-treatment with a chemically modified, aluminum hydroxide adsorbed peanut extract (HAL-MPE1) in peanut allergic patients. *Allergy.* 2016; 71(Suppl. 102):59.
155. Dioszeghy V, Mondoulet L, Dhelft V, Ligouis M, Puteaux E, Dupont C, et al. The regulatory T cells induction by epicutaneous immunotherapy is sustained and mediates long-term protection from eosinophilic disorders in peanut-sensitized mice. *Clin Exp Allergy.* 2014; 44:867-81.
156. Mondoulet L, Dioszeghy V, Thebault C, Benhamou PH, Dupont C. Epicutaneous immunotherapy for food allergy as a novel

- pathway for oral tolerance induction. *Immunotherapy* 2015; 7: 1293-305.
157. Mondoulet L, Dioszeghy V, Ligouis M, Dhelft V, Dupont C, Benhamou PH. Epicutaneous immunotherapy on intact skin using a new delivery system in a murine model of allergy. *Clin Exp Allergy*. 2010; 40:659-67.
158. Dupont C, Kalach N, Soulaines P, Legoue-Morillon S, Piloquet H, Benhamou PH. Cow's milk epicutaneous immunotherapy in children: a pilot trial of safety, acceptability, and impact on allergic reactivity. *J Allergy Clin Immunol*. 2010; 125:1165-7
159. Jones SM, Sicherer SH, Burks AW, Leung DY, Lindblad RW, Dawson P, et al; Consortium of Food Allergy Research. Epicutaneous immunotherapy for the treatment of peanut allergy in children and young adults. *J Allergy Clin Immunol*. 2017; 139:1242-1252.
160. Wood RA, Sicherer SH, Burks AW, Grishin A, Henning AK, Lindblad R, et al. A phase 1 study of heat/phenol-killed, E. coli-encapsulated, recombinant modified peanut proteins Ara h 1, Ara h 2, and Ara h 3 (EMP-123) for the treatment of peanut allergy. *Allergy*. 2013; 68:803-8.
161. Calvani M, Cardinale F, Martelli A, Muraro A, Pucci N, Savino F et al; Italian Society of Pediatric Allergy and Immunology Anaphylaxis' Study Group. Risk factors for severe food anaphylaxis in Italy. *Pediatr Allergy Immunol*. 2011; 22:813-9.
162. Muraro A, Werfel T, Hoffmann-Sommergruber K, Roberts G, Beyer K, Bindslev-Jensen C, et al; EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines Group. EAACI food allergy and anaphylaxis guidelines: diagnosis and management of food allergy. *Allergy*. 2014; 69:1008-25.

163. 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; 62:1261-9.
164. Executive Committee GEMA 2009. GEMA 2009 (Spanish guideline on the management of asthma). *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2010; 20(Suppl 1):1-59.
165. Kunz B, Oranje AP, Labrèze L, Stalder JF, Ring J, Taïeb A. Clinical validation and guidelines for the SCORAD index: consensus report of the European Task Force on Atopic Dermatitis. *Dermatology*. 1997; 195:10-9.
166. Jurado-Palomo J, Fiandor-Román AM, Bobolea ID, Sánchez-Pastor S, Pascual CY, Quirce S. Oral challenge with pasteurized egg whites from gallus domesticus. *Int Arch Allergy Immunol*. 2010; 151:331-59.
167. Dreborg S, Backman A, Basomba A, Bousquet J, Dieges P, Malling HJ. Sub-committee on Skin Tests of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology. Skin tests used in type I allergy testing. Position Paper. *Allergy*. 1989; 44 (Suppl 10):1- 59.
168. Carson RT, Vignali DA. Simultaneous quantitation of 15 cytokines using a multiplexed flow cytometric assay. *J Immunol Methods*. 1999; 227:41-52.
169. Blumchen K, Ulbricht H, Staden U, Dobberstein K, Beschorner J, de Oliveira LC, et al. Oral peanut immunotherapy in children with peanut anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol*. 2010; 126:83-91.
170. Bindslev-Jensen C, Ballmer-Weber BK, Bengtsson U, Blanco C, Ebner C, Hourihane J et al Standardization of food challenges in patients with immediate reactions to foods--position paper from the European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Allergy*. 2004; 59:690-7.

