



Universidad del País Vasco Euskal Herriko Unibertsitatea

Facultad de Medicina y Enfermería  
Departamento de Biología Celular e Histología

**ADQUISICIÓN DE TOLERANCIA ESPONTÁNEA O INDUCIDA MEDIANTE  
INMUNOTERAPIA ORAL EN NIÑOS ALÉRGICOS A PROTEÍNAS DE LECHE.  
VALOR PREDICTIVO DEL TEST DE ACTIVACIÓN DE BASÓFILOS.**

TESIS DOCTORAL  
Eva María Lasa Luaces  
Mayo, 2017



*“Y ahora, ahora, en este momento de mi vida, no quiero casi nada. Tan sólo la ternura de mi amor y la gloriosa compañía de mis amigos. Unas cuantas carcajadas y unas palabras de cariño antes de irme a la cama. El recuerdo dulce de mis muertos. Un par de árboles al otro lado de los cristales y un pedazo de cielo al que se asomen la luz y la noche. El mejor verso del mundo y la más hermosa de las músicas. Por lo demás, podría comer patatas cocidas y dormir en el suelo mientras mi conciencia esté tranquila.*

*También quiero, eso sí, mantener la libertad y el espíritu crítico por los que pago con gusto todo el precio que haya que pagar. Quiero toda la serenidad para sobrellevar el dolor y toda la alegría para disfrutar de lo bueno. Un instante de belleza a diario. Echar desesperadamente de menos a los que tengan que irse porque tuve la suerte de haberlos tenido a mi lado. No estar jamás de vuelta de nada. Seguir llorando cada vez que algo lo merezca, pero no quejarme de ninguna tontería. No convertirme nunca, nunca, en una mujer amargada, pase lo que pase. Y que el día en que me toque esfumarme, un puñadito de personas piense que valió la pena que yo anduviera un rato por aquí. Sólo quiero eso. Casi nada. O todo. “*

**Ángeles Caso**



*A mis hijas, Paula e Irene, por ser mi motor y razón de vida.*

*A mis padres, por su apoyo incondicional y sus constantes renunciaciones para ofrecerme la mejor formación y mi profesión, mi pasión.*

*A mis hermanos, Javier e Íñigo, mis compañeros de juegos antes y compañeros de vida ahora.*

*Al resto de mi familia, por funcionar como un todo, como un uno.*



# AGRADECIMIENTOS

A mis directores de tesis, el Dr. Eduardo Pérez-Yarza y la Dra. García Figueroa, por aceptar embarcarse conmigo en este proyecto y navegar a mi lado sin permitirme naufragar.

A los padres y los niños que aceptaron participar en este trabajo, verdaderos protagonistas de esta tesis que ha sido posible gracias a su motivación y constancia. Espero haber podido corresponderles en la misma medida.

Al Departamento de Sanidad y Consumo del Gobierno Vasco por la financiación del proyecto y a Biodonostia por su labor de apoyo a la investigación.

A mis compañeros del Servicio de Alergología del Hospital Universitario Donostia: Josean, Susana, Atxen y Miguel, de los que siempre aprendo tanto.

A mi jefe, Alejandro, por confiar siempre en mí.

A Sara, mi compañera en el trabajo y en lo personal, por sonreír cada día, por su ánimo y su fuerza contagiosas.

A todas las enfermeras que han pasado por la Sección de Alergología Infantil del Hospital Universitario Donostia: Leire, Ana, Chus, Sonia, Arantxa, Eva, Amaia y Conchi, por su buen hacer, su buena disponibilidad, su buen humor, su paciencia, su cariño, su ánimo y su apoyo.

A Mercedes Rey y el resto de compañeros del Servicio de Inmunología del Hospital Universitario Donostia, por su excepcional trabajo y dedicación.

A mis compañeros del Servicio de Pediatría del Hospital Universitario Donostia, por su aceptación y confianza.

A mis compañeros del S<sup>o</sup> de Alergología del Complejo Hospitalario de Navarra por sus horas invertidas, aún ahora, a mi enseñanza y por su amistad.

A mis amigos del Hospital de Mendaro, por sus consejos y apoyo en cada kilómetro del camino.

A todo el personal de los hospitales que, desde la sombra, hacen posible nuestro trabajo.

A la Universidad de Navarra por su formación más allá del ámbito científico.

A Esozia Arroabarren, por enseñarme, con su ejemplo, el significado de la verdadera amistad, en el más amplio sentido que existe de esta palabra.

A Carlos, a Ángel V, Ángel C, Ana, Javi, Magdalena, Laura, Rafa, Iñaki, Raquel R, Itziar, Arancha, Raquel M, Isa, Amaia, Eloísa, Susana, Coro, Loreto, Itziar, Begoña, Zina y todos y cada uno de aquellos que formáis parte de mi vida, por levantarme en los momentos difíciles y enseñarme a ser mejor persona.

A todos los verdaderos profesionales del mundo de la Medicina y fuera de él, por inspirarme a ser mejor médico.

*Disfruta del camino,....*

*Todo!*

# ÍNDICE

---





1.7 Tratamiento de la alergia alimentaria.....	30
1.7.1 Evitación de alérgenos	
1.7.2 Reconocimiento y tratamiento de las reacciones alérgicas agudas	
1.7.3 Inmunoterapia con alimentos	
1.7.4 Futuro en el tratamiento de la alergia alimentaria	
1.7.4.1 Anti-IgE	
1.8 Tratamiento de la alergia a la proteína de leche de vaca.....	34
1.8.1 Tratamiento convencional de la APLV	
1.8.1.1 Fórmulas sustitutivas de leche de vaca	
1.8.1.1.1 F. Altamente hidrolizadas	
1.8.1.1.2 F. Elementales	
1.8.1.1.3 F. De arroz	
1.8.1.1.4 F. De soja	
1.8.1.1.5 F. Con hidrólisis parcial o de bajo grado	
1.8.1.2 Complicaciones del tratamiento convencional de la APLV	
1.8.1.2.1 La leche como alérgeno oculto	
1.8.1.2.2 Aspectos nutricionales del paciente alérgico	
1.8.1.2.3 Aspectos psicosociales y calidad de vida	
1.8.2 Inmunoterapia con leche	
1.8.2.1 Fuente alérgica	
1.8.2.2 Selección de pacientes	
1.8.2.3 Rutas de administración	
1.8.2.4 Pautas de administración	
1.8.2.5 Dosis de administración	
1.8.2.5.1 F. De inicio	
1.8.2.5.2 F. De mantenimiento	
1.8.2.6 Lugar del realización del procedimiento	
1.8.2.7 Eficacia	
1.8.2.7.1 Patrones de respuesta de ITO	
1.8.2.7.2 Factores dependientes del paciente	
1.8.2.7.3 Factores dependientes del procedimiento	
1.8.2.8 Reacciones adversas y cofactores	
1.8.2.8.1 Reacciones adversas asociadas a la f. de incremento de dosis	
1.8.2.8.2 Reacciones adversas durante la f. de	

mantenimiento o dosis previamente toleradas	
1.8.2.9 Cambios inmunológicos en la inmunoterapia oral	
1.8.3 Otros tratamientos inmunomoduladores en la APLV	
1.8.3.1 Anticuerpos anti-IgE en la APLV	
2. Hipótesis.....	60
3. Justificación.....	64
4. Objetivos.....	68
5. Material y métodos.....	72
5.1 Diseño del estudio.....	74
5.1.1 Esquema del estudio	
5.2 Ámbito.....	79
5.3 Sujetos.....	79
5.3.1 Criterios de inclusión	
5.3.2 Criterios de exclusión	
5.3.3 Criterios de retirada	
5.3.4 Duración del periodo de reclutamiento	
5.3.5 Registro de pacientes	
5.4 Tamaño muestral.....	81
5.5 Definición de caso.....	81
5.6 Metodología.....	82
5.6.1 Pruebas <i>in vitro</i>	
5.6.1.1 Test de activación de basófilos	
5.6.1.2 IgE total y específica	
5.6.1.3 IgG4 total y específica	
5.6.1.4 Triptasa	
5.6.2 Pruebas <i>in vivo</i>	
5.6.2.1 Pruebas cutáneas. Extractos para pruebas cutáneas	
5.6.2.2 Prueba de exposición oral controlada (PEOC) con LV	
5.6.2.2.1 Protocolo	
5.6.2.2.2 Criterios de inclusión	
5.6.2.2.3 Criterios de exclusión	
5.6.2.2.4 Criterios de positividad	
5.6.2.3 Prueba de exposición oral con leche de oveja	
5.6.2.3.1 Protocolo	
5.6.2.3.2 Criterios de inclusión	

5.6.2.3.3	5.6.2.3.3 Criterios de exclusión	
5.6.2.3.4	5.6.2.3.4 Criterios de positividad	
5.6.3	5.6.3 Inmunoterapia oral con leche de vaca	
5.6.3.1	5.6.3.1 Protocolo de ITO con leche de vaca	
5.6.3.1.1	5.6.3.1.1 Control del paciente durante ITO en el hospital	
5.6.3.1.2	5.6.3.1.2 Fase de inicio	
5.6.3.1.2.1	5.6.3.1.2.1 Periodo rápido	
5.6.3.1.2.2	5.6.3.1.2.2 Periodo lento	
5.6.3.1.3	5.6.3.1.3 Fase de mantenimiento	
5.6.3.2	5.6.3.2 Indicaciones para ITO	
5.6.3.3	5.6.3.3 Contraindicaciones para ITO	
5.6.3.4	5.6.3.4 Factores de riesgo para la realización de ITO	
5.6.3.5	5.6.3.5 Reacciones adversas durante ITO	
5.6.3.6	5.6.3.6 Ajustes de dosis durante ITO	
5.6.3.6.1	5.6.3.6.1 RA durante el periodo de incremento rápido de la fase de inicio	
5.6.3.6.2	5.6.3.6.2 RA durante el periodo de incremento lento de la fase de inicio y fase de mantenimiento	
5.6.3.7	5.6.3.7 Premedicación para ITO	
5.6.3.7.1	5.6.3.7.1 Corticoide inhalado	
5.6.3.7.2	5.6.3.7.2 Antihistamínico	
5.6.3.7.3	5.6.3.7.3 Omalizumab	
5.6.3.7.3.1	5.6.3.7.3.1 Indicaciones	
5.6.3.7.3.2	5.6.3.7.3.2 Contraindicaciones	
5.6.3.7.3.3	5.6.3.7.3.3 Dosis	
5.6.3.7.3.4	5.6.3.7.3.4 Pauta	
5.6.3.8	5.6.3.8 Instrucciones en la dieta durante la ITO	
5.7	5.7 Variable registradas.....	102
5.8	5.8 Análisis estadístico.....	103
5.9	5.9 Consideraciones éticas.....	104
6	6. Resultados.....	106
6.1	6.1 Valoración basal según tolerancia o reactividad clínica a la leche.....	108
6.1.1	6.1.1 Parámetros clínicos y demográficos de los pacientes en la valoración basal (T0) según tolerancia o reactividad	
6.1.2	6.1.2 Pruebas diagnósticas en la valoración basal según tolerancia o	

reactividad	
6.1.2.1 Pruebas <i>in vivo</i> según tolerancia o reactividad	
6.1.2.2 Pruebas <i>in vitro</i> según tolerancia o reactividad	
6.1.2.2.1 Test de activación de basófilos	
6.1.2.2.2 Niveles de IgE e IgG4 totales y específicas a leche y sus proteínas	
6.1.3 Curvas ROC de parámetros basales en relación a la tolerancia o reactividad clínica	
6.1.3.1 Curvas ROC de pruebas <i>in vivo</i> basales en relación a la tolerancia o reactividad clínica	
6.1.3.2 Curvas ROC de pruebas <i>in vitro</i> basales en relación a la tolerancia o reactividad clínica	
6.1.3.2.1 Curvas ROC del Test de activación de basófilos en respuesta a leche de vaca en relación a la tolerancia o reactividad clínica	
6.1.3.2.2 Curvas ROC de IgE total e IgE específica frente a leche y sus proteínas en relación a la tolerancia o reactividad clínica	
6.2 Inmunoterapia oral.....	127
6.2.1 Parámetros demográficos y clínicos de los pacientes que recibieron ITO	
6.2.2 Seguridad durante la ITO y parámetros basales en relación a la seguridad	
6.2.2.1 Características clínicas y demográficas en relación a la seguridad	
6.2.2.2 Pruebas <i>in vitro</i> basales en relación a la seguridad	
6.2.2.2.1 Test de activación de basófilos en respuesta a	

Leche de vaca basal (T0) en relación a la seguridad	
6.2.2.2 IgE e IgG4 totales y específicas a leche y sus proteínas basales (T0) en relación a la seguridad	
6.2.2.3 Curvas ROC de parámetros diagnósticos basales en relación a la seguridad de la ITO	
6.2.2.3.1 Curvas ROC de Pruebas <i>in vivo</i> basales en relación a la seguridad de la ITO	
6.2.2.3.2 Curvas ROC de Pruebas <i>in vitro</i> basales en relación a la seguridad de la ITO	
6.2.2.3.2.1 Curvas ROC del Test de activación de basófilos basal en relación a la seguridad	
6.2.2.3.2.2 Curvas ROC de IgE total e IgE específica basales frente a leche y sus proteínas, en relación a la seguridad	
6.2.3 Evolución de las pruebas diagnósticas durante la ITO	
6.2.3.1 Evolución de las Pruebas <i>in vivo</i> durante la ITO	
6.2.3.2 Evolución de las pruebas <i>in vitro</i> durante la ITO	
6.2.3.2.1 Evolución del test de activación de basófilos durante la ITO	
6.2.3.2.2 Evolución de IgE e IgG4 totales y específicas a leche y sus proteínas durante la ITO	
7. Discusión.....	150
7.1 Valoración basal según tolerancia o reactividad clínica a la leche.....	152
7.1.1 Parámetros clínicos y demográficos de los pacientes en la valoración basal (T0) según tolerancia o reactividad	
7.1.2 Pruebas diagnósticas en la valoración basal según tolerancia o reactividad	
7.1.2.1 Pruebas <i>in vivo</i>	

7.1.2.2 Pruebas <i>in vitro</i>	
7.1.2.2.1 TAB	
7.1.2.2.2 IGG4 total, específica y cocientes	
7.1.2.2.3 IGE total, específica y cocientes	
7.2 Tratamiento de la APLV.....	161
7.2.1 Tratamiento convencional	
7.2.2 Tratamiento con inmunoterapia oral con leche	
7.2.2.1 Pruebas <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> en relación a la seguridad durante la ITO con leche	
7.2.2.2 Cambios inmunológicos durante la ITO con leche	
7.2.2.3 Uso de premedicación durante la ITO con leche	
8. Conclusiones.....	170
9. Bibliografía.....	174
10. Anexos.....	212



## **APORTACIONES Y AYUDAS A LA INVESTIGACIÓN**

***Proyecto de Investigación becado con las Ayudas a Proyectos de Investigación Sanitaria 2012 por el Departamento de Sanidad y Consumo del Gobierno Vasco, expediente nº: 2012111096: “Estudio del valor predictivo del test de activación de basófilos en la tolerancia a proteínas de leche de vaca en niños alérgicos y mecanismos inmunológicos y tolerancia de la inmunoterapia oral con leche en niños”.***



## LISTADO DE ABREVIATURAS

<b>A</b>	Años
<b>AA</b>	Alergia alimentaria
<b>AB</b>	Asma bronquial
<b>ABC</b>	Área bajo la curva
<b>ACP</b>	Auscultación cardiopulmonar
<b>Ad</b>	Adrenalina
<b>ADT</b>	Antidepresivos tricíclicos
<b>AE</b>	Angioedema
<b>AF</b>	Antecedentes familiares
<b>AINEs</b>	Antiinflamatorios no esteroideos
<b>ALA</b>	Alfa lactoalbúmina
<b>Anaf</b>	Anafilaxia
<b>AP</b>	Antecedentes personales
<b>APLV</b>	Alergia a proteínas de leche de vaca
<b>AS</b>	Analítica sanguínea
<b>Ayun</b>	Ayunas
<b>BLG</b>	Betalactoglobulina
<b>BSA</b>	Albúmina sérica bovina
<b>CAP</b>	CAP sistem®, Phadia
<b>CAS</b>	Caseína
<b>CBL</b>	Casitas B-lineage Lymphoma
<b>cc</b>	Centímetros cúbicos
<b>CI</b>	Consentimiento informado
<b>CPA</b>	Células presentadoras de antígeno
<b>CPN</b>	Cociente de probabilidad positivo
<b>CPP</b>	Cociente de probabilidad negativo
<b>CRD</b>	Cuaderno de recogida de datos
<b>D</b>	Diámetro mayor
<b>d</b>	Diámetro menor
<b>D.PrME</b>	Disminución de la premedicación
<b>DA</b>	Dermatitis atópica
<b>dl</b>	Decilitro
<b>Dx</b>	Diagnóstico
<b>E</b>	Especificidad
<b>EAACI</b>	European Academy of Asthma Allergy and Clinical Immunology
<b>EEO</b>	Esofagitis eosinofílica
<b>Ejer</b>	Ejercicio físico

---

ABREVIATURAS

---

<b>F</b>	Fórmula
<b>FC</b>	Frecuencia cardíaca
<b>FcER</b>	Receptor de alta afinidad
<b>FEV</b>	Volumen espiratorio forzado
<b>FI</b>	Fase de inicio
<b>Fincr</b>	Fase de incremento de inmunoterapia oral
<b>FM</b>	Fase de mantenimiento
<b>fMLP</b>	N-Formyl-L-methionyl-L-leucyl-L-phenylalanine
<b>g</b>	gramos
<b>GEMA</b>	Guía española para el manejo del asma
<b>H</b>	Hidrolizado
<b>HTA</b>	Hipertensión arterial
<b>IC</b>	Intervalo de confianza
<b>IECA</b>	Inhibidor de la encima convertora de angiotensina
<b>IgA</b>	Inmunoglobulina A
<b>IgE</b>	Inmunoglobulina E
<b>IgEe</b>	Inmunoglobulina E específica
<b>IgEt</b>	Inmunoglobulina E total
<b>IgG4</b>	Inmunoglobulina G <sub>4</sub>
<b>IgG4e</b>	Inmunoglobulina G <sub>4</sub> específica
<b>IgG4t</b>	Inmunoglobulina G <sub>4</sub> total
<b>IL</b>	Interleuquina
<b>IMAO</b>	Inhibidor de la monoaminoxidasa
<b>IRP</b>	International Reference Preparation: referencia internacional de preparación
<b>ITE</b>	Inmunoterapia epicutánea
<b>ITO</b>	Inmunoterapia oral
<b>ITSL</b>	Inmunoterapia sublingual
<b>kcal</b>	Kilocaloría
<b>kg</b>	Kilogramos
<b>kU</b>	Kilounidades
<b>L</b>	Litro
<b>LB</b>	Linfocito B
<b>LC</b>	Leche de cabra
<b>LH</b>	Leche hervida
<b>LHZDA</b>	Leche hidrolizada
<b>LM</b>	Leche materna, lactancia materna
<b>LO</b>	Leche de oveja
<b>LT</b>	Linfocito T

---

ABREVIATURAS

---

<b>LTh</b>	Linfocito T helper o colaborador
<b>LTreg</b>	Linfocito T regulador
<b>LV</b>	Leche de vaca
<b>M</b>	Mujer
<b>mcg</b>	Microgramos
<b>mcl</b>	Microlitros
<b>MCP</b>	Citocina de actividad quimiotáctica para basófilos y monocitos
<b>MIP</b>	Citocina producida por macrófagos, células dendríticas y linfocitos
<b>ml</b>	Mililitros
<b>mm</b>	Milímetros
<b>mRNA</b>	Ácido ribonucleico mensajero
<b>Mx</b>	Máximo
<b>N</b>	Número de pacientes
<b>ng</b>	Nanogramos
<b>NR</b>	No realizado
<b>ns</b>	No significativo
<b>Obj</b>	Objetivo
<b>OMZ</b>	Omalizumab
<b>ORF</b>	Orofaringe
<b>PA</b>	Presión arterial
<b>PAF</b>	Factor activador de plaquetas
<b>PBS</b>	Tampón (buffer) fosfato salino
<b>PC</b>	Pruebas cutáneas
<b>PEF</b>	Pico de flujo espiratorio
<b>PEOC</b>	Prueba de exposición oral controlada
<b>PFR</b>	Pruebas de función respiratoria
<b>Pint</b>	Proceso intercurrente
<b>PLV</b>	Proteína de leche de vaca
<b>PMA</b>	Phorbol myristate acetate
<b>PODCCP</b>	Provocación oral doble ciego controlada con placebo
<b>PRICK</b>	Prueba cutánea intraepidérmica
<b>Ptes</b>	Pendientes
<b>Pto de corte</b>	Punto de corte
<b>QO</b>	Queso de oveja
<b>RA</b>	Reacción adversa
<b>RAST</b>	Radio Allergo Sorbent Test
<b>RC</b>	Rinoconjuntivitis
<b>Rcr</b>	Reactividad cruzada

---

**ABREVIATURAS**

---

<b>ric</b>	Rango intercuartílico
<b>ROC</b>	Característica Operativa del Receptor
<b>S</b>	Sensibilidad
<b>SAFT</b>	Skin application food test: prueba de aplicación del alimento en piel
<b>SAO</b>	Síndrome de alergia oral
<b>SatO2</b>	Saturación de oxígeno
<b>SCORAD</b>	Scoring atopic dermatitis: escore para dermatitis atópica
<b>SEAIC</b>	Sociedad Española de Inmunología Clínica y Alergología Clínica
<b>SEICAP</b>	Sociedad Española de Inmunología Clínica y Alergología Pediátrica
<b>St</b>	Síntoma
<b>Stm</b>	Sistémico
<b>Subj</b>	Subjetivo
<b>SubjR</b>	Subjetivo repetido
<b>T</b>	Tiempo
<b>TAB</b>	Test de activación de basófilos
<b>TGF</b>	Tumor growing factor: factor de crecimiento tumoral
<b>TGI</b>	Tracto gastrointestinal
<b>Th</b>	Linfocito T helper o colaborador
<b>TSH</b>	Hormona estimulante tiroidea
<b>Tto</b>	Tratamiento
<b>U</b>	Urticaria
<b>UE</b>	Unión europea
<b>V</b>	Varón
<b>VLA</b>	Very late antigen
<b>VPN</b>	Valor predictivo negativo
<b>VPP</b>	Valor predictivo positivo
<b>VRI</b>	Vía respiratoria inferior
<b>VRS</b>	Vía respiratoria superior
<b>WAO</b>	World Allergy Organization: Organización Mundial de Alergología
<b>WHO</b>	World Health Organization: Organización Mundial de la Salud

## INDICE DE TABLAS

Nº TABLA	TEMA	Página
<b>Tabla 1</b>	Proteínas de la leche de vaca	<b>12</b>
<b>Tabla 2</b>	Síntomas de alergia alimentaria mediada por IgE	<b>17</b>
<b>Tabla 3</b>	Puntos de corte obtenidos a partir de las pruebas intraepidérmicas (prick) con leche	<b>20</b>
<b>Tabla 4</b>	Puntos de corte obtenidos a partir de los valores de IgE específica frente a leche de vaca y caseína	<b>25</b>
<b>Tabla 5</b>	Tratamiento de las reacciones alérgicas por alimentos	<b>31</b>
<b>Tabla 6:</b>	Dieta de evitación de proteínas de leche de vaca	<b>35</b>
<b>Tabla 7</b>	Fórmulas de lactancia artificial comercializadas para el tratamiento de la APLV	<b>37</b>
<b>Tabla 8</b>	Alternativas para la elección del procedimiento de ITO	<b>46</b>
<b>Tabla 9</b>	Patrones de respuesta de ITO	<b>48</b>
<b>Tabla 10</b>	Grados de gravedad de la anafilaxia según Sampson	<b>51</b>
<b>Tabla 11</b>	Cofactores en el desencadenamiento de la alergia alimentaria	<b>53</b>
<b>Tabla 12</b>	Estudios de inmunoterapia oral con leche	<b>54</b>
<b>Tabla 13</b>	Pacientes tolerantes y reactivos y sus síntomas	<b>109</b>
<b>Tabla 14</b>	Datos demográficos de los pacientes tolerantes y reactivos	<b>110</b>
<b>Tabla 15</b>	Datos al diagnóstico de los pacientes tolerantes y reactivos	<b>111</b>
<b>Tabla 16</b>	Pruebas intraepidérmicas de los pacientes tolerantes y reactivos	<b>112</b>
<b>Tabla 17</b>	TAB de los pacientes en base a la reactividad clínica	<b>113</b>
<b>Tabla 18</b>	IgE total y específicas y cocientes IgEe/IgEt de los pacientes en base a la reactividad clínica	<b>114</b>
<b>Tabla 19</b>	IgG4 total y específicas y cocientes IgG4e/IgGt de los pacientes tolerantes y reactivos	<b>116</b>
<b>Tabla 20</b>	Cocientes IgEe/IgGe de pacientes en base a la reactividad clínica	<b>117</b>
<b>Tabla 21</b>	Curvas ROC de las pruebas intraepidérmicas en base a la tolerancia o reactividad clínica	<b>118</b>
<b>Tabla 22</b>	Curva ROC para los resultados del TAB en base a la tolerancia o reactividad clínica	<b>121</b>
<b>Tabla 23</b>	Curva ROC para los resultados de IgE total y específicas y cocientes IgEe/IgEt en base a la tolerancia o reactividad clínica	<b>122</b>

<b>Tabla 24</b>	Curvas ROC para los cocientes IgEe/IgG4e en base a la tolerancia o reactividad clínica	<b>125</b>
<b>Tabla 25</b>	Reacciones adversas durante la ITO	<b>129</b>
<b>Tabla 26</b>	Criterios de mala y buena evolución durante la ITO	<b>130</b>
<b>Tabla 27</b>	Datos demográficos y de reacciones adversas en relación a la seguridad	<b>131</b>
<b>Tabla 28</b>	Pruebas intraepidérmicas en base a la seguridad	<b>132</b>
<b>Tabla 29</b>	Resultado de las PEOC con leche de oveja en base a la seguridad	<b>133</b>
<b>Tabla 30</b>	TAB en base a la seguridad	<b>133</b>
<b>Tabla 31</b>	IgE total y específicas y cocientes IgEe/IgE total en base a la seguridad	<b>134</b>
<b>Tabla 32</b>	IgG4 total y específicas y cocientes IgG4e/IgG4t en base a la seguridad	<b>136</b>
<b>Tabla 33</b>	Cocientes IgEe/IgG4e en base a la seguridad	<b>137</b>
<b>Tabla 34</b>	Curvas ROC del TAB en base a la seguridad	<b>138</b>
<b>Tabla 35</b>	Curvas ROC de la IgE total y específicas y cocientes IgEe/IgEt en base a la seguridad	<b>139</b>
<b>Tabla 36</b>	Curvas ROC de los cocientes IgG4e/IgG4t en base a la seguridad	<b>140</b>
<b>Tabla 37</b>	Evolución de las pruebas intraepidérmicas a lo largo de los tiempos del estudio	<b>141</b>
<b>Tabla 38</b>	Evolución de los valores del TAB a lo largo de los tiempos del estudio	<b>142</b>
<b>Tabla 39</b>	Evolución de los valores de IgE total y específicas a lo largo de los tiempos del estudio	<b>143</b>
<b>Tabla 40</b>	Evolución de los valores de los cocientes IgEe/IgEt a lo largo del estudio	<b>145</b>
<b>Tabla 41</b>	Evolución de los valores de IgG4e/IgGt a lo largo del estudio	<b>146</b>
<b>Tabla 42</b>	Evolución de los valores de los cocientes IgEe/IgG4e a lo largo de los tiempos del estudio	<b>148</b>

## INDICE GRÁFICAS

NºGRÁFICA	TEMA	Página
<b>Gráf. 1</b>	Pruebas intraepidérmicas de los pacientes en base a la reactividad clínica	<b>113</b>
<b>Gráf. 2</b>	TAB de los pacientes en base a la reactividad clínica	<b>114</b>
<b>Gráf. 3</b>	IgE específicas de los pacientes en base a la reactividad clínica	<b>115</b>
<b>Gráf. 4</b>	Cocientes IgEe/IgG4e en base a la reactividad clínica	<b>117</b>
<b>Gráf. 5</b>	Curva ROC para la prueba intraepidérmica con leche de vaca	<b>119</b>
<b>Gráf. 6</b>	Curva ROC para la prueba intraepidérmica con leche de cabra	<b>119</b>
<b>Gráf. 7</b>	Curva ROC para la prueba intraepidérmica con queso de oveja	<b>120</b>
<b>Gráf. 8</b>	Curva ROC para el TAB enfrentado a leche a 1.000 ng/mL	<b>121</b>
<b>Gráf. 9</b>	Curva ROC para la IgE específica frente a leche de vaca	<b>123</b>
<b>Gráf. 10</b>	Curva ROC para la IgE específica frente a leche de cabra	<b>124</b>
<b>Gráf. 11</b>	Curva ROC para la IgE específica frente a leche de oveja	<b>124</b>
<b>Gráf. 12</b>	Curva ROC del cociente IgE/IgG4 frente a betalactoglobulina	<b>126</b>
<b>Gráf. 13</b>	Curva ROC del cociente IgE/IgG4 frente a leche de cabra	<b>126</b>
<b>Gráf. 14</b>	Curva ROC del cociente IgE/IgG4 frente a leche de oveja	<b>126</b>
<b>Gráf. 15</b>	TAB de los pacientes en base a la seguridad	<b>134</b>
<b>Gráf. 16</b>	IgE específicas de los pacientes en base a la seguridad	<b>135</b>
<b>Gráf. 17</b>	Evolución de las pruebas intraepidérmicas a lo largo de los tiempos del estudio	<b>141</b>
<b>Gráf. 18</b>	Evolución de los valores del TAB a lo largo de los tiempos del estudio	<b>142</b>
<b>Gráf. 19</b>	Evolución de los valores de IgE específicas a lo largo de los tiempos del estudio	<b>144</b>
<b>Gráf. 20</b>	Evolución de los valores de IgG4e específicas a lo largo de los tiempos del estudio	<b>147</b>
<b>Gráf. 21</b>	Evolución de los cocientes IgEe/IgG4e a lo largo de los tiempos del estudio	<b>149</b>

## INDICE FIGURAS

<b>Nº FIGURA</b>	<b>TEMA</b>	<b>Página</b>
<b>Fig. 1</b>	Clasificación de las reacciones adversas alimentarias	<b>6</b>
<b>Fig. 2</b>	Papel de la células Treg en la tolerancia oral	<b>7</b>
<b>Fig. 3</b>	Mecanismo inmunológico en la reacción alérgica alimentaria	<b>9</b>
<b>Fig. 4</b>	Mecanismo de tolerancia en alergia alimentaria	<b>57</b>
<b>Fig. 5</b>	Mecanismo de acción del omalizumab	<b>58</b>
<b>Fig. 6</b>	Esquema del T0	<b>75</b>
<b>Fig. 7</b>	Esquema del T1-T4	<b>76</b>
<b>Fig. 8</b>	CD123 (identificación basófilos y células dendríticas)	<b>83</b>
<b>Fig. 9</b>	HLA-DR (discriminación entre basófilos y células dendríticas)	<b>83</b>
<b>Fig. 10</b>	CD63 (nivel de activación de los basófilos)	<b>83</b>
<b>Fig. 11</b>	CD63 (nivel de activación de los basófilos enfrentados a controles y distintas concentraciones de leche)	<b>84</b>
<b>Fig. 12</b>	Técnica de Fluoroenzimoinmunoensayo	<b>85</b>
<b>Fig. 13</b>	Técnica de detección de triptasa	<b>86</b>
<b>Fig. 14</b>	Esquema de los pacientes incluidos en el estudio	<b>109</b>

## INDICE ANEXOS

<b>Nº ANEXO</b>	<b>TEMA</b>	<b>Página</b>
<b>Anexo 1</b>	Consentimiento informado para la PEOC	<b>214</b>
<b>Anexo 2</b>	Tratamiento de las reacciones adversas acontecidas durante la PEOC	<b>215</b>
<b>Anexo 3</b>	Cuaderno para el paciente en tratamiento con ITO	<b>216</b>
<b>Anexo 4</b>	Cuaderno de adrenalina	<b>221</b>
<b>Anexo 5</b>	Consentimiento informado para la ITO	<b>223</b>
<b>Anexo 6</b>	Consentimiento informado para la ITO de alto riesgo	<b>225</b>
<b>Anexo 7</b>	Consentimiento informado para el uso Omalizumab fuera de ficha técnica	<b>228</b>
<b>Anexo 8</b>	VARIABLES del estudio	<b>230</b>
<b>Anexo 9</b>	Datos individuales de los parámetros de ITO	<b>232</b>



## DEFINICIÓN DE CONCEPTOS

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

**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 el 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.

**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 exposición habitual a alérgenos.

**Dermatitis atópica:** enfermedad cutánea inflamatoria pruriginosa.

**Desensibilización:** elevación de la dosis umbral que desencadena reacción alérgica en un paciente alérgico por medio de un determinado tratamiento, mientras se mantiene éste.

**Desensibilización completa:** elevación de la dosis umbral que desencadena reacción alérgica en un paciente por medio de un determinado tratamiento, logrando la ausencia de reactividad clínica a una ración normal mientras se reciben dosis regulares del tratamiento.

**Desensibilización parcial:** elevación de la dosis umbral que desencadena reacción alérgica en un paciente por medio de un tratamiento, logrando la ausencia de reactividad clínica a dosis inferiores a una ración normal, mientras se reciben dosis regulares del tratamiento.

**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.

**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 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 oral inducida:** consecución de la ausencia de manifestaciones clínicas tras la ingesta de un alimento al que el paciente era alérgico, mediante un tratamiento y que se mantiene tras suspender éste durante un período prolongado de semanas o meses.

# 1. ANTECEDENTES Y ESTADO ACTUAL DEL TEMA

---



## 1.1. ALERGIA ALIMENTARIA

La alergia alimentaria se define como una reacción adversa frente a alimentos mediada por mecanismos inmunológicos. En función del tipo de mecanismo inmunológico implicado en su patogenia y de acuerdo a la clasificación de las reacciones adversas a alimentos de la Comisión de Nomenclatura de la EAACI refrendada por la WAO (1,2) se clasifica en (Figura 1):

- **Mediada por la IgE** (hipersensibilidad del tipo I): síndrome de alergia oral, urticaria /angioedema, rinoconjuntivitis, broncoespasmo, vómitos, diarrea, dolor abdominal, hipotensión...
- **No mediada por IgE:** proctocolitis, enterocolitis o enteropatía inducida por proteínas de la dieta, enfermedad celíaca y dermatitis herpetiforme.
- **Mixta** (en la que participan los dos mecanismos anteriores): esofagitis o gastroenteritis eosinofílica alérgica, dermatitis atópica y asma alérgica.

Las más frecuentes y mejor conocidas son las reacciones mediadas por anticuerpos IgE y son a las que nos referiremos a lo largo de todo este proyecto de investigación.

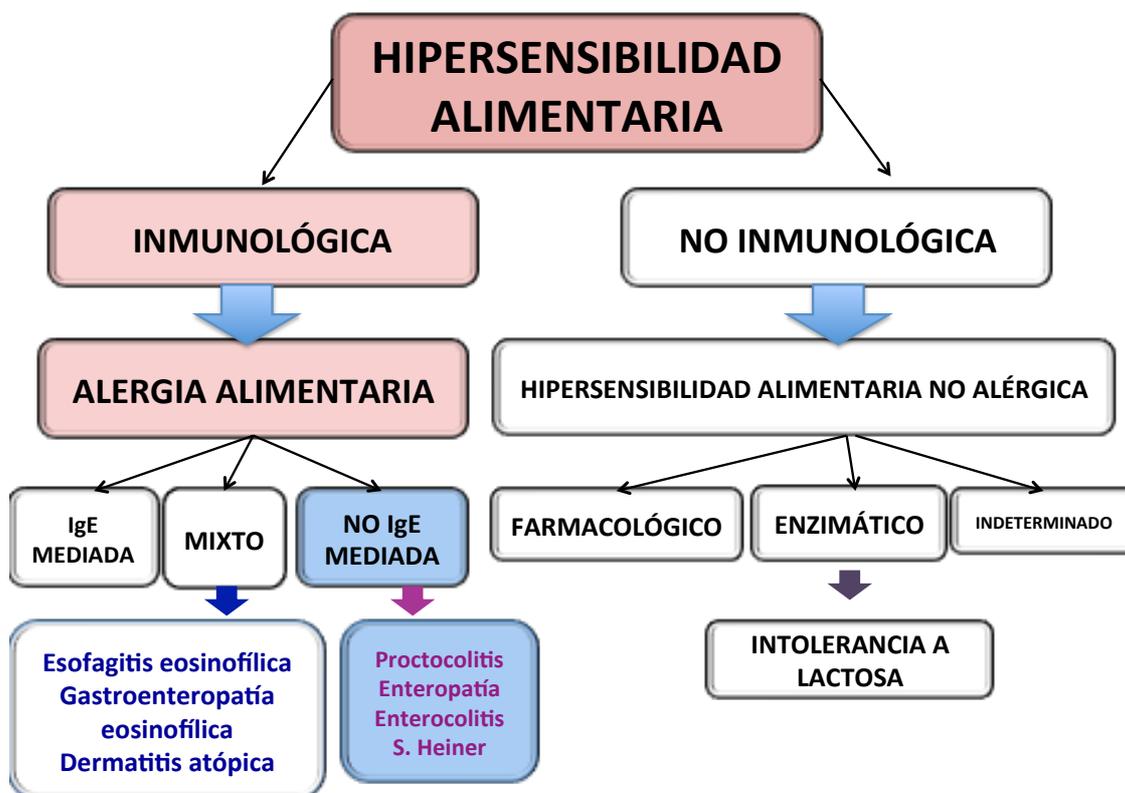


Fig.1: Clasificación de las reacciones adversas alimentarias.

### 1.1.1 Alergia alimentaria mediada por IgE

La alergia alimentaria es el resultado de una alteración en el proceso normal de tolerancia inmunológica que sucede tras el contacto con los diferentes alérgenos de los alimentos que ingerimos. Existen de forma innata mecanismos inmunoreguladores que suprimen esta respuesta inmunológica anómala cuando se produce el contacto por vía digestiva (3). Se han sugerido varios mecanismos favorecedores de la tolerancia inmunológica, como la eliminación de linfocitos T específicos de antígeno, la inducción de anergia en estos linfocitos T específicos o la producción de linfocitos T reguladores (Treg) que favorecen la respuesta Th1 (4). Existen, además, diversos factores asociados o modificadores en relación con la exposición, como la vía de contacto (oral, inhalada, etc.), el estado patológico previo de la mucosa digestiva o las características antigénicas del alimento, que pueden ser determinantes a la hora de que se produzca la tolerancia inmunológica (5).