171. Nowak-Wegrzyn A, Assa'ad AH, Bahna SL, Bock SA, Sicherer SH, Teuber SS; Adverse Reactions to Food Committee of American Academy of Allergy, Asthma & Immunology. Work Group report: oral food challenge testing. *J Allergy Clin Immunol.* 2009 jun; 123(6 Suppl): S365-83.
172. Haneda Y, Kando N, Yasui M, Kobayashi T, Maeda T, Hino A, et al. Ovomucoids IgE is a better marker than egg white-specific IgE to diagnose boiled egg allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2012; 129:1681-2.
173. Benhamou Senouf AH, Borres MP, Eigenmann PA. Native and denatured egg white protein IgE tests discriminate hen's egg allergic from egg-tolerant children. *Pediatr Allergy Immunol.* 2015; 26:12-17.
174. Wachholz PA, Durham SR. Mechanisms of immunotherapy: IgG revisited. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2004; 4: 313-8.
175. Burton OT, Logsdon SL, Zhou JS, Medina-Tamayo J, Abdel-Gadir A, Noval Rivas M, et al. Oral immunotherapy induces IgG antibodies that act through FcγRIIb to suppress IgE-mediated hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol.* 2014; 134:1310-1317.
176. Ridolo E, De Angelis GL, Dall'aglio P. Eosinophilic esophagitis after specific oral tolerance induction for egg protein. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2011; 106:73-74.
177. Barbi E, Longo G, Berti I, Neri E, Saccari A, Rubert L et al. Adverse effects during specific oral tolerance induction: in home phase. *Allergol Immunopathol (Madr).* 2012; 40:41-50.
178. Nowak-Wegrzyn A, Sampson HA. Future therapies for food allergies. *J Allergy Clin Immunol.* 2011; 127:558-73.

ANEXOS.

ANEXO I. PROVOCACIÓN ORAL DOBLE CIEGO FRENTE A PLACEBO CON CLARA DE HUEVO

PRUEBA DE PROVOCACIÓN ORAL DOBLE CIEGO FRENTE A PLACEBO CON CLARA DE HUEVO

Metodología

Secuencia:

1. CLARA COCIDA
2. CLARA PASTEURIZADA (marca GUILLÉN)

Dosis:

1. CLARA COCIDA:
 - a. 2.5 gr (1/16)
 - b. 5 gr, (1/8)
 - c. 10 gr (1/4)
 - d. 20 gr (1/2) (aproximadamente 4 gr de proteínas acumuladas)
2. CLARA PASTEURIZADA $\frac{1}{2}$ clara=16 ml=1760 mg de proteínas de clara de huevo
 - a. 1ml= 110mg
 - b. 2ml= 220mg
 - c. 4ml= 440mg

- d. 8ml= 880mg
- e. 16ml=1760mg

Intervalos de tiempo entre dosis: dosis administradas cada 30-60 minutos, pudiendo variarse según el tiempo de latencia entre la administración del huevo y el comienzo de la sintomatología recogido en la historia clínica.

Periodo de observación: se aconseja vigilancia durante un mínimo de 2 horas tras la administración de la última dosis.

Receta para enmascaramiento

Ingredientes:

- 50 gr de patata
- 50 gr de zanahoria
- 2 cc de aceite de oliva

Preparación:

- cocer durante 15 minutos en agua con un poco de sal
- triturar con la batidora: 100 gr de las hortalizas cocidas + 125 cc del agua de cocción
- mezclar con la batidora: 120 cc del triturado con 1 clara cocida, o 32 cc de clara cruda pasteurizada. Volumen total aprox 152 cc.

ANEXO II. INFORMACIÓN SOBRE INMUNOTERAPIA ORAL PARA LOS PADRES DEL PACIENTE Y DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

HOJA DE INFORMACIÓN Y CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LOS PADRES/TUTORES DEL PACIENTE

TÍTULO: Estudio controlado de inducción de tolerancia a huevo en niños con alergia mediada por IgE mediante inmunoterapia oral

INVESTIGADOR PRINCIPAL: Dr/Dra.....

Promotor del estudio: Sociedad Española de Inmunología Clínica, Alergología y Asma Pediátrica

INTRODUCCIÓN

Su hijo/a ha sido diagnosticado/a de alergia a huevo. Este tipo de alergia suele ser transitorio, y la mayoría de niños con alergia al huevo alcanza la tolerancia a lo largo de los primeros 5 años de vida. Pero a partir de esta edad, tiende a persistir y puede permanecer durante años con el riesgo de reacción, que puede llegar a ser grave, ante la ingestión accidental de alimentos o bebidas que contienen huevo. Esta situación, obliga a estar pendiente de la composición de los alimentos que puede tomar el/la niño/a.

En la actualidad, el único tratamiento recomendado para la alergia al huevo ha sido la evitación estricta de su ingesta que, en su caso, presenta dificultades añadidas al ser un producto muy utilizado en la elaboración de innumerables alimentos.

Existe la posibilidad de adelantar la tolerancia mediante un protocolo de tratamiento denominado inmunoterapia oral que consiste en dar pequeñas cantidades de clara de huevo que se van aumentando progresivamente hasta la cantidad igual a una toma habitual, con la ventaja de que el paciente pueda ya tolerar el huevo o los alimentos que lo contengan.

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio de investigación en el que se invita a participar a su hijo/a. El estudio ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica de su Hospital. Nuestra intención es que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere, o no, participar en este estudio. Si usted estuviera de acuerdo en que su hijo/a participara en este estudio y fuera sometido a este tratamiento, debe leer cuidadosamente estas hojas de información y preguntar al médico cualquier duda que pueda tener. Nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir. Además, puede consultar con las personas que considere oportuno.