La mucosa digestiva dispone de diversos mecanismos mediante los cuales puede inducir la tolerancia a los alérgenos alimentarios (6). Además de su función como barrera física, ejerce un papel fundamental en el reconocimiento inmune de los alérgenos alimentarios, tanto a través del sistema innato (neutrófilos, macrófagos, linfocitos citolíticos espontáneos, células epiteliales) como del adaptativo (linfocitos intraepiteliales, placas de Peyer, IgA secretora y citoquinas) (7). Todos estos componentes participan en el proceso de tolerancia del alimento al reconocerlo como no perjudicial, implicando no solo a la generación de LTreg a través de las células dendríticas, sino que también se ha demostrado que las amígdalas en la cavidad oral son de gran importancia en la formación y mantenimiento de estos linfocitos Treg (8)(9) cuya implicación en los procesos de tolerancia se esquematiza en la figura 2.

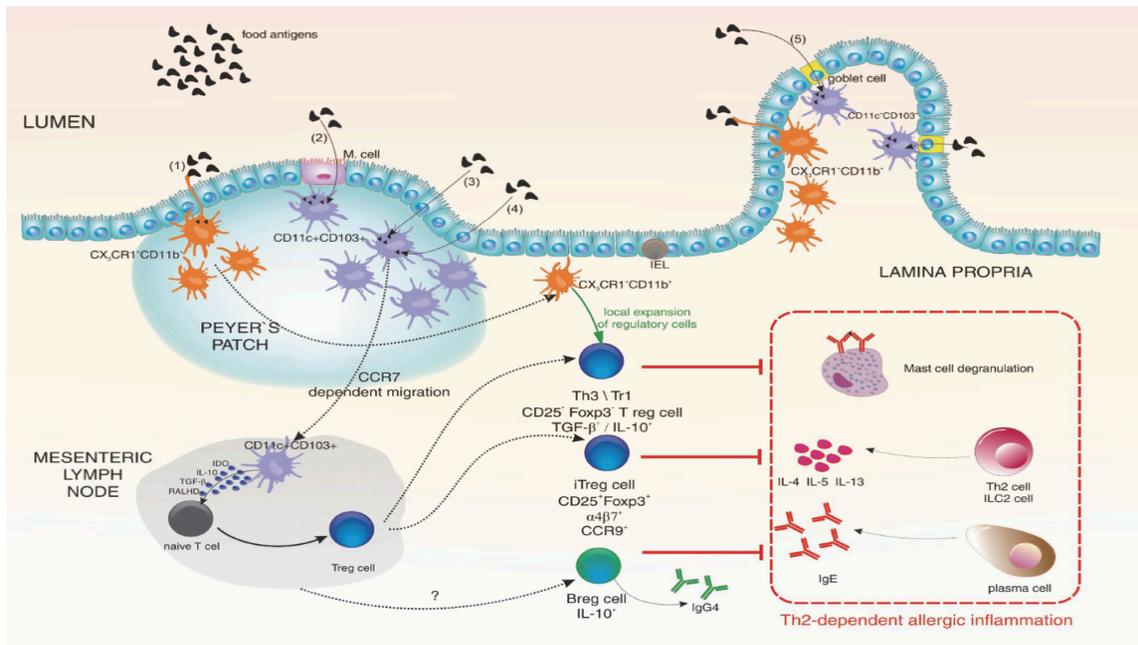


Fig.2: Papel de la células Treg en la tolerancia oral.

Los pacientes que no logran la tolerancia oral desarrollan una respuesta inmune de tipo Th2 específica para ese alérgeno alimentario con la consiguiente producción de anticuerpos IgE específicos (IgEe), que son los responsables de que se desencadene la respuesta de hipersensibilidad (5). Una vez establecida la sensibilización los anticuerpos IgE que se unen a los receptores de alta afinidad (FcεRI) en los mastocitos, y cuando se repite un nuevo contacto con el alimento, desencadenan su degranulación y liberación de mediadores (histamina, leucotrienos y prostaglandinas) (10).

El desarrollo de alergia alimentaria se produce en varios pasos y requiere repetidas exposiciones a un determinado antígeno alimentario. La respuesta inmune mediada por IgE tiene una fase de sensibilización y una fase efectora con una fase aguda y una potencial fase tardía, y una fase crónica (Figura 3).

- **Fase de sensibilización:** tras la absorción y procesamiento del antígeno por las CPA (células dendríticas, macrófagos y LB), éstas presentan los péptidos antigénicos a los LT CD4+ vírgenes. Bajo la influencia de determinadas citocinas (IL-4 e IL-13), estos LT Th0 vírgenes se transforman en linfocitos Th2, los cuales son necesarios para la transformación de LB en células plasmáticas productoras de IgEe frente al antígeno. En esta fase, ausente de manifestaciones clínicas, se genera IgEe frente al alimento al que se ha expuesto el sujeto, ya sea por vía oral (11) o percutánea (importante mecanismo en los recién nacidos y lactantes) o por vía inhalada (de relevancia en los niños mayores y adultos) (12)(13).

- **Fase efectora:** la exposición antigénica recurrente induce la unión de moléculas de IgE a los receptores de alta afinidad para IgE que expresan mastocitos y basófilos. La interacción del alérgeno con las moléculas de IgE unidas a estas células efectoras desencadena su activación y la posterior liberación de mediadores inflamatorios (histamina, leucotrienos...). Esta respuesta inmunológica desencadena, a su vez, una respuesta tisular responsable de síntomas clínicos a nivel de piel y mucosas oculares, nasales, bronquiales y del tracto gastrointestinal (TGI). Los mastocitos también producen citocinas (IL-4, IL-13 e IL-9) y quimocinas tipo Th2, que favorecerán el reclutamiento de células Th2 en el intestino (14). A su vez las citocinas tipo Th2 producirán una mayor expansión de los mastocitos y un mayor reclutamiento de los linfocitos Th2 en el intestino (15–17)(18).

Esta fase aguda, que ocurre de segundos a minutos tras la exposición al antígeno, puede estar seguida de una reacción de fase tardía a las 2-24 horas de esta exposición, caracterizada por una infiltración celular del tejido con granulocitos (basófilos y eosinófilos) y linfocitos (principalmente Th2) (19,20). Estas fases han sido menos estudiadas en el TGI que en otros órganos como las vías respiratorias y la piel, pero existen pruebas de que las respuestas inmunitarias son similares (21,22).

Se han descrito vías alternativas de anafilaxia: mediadas por IgG; el receptor de baja afinidad de los linfocitos, neutrófilos, macrófagos y basófilos; y el factor activador de

plaquetas (PAF) (23), asociándose este último con gravedad (24)(25).

- **Fase crónica:** es el resultado de la repetición de sucesivas fases tardías. La patogenia de esta inflamación crónica se basa en un conjunto de células y citocinas tipos Th1 y Th2 acompañados de dilatación arteriolar, aumento de la permeabilidad vascular, estimulación de nervios sensitivos y alteración de la función del TGI. Los mediadores pro-inflamatorios y las citocinas inducen una estimulación de las moléculas de adhesión y la liberación de factores quimiotácticos (quimocinas), ocasionando una persistente infiltración eosinofílica, de basófilos y de linfocitos específicos de alérgeno, lo que ocasiona cambios crónicos estructurales con fibrosis y disfunción orgánica. Se ha sugerido que una inflamación persistente daría lugar a un sistema de retroalimentación positivo que resultaría en una perpetuación de la respuesta inflamatoria aún sin el contacto con el alérgeno (26).

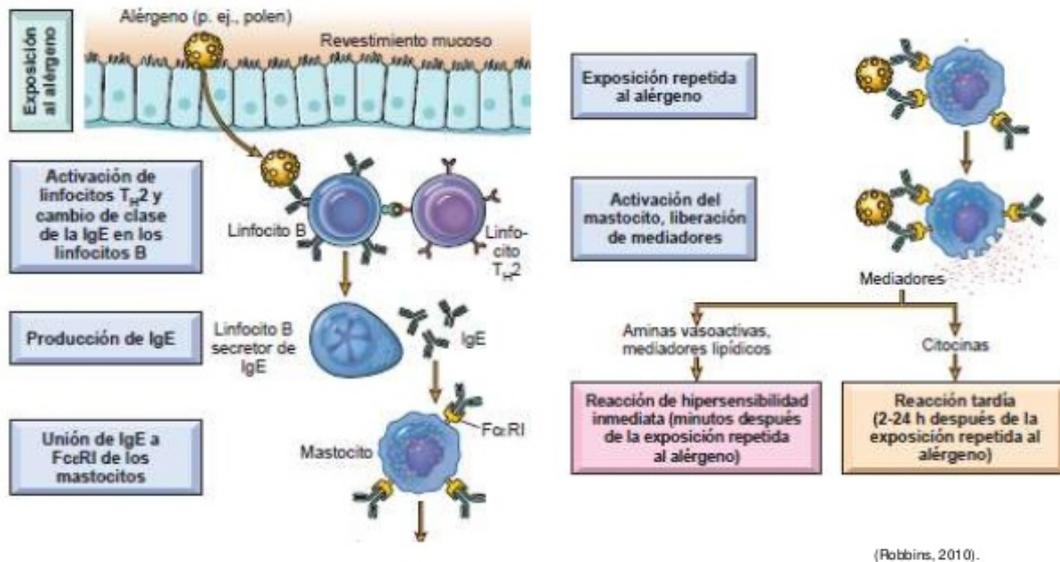


Fig.3: Mecanismo inmunológico en la reacción alérgica alimentaria.

La alergia alimentaria es un tema de actualidad en los países occidentales, tanto por su incremento en la prevalencia (27)(28) (3% de la población general (29)(30)(31–35), 7% en los niños en edad preescolar (36)), como en su gravedad (37).

Respecto al tipo de alimentos implicados más frecuentemente, éstos dependen la edad, la localización geográfica y los hábitos de consumo. En los niños, el huevo y la leche de vaca son los alimentos más frecuentemente implicados en todos los estudios.

## 1.2 LA LECHE Y SUS PROTEÍNAS

La leche es la única alimentación de los mamíferos recién nacidos y su composición es específica de especie adaptándose a las necesidades de crecimiento de sus crías.

La leche materna es el alimento específico y el más adecuado para el niño en los 4-6 primeros meses de vida, con un contenido en proteínas con función nutricional consistente en un 40% de caseína y 60% de proteínas séricas. Presentan además proteínas con efectos antimicrobianos, antiinflamatorios e inmunomoduladores como las IgA, transferrina y lisozima (38,39), entre otras.

Cuando la lactancia materna no puede establecerse o mantenerse, se sustituye total o parcialmente por leche de otros mamíferos y, en nuestro medio, el más utilizado es la vaca.

La leche de vaca es cuantitativa y cualitativamente diferente a la materna. En cuanto a su composición cuantitativa, las proteínas están presentes en una mayor cantidad (3,5 g/dL frente a 0,9-1,1 g/dL en la leche materna) y pertenecen en un 80% a caseína y un 20% de proteínas séricas (40). Por otro lado, la composición cualitativa de proteínas es la siguiente:

- **Betalactoglobulina (BLG, Bos d 5):** es la proteína más abundante del suero. Aparece en la leche como una proteína dimérica de 36 kDa. Cada subunidad corresponde a un polipéptido de 162 aminoácidos que presenta dos puentes disulfuro. La BLG pertenece a una familia de proteínas altamente alergénicas, las lipocalinas, y se considera una proteína ligadora de retinol. Esta proteína es resistente a la hidrólisis ácida y a las proteasas, estimulando el sistema inmunológico (41). Se han identificado epítopos secuenciales frente a BLG (42). No existe BLG humana, pero sí puede estar presente la BLG bovina en la leche materna, aunque existe controversia a este respecto (43)(44). Se sabe que el porcentaje de pacientes alérgicos a la leche de vaca que reaccionan frente a esta proteína varía entre el 13 y el 76% (45).
- **Alfalactoalbúmina (ALA, Bos d 4):** es una proteína monomérica que contiene 4 puentes disulfuro, y presenta un lugar de unión de alta afinidad para el calcio que, al unirse, estabiliza la estructura secundaria de la proteína. Es un componente regulador del sistema enzimático de la galactosiltransferasa responsable de la síntesis de lactosa. La ALA bovina presenta una gran similitud en la secuencia de aminoácidos con la lisozima de la clara de huevo y con la ALA humana (43). Hasta el 80% de los pacientes alérgicos a la leche de vaca reaccionan frente a esta proteína (46).
- **Caseína (CAS Bos d 8):** forman agregados (micelas) en el suero lácteo y constituyen la fracción sólida que se obtiene cuando cuaja la leche. Estas micelas presentan una zona central hidrofóbica y una capa periférica hidrofílica.

En el núcleo de las micelas las caseínas se unen mediante interacciones moleculares entre el fosfato cálcico coloidal y los residuos de fosfoserina de las caseínas  $\alpha$ s1-,  $\alpha$ s2-, y  $\beta$ , mientras que el extremo C-terminal de la caseína  $\kappa$  y los dominios polares de las demás caseínas se exponen en la periferia. Las caseínas presentan escasa similitud en su estructura primaria, pero todas ellas están fosforiladas y tienen una estructura terciaria flexible (43). Se han identificado epítomos secuenciales en esta proteína (42). Son proteínas termoestables, pero muy susceptibles a la digestión enzimática, lo cual podría explicar que hasta el 58% de los pacientes alérgicos a leche de vaca toleren quesos madurados tipo Parmigiano Reggiano (47). La mayoría de los pacientes alérgicos a la caseína están sensibilizados a las 4 caseínas. Las sensibilizaciones más frecuentes son frente a la  $\alpha$ -caseína (64,6-100%) y la  $\kappa$ -caseína (47,8-91,7%). Varios estudios han identificado la  $\alpha$ -s1-caseína como el alérgeno mayor responsable de las reacciones alérgicas inmediatas o retardadas graves. A pesar de que la  $\alpha$ s1-caseína es un alérgeno alimentario de clase I, capaz de sensibilizar y desencadenar síntomas por vía digestiva, se ha comprobado que contiene tanto alérgenos conformacionales como secuenciales. Sampson y cols. han estudiado los epítomos de la BLG, ALA y caseínas (48–51), habiendo encontrado que la sensibilización a determinados epítomos secuenciales de  $\alpha$ s1-,  $\alpha$ s2-, y  $\kappa$ -caseína, es un marcador de alergia persistente a la leche de vaca (48,52).

- **Albúmina sérica bovina (BSA, Bos d 6):** proteína termolábil (53,54) presente también en la carne de vaca (55). El porcentaje de pacientes alérgicos a la proteína de leche de vaca sensibilizados a BSA oscila del 0 al 88% de los pacientes. La reactividad cruzada que existe entre la carne de mamíferos y la leche de vaca no suele acompañarse de reactividad clínica y los niños con alergia a las PLV, aunque a menudo tienen pruebas cutáneas con carne de ternera positivas, casi siempre pueden comerla sin reacciones adversas (56), aunque hasta el 13-20% podrían desarrollar síntomas (54,57), especialmente si la comen cruda o poco hecha, ya que su alergenidad se pierde en la carne cocinada. Por contra, aproximadamente el 90% de los niños alérgicos a la carne de ternera lo son también a la proteína de leche de vaca.
- **Otras proteínas:** Lactoferrina, inmunoglobulina (Bos d 7), transferrinas, lipasas y enterasas (44)

La mayoría (75%) de los pacientes alérgicos a la leche están sensibilizados a más de uno de los alérgenos (43)(58) descritos previamente.

Tabla 1: Proteínas de la leche de vaca.

PROTEÍNA	NOMENCLATURA	RESISTENCIA	%SENS	RCr
<b>ALA</b>	Bos d 4		80	Lisozima
<b>BLG</b>	Bos d 5	Hidrólisis ácida y proteasas	13-76	
<b>CAS</b>	Bos d 8	Temperatura (lábil a digestión enzimática)	48-100	
<b>BSA</b>	Bos d 6	Labilidad	0-88	Carne ternera
<b>OTRAS</b>	Lactoferrina, Inmunoglobulinas (Bos d 7), transferrinas, lipasas, enterasas,...			

%Sens: porcentaje de sensibilización; RCr: reactividad cruzada; ALA: alfa lactoalbúmina; BLG: beta lactoglobulina; CAS: caseína; BSA: albúmina sérica bovina.

Las fórmulas adaptadas de leche de vaca utilizadas para la lactancia artificial intentan contener un aminograma semejante al de la leche humana, aumentando las proteínas séricas al 60%. Por este motivo, la betalactoglobulina (BLG) está sobrerrepresentada en las fórmulas infantiles por lo que, para muchos autores, es la responsable de la mayor parte de las sensibilizaciones, aunque para otros el alérgeno mayoritario sería la caseína (58).

Se ha demostrado una notable similitud (> 80%) en las secuencias de aminoácidos de ALA, BLG y caseínas de la mayoría de rumiantes (59,60). Esto implica que las leches de cabra, oveja y búfala presentan importante reactividad cruzada con la leche de vaca. Sin embargo, también se han descrito reacciones alérgicas selectivas a leches o quesos de oveja o cabra con buena tolerancia a la leche de vaca (61–63). Actualmente se sabe que más del 90% de los pacientes alérgicos a la leche de vaca tienen reactividad clínica con la leche de cabra. Por contra, la leche de burra y de yegua presentan una reactividad cruzada débil (sólo el 4% de los pacientes con APLV presentarían síntomas con la leche de yegua) y menor aún la leche de camella, por lo que podría ser una buena alternativa en los pacientes alérgicos a la leche de vaca (64) (43). También se han descrito reacciones adversas en pacientes alérgicos a la proteína de la leche de vaca después de la ingesta de leche de soja, por reactividad cruzada de la caseína de la leche con una proteína de 30 kDa (65) que corresponde a la subunidad G4 de Gly m 6 (Gly m 6.0401) y con Gly m 5 (66).

## 1.3 APLV MEDIADA POR IGE

La introducción en los primeros meses de vida, cuando se están estableciendo los mecanismos de tolerancia inmunológica, de proteínas extrañas para nuestra especie tiene como consecuencia una elevada frecuencia de reacciones adversas. Las reacciones alérgicas a las proteínas de la leche de vaca son reacciones adversas de mecanismo inmunológico con frecuencia mediadas por IgE (67).

### 1.3.1 Definición

Se denomina APLV a todos aquellos cuadros clínicos de reacción adversa frente a LV, con mecanismo inmunológico comprobado. Las reacciones alérgicas a las proteínas de la leche de vaca son reacciones adversas de mecanismo inmunológico con frecuencia mediadas por IgE (67).

Estas son el tipo de reacciones alérgicas a las que me referiré a lo largo de todo este trabajo.

### 1.3.2 Epidemiología

La APLV es una patología que aparece predominantemente en la edad infantil, siendo su aparición en la edad adulta excepcional.

Hasta un 0.5% de niños con alimentación materna exclusiva pueden presentar ya una sensibilización a proteínas de la leche de vaca (PLV) (68).

La alergia a las proteínas de leche de vaca (APLV) constituye una de las causas más frecuentes de alergia alimentaria y una de las alergias más prevalentes en niños menores de 4 años en los países occidentales y en Japón, donde la leche es un alimento esencial en la dieta infantil (69)(70–76). En concreto, la prevalencia de alergia a la leche en el primer año de vida es del 2,5% de los recién nacidos (77)(78).

La frecuencia de alergia confirmada por prueba de exposición oral controlada (PEOC) con leche de vaca en cinco cohortes pediátricas europeas varía del 1,9 al 4,9% (72). Sin embargo, la percepción es mucho mayor y alcanza el 17% en algunos estudios (69). En un metanálisis reciente sobre 35 estudios realizados en población europea, la prevalencia de alergia referida a la leche era del 2,3%, la de sensibilización por pruebas cutáneas del 0,3%, por IgE sérica del 4,7%, y mediante PEOC se redujo al 0,3% (75). La APLV era más prevalente en el norte de Europa que en otras regiones.

La alergia a la leche comienza, por lo general, en el primer año de vida siendo la alergia alimentaria más frecuente en esta edad, con una prevalencia del 2-3% (69,79–83). Datos en nuestro país ofrecen cifras algo inferiores, situándola entre el 0,36 y el 1,9% (84,85), ocupando el tercer lugar, después del huevo y el pescado, como motivo

de consulta por alergia a alimentos (86).

### **1.3.3 Fisiopatología**

#### **1.3.3.1 Mecanismos patogénicos de la enfermedad alérgica**

Parece que el factor más relevante en la pérdida de la tolerancia oral en los pacientes con alergia a alimentos es la disfunción de las células Treg. Diversos estudios experimentales muestran cómo la depleción de estos linfocitos en ratones es fundamental en la sensibilización alérgica a proteínas de leche de vaca. Se ha observado que los linfocitos Treg son capaces de inhibir la activación mastocitaria a través de la IL-10. Autores, como Karlson y cols., observan que, los pacientes que acaban superando su alergia a leche de vaca, presentan un desarrollo de esta subpoblación linfocitaria (87). Shreffler (88) describió que los pacientes con APLV, que llegan a tolerar leche calentada (bollería), tienen un mayor porcentaje de subpoblaciones de linfocitos Treg que aquellos pacientes que no toleran ninguna forma de leche de vaca.

Se han descrito valores bajos de anticuerpos IgA en aquellas madres cuyos hijos desarrollaron alergia a leche de vaca, en relación a la de las madres de los que fueron tolerantes. Así, el papel protector de la IgA sobre la homeostasis intestinal podría ser crítico en la prevención precoz de la alergia alimentaria (89). En la inmunoterapia sublingual con alimentos, se ha observado un incremento de IgA específica en saliva que se correlaciona con una mejoría clínica (90).

#### **1.3.3.2 Flora intestinal y su papel en la alergia a proteínas de leche de vaca**

Se ha demostrado que algunas cadenas de Lactobacillus y Bifidus bacteria son capaces de influir en la respuesta inmunológica, actuando a diversos niveles: sobre enterocitos, células presentadoras de antígenos (CPA), linfocitos B, T y células reguladoras. Las cadenas de prebióticos ayudan a mantener, además, la integridad de la mucosa intestinal y su función barrera. Diversos estudios han mostrado cómo los probióticos interactúan con las células dendríticas induciendo una respuesta Th1 (91,92).

### **1.3.4 Manifestaciones clínicas**

En la mayoría de los casos, los síntomas comienzan al iniciar la lactancia artificial, generalmente después de un periodo más o menos prolongado de lactancia materna. La sintomatología debuta, en la gran mayoría de los pacientes, en el primer año de

vida, con un pico máximo de incidencia entre los 3 y los 4 meses de edad, coincidiendo en muchas ocasiones con el fin de la baja maternal. Es excepcional su inicio después del segundo año de vida. Los síntomas suelen aparecer a los pocos minutos de la ingesta de leche, casi siempre antes de transcurrida una hora (93).

La sintomatología dermatológica aguda (eritema, urticaria, angioedema) constituye el cuadro clínico más frecuente. En muchos casos, la primera manifestación de la alergia a leche de vaca es el rechazo del biberón por parte del niño. Las manifestaciones gastrointestinales agudas, como vómitos y diarrea, pueden presentarse solas, pero en el 30% de los casos se asocian a otras manifestaciones clínicas.

Los cuadros de rinoconjuntivitis aguda se observan con frecuencia en pruebas de exposición oral controlada (72), precediendo a la afectación de otros órganos. Aunque es infrecuente, se han descrito casos de reacciones graves respiratorias en niños con alergia a leche de vaca al inhalar el vapor de leche hirviendo (94). Se han descrito, asimismo, reacciones con el uso de inhaladores para el asma bronquial que contenían como excipiente lactosa, y ésta se encontraba contaminada por mínimas cantidades de proteínas de leche de vaca (95).

La leche es el tercer alérgeno alimentario responsable de los cuadros de anafilaxia fatal o casi fatal (96). La anafilaxia puede ser la forma de debut en los lactantes hasta en un 1% de los casos (97), y también es frecuente en los pacientes con alergia a leche de vaca persistente, en niños mayores o adolescentes, como forma de presentación clínica tras contactos accidentales o transgresiones. Se han descrito casos de anafilaxia en pacientes con alergia a leche dependientes de ejercicio físico, incluso en pacientes que ya habían alcanzado la tolerancia previa a la leche de vaca (98).

## **1.4 DIAGNÓSTICO DE LA ALERGIA ALIMENTARIA**

Un diagnóstico correcto de la alergia alimentaria es fundamental para realizar un tratamiento adecuado que implica la eliminación de la dieta del alimento implicado y los productos que lo contengan.

Hay datos que sugieren que entre el 60-70% de las sospechas de reacciones alérgicas a los alimentos en realidad no se confirman (99–102). Por ello, es importante un diagnóstico certero y así evitar dietas innecesarias, con la afectación nutricional y socioeconómica que implican.

Los objetivos del diagnóstico son, por un lado, el establecimiento de una relación causal entre el alimento y las manifestaciones clínicas referidas por el paciente y por otro lado, la demostración de la implicación de un mecanismo inmunológico, que en este caso va a ser la demostración de una sensibilización IgE, ya sea por pruebas

cutáneas como por determinaciones en suero. Estas pruebas tienen una buena sensibilidad pero una baja especificidad, lo que en ocasiones obliga a la realización de pruebas de exposición oral controlada frente al alimento.

Por lo tanto, el diagnóstico de la alergia alimentaria se basa en 3 pasos:

- **Historia clínica:** que orienta sobre el alimento responsable de la reacción y el mecanismo inmunológico implicado
- **Pruebas cutáneas intraepidérmicas (prick) y/o IgE específica:** que demuestre sensibilización al alimento
- **Prueba de exposición oral controlada frente al alimento:** que confirme la sospecha diagnóstica, siempre y cuando no esté contraindicada (103).

Existen otras determinaciones *in vitro* también utilizadas en el diagnóstico de la alergia alimentaria:

- **Determinación de IgG4 específicas:** utilizadas en los últimos años con el objetivo de determinar la tolerancia a los alimentos. Hace varias décadas se observó que la IgG4 se elevaba con la respuesta clínica a la inmunoterapia alérgica específica (104,105). La hipótesis más extendida para explicar este fenómeno es que la IgG4 es un anticuerpo bloqueante ya que es capaz de inhibir la activación de los mastocitos dependientes de IgE por el alérgeno (106). Sin embargo, también se ha propuesto que su elevación en la inmunoterapia sea un epifenómeno derivado de la estimulación de las células Treg o de la estimulación de células memoria (107). Se ha utilizado el cociente IgE /IgG4 frente a proteínas completas o frente a péptidos de las mismas como marcador de tolerancia y, por lo tanto, se ha argumentado su posible papel en el diagnóstico de la alergia a los alimentos, en particular en la alergia a huevo, leche y cacahuete (108–116). En cualquier caso, por el momento no es una técnica de utilidad diagnóstica validada.
- **Test de activación de basófilos:** consiste en la demostración de la activación de los basófilos al enfrentarlos al alimento. En los últimos años se ha demostrado su utilidad en el diagnóstico de la alergia alimentaria (117). Recientemente se está valorando también su utilidad en la predicción de tolerancia a leche (118,119). Dada su complejidad técnica, no se utiliza en la práctica clínica rutinaria.

## 1.5 DIAGNÓSTICO DE LA APLV

Como he explicado previamente, para un correcto diagnóstico, es imprescindible la realización de una buena historia clínica, además de pruebas *in vivo* e *in vitro* que nos ayudarán a confirmar o descartar el diagnóstico de sospecha.

Debido a la particularidad de la evolución de la APLV, que explicaré más adelante, este diagnóstico ha de revisarse periódicamente, ya que se trata de una patología transitoria en la mayoría de los pacientes.

### 1.5.1. Historia clínica

La aparición de los síntomas de APLV IgE mediada se suele producir en los primeros meses de vida, entre el primer y séptimo día de la introducción de la lactancia artificial tras un periodo variable de lactancia materna exclusiva.

Como característica de la alergia IgE mediada, la sintomatología de la APLV cumple 3 requisitos:

a. Aparición en las dos primeras horas desde el contacto con el alimento, habitualmente en un periodo inferior a 30 minutos
b. Síntomas compatibles con alergia IgE, que detallaremos a continuación
c. Desaparición de la sintomatología en un periodo inferior a 24 horas

Los síntomas propios de la alergia IgE mediada son:

Tabla 2. Síntomas de alergia alimentaria mediada por IgE.

SÍNTOMAS IGE MEDIADOS	
<b>Rechazo del alimento, llanto e irritabilidad:</b>	Síntoma propio de lactantes muy pequeños que puede deberse al prurito oral que manifiestan niños más mayores
<b>Síndrome de alergia oral (SAO)</b>	Prurito oral, labial o faríngeo
<b>Síntomas cutáneos:</b>	Urticaria perioral (10-15% de los pacientes lo presentan como síntoma único, aunque puede preceder a síntomas más graves) y urticaria o AE sistémico (presente en el 50% de los pacientes)
<b>Síntomas abdominales:</b>	Dolor abdominal, náuseas, vómitos, diarrea,...

<b>Síntomas respiratorios de vías altas:</b>	Rinoconjuntivitis (aunque poco referida espontáneamente por los pacientes, se observa con frecuencia en las pruebas de exposición oral controladas (120), precediendo a otros síntomas)
<b>Síntomas respiratorios de vías bajas:</b>	Afonía o disfonía, disfagia, disnea, tos, sibilantes,...
<b>Síntomas cardiovasculares:</b>	Hipotensión, taquicardia, síncope,...

Estos síntomas pueden aparecer:

- A. Por ingestión directa o a través de la leche materna (121)
- B. Por contacto directo o indirecto
- C. Por inhalación (122)

Por orden de frecuencia, los más frecuentes son los síntomas cutáneos (70%), seguidos de los digestivos (13%) o la asociación de ambos (18%). Los síntomas respiratorios y la anafilaxia que aparecen en el debut clínico sólo en un 1% de los casos (123)(124), son muy frecuentes en niños mayores de 4 años (125).

Hay otros síntomas que no son propios de la alergia IgE mediada y sin embargo se han relacionado con la APLV, como son:

---

<b>Dermatitis atópica</b>	Constituye un problema muy frecuente en los primeros meses de vida y puede ser provocada o exacerbada por la ingestión de PLV (126,127)
<b>Reflujo gastroesofágico</b>	Asociado a APLV en niños menores del año de edad (128,129)

---

La gravedad de los cuadros de alergia a la leche de vaca es variable y depende tanto del grado de sensibilización como de la cantidad ingerida. A mayor sensibilidad, menor cantidad de leche necesaria para desencadenar los síntomas. Los pacientes con anafilaxia por PLV pueden sufrir reacciones graves con pequeñas cantidades (trazas) de proteínas lácteas, a veces ocultas en otros alimentos o medicamentos (130).

Esta gravedad es además variable a lo largo del tiempo (123), con una tendencia a la desaparición en la mayoría de los niños.

## **1.5.2. Pruebas *in vivo***

Las pruebas *in vivo* utilizadas actualmente en la práctica clínica diaria son las pruebas cutáneas con extractos de leche entera y sus fracciones proteicas y, en caso de duda diagnóstica, la prueba de exposición oral controlada con leche, considerada como la prueba definitiva o prueba de oro.

### **1.5.2.1. Pruebas cutáneas**

Para el diagnóstico de la APLV se utilizan las pruebas cutáneas en prick o pruebas intraepidérmicas con leche entera y sus fracciones proteicas (BLG, ALA, caseína y BSA) que se realizan con extractos estandarizados según las directrices dictadas del Subcomitée on Skin Tests de la European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI) (131,132).

La sensibilidad de las pruebas cutáneas es muy variable (50-100%) (133,134) en función de la edad y la situación evolutiva del paciente, del cuadro clínico y, posiblemente, del extracto empleado.

La utilidad de realizar un estudio de sensibilización a las fracciones proteicas, tanto en pruebas cutáneas como *in vitro*, está en la búsqueda de una mayor sensibilidad (BLG) y de una utilidad pronóstica (caseína). La sensibilidad y especificidad son parámetros relacionados intrínsecamente con las pruebas, pero sus valores predictivos deben establecerse para cada grupo de población y no son siempre extrapolables a otras poblaciones. En nuestra población, algunos grupos encuentran, en niños menores de 1 año y con antígenos comerciales, una sensibilidad del 99% y una especificidad del 38% con un valor predictivo negativo (VPN) del 97% y un valor predictivo positivo (VPP) del 56% (135). También con antígenos comerciales y en pacientes con dermatitis atópica y un amplio abanico de edades, algunos investigadores obtienen una sensibilidad del 94% con especificidad del 46% (136).

#### **1.5.2.1.1. Puntos de corte predictores de reactividad clínica**

Se ha buscado relacionar el tamaño de la pápula con la situación de tolerancia (123) y algunos autores han buscado puntos de corte o puntos de decisión para el diagnóstico. Estos se definen como el valor del resultado de una determinada prueba de diagnóstico (en este caso la prueba intraepidérmica), que ofrece los mejores índices de sensibilidad, especificidad, VPP y VPN para predecir el resultado de la prueba de exposición oral. En general, en la literatura se han utilizado los valores predictivos, en particular el valor predictivo positivo, como el índice más adecuado para establecer los puntos de corte, y se han considerado adecuados aquellos valores que presentan un VPP igual o superior al 95%.

Para las pruebas cutáneas con leche se han considerado diversos puntos de corte, con diferentes valores predictivos y cocientes de probabilidad tanto positivos como negativos (135,137,138) (139)(136) (140) (141) (142). A continuación se detallan los resultados de algunos de estos estudios:

Tabla 3: Puntos de corte obtenidos a partir de las pruebas intraepidérmicas (prick) con leche.

AUTOR-AÑO	PRICK mm	VPP	VPN	CPP	CPN
<b>Eigenmann 1998</b> (136)	3	69	89	1,76	0,12
	5	77	83	2,73	0,17
<b>García-Ara 2001</b> (135)	3	60	7	1,89	0,45
<b>Sporik 2000</b> (140) <2A	6	100			
	>2A	8	100		
<b>Keskin 2005</b> (141)	3	75	83	1,83	0,17
<b>Mehl 2006</b> (142)	3	73	83	1,83	0,21
<b>Kiso 2016</b> (143)	8	86,8	66		

mm: milímetros; VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo, CPP: cociente de probabilidad positiva; CPN: cociente de probabilidad negativa, A: años.

En cualquier caso, estos valores son aplicables únicamente en poblaciones con prevalencia de la enfermedad y características similares a las del estudio.

En definitiva, una prueba intraepidérmica negativa es un buen método para descartar sensibilización a la leche, sin embargo, un prueba intraepidérmica positiva tiene menos capacidad discriminativa.

### 1.5.2.2. Prueba de exposición oral con leche de vaca

La prueba de exposición controlada con el alimento implicado en la reacción y al que el paciente está sensibilizado es el procedimiento definitivo para confirmar o descartar, en la mayoría de los casos, el diagnóstico de alergia clínica a un alimento. Consiste en la administración de dosis progresivamente mayores de leche de vaca y está indicada:

**En pacientes con historia de reacción adversa:**

- A. Para establecer o excluir el diagnóstico de hipersensibilidad a la leche antes de instaurar una dieta de exclusión prolongada, cuando hay dudas o falta de correlación entre la historia clínica y el estudio alergológico,
- B. Para valorar la aparición de tolerancia a lo largo de la evolución de la enfermedad.

**En pacientes sin historia de reacción adversa:**

- a. En el caso de que se detecte sensibilización a un alimento, si se desconoce la tolerancia por parte del paciente
- b. En el caso de presentar un síntoma crónico que pueda estar relacionado con el alimento
- c. Tras dietas de exclusión insuficientemente documentadas del alimento pero cuando se sospecha que puede ser posible una reacción adversa.

Esta prueba debe realizarse siempre en un centro hospitalario que disponga de personal entrenado y equipos de reanimación para el control y tratamiento de posibles reacciones graves y debe ir precedida del consentimiento informado del paciente o de sus padres o tutores.

El paciente no debe presentar ninguna enfermedad concomitante (infecciones respiratorias, rinitis alérgica, fiebre, etc.) y debe encontrarse estable desde el punto de vista alérgico.

Es necesario realizar una dieta de eliminación previa del alimento implicado y que el paciente esté en ayunas (144). Puede realizarse de forma abierta, como ocurre en la práctica clínica habitual, o doble ciego controlado con placebo, en caso de síntomas subjetivos o con fines de investigación.

Se administra leche de vaca en distinta forma en función de la edad:

De 0 a los 6 meses	Fórmula adaptada tipo 1
De 6 a los 12 meses	Fórmula adaptada tipo 2
A partir de los 12 meses	Leche de vaca no adaptada

La dosis de comienzo para la exposición con el alimento debe ser decidida basándose en la historia del paciente y los datos de la bibliografía. El alimento debe administrarse comenzando por una cantidad inferior a la que supuestamente originó la reacción y

además, se recomienda comenzar por debajo de las “dosis umbral” con la que reaccionan la mayoría de los pacientes, referida en la literatura médica (145–147). Los datos de que se dispone indican que el 15% de los alérgicos responden con menos de 15 cc de leche (147). Los intervalos entre dosis dependen del periodo de latencia de la reacción inicial, pero oscilan entre los 15 y 60 minutos. Las dosis van progresivamente en aumento hasta alcanzar la cantidad correspondiente a una toma del lactante o a 200-250 ml en el niño mayor. El periodo de observación final debe ser de 1 a 2 horas.

Si se comprueba una buena tolerancia, se debe continuar la administración de leche en el domicilio los días siguientes, sin dejar intervalos libres, ya que un porcentaje de pacientes presentan síntomas en la primera semana. No se considerará que se ha alcanzado la tolerancia hasta confirmar que el niño toma leche en cantidad normal para su edad durante este periodo (148,149).

Aunque, como he comentado anteriormente la prueba de exposición es la única prueba definitiva para el diagnóstico de alergia alimentaria, no es necesaria en todos los casos, como:

- a. En los pacientes con una reacción grave con clara relación con la leche y estudio alergológico positivo y concordante
- b. En los pacientes con reacciones leves inmediatas, repetidas y recientes (2-18 meses desde el último episodio en niños) (144)(150,151) en relación con la ingestión o el contacto con leche de vaca, con un estudio alergológico positivo y concordante.

Además, debe evitarse su realización (144):

- a. Cuando el paciente no pueda recibir adrenalina
- b. En pacientes que requieran tratamiento con beta-bloqueantes, inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (IECA) y de la monoaminooxidasa (MAO), corticoides, antihistamínicos, antidepresivos tricíclicos y/o inmunosupresores
- c. En pacientes embarazadas
- d. En pacientes adultos con una sintomatología clara de anafilaxia o reacción sistémica grave con uno o más alimentos con estudio alérgico positivo y concordante
- e. En casos seleccionados en los que los resultados de la determinación de IgE específica hagan innecesaria la prueba de exposición
- f. En pacientes con asma inestable y FEV<sub>1</sub> < 80% del teórico
- g. En pacientes con dermatitis atópica grave.