OBJETIVOS:

El objetivo de este estudio es valorar la eficacia y seguridad de un protocolo de inmunoterapia oral con huevo al que es alérgico/a su hijo/a, para que pueda llegar a consumirlo sin presentar reacción alérgica. Además, se van a estudiar cambios en la alergia que se producen en la sangre y en las pruebas alérgicas cutáneas que puedan ayudar a explicar su mecanismo de acción.

DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO

En este estudio participarán 101 niños diagnosticados de alergia a huevo. Se llevará a cabo en 11 Servicios de Alergia hospitalaria de nuestro país. Para confirmar la eficacia del tratamiento, 76 de estos niños

recibirán inmunoterapia oral con huevo pasteurizado y 25 continuarán con la dieta de eliminación de huevo durante un año, sin recibir tratamiento de desensibilización. La asignación a uno u otro grupo se realizará de forma aleatoria.

El tratamiento de inmunoterapia oral consiste en dar pequeñas cantidades de clara de huevo pasteurizada, que se van aumentando progresivamente hasta la cantidad igual a una toma habitual. Los incrementos de las dosis se realizarán en el Hospital donde el paciente permanecerá vigilado y controlado por personal sanitario entrenado en el reconocimiento y manejo de las posibles reacciones adversas que puedan producirse. Estas reacciones pueden aparecer de manera inmediata, o al cabo de unas horas, por lo que deberá permanecer el tiempo necesario, en observación, en nuestra consulta y también puede ocurrir al tomar las dosis en el domicilio, por lo que el médico le informará y le dará instrucciones para su manejo y tratamiento.

Se llevará las instrucciones necesarias indicadas por su médico, así como una hoja indicativa del proceso realizado, por si tuviera que acudir a un Servicio de Urgencias.

Después de finalizar el tratamiento de desensibilización el paciente deberá seguir un tratamiento de mantenimiento con clara pasteurizada, hasta completar un total de 12 meses desde el inicio del tratamiento. Los pacientes se distribuirán al azar para recibir la pauta A o B de mantenimiento (A= 30 ml. de clara pasteurizada todos los días. B= 30 ml. a días alternos, 3 veces por semana).

Si a su hijo/a le ha correspondido entrar en el grupo de tratamiento activo, deberá acudir semanalmente a nuestro hospital, durante 16 semanas, para la administración de cantidades crecientes de clara de huevo pasteurizada, hasta llegar a la tolerancia de una ración. En cada una de estas visitas el niño permanecerá bajo supervisión médica del alergólogo en nuestra unidad, durante aproximadamente dos horas.

Una vez alcanzada la tolerancia se le realizarán pruebas cutáneas a huevo y sus proteínas alergénicas y se le hará una extracción de sangre para valorar los cambios en la respuesta inmunológica frente al huevo. A partir de ese momento el niño podrá seguir dieta libre en huevo y seguirá, además, una pauta de mantenimiento que se indicará en ese momento. Además, se les pedirá que apunten en un diario lo que toma cada día y si ha habido algún problema. A los 6 meses y a los 12 meses del inicio del tratamiento se realizará una visita de revisión con los mismos tests cutáneos y análisis para determinación de parámetros inmunológicos.

Si a su hijo/a le ha correspondido el grupo que no va a recibir el tratamiento de desensibilización, continuará con la dieta de eliminación y a los 12 meses se le realizará una revisión completa con las mismas pruebas cutáneas y análisis para determinación de parámetros inmunológicos, que a los niños con tratamiento activo. Además, se llevará a cabo la prueba de provocación con huevo para valorar la evolución clínica y el estado de alergia o tolerancia. Si entonces siguiera presentando alergia al huevo se les ofrecerá iniciar un tratamiento de desensibilización.

Una vez finalizado el estudio, los resultados serán presentados y publicados en reuniones y revistas científicas de la especialidad y será motivo de una tesis doctoral.

PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO

Debe saber que la participación de su hijo/a en este estudio es voluntaria y que puede decidir su participación o cambiar su decisión y retirar el consentimiento en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación con su médico, ni se produzca perjuicio alguno en su tratamiento.

BENEFICIOS Y RIESGOS DERIVADOS DE SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO

Hasta la actualidad el tratamiento de inmunoterapia oral con alimentos, es el único tratamiento activo de la alergia a alimentos. Los datos existentes apuntan que más del 80% de los pacientes con alergia a un alimento sometidos a este tratamiento, alcanzan tolerancia parcial o completa al mismo. Así, si su hijo/a es incluido en el grupo de tratamiento, existe una alta probabilidad de que llegue a tolerar el huevo en un intervalo relativamente corto de tiempo, disminuyendo el riesgo y la gravedad de reacciones inesperadas por ingestión accidental, superando los inconvenientes de una dieta de evitación rigurosa y pudiéndose beneficiar de las propiedades nutritivas del huevo. También existe la probabilidad de que su hijo no obtenga ningún beneficio de su participación en el estudio, sobre todo si le corresponde el grupo control. Si su hijo/a es incluido en el grupo control, continuará con la dieta de eliminación que está llevando actualmente y podrá beneficiarse del tratamiento de desensibilización al finalizar el año del estudio, si los resultados del mismo así lo confirman.

Las pruebas cutáneas son las mismas que se realizan habitualmente para llevar a cabo el estudio de alergia. Estas pruebas no tienen efectos adversos, pero excepcionalmente pueden dar lugar a una mínima reacción inflamatoria local tardía. No se han descrito síntomas generales con las concentraciones y técnicas utilizadas en la actualidad.

La prueba de provocación o de exposición, se realizará mediante la técnica denominada "doble ciego" que consiste en la administración enmascarada de la clara de huevo, sin que el niño/a, los padres y el técnico que lo administran, conozcan qué cantidad ingiere el niño en cada dosificación, con el fin de evitar la influencia de la sensación de reacción por experiencias previas. Por lo demás, se trata de una prueba de exposición como las realizadas habitualmente para confirmar el

diagnóstico de alergia y valorar la evolución a la tolerancia en los niños con alergia a alimentos.

La prueba de provocación puede producir una reacción alérgica de menor, igual o mayor intensidad que la que motivó la consulta, y que puede ser de urticaria (ronchas por el cuerpo), hinchazón de labios, hinchazón de párpados, congestión nasal, congestión ocular, vómitos, diarrea, tos, dificultad respiratoria por hinchazón de las vías respiratorias, caída de la tensión, o shock. Las pruebas serán realizadas por personal sanitario especializado en las mismas y durante su realización recibirá continuamente la asistencia médica necesaria. En caso de reacción contamos con los medios necesarios para tratarla y controlarla inmediatamente.

La extracción de sangre, de aproximadamente 6 ml, que forma parte también de los estudios habituales, puede ocasionar una pequeña incomodidad en el brazo y hematoma.

El tratamiento de inmunoterapia oral no está exento de riesgo ya que frecuentemente se producen reacciones alérgicas generalmente leves:

- **Riesgos poco graves pero frecuentes:** enrojecimiento de la piel, urticaria (ronchas) alrededor de la boca, picor de boca, hinchazón de labios, hinchazón de párpados, dolor abdominal, vómitos aislados, tos, congestión nasal, enrojecimiento y picor ocular.
- **Riesgos graves poco frecuentes:** vómitos y diarreas intensos, dificultad para respirar por hinchazón de las vías respiratorias, espasmo bronquial con tos fatiga y pitos.
- **Riesgos muy graves excepcionales:** disminución de la tensión arterial o shock con pérdida de conocimiento, dificultad respiratoria grave.

Sin embargo, contamos con los medios necesarios para tratarlas y controlarlas inmediatamente. Una vez alcanzada la dosis final, se han

observado -en ocasiones- estos síntomas sobre todo coincidiendo con procesos infecciosos o inflamatorios, ejercicio intenso, o si han transcurrido periodos superiores a 48 h sin ingerir el alimento.

Usted deberá notificar si existieran reacciones a su alergólogo, así como cualquier evento coincidente con el estudio y los tratamientos requeridos por cualquier otro padecimiento.

Usted después de cada visita tendrá las instrucciones necesarias indicadas por su médico para continuar el tratamiento a diario en su domicilio, así como un informe del tratamiento en curso y las indicaciones para el control de posibles reacciones. Si en cualquier momento del estudio su hijo/a presentara síntomas de reacción alérgica (urticaria, hinchazón de labios y párpados, congestión nasal y ocular, vómitos, diarrea, tos, dificultad respiratoria), seguirá las indicaciones de tratamiento y, si fuera necesario, acudirá a un Servicio de urgencias mostrando nuestro informe. Posteriormente se pondrá en contacto con su alergólogo quien le dará las indicaciones pertinentes para proseguir con el tratamiento.

CONFIDENCIALIDAD

Sus datos personales serán tratados de manera confidencial, y se procesarán conforme a la Ley Orgánica de Protección de Datos de Carácter Personal (15/1999, del 13 de diciembre). El tratamiento de toda la información obtenida en el estudio está regulado por las leyes nacionales e internacionales de datos y de confidencialidad.

Toda la información obtenida será confidencial, los datos recogidos se introducirán, por el equipo investigador, en una base de datos para realizar el análisis estadístico pero su nombre no aparecerá en ningún documento del estudio, sólo se le asignará un número. Las muestras se identificarán con un número. En ningún caso se le identificará en las publicaciones que puedan realizarse con los resultados

del estudio. Sin embargo, esta información podrá ser revisada por el Comité Ético de Investigación Clínica de este Hospital, así como por organismos gubernamentales competentes.

El procedimiento de destrucción de las muestras será el mismo que se utiliza habitualmente con el resto de las muestras del Hospital ... de Puede ejercer su derecho de acceso y rectificación de sus datos. También, si así lo desea, puede ser informado de los resultados del estudio

El estudio se realizará asegurando el cumplimiento de las normas éticas y legales vigentes (Declaración de Helsinki).