Por otro lado, dado el riesgo de reacción adversa de esta prueba y el consumo de tiempo y recursos que conlleva, en los últimos años se está planteando la utilización de otras técnicas de exposición diagnóstica (152). La exposición labial y la prueba del contacto cutáneo, conocida también como prueba del frotamiento, rubbing-test o skin application food test (SAFT), resultan útiles, seguras, de rápida aplicación y, además, tienen un VPN alto frente a la exposición oral (153,154)<sup>(155)</sup>. Sin embargo, esta prueba no detectaría a los pacientes que necesitan ingerir el alimento y que sea absorbido para presentar la reacción alérgica. Además, como ocurre con la prueba de frotamiento cutáneo (rubbing test), no hay suficientes estudios que la avalen, por lo que su uso clínico no está aprobado actualmente.

Tanto el Comité de Reacciones Adversas a Alimentos de la SEAIC como la EAACI han publicado un documento con las guías para la realización de las pruebas de exposición en pacientes con reacciones preferentemente mediadas por IgE (37).

### **1.5.3. Pruebas *in vitro***

Las pruebas *in vitro* utilizadas para el diagnóstico de la alergia alimentaria que a continuación describiré son la determinación de la IgE específica, IgG e IgG4 y el test de activación de basófilos.

#### **1.5.3.1 Anticuerpos IgE específicos**

Existen diversas técnicas para la determinación de IgE específica sérica (radioisotópicas, inmunoenzimáticas, colorimétricas, fluorométricas y quimioluminiscentes) en las que el alérgeno puede encontrarse en fase líquida o sólida. Entre los métodos validados existe, en general, buena correlación y poseen similar eficacia (156–161). Al igual que con las pruebas cutáneas, existe una variabilidad en su utilidad clínica en función de la naturaleza del alimento y de la procedencia del extracto (162). Su rentabilidad diagnóstica es buena para alimentos ricos en proteínas como la leche (151,163). La determinación de IgE específica debe ser puesta en contexto con la historia clínica, ya que en sí misma no es diagnóstica de alergia alimentaria, sino únicamente de sensibilización (164,165).

La determinación de IgE sérica específica para leche completa y sus proteínas tiene una importante utilidad tanto diagnóstica como pronóstica. Por un lado, la negatividad de la IgE sérica frente a la leche de vaca completa se corresponde con la de sus fracciones proteicas, por lo que permite obviar su realización. Por otro lado, cuando es positiva, indica sensibilización alérgica (166) y la determinación de IgE específica frente a cada una de sus proteínas puede ser de interés pronóstico. Aún no está claro si la magnitud de los valores de la IgE guarda relación con la gravedad de la sintomatología. Si bien los valores iniciales no permiten predecir la tolerancia (167), la

aparición de ésta se acompaña de un descenso en los títulos de IgE específica (168). Concretamente el descenso de la IgE específica frente a BLG y caseína se ha relacionado con adquisición de tolerancia clínica (169).

La IgE específica es considerada de menor sensibilidad que las pruebas intraepidérmicas, aunque las dos modalidades son equivalentes para algunos alimentos. En la práctica clínica, ambas pruebas se utilizan de forma conjunta. La determinación de IgE específica se considera una alternativa a las pruebas cutáneas cuando no es posible la realización de éstas (enfermedad dermatológica grave, dermografismo, toma de medicamentos que las inhiben, etc.) o en algunos casos de reacciones sistémicas graves, para evitar el riesgo de reacción sistémica con la realización de las mismas. Sin embargo, es una técnica más cara y los resultados no están disponibles en el momento, por lo que las pruebas cutáneas siguen siendo el sistema de elección para comenzar a investigar la presencia de anticuerpos IgE específicos frente al alimento (144). Algunas de las ventajas de esta prueba sobre la cutánea es que se pueden realizar múltiples determinaciones con una única muestra de suero y, si se utiliza un mismo método de determinación de IgE específica, los resultados son cuantitativamente comparables entre diferentes laboratorios y a lo largo del tiempo, por lo que es una herramienta útil para el seguimiento (144).

Durante la década de 1990 se introdujo la llamada segunda generación de técnicas para la detección de IgE específica, entre las cuales el sistema ImmunoCAP de ThermoFisher® es la más perfeccionada. Su sensibilidad es alta porque la fase sólida está saturada de antígeno y detecta toda la IgE específica, incluidos los anticuerpos de baja afinidad. Esta técnica permite la detección cuantitativa de IgE específica de antígeno. Se utiliza una curva dosis respuesta y se define la respuesta de anticuerpo de clase IgE específico en unidades internacionales por litro, donde 1 UI es, aproximadamente, equivalente a 2,4 ng de IgE (161). Esta cuantificación de los resultados ha hecho posible el estudio de la relación entre el valor de IgE específica y la reactividad o sensibilidad clínica del individuo. En el área de la alergia a los alimentos, varios grupos de investigadores han estudiado la relación entre esos niveles de IgE específica y el resultado de las pruebas de exposición doble ciego controlada con placebo (PODCCP), que se considera la prueba patrón oro. Entre las conclusiones se destaca que es una prueba que permite discriminar entre pacientes y controles si bien, en el caso de las pruebas de exposición positivas, no existe una correlación entre la gravedad de la reacción y el nivel de IgE específica sérica (135,137,138) (168,170,171). La investigación con los niveles de IgE específica como pruebas de diagnóstico ha permitido establecer, para varios alimentos, la rentabilidad diagnóstica de diversos puntos de corte frente a la PODCCP.

#### ***1.5.3.1.1 Puntos de corte predictores de reactividad clínica***

Diferentes autores han definido puntos de corte para valores de IgEe (138)(169):

Tabla 4: Puntos de corte obtenidos a partir de los valores de IgE específica frente a leche de vaca y caseína.

AUTOR-AÑO	Pto corte (kU/L)	VPP %	VPN %	CPP	CPN
Sampson 2001(138)	LV:15	95	53	9,5	0,46
García-Ara 2001 (135)	LV:2,5	90	69	9,6	0,54
Keskin 2005 (141)	LV:0.59	82	67	2,74	0,30
Keskin 2005	LV:4.18	100	61	-	0,39
Mehl 2006 (142)	LV:0.35	62	79	1,71	0,27
Van Den Berg 2012 (172)	LV:0.35	55	75	1,48	0,40
García-Ara 2004 (173)	CAS:2,7	97	58	10,85	0,2
13-18 meses	LV:2				
García-Ara 2004 (173)	CAS:9	95	41	5,9	0,45
19-24 meses	LV:4,2				
García-Ara 2004 (173)	CAS:24	100	65	-	0,4
25-36 meses	LV:9				
Vanto 2004 (174)	LV:2	71	-	5,4	-
4 años					
Martorell 2008 (175)	LV <sub>≥</sub> 2,58	91	65		
12 meses	CAS <sub>≥</sub> 0,97	80	70		
Martorell 2008 (175)	LV <sub>≥</sub> 2,5	86	50		
18 meses	CAS <sub>≥</sub> 1,22	80	51		
Martorell 2008 (175)	LV <sub>≥</sub> 2,7	93	73		
24 meses	CAS <sub>≥</sub> 3	90	62		
Martorell 2008 (175)	LV <sub>≥</sub> 2,26	92	80		
36 meses	CAS <sub>≥</sub> 2,39	90	78		
Martorell 2008 (175)	LV <sub>≥</sub> 5	95	50		
48 meses	CAS <sub>≥</sub> 2,73	95	55		

Pto corte: punto de corte; kU/L: kilounidades por litro; VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo; CPP: cociente de probabilidad positiva; CPN: cociente de probabilidad negativa, LV: leche de vaca; CAS: caseína.

Las diferencias en la metodología empleada (técnica de laboratorio, extractos utilizados,...), la heterogeneidad en los criterios de inclusión de la población en estudio (edad, dermatitis atópica,...) y la falta de definición de la reacción clínica que se va a evaluar, explican la variabilidad de los puntos de corte descritos y van a condicionar la posibilidad de aplicar un determinado punto de corte a nuestra población. Será factible su utilización para predecir reactividad clínica en la medida en que la población del estudio y la nuestra sean parecidas (176)(177).

Estos puntos de corte pueden ser útiles en el diagnóstico y también en el seguimiento de los niños alérgicos a la leche. La monitorización de los niveles de IgE específica a lo largo del tiempo puede ser útil para determinar la oportunidad o no de realizar una nueva prueba de exposición oral. En esta situación hay que tener en cuenta los mismos factores antes comentados (sintomatología, presencia de dermatitis atópica, extractos utilizados) y, además, la edad debe considerarse como un factor pronóstico muy importante (173)(137)(174) (178,179) (180). Existe discordancia entre los estudios que encuentran niveles predictivos de IgE sérica, tanto frente a la caseína como a la leche (156)(173) (181) y los que no los consideran útiles en la predicción de tolerancia (182) (168). En un estudio realizado en España en 2008 se ha observado que, en niños previamente diagnosticados de APLV, los niveles de IgE indicadores de reactividad clínica con una buena relación entre sensibilidad y especificidad y los VPP y VPN que se observan en la tabla fueron de 2,58, 2,5, 2,7 , 2,26 y 5 kU/L frente a leche y de 0,97, 1,22, 3, 2,39 y 2,73 kU/L frente a la caseína, para las edades de 12, 18, 24, 36 y 48 meses respectivamente (175). En algunos estudios con un diseño prospectivo la magnitud del descenso de los niveles de IgE específica frente a la leche han sido útiles para predecir la tolerancia a este alimento (173)(174) (175)(183).

También se ha estudiado si la cantidad de IgE total puede modificar la interpretación de los niveles de IgE específica. Según estudios publicados, el cociente entre IgE específica y total no aportaría ninguna ventaja adicional en la precisión de la prueba (183)(184).

En definitiva, faltan estudios adecuadamente diseñados con criterios de inclusión claramente expuestos, definición *a priori* de la reacción clínica que se va a evaluar (inmediata o tardía, digestiva, cutánea o generalizada) y grupos amplios de pacientes en los que se puedan estudiar subgrupos según edad, espectro clínico de gravedad, etc. Por lo tanto, en este momento, aunque los puntos de corte pueden proporcionar una orientación, están lejos de tener un buen rendimiento en el diagnóstico de la alergia mediada por IgE y es limitada su ayuda en la toma de decisión con respecto a la exposición oral (185).

### **1.5.3.1.2 Determinación de anticuerpos IgE frente a epítomos**

En los últimos años se ha desarrollado la investigación sobre el reconocimiento por

parte de la IgE de determinados epítomos de las proteínas de la leche de vaca. Así se han identificado ciertos epítomos lineales de la BLG y de la caseína que son reconocidos por la IgE de pacientes con alergia persistente a la leche de vaca (186,187).

Se ha observado que los pacientes con alergia persistente a leche de vaca presentan positividad en determinados epítomos de caseína como la ( $\alpha$ -s1)-caseína, la ( $\alpha$ -s2)-caseína y dos epítomos de  $\kappa$ -caseína, que no aparecen en los pacientes con alergia transitoria a PLV (188). Otros autores, como Wang y cols. (189), observaron como el reconocimiento de un mayor número de epítomos de la caseína y de la BLG se asociaban a reacciones más graves durante la prueba de exposición oral con leche de vaca. Además, los pacientes con alergia persistente presentaban epítomos de alta y baja afinidad en su unión a la IgE específica mientras que los que presentan APLV transitoria presentan epítomos de baja afinidad en su unión a IgE (190–192). Del mismo modo, se ha sugerido que el solapamiento entre IgE e IgG4 frente a epítomos secuenciales de proteínas de leche, podría ser relevante en la adquisición de tolerancia (193).

Sin embargo, el papel de estos epítomos en el diagnóstico y manejo de la APLV no está bien establecido (194).

### **1.5.3.2 Anticuerpos IgG e IgG4 específicos**

La producción de IgG e IgG4 frente a los alimentos ingeridos ocurre normalmente y no implica que se manifiesten síntomas clínicos (195). Sus valores dependen de la exposición, de la ruta de exposición e incluso del grado de sensibilización IgE (196,197). No existe correlación entre la determinación de IgG sérica específica y la prueba de exposición oral con alimentos (195,198).

Tampoco hay evidencia de que las subclases de IgG (199)(200,201) o la proporción IgE/IgG4 (202)(203) puedan ser de utilidad diagnóstica. En un estudio con 27 niños alérgicos a huevo se detectó que aquellos que tienen una prueba de exposición positiva suelen tener una proporción más alta de IgE/IgG4 e IgG1/IgG (204), pero los autores concluyen que esta prueba no evita la prueba de exposición con huevo para confirmar el diagnóstico.

Hoy en día, existen en el mercado paneles de IgG o IgG4 específicas a alimentos para utilizar en el diagnóstico de alergia alimentaria. Estas pruebas se ofrecen para identificar intolerancias a alimentos que causan muy diversas patologías somáticas y mentales, en su mayoría subjetivas. Se basan en estudios retrospectivos o abiertos, no controlados con placebo (205)(206)(207,208), realizados en pacientes con síntomas no objetivables que mejoran tras la dieta de eliminación de los alimentos frente a los que tenían IgG específica, siendo el efecto placebo muy relevante (207). Diferentes sociedades científicas como la SEAIC se han pronunciado en la falta de

rigor científico de estas pruebas no debiéndose utilizar en el diagnóstico de la alergia a los alimentos ni implicarse en el tratamiento (209).

Todos los datos indican que la determinación de anticuerpos IgG, IgG4 específicos, otras inmunoglobulinas e inmunocomplejos dirigidos frente a los alimentos, no aporta información adicional a los métodos diagnósticos habituales (210), aunque hay autores que refieren que aún no están claros los intervalos de referencia que permitan la correcta interpretación en las determinaciones de IgG (211) e incluso que éstos serían diferentes en función de la edad y sexo del paciente (212).

Sin embargo, aunque este anticuerpo tiene limitada capacidad para desencadenar respuestas inmunológicas efectivas, se considera como un anticuerpo con efecto antiinflamatorio. Tanto es así, que la IgG4 es capaz de atenuar la respuesta alérgica inhibiendo la actividad de la IgE bloqueando estos anticuerpos y evitando así la unión al receptor IgE. Por otro lado, podría ser también capaz de promover una coestimulación del receptor IgG FcεRIIb, que podría regular negativamente la señal FcεRI e inhibir la activación de las células efectoras (213)(214).

De este modo, la exposición crónica al antígeno provoca un ascenso de los valores de IgG4 específica y está asociado con tolerancia inmunológica. Es por esto que, en los últimos años, se ha extendido su uso en el seguimiento de la inmunoterapia oral con alimentos, a lo largo del cual se observa una elevación de la IgG4 específica.

### **1.5.3.3 Test de activación de basófilos (TAB)**

Los basófilos, junto con los mastocitos, constituyen las células efectoras primarias de las reacciones inmediatas mediadas por IgE. El TAB se basa en la capacidad de estas células para activarse y liberar el contenido de sus gránulos tras un estímulo antigénico. La unión del alérgeno a los anticuerpos IgE unidos a la membrana del basófilo a través de receptores de alta afinidad, produce un puenteo de receptores IgE unidos a esta membrana, lo que provoca una degranulación del contenido del basófilo. La fusión intracitoplasmática de estos gránulos y la posterior unión de la membrana de éstos con la membrana plasmática, provoca la expresión o sobre-expresión de moléculas presentes en la membrana de los gránulos (CD63, CD203c) en la membrana del basófilo cuando éste se encuentra activado.

El ligando CD63 es una proteína de 53 kDa que se expresa en la superficie del basófilo tras su activación, estando ausente en la membrana cuando la célula está en reposo. Esta correlación de la expresión del CD63 con la degranulación, que se cuantifica mediante citometría de flujo, lo convierte en un marcador ideal de la activación del basófilo (215).

El TAB cuantifica la activación de los basófilos tras la incubación de estas células con un antígeno, determinando el porcentaje de basófilos que expresan la proteína CD63

en su membrana, que es detectada mediante citometría de flujo con la ayuda de anticuerpos monoclonales específicos unidos a fluorocromos (216).

Otros autores han propuesto el uso de otros marcadores de activación como es el caso del CD203c (217), con valores de sensibilidad similares a pruebas diagnósticas de rutina y sin embargo, mayor especificidad en el caso de la APLV en niños (218) e incluso con correlación con la gravedad (219).

El TAB ha sido empleado como método diagnóstico en la alergia a aeroalérgenos, medicamentos, himenópteros y alimentos, como la leche, con distintos niveles de sensibilidad y especificidad según el alérgeno en estudio (220).

Trabajos posteriores siguen avalando la utilidad del TAB no sólo en el diagnóstico sino también en el seguimiento (118,221) (222), habiendo demostrado su capacidad de predecir persistencia de APLV con una sensibilidad del 91%, especificidad del 90% y VPP y VPN de 81% y 96% respectivamente, detectando valores más altos que aquellos para las pruebas cutáneas y determinación de IgE específicas, independientemente de los puntos de corte seleccionados (118).

Sin embargo, la complejidad de la técnica y su precio, así como la presencia de falsos positivos y negativos y de pacientes no respondedores, hace que aún no se considere una prueba de rutina en el diagnóstico y seguimiento de la alergia alimentaria, aunque se ha probado su utilidad como complemento a las pruebas cutáneas e IgE específicas (118).

## **1.6 EVOLUCIÓN EN LOS NIÑOS CON APLV**

En la primera infancia, la alergia a las PLV tiende a evolucionar a la remisión a corto o medio plazo. Al año de vida se ha establecido la tolerancia en el 50-60% de los niños, a los 2 años en el 70-75%, y a los 4 años, en el 85% (223,224). A partir de ese momento, la instauración de tolerancia es menos probable y cuanto mayor es la edad del paciente, peor será el pronóstico y menor la probabilidad de evolución hacia la tolerancia de la leche. Se estima que, a partir de los 6-7 años, la alergia a las proteínas de la leche de vaca persiste en un 10% de los casos iniciales, aunque estudios recientes sugieren que, actualmente, la evolución hacia la tolerancia en los pacientes con alergia a leche de vaca no es tan alta como en principio se creía, y que del 13 al 45% de los pacientes pueden persistir el estado alérgico hacia la primera década de la vida (225)(226)(227)(228). Incluso hay quien afirma que sólo el 48% de los pacientes superan totalmente su alergia persistiendo en el resto una reactividad inmunológica a nivel de la mucosa intestinal (223).

Para poder predecir la evolución de la patología, se han establecido factores tanto clínicos como analíticos.

Dentro de los factores clínicos predictivos de persistencia de esta patología nos

encontramos con:

- sexo masculino, madre que no sea de raza blanca, el asma y la existencia de fumadores en el domicilio (225),
- persistencia de la APLV a la edad de 5 años (229,230) y la persistencia de la sensibilización a la caseína se han descrito también como factores de mala evolución (231),
- patrones de reconocimiento de epítomos de unión a IgE en la alfa, kappa y beta caseínas (232,233) .

Otros factores clínicos como las pruebas cutáneas y los factores analíticos se han mencionado con anterioridad y son aquellos en los que nos apoyaremos para valorar la evolución de la APLV cuya tolerancia o persistencia definitiva únicamente podremos cerciorar mediante la prueba de exposición oral con leche.

Sin embargo, en los pacientes con APLV, no sólo debemos realizar un seguimiento de esta patología, sino que también de la evolución del niño en el desarrollo de otras alergias alimentarias o respiratorias (234).

## **1.7 TRATAMIENTO DE LA ALERGIA ALIMENTARIA**

Hasta ahora el único tratamiento que podíamos ofrecer a nuestros pacientes consistía en:

- Evitación del alérgeno, como tratamiento pasivo
- Reconocimiento y tratamiento de las reacciones alérgicas, como único tratamiento activo (28).

El tratamiento de las reacciones alérgicas por alimentos solo termina cuando el paciente conoce cómo evitar y reconocer y tratar futuras reacciones. La prevención se basa, además de en un diagnóstico alergológico correcto, en una correcta educación de estos pacientes y sus familias/cuidadores, lo que constituye también nuestra labor.

Debido a la dificultad en la evitación de los alérgenos y los efectos secundarios que, como veremos más adelante, tiene esta medida, en los últimos años se ha postulado la inmunoterapia oral con alimentos como alternativa terapéutica.

### **1.7.1 Evitación de alérgenos**

La completa evitación de los alérgenos responsables constituye el primer paso en el tratamiento de una alergia alimentaria ya confirmada.

El paciente y sus padres o tutores, tienen que saber identificar los componentes alérgicos de los alimentos con sus posibles nombres.

La educación de este tipo de pacientes es fundamental en la prevención de futuras reacciones y deben basarse en:

- Dieta totalmente exenta de los alimentos responsables
- Evitación de fuentes de exposición inadvertidas o alimentos ocultos
- Conocimiento de las reactividades cruzadas
- Medidas para el control de la exposición a los alérgenos alimentarios en las escuelas, restauración,...
- Control del etiquetado de alimentos

### **1.7.2 Reconocimiento y tratamiento de las reacciones alérgicas agudas**

El paciente deberá recibir información completa de su enfermedad, sus consecuencias, sobre el reconocimiento de los signos y síntomas de una reacción alérgica y las medidas de autotratamiento, si fuera necesario, en función de la gravedad de los síntomas. El tratamiento de las reacciones alérgicas por alimentos que deben conocer paciente y cuidadores se detalla en la siguiente tabla:

Tabla 5: Tratamiento de las reacciones alérgicas por alimentos.

<b>TRATAMIENTO DE REACCIONES ALÉRGICAS POR ALIMENTOS</b>
<b>1. Identificación de la reacción y gradación de su gravedad.</b>
<b>2. Manejar un plan de tratamiento individualizado en el que deben estar instruidos para el tratamiento inmediato y específico según la gravedad de la reacción. La adrenalina es el tratamiento específico y de primera línea de la anafilaxia.</b>
<b>3. Llevar siempre consigo la medicación de rescate indicada según el caso: antihistamínico, corticoide oral, broncodilatador inhalado y dispositivo de autoinyección de adrenalina. Los pacientes con riesgo de anafilaxia y sus familias deben estar entrenados en el manejo de la adrenalina para el tratamiento de estas reacciones, y todas estas medidas deben estar incluidas en un plan de acción personalizado.</b>
<b>4. Ponerse en contacto con un teléfono de emergencia tras la administración del tratamiento.</b>
<b>5. Observación continua y reevaluación del paciente para aplicar el tratamiento requerido en cada momento.</b>

Aunque el tratamiento de urgencia de las reacciones alérgicas agudas está bien definido, no existe un cumplimiento adecuado ni por parte de los pacientes ni de los profesionales de la sanidad que atienden a los individuos con estas reacciones (235).

Además, pocos pacientes, aun habiendo tenido algún episodio de anafilaxia, disponen de un plan de actuación con adrenalina para autotratamiento. Estudios de pacientes tratados en servicios de urgencias hospitalarios confirman la escasa utilización de adrenalina, siendo habitual el uso de antihistamínicos y corticoesteroides en el tratamiento de estas reacciones (236).

La mayoría de las reacciones alérgicas a alimentos se producen por la ingestión involuntaria y, aunque las manifestaciones clínicas más comunes no son graves, estas reacciones alérgicas pueden llegar a ser mortales (236), siendo preocupante el incremento de las anafilaxias causadas por alimentos en los últimos años (237)(238).

Los alimentos constituyen la causa principal de anafilaxia y la segunda causa de muerte por este motivo (239). Hay que destacar que la mayoría de los casos mortales por alergia alimentaria presentan manifestaciones inmediatas leves seguidas de un periodo de 30 a 60 minutos libre de síntomas hasta el desarrollo súbito de la reacción mortal, por lo que serían susceptibles de un tratamiento precoz eficaz. Hay un claro predominio de los síntomas respiratorios en las reacciones mortales y en la mayoría de los casos el fallecimiento se produce por parada respiratoria y en gran parte sin haber recibido tratamiento con adrenalina (240)(241).

Una adecuada prevención precisa de la colaboración del individuo alérgico y, en el caso de los niños pequeños, de sus padres y cuidadores, del sistema sanitario, la escuela, la industria alimentaria y de ocio y del medio laboral. Es necesaria la existencia de un marco legal que delimite normas inequívocas de etiquetado y seguridad en los comedores escolares, hospitales, empresas o restaurantes, y que marque las competencias en la administración de tratamiento en las escuelas, guarderías y lugares de trabajo.

### **1.7.3 Inmunoterapia con alimentos**

El efecto de la alergia alimentaria sobre la salud y el efecto económico de la alergia a los alimentos son enormes y crecientes, no sólo por el costo de la atención sanitaria sino, también, por su efecto en los ámbitos escolar y laboral, sobre la industria alimentaria, sobre las agencias de seguridad alimentaria y, sobre todo, por su efecto en los pacientes y sus familias, cuyas vidas se ven afectadas a diario.

Las dietas de evitación suponen, en el caso de los alimentos más habituales de nuestra dieta, un importante trastorno social, económico e incluso psicológico, así como un posible déficit nutricional cuando la evitación debe extenderse a varios grupos de alimentos.

El desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas, más allá de la dieta de evitación y la disponibilidad de los autoinyectores de adrenalina, ha sido una prioridad para las familias y los grupos de investigación.

La primera aproximación al tratamiento inmunomodulador de la alergia a los alimentos la realizó Finkelstein en 1905. En los siguientes años (1908,1920) se describieron casos aislados (242)(243). En 1926 por primera vez se recomendó la ITO en edad temprana y en 1935 y 1945 se realizaron las primeras recomendaciones y series de casos (244,245). No fue hasta 1984 cuando Patriarca reinicia las publicaciones con este tratamiento (246), que se ha convertido en los últimos años en fuente de numerosos trabajos habiéndose conseguido avances significativos en este campo.

El enfoque principal de la investigación se ha dirigido a la inmunoterapia específica de alérgeno, la cual ha abarcado tres vías o rutas: la inmunoterapia oral (ITO), la inmunoterapia sublingual (ITSL) y la inmunoterapia epicutánea (ITE). Los alimentos sobre los que se han realizado el mayor número de ensayos son la leche, el huevo y el cacahuete. Estos alimentos, responsables de un porcentaje muy elevado de la alergia a los alimentos, están presentes de manera habitual en numerosos productos alimenticios y elevan el riesgo de reacciones alérgicas por su ingestión inadvertida. Por otro lado, la relación riesgo/beneficio de otras vías, como la subcutánea (247)(248,249) o la rectal (250), cuando ha sido utilizada para el tratamiento de la alergia al cacahuete, han sido, por el momento, inaceptables por su elevada incidencia de reacciones adversas sistémicas.

#### **1.7.4 Futuro en el tratamiento de la alergia alimentaria**

Al mismo tiempo, que se investiga el perfeccionamiento de la inmunoterapia oral con alimentos nativos, se abren nuevas líneas de investigación enfocadas a la inmunoterapia con proteínas recombinantes hipoalergénicas o la inmunoterapia con péptidos de epítomos de células T y a la inmunoterapia no específica de alérgeno, que abarcan, desde los anticuerpos anti-IgE a la formulación de hierbas medicinales chinas.

Con todo ello, las diferentes estrategias en estudio abren un nuevo horizonte en el tratamiento de la alergia a los alimentos, aproximándonos cada vez más al objetivo final, la tolerancia del alimento.

##### **1.7.4.1 Anti-IgE**

Los avances en la ingeniería genética han permitido sintetizar anticuerpos monoclonales recombinantes humanizados IgG1 que se unen a la fracción CH<sub>3</sub> del

anticuerpo IgE impidiendo su unión a los receptores FcεRI y II de mastocitos y basófilos impidiendo su activación, inhiben la expresión del FcεRI en los basófilos, y se unen al receptor FcεRI de células dendríticas lo que induciría una disminución en la presentación del antígeno a los linfocitos T y por lo tanto una disminución de la activación Th2 y sus citocinas (251,252).

Estos anticuerpos anti-IgE, licenciados inicialmente para el tratamiento del asma y posteriormente también para el de la urticaria crónica espontánea, han sido ensayados para el tratamiento de otras patologías alérgicas como la alergia a los alimentos (253).

Como se ha demostrado para varios alimentos, la inyección mensual de anticuerpos anti-IgE puede inhibir parcialmente la respuesta alérgica, aumentando la dosis umbral necesaria para la reactividad clínica y, por lo tanto, reducir el riesgo de reacción por la ingestión inadvertida de pequeñas dosis como alérgeno oculto (254). Aunque, por supuesto, el tratamiento no conduce a la curación y son necesarias inyecciones mensuales por tiempo indefinido para mantener la protección.

En los últimos años se ha utilizado este tratamiento como coadyuvante a la inmunoterapia oral con alimentos, para reducir las reacciones adversas y permitir protocolos más rápidos de tratamiento.

## **1.8 TRATAMIENTO DE LA APLV**

En términos generales, el tratamiento convencional de la APLV es semejante al resto de los tipos de alergia alimentaria: la evitación del alérgeno y el reconocimiento y tratamiento de las reacciones alérgicas.

Sin embargo, en los últimos años la inmunoterapia con leche se ha constituido como alternativa a la dieta de evitación, que como veremos más adelante, tiene importantes inconvenientes.

### **1.8.1 Tratamiento convencional de la APLV**

Así como el manejo de las reacciones alérgicas es igual en cualquier tipo de alergia alimentaria, existen diferencias en la evitación alérgica según el alimento implicado.

La evitación del alérgeno en la APLV consiste en la evitación, por cualquier vía (oral, contacto, inhalativa), de la leche de vaca, sus derivados y todos aquellos productos que la contengan, mientras no se compruebe la tolerancia (255).

El paciente debe tener por escrito la dieta de evitación que debe llevar y que incluya posibles fuentes alérgicas y modo en el que puede aparecer en el etiquetado, aunque según la última normativa europea de diciembre de 2014 (Reglamento (UE) nº 1169/2011), debe aparecer el término “leche” en todo producto que la contenga.

Los productos con alguno de los siguientes componentes pueden contener leche:

<b>Albúminas, lactoalbúmina</b>
<b>Globulina, lactoglobulina</b>
<b>Caseína, caseinato</b>
<b>Grasa de manteca</b>
<b>Solidificante</b>
<b>Saborizante artificial</b>
<b>Lactosa *</b>
<b>Colorante de caramelo</b>
<b>Saborizante de caramelo</b>
<b>Saborizante natural</b>
<b>Suero, suero en polvo</b>
<b>Suero sin lactosa</b>
<b>Proteínas de suero</b>
<b>H4511, H4512, H4513</b>

Tabla 6: Dieta de evitación de proteínas de leche de vaca.

**Alimentos que deben evitar:**

-Leche y todos sus derivados: yogur, cuajada, queso, petit-suisse, requesón, mantequilla, algunas margarinas, crema, crema agria, repostería, numerosas galletas, chocolate con leche, papillas de bebé lacteadas, potitos que contienen leche...

-Debe evitar **leche de cabra, oveja**, y sus derivados (si su especialista no indica lo contrario).

\* La lactosa pura **teóricamente** sería tolerada, pero si no está perfectamente purificada puede contener restos de proteínas, y es prudente evitarla.

Algunos de los componentes pueden ser de origen distinto a la leche (albúmina o globulina de huevo, manteca de cerdo, saborizantes). Si no está claramente expresado su origen, es más prudente evitarlos.

Algunos alimentos pueden contener derivados lácteos aunque no estén expresados: jamón serrano o de York, mortadela, sopas de sobre.

Algunos niños han de evitar la **carne de ternera** además de la leche y sus derivados, mientras que otros niños la pueden comer. Consulte su caso con su especialista.

Algunas sociedades actualizan continuamente productos y marcas con productos sin leche: [www.aepnaa.org](http://www.aepnaa.org)

Consulte cualquier duda con su especialista.

### **1.8.1.1 Fórmulas sustitutivas de leche de vaca**

Cuando un paciente es diagnosticado de APLV, si se decide continuar con lactancia materna, la madre puede continuar con una dieta variada, sin exclusión de ningún tipo de lácteos, salvo en los casos excepcionales que ocasionen síntomas en el niño.

La leche de otros mamíferos como cabra, oveja o yegua es, habitualmente, mal tolerada (256) salvo en sensibilizaciones muy débiles o en casos anecdóticos (257), por lo que no se debe recomendar.

Si se decide la lactancia artificial, se recurrirá a fórmulas especiales donde la alergenicidad de la fuente proteica utilizada esté reducida.

#### **1.8.1.1.1 Fórmulas altamente hidrolizadas de PLV**

Son derivadas de PLV, sin péptidos de más de 5.000 Da, en su mayoría, menores a 1.500 Da. Una proteína con un peso molecular por debajo de 2.000 daltons es raro que pueda desencadenar una respuesta alérgica. No obstante, y pese al alto grado de hidrólisis, ninguna fórmula es totalmente segura, existiendo un pequeño porcentaje de pacientes (1-2%), que presentan síntomas, en general leves, con el uso de una fórmula altamente hidrolizada de PLV (255)(258). La mayoría de las fórmulas hidrolizadas de PLV existentes en el mercado actual son de caseína. Los efectos adversos más comúnmente asociados al uso de estas fórmulas son el cambio en el color y consistencia de las heces y el mal sabor, con el consiguiente rechazo del paciente de la fórmula hidrolizada de PLV.

#### **1.8.1.1.2 Fórmulas elementales**

Son aminoácidos sintéticos con un perfil basado en la leche humana, sin lactosa, con grasas vegetales, y suplementadas en minerales y oligoelementos. No tienen riesgo de reacción alérgica, pero presentan una mayor osmolaridad y por tanto carga renal, peor sabor que las fórmulas hidrolizadas y un alto coste, por lo que se reservan para un grupo de pacientes muy reducido (259).

#### **1.8.1.1.3 Fórmulas de arroz**

El valor biológico de las proteínas de arroz es, claramente, inferior a las proteínas de la leche de vaca, por lo que estas fórmulas están suplementadas en aminoácidos como lisina, treonina, triptófano y arginina. El arroz tiene un escaso poder alergénico. Estas fórmulas son de elección en lactantes menores de 12 meses que rechacen las fórmulas altamente hidrolizadas de PLV o hayan presentado reacción adversa con ellas.

#### 1.8.1.1.4 Fórmulas de soja

Están constituidas por aislados de proteína de soja con tratamientos físicos para aumentar su digestibilidad y reducir la actividad de los inhibidores de la tripsina. Aunque la soja es una leguminosa descrita como potencialmente sensibilizante, en la práctica es muy bien tolerada por los alérgicos a PLV (260,261). Su sabor es bueno y su coste inferior al de los hidrolizados, constituyendo una buena opción como fórmula de sustitución en los niños mayores de 12 meses.

#### 1.8.1.1.5 Fórmulas con hidrólisis parcial o de bajo grado

También llamadas hipoantigénicas o HA, con proteínas de peso molecular inferior a 10.000-20.000 Da, no están indicadas en el tratamiento de los lactantes con alergia comprobada a las PLV, ya que mantienen actividad alérgica.

A continuación se detallan los distintos tipos de fórmulas de leche comercializadas.

Tabla 7: Fórmulas de lactancia artificial comercializadas para el tratamiento de la APLV.

TTo DIETÉTICO APLV	Hidrolizado 1 (0-6 meses)	Hidrolizado 2 (>6 meses)	Hidrolizado con Lactosa	F. elemental (aminoácidos)	F. soja	F. de Arroz Hidrolizado o Hidrolizado de proteína no láctea*
<b>ABBOT</b>	Similac Alimentum (H. de caseína)	-----	-----	-----	-----	-----
<b>ALMIRON</b>	Almirón Hidrolizado (H. de seroproteínas)	-----	Almirón Pepti 1 Almirón Pepti 2 (H. de seroproteínas)	Almirón AA	Almirón Soja	-----
<b>ALTER (NUTRIBÉN)</b>	Nutribén Hidrolizado 1 (H. de Caseína)	Nutribén Hidrolizado 2 (H. de Caseína)	-----	-----	Nutribén Soja	-----
<b>DAMIRA</b>	Damira 2000 (H. caseína) Damira Atopy (H. caseína) Damira PRO (H. seroproteínas)	Damira PRO 2 y 3 (H.de seroproteínas)	Lactodamira (H. caseína)	Damira Elemental	-----	Damira Arroz Hidrolizado
<b>FERRER (NOVALAC)</b>	Novalac Hidrolizado (h. caseína)	-----	-----	-----	-----	Novalac Arroz Hidrolizado
<b>MEAD-JOHNSON</b>	Nutramigén 1 LGG (H. caseína) Pregestimil (FEH con MCT)	Nutramigén 2 LGG (H. caseína)	-----	Nutramigén Puramino	-----	-----

<b>NESTLÉ</b>	Alfaré (H: Seroproteínas)	-----	Althéra (H: Seroproteínas)	Alfamino	-----	-----
<b>SHS (NUTRICIA)</b>	-----	-----	-----	Neocate (0,67 kcal/ml) Neocate Advance (1kcal/ml)	-----	*Pepdite *Pepdite +1 *Pepdite MCT *Pepdite +1 MCT
<b>ORDESA</b>	Blemil plus 1 FH (H. de caseína)	Blemil plus 2 FH (H. de caseína)	-----	-----	Blemil plus 2 Soja (a partir de 6 meses)	Blemil plus Arroz Hidrolizado 1 y 2.

TTo: tratamiento; F: fórmula; H: hidrolizado; kcal: kilocalorías.

### 1.8.1.2 Complicaciones del tratamiento convencional de la APLV

La leche es un alimento muy habitual en nuestra dieta, además de ubicuo, pudiendo actuar como alérgeno oculto. Por este motivo, su evitación supone un importante trastorno psicosocial para el paciente y su entorno (28), así como un posible déficit nutricional, especialmente cuando están implicados varios grupos de alimentos. Los desórdenes alimenticios, los problemas psicológicos, la disminución de la calidad de vida de los pacientes y familiares y el aumento del gasto sanitario directo e indirecto y del gasto en pacientes-familiares (alimentos, cuidadores, empleados...), son otros de los posibles efectos adversos de este tratamiento de evitación.

Por otro lado, la leche es capaz de dar lugar a reacciones alérgicas potencialmente mortales por ingesta inadvertida. Se estima que entre el 33 y el 50% de los pacientes han tenido en su vida alguna exposición accidental para la que la adrenalina no siempre está a mano o es suficiente para evitar desenlaces fatales (262).