OTRA INFORMACIÓN RELEVANTE

El Promotor del estudio dispone de una póliza de seguros que se ajusta a la legislación vigente y que le proporcionará la compensación e indemnización, en caso de menoscabo en la salud o de lesiones que pudieran producirse en relación con la participación de su hijo/a en el estudio.

El médico del estudio le comunicará lo antes posible cualquier nueva información que pueda afectar a su disposición para participar en el mismo.

Si usted decide retirar el consentimiento para participar en este estudio, ningún dato nuevo será añadido a la base de datos y, puede exigir la destrucción de todas las muestras identificables previamente retenidas, para evitar la realización de nuevos análisis.

Su hijo/a, podrá ser excluido del estudio si los investigadores lo consideran oportuno, ya sea por motivos de seguridad, por acontecimiento adverso, o porque se considere que no se está cumpliendo con los procedimientos establecidos. Usted recibirá una explicación adecuada del motivo que ha ocasionado su retirada del estudio.

Si tiene alguna duda o no entiende este texto consulte antes de firmar el documento con el/la Dr /Dra.... , que es el/la médico/a responsables de esta investigación y le puede preguntar cualquier duda o problema que tenga relacionado con este estudio o consulte con sus familiares y, finalmente, si está de acuerdo firme este consentimiento. Se le entregará una copia.

Al firmar la hoja de consentimiento adjunta, se compromete a cumplir con los procedimientos del estudio que se le han expuesto.

Fdo.: Dr/Dra
Investigador/a Principal del Proyecto

CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL REPRESENTANTE LEGAL.

Título del proyecto de investigación: Estudio controlado de inducción de tolerancia a huevo en niños con alergia mediada por IgE mediante inmunoterapia oral

Yo,
en calidad de:
de:

He leído la hoja de información anterior.
He podido hacer preguntas sobre el estudio.
He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con

Comprendo que la participación de mi hijo/a es voluntaria.
Comprendo que puede retirarse del estudio:

- Cuando quiera.
- Sin tener que dar explicaciones.
- Sin que esto repercuta en sus cuidados médicos.

Comprendo que este material aparezca en informes y artículos de revista de publicaciones médicas y será motivo de tesis doctoral.

Entiendo que:

- El nombre de mi hijo/a no será publicado.
- El material no será utilizado para publicidad o embalaje.
- El material no será utilizado fuera de contexto.

En mi presencia se ha dado a
toda la información pertinente adaptada a su nivel de entendimiento
y está de acuerdo en participar.

Y presto mi conformidad con que
... . participe en el estudio.

Firmado .. Fecha ..

**ANEXO III. TABLA DE NÚMEROS ALEATORIOS.
NUMERO DE ENTRADA EN EL ESTUDIO Y GRUPO
ASIGNADO**

TABLA DE NUMEROS ALEATORIOS
Numero de entrada en el estudio y grupo asignado

		51	B
1	CONTROL	52	CONTROL
2	A	53	B
3	CONTROL	54	B
4	A	55	A
5	B	56	A
6	A	57	A
7	B	58	CONTROL
8	CONTROL	59	B
9	B	60	CONTROL
10	A	61	CONTROL
11	CONTROL	62	A
12	A	63	B
13	A	64	B
14	B	65	A
15	B	66	A
16	A	67	A
17	CONTROL	68	B
18	A	69	A
19	CONTROL	70	B
20	CONTROL	71	B
21	B	72	CONTROL
22	A	73	CONTROL
23	B	74	A
24	CONTROL	75	A
25	A	76	B
26	B	77	A
27	A	78	CONTROL
28	B	79	B
29	CONTROL	80	B

30	B	81	CONTROL
31	A	82	A
32	B	83	B
33	B	84	A
34	A	85	B
35	A	86	CONTROL
36	B	87	B
37	CONTROL	88	A
38	CONTROL	89	A
39	CONTROL	90	B
40	A	91	B
41	B	92	CONTROL
42	A	93	A
43	B	94	A
44	A	95	B
45	CONTROL	96	B
46	A	97	CONTROL
47	B	98	CONTROL
48	B	99	B
49	A	100	A
50	A	101	B