#### 1.8.1.2.1 La leche como alérgeno oculto

En nuestras pautas gastronómicas, las proteínas de la leche de vaca se emplean en numerosas preparaciones culinarias de consumo habitual que deben ser evitadas por los pacientes con alergia. Además, los pacientes con clínica anafiláctica pueden reaccionar ante pequeñísimas cantidades o trazas de estas proteínas ocultas en otros alimentos como aditivos, o como contaminantes e, incluso, en muchos productos cosméticos y medicamentos, y un largo etcétera (130) que incluye también guantes de látex (263). La leche y sus derivados están entre los alérgenos de declaración obligatoria según el Reglamento (UE) nº 1169/2011 que, desde diciembre de 2014, es de obligado cumplimiento para los países miembros tanto para los alimentos envasados, como para los envasados en el punto de venta o los que se venden sin envasar (restaurantes, etc.).

A partir de los 4 años, la evolución a la tolerancia es más difícil por lo que estos

pacientes constituyen un grupo de riesgo de reacciones anafilácticas por ingestión de leche como alérgeno oculto (264).

#### **1.8.1.2.2 Aspectos nutricionales del paciente alérgico**

La evitación del alimento alergénico en el niño puede ser más difícil y con riesgos nutricionales mayores, ya que además de evitar que aparezca la sintomatología clínica, hay que mantener un desarrollo pondoestatural adecuado, y evitar las deficiencias específicas de nutrientes, cuyas reservas son relativamente bajas. Esto es especialmente importante en los lactantes, edad en la que debuta la APLV, ya que deben evitar el alimento que consumen mayoritariamente, es decir, las fórmulas lácteas derivadas de leche de vaca; además, es el periodo de máximo crecimiento en peso y talla y de mayor vulnerabilidad nutricional (265). Por ello, las dietas de eliminación deben ser supervisadas con el fin de poder hacer sustitución de un alimento por otro que contenga los mismos nutrientes, pero sin riesgo antigénico (266). En los casos de alergia a varios alimentos, en la que hay que suspender varios alimentos pertenecientes a diferentes grupos, la dieta debe ser revisada por un dietista.

Se han descrito deficiencias nutricionales en pacientes alérgicos a alimentos asociadas a restricciones en la dieta con leche (267–271). Es en el primer año de vida cuando se observa el mayor efecto en el crecimiento de estas dietas de evitación alimentaria en general y de leche en particular (272), incluso con una correcta ingesta calórica (273). Esta deficiencia en el desarrollo pondoestatural parece recuperarse con el cese de la dieta de evitación (274). El mal sabor de las fórmulas hidrolizadas podría ser una de las causas (275), aunque no se puede descartar el efecto negativo de la diferente composición de éstas en cuanto a aminoácidos y grasas (276,277), aunque fórmulas de aminoácidos se han demostrado seguras (278). En cualquier caso, si la dieta está suplementada adecuadamente, no debería haber afectación en el crecimiento incluso en pacientes con alergia alimentaria múltiple (278). En niños con patología de base, hay que tener especial cuidado. Por ejemplo, los niños hipotiroideos que desarrollan una APLV pueden precisar un reajuste de la dosis de TSH si se les administra una fórmula de sustitución (279).

Para evitar las deficiencias de micronutrientes, se ha venido administrando complejos de minerales y vitaminas preventivamente aunque esta práctica está en discusión (280). En caso de que la dieta esté desequilibrada, o existan síntomas o signos sugestivos de deficiencias nutricionales, hay que realizar los estudios complementarios pertinentes para objetivar dichas deficiencias, y poder tratarlas, ya sea modificando la dieta o mediante la administración de suplementos alimentarios o con fármacos.

Pero no son sólo los efectos nutricionales y en el crecimiento los que se ven afectados

en el niño alérgico. Las deficiencias nutricionales secundarias a la dieta exenta de PLV es transitoria, pero existe una alteración en el comportamiento y actitud hacia el alimento del niño alérgico que es más persistente en el tiempo (281–284) y que son difíciles de solucionar. Los buenos hábitos y de actitud hacia la comida es un factor que se debe cuidar desde el diagnóstico.

### **1.8.1.2.3 Aspectos psicosociales y calidad de vida**

Son diversos los factores implicados en el impacto funcional de la alergia a los alimentos en la calidad de vida, pudiendo estar éstos dentro del ámbito personal o social.

Los factores personales dependen directamente de las características del individuo y su enfermedad, como son, la intensidad de la respuesta alérgica, el número de alimentos implicados, las enfermedades asociadas, sean o no alérgicas, incluso la asociación de alergia al látex, existiendo una relación directamente proporcional entre su aparición y la afectación en la calidad de vida. Por otro lado, la edad es también un factor importante, siendo la adolescencia la edad de mayor impacto (285,286).

Los factores sociales están también afectados en los pacientes con alergia alimentaria (139) y son el reflejo, en el individuo alérgico, del impacto de la alergia a los alimentos en la sociedad, ya sea en la familia, escuela o trabajo. Las prestaciones sanitarias y la legislación son factores sociales también a tener en cuenta.

Cuanto más grave haya sido la reacción, más probable es que se produzcan implicaciones sociales (287). Esto provoca en el paciente y su familia una sensación de inseguridad y aislamiento social, con un claro empeoramiento de su calidad de vida. Sin embargo, por otro lado, la ansiedad generada por esta situación promueve una mayor observancia en la evitación del alérgeno y de los planes de rescate en caso de reacción de estos individuos.

Diferentes estudios sobre calidad de vida en pacientes y padres de niños con alergia a los alimentos coinciden en un impacto negativo de esta patología en la vida de los pacientes y sus familiares (288)(289)(290), llegando a superar la afectación de la calidad de vida a enfermedades como diabetes mellitus insulino dependiente (291).

En el proyecto Europrevall se han desarrollado cuestionarios específicos para distintos grupos de edad (292–294) que fueron adaptados, cultural y lingüísticamente, entre otras lenguas, al español.

## **1.8.2 Inmunoterapia con leche**

Dado que la alergia a proteínas de leche de vaca (APLV) es la segunda causa de alergia a alimentos en la infancia y en aproximadamente el 50% de los pacientes

persiste a los 4-5 años de vida (295,296), la inmunoterapia se ha convertido en los últimos años en objeto prioritario de investigación para el tratamiento de esta enfermedad.

Existen diferentes procedimientos que se han utilizado a lo largo de los años para la inmunoterapia con leche. Estos varían en función de la fuente alergénica, tipo de pacientes seleccionados, rutas y pautas de administración y el modo y lugar de la administración de las dosis.

### **1.8.2.1 Fuente alergénica**

La leche de vaca, comercializada para consumo humano, es el producto más utilizado para realizar inmunoterapia oral. Su contenido proteico es de 0,035 g/ml, correspondiendo 200 ml de leche (una ración normal) a 7 g de proteína. Se trata de un producto cuyo procesamiento permite que las proteínas permanezcan estables a lo largo del tiempo siempre que se mantenga refrigerado. Es un producto accesible y de fácil manejo, con el que resulta sencillo realizar diluciones. Es importante tener en cuenta que debe utilizarse la misma leche durante el tratamiento, para asegurar que el contenido de proteínas no varía. Sin embargo, deben evitarse las leches enriquecidas, ya que la cantidad de proteínas puede variar.

La mayoría de los autores han realizado el tratamiento con inmunoterapia con leche fresca por vía oral (297). Algunos estudios han utilizado leche desnatada en polvo que, posteriormente, se reconstituye con agua (298). Se han utilizado también productos que contienen leche procesada a altas temperaturas, en pacientes alérgicos que toleran trazas, como acelerador de la tolerancia espontánea, observándose que la tolerancia de pequeñas cantidades de leche podría ser un marcador de alergia transitoria y una alternativa terapéutica para acelerar la tolerancia del alimento (299)(300,301).

En el caso de los tratamientos sublinguales, se han utilizado tabletas sublinguales consistentes en un extracto con glicerina de leche (no comercializado) utilizado únicamente para investigación (302). Los tratamientos que han investigado la vía epicutánea han diseñado dispositivos para este fin (303) (Viaskin®, desarrollado por DBV Technologies), compuesto por una membrana central translúcida de polietileno de 11 mm de diámetro, cargada con fuerza electrostática capaz de retener material en polvo y rodeada de un adhesivo de poliéster como soporte para mantener la cámara en la piel (304).

### **1.8.2.2 Selección de pacientes**

Las primeras indicaciones para el tratamiento con inmunoterapia a leche de vaca propuestas por Mac Ewen (305) y referenciadas en el trabajo publicado por Patriarca

(306) fueron:

- Elevada IgE específica con alto riesgo de anafilaxia debido al consumo de trazas incluso con dietas de eliminación estrictas
- Imposibilidad de eliminar la exposición
- Imposibilidad de eliminación del alimento de la dieta debido a discriminación social o a un elevado coste
- Imposibilidad de mantener una dieta adecuada en pacientes con alergia a numerosos alimentos.

Las primeras series publicadas no incluían a pacientes con historia previa de anafilaxia tras ingestión de leche. Es en 2008, cuando Longo y cols. (307) publicaron el primer estudio en el que se incluyeron pacientes con antecedentes de anafilaxia por ingestión de leche de vaca. Previamente, en 2007, Staden y cols.(308) habían establecido que la inmunoterapia parece ser más beneficiosa en pacientes con niveles bajos o moderados de IgE, que en pacientes con IgE elevadas o que asocien factores de riesgo como rinoconjuntivitis o asma. Posteriormente se han realizado tanto estudios que incluyen a pacientes con antecedentes de anafilaxia por leche de vaca (309), (310–313), como estudios que los excluyen (314)(302,315)(316) de sus diseños. En ambos casos el tratamiento se ha mostrado eficaz, y no existe, por el momento, consenso sobre si la inmunoterapia está más indicada en pacientes con alergia grave o, por el contrario, en pacientes con alergia leve-moderada a leche de vaca, o en ambos grupos. En lo que todos los autores coinciden es en que la inmunoterapia es un tratamiento específico aplicable únicamente a aquellos pacientes que presenten alergia a la leche medida por anticuerpos de clase IgE.

La edad de inclusión de los pacientes en este tratamiento es aún discutida. Inicialmente se consideró indicada la inmunoterapia en aquellos pacientes que no alcanzaban la tolerancia de forma espontánea, por lo que la mayoría de los estudios incluyen a pacientes mayores de 4-5 años y adolescentes en los que la APLV se considera persistente (306). La edad media de los pacientes incluidos varía según los estudios: 5 años (317), 6 años (314), 7 años (309), 8 años (307) y pacientes de hasta 21 años de edad en el estudio de Keet y cols. (302).

Sin embargo, Martorell y cols.(315) observaron un claro beneficio de la inmunoterapia oral con leche respecto a la dieta de evitación en niños menores de 4 años, por presentar una frecuencia de reacciones adversas menor y más leves y un mayor porcentaje de niños con evolución a curación.

En el momento actual se está llevando a cabo en España un estudio multicéntrico en el que se estudia el efecto del inicio de la inmunoterapia oral con leche en el mismo momento del diagnóstico de la APLV.

No se han publicado series de pacientes adultos, probablemente por la menor frecuencia de la enfermedad en esta edad y la mayor facilidad de controlar los contactos accidentales con el alimento.

### 1.8.2.3 Rutas de administración

Respecto a las vías de administración de la leche para llevar a cabo la inmunoterapia, se han utilizado la vía oral, la sublingual y la epicutánea.

La vía oral ha sido la vía más ampliamente utilizada y consiste en la ingestión de dosis progresivamente crecientes del alimento durante un periodo variable de tiempo (307,309,314,317) (315) (308,312,313) (310,316) (318) (319–324).

En menor medida se han estudiado la vía sublingual (325)(302) y la epicutánea (304).

### 1.8.2.4 Pautas de administración

La inmunoterapia oral con alimentos consiste en la administración de dosis progresivamente crecientes del alimento hasta alcanzar la dosis establecida como dosis máxima o dosis de mantenimiento.

En base al tiempo que se necesita para alcanzar la dosis máxima, las pautas de inmunoterapia se pueden clasificar en:

- **Pautas lentas:** la dosis máxima se alcanza tras varios meses de tratamiento. Se inicia la administración por dosis bajas (p. ej., 0,06 mg/ proteína) (317) y se administra, generalmente, una dosis al día, con incrementos de dosis semanales o quincenales (318,326,327).
- **Pautas rápidas:** el objetivo de estas pautas es alcanzar la dosis máxima en pocos días. Partiendo, por ejemplo, de una dosis inicial establecida de 1 ml de la dilución 1/100 (0,35 mg) en los estudios de Bauer (324) y Staden (309).
- **Pautas combinadas:** se inicia con una fase de incremento de dosis rápida que consiste en la administración de varias dosis por día durante 1-2 días seguida, posteriormente, de la administración de una dosis diaria que se incrementa cada 2-3 días o semanalmente hasta alcanzar la dosis máxima (314,317)(307).

La elección de la pauta de tratamiento, lenta, rápida o combinada no está claramente establecida.

### 1.8.2.5 Dosis administradas

En general, todos los protocolos de inmunoterapia con alimentos constan de dos fases: fase de inicio, inducción o incremento de dosis y fase de mantenimiento.

### **1.8.2.5.1 Fase de inicio, inducción o incremento de dosis**

En esta primera fase, partiendo de una dosis previamente establecida se realizan incrementos de dosis hasta que el paciente alcanza la dosis máxima establecida en el tratamiento o la máxima dosis tolerada por el paciente en el caso de que no llegue a tolerar la dosis completa.

#### **Dosis de inicio**

Las dosis de inicio pueden ser de tres tipos:

**1. Dosis de inicio fija:** la dosis utilizada es la misma para todos los pacientes. Se trata, generalmente, de dosis bajas, con un rango variable que van desde 1 gota de la dilución 1/100 (0,02 mg de proteína) (308) hasta 0,05 ml (1,7 mg de proteína) (314).

**2. Dosis de inicio basadas en la dosis que produjo la reacción en la prueba de exposición:** la dosis de inicio se basa en el resultado de la prueba de exposición oral basal, iniciando la inmunoterapia por una dosis inferior a la dosis que produjo un resultado positivo en la prueba. Staden y cols.(308) utilizaron una dosis inicial correspondiente al 1% de la dosis que produjo un resultado positivo en la provocación. En otros estudios, la inmunoterapia se inicia por una dosis inferior en 2 ml a la dosis que había producido síntomas en la prueba de exposición (321).

**3. Dosis de inicio basada en el resultado de la titulación a punto final:** Mori y cols. (312) compararon el inicio de la inmunoterapia con una dosis fija o con una gota de leche a una dilución inferior con la que se había obtenido una prueba cutánea positiva para leche de vaca de 3 mm, concluyendo que la titulación a punto final es un método más seguro para elegir la dosis de inicio que una dosis preestablecida.

#### **Incrementos de dosis**

Tras la dosis inicial se administran dosis progresivamente crecientes de leche hasta alcanzar la dosis máxima. Los incrementos de dosis se pueden clasificar:

##### **Según la frecuencia:**

- **Diaria:** se utilizan, fundamentalmente, en las pautas rápidas (309)(324) en las que se administran varias dosis el mismo día durante varios días consecutivos, generalmente duplicando dosis. En algunos protocolos se realizan incrementos mínimos a diario a lo largo del tratamiento (308). Por último, hay protocolos combinados que incluyen uno o dos días al inicio del tratamiento en los que se administran varias dosis (314,317) (307) (315) (310,316).
- **Semanales:** los incrementos de dosis se realizan una, dos o hasta tres veces por semana, generalmente duplicando las dosis. Se han utilizado

tanto en los protocolos lentos como en la segunda fase de los protocolos combinados. En esta modalidad de tratamiento, se administra una única dosis cada día, dosis que el paciente toma, posteriormente, a diario hasta que realiza el siguiente incremento de dosis (318,327).

Según los incrementos de dosis:

La mayoría de los estudios partiendo de la dosis inicial realizan los incrementos de dosis duplicando la dosis previa en las siguientes administraciones (313) (318,327). Otros autores aumentan de forma lenta con incrementos de 1-2 ml una vez al día o cada 2-3 días (307)(321).

#### **1.8.2.5.2 Fase de mantenimiento**

Durante esta fase se administra a diario la máxima dosis tolerada por el paciente en la fase de inicio para mantener el estado de desensibilización. La dosis de mantenimiento varía de unos estudios a otros. Existen diferentes protocolos que se pueden clasificar en:

- **Protocolos con dosis de mantenimiento bajas:** Yanagida y cols (328) administran una dosis de 3 ml, Skripak y cols. (316) realizan el mantenimiento con dosis de 15 ml de leche al día. Longo y cols. (307), utilizan como dosis máxima 150 ml y Staden y cols.(308) 120 ml.

- **Protocolos con dosis de mantenimiento elevadas:** Los pacientes toman como dosis de mantenimiento la cantidad equivalente a una ración de leche, que puede oscilar entre 200 y 250 ml (314)(313)(323).

En la mayor parte de los estudios, la frecuencia de administración de la dosis de mantenimiento es diaria. Pajno y cols. (329) comparan dos pautas de mantenimiento, una en la que se administraba una dosis al día con otra en la que el paciente recibía solamente dos dosis a la semana, sin observar diferencias significativas entre ambas pautas respecto al número de reacciones adversas. En otros estudios, la administración de leche se realiza dos veces al día (315).

#### **1.8.2.6 Lugar de realización del procedimiento**

Se han publicado protocolos en los que los incrementos de dosis se realizan tanto en entorno hospitalario como en el domicilio (307) (312) (330).

En otros estudios, como el de Staden y cols. (308), los aumentos de dosis se realizaban en el domicilio desde el inicio del tratamiento, de forma lenta y a diario,

umentando pocos mililitros por día. Otros, en cambio, realizan subidas rápidas todas ellas en medio hospitalario (331).

Tabla 8: Alternativas para la elección del procedimiento de ITO.

ALTERNATIVAS DE PROCEDIMIENTO DE ITO		
<b>SELECCIÓN PACIENTES</b>	<b>Edad</b>	<b>Nacimiento</b>
		<4-5 A
	>4-5 A	
	<b>Gravedad</b>	<b>Sin anafilaxia</b>
<b>Con anafilaxia</b>		
<b>RUTA</b>	<b>ITO</b>	
	<b>ITSL</b>	
	<b>ITE</b>	
<b>F. I.</b>	<b>Pauta</b>	<b>Lenta</b>
		<b>Rápida</b>
		<b>Combinada</b>
	<b>Dosis inicio</b>	<b>Fija</b>
		<b>Basada en dosis umbral de PEOC</b>
		<b>Basada en PC con titulación a punto final</b>
	<b>Incremento dosis</b>	<b>Diario</b>
		<b>Semanal</b>
	<b>Lugar</b>	<b>Domicilio</b>
<b>Hospital</b>		
<b>Combinado</b>		
<b>F.M.</b>	<b>Dosis mantenimiento</b>	<b>Bajas</b>
		<b>Altas</b>

ITO: inmunoterapia oral; ITSL: inmunoterapia sublingual; ITE: inmunoterapia epicutánea; F.I: fase de inicio; F.M: fase de mantenimiento; A: años; PEOC: prueba de exposición oral controlada; PC: pruebas cutáneas.

### 1.8.2.7 Eficacia

Los primeros estudios publicados en la literatura centraban sus investigaciones en la eficacia de la inmunoterapia entendida como porcentaje de pacientes que alcanzaba la tolerancia a la dosis máxima del alimento programada en el protocolo. La eficacia del tratamiento así definida oscilaba entre el 36% (307) y el 88% (314) de los casos.

Hoy en día, para referirnos a la eficacia del tratamiento con inmunoterapia oral, debemos distinguir los **términos**, desensibilización y tolerancia permanente.

**Desensibilización:** se refiere al aumento en la dosis umbral del alimento capaz de producir reacción en la prueba de exposición, que se mantendrá únicamente mientras el paciente tome regularmente el alimento.

**Tolerancia permanente:** se utiliza para definir a los pacientes en los que, tras la inmunoterapia oral, se producen cambios inmunológicos, capaces de hacer que desaparezca la reactividad clínica frente al alimento y que la falta de reactividad persista aunque se interrumpa su toma regular (332). Esta inducción de tolerancia persistiría hasta meses o años tras la suspensión de la inmunoterapia oral (333).

**Desensibilización parcial:** se ha utilizado para referirse a aquellos pacientes que no alcanzan la dosis máxima programada como mantenimiento, pero que son capaces de tolerar dosis menores que les permiten estar protegidos frente a contactos accidentales o la ingestión inadvertida de pequeñas cantidades del alimento (308).

En los metanálisis que valoran la eficacia de este tratamiento, concluyen que la ITO multiplica de 5 a 10 veces la tolerancia frente a leche comparándola con la dieta de evitación (334) (297), sin embargo hay quien afirma que este tratamiento no es más eficaz que la dieta de evitación en la inducción de tolerancia permanente (308). De hecho, en los últimos años es este el debate que se plantea: si la ITO puede inducir, con el tiempo, la tolerancia permanente o no (335). Recientemente se ha publicado un trabajo en el que se afirma que si se administran probióticos durante la ITO, mejoraría la tasa de tolerancia permanente frente al alimento (336). En cualquier caso, parece que la inducción de tolerancia se alcanzaría en aquellos pacientes con niveles basales de IgE específica más bajos (333) (337) y no en los que presentan valores más altos (333)(338).

Para determinar esta diferencia, diferentes estudios incorporan un periodo de eliminación del alimento que oscila entre pocas semanas a varios meses tras un periodo variable desde la finalización de la fase de inicio de la ITO. No se consigue demostrar tolerancia permanente en estudios como los de Rolink y cols.(335) y Meglio y cols (326) o lo consiguen sólo en algunos pacientes como es el caso de Keet y cols

(302) que observan un 30% de inducción de tolerancia frente a un 70% de pacientes desensibilizados, observando que esto último ocurría con más frecuencia en los pacientes que recibieron dosis de mantenimiento más bajas y en los pacientes desensibilizados por vía sublingual. Wright BL (339) y Jones SM (340) observan mayor porcentaje de inducción de tolerancia en aquellos pacientes con mayor duración de la ITO. Wright BL (339) y Vickery BP (333) y cols observan una mejor tolerancia permanente en aquellos pacientes que parten con valores de IgEe menores.

### **1.8.2.7.1 PATRONES DE RESPUESTA DE ITO**

Staden y cols.(308) observa y define 4 diferentes patrones de respuesta (Tabla 9).

Tabla 9: Patrones de respuesta de ITO.

<p><b>Patrón I, respondedores:</b></p> <p>Pacientes que alcanzan la tolerancia de la dosis máxima programada y presentan un resultado negativo en la prueba de exposición oral doble ciego controlada con placebo (PODCCP) tras dos meses de dieta de evitación (tolerancia permanente).</p>
<p><b>Patrón II, respondedores con ingestión regular:</b></p> <p>Pacientes que toleraban la dosis máxima programada mientras mantienen la ingestión regular del alimento (desensibilizados), pero que presentan síntomas en la PODCCP tras la dieta de evitación.</p>
<p><b>Patrón III, parcialmente respondedores:</b></p> <p>Pacientes que alcanzan la tolerancia de dosis inferiores a la dosis máxima programada (desensibilización parcial). Estos pacientes se benefician de un incremento en la dosis umbral capaz de generar una reacción alérgica con lo que alcanzan protección frente a reacciones adversas por ingesta inadvertida teniendo, además, cierto efecto nutricional. Estos pacientes no precisan continuar la ingesta diaria para mantener el estado de desensibilización.</p>
<p><b>Patrón IV, no respondedores:</b></p> <p>Pacientes que deben interrumpir la inmunoterapia debido a reacciones adversas repetidas durante el tratamiento.</p>

Un reciente metanálisis demuestra la eficacia de la ITO en términos de desensibilización y apunta también hacia tolerancia permanente, pero no se demuestra (341).

Los factores que intervienen en la eficacia de la inmunoterapia pueden dividirse en:

### **1.8.2.7.2 Factores dependientes del paciente**

**Edad:** los estudios que incluyen pacientes de menor edad obtienen menores porcentajes de eficacia, lo que podría explicarse por el elevado número de pacientes del grupo control que alcanzan la tolerancia por evolución natural de la enfermedad (308). Sin embargo, los resultados de eficacia son mejores en aquellos estudios que incluyen pacientes con edad en la que la alergia a leche de vaca es persistente, en los que ninguno o pocos pacientes del grupo control alcanza la tolerancia espontánea (329)(342)(309).

**Gravedad de la reacción inicial:** la frecuencia de desensibilización de los primeros estudios, que no incluían a pacientes con anafilaxia, alcanzaba hasta el 79,2% (306,317). Posteriormente, Longo y cols.(307) publicaron el primer estudio que incluía pacientes con antecedentes de anafilaxia por leche en el que la frecuencia de desensibilización disminuyó a tan sólo el 36% de los casos.

**Cifras de IgE:** los pacientes que presentan cifras más elevadas de IgE específica a leche al inicio del tratamiento presentan también peores resultados tras la inmunoterapia (326)(309).

**Dosis umbrales en la prueba de exposición:** a menor dosis umbral en la prueba de exposición, menor eficacia (307). En un trabajo publicado recientemente, la tolerancia de dosis mayores a 30 ml en la provocación al inicio fue un factor predictor de resultados favorables tras la inmunoterapia (343).

### **1.8.2.7.3 Factores dependientes del procedimiento**

- **Ruta de administración:** Keet y cols observan mayor eficacia de la ruta oral frente a la sublingual (302). Dupont y cols. demuestran que la inmunoterapia epicutánea es eficaz en el incremento en las dosis umbrales capaces de generar reacción, pero ningún paciente tuvo un resultado negativo en la prueba de exposición con leche tras la inmunoterapia (304).

- **Pauta de administración:** como se ha descrito previamente se han desarrollado diferentes protocolos de inmunoterapia, en pauta rápida, lenta y combinados, con dosis de mantenimiento elevadas o bajas, habiendo demostrado todos ellos eficacia en mayor o menor grado, sin que se haya podido establecer la pauta más adecuada. Algunos autores subrayan que tratamientos prolongados y la administración de dosis altas son más eficaces (330)(308)(326). Sin embargo, Skripak y cols. (316) demuestran

que la administración prolongada de dosis bajas de leche puede producir una modulación inmunológica permitiendo alcanzar la tolerancia.

Los estudios apuntan a que la probabilidad de alcanzar el estado de tolerancia permanente puede depender de factores como la ruta de administración, la dosis máxima recibida y la duración del tratamiento de mantenimiento. Sin embargo, serán necesarios más estudios para confirmar estas observaciones. Por otro lado, tampoco se conoce cuál es el tiempo que debe mantenerse la dieta de evitación tras la interrupción de la inmunoterapia, para confirmar con garantías que el paciente, con una prueba de provocación negativa, haya obtenido el estado de tolerancia permanente.

### **1.8.2.8 Reacciones adversas y cofactores**

Los efectos adversos asociados a la inmunoterapia en pacientes con APLV son frecuentes (307)(300) y corresponden, en la mayoría de los casos, a reacciones mediadas por IgE.

El número de reacciones adversas en pacientes que siguen tratamiento con ITO es mayor que las que acontecen durante la dieta de evitación (338), pudiendo incrementar éstas hasta en 34 veces (334). Si bien es verdad que la mayoría de las reacciones son leves (SAO), uno de cada 11 pacientes puede llegar a precisar tratamiento con adrenalina (334), incluso en las dosis administradas en el domicilio (307), pudiendo llegar incluso a presentarse reacciones casi fatales durante el tratamiento (344).

Por otro lado, hasta un 36% abandona el tratamiento por empeoramiento de la dermatitis atópica o reacciones adversas repetidas (308) y no todos los pacientes alcanzan una desensibilización mantenida (326)(337)(345). Según algunos autores, sólo el 19% de los pacientes es capaz de tolerar la ingesta de leche sin límites y de éstos, el 50% presenta algún síntoma con su ingesta (337).

Además del empeoramiento de la dermatitis atópica, mediada por mecanismo mixto, se han descrito algunos casos de esofagitis eosinofílica, mediadas por este mismo mecanismo inmunológico (316)(346)(347)(348). Esta patología debe sospecharse ante la aparición de síntomas gastrointestinales recurrentes como disfagia, pirosis, atragantamiento, impactación alimentaria, etc. Otras enfermedades eosinofílicas gastrointestinales, como la gastritis y colitis eosinofílicas, también se han asociado a la inmunoterapia con alimentos (349).

Se han utilizado diferentes clasificaciones para evaluar la gravedad de las reacciones adversas durante los tratamientos de inmunoterapia con leche, como son las de Clark y Ewan (350), Sampson (351) y Bock (352).

Tabla 10: Grados de gravedad de la anafilaxia según Sampson (351).

GRADO	PIEL	TGI	VR	SCV	NEUROL
1	Prurito, eritema, urticaria, angioedema localizados	SAO, AE labial leve			
2	Prurito, eritema, urticaria, angioedema generalizados	Cualquiera de los previos + náuseas o 1 vómito	Congestión nasal y/o estornudos		Cambio en el nivel de actividad
3	Cualquiera de los previos	Cualquiera de los previos + vómitos repetidos	Rinorrea, congestión marcada, sensación de prurito u opresión faríngeos	Taquicardia (> 15 lpm)	Cambio en el nivel de actividad + ansiedad
4	Cualquiera de los previos	Cualquiera de los previos + diarrea	Cualquiera de los previos, tos perruna, disfagia, disnea, sibilancias, cianosis	El previo, arritmia y/o hipotensión leve	Mareo
5	Cualquiera de los previos	Cualquiera de los previos + incontinencia fecal	Cualquiera de los previos, parada respiratoria	Bradicardia y/o hipotensión graves o parada cardíaca	Pérdida de conocimiento

TGI: síntomas del tracto gastrointestinal; VR: síntomas de la vía respiratoria; SCV: síntomas del sistema cardiovascular; Neurol: síntomas neurológicos; SAO: síndrome de alergia oral; AE: angioedema; lpm: latidos por minuto.

#### ***1.8.2.8.1 Reacciones adversas asociadas a la fase de incremento de dosis***

La frecuencia de reacciones en esta fase oscila entre el 50 y el 100% de los pacientes tratados (307)(316). Las reacciones descritas con mayor frecuencia son leves, prurito oral, urticaria local y síntomas gastrointestinales, que ceden tras la administración de antihistamínicos y, en algunos casos, sin necesidad de tratamiento (316)(321). Se han descrito reacciones anafilácticas durante este periodo que precisaron la administración de adrenalina con un porcentaje que varía desde el 6,7-23% de los pacientes según los estudios (307)(329).

Los factores que influyen en la aparición de reacciones y, por tanto, en la seguridad del tratamiento se pueden clasificar como:

**1. Factores dependientes del individuo:** la mayor frecuencia y gravedad de las reacciones se han asociado con IgE específica a leche superiores a 17 kU/L (320), una IgE específica frente a caseína mayor de 50 kU/L (319), una dosis umbral baja en la provocación oral previa al inicio del tratamiento (343), tamaño de la prueba intraepidérmica mayor de 9 mm y reacciones grados 2, 3 y 4 en la prueba de exposición según la clasificación de Sampson (319).

**2. Factores dependientes del tratamiento:** Keet y cols.(302), aunque encuentran una frecuencia similar de reacciones adversas entre las rutas oral y sublingual de la inmunoterapia, pero de mayor gravedad en el grupo que recibió el tratamiento por vía oral, presentando mayor frecuencia de reacciones que afectaban al tracto respiratorio superior al inferior, síntomas digestivos y reacciones sistémicas, en contraste a las reacciones locales, a nivel de la mucosa oral o reacciones cutáneas leves de la vía sublingual. Respecto a la vía epicutánea, las reacciones descritas han sido, en su mayoría, lesiones cutáneas locales ninguna superior al grado II según la clasificación del International Contact Dermatitis Research Group (304).

#### ***1.8.2.8.2 Reacciones adversas durante la fase de mantenimiento o con dosis previamente toleradas***

Las reacciones adversas descritas en la fase de mantenimiento se producen con frecuencia asociadas a desencadenantes o cofactores que actúan disminuyendo la dosis umbral de tolerancia al alimento. Se han descrito como cofactores asociados a reacciones adversas durante la inmunoterapia: la actividad física, las infecciones intercurrentes, la toma de AINEs, el asma mal controlado y el estrés emocional (353,354). Otros factores, como la menstruación, la polinosis si el tratamiento se lleva a cabo en la estación polínica, el abandono de la premedicación, la ducha caliente tras las dosis, la toma del alimento en ayunas y heridas en la lengua, también han sido identificados como cofactores (311).

Tabla 11: Cofactores en el desencadenamiento de la alergia alimentaria.

<b>COFACTORES</b>
<b>Ejercicio físico</b>
<b>Infecciones intercurrentes</b>
<b>Toma de AINEs</b>
<b>AB mal controlado</b>
<b>Estrés emocional</b>
<b>Menstruación</b>
<b>Polinosis y otros procesos intercurrentes</b>
<b>Abandono de la premedicación</b>
<b>Lesiones orales</b>
<b>Duchas y baños calientes</b>
<b>Decúbito supino inmediatamente tras la toma del alimento</b>
<b>Ayuno</b>

Otras causas asociadas a reacciones durante la inmunoterapia a leche de vaca han sido la ingestión de alimentos que contienen leche de otras especies de mamíferos. Es importante advertir que la inmunoterapia en la alergia a leche de vaca no implica que el paciente alcance la tolerancia de leche de otras especies de mamíferos como la leche de cabra y oveja. Rodríguez y cols. (355) publicaron un estudio en el que encuentran una prevalencia del 26% de alergia a leche de oveja en los pacientes alérgicos a proteínas de leche de vaca tratados mediante inmunoterapia oral y de ellas el 47% se presentó en forma de anafilaxia. Por lo tanto, si se plantea la incorporación a la dieta de la leche de cabra y/u oveja tras la inmunoterapia, se debe comprobar su tolerancia mediante una prueba de exposición controlada (356,357).

Aumentar la seguridad de los tratamientos de inmunoterapia es un objetivo prioritario. Algunos estudios han utilizado premedicación con antihistamínico (307) o montelukast (358) para disminuir la frecuencia de reacciones adversas durante el tratamiento.

A pesar de que la inmunoterapia ha demostrado ser un tratamiento eficaz en los estudios publicados hasta la fecha, el elevado número de reacciones, la falta de estudios sobre la tolerancia a largo plazo y el bajo número de pacientes incluidos en cada estudio, hacen que revisiones sistemáticas y un artículo de revisión de la Cochrane, concluyan que la inmunoterapia oral no tiene suficiente evidencia hoy en

día como para ser recomendada por delante de la dieta de eliminación en la práctica clínica diaria (297,334,359) (341,360).

A continuación se detalla un resumen de los estudios más relevantes con inmunoterapia con leche.

Tabla 12: Estudios de inmunoterapia oral con leche.

AUTOR/AÑO	IT	PEOC DX	GR CTROL	EFICACIA	E.ADV
<b>Patriarca 1998</b>	ITO	DC	EVIT	DES	LOC
<b>Patriarca 2003</b>	ITO	DC	EVIT	DES	LOC/SIS
<b>Mansouri 2007</b>	ITO	DC	EVIT	DES	LOC/SIS
<b>Morisset 2007</b>	ITO	NR	EVIT	DES	LOC/SIS
<b>Patriarca 2007</b>	ITSL	DC	EVIT	TOL	LOC/SIS
<b>Staden 2007</b>	ITO	DC	EVIT	TOL	LOC/SIS
<b>Longo 2008</b>	ITO	DC	EVIT	DES	LOC/SIS
<b>Skripak 2008</b>	ITO	DC	PCB	DES	LOC/SIS
<b>Caminiti 2009</b>	ITO	DC	PCB	DES	LOC/SIS
<b>Dupont 2010</b>	EPI	DC	PCB	DES	LOC/SIS
<b>Pajno 2010</b>	ITO	DC	PCB	DES	LOC/SIS
<b>Salmivesi 2012</b>	ITO	A/SC	PCB	DES/TOL	LOC/SIS
<b>García-Ara 2013</b>	ITO	A	EVIT	TOL	LOC/SIS
<b>Lee 2013</b>	ITO	DC	EVIT	DES	LOC/SIS
<b>Martínez-Botas 2015</b>	ITO	DC	EVIT	TOL	LOC/SIS
<b>Martorell 2011</b>	ITO	DC	EVIT	DES	LOC

IT: inmunoterapia; ITO: inmunoterapia oral; ITSL: inmunoterapia sublingual; ITE: inmunoterapia epicutánea; PEOC: prueba de exposición; NR: no realizada, DC: doble ciego controlada con placebo, A: abierta, SC: simple ciego;; Des: desensibilización; Tol: inducción de tolerancia permanente; E.ADV: efectos adversos; LOC: locales; SIS: sistémicas.

### **1.8.2.9 Cambios inmunológicos en la inmunoterapia oral**

Los mecanismos básicos por los cuales la inmunoterapia modifica la respuesta inmunológica de hipersensibilidad hacia la de tolerancia no se conocen en profundidad pero es probable que se logre a través de la modificación de la respuesta inmunológica de tipo Th2 hacia una respuesta de tipo Th1 (361)(362). Este cambio se podría alcanzar por diversas vías: supresión de las células efectoras, como mastocitos y basófilos(363), descenso de linfocitos T helper específicos (364) con la consiguiente reducción de anticuerpos IgE, formación de IgG4 específica (365,366) y por la producción y expansión de células Treg, que ocupan un lugar principal en la modulación de la respuesta (367). Los Treg son capaces de inducir la inmunosupresión o anergia a través de diversos mediadores solubles o moléculas de superficie, destacando la secreción de IL-10 y TGF- $\beta$  (368). Debido al papel destacado en el control de la respuesta inmune de los Treg se ha estudiado cómo evolucionan en los pacientes que reciben inmunoterapia con alimentos. Se ha observado un aumento de los linfocitos TregCD4+CD25+FoxP3+ en los pacientes que completaron con éxito el tratamiento en estudios de inmunoterapia oral con leche y cacahuete (369,370). En esa misma línea se ha comprobado que, en pacientes alérgicos a alimentos, los valores basales de linfocitos B CD27+CD35+ y de células dendríticas TGF- $\beta$  + son significativamente inferiores que en pacientes sanos y que, tras la inmunoterapia alimentaria, incrementan progresivamente sus niveles siendo estas células dendríticas TGF- $\beta$  + o “tolerogénicas” las que inducirían la formación de linfocitos TregCD4+CD25+Foxp3+(371).

En el seguimiento de los pacientes con inmunoterapia oral con alimentos, se han evaluado diversos factores que pueden ser útiles como marcadores del cambio en la respuesta inmunológica, desde la valoración del tamaño de la prueba cutánea intraepidérmica con el alimento hasta la determinación de diferentes marcadores celulares o séricos. Entre ellos se incluyen el estudio de la actividad de los basófilos, los marcadores de actividad mastocitaria, los niveles séricos de IgE e IgG4 específicos, los niveles de IgA en saliva, así como el recuento de linfocitos T específicos o linfocitos Treg (361).

La modulación de las células efectoras de la respuesta alérgica valorado a través de las pruebas intraepidérmicas o el test de activación de basófilos, ha obtenido resultados variables. Tanto los mastocitos como los basófilos, quedan en estado de anergia durante la inmunoterapia (363), al ser degranulados progresivamente o inhibidos por las células T reguladoras. Sin embargo, se ha observado que la respuesta cutánea medida mediante pruebas intraepidérmicas en algunos casos disminuye (372) mientras que en otros no se observa este cambio de respuesta comparado con placebo (316).

Algunos estudios sitúan al basófilo como pieza central del proceso de desensibilización (363). El test de activación de basófilos ha demostrado resultados

variables, con descenso de la activación en algunos casos (373) o sin modificaciones significativas en otros (374), aunque estas diferencias parecen estar explicadas por la variabilidad entre individuos. El descenso en la expresión de marcadores de activación de basófilos, concretamente el CD63 (375), se ha postulado como posible marcador de hiposensibilización en pacientes que reciben inmunoterapia con alimentos (373)(376)(377,378), y se ha podido relacionar con el descenso de expresión de Syk, una enzima tipo tirosin-quinasa clave en el proceso de liberación de histamina (379).

La expresión de CD203c en los basófilos aumenta de forma precoz durante la inmunoterapia, lo que ha sido vinculado con inflamación en pacientes que presentan cifras elevadas y en correlación con los estudios que lo asocian a exacerbaciones de asma (380). Ambos marcadores de activación de basófilos, CD63 y CD203c, suelen estar correlacionados y su ascenso temprano durante la inmunoterapia se ha relacionado con una peor evolución durante el proceso de hiposensibilización, posicionándose como posibles marcadores de respuesta clínica (302).

Por otra parte, existen factores solubles como algunas citocinas, que pueden ser analizadas como medida indirecta de la actividad celular. El MCP-1 (citocina de actividad quimiotáctica para basófilos y monocitos) y MIP-1 $\alpha$  (producida por macrófagos, células dendríticas y linfocitos) han sido estudiados en pacientes con alergia a proteínas de leche durante el proceso de inmunoterapia, detectándose valores basales significativamente inferiores que en los controles. En este grupo se realizó seguimiento durante el proceso de desensibilización, encontrándose que, tras 2 años de evolución los valores se normalizaban, alcanzando cifras similares a los del grupo control (381).

Uno de los primeros marcadores estudiados en pacientes durante la inmunoterapia oral con alimentos son los niveles de IgE específica frente al alérgeno. En la mayor parte de las series se han constatado que los niveles de IgE disminuyen en comparación con los niveles basales aunque sin alcanzar, por lo general, la negativización completa (317)(308)(316)(382)(320)(319)(317)(326)(383). En otros casos, no se han observado cambios significativos respecto al grupo control, detectándose incluso una tendencia a aumentar al comienzo del procedimiento (384,385)(314)(342,386), lo que los autores explican por la poca duración del tratamiento. Los niveles bajos de IgE específica se asocian con un descenso en los valores de histamina liberada pero aún no queda claro su relevancia clínica (387). En algunos casos se ha llegado a relacionar la ausencia de disminución de los niveles de IgE específica como posible marcador de riesgo de fracaso de la inmunoterapia o de resistencia a la desensibilización con mayor riesgo de reacciones adversas durante el tratamiento (309).

De forma paralela pero en sentido inverso, se puede observar en las series de pacientes con inmunoterapia alimentaria el incremento gradual de IgG4 específica, de forma similar a lo sucedido en la inmunoterapia con aeroalérgenos (361). Este cambio

en la ratio IgE/IgG4 específicas se hará más significativo cuanto más prolongado sea el tratamiento (330)(388,389). La elevación progresiva y significativa de IgG4 se considera de importancia en el seguimiento de los pacientes que reciben inmunoterapia por la capacidad de estos anticuerpos de competir con la IgE en la unión al alérgeno y suprimir la degranulación secundaria de mastocitos y basófilos, y por actuar de coligando con FcεRI y FcεRIIB (387). Sin embargo, los niveles elevados de IgG4 específica no se ha podido correlacionar aún con la completa resolución del proceso, es decir, con la obtención de la tolerancia clínica permanente.

Este efecto suele depender de la duración de la terapia y persiste mientras el paciente mantenga el contacto regular con el alimento (390), pero existen pocos estudios que demuestren la persistencia de esta protección si se interrumpe el contacto con el alimento de forma prolongada y luego se vuelve a introducir en la dieta (302)(308)(335)(384)(391). En otros casos se ha demostrado que, incluso manteniendo el contacto regular con el alimento, existen factores que pueden romper esta tolerancia clínica de forma puntual, como son las infecciones víricas, el ejercicio físico o algunos analgésicos (392).

Como se puede observar, existe gran controversia en los cambios inmunológicos implicados y observados durante la ITO, habiéndose postulado que estos cambios podrían deberse a la exposición alérgica y no a un factor activo que sea capaz de modificar la historia natural de la alergia alimentaria (336).

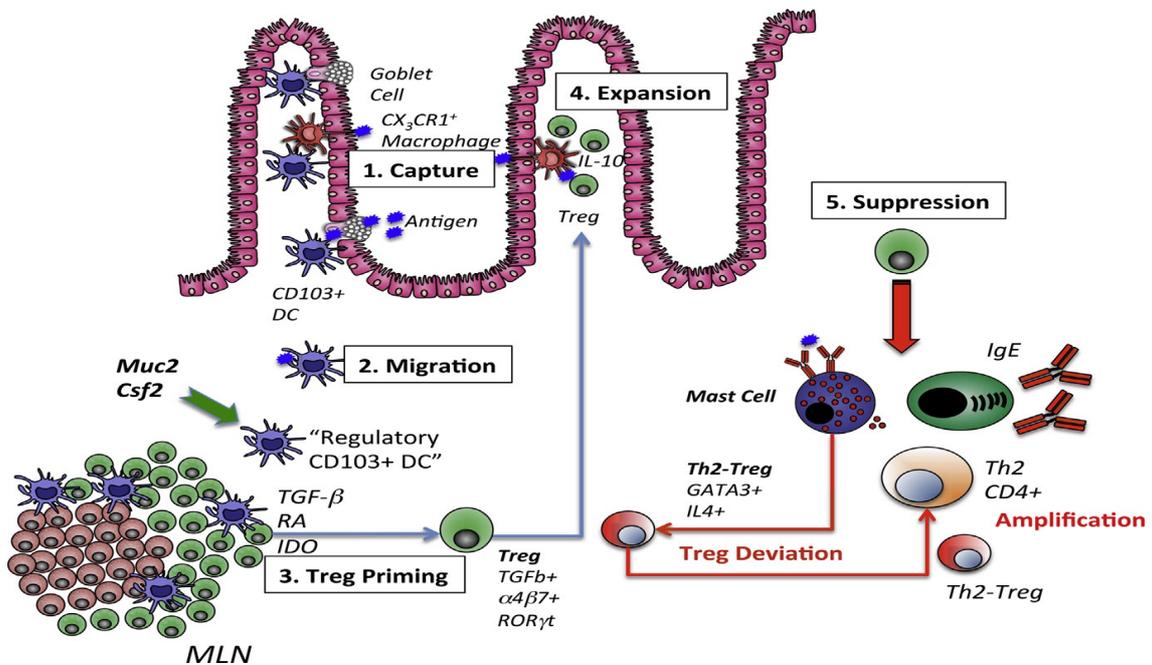


Fig 4. Mecanismo de tolerancia en alergia alimentaria.

### 1.8.3 Otros tratamientos inmunomoduladores en la APLV

#### 1.8.3.1 Anticuerpos anti-IgE en la APLV

El uso de anticuerpos anti-IgE, se ha ensayado para el tratamiento de la alergia alimentaria (393,394) y como adyuvante a la inmunoterapia oral frente a diversos alimentos (395)(396)(397)(398)(399)(400)(401)(402)(403)(404)(405)(254)(349)(338), incluido la leche (253)(406)(407).

El primer ensayo randomizado controlado con ITO junto con omalizumab se realizó en el año 2016 y fue con la leche (253). El omalizumab ha demostrado una disminución de las reacciones adversas graves tanto en la fase de incremento de dosis como en la fase de mantenimiento (395)(253)(298)(316), así como permite realizar protocolos de inmunoterapia oral más rápidos (395)(253), y mejora en la calidad de vida (408,409). Sin embargo, no ha conseguido disminuir el riesgo de esofagitis eosinofílica ni aumentar el porcentaje de pacientes en los que se alcanza tolerancia permanente respecto a la transitoria (334)(410).

A pesar de los buenos resultados publicados, la dificultad de este tratamiento radica, por un lado, en el momento o modo de discontinuación del fármaco, ya que se ha descrito la recurrencia de síntomas tras su retirada (411)(395) y, por otro lado, en su elevado coste. Sin embargo, la administración de omalizumab se perfila como una opción de tratamiento adyuvante a la inmunoterapia en pacientes con alergia grave a los alimentos y otros factores de riesgo asociados como el asma.

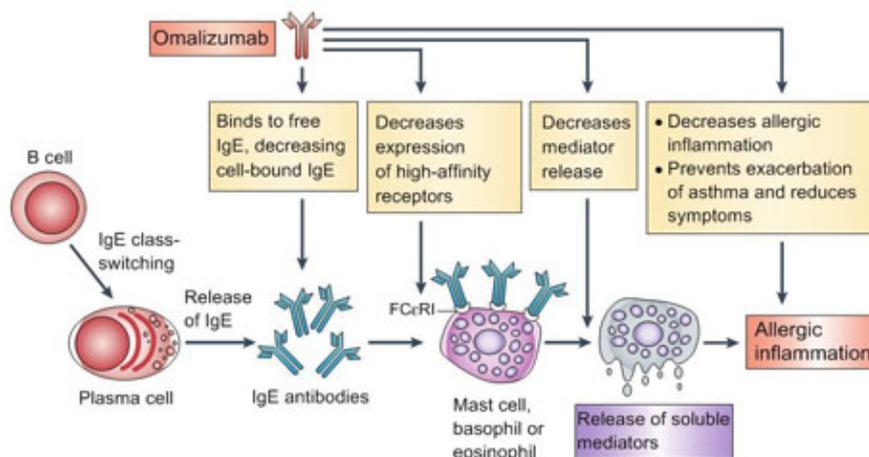


Figure 1. Mechanisms of action of omalizumab in allergic asthma. Reprinted by permission from Macmillan Publishers Ltd: Nat Rev Immunol,<sup>14</sup> copyright 2008. Abbreviation: FcεRI, high-affinity IgE receptor.

Fig. 5: Mecanismo de acción del omalizumab.



## 2. HIPÓTESIS

---



El TAB es una herramienta útil para predecir, en los pacientes con alergia a proteínas de leche de vaca mediada por IgE, la tolerancia espontánea a este alimento tras la realización de una prueba de exposición oral controlada y/o adquirida tras un tratamiento de inmunoterapia oral.

Durante el tratamiento con la inmunoterapia oral con leche, esperamos observar un descenso en las IgE específicas frente a las distintas proteínas de leche, así como un incremento en las IgG<sub>4</sub> específicas demostrando su implicación en el mecanismo de tolerancia frente a leche durante el tratamiento.



### 3. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO



La dificultad más importante que plantea el manejo de la APLV en niños radica en que los medios de los que se dispone en la actualidad para predecir la tolerancia frente a este alimento no tienen la sensibilidad (S) y especificidad (E) deseada. Por ello, se obtienen con frecuencia falsos positivos teniendo como resultado dietas de evitación innecesarias con el problema nutricional, psicológico, social y económico que ello conlleva. Por otro lado, nos encontramos también con falsos negativos en dichas pruebas, con el riesgo que ello implica en la realización de las pruebas de exposición oral.

En los últimos años la utilización del TAB se está implantando en la práctica alergológica habitual principalmente en el estudio de la alergia a medicamentos. En caso de demostrar su utilidad como predictor de tolerancia frente a leche, su utilización ayudaría en la práctica clínica habitual, en la decisión del momento de realización de la prueba de exposición oral frente a leche, evitando tanto dietas innecesarias como pruebas de exposición de riesgo. Por otro lado, su uso se podría extender al estudio de la alergia a otros alimentos, con los que existen similares dificultades.

Por otro lado, la ITO frente a alimentos es un tratamiento novedoso que, aunque se ha demostrado eficaz en la mayoría de los niños, aún se desconocen los mecanismos inmunológicos por los que se consigue la tolerancia y la razón por la cual en algunos pacientes se logra una tolerancia completa, en otros una desensibilización y en otros, sin embargo, el tratamiento resulta no sólo ineficaz sino también peligroso, sufriendo el paciente múltiples reacciones adversas durante el mismo. El conocimiento de los mecanismos inmunológicos implicados en la ITO ayudaría a comprender este tratamiento y predecir los pacientes candidatos al mismo, evitando el uso de recursos médicos innecesarios que incluyen tanto un tratamiento largo como de riesgo.



## 4. OBJETIVOS

---



## **4.1 OBJETIVOS PRINCIPALES**

- Determinar la utilidad del TAB frente a leche de vaca como predictor de tolerancia espontánea y adquirida con leche en pacientes previamente diagnosticados de alergia a proteínas de leche de vaca (APLV) mediada por IgE, así como en el seguimiento de este tratamiento.

## **4.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS**

- Determinar la utilidad de la determinación de IgE e IgG<sub>4</sub> específicas frente a leche entera, alfa lactoalbúmina, betalactoglobulina, caseína, leche hervida, leche de oveja, leche de cabra y BSA como predictores de tolerancia espontánea y adquirida con leche en pacientes previamente diagnosticados de alergia a proteínas de leche de vaca (APLV) mediada por IgE.
- Analizar la evolución de las pruebas cutáneas y de la IgE e IgG<sub>4</sub> específicas frente a leche entera, alfa lactoalbúmina, betalactoglobulina, caseína, leche hervida, leche de oveja, leche de cabra y BSA durante un protocolo de inmunoterapia oral con leche.
- Estudiar de las características de los distintos grupos de pacientes con APLV en los distintos tiempos del estudio.
- Describir las transgresiones espontáneas e incidencias durante el tratamiento de inmunoterapia oral con leche y su manejo en los pacientes con APLV.



## 5. MATERIAL Y MÉTODOS

---



## **5.1. DISEÑO DEL ESTUDIO**

Se trata de un estudio prospectivo de intervención, longitudinal, de medidas repetidas.

Para la realización de este estudio se seleccionaron todos aquellos pacientes mayores de tres años y menores de 18 años de edad, diagnosticados previamente de APLV IgE mediada (en nuestro hospital o fuera de él) y que durante tres años (2013-2016) acudieron consecutivamente a consulta de Alergología Infantil para valoración de su patología.

Además de la realización de los estudios rutinarios (pruebas cutáneas, IgE e IgG<sub>4</sub> específicas), se determinó la utilidad del test de activación de basófilos frente a leche de vaca como predictor de tolerancia, ya fuera espontánea o inducida, tras ITO. Para ello, se llevó a cabo esta determinación previa al inicio del estudio y a la finalización de la fase de inicio y en varios momentos de la fase de mantenimiento en aquellos pacientes en los que se realizó este tratamiento.

Por último, se realizó un estudio descriptivo de diferentes variables clínicas y demográficas.

### 5.1.1 ESQUEMA DEL ESTUDIO

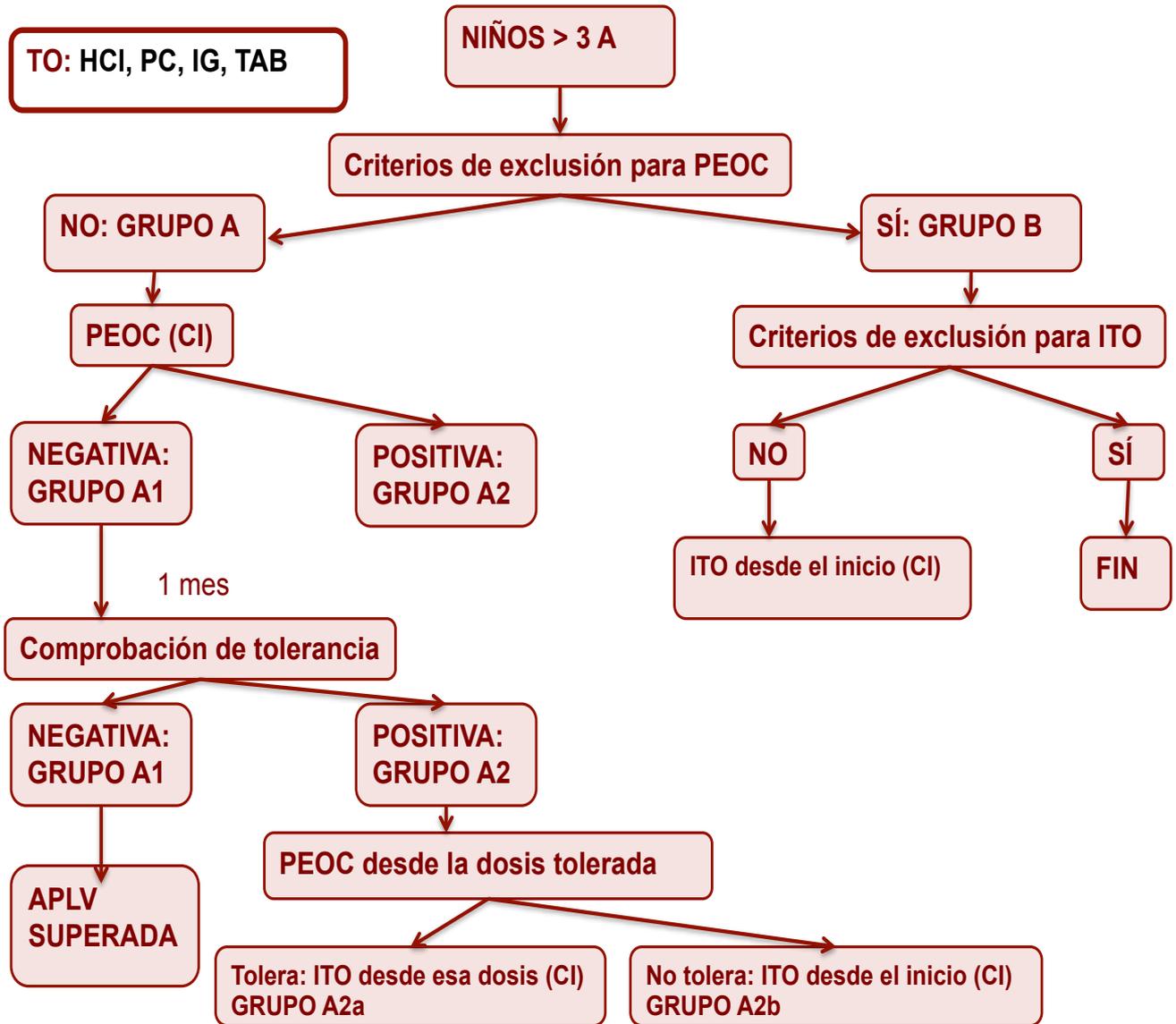


Fig. 6: Esquema del T0.

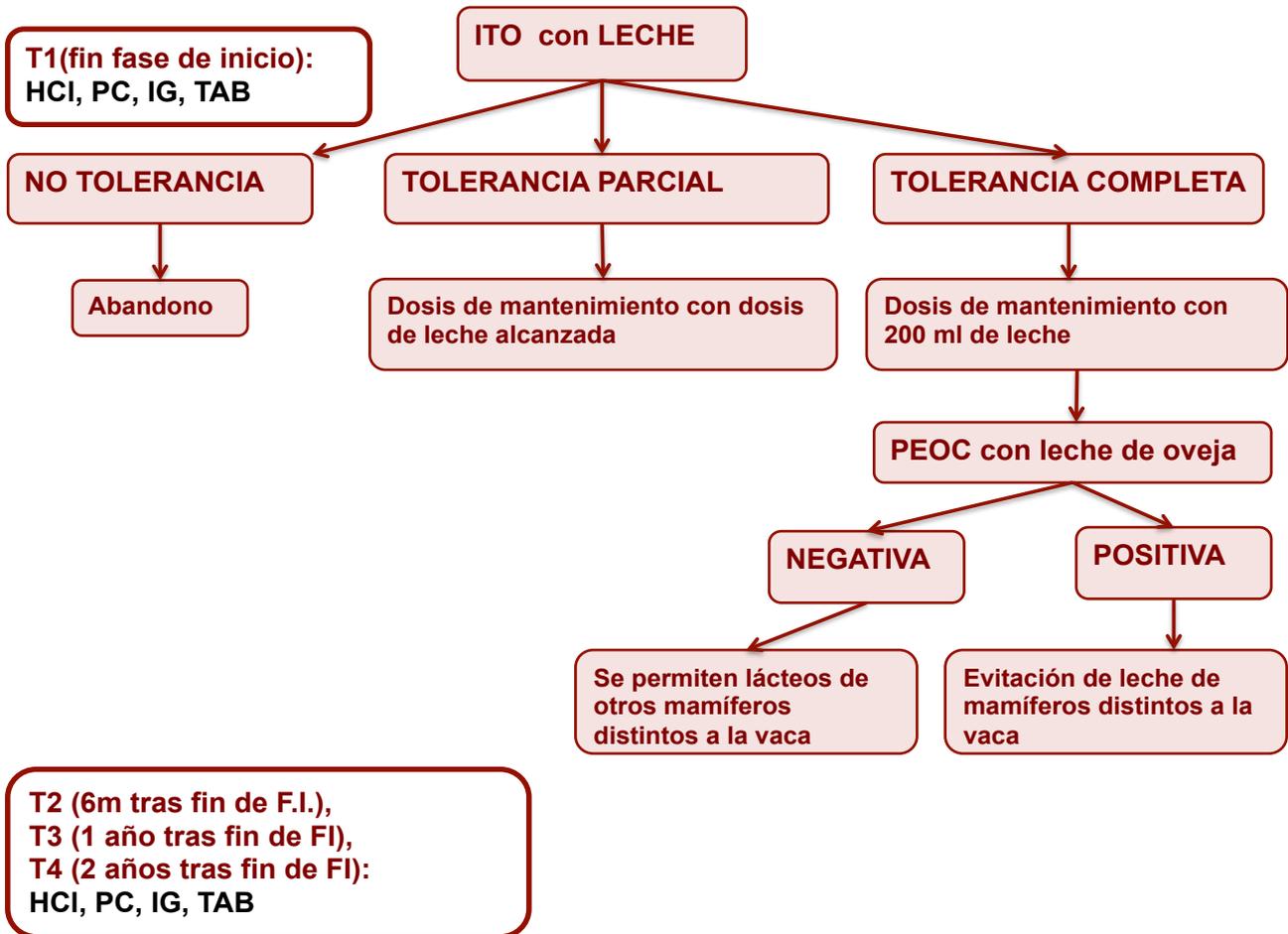


Fig. 7: Esquema del T1-T4.

El periodo del estudio se dividió en cinco fases:

<b>Tiempo 0 (T0):</b> todos los pacientes seleccionados, al inicio del estudio.
<b>Tiempo 1 (T1):</b> aquellos pacientes que hubieran precisado tratamiento con inmunoterapia oral, al finalizar la fase de inicio de dicho tratamiento.
<b>Tiempo 2 (T2):</b> a los seis meses de la fase de mantenimiento de la ITO.
<b>Tiempo 3 (T3):</b> a los 12 meses de la fase de mantenimiento de la ITO.
<b>Tiempo 4 (T4):</b> a los 24 meses de la fase de mantenimiento de la ITO.

### **Periodo basal (T0):**

Se completó una hoja de recogida sistemática de datos que incluía anamnesis con la historia familiar y personal junto a una exploración física.

Se realizaron las siguientes exploraciones complementarias:

- Pruebas cutáneas intraepidérmicas con leche entera, alfa lactoalbúmina, betalactoglobulina, caseína, leche de cabra, queso de oveja, hidrolizado de leche y los controles positivo (histamina) y negativo (suero fisiológico).
- IgE e IgG<sub>4</sub> específicas frente a alfa lactoalbúmina, betalactoglobulina, caseína, leche entera, leche hervida, leche de oveja, leche de cabra y seroalbúmina bovina (BSA).
- TAB frente a leche de vaca.
- Triptasa basal.

Se citó al paciente a revisión pasado un mes:

- **En ausencia de criterios que contraindicaran la PEOC** (ver apartado 5.6.2.2.3), el paciente fue incluido en el grupo A y se citó para la realización de una prueba de exposición oral controlada con leche, previa firma del consentimiento informado correspondiente (Anexo 1).
- **Si había criterios que contraindicaran la PEOC** (ver apartado 5.6.2.2.3), formó parte del grupo B. Se le citó para comenzar la realización de una ITO, salvo en caso de presentar criterios de exclusión (ver apartado 5.6.3.3) para la realización de este tratamiento.

### **Grupo A:**

La prueba de exposición se realizó con tomas de leche de 2, 5, 10, 25, 50 y 100 ml con un intervalo de 15 minutos entre cada dosis y un periodo de observación final de 60 minutos.

Aquellos niños que superaron la prueba de exposición (ausencia de síntomas durante la prueba), fueron citados de nuevo pasado un mes, para la confirmación de una correcta tolerancia frente a leche (grupo A1).

En aquellos niños que refirieron síntomas subjetivos persistentes (que se repitieron en 2 o más dosis) o síntomas objetivos compatibles durante la prueba de exposición (ver apartado 5.6.2.2.4), se interrumpió la prueba, considerándose ésta positiva y se administró el tratamiento necesario (ver Anexo 2), manteniendo al paciente en observación durante 1 hora tras la resolución de la sintomatología (grupo A2).

Los niños del grupo A2 fueron citados para la realización de una prueba de exposición con la mitad de la dosis de leche que produjo la reacción.

Los niños que superaron la prueba anterior (grupo A2a) iniciaron, a partir de esta dosis, una inmunoterapia oral (ITO) con leche según el protocolo de la SEICAP (ver apartado 5.6.3.1).

Los niños que no superaron esta prueba (grupo A2b) iniciaron el tratamiento de ITO según el protocolo de la SEICAP (ver apartado 5.6.3.1) desde su inicio.

### **Grupo B:**

Los pacientes con criterios de exclusión para la realización de la prueba de exposición constituyeron el grupo B e iniciaron ITO desde la dosis inicial del protocolo de la SEICAP (ver apartado 5.6.3.1).

**Final de la fase de inicio (ITO) T1.** Se consideró final de la fase de inicio del tratamiento en los siguientes supuestos:

- El paciente alcanzó una buena tolerancia de 200 mL de leche.
- Fue imposible continuar el procedimiento por reacciones adversas repetidas.
- Se produjo una reacción adversa grave (necesidad de 2 dosis de adrenalina para la resolución del cuadro clínico).
- El paciente o sus familiares rechazaron la continuación del tratamiento.

Al finalizar la fase de inicio de ITO se realizaron las siguientes pruebas complementarias:

- Pruebas cutáneas intraepidérmicas con leche entera, alfa lactoalbúmina, betalactoglobulina, caseína, leche de cabra, queso de oveja, hidrolizado de leche y los controles positivo (histamina) y negativo (suero fisiológico).
- IgE e IgG<sub>4</sub> específicas frente a alfa lactoalbúmina, betalactoglobulina, caseína, leche entera, leche hervida, leche de oveja, leche de cabra y seroalbúmina bovina (BSA).
- TAB frente a leche de vaca.

Se rellenó el cuaderno de recogida de datos (CRD) correspondiente y se consultó a los pacientes un mes después para confirmar la correcta tolerancia a la leche.

**A los seis (T2), 12 (T3) y 24 meses (T4) de la fase de mantenimiento de ITO.** Se citó a los pacientes (grupo A2 y grupo B), repitiéndose las pruebas anteriores y se cumplimentó el CRD:

- Pruebas cutáneas intraepidérmicas con leche entera, alfa lactoalbúmina, betalactoglobulina, caseína, leche de cabra, queso de oveja, hidrolizado de leche y los controles positivo (histamina) y negativo (suero fisiológico).
- IgE e IgG<sub>4</sub> específicas frente a alfa lactoalbúmina, betalactoglobulina, caseína,

leche entera, leche hervida, leche de oveja, leche de cabra y seroalbúmina bovina (BSA).

- TAB frente a leche de vaca.

Todas las exploraciones complementarias, ya fueran *in vivo* como *in vitro*, se realizaron usando la misma técnica en todos los tiempos del estudio.

## 5.2 ÁMBITO

Niños y niñas atendidas en Consulta Externa de la Sección de Alergología Infantil, Servicio de Alergología-Pediatría, Hospital Universitario Donostia, San Sebastián, Guipúzcoa.

## 5.3 SUJETOS

Se incluyeron en el estudio todos aquellos pacientes mayores de tres años y menores de 18 años de edad con APLV IgE mediada y que acudieron a la consulta de Alergología Infantil, de manera consecutiva, cumpliendo todos los criterios de inclusión y ninguno de los de exclusión.

### 5.3.1 Criterios de inclusión

Los criterios de inclusión fueron los siguientes:

Niños entre 3 y 18 años

Alergia a proteínas de leche de vaca mediada por IgE, diagnosticada en nuestro hospital o fuera de él, por cumplir los dos siguientes criterios:

- Historia clínica sugestiva (urticaria-angioedema, síntomas gastrointestinales, síntomas respiratorios, anafilaxia) inmediata (<dos horas) tras la ingestión de leche
- Prueba intraepidérmica positiva [ $> 3$  mm respecto al control positivo (histamina)] frente a leche o a al menos una de las proteínas de leche de vaca (alfalactoalbúmina, betalactoglobulina, caseína) o IgE específica realizada mediante la técnica CAP (ThermoFisher®) positiva ( $>0,35$  kU/L)

Firma del consentimiento informado

### 5.3.2 Criterios de exclusión

No se incluyeron en el estudio:

Niños menores de 3 y mayores de 18 años
Reacciones adversas a leche de vaca no mediadas por IgE o de origen no inmunológico: proctocolitis, enteropatía, enterocolitis, esofagitis-gastroenteritis eosinofílica, déficit de lactasa
Inestabilidad clínica en el momento de la PEOC o ITO, asma mal controlada ( $FEV_1 < 70\%$ del teórico y/o necesidad de broncodilatadores en los últimos tres días), mientras durara esta situación, o antecedente de asistencia respiratoria con intubación por crisis asmática, mientras durara ésta
Dermatitis atópica grave (SCORAD >25), mientras durara ésta
Urticaria crónica
Infección aguda, mientras durara ésta
Contraindicación para la administración de adrenalina
Mastocitosis o triptasa basal $> 10 \mu\text{g/L}$
Enfermedad que afecte a la seguridad o interpretación del procedimiento
Uso de medicación contraindicada durante la PEOC o ITO (beta-bloqueantes, IECAs, ADT, IMAO, inmunosupresores, broncodilatadores, antihistamínicos, corticoides sistémicos), mientras durara éste
Incapacidad familiar para el manejo de complicaciones y tratamientos
Limitado acceso a servicios sanitarios

### 5.3.3 Criterios de retirada

Los padres y/o tutores legales pudieron decidir abandonar el estudio en cualquier momento sin necesidad de dar una explicación de su decisión. En estos casos, el investigador intentó recabar los motivos por los cuales abandonaba el estudio, dejándolos reflejados tanto en la historia clínica como en el CRD.

La decisión de retirada también la pudo tomar el investigador. En este caso los padres y/o tutores legales debían ser informados de las causas que habían generado la decisión clínica. Igualmente debía quedar reflejado tanto en la historia clínica como en el CRD.

Los supuestos para la retirada de pacientes fueron los siguientes:

Decisión del paciente o tutor legal
A criterios del investigador
Aparición de algún criterio que afectara a la seguridad del paciente, si el investigador considerara necesaria la retirada
Por incumplimiento del protocolo

Los pacientes que se retiraron del estudio por uno u otro motivo no fueron reemplazados.

### **5.3.4 Duración del periodo de reclutamiento**

El periodo de reclutamiento fue de tres años.

### **5.3.5 Registro de los pacientes**

Se asignó a los pacientes un número de tres dígitos en la visita inicial (T0). Los números fueron correlativos iniciándose en el número 001. Los números de los pacientes que abandonaron el estudio no se asignaron a otro.

## **5.4 TAMAÑO MUESTRAL**

Para conseguir una potencia del 80% para detectar diferencias en el contraste de la hipótesis nula  $H_0$ :  $p=90\%$  mediante una prueba  $\chi^2$  bilateral para una muestra, teniendo en cuenta que el nivel de significación es 5%, y asumiendo que la proporción esperada era del 97% habría sido necesario incluir, al menos, 110 unidades experimentales en el estudio.

## **5.5 DEFINICIÓN DE CASO**

A efectos de análisis de resultados, se consideraron casos aquellos niños entre 3 y 18 años que, habiendo sido diagnosticados de APLV mediada por IgE, demostraran continuar siendo clínicamente reactivos, ya fuera por haber presentado síntomas en la PEOC o por haber presentado reacción/es adversa/s mediadas por IgE en el transcurso de la ITO.

## 5.6 METODOLOGÍA

### 5.6.1 PRUEBAS *IN VITRO*

Para la determinación de las pruebas *in vitro*, se programó la extracción de sangre por punción venosa a todos los casos en cada tiempo del estudio (del tiempo 0 al 4) y se realizaron el TAB y las determinaciones de IgE e IgG<sub>4</sub> totales y específicas en dicho momento y la determinación de triptasa en el tiempo 0.

Parte del suero obtenido de cada paciente en cada tiempo del estudio fue distribuido en alícuotas que se conservaron a -20°C hasta su utilización. Estas alícuotas se guardaron de manera codificada, previa obtención del consentimiento Informado de los representantes legales de los niños del estudio, en una seroteca en el Instituto de Investigación Sanitaria Biodonostia (IISB).

Para la posterior obtención de estos sueros, se cumplimentaron los formularios exigidos en los que se debía informar del objetivo específico que deseábamos alcanzar mediante la obtención de las muestras, la necesidad de los datos obtenidos de las mismas y las medidas específicas que se iban a seguir para garantizar la confidencialidad de los datos que iban a acompañar a su cesión.

#### 5.6.1.1 TAB

Se determinó el porcentaje de activación de basófilos en respuesta a distintas concentraciones de leche en todos los pacientes y en todos los tiempos del estudio en muestras de sangre periférica.

El nivel de activación de los basófilos de los pacientes en respuesta a la leche de vaca se determinó mediante citometría de flujo, analizando el nivel de expresión de la proteína CD63.

Una alícuota de 100 microlitros de sangre total heparinizada de los pacientes se incubó con diferentes concentraciones de leche de vaca (1.000 ng/ml, 100 ng/ml y 10 ng/ml, respectivamente) a 37°C durante 40 minutos. En cada experimento se incluyó además un control negativo (consistente en sangre del paciente incubada con el tampón de estimulación de los basófilos) y dos controles positivos, consistentes en dos estímulos que inducen la activación de basófilos (sangre del paciente incubada con la quimiocina fMLP y con un anticuerpo anti-IgE, respectivamente). A continuación, se marcó la muestra con una mezcla de los siguientes anticuerpos monoclonales (Becton-Dickinson), mediante una incubación de 20 minutos a temperatura ambiente y en oscuridad:

- Anti-CD123 (identificación basófilos y dendríticas)
- Anti-HLA-DR (discriminación entre basófilos y dendríticas)
- Anti-CD63 (nivel de activación de los basófilos)

A continuación se lisó la muestra con la solución FACSLysing solution (Becton-Dickinson), para eliminar los eritrocitos que pudiesen interferir en la adquisición de la misma, y se realizaron dos lavados mediante la centrifugación de la muestra con PBS (1800 rpm, 5 minutos). Los datos se adquirieron en los citómetros de flujo FACsCalibur o FACSCanto II, (ambos de Becton-Dickinson) y el análisis de los datos se realizó mediante las aplicaciones informáticas CellQuest (Becton Dickinson) o Infinicyt (Cytognos). Los resultados se expresaron en porcentaje de basófilos activados.

La activación de basófilos en respuesta a leche se consideró positiva si el porcentaje de basófilos activados (nivel de expresión de la proteína CD63) correspondía al menos a dos veces el control negativo y era mayor de 10% del total de basófilos. A continuación, se incluye un ejemplo representativo de la técnica.

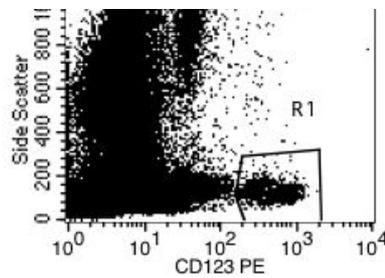


Figura 8. CD123 (identificación basófilos y células dendríticas).

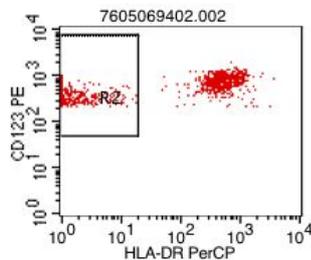


Figura 9. HLA-DR (discriminación entre basófilos y células dendríticas).

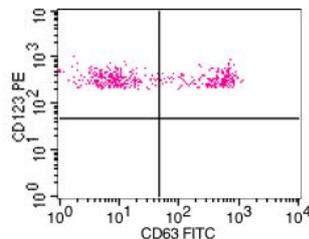


Figura 10. CD63 (nivel de activación de los basófilos).

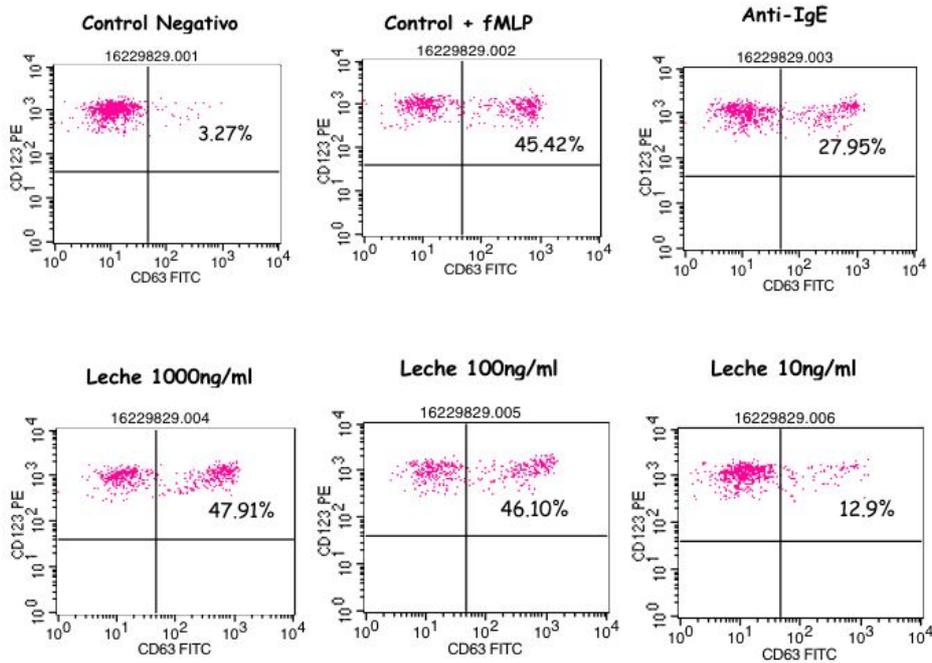


Figura 11. CD63 (nivel de expresión en los controles y en respuesta a distintas concentraciones de leche).