ANEXO IV. PAUTA DE INMUNOTERAPIA ORAL CON CLARA DE HUEVO PASTEURIZADA

PAUTA DE INMUNOTERAPIA ORAL CON CLARA DE HUEVO PASTEURIZADA

Semana	Dilución	Dosis ml	Proteínas Dosis	Dosis acumulada	Tolerancia Reacción y Tratamiento
1^{as}/1er día	1/1000 1/1000 1/1000	1 ^a → 1 ml 2 ^a → 2 ml 3 ^a → 3 ml	0,11 mg 0,22mg 0,33 mg	0,33 mg 0,66 mg	
1^{as}/2º día	1/100 1/100 1/100	1 ^a →0,5 ml 2 ^a →0,7 ml 3 ^a →1 ml	0,55 mg 0,77 mg 1,10 mg	1,7 mg 2,85 mg	
1^a/3er día	1/100 1/100 1/100	1 ^a →2 ml 2 ^a →3 ml 3 ^a →5 ml	2,2 mg 3,3 mg 5,5 mg	5,75 mg 11,50 mg	
1^{as}/4º día	1/10 1/10 1/10	1 ^a →1 ml 2 ^a →1,5 ml 3 ^a →2 ml	11 mg 16,5 mg 22 mg	27,5 mg 38,5 mg	
1^{as}/5º día	1/1	0,4 ml	44 mg		
2ª semana	1/1	0,5 ml	55 mg		
3ª semana	1/1	0,7 ml	77 mg		
4ª semana	1/1	1 ml	110 mg		
5ª semana	1/1	1,3 ml	143 mg		
6ª semana	1/1	2 ml	220 mg		
7ª semana	1/1	2,5 ml	275 mg		
8ª semana	1/1	3,2 ml	352 mg		
9ª semana	1/1	4 ml	440 mg		
10ª semana	1/1	5 ml	550 mg		
11ª semana	1/1	6,2 ml	682 mg		

12ª semana	1/1	8 ml	880 mg		
13ª semana	1/1	11 ml	1210 mg		
14ª semana	1/1	15 ml	1650 mg		
15ª semana	1/1	22.5 ml	2475 mg		
16ª semana	1/1	30 ml	3300 mg		

Una vez alcanzada la dosis final se establecerá un periodo de mantenimiento de 1 año desde el inicio del tratamiento, en la que el paciente seguirá dieta libre en huevo. Aleatoriamente se distribuirá a los pacientes en dos grupos para las dos pautas de mantenimiento establecidas (A o B).

Control de reacciones adversas

Si durante el incremento de las dosis en la Unidad de Alergología, presenta:

- Vómitos:
 - Observación en la consulta hasta su control
 - Al día siguiente repetir la dosis en la consulta
 - Si se repiten en la consulta, volver a la dosis anterior, y si es bien tolerada, mantenerla en el domicilio y a la semana siguiente, intentar seguir la pauta

- Prurito bucal, eritema o urticaria facial peribucal:
 - Esperar a su resolución espontánea.
 - Continuar la pauta

- Rino—conjuntivitis, tos, urticaria generalizada y/o angioedema:
 - Administrar: antihistamínico y corticoesteroides orales según síntomas e intensidad de la reacción.
 - Al día siguiente, administrar la última dosis tolerada y si es bien tolerada, continuar con la misma dosis diaria en el domicilio y a la semana siguiente, intentar seguir la pauta con incrementos semanales. Si el paciente desarrollara respuesta alérgica (aplicar porcentajes de incrementos inferiores).
- Dificultad respiratoria con sibilantes o estridor:
 - Administrar: ADRENALINA 0,01 mg/kg im (máximo 0,3 mg) y antihistamínico—corticoide oral, que se completará con otras medidas si fuera necesario.
 - Al día siguiente administrar la dosis anterior bien tolerada en la consulta y si es bien tolerada, seguir en el domicilio y a la semana siguiente, intentar seguir la pauta con incrementos semanales (valorando incrementos mas pequeños).
- Si se repite en DOS ocasiones la reacción de urticaria generalizada y/o angioedema y/o dificultad respiratoria con sibilantes o estridor:
 - Al día siguiente administrar la dosis anterior bien tolerada en la consulta y si es bien tolerada, continuar con esta cantidad como dosis de mantenimiento.

Si en las tomas que realiza en el domicilio presenta:

- Vómitos:
 - Al día siguiente repetir la dosis en la consulta
 - Si se repiten en la consulta volver a la dosis anterior, si es bien tolerada mantenerla en el domicilio y a la semana siguiente, si es bien tolerada, intentar seguir la pauta
- Prurito bucal, eritema o urticaria facial peribucal:

Continuar la pauta.

- Rino—conjuntivitis, tos, urticaria generalizada y/o angioedema y/o dificultad respiratoria con sibilantes o estridor:
 - Al día siguiente administrar la dosis anterior en la consulta y si es bien tolerada, seguir en domicilio
 - A la semana siguiente si es bien tolerada, intentar seguir la pauta
- Si se repite en DOS ocasiones la reacción de urticaria generalizada y/o angioedema y/o dificultad respiratoria con sibilantes o estridor:
 - Administrar la dosis anterior en la consulta y si es bien tolerada, seguir en domicilio como dosis de mantenimiento

Instrucciones a los familiares para el control y tratamiento de las reacciones adversas

- A. Anotar en el diario la cantidad tolerada o reacción desarrollada y medicación administrada para controlar los síntomas (Anexo VI)
- B. Si tras la administración de una dosis, el paciente desarrollara:
 - Vómitos:
 - Acudirá al día siguiente a la Consulta de Alergia del Hospital para administrar la siguiente dosis bajo observación.
 - Picor de boca, rojeces y/o habones solo alrededor de la boca:
 1. Si no se resuelven espontáneamente en 10 minutos: administrar antihistaminico oral indicado en el informe (Anexo V).
 2. Si se repiten en las dosis siguientes, informar al médico por teléfono.
 - Congestión nasal y de ojos, estornudos, rinorrea, tos, habones afectando el cuerpo o hinchazón de labios o párpados:

1. Administrar antihistamínico y corticoide oral indicado en informe (Anexo VI).
2. Acudir al día siguiente a la Consulta de Alergia del Hospital para administrar la dosis correspondiente.
 - Si desarrollara tos:
Administrar salbutamol inhalado con cámara espaciadora según indicaciones de informe (Anexo V) y mantener bajo observación.
 - Si desarrollara síntomas afectando a más de dos órganos o sistemas, dificultad respiratoria que no cede con salbutamol, tiraje subcostal o supraclavicular o disminución del estado de conciencia:
 1. Administrar: adrenalina autoinyectable JEXT/ALTELLUS y antihistamínico—corticoide oral indicado en el informe. (Anexo V) pudiendo repetir la dosis, en 15—20 minutos, si no se observara mejoría y
 2. Se avisará al 112 o trasladará al paciente al Servicio Médico de Urgencias
 3. Se Informará a su alergólogo llamando al teléfono de contacto
 4. Acudirá al día siguiente a la Consulta de Alergia del Hospital para valoración y reajuste de la ITO.

Reinstauración de la ITO

- Si la ITO fuera interrumpida por cualquier motivo, se reinstaurará en el hospital con dosis siempre inferiores a la última dosis tolerada.
- Si la interrupción fuera de 3 días, la ITO se reiniciará con 50% de la última dosis tolerada.

- Si hubieran transcurrido más de 3 días desde la interrupción, se reinstaura ITO con porcentajes inferiores, dependiendo del tiempo transcurrido desde la última dosis tolerada.

Recomendaciones generales:

- Tomar la dosis con comida
- Mantener bajo vigilancia por los padres o tutores 2—3 horas después de la dosis de huevo
- Evitar ejercicio intenso en las 4 horas después de la dosis
- Evitar el tratamiento con antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) 8 horas antes y después de la dosis de ITO
- Enfermedad intercurrente:
 - Crisis de asma: reducción 50 % de la dosis
 - Gastroenteritis: reducción 50 % de la dosis o suspender durante la fase aguda de la enfermedad durante un máximo de 3 días y reiniciar bajo control en el Hospital con reducción de 50 % de la dosis
 - IRS febril: volver a la dosis anterior

ANEXO V. INFORME PARA LOS PADRES O TUTORES.

INFORME PARA LOS PADRES O TUTORES

FASE DE INICIO

El paciente presenta alergia proteínas de la clara de huevo y está actualmente en tratamiento de INMUNOTERAPIA ORAL con clara de huevo

Indicándose:

- 1.— Mantener la dieta de exclusión de huevo y alimentos elaborados que lo contengan, según las recomendaciones que se entregaron por escrito.
- 2.— Administración una vez al día:
 - Administrar . ml de clara pasteurizada una vez al día (marca GUILLEN)
 - Tomar la dosis acompañada de comida
 - No debe realizar ejercicio intenso en las cuatro horas siguientes de la toma.
- 3.— Si presentara reacción
 - Picor de boca, rojeces o ronchas solo por la cara, alrededor de la boca:
 - Si no se resuelven espontáneamente en 10 minutos: administrar antihistamínico oral (nombre comercial y dosis)
 - Si se repiten, informar al médico por teléfono.
 - Congestión nasal, de ojos, tos, ronchas por el cuerpo o hinchazón de labios o de párpados:
 - Administrar: antihistamínico y corticosteroide oral (nombre comercial y dosis)

- Acudirá al día siguiente a la Consulta de Alergia del Hospital para recibir la dosis correspondiente.
- Si presenta tos y/o ruidos respiratorios de carácter sibilante:
 - Administrar: salbutamol inhalado con cámara espaciadora (nombre comercial y dosis)
- Si presenta vómitos persistentes, tos persistente, dificultad para tragar o respirar o clínica afectando a mas de dos sistemas o aparatos:
 - Administrar: adrenalina autoinyectable JEXT/ALTELLUS, antihistamínico y corticosteroide oral (nombre comercial y dosis)
 - Acudirá al S^o Médico de Urgencias para su valoración y completar el tratamiento si fuera necesario
 - Informar por teléfono a su Médico/allamando al móvil nº...
 - Acudirá al día siguiente a la Consulta de Alergia del Hospital para recibir la dosis correspondiente.

Dr./Dra.