### 5.6.1.2 IgE total e IgE específicas

La determinación de IgE total e IgE específica en suero se realizó mediante el fluoroenzimoinmunoensayo automatizado uniCAP 250 (ThermoFisher, Uppsala, Suecia®). El soporte es un derivado de la nitrocelulosa activado con bromuro de cianógeno, que permite una elevada capacidad de fijación de la anti-IgE, en el caso de la determinación de IgE total o del correspondiente antígeno, en el caso de las IgE específicas. El proceso se inició con el lavado de los soportes, seguido por la succión de 40 µg de suero del paciente para depositarla en el pocillo que aloja el immunoCAP correspondiente, con el que se incubaron durante 30 minutos a 37°C. A continuación, se procedió al lavado para eliminar los anticuerpos no unidos. Posteriormente se añadieron 50 µg de un anticuerpo monoclonal de ratón antiIgE humana conjugado con β-galactosidasa y se incubó durante 150 minutos a 37°C. Tras un segundo lavado se incubó con 50 µl de la solución de desarrollo (4-metilbeliferil β-D-galactósido) a la misma temperatura durante 9 minutos, en los que se produce una reacción en la que la 4-metilbeliferil β-D-galactósido es hidrolizada por la β-galactosidasa, liberando 4-metil-umbeliferona, que es fluorescente. La reacción se detuvo mediante la adición de 400 µl de carbonato sódico antes de realizar la lectura de fluorescencia del eluido. Los valores de lectura obtenidos se interpolaron sobre una curva patrón de referencia o estándar [estándares de IgE calibrados por medio del 2nd International Reference Preparation (IRP) 75/502 of Human Serum immunoglobulin E from the World Health Organization (WHO)], de calibración mensual, para determinar la

cantidad de IgE total y de IgE específica frente al alérgeno estudiado. Los resultados se expresaron en unidades proteicas denominadas kU/L y el rango de medida de la técnica fue de 0,10 a 5.000 kU/L para IgE total y de 0,1 a 100 kU/L, en el caso de la determinación de las IgE específicas, considerando positivos los valores  $\geq 0,35$  kU/L.

En este estudio se determinó IgE específica frente a leche entera, alfactoalbúmina, betalactoglobulina, caseína, leche hervida, leche de oveja, leche de cabra y albúmina sérica bovina (BSA).

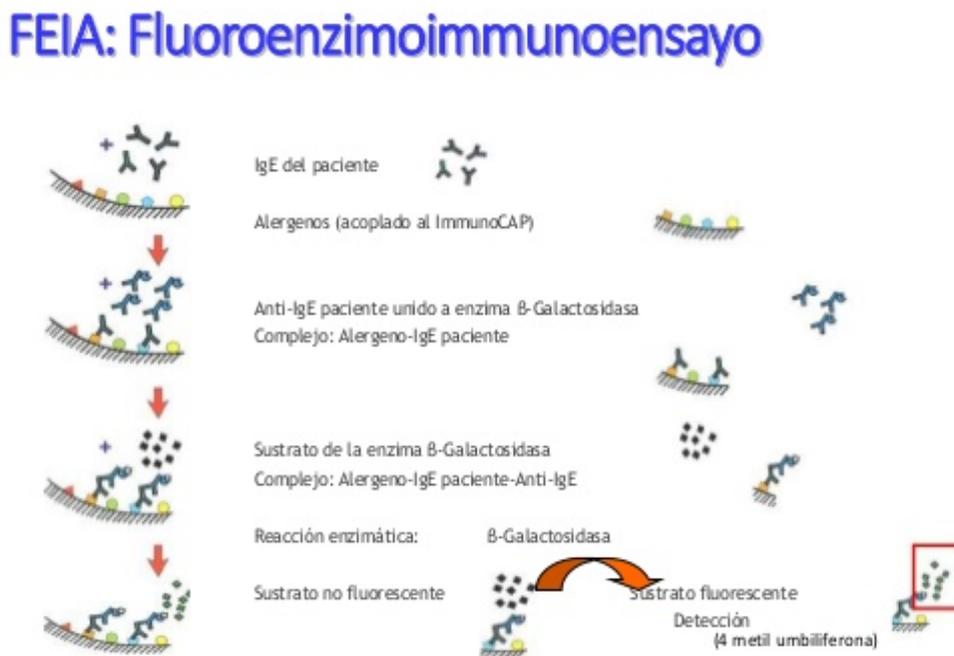


Fig. 12: Técnica de Fluoroenzimoimmunoensayo.

### 5.6.1.3 IgG4 total e IgG4 específicas

La determinación de IgG4 total se realizó utilizando el analizador Binding Site Optilite (The Binding Site Group Limited, Birmingham, UK®), siguiendo las indicaciones del fabricante. La utilización de métodos turbidimétricos para la determinación de la IgG4 soluble incluye la reacción con anticuerpos específicos que formen inmunocomplejos insolubles. Se utilizaron anticuerpos policlonales monoespecíficos de oveja que recubren látex de poliestireno. Cuando la luz pasa a través de la suspensión formada, una porción de la misma es transmitida y focalizada en uno fotodiodo por un sistema de lentes ópticas. La cantidad de luz transmitida es indirectamente proporcional a la concentración de IgG4 en la muestra testada.

Las determinaciones de IgG4 específicas se realizaron mediante el sistema ImmunoCAP

(TermoFisher, Uppsala, Suecia®), utilizando un instrumento automatizado, el uniCAP 250 y siguiendo las directrices del fabricante. De forma previa a su procesamiento las muestras de suero de los pacientes fueron diluidas 100 veces con el diluyente de muestras (suero de pollo en solución *buffer*). El resto del proceso fue similar al utilizado en la determinación de IgE específica, con reactivos a concentración idónea para la determinación de IgG4 y con conjugados de anticuerpo monoclonal anti-IgG4- $\beta$ -galactosidasa para la detección de IgG4 específica.

#### 5.6.1.4 Triptasa

Las determinaciones de triptasa se realizaron mediante el sistema ImmunoCAP Tryptase (TermoFisher, Uppsala, Suecia®), utilizando un instrumento automatizado, el uniCAP 250 y siguiendo las recomendaciones del fabricante. Mediante este sistema se midió la triptasa total (incluidas todas sus formas, alfa y beta-triptasa). El anticuerpo monoclonal anti-triptasa unido mediante enlace covalente al ImmunoCAP, reaccionó con la triptasa en la muestra del paciente. Después del lavado, los anticuerpos marcados con enzimas frente a triptasa ( $\beta$ -galactosidasa-anti-triptasa), se añadieron para formar un complejo. Tras la incubación, el conjugado anti-triptasa-enzima no unido se eliminó y la mezcla de unión se incubó con la misma solución de desarrollo que para la determinación de IgE específica (4-metilbeliferil  $\beta$ -D-galactósido), produciéndose así una reacción en la que la 4-metilbeliferil  $\beta$ -D-galactósido es hidrolizada por la  $\beta$ -galactosidasa, liberando 4-metil-umbeliferona, que es fluorescente. La reacción se detuvo mediante la adición de carbonato sódico antes de realizar la lectura de fluorescencia del eluido.

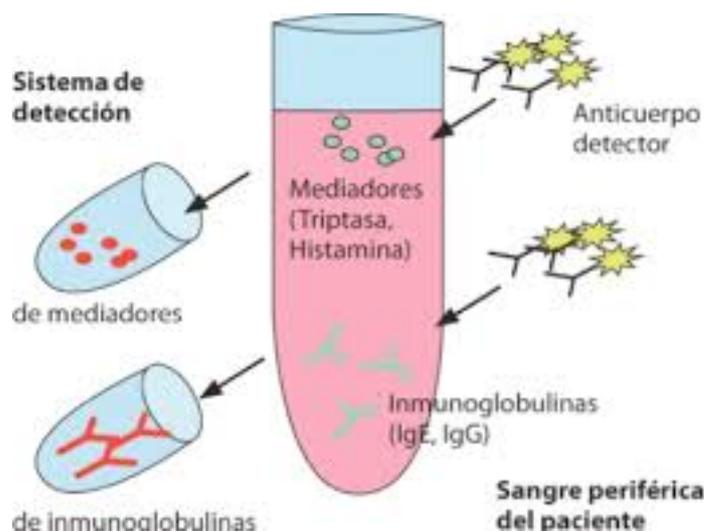


Fig. 13: Técnica de detección de triptasa.

## 5.6.2 PRUEBAS *IN VIVO*

### 5.6.2.1 Pruebas cutáneas. Extracto para pruebas cutáneas

La reactividad cutánea inmediata frente a leche entera, alfa-lactoalbúmina, betalactoglobulina, caseína, leche de cabra y queso de oveja se determinó mediante pruebas intraepidérmicas (prick test) con extractos estandarizados biológicamente:

- Leche entera (Bial-Aristegui, Zamudio, Vizcaya): 5 mg/ml
- Alfa-lactoalbúmina (Bial-Aristegui, Zamudio, Vizcaya): 5 mg/ml
- Betalactoglobulina (Bial-Aristegui, Zamudio, Vizcaya): 1 mg/ml
- Caseína (Bial-Aristegui, Zamudio, Vizcaya): 10 mg/ml
- Leche de cabra (Diater, Leganés, Madrid): 10 mg/ml
- Queso de oveja (Diater, Leganés, Madrid): 10mg/ml

Para la realización de la prueba intraepidérmica con leche hidrolizada se utilizó una fórmula extensamente hidrolizada de caseína con lactosa (Lacto-Damira 2.000. Laboratorios Sanutri, Cornellá de Llobregat, Barcelona) preparada a la concentración recomendada por el fabricante para su administración (15,7g/ml).

Como control positivo se utilizó clorhidrato de histamina a 10 mg/ml y como control negativo solución salina isotónica.

Las pruebas cutáneas se realizaron en la superficie volar del antebrazo utilizando lancetas estandarizadas (prick ALK lancet, Madrid). La lectura se realizó a los 15 minutos, siguiendo las recomendaciones dictadas del Subcomité de pruebas cutáneas de la Sociedad Europea de Alergia e Inmunología Clínica (EAACI) (175). Se midieron el diámetro mayor (D) y menor (d) de la pápula obtenida como resultado de la prueba y se calculó el diámetro medio mediante la media de la suma de los diámetros anteriores  $((D+d)/2)$ .

Previamente a la realización de las pruebas cutáneas se suspendió, con tiempo suficiente, la medicación que pudiera modificar el resultado de las pruebas (175).

Las pruebas cutáneas se realizaron en todos los tiempos del estudio.

### 5.6.2.2 Pruebas de exposición oral controlada con leche de vaca

La prueba de exposición oral controlada (PEOC) consiste en la administración gradual de un alimento, en nuestro caso la leche, bajo supervisión médica estrecha. Esta prueba se realizó en todos los casos tras un prolongado periodo de eliminación de las proteínas de leche de la dieta con fines terapéuticos. Se realizó el protocolo para la PEOC

recomendado por la Sociedad Española de Inmunología Clínica y Alergología Pediátrica (SEICAP) que se describe a continuación.

#### **5.6.2.2.1 Protocolo de PEOC con leche de vaca**

Las pruebas se llevaron a cabo en el periodo basal del estudio, en el área de hospital de día de la consulta de Alergología Infantil del HUD, con adecuada monitorización de síntomas y signos y constantes vitales (presión arterial, frecuencia cardíaca y respiratoria y saturación de oxígeno) y con material y personal sanitario formado para la atención de las posibles reacciones alérgicas y próxima al área de Cuidados Intensivos Pediátricos.

Los pacientes debían acudir a la prueba sin presentar procesos intercurrentes ni exacerbación de enfermedades ya conocidas.

Todos los pacientes acudieron a realizar la PEOC en ayunas y se les instruyó para no ingerir ningún alimento ni bebida (distinta de agua) durante toda la prueba.

Se retiraron previamente los antihistamínicos, beta-agonistas, bloqueantes beta-adrenérgicos y todos aquellos medicamentos que podían alterar los síntomas de la reacción o interferir con su tratamiento, durante al menos cinco veces la vida media del medicamento.

Se administraron de forma abierta dosis progresivamente ascendentes de leche fresca (2 ml, 5 ml, 10 ml, 25 ml, 50 ml y 100 ml) con un intervalo de 15 minutos entre dosis y una observación final de 60 minutos tras la última dosis.

Los pacientes fueron informados de que debían avisar ante la presencia de cualquier síntoma o signo de reacción alérgica y eran evaluados en el mismo momento de su aparición:

- a) En caso de cumplirse los criterios de positividad (apartado 5.6.2.2.4), el paciente era tratado de forma acorde a los síntomas y signos presentados (Anexo 2), la prueba era interrumpida y los niños eran citados para la realización de una prueba de exposición con la mitad de la dosis de leche que produjo la reacción. El paciente era invitado a seguir tratamiento con inmunoterapia oral (ITO) con leche a partir de esta dosis.
- b) En aquellos pacientes que completaron la prueba con éxito, se les instruyó para que introdujeran la leche en su dieta cotidiana y se confirmó la buena tolerancia a la leche un mes después vía telefónica.

#### **5.6.2.2.2 Criterios de inclusión para la realización de una PEOC con leche de vaca**

Se llevó a cabo la PEOC en todos aquellos pacientes cuyos tutores legales hubieran firmado el consentimiento informado para la realización de PEOC (Anexo 1) en ausencia de criterios de exclusión para esta prueba.

### 5.6.2.2.3 Criterios de exclusión para la realización de una PEOC con leche de vaca

No se realizó la PEOC en aquellos pacientes con:

Valores de IgE específica con valor predictivo positivo en la prueba de exposición oral controlada igual o superior al 90% (412):

- Niño 12 meses: IgEe leche  $\geq 2,58$  kU/L o IgEe caseína  $\geq 0,97$  kU/L
- Niños 18 meses: IgEe leche:  $\geq 2,5$  kU/L o IgEe caseína  $\geq 1,22$  kU/L
- Niños 24 meses: IgEe leche  $\geq 2,7$  kU/L o IgEe caseína  $\geq 3$  kU/L
- Niños 36 meses: IgEe leche  $\geq 2,26$  KU/L o IgEe caseína  $\geq 2,39$  kU/L
- Niños 48 meses: IgEe leche  $\geq 5$  kU/L o IgEe caseína  $\geq 2,73$  kU/L

Transgresiones positivas (toma accidental de PLV con reacción clínica) en los tres meses previos

Inestabilidad clínica en el momento de la prueba de exposición:

- AB mal controlado ( $FEV_1 < 70\%$  del teórico y/o necesidad de broncodilatadores en los últimos tres días) o antecedente de intubación por crisis asmática
- DA grave (SCORAD  $> 25$ )
- Urticaria crónica
- Infección aguda

Contraindicación para el uso de adrenalina

Mastocitosis o triptasa basal  $> 10 \mu\text{g/L}$

Enfermedad que afecte a la seguridad o interpretación del procedimiento

Uso de medicación contraindicada en el procedimiento (betabloqueantes, IECAs, ADT, IMAO, inmunosupresores, broncodilatadores, antihistamínicos, corticoides sistémicos)

Incapacidad para el manejo de complicaciones y tratamientos

Limitado acceso a servicios sanitarios

Ausencia de firma del consentimiento informado

### 5.6.2.2.4 Criterios de positividad de PEOC con leche de vaca

Se consideró la PEOC positiva en caso de aparición de una reacción adversa consistente en la presencia de:

- Cualquier signo objetivo,
- Cualquier síntoma subjetivo persistente que se repitió en dos o más dosis y/o persistente (que no cedió espontáneamente en 30 minutos).

**Signos objetivos:**

- Signos cutáneos: urticaria, angioedema
- Signos respiratorios: rinorrea, estornudos, prurito nasocular, hiperemia conjuntival (o del velo del paladar), quemosis, tos seca persistente, sibilancias, descenso del PEF del 20%
- Signos gastrointestinales: vómitos, diarrea
- Signos cardiovasculares: síncope, disminución de la PA sistólica >20 mmHg o 30% de la PA sistólica basal

**Síntomas subjetivos:**

- Síntomas cutáneos: prurito sin lesiones
- Síntomas respiratorios: prurito ocular o nasal, disnea, opresión torácica
- Síntomas gastrointestinales: prurito orofaríngeo, disfagia, sensación de bolo faríngeo, dolor abdominal,...
- Otros: prurito orofaríngeo, malestar general, mareo,...

**5.6.2.3 Pruebas de exposición oral controlada con leche de oveja**

**5.6.2.3.1 Protocolo de PEOC con cuajada de oveja**

Las condiciones basales de los pacientes debían ser las mismas descritas para la PEOC con leche de vaca (ver apartado 5.6.2.2.1).

La PEOC se realizó de forma abierta con cuajada de oveja (125 gramos totales), por lo menos un mes tras haber finalizado la fase de inicio de ITO (durante el T1). El protocolo de administración seguido fue: 5 g; 10 g; 20 g; 90 g, con un intervalo entre dosis de 15 minutos y una observación final de 60 minutos.

Las instrucciones al paciente y el manejo de las reacciones adversas, en caso de presentarse, fue idéntico al explicado para la PEOC con leche de vaca (apartado 5.6.2.2.1).

a) En aquellos pacientes con criterios de positividad para la PEOC (apartado 5.6.2.2.4), se interrumpió la prueba y se llevó a cabo el tratamiento de acuerdo a la sintomatología presentada (Anexo 2). A estos pacientes se les permitió la ingesta únicamente de productos de leche de vaca, debiendo evitar indefinidamente la leche perteneciente a cualquier otro tipo de mamífero.

b) A aquellos pacientes que completaron la prueba con éxito, se les permitió la ingesta de leche de oveja y progresivamente en domicilio de leche de otros mamíferos, principalmente cabra, y se confirmó la buena tolerancia un mes después vía telefónica. En caso de manifestar mala tolerancia a la misma, se eliminó de la dieta de forma definitiva.

#### **5.6.2.3.2 Criterios de inclusión para PEOC con cuajada de oveja**

Se llevó a cabo la PEOC con leche de oveja en todos aquellos pacientes cuyos tutores legales hubieran firmado el consentimiento informado para la realización de PEOC (Anexo 1) en ausencia de criterios de exclusión para esta prueba.

#### **5.6.2.3.3 Criterios de exclusión para PEOC con cuajada de oveja**

Los criterios de exclusión utilizados para la PEOC con cuajada de oveja fueron los siguientes:

- Pacientes en los que durante la ITO no se hubiera alcanzado la dosis final de 200 ml de leche de vaca
- Pacientes en los que durante la ITO se hubiera alcanzado la dosis final de 200 ml de leche de vaca pero en los que persistieran reacciones adversas de cualquier índole
- Pacientes definidos como de alto riesgo para la ITO con leche de vaca (ver apartado 5.6.3.4)
- Transgresiones positivas (toma accidental de lácteos de oveja o cabra con reacción clínica) desde el final de la fase de inicio de la ITO
- Inestabilidad clínica en el momento de la prueba de exposición: <ul style="list-style-type: none"> <li>• AB mal controlado (<math>FEV_1 &lt; 70\%</math> del teórico y/o necesidad de broncodilatadores en los últimos tres días) o antecedente de intubación por crisis asmática</li> <li>• DA grave (SCORAD &gt;25)</li> <li>• Urticaria crónica</li> <li>• Infección aguda</li> </ul>
- Contraindicación para el uso de adrenalina
- Mastocitosis o triptasa basal >10 µg/L
- Enfermedad que afecte a la seguridad o interpretación del procedimiento

- Uso de medicación contraindicada en el procedimiento (betabloqueantes, IECAs, ADT, IMAO, inmunosupresores, broncodilatadores, antihistamínicos, corticoides sistémicos)
- Incapacidad para el manejo de complicaciones y tratamientos
- Limitado acceso a servicios sanitarios
- Ausencia de firma del consentimiento informado

#### **5.6.2.3.4 Criterios de positividad para PEOC con cuajada de oveja**

Los criterios de positividad empleados para la PEOC con cuajada de oveja fueron los mismos que para la PEOC con leche de vaca (apartado 5.6.2.2.4).

### **5.6.3 Inmunoterapia oral con leche de vaca**

La Inmunoterapia oral consiste en un tratamiento mediante el cual, con la administración de dosis progresivamente mayores del alimento de manera regular, el paciente consigue tolerar su ingesta.

El protocolo de inmunoterapia oral con leche llevado a cabo en nuestros pacientes, fue el recomendado por la SEICAP y que se detalla a continuación.

#### **5.6.3.1 Protocolo de ITO leche de vaca**

Este protocolo (SEICAP) comenzó con una fase de inicio realizada en parte en el hospital y en el domicilio y una fase de mantenimiento realizada en el domicilio.

##### **5.6.3.1.1 Control del paciente durante la ITO en el hospital**

Durante las distintas partes del protocolo realizadas en el hospital, se llevaron a cabo controles clínicos que incluían el control de síntomas y signos que se detallan seguidamente.

##### **Al inicio del protocolo:**

- Historia clínica: tolerancia en domicilio, interurrencias (fiebre, catarro, diarrea, toma de medicación no habitual)
- Toma de constantes: PA, FC, SatO<sub>2</sub>, PEF
- Exploración física: piel (SCORAD de DA), ORF, ACP, abdomen
- PFR en pacientes con AB

**Antes de cada dosis, en caso de reacción adversa y al final de la administración de la dosis antes del alta:**

- Historia clínica: tolerancia en domicilio, interurrencias (fiebre, catarro, diarrea, toma de medicación no habitual)
- Exploración física: piel (SCORAD de DA), ORF, ACP, abdomen

**No se inició o aumentó la dosis en los pacientes que ya habían iniciado el tratamiento, en caso de que el paciente se encontrara inestable**, definido como uno o más de los siguientes signos o síntomas:

- AB mal controlado ( $FEV_1 < 70\%$  del teórico y/o necesidad de broncodilatadores en los últimos tres días y/o en tratamiento con corticoides orales),
- DA grave (SCORAD >25),
- Urticaria crónica,
- Infección aguda u otro proceso intercurrente.

Para las dosis administradas en el domicilio, se entregó a los pacientes un cuaderno (Anexo 3) que incluía la explicación del tratamiento, teléfonos y correo al que dirigirse en caso de dudas, y en el que quedaban recogidas:

- las dosis de leche administradas,
- las reacciones adversas acontecidas durante el tratamiento,

Además, este cuaderno incluía las instrucciones para:

- la administración de leche,
- el reconocimiento y manejo de las reacciones adversas,
- el ajuste de dosis.

Se instruyó a los pacientes verbalmente y por escrito en su cuaderno de instrucciones (Anexo 3), para la administración de la dosis de leche una vez al día, evitando estar en ayunas, en un momento del día que permitiera la observación posterior del paciente durante 1-2 horas y en la que el niño no realizara ejercicio físico en las tres horas siguientes a la toma de su dosis de leche.

Asimismo, se prohibió la administración de AINEs (a excepción de paracetamol) desde una hora hasta 3 horas después de la toma de la dosis de leche y se aconsejó no acudir al hospital para el ascenso de dosis y no administrar la dosis de leche en el domicilio (hasta un máximo de 3 días consecutivos), en caso de presentar procesos intercurrentes o exacerbación de su patología previa.

La formación que recibieron todos los pacientes que siguieron la ITO en cuanto al correcto reconocimiento y manejo de las reacciones adversas, incluyó entre otros aspectos, el uso

del autoinyector de adrenalina en caso de reacción multisistémica o cardiovascular. Esta formación se realizó verbalmente, con el uso de autoinyectores de adiestramiento y por escrito (Anexo 4).

### **5.6.3.1.2 Fase de inicio**

Este protocolo comenzó con una fase de inicio con periodo rápido de dos días de duración realizado en el hospital, seguido de un periodo lento de 17 semanas de duración realizado en el hospital y domicilio.

#### **5.6.3.1.2.1 Periodo rápido**

Se realizó en aquellos niños que comenzaron el procedimiento de ITO recomendado por la SEICAP desde su inicio, sin realizar PEOC o tras haber presentado PEOC positiva si no toleraran en día aparte la mitad de la dosis que dio positivo en la PEOC.

Se llevó a cabo en dos días. Cada día se administraron cinco dosis progresivamente mayores de leche fresca que comenzaron con una dosis de 1 ml de una dilución de leche 1/100 y, en caso de buena tolerancia de todas las dosis, finalizó con la administración de 2,5 ml sin diluir. El intervalo entre dosis fue de 60 minutos y el tiempo de observación final de una hora.

---

**Primer día:**

**Dilución 1/100: 1 ml; 2 ml; 4 ml; 8 ml Dilución 1/10: 1,6 ml**

**Segundo día:**

**Dilución 1/10: 1,6 ml; 3,2 ml; 6 ml; 12 ml**

**Sin diluir: 2,5 ml**

---

En caso de que el paciente hubiera presentado una PEOC positiva, se inició la ITO desde la máxima dosis tolerada durante esta prueba, directamente en el periodo lento, previa confirmación de su tolerancia en el hospital.

#### **5.6.3.1.2 Periodo lento**

El periodo rápido se continuó con un periodo lento que incluyó incrementos semanales administrados en el hospital con una observación posterior de 60 minutos. En caso de tratarse de un paciente con reacciones alérgicas con un periodo de latencia superior a este tiempo, el tiempo de observación fue incrementado adecuándose a dicho periodo de latencia.

En caso de obtenerse una buena tolerancia de la dosis administrada en el hospital, el paciente continuó con esa dosis de manera diaria (1 dosis al día) en su domicilio hasta la siguiente visita en 1-2 semanas, en la que se realizaba un nuevo ascenso de dosis.

Estos ascensos se llevaron a cabo hasta alcanzar una dosis de 200 ml o, en su defecto, la máxima dosis tolerada. Los incrementos de las dosis en el hospital según el protocolo fueron de leche sin diluir:

4	5	6	8	10	12	15	20	25	30	40	50	75	100	125	150	200
ml	ml	ml	ml													

En el caso de que presentara reacción adversa o no hubiera tomado su dosis de leche, se ajustó la dosis (apartado 5.6.3.6) con la que el paciente debía continuar en su domicilio de manera diaria hasta la siguiente visita en 1-2 semanas.

#### **6.6.3.1.3 Fase de mantenimiento.**

A la fase de inicio le siguió una fase de mantenimiento en la que el paciente debía recibir una vez al día una dosis de 200 ml o, en su defecto, la máxima dosis tolerada.

### **5.6.3.2 Indicaciones para la realización de Inmunoterapia Oral con leche**

Se llevó a cabo el tratamiento con Inmunoterapia oral con leche en aquellos niños cuyos tutores legales firmaron el consentimiento informado (Anexo 5), que no presentaban contraindicación para el mismo y en los que se asumió persistencia de la APLV por:

- Presentar valores de IgE específica con valor predictivo positivo en la prueba de exposición oral controlada igual o superior al 90% (apartado 5.6.2.2.3)
- Haber presentado transgresiones positivas (toma accidental de proteínas de leche de vaca con presentación de síntomas) en los tres meses previos
- Haber presentado una PEOC positiva (apartado 5.6.2.2.4).

### **5.6.3.3 Contraindicaciones para la realización de inmunoterapia oral con leche**

Las contraindicaciones para la ITO con leche fueron:

- Ausencia de disponibilidad de los padres o tutores para acudir a las visitas programadas para el tratamiento.
- Inadecuado nivel de comprensión y cooperación por parte de los pacientes y los tutores para llevar a cabo el tratamiento.
- Falta de firma del consentimiento informado.
- Limitado acceso a servicios sanitarios.
- Contraindicación para el uso de adrenalina (enfermedad cardiovascular grave, HTA grave).
- Rechazo o incapacidad del paciente o sus familiares para la administración de adrenalina.
- Enfermedad que afecte a la seguridad o interpretación del procedimiento.
- Enfermedades malignas, autoinmunes, inmunopatología y/o inmunodeficiencias graves (primarias o secundarias).
- Mastocitosis o triptasa basal $>10 \mu\text{g/L}$ .
- Uso de medicación contraindicada en el procedimiento ( $\beta$ -bloqueantes, incluso tópicos) (inmunosupresores).
- Reacciones adversas a leche de vaca no mediadas por IgE o no inmunológicas: proctocolitis, enteropatía, enterocolitis, esofagitis- gastroenteritis eosinofílica, déficit de lactasa)

#### 5.6.3.4 Factores de riesgo para la realización de ITO con leche

No se consideraron contraindicación para el tratamiento con ITO aquellas APLV de alto riesgo; sin embargo, estos pacientes, en caso de tener una edad superior o igual a 6 años, realizaron este procedimiento con premedicación con omalizumab, previa firma de un consentimiento informado específico para este caso (Anexo 6 y 7).

Se consideraron **criterios de alto riesgo**:

- IgE específica a leche y/o caseína $\geq 50 \text{ kU/L}$
- Clínica grave o PEOC positiva grave en el último año (319)
- Clínica con mínimas cantidades de leche (trazas) ya fuera de forma espontánea o en la PEOC (respuesta a $<2,5 \text{ mL}$ ) en el último año

### **5.6.3.5 Reacciones adversas**

Se consideraron reacciones adversas inmediatas aquellas incluidas en los criterios de positividad de PEOC (apartado 5.6.2.2.4).

En el caso de producirse éstas tras una dosis hospitalaria, se interrumpió el procedimiento previsto para ese día y se administró la medicación necesaria para el control de los síntomas (Anexo 2). En este caso se mantuvo al paciente en observación el tiempo adecuado en función de la gravedad de la reacción (mínimo de dos horas tras la remisión de los síntomas y hasta 12 horas en caso de anafilaxia).

El uso de medicación de rescate no influyó para la continuación normal de la ITO.

Se consideraron reacciones adversas tardías aquellas que incluían síntomas compatibles con esofagitis eosinofílica (pirosis, regurgitación, disfagia, dolor retroesternal, impactación). En caso de aparecer estos síntomas, se realizó una gastroscopia con sedación y toma de tres biopsias a nivel de esófago proximal y tres biopsias a nivel de esófago distal. En caso de obtener en alguna de las muestras un resultado anatomopatológico compatible con esofagitis eosinofílica (>15 eosinófilos por c.g.a), el tratamiento fue interrumpido y se recomendó una dieta de evitación de proteínas de leche. Se realizó nueva gastroscopia al menos seis semanas tras la dieta de evitación para comprobar la resolución del daño esofágico. En caso de ser así y quedar confirmada la esofagitis eosinofílica secundaria a la ingesta de proteínas de leche, la ITO se interrumpió definitivamente recomendándose la evitación definitiva de estas proteínas. En caso contrario, además de las recomendaciones anteriores, se incluyó al paciente en el protocolo de diagnóstico y tratamiento de esta enfermedad.

### **5.6.3.6 Ajuste de dosis**

En los pacientes en que discontinuaban el tratamiento o en aquellos que presentaban reacciones adversas se realizaron ajustes al protocolo previamente descrito:

- a) En caso de que el paciente no tomara su dosis de leche durante más de 3 días consecutivos: éste debía acudir a consulta para comprobar la tolerancia de esa misma dosis.
- b) En caso de no tolerar la dosis o de presentarse reacciones adversas en algún momento del tratamiento, se ajustó la dosis de leche según los criterios que se especifican seguidamente.

#### ***5.6.3.6.1 RA durante el periodo de incremento rápido de la fase de inicio***

- a) En caso de que la reacción ocurriera el primer día de la pauta rápida: se continuó con el protocolo al siguiente día.

b) En caso de que la reacción ocurriera el segundo día de la pauta rápida: el paciente mantuvo la dosis alcanzada en el primer día en su domicilio, una vez al día, hasta la visita siguiente en 1-2 semanas en que se inició la pauta lenta desde esa dosis.

c) En caso de ausencia de reacción: se continuó con el protocolo.

### **5.6.3.6.2 RA durante el periodo de incremento lento de la fase de inicio y fase de mantenimiento**

**En caso de reacción adversa durante el incremento de dosis realizado en el hospital:**

El ajuste de dosis se basó en la sintomatología presentada por el paciente:

Vómitos:

- Observación en la consulta hasta su control.
- Al día siguiente repetición de la administración de la dosis en la consulta.

Si se repetían los vómitos en la consulta se volvía a la dosis anterior, y si era bien tolerada, se continuaba esta dosis en el domicilio.

Prurito bucal, eritema o urticaria facial peribucal:

- Espera a su resolución espontánea.
- Continuación de la pauta habitual sin modificación.

Rinoconjuntivitis, tos, urticaria generalizada y/o angioedema:

- Administración de tratamiento (Anexo 2).
- Al día siguiente administración de la dosis anterior tolerada en la consulta y en caso de ser bien tolerada, continuación de su administración en el domicilio y a la semana siguiente continuación de la pauta con incrementos semanales (valorando incrementos mas pequeños).

Si presentara dificultad respiratoria con sibilantes o estridor:

- Administrar tratamiento (Anexo 2).
- Al día siguiente administrar la dosis anterior tolerada en la consulta y en caso de ser bien tolerada, continuación de su administración en el domicilio y a la semana siguiente continuación de la pauta con incrementos semanales (valorando incrementos más pequeños).

Si se repetían en dos ocasiones la reacción de urticaria generalizada y/o angioedema y/o dificultad respiratoria con sibilantes o estridor:

- Al día siguiente se administraba la dosis anterior tolerada en la consulta y en caso de buena tolerancia, se continuaba con esta cantidad como dosis de mantenimiento durante al menos un mes para intentar posteriormente un reinicio de la pauta de ascenso.

**En caso de reacción adversa durante las dosis domiciliarias del periodo lento de la fase de inicio o fase de mantenimiento:**

El manejo del paciente, en la mayoría de los casos, podría realizarse en el domicilio, según las instrucciones del cuaderno de ITO (Anexo 3) y/o mediante consulta con nosotros.

En caso de reacción adversa, se realizaron los ajustes de dosis en función de su gravedad, según se ha explicado con anterioridad.

En caso necesario los pacientes eran citados a consulta para revisión y ajuste de dosis, según el protocolo explicado previamente.

El paciente era instruido para **acudir a consulta** en caso de:

- Reacción adversa grave
- Reacciones adversas repetidas. En ellos se valoró el mantenimiento de la dosis tolerada durante 6 meses para, posteriormente, volver a intentar los incrementos de dosis
- Reacciones adversas con dosis previamente toleradas, especialmente cuando se sucedían en ausencia de factor adyuvante. En este caso se valoró un incremento de las dosis más lento del establecido en el protocolo
- Interrupción prolongada del tratamiento

Ante la presencia de reacciones adversas, se valoró la presencia de posibles **factores coadyuvantes**, como son:

- Toma de antiinflamatorios no esteroideos
- Realización de ejercicio físico
- Ayunas
- Baño caliente
- Menstruación
- Estrés

En caso de estar presente alguno de ellos y de ser posible, se recomendó la evitación de su asociación con la toma de la dosis de leche.

Se valoró **la interrupción de la ITO** en caso de:

- Reacción adversa grave: disnea intensa, síntomas de hipotensión (colapso o pérdida de conocimiento)
- Reacciones adversas frecuentes a pesar de disminuir la dosis
- Cuando el paciente diera muestras de cansancio y no fuera fácil su motivación, en caso de reacciones repetidas y/o graves.

En cualquier caso, se intentó mantener una dosis mínima que resultara protectora frente a ingestiones inadvertidas.

En caso de proceso intercurrente o exacerbación de patología previa del paciente, no se modificó la dosis ya tolerada salvo que se hubiera demostrado previamente que era un factor coadyuvante en el paciente. En este caso, se debía disminuir la dosis un escalón, realizándose el incremento de dosis en la siguiente consulta.

En ningún caso se debía incrementar la dosis ante un proceso intercurrente o exacerbación de patología previa.

### **5.6.3.7 Uso de premedicación**

#### **5.6.3.7.1 Corticoide inhalado**

Todos los pacientes asmáticos que se incluyeron en el protocolo de ITO recibieron tratamiento de base.

- En caso de que el paciente no tuviera tratamiento de base previo, se le indicó la administración de fluticasona inhalada a una dosis de 100 mcg/día (o equivalente).
- En caso de que el paciente tuviera tratamiento de base previo, se subió un escalón el tratamiento indicado, según la guía GEMA 2009.

El ajuste del tratamiento bronquial se inició una semana antes del inicio de la ITO y se mantuvo hasta el final de su fase de inicio, para pasar a disminuirlo de manera progresiva en los meses sucesivos durante la fase de mantenimiento. En esta fase, los criterios para la indicación de la medicación bronquial se basaron exclusivamente en su patología respiratoria.

#### **5.6.3.7.2 Antihistamínico**

En caso de que el paciente presentara reacciones adversas subjetivas u objetivas leves (urticaria o angioedema facial), de manera recurrente (presentes >3 días por semana durante > 3 dosis diferentes de leche), se inició tratamiento con cetirizina/levocetirizina vía oral a la dosis adecuada para su peso y edad, 1 dosis c/24h, desde el inicio de la recurrencia de los síntomas hasta alcanzar la dosis de 200 ml o la máxima dosis tolerada por el paciente. Posteriormente se retiró progresivamente en 3-5 días. En caso de recurrir la sintomatología, el paciente permaneció con la mínima dosis eficaz del antihistamínico durante 1 mes, para reiniciar su retirada con posterioridad, manteniendo siempre la dosis de leche.

### 5.6.3.7.3 Omalizumab

#### 5.6.3.7.3.1 Indicación de tratamiento con omalizumab

Se inició tratamiento con Omalizumab en todos los niños mayores de 6 años de edad con APLV de alto riesgo, previa aprobación por la Comisión de farmacia del Hospital Universitario Donostia y previa firma del Consentimiento Informado, aprobado por el Comité de ética de Euskadi (Anexo 7), por parte de los tutores legales del paciente.

Se consideraron **criterios de alto riesgo**:

- IgE específica a leche y/o caseína $\geq$ 50 kU/L
- Sintomatología grave o PEOC positiva grave en el último año (319)
- Sintomatología con mínimas cantidades de leche (trazas) ya fuera de forma espontánea o en la PEOC (respuesta a $<$ 2,5 mL) en el último año

#### 5.6.3.7.3.2 Contraindicación de tratamiento con omalizumab

Se consideraron contraindicaciones para el uso de Omalizumab aquellas que aparecen en la ficha técnica del medicamento y/o la falta de firma del consentimiento informado.