Servicio de Alergia
Hospital

FASE DE MANTENIMIENTO

El paciente presenta alergia a las proteínas de la clara de huevo en fase de remisión clínica tras completar tratamiento de inmunoterapia oral específica

Indicándose:

- 1.— Puede tomar huevo. Se aconsejan 2—3 huevos/semana (cualquier forma de preparación).
- 2.— Tomará 30 ml de clara pasteurizada una vez al día, todos los días o tres días por semana (domingo, martes y jueves).
 - Tomar la dosis acompañada de comida
 - No debe realizar ejercicio en las cuatro horas siguientes de la toma.
 - Si por algún motivo se interrumpe la administración de clara de huevo, informará por teléfono a su Médico/a
- 3.— Si presentara reacción
 - Picor de boca, rojeces o ronchas solo por la cara, alrededor de la boca:
 - Si no se resuelven espontáneamente en 10 minutos: administrar antihistamínico oral (nombre comercial y dosis)
 - Si se repiten, informar al médico por teléfono.
 - Congestión nasal, de ojos, tos, ronchas por el cuerpo o hinchazón de labios o de párpados:
 - Administrar: antihistamínico y corticosteroide oral (nombre comercial y dosis)
 - Acudirá al día siguiente a la Consulta de Alergia del Hospital para recibir la dosis correspondiente.
 - Si presenta tos y/o ruidos respiratorios de carácter sibilante:
 - Administrar: salbutamol inhalado con cámara espaciadora (nombre comercial y dosis)

- Si presenta vómitos persistentes, tos persistente, dificultad para tragar o respirar o clínica afectando a más de dos sistemas o aparatos:
 - Administrar: adrenalina autoinyectable JEXT/ALTELLUS, antihistamínico y corticosteroide oral (nombre comercial y dosis)
 - Acudir al S^o Médico de Urgencias para su valoración y completar el tratamiento si fuera necesario
 - Informar por teléfono a su médico/a llamando al móvil n^o...
 - Acudir al día siguiente a la Consulta de Alergia del Hospital para recibir la dosis correspondiente.

Dr./Dra.

Servicio de Alergia
Hospital

**ANEXO VI. CARTILLA DE SEGUIMIENTO
DE LA INMUNOTERAPIA.**

CARTILLA DE SEGUIMIENTO DE LA ITO

Semana	Dilución	Dosis ml	Proteínas Dosis media	Dosis media acumulada	Tolerancia Reacción y Tto
1 ^{as} /1er día	1/1000 1/1000 1/1000	1 ^a → 1 ml 2 ^a → 2 ml 3 ^a → 3 ml	0,11 mg 0,22mg 0,33 mg	0,33 mg 0,66 mg	
1 ^{as} /2º día	1/100 1/100 1/100	1 ^a →0,5 ml 2 ^a →0,7 ml 3 ^a →1 ml	0,55 mg 0,77 mg 1,10 mg	1,7 mg 2,85 mg	
1 ^a /3er día	1/100 1/100 1/100	1 ^a →2 ml 2 ^a →3 ml 3 ^a →5 ml	2,2 mg 3,3 mg 5,5 mg	5,75 mg 11,50 mg	
1 ^{as} /4º día	1/10 1/10 1/10	1 ^a →1 ml 2 ^a →1,5 ml 3 ^a →2 ml	11 mg 16,5 mg 22 mg	27,5 mg 38,5 mg	

DOSIS DE CLARA DE HUEVO SIN DILUIR:

			Tolerancia, Reacción y Tratamiento en consulta	Tolerancia, Reacción y Tratamiento en domicilio
1 ^{as} /5º día	0,4 ml	44 mg		
2 ^a semana	0,5 ml	55 mg		
3 ^a semana	0,7 ml	77 mg		

4 ^a semana	1 ml	110 mg		
5 ^a semana	1,3 ml	143 mg		
6 ^a semana	2 ml	220 mg		
			Tolerancia, Reacción y Tratamiento en consulta	Tolerancia, Reacción y Tratamiento en domicilio
7 ^a semana	2,5 ml	275 mg		
8 ^a semana	3,2 ml	352 mg		
9 ^a semana	4 ml	440 mg		
10 ^a semana	5 ml	550 mg		
11 ^a semana	6,2 ml	682 mg		
12 ^a semana	8 ml	880 mg		
13 ^a semana	11 ml	1210 mg		
14 ^a semana	15 ml	1650 mg		
15 ^a semana	22.5 ml	2475 mg		
16 ^a semana	30 ml	3300 mg		

Cartilla Semanal.
Nº semana de tratamiento

Identificacion:							
AÑO:							
MES:							
Día	1	2	3	4	5	6	7
...ml de clara							
rojeces,ronchas en cara							
ronchas por el cuerpo							
hinchazón en la cara							
mucosidad nasal							
tos							
pitos, dificultad respiratoria							
vómito							
afonía							
Antihistaminico oral							
Corticosteroide oral							
Salbutamol inhalado							
Adrenalina intramuscular							

ANEXO VII. CLASIFICACIÓN DE LA GRAVEDAD DE LAS REACCIONES.

Clasificación de la gravedad de las reacciones adversas:

LEVE:

- Prurito bucal
- Eritema, urticaria localizadas
- Vómitos
- Diarrea
- Dolor abdominal
- Rinitis
- Conjuntivitis

MODERADA:

- Urticaria generalizada
- Angioedema facial
- Tos
- Brocoespasmo leve que cede con salbutamol

GRAVE:

- Broncoespasmo grave
- Dificultad respiratoria con estridor inspiratorio
- Hipotensión
- Shock anafiláctico