#### 5.6.3.7.3.3 Dosis de omalizumab

La dosis empleada en los pacientes fue aquella dosis indicada para el tratamiento del asma según la ficha técnica del medicamento, en función del peso y los valores de IgE total, hasta un máximo de 0,016 mg/kg/ KU/L de IgE, cada cuatro semanas en dosis única mensual o en dos dosis cada dos semanas, vía subcutánea en brazo/s.

#### 5.6.3.7.3.4 Pauta de Omalizumab

El paciente inició el tratamiento con Omalizumab al menos 70 días antes de iniciar la ITO, con el fin de obtener el efecto máximo de reducción de la IgE libre (siete días), receptores de alta afinidad de basófilos (siete días) y de mastocitos (70 días) (413).

Al alcanzar la dosis de mantenimiento de leche (200 ml o, en su defecto, la máxima dosis tolerada), se modificó tanto la periodicidad como la dosis hasta alcanzar todos los pacientes una dosis máxima de 300 mg/mes:

- Los pacientes que precisaron dosis quincenal de Omalizumab, pasaron a una dosis cada tres semanas y posteriormente, a una dosis cada mes.
- Los pacientes con dosis superiores a 300 mg, fueron disminuyendo la misma en cada administración, hasta alcanzar dicha dosis.

A los seis meses de la fase de mantenimiento de ITO con buena tolerancia, se redujo la dosis de Omalizumab cada dos meses hasta su suspensión (dosis bimensuales: 300 mg, 150 mg, 75 mg y suspensión).

En aquellos pacientes en los que al reducir la dosis de omalizumab en la fase de mantenimiento reiniciaron síntomas con la leche, mantuvieron la mínima dosis eficaz de Omalizumab para volver a intentar su descenso seis meses más tarde.

En el caso de que a los dos años y medio de iniciar la fase de mantenimiento de la ITO no se hubiera conseguido la suspensión del medicamento, se planteará la suspensión de ITO y Xolair, valorando el riesgo individual de recurrencia de anafilaxia grave.

### **5.6.3.8 Instrucciones en la dieta durante la ITO**

Los pacientes fueron instruidos para continuar con la misma dieta de evitación de leche que venían realizando hasta la fecha de inicio del tratamiento.

Al finalizar el periodo rápido de la fase de inicio en la que se alcanzaban 2.5 ml de leche, al paciente se le indicaba alimentos con etiquetado cauteloso de leche (tipo “puede contener trazas de leche” o similar).

Cuando el paciente alcanzaba los 50 ml de leche, se le permitía la ingesta de todo tipo de productos manufacturados que contenían leche de vaca en su composición.

Al finalizar la fase de mantenimiento y alcanzar la dosis de 200 ml, el paciente era instruido para poder comer todo tipo de productos lácteos derivados de leche de vaca, siempre y cuando no fueran de manera consecutiva a la toma de sus dosis de leche, para evitar el efecto sumatorio. Por otro lado, la toma de estos lácteos se permitía con las mismas condiciones que la leche fresca, esto es, en ausencia de ayunas, ejercicio físico o toma de AINEs, ni una hora antes ni 3 horas después de la ingesta del mismo. La ingesta de productos elaborados con leche, sin ser productos lácteos en sí mismo, se permitía libremente.

En caso de comprobarse mediante la PEOC con cuajada de oveja una buena tolerancia a ella, se permitió la administración de lácteos derivados de todo tipo de mamíferos. En caso contrario, sólo se permitió la ingesta de productos derivados de la leche de vaca, en las condiciones previamente descritas.

## **5.7 VARIABLES REGISTRADAS**

La recogida de los datos se realizó de manera prospectiva. Todos estos datos se recogieron en un formulario que posteriormente fue volcado en una base SPSS 20, donde se realizaron los análisis estadísticos.

Las variables recogidas en este proyecto de investigación se detallan en el Anexo 8 y se

resumen a continuación.

Las variables recogidas atendieron a diferentes aspectos:

- **Cuaderno de recogida de datos:** se realizó en el momento del reclutamiento e incluyó datos demográficos, antecedentes tanto personales como familiares de atopia y características clínicas al diagnóstico y durante potenciales transgresiones en la ingesta de alimentos con proteínas de leche.
- **Exploraciones complementarias:** con el registro tanto del resultado de las pruebas cutáneas como de las pruebas *in vitro* (IgE total, IgG total, IgE e IgG4 específicas, triptasa y TAB), realizadas en todos los tiempos del estudio (T0 hasta T4).
- **Exploraciones complementarias (PEOC):** se incluyeron datos de las PEOC tanto con leche de vaca como con leche de oveja.
- **Inmunoterapia oral con leche:** registrándose datos de tolerancia, reacciones adversas y tratamientos precisados.

## 5.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó inicialmente un análisis descriptivo para control de calidad de los datos, es decir, para comprobar que todos los datos tenían valores dentro del rango esperable, y la no existencia de inconsistencias lógicas entre variables, ni datos imposibles. En caso de existir alguno de estos se procedió a corregir la información registrada en la base de datos cotejando la información con la de la historia clínica.

Con la base de datos depurada en primer lugar se analizaron las variables continuas mediante el test de bondad de ajuste de Kolmogorov-Sminov, para determinar si su distribución se ajustaba a la normal. Se describieron las variables mediante el estadístico más apropiado a la naturaleza y escala de medida de cada una: mediana y rango intercuartílico para variables continuas no paramétricas y frecuencias absolutas o frecuencias relativas en porcentaje para variables categóricas.

Se compararon, por una parte los niños con tolerancia adquirida espontáneamente vs niños con reactividad clínica y, por otra, los niños con buena evolución vs con mala evolución durante la ITO por razón de seguridad. Para estas comparaciones se realizó el test de Ji cuadrado y el test exacto de Fisher para comparar la distribución de las variables cualitativas y la U de Mann Whitney para variables continuas no paramétricas.

Los cambios de las variables cuantitativas no paramétricas en los distintos tiempos de estudio se analizaron mediante Anova de 2 vías de Friedman para comparaciones múltiples de datos independientes.

Se calculó la curva ROC y el área bajo la curva (ABC) del TAB y del resto de exploraciones complementarias con el fin de evaluar su capacidad discriminante entre niños tolerantes y

reactivos por una parte y entre niños con buena y mala evolución. Tanto para el TAB como para el resto de exploraciones complementarias se obtuvieron el punto de corte con especificidad del 95% y se calcularon la sensibilidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) correspondientes al punto de corte

## **5.9 CONSIDERACIONES ÉTICAS**

Este proyecto de investigación fue llevado a cabo siguiendo rigurosamente las recomendaciones éticas internacionales para la investigación y ensayos clínicos en humanos recogidas en la Declaración de Helsinki de 1964 y sus sucesivas actualizaciones, las recomendaciones del Ministerio de Sanidad en materia de ensayos clínicos (RD223/2004) y las directrices establecidas en la Ley de Investigación Biomédica (Ley 14/2007).

El protocolo del estudio, incluyendo las versiones finales de las hojas de información para el paciente y los formularios utilizados para los consentimientos informados (Anexos 1, 5, 6 y 7), fue aprobado por escrito por el Comité Ético de Investigación Clínica de Euskadi antes de incluir ningún paciente en el mismo.

Cada paciente fue identificado en el CRD con un número de identificación, sexo y edad. Todos los datos recogidos en la base de datos y procesados se identificaron con el número del paciente, de forma que no permita su identificación directa. La historia clínica del sujeto del estudio será custodiada conforme al período máximo permitido por el hospital.

Los CRDs y otros documentos del estudio están a disposición de las Autoridades Sanitarias, si éstas lo consideran relevante. Los CRD no estarán en ningún caso disponibles a terceros.



## 6. RESULTADOS

---



## 6. RESULTADOS

Los datos individuales de cada paciente se detallan en el Anexo 9.

### 6.1 VALORACIÓN BASAL SEGÚN TOLERANCIA O REACTIVIDAD CLÍNICA A LECHE

Para la realización de este estudio se seleccionaron todos aquellos pacientes mayores de tres años y menores de 18 años de edad, diagnosticados previamente de APLV IgE mediada (en nuestro hospital o fuera de él) y que durante tres años (2013-2016) acudieron consecutivamente a consulta de Alergología Infantil para valoración de su patología. El número total de pacientes incluidos fue de 104.

De estos 104 pacientes, se realizó una prueba de exposición oral controlada con leche en 54 pacientes, por presentar valores de IgE específica inferiores al punto de corte especificado en el apartado 5.6.2.2.3 e independientemente del resultado de los parámetros clínicos, las pruebas cutáneas y del resto de determinaciones *in vitro*.

La prueba resultó negativa en 34 pacientes, confirmándose la buena tolerancia a leche un mes más tarde y dándose el diagnóstico de APLV superada en todos ellos excepto en uno (paciente 56), que presentó síntomas digestivos durante la introducción de la leche en el domicilio a lo largo de la semana siguiente a la realización de la PEOC, considerándose por lo tanto la prueba positiva.

No superaron, por lo tanto, la PEOC 21 niños, 20 por reacciones desde el inicio y el paciente que presentó síntomas en su domicilio con posterioridad a la realización de la prueba. A todos estos pacientes se les ofreció tratamiento con ITO desde la última dosis tolerada en esta prueba, aceptando todos ellos dicho procedimiento.

No se realizó PEOC en 49 pacientes, por presentar valores de IgE específica por encima del punto de corte determinado al inicio del estudio (apartado 5.6.2.2.3). A todos ellos se les ofreció la realización de ITO, siendo el tratamiento aceptado por su totalidad. Un paciente adicional (el número 92) no realizó la PEOC dado que abandonó el estudio de forma previa a su realización.

Con estos resultados, se clasificaron los pacientes en tolerantes y reactivos frente a PLV. Se consideraron pertenecientes al primer grupo aquellos niños que superaron la PEOC (33 pacientes). Dentro del grupo de pacientes reactivos a PLV se incluyeron aquellos con PEOC positivas (21 pacientes) y, de los pacientes que iniciaron ITO sin PEOC previa, sólo aquellos con reacciones adversas subjetivas repetidas u objetivas durante la ITO (42 pacientes), por tratarse de pacientes en los que no existía duda de la persistencia en la reactividad clínica frente a la leche. En total fueron 33 pacientes tolerantes y 63 pacientes reactivos. Los 7 pacientes restantes, que no siguieron la PEOC y no presentaron síntoma alguno durante la ITO, no se incluyeron en ninguno de los grupos, por no poder confirmarse la persistencia de reactividad clínica a leche.

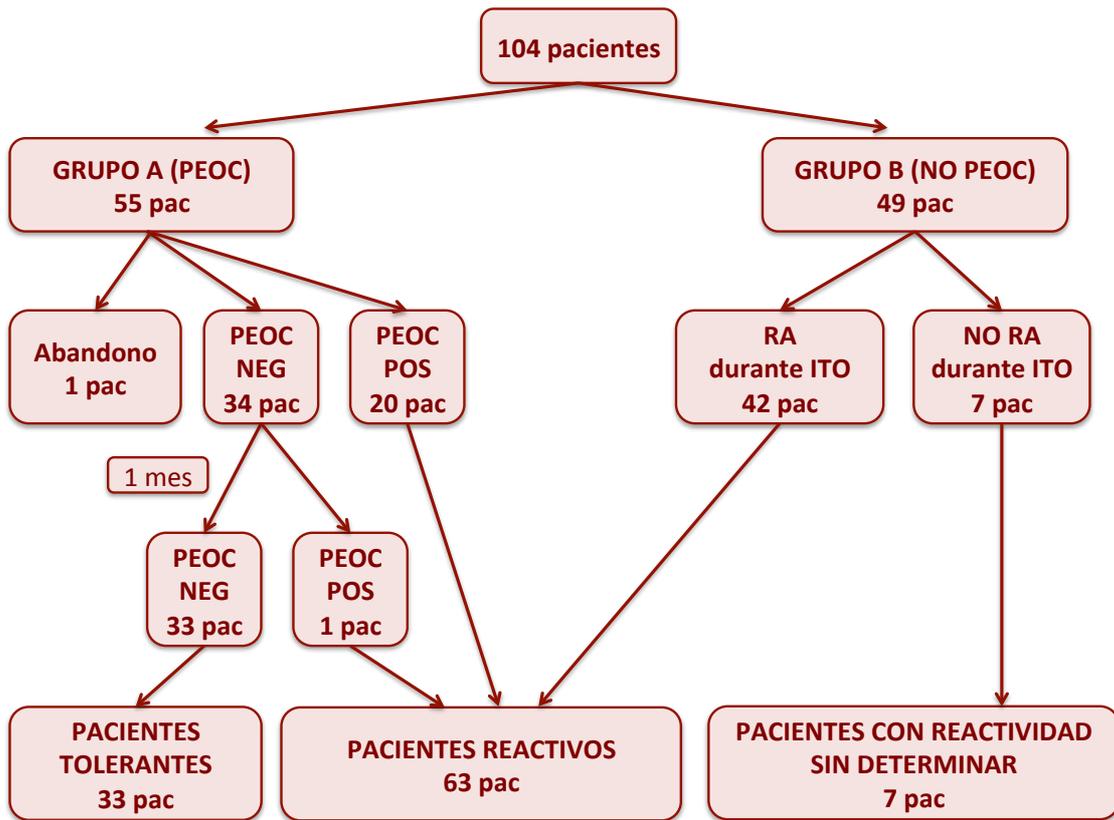


Fig 14. Esquema de los pacientes incluidos en el estudio.

A continuación detallo en la siguiente tabla el número de pacientes tolerantes y reactivos y, en éstos últimos, aquellos síntomas por los que fueron incluidos en este grupo, describiendo el más grave de ellos.

Tabla 13: Pacientes tolerantes y reactivos y sus síntomas.

SÍNTOMAS	Tolerantes (N)	Reactivos	
		PEOC + (N)	PEOC NR & RA ITO (N)
Asintomático	33		
SAO-U facial		6	6
U-AE sistémicos		5	3
St. Digestivos		7	8
St. VRS		1	5
St. VRI		2	3
Anafilaxia		0	14
SUBTOTAL		21	42
TOTAL	33	63	

N: número de pacientes; PEOC +: Prueba de exposición oral controlada positiva; PEOC NR & RA ITO: PEOC no realizada y reacción adversa más grave en ITO; SAO: síndrome de alergia oral; U: urticaria; AE: angioedema; St: síntomas; VRS: vía respiratoria superior; VRI: vía respiratoria inferior.

### 6.1.1 Parámetros clínicos y demográficos de los pacientes en la valoración basal (T0) según tolerancia o reactividad

Existe una homogeneidad entre los grupos de pacientes tolerantes y reactivos en cuanto a sexo y antecedentes familiares. Sin embargo, observamos una mayor edad de inclusión en el estudio en aquellos pacientes reactivos, así como diferente distribución de antecedentes personales, con predominio de dermatitis atópica en el grupo de tolerantes y de alergia alimentaria y alergia respiratoria, tanto en forma de rinitis como de asma bronquial en el grupo de reactivos.

Tabla 14: Datos demográficos de los pacientes tolerantes y reactivos.

DATOS DEMOGRÁFICOS	TOLERANTES N=33	REACTIVOS N=63	P
<b>EDAD inclusión (meses)</b> Mediana (ric)	42 (38-48)	53 (41-87)	0,002
<b>SEXO (V) n (%)</b>	17 (52%)	41 (65%)	ns
<b>AF de primer grado (sí) n (%)</b>	18 (55%)	35 (56%)	ns
<b>AP</b>			0.001
DA n (%)	25 (76%)	32 (51%)	
AA n (%)	12 (36%)	39 (62%)	
RC n (%)	6 (18%)	34 (54%)	
AB n (%)	10 (30%)	34 (54%)	

N/n: número de pacientes; ric: rango intercuartílico; V: varón; AF: antecedentes familiares; AP: antecedentes personales; DA: dermatitis atópica; AA: Alergia alimentaria; RC: Rinoconjuntivitis; AB: Asma bronquial; ns: no significativo.

En cuanto a los datos demográficos y clínicos correspondientes al momento del diagnóstico (edad, tipo de reacción adversa acontecida y transgresiones accidentales sufridas), observamos que no existe ninguna diferencia entre los grupos de pacientes, tolerantes y reactivos, tal y como se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 15: Datos al diagnóstico de los pacientes tolerantes y reactivos.

DATOS RA	TOLERANTES N=33	REACTIVOS N=63	P
EDAD al DX (meses) (mediana/ric)	5 (4-7,5)	5 (4-7,0)	ns
RA al DX			ns
SAO-U FACIAL n (%)	14 (42%)	18 (29%)	
U-AE SISTÉMICO n (%)	6 (18%)	16 (25%)	
St. DIGESTIVOS n (%)	3 (9%)	7 (11%)	
St.VRS n (%)	0	0	
St.VRI n (%)	0	1 (2%)	
ANAFILAXIA n (%)	10 (30%)	21 (33%)	
<b>TRANSGRESIONES</b>			ns
POSITIVA n (%)	14 (42%)	33 (57%)	
NEGATIVA n (%)	1 (3%)	1 (2%)	
AUSENTES n (%)	18 (55%)	26 (41%)	

N/n: Número de pacientes; ric: rango intercuartílico; RA: Reacción adversa; DX: diagnóstico; SAO: síndrome de alergia oral; U: urticaria; AE: angioedema; St: síntomas; VRS: vía respiratoria superior; VRI: vía respiratoria inferior; ns: no significativo.

El diagnóstico de APLV fue realizado en su mayoría en las consultas de atención primaria (57 niños correspondientes al 55% de los pacientes), seguidos del servicio de urgencias hospitalario (31 pacientes (30%)) y el menor porcentaje (16 pacientes (15%)) en la consulta de alergología.

En cuanto al tratamiento agudo de la(s) reacción(es) previa(s) al diagnóstico, observamos que sólo el 22% de los pacientes (23 niños) recibieron tratamiento al diagnóstico.

Preguntando por el tratamiento a largo plazo, únicamente al 22% de los pacientes se

les había prescrito un fármaco de rescate. Sin embargo, la dieta de evitación no fue completamente eficaz en el 63% de ellos (58 niños) ya que presentaron transgresiones, resultando positivas el 97% de ellas. Éstas ocurrieron en su mayoría en el domicilio (63%, 31 niños), seguidas del centro escolar (20%).

### 6.1.2 Pruebas diagnósticas en la valoración basal según tolerancia o reactividad

En los resultados de las pruebas intraepidérmicas se observaron diferencias significativas entre los grupos de tolerantes y reactivos para los resultados obtenidos con todos los extractos, siendo mayores en los niños del grupo de reactivos.

#### 6.1.2.1 Pruebas *in vivo* según tolerancia o reactividad

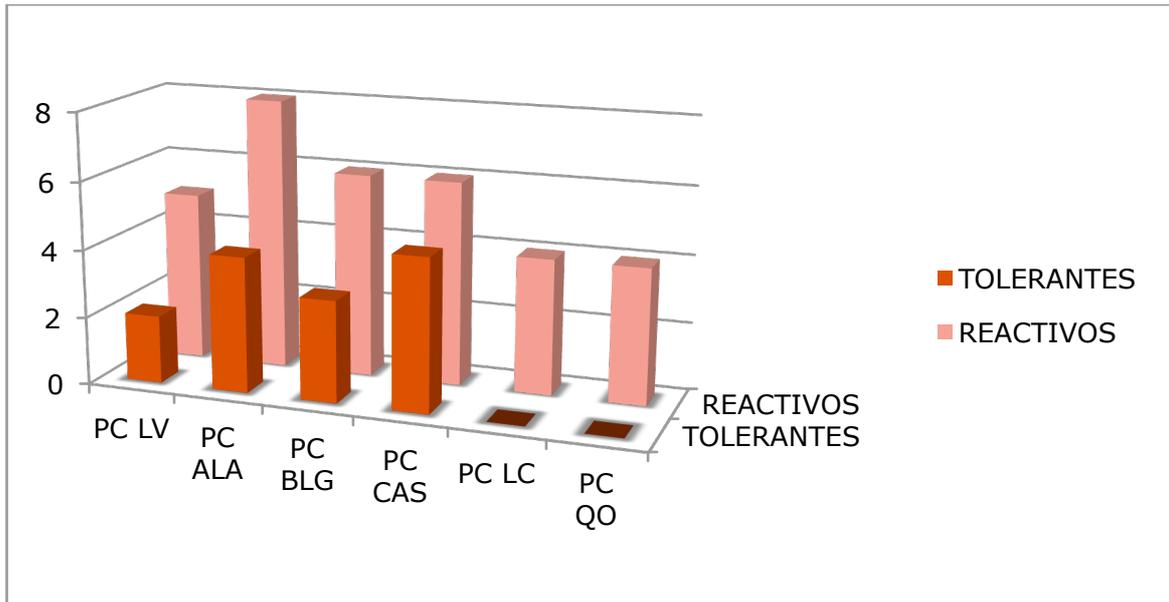
Todas las pruebas intraepidérmicas tienen un diámetro significativamente mayor en los pacientes reactivos que en los tolerantes, a excepción de aquella realizada con la leche hidrolizada, ya que el valor de la mediana es de cero para ambos grupos.

Tabla 16: Pruebas intraepidérmicas de los pacientes en base a la reactividad clínica.

Prueba intraepidérmica (mm) Mediana (ric)	TOLERANTES N=33	REACTIVOS N=63	P
LV	2 (0,0-4,0)	5 (3,0-6,5)	<0,001
ALA	4 (0,0-6,0)	8 (5,5-10,0)	<0,001
BLG	3 (0,0-5,5)	6 (4,0-8,0)	<0,001
CAS	3 (0,0-5,0)	6.5 (4,0-9,0)	<0,001
LC	0 (0,0-3,0)	4.5 (2,5-6,0)	<0,001
QO	0 (0,0-1,3)	4 (2,0-6,0)	<0,001
LHZDA	0 (0,0-0,0)	0 (0,0-0,0)	0,004

mm: milímetros; ric: rango intercuartílico; N: número de pacientes; LV: leche de vaca; ALA: alfa lactoalbúmina; BLG: betalactoglobulina; CAS: caseína; LC: leche de cabra; QO: queso de oveja; LHZDA: leche hidrolizada.

Gráf. 1: Pruebas intraepidérmicas de los pacientes en base a la reactividad clínica.



PC: pruebas cutáneas; LV: leche de vaca; ALA: alfa lactoalbúmina; BLG: betalactoglobulina; CAS: caseína; LC: leche de cabra; QO: queso de oveja; LHZDA: leche hidrolizada.

### 6.1.2.2 Pruebas *in vitro* según tolerancia o reactividad

Todas las determinaciones basales de triptasa estuvieron en el rango de la normalidad (0-11,4 µg/L).

#### 6.1.2.2.1 Test de activación de basófilos

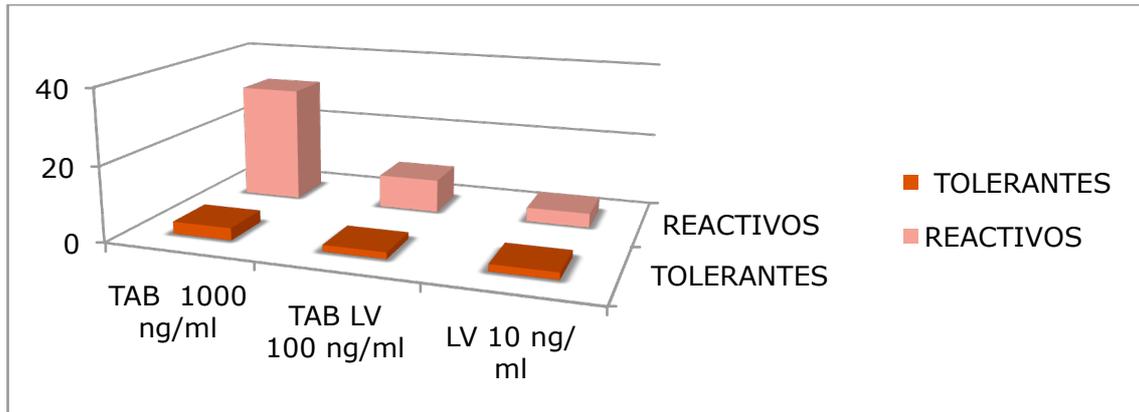
El resultado de la activación de basófilos con leche de vaca en cualquiera de las concentraciones testadas (1.000, 100 y 10 ng/ml) fue significativamente mayor en los pacientes reactivos.

Tabla 17: TAB de los pacientes en base a la reactividad clínica.

TAB (% activación)	TOLERANTES N=33	REACTIVOS N=63	P
LV 1000 ng/ml	3,25 (1,87-17,50)	31,42 (5,30-63,00)	<0,001
LV 100 ng/ml	1,73 (1,15-5,41)	9,00 (2,52-39,00)	<0,001
LV 10 ng/ml	1,85 (1,09-3,62)	3,81 (1,17-14,14)	0,005

TAB: test de activación de basófilos; N: Número de pacientes; LV: leche de vaca; ng/ml: nanogramos por mililitro.

Gráf. 2: TAB de los pacientes en base a la reactividad clínica.



TAB: test de activación de basófilos; LV: leche de vaca; ng/ml: nanogramos por mililitro.

#### 6.1.2.2.2 Niveles de IgE e IgG4 totales y específicas a leche y sus proteínas

Los niveles tanto de IgE total como los de IgE específicas frente a leche y sus proteínas, fueron significativamente mayores en el grupo de niños reactivos en T0 que los tolerantes en ese momento. Igualmente los cocientes entre cada una de las IgE específicas y la IgE total, fueron significativamente superiores en el grupo de reactivos.

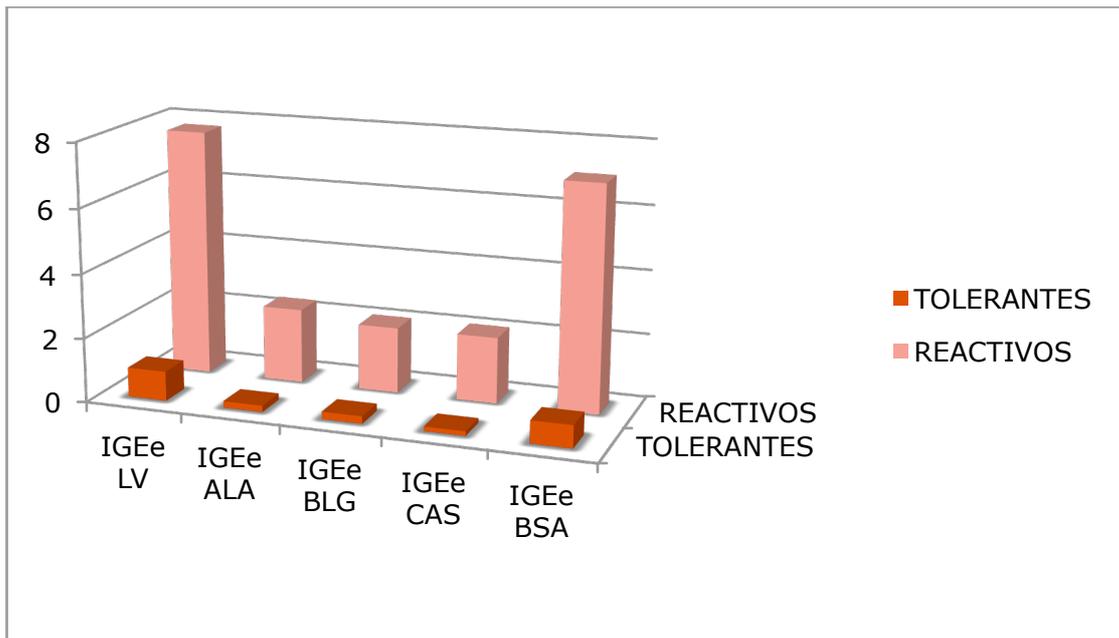
Tabla 18: IgE total y específicas y cocientes IgEe/IgEt de los pacientes en base a la reactividad clínica.

IGE (KU/L) Y COCIENTES IGEe/IGET Mediana (ric)	TOLERANTES N=33	REACTIVOS N=63	P
IGET	121 (50,65-371,50)	316,5 (70,68-733)	0,019
IGEe LV	0,92 (0,33-1,78)	7,71 (2,90-21,33)	<0,001
IGEe ALA	0,20 (0,00-0,78)	2,33 (0,52-6,07)	<0,001
IGEe BLG	0,23 (0,60-0,53)	2,05 (0,54-4,58)	<0,001
IGEe CAS	0,14 (0,00-0,85)	2,06 (0,54-12,70)	<0,001
IGEe BSA	0,70 (0,29-1,77)	7,02 (2,98-19,4)	<0,001
IGEe LC	0,45 (0,16-1,18)	5,90 (1,66-14,15)	<0,001
IGEe LO	0,33 (0,17-1,18)	4,81 (1,67-14,75)	<0,001
IGEe LH	0,34 (0,12-1,17)	5,27 (1,58-17,6)	<0,001

IGEe LV/IGET	0,01 (0,00-0,02)	0,03 (0,01-0,09)	<0,001
IGEe ALA/IGET	0,00 (0,00-0,01)	0,01 (0,00-0,02)	0,003
IGEe BLG/IGET	0,00 (0,00-0,00)	0,01 (0,00-0,02)	0,003
IGEe CAS/IGET	0,00 (0,00-0,00)	0,01 (0,00-0,04)	<0,001
IGEe BSA/IGET	0,01 (0,00-0,02)	0,02 (0,01-0,08)	<0,001
IGEe LC/IGET	0,00 (0,00-0,01)	0,02 (0,01-0,05)	<0,001
IGEe LO/IGET	0,00 (0,00-0,01)	0,02 (0,01-0,05)	<0,001
IGEe LH/IGET	0,00 (0,00-0,01)	0,02 (0,01-0,06)	<0,001

N: Número de pacientes; kU/L: kilounidades por litro; ric: rango intercuartílico; IGEe: IgE específica; IGET: IgE total; LV: leche de vaca; ALA: alfactoalbúmina; BLG: betalactoglobulina; CAS: caseína; BSA: albúmina sérica bovina; LC: leche de cabra; LO: leche de oveja; LH: leche hervida.

Gráf. 3: IgE específicas de los pacientes en base a la reactividad clínica.



IGEe: IgE específica; IGET: IgE total; LV: leche de vaca; ALA: alfactoalbúmina; BLG: betalactoglobulina; CAS: caseína; BSA: albúmina sérica bovina; LC: leche de cabra; LO: leche de oveja; LH: leche hervida.

Sin embargo, ni los valores de IgG4 total ni específicas frente a leche y sus proteínas, ni los cocientes entre éstas y la IgG4 específicas, mostraron diferencias significativas entre ambos grupos, salvo para las IgG4 específicas frente a caseína y leche hervida, que fueron significativamente más altos en el grupo de pacientes reactivos.

Tabla 19: IgG4 total y específicas y cocientes IgG4e/IgG4 T de los pacientes en base a la reactividad clínica.

IGG4 (MG/ML) COCIENTES IGG4e/IGG4 T Mediana (ric)	TOLERANTES N=33	REACTIVOS N=63	P
IGG4 T	0,15 (0,07-0,28)	0,16 (0,08-0,30)	ns
IGG4e ALA	0,19 (0,00-1,05)	0,51 (0,11-2,13)	ns
IGG4e BLG	0,62 (0,00-2,33)	0,40 (0,14-1,61)	ns
IGG4e CAS	0,61 (0,20-1,42)	1,15 (0,35-2,80)	0,04
IGG4e BSA	4,98 (1,73-10,81)	6,53 (2,22-13,15)	ns
IGG4e LC	2,31 (0,49-3,65)	2,78 (0,94-5,53)	ns
IGG4e LO	1,25 (0,46-3,38)	1,90 (0,90-5,18)	ns
IGG4e LH	0,35 (0,05-1,67)	1,14 (0,29-4,15)	0,037
IGG4e ALA/IGG4 T	1,35 (0,00-13,54)	2,41 (0,07-7,19)	ns
IGG4 BLG/IGG4 T	2,66 (0,00-15,18)	2,81 (0,57-6,54)	ns
IGG4e CAS/IGG4 T	5,48 (2,00-12,09)	6,50 (2,91-17,30)	ns
IGG4e BSA/IGG4 T	36,00 (13,95-80,00)	27,40 (13,80-86,93)	ns
IGG4e LC/IGG4 T	12,58 (4,89-40,97)	13,17 (7,22-39,00)	ns
IGG4e LO/IGG4 T	7,34 (3,97-22,73)	9,87 (6,01-24,40)	ns
IGG4e LH/IGG4 T	3,93 (0,00-17,27)	6,00 (2,39-20,00)	ns

N: Número de pacientes; MG/ML: miligramos por mililitro; ric: rango intercuartílico; IGG4e: IgG 4 específica; IGG4 T: IgG4 total; LV: leche de vaca; ALA: alfa lactoalbúmina; BLG: betalactoglobulina; CAS: caseína; BSA: albúmina sérica bovina; LC: leche de cabra; LO: leche de oveja; LH: leche hervida, ns: no significativo.

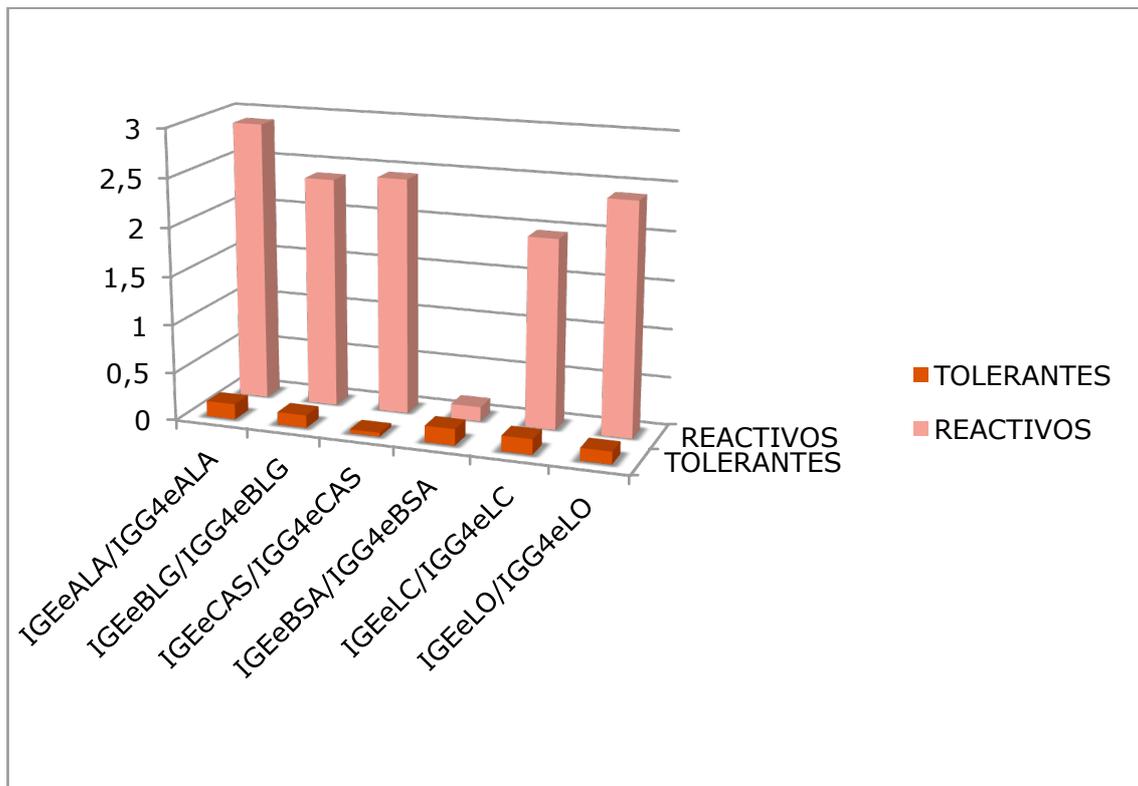
Por otro lado, todos los cocientes entre las IgE específicas frente a las proteínas de leche de vaca, leche de cabra, de oveja y BSA y sus correspondientes IgG4 específicas, mostraron significación en sus diferencias entre los grupos tolerantes y reactivos, siendo mayores en estos últimos.

Tabla 20: Cocientes IgEe/IgG4e de los pacientes en base a la reactividad clínica.

COCIENTE IGEe/IGGe	TOLERANTES	REACTIVOS	P
Mediana (ric)	N=33	N=63	
IGEe ALA/IGG4e ALA	0,16 (0,00-0,69)	2,90 (0,91-15,33)	<0,001
IGEe BLG/IGG4e BLG	0,13 (0,01-0,33)	2,38 (0,91-9,19)	<0,001
IGEe CAS/IGG4e CAS	0,04 (0,00-0,37)	2,44 (0,65-7,44)	<0,001
IGEe BSA/IGG4e BSA	0,17 (0,06-0,66)	1,15 (0,60-2,57)	<0,001
IGEe LC/IGG4e LC	0,16 (0,06-0,51)	1,96 (0,72-7,58)	<0,001
IGEe LO/IGG4e LO	0,13 (0,03-0,76)	2,40 (0,88-6,22)	<0,001
IGEe LH/IGG4e LH	0,29 (0,01-1,03)	3,12 (1,00-20,00)	<0,001

N: Número de pacientes; ric: rango intercuartílico; IGEe : IgE específica; IGG4e: IgG4 específica; LV: leche de vaca; ALA: alfa lactoalbúmina; BLG: betalactoglobulina; CAS: caseína; BSA: albúmina sérica bovina; LC: leche de cabra; LO: leche de oveja; LH: leche hervida.

Gráf. 4: Cocientes IgEe/IgG4e de los pacientes en base a la reactividad clínica.



IGEe : IgE específica; IGG4e: IgG4 específica; LV: leche de vaca; ALA: alfa lactoalbúmina; BLG: betalactoglobulina; CAS: caseína; BSA: albúmina sérica bovina; LC: leche de cabra; LO: leche de oveja; LH: leche hervida.

### 6.1.3 Curvas ROC de parámetros basales en relación a la tolerancia o reactividad clínica

A continuación se detallarán las áreas bajo la curva de las curvas ROC y se establecerán, para las distintas exploraciones complementarias tanto *in vivo* como *in vitro*, los puntos de corte que proporcionan una especificidad para reactividad clínica del 95%. Se detallan también la sensibilidad correspondiente a cada uno de estos puntos de corte y sus valores predictivos positivo y negativo.

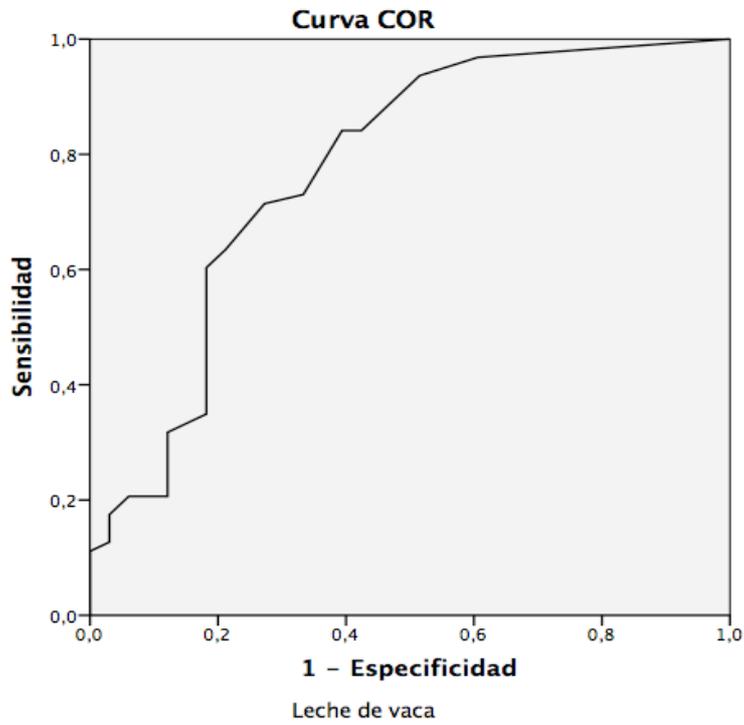
#### 6.1.3.1 Curvas ROC de pruebas *in vivo* basales en relación a la tolerancia o reactividad clínica

Tabla 21: Curvas ROC de las pruebas intraepidérmicas de los pacientes en base a la tolerancia o reactividad clínica.

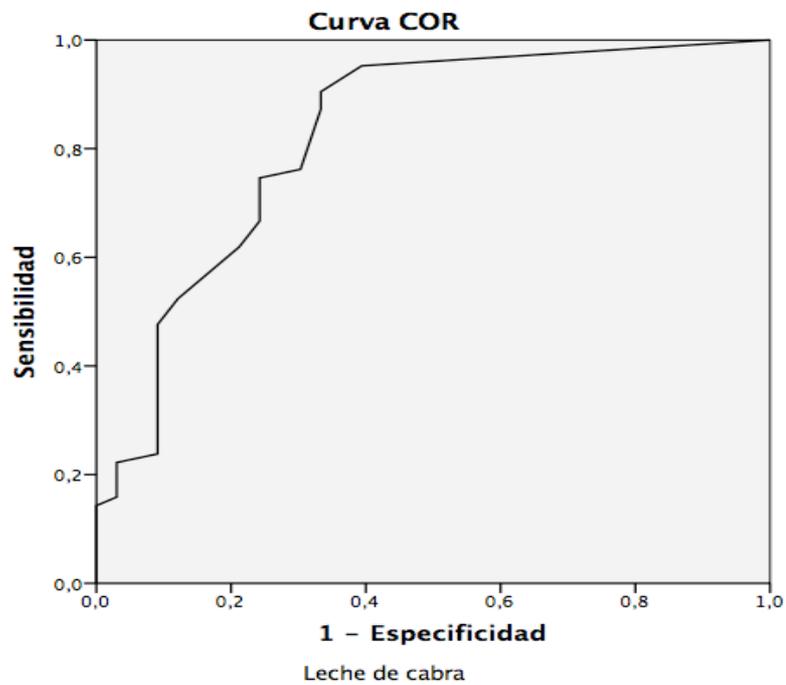
Prueba intraepidérmica	N	ABC	IC 95%	Pto corte E (95%) (mm)	S (%)	VPP (%)	VPN (%)	P
LV	96	0,77	0,67-0,88	8	19	87	38	<0,001
ALA	96	0,78	0,67-0,88	11	13	82	36	<0,001
BLG	96	0,77	0,67-0,87	8	24	90	41	<0,001
CAS	96	0,77	0,66-0,87	9,5	24	88	38	<0,001
LC	96	0,82	0,73-0,92	6,5	23	83	38	<0,001
QO	96	0,91	0,86-0,97	3	68	96	63	<0,001
LHZDA	94	0,61	0,50-0,73	-	-			ns

N: número de pacientes; ABC: área bajo la curva; IC 95%: intervalo de confianza al 95%; Pto corte: punto de corte; E 95%: especificidad del 95%; S: sensibilidad correspondiente al punto de corte; VPP: Valor predictivo positivo correspondiente al punto de corte; VPN: Valor predictivo negativo correspondiente al punto de corte; LV: leche de vaca; ALA: alfa lactoalbúmina; BLG: beta lactoglobulina; CAS: caseína; LC: leche de cabra; QO: queso de oveja; LHZDA: leche hidrolizada, ns: no significativo.

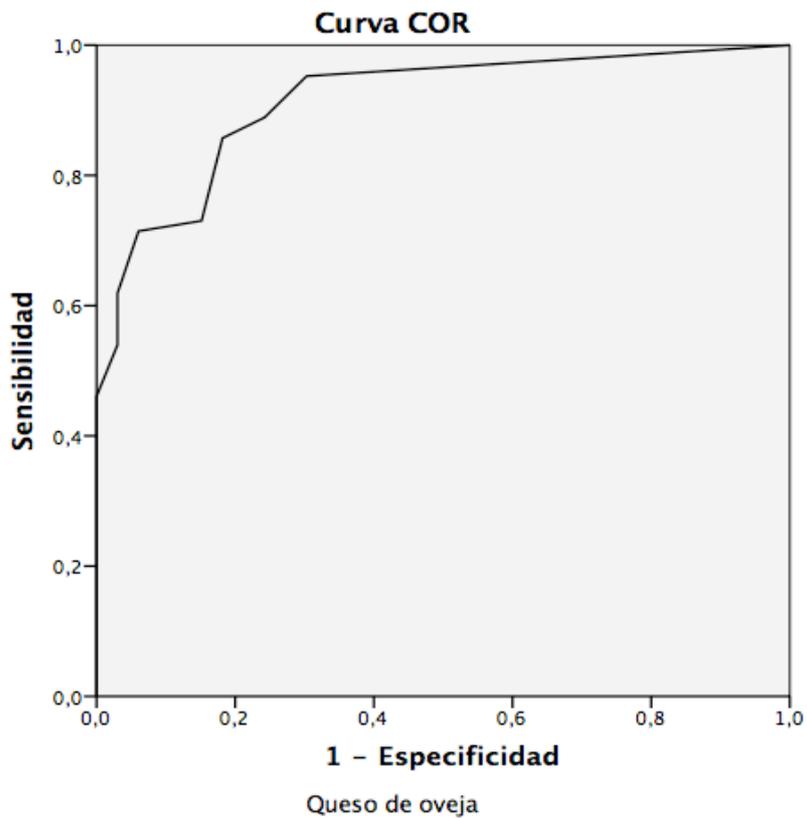
A continuación se muestran las curvas ROC para las pruebas intraepidérmicas con leche de vaca, cabra y oveja:



Gráf. 5: Curva ROC para la prueba intraepidérmica con leche de vaca.



Gráf. 6: Curva ROC para la prueba intraepidérmica con leche de cabra.



Gráf. 7: Curva ROC para la prueba intraepidérmica con queso de oveja.

### 6.1.3.2 Curvas ROC de pruebas *in vitro* basales en relación a la tolerancia o reactividad clínica

#### 6.1.3.2.1 Curvas ROC del Test de activación de basófilos por leche de vaca en relación a la tolerancia o reactividad clínica

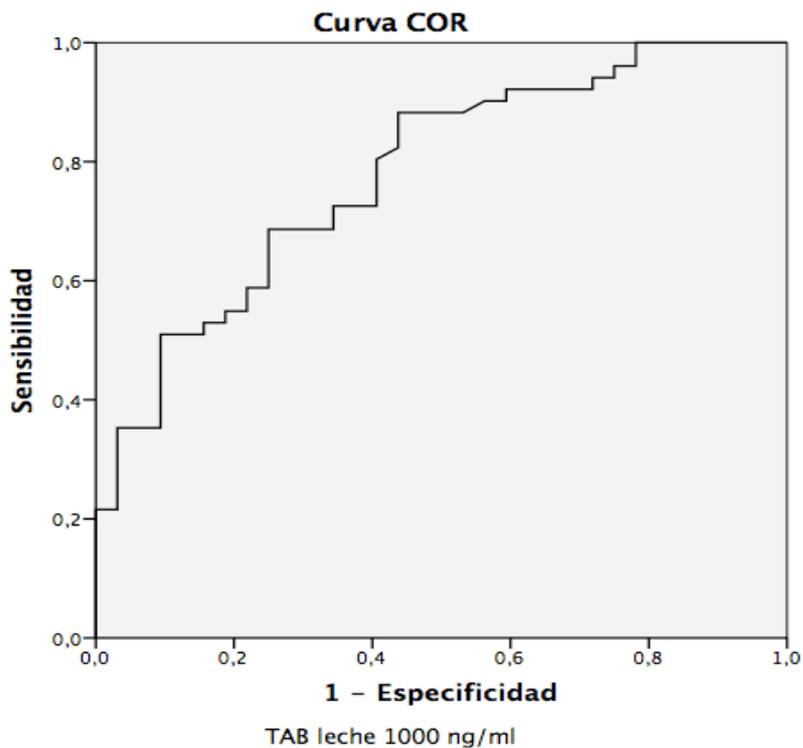
La siguiente tabla muestra el área bajo la curva y su intervalo de confianza al 95% del porcentaje de activación de basófilos por estímulo con cada una de las tres concentraciones de leche probadas (1.000, 100 y 10 ng/ml), así como el punto de corte para cada una de ellas con el que la técnica ofrece en 95% de especificidad para identificar a los pacientes con reactividad clínica, la sensibilidad que corresponde a ese punto de corte y sus valores predictivos positivo y negativo.

Tabla 22: Curva ROC para los resultados del TAB en base a la tolerancia o reactividad clínica.

TAB (% activación)	N	ABC	IC 95%	Pto corte E 95%	S (%)	VPP (%)	VPN (%)	P
LV 1000 ng/ml	83	0,78	0,68-0,88	48	35	90	48	<0,001
LV 100 ng/ml	83	0,77	0,67-0,87	38	28	88	45	<0,001
LV 10 ng/ml	83	0,68	0,57-0,80	13	26	87	44	0,005

TAB: test de activación de basófilos; N: número de paciente; ABC: área bajo la curva; IC 95%: intervalo de confianza al 95%; E 95%: especificidad del 95%; S: sensibilidad; VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo; LV: leche de vaca; ng/ml: nanogramos por mililitro.

A continuación se muestra la curva ROC del TAB con leche a 1.000 ng/ml, que fue la de mayor área bajo la curva:



Gráf. 8: Curva ROC para el TAB enfrentado a leche a 1.000 ng/mL.

**6.1.3.2.2 Curvas ROC de IgE total e IgE específica frente a leche y sus proteínas en relación a la tolerancia o reactividad clínica**

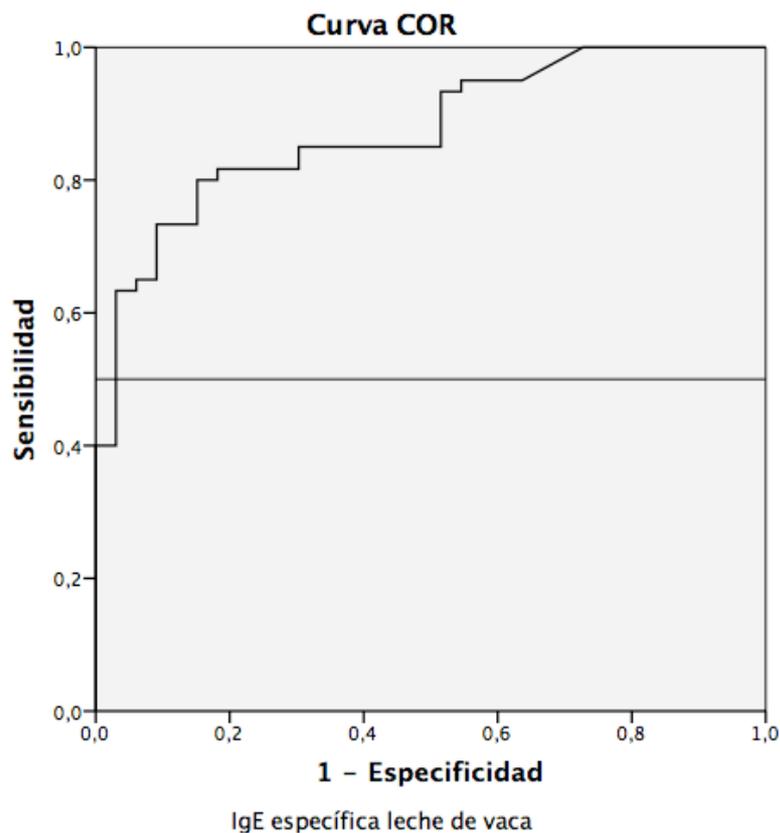
Tabla 23: Curvas ROC de IgE total y específicas y cocientes IgEe/IgEt en base a la tolerancia o reactividad clínica.

<b>IGE (KU/L) Y COCIENTES IGEe/IGET</b>	<b>N</b>	<b>ABC</b>	<b>IC 95%</b>	<b>Pto corte E 95%</b>	<b>S (%)</b>	<b>VPP (%)</b>	<b>VPN (%)</b>	<b>P</b>
<b>IGET</b>	95	0,65	0,53-0,76	1170	18	NC	NC	0,019
<b>IGEe LV</b>	93	0,88	0,81-0,94	3,9	63	97	59	<0,001
<b>IGEe ALA</b>	96	0,78	0,69-0,87	3,5	37	92	44	<0,001
<b>IGEe BLG</b>	96	0,81	0,72-0,90	1,5	54	94	52	<0,001
<b>IGEe CAS</b>	96	0,83	0,75-0,91	1,4	59	95	54	<0,001
<b>IGEe BSA</b>	88	0,88	0,82-0,95	4,6	67	95	60	<0,001
<b>IGEe LC</b>	93	0,90	0,84-0,96	2,6	69	95	60	<0,001
<b>IGEe LO</b>	93	0,89	0,82-0,95	2,63	66	95	59	<0,001
<b>IGEe LH</b>	94	0,87	0,79-0,95	3,1	57	95	54	<0,001
<b>IGEe LV/IGET</b>	93	0,74	0,63-0,84	0,09	23	NC	NC	<0,001
<b>IGEe ALA/IGET</b>	96	0,68	0,57-0,80	0,04	11	NC	NC	0,003
<b>IGEe BLG/IGET</b>	95	0,68	0,57-0,80	0,05	11	NC	NC	0,003
<b>IGEe CAS/IGET</b>	96	0,77	0,68-0,87	0,02	37	NC	NC	<0,001
<b>IGEe BSA/IGET</b>	88	0,75	0,64-0,86	0,08	28	NC	NC	<0,001
<b>IGEe LC/IGET</b>	93	0,81	0,71-0,90	0,04	34	NC	NC	<0,001
<b>IGEe LO/IGE TOTAL</b>	93	0,81	0,72-0,90	0,04	30	NC	NC	<0,001
<b>IGEe LH/IGET</b>	94	0,81	0,72-0,90	0,04	31	NC	NC	<0,001

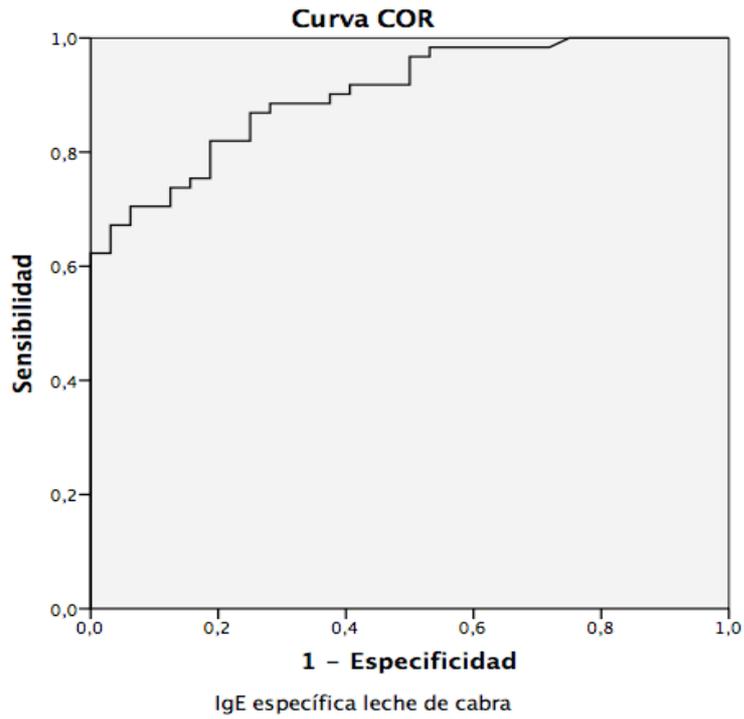
IGEe: IgE específica; IGET: IgE total; kU/L: kilounidades por litro; N: número de pacientes; ABC: área bajo la curva; IC 95%: intervalo de confianza al 95%; Pto corte: punto de corte; E 95%: especificidad del 95%; S: sensibilidad correspondiente al punto de corte; VPP: Valor predictivo positivo correspondiente al punto de corte; VPN: Valor predictivo negativo correspondiente al punto de corte; LV: leche de vaca; ALA: alfa lactoalbúmina; BLG: beta lactoglobulina; CAS: caseína; BSA: albúmina sérica bovina; LC: leche de cabra; LO: leche de oveja; LH: leche hervida; NC: no calculado.

La tabla anterior muestra el área bajo la curva y su intervalo de confianza al 95% de la concentración de IgE total, IgE específica a leche y sus proteínas y la ratio entre cada IgE específica/IgE total; el punto de corte para cada una de ellas con el que la técnica ofrece en 95% de especificidad para identificar a los pacientes con reactividad clínica; la sensibilidad que corresponde a ese punto de corte; y sus valores predictivos positivo y negativo.

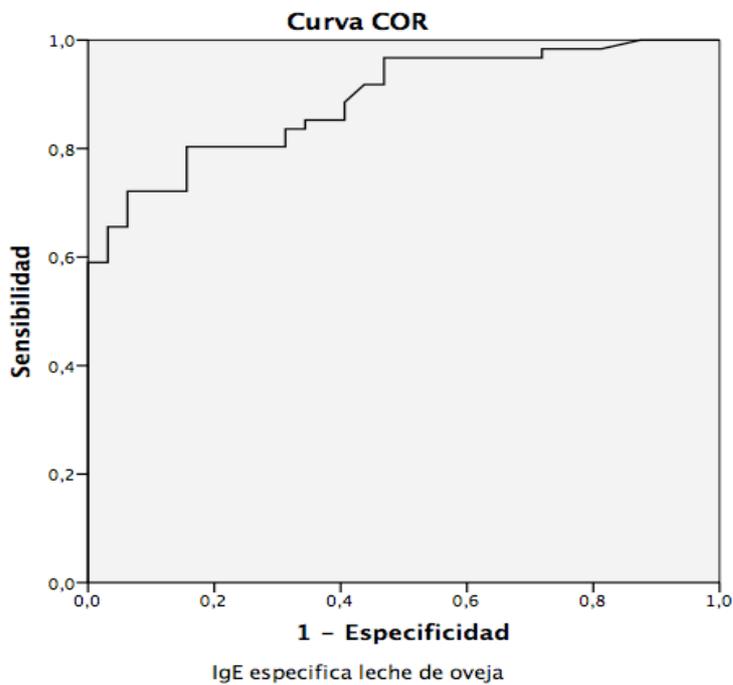
A continuación de muestran las curvas ROC para las IgE específicas de los distintos tipos de leche:



Gráf 9: Curva ROC para la IgE específica frente a leche de vaca.



Gráf. 10: Curva ROC para la IgE específica frente a leche de cabra.



Gráf. 11: Curva ROC para la IgE específica frente a leche de oveja.

**6.1.3.2.3 Curvas ROC de cocientes IgE/IgG4 específicas frente a leche y sus proteínas en relación a la tolerancia o reactividad clínica**

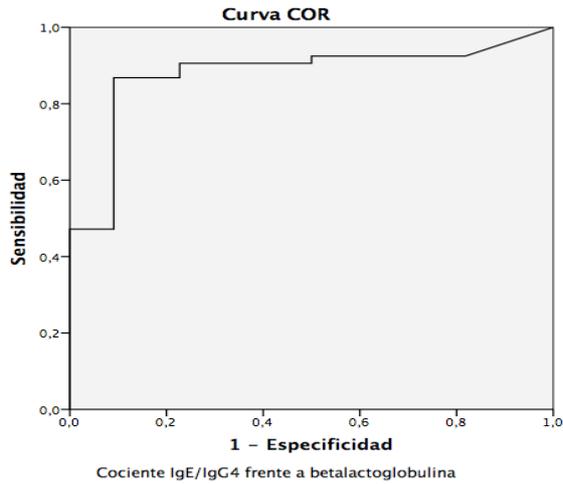
La siguiente tabla muestra el área bajo la curva y su intervalo de confianza al 95% de las ratio IgE/IgG4 específicas a leche y sus proteínas; el punto de corte para cada una de ellas con el que la técnica ofrece en 95% de especificidad para identificar a los pacientes con reactividad clínica; la sensibilidad que corresponde a ese punto de corte; y sus valores predictivos positivo y negativo.

Tabla 24: Curvas ROC para los cocientes IGEE/IGG4e en base a la tolerancia o reactividad clínica de los pacientes.

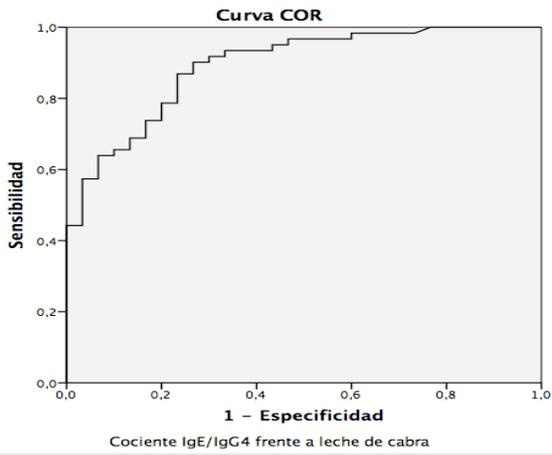
COCIENTES IGEE/IGG4e	N	ABC	IC 95%	Pto corte E 95%	S %	P
IGEE ALA/IGG4e ALA	72	0,85	0,76-0,94	2,7	53	<0,001
IGEE BLG/IGG4e BLG	75	0,88	0,79-0,96	2,7	47	<0,001
IGEE CAS/IGG4e CAS	93	0,85	0,77-0,93	1,7	60	<0,001
IGEE BSA/IGG4e BSA	77	0,85	0,76-0,94	1,2	50	<0,001
IGEE LC/IGG4e LC	91	0,89	0,83-0,96	1,5	63	<0,001
IGEE LO/IGG4e LO	90	0,86	0,78-0,94	2,9	44	<0,001
IGEE LH/IGG4e LH	82	0,84	0,75-0,94	9,9	39	<0,001

IGEE: IgE específica; IgG4e: IgG4 específica; N: número de pacientes; ABC: área bajo la curva; IC 95%: intervalo de confianza al 95%; Pto corte: punto de corte; LV: leche de vaca; ALA: alfa lactoalbúmina; BLG: betalactoglobulina; CAS: caseína; BSA: albúmina sérica bovina; LC: leche de cabra; LO: leche de oveja, LH: leche hervida.

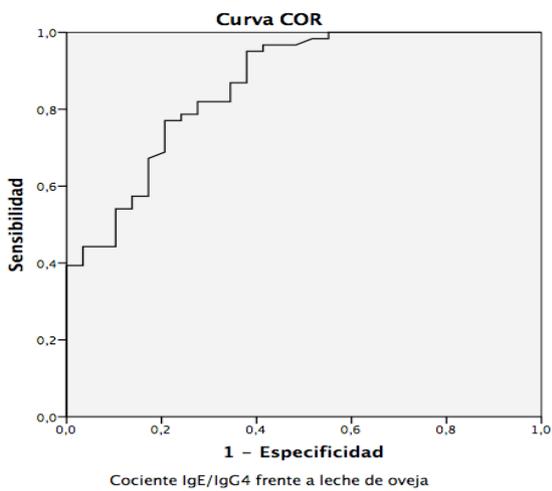
Las gráficas de las curvas ROC para betalactoglobulina, leche de cabra y oveja son las siguientes:



Gráf. 12: Curva ROC del cociente IgE/IgG4 frente a betalactoglobulina.



Gráf. 13: Curva ROC del cociente IgE/IgG4 frente a leche de cabra.



Gráf. 14: Curva ROC del cociente IgE/IgG4 frente a leche de oveja.

## 6.2 Inmunoterapia oral

Un total de 70 pacientes llevaron a cabo el tratamiento con ITO, alcanzando cada uno de ellos distintos tiempos del estudio.

### 6.2.1 Parámetros demográficos y clínicos de los pacientes que recibieron ITO

Los 70 pacientes que realizaron el tratamiento con ITO fueron todos aquellos que presentaron reacciones adversas durante la PEOC (PEOC REALIZADA +) y aquellos en los que no se realizó la PEOC por presentar valores elevados de IgE específica (PEOC NR).

Fueron 21 pacientes los que presentaron reacción alérgica durante la PEOC con leche de vaca. En ellos, la mediana de la dosis umbral que ocasionó la reacción alérgica fue de 50 ml (ric 5-87,5 ml). Estos pacientes comenzaron el procedimiento desde la dosis anterior a la que ocasionó la sintomatología (la mediana de la dosis de inicio de ITO fue de 15 ml (ric 2.5-50)). De estos pacientes, aquellos que presentaron reacción alérgica durante la ITO la sufrieron con una mediana de dosis de 15 ml (ric 6-50 ml).

Aquellos 49 pacientes en los que no se realizó la PEOC, iniciaron una ITO de manera directa con una dosis de inicio de 0,001 ml. La mediana de dosis mínima de reacción adversa durante el tratamiento en este grupo de pacientes fue de 2,5 ml (ric 2,5-30 ml). La diferencia en cuanto a la dosis mínima que ocasionó la reacción alérgica durante la ITO, no alcanzó significación estadística ( $p=0,066$ )

Todos los pacientes alcanzaron la dosis máxima establecida como dosis final, esto es, 200 ml de leche de vaca, a excepción de 8 pacientes:

- El paciente número 75, interrumpió la ITO a la dosis de 50 ml por haber presentado anafilaxias de repetición y en este momento se dispone a retomar el tratamiento.
- Han abandonado el procedimiento 5 pacientes:
  - o Tres niños por presentar reacciones graves repetidas (el pacientes 87 con dosis mínimas de leche, el paciente 66 que alcanzó tolerancia de 15 ml pero acabó suspendiendo la ITO por cansancio y el paciente 59 que, tras haber alcanzado dosis de 100 ml, inició reacciones adversas con dosis progresivamente menores, lo que obligo a la suspensión del tratamiento).
  - o El paciente 74, por miedo de los familiares a presentar reacciones adversas.

- El paciente 61 por presentar una esofagitis eosinofílica a consecuencia del tratamiento.
- Asimismo, están aún en fase de incremento de dosis los pacientes del 101 al 104.

La mediana de duración del procedimiento fue de 16 semanas en ambos grupos, con un rango intercuartílico de 5-19 semanas en el grupo de PEOC REALIZADA + y de 16-20 semanas en el grupo de PEOC NR.

En cuanto al uso de premedicación, 4 pacientes (6%) recibieron tratamiento con omalizumab antes de iniciar la ITO, por tratarse de niños de alto riesgo según los criterios especificados en el apartado 5.6.3.4. Los 66 pacientes restantes iniciaron el procedimiento sin ningún tipo de medicación, pero 18 pacientes (26%) precisaron posteriormente tratamiento antihistamínico por presentar reacciones a lo largo de la ITO.

Al alcanzar la fase de mantenimiento (T1) se realizó PEOC con leche de oveja en 42 pacientes. En 4 de ellos (9,5% de las PEOC con cuajada realizadas), se obtuvo un resultado positivo, siendo negativas en el resto de los 38 niños (90,5% de las PEOC realizadas).

### **6.2.2 Seguridad durante la ITO y parámetros basales en relación a la seguridad**

Durante el tratamiento acontecieron 33 anafilaxias en 17 pacientes (24% de los pacientes), 10 de los cuales (14% de los pacientes en ITO) sufrieron más de una (5 pacientes presentaron 2 anafilaxias, 3 pacientes un número de 3 y 2 pacientes 4 episodios).

Siete pacientes (10%) no presentaron ningún tipo de reacción adversa a lo largo de todo el tratamiento.

En la siguiente tabla se describen las frecuencias de reacciones adversas y su gravedad máxima por paciente en las distintas fases de ITO. La proporción de pacientes con reacciones adversas se redujo significativamente a medida que se prolongó el tratamiento. Además, fue en la fase de incremento de dosis cuando hubo un predominio significativo de anafilaxias. Las reacciones adversas no relacionadas con factores aumentadores predominaron significativamente en la fase de incremento de dosis y durante el primer mes de mantenimiento.

Tabla 25: Reacciones adversas durante la ITO.

		F.INCR N=69	T1 N=55	T2 N=45	T3 N=36	T4 N=25	P
Nº REACCIONES N (% PTES ITO)	No	16 (23,2%)	43 (78,2%)	36 (80%)	32 (88,9%)	23 (92%)	<0,001
	SubjR	11 (15,9%)	3 (5,5%)	3 (3,7%)	1 (2,8%)	0	
	Obj 1-5	34 (49,3%)	8 (14,5%)	6 (7,3%)	3 (8,3%)	2 (8%)	
	Obj >5	8 (11,6%)	1 (1,8%)	0	0	0	
CLÍNICA MÁS GRAVE N (% PTES ITO)	SAO-UP	12 (17,1%)	2 (2,9%)	2 (2,9%)	1 (1,4%)	0	0,041 en la fase de incremento de dosis
	U-AE Stm	5 (7,1%)	2 (2,9%)	2 (2,9%)	2 (2,9%)	1 (1,4%)	
	TGI	12 (17,1%)	2 (2,9%)	2 (2,9%)	0	0	
	VRS	6 (8,6%)	3 (4,3%)	1 (1,4%)	0	1 (1,4%)	
	VRI	4 (5,7%)	0	0	0	0	
	ANAF	15 (21,4%)	3 (4,3%)	2 (2,9%)	1 (1,4%)	0	
FACTORES AUMENTADORES N (% PTES CON RA)	NO	41 (77,4%)	7 (58,3%)	4 (44,4%)	1 (25%)	0	<0,001 en el periodo de dosis
	AINE	1 (1,9%)	0	0	0	1 (50%)	
	EJER	2 (3,8%)	1 (8,3%)	1 (11,1%)	1 (25%)	0	
	P. INT	5 (9,4%)	1 (8,3%)	3 (33,3%)	0	0	
	AYUN	4 (7,5%)	0	0	0	0	
	ESTRÉS	0	3 (25%)	1 (11,1%)	1 (25%)	0	
	D. PrME	0	0	0	1 (25%)	1 (50%)	

Fincr: fase de incremento de dosis; N: número de pacientes, T: tiempo del estudio; PTES: pendientes; RA: reacción adversa; SubjR: síntomas subjetivos repetidos; Obj: síntomas objetivos; SAO: síndrome de alergia oral; UP: urticaria perioral; U-AE Stm: urticaria-angioedema sistémico; TGI: síntomas gastrointestinales; VRS: síntomas de vías respiratorias superiores; VRI: síntomas de vías respiratorias inferiores; ANAF: anafilaxia; AINE: antiinflamatorio no esteroideo; EJER: ejercicio físico; P.INT: proceso intercurrente; AYUN: ayunas; D. PrME: disminución de premedicación.

Todos aquellos pacientes que siguieron tratamiento con ITO fueron clasificados en dos grupos, grupo de buena evolución y mala evolución, por razón de seguridad. Se consideró **ITO de mala evolución** cuando los pacientes presentaron alguna de las siguientes características durante el tratamiento debida inequívocamente al mismo:

1. Síntomas subjetivos repetidos que precisaron tratamiento (antihistamínico)
2. Síntomas objetivos en número superior a 5
3. Afectación respiratoria que requirió atención sanitaria
4. Suspensión o abandono del tratamiento por reacciones adversas
5. Al menos un episodio de anafilaxia
6. Evolución a Esofagitis eosinofílica

Se consideró grupo de buena evolución a los 42 pacientes que no cumplieron ninguna de estas características descritas.

En la siguiente tabla se recoge la distribución de pacientes con buena y mala evolución de acuerdo a los criterios mencionados. Los pacientes que cumplían con más de uno de estos criterios fueron codificados por el de mayor número de orden según se han mencionado.

Tabla 26: Criterios de mala y buena evolución durante la ITO.

CRITERIOS DE MALA EVOLUCIÓN DURANTE ITO	GRUPO ITO MALA EVOLUCIÓN N=28
<b>SUBJETIVAS REPETIDAS</b> (n/%)	5 (17,9%)
<b>OBJETIVAS <math>\geq</math> 5</b> (n/%)	5 (17,9%)
<b>ANAFILAXIA</b>	16 (57,1%)
<b>EEO</b> (n/%)	2 (7,1%)

ITO: inmunoterapia oral; N/n: número de pacientes; EEO: esofagitis eosinofílica.

### 6.2.2.1 Características clínicas y demográficas en relación a la seguridad

En la siguiente tabla se recogen los datos demográficos y clínicos al diagnóstico de los pacientes que en la ITO evolucionaron satisfactoriamente y de quienes presentaron mala evolución. La frecuencia de alergia respiratoria fue significativamente mayor en el grupo de mala evolución.

Tabla 27: Datos demográficos y de reacciones adversas en relación a la seguridad.

DATOS DEMOGRÁFICOS Y DE RA		ITO BUENA EVOLUCIÓN N=42	ITO MALA EVOLUCIÓN N=28	p
EDAD (meses) Mediana (ric)		48 (40-74)	59 (46-90)	ns
SEXO (V)		26 (62%)	20 (71%)	ns
AF		41 (98%)	28 (100%)	ns
AP	DA (n/%)	22 (52,4%)	14 (50%)	0,000
	AA (n/%)	24 (57,1%)	16 (57,1%)	
	RC (n/%)	13 (30,9%)	22 (78,6%)	
	AB (n/%)	15 (35,7%)	21 (65%)	
EDAD al DX (meses) Mediana (ric)		5 (4-7)	6 (4-6)	ns
RA al DX	SAO-U FACIAL (n/%)	11 (26,2%)	8 (28,6%)	ns
	U-AE SISTÉMICO (n/%)	11 (26,2%)	6 (21,4%)	
	St. DIGESTIVOS (n/%)	4 (9,5%)	5 (17,9%)	
	St.VRS (n/%)	0	0	
	St.VRI (n/%)	0	1 (3,6%)	
	ANAFILAXIA (n/%)	15 (35,7%)	8 (28,6%)	

RA: reacciones adversas; N/n: número de pacientes; ITO: inmunoterapia oral; ric: rango intercuartílico; V: varón, AF: antecedentes familiares; AP: antecedentes personales; DA: dermatitis atópica; AA: Alergia alimentaria; RC: Rinoconjuntivitis, AB: Asma bronquial; DX: diagnóstico; SAO: síndrome de alergia oral; U: urticaria; AE: angioedema; St: síntomas; VRS: vía respiratoria superior; VRI: vía respiratoria inferior; ns: no significativo.

## 6.2.2.2 Pruebas diagnósticas basales en relación a la seguridad.

### 6.2.2.2.1 Pruebas *in vivo* basales en relación a la seguridad

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos de evolución, buena y mala, en ninguna de las pruebas intraepidérmicas realizadas, tal y como se observa en la siguiente tabla:

Tabla 28: Pruebas intraepidérmicas en base a la seguridad.

Prueba intraepidérmica (mm) Mediana (ric)	ITO B. EVOLUCIÓN N=42	ITO M. EVOLUCIÓN N=28	P
LV	5,0 (3,0-6,6)	5,5(3,1-6,9)	ns
ALA	7,3 (5,0-9,6)	8,3 (5,5-10,5)	ns
BLG	5,5 (4,0-8,0)	5,8 (4,1-7,9)	ns
CAS	6,3 (4,0-8,5)	6,8 (3,6-10,0)	ns
LC	4,0(2,0-6,0)	4,5 (3,0-6,0)	ns
QO	3,5 (2,0-6,0)	4,5 (3,0-6,0)	ns
LHZDA	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-2,0)	ns

mm: milímetros; ric: rango intercuartílico; ITO: inmunoterapia oral; B: buena; M: mala; N: número de pacientes; LV: leche de vaca; ALA: alfalactoalbúmina; BLG: betalactoglobulina; CAS: caseína; LC: leche de cabra; QO: queso de oveja; LHZDA: leche hidrolizada; ns: no significativo.

Independientemente de que se llevara a cabo o no la PEOC, se estableció la dosis umbral mínima que ocasionó una reacción adversa durante el tratamiento, siendo esta de 50 ml (ric 3-75 ml) para los pacientes con ITO de buena evolución y de 37,5 ml (ric 8,75-100 ml) para aquellos con mala evolución. Estas diferencias no alcanzaron significación estadística. Tampoco hubo diferencias significativas para la dosis de inicio de la ITO (0,001 (ric 0,001-3,25) en la ITO de buena evolución y 0,001 (ric 0,001-0,001) en la ITO de mala evolución.

La dosis umbral mínima de los 21 pacientes con PEOC positiva, según su evolución fuera clasificada como buena o mala, no obtuvo diferencias significativas entre ambos

grupos ( $p=0,68$ ), siendo la mediana (ric) de 50 (3-75) ml para los de 15 pacientes con buena evolución y de 37,5 (8,75-100) ml para los 6 pacientes que presentaron mala evolución.

Tampoco se obtuvo significación en las diferencias entre ambos grupos en el resultado de las PEOC con leche de oveja.

Tabla 29: Resultado de las PEOC con leche de oveja en base a la seguridad.

PEOC LECHE OVEJA	ITO EVOLUCIÓN N=42	B. ITO M. EVOLUCIÓN N=28	P
POSITIVA	1 (2,4%)	3 (10,7%)	ns
NEGATIVA	26 (61%)	12 (42,9%)	
NO REALIZADA	14 (36%)	27 (46,4%)	

ITO: inmunoterapia oral; B: buena; M: mala; N: número de pacientes; ns: no significativo.

### 6.2.2.2.2 Pruebas in vitro basales en relación a la seguridad

#### 6.2.2.2.2.1 Test de activación de basófilos por Leche de vaca basal (T0) en relación a la seguridad

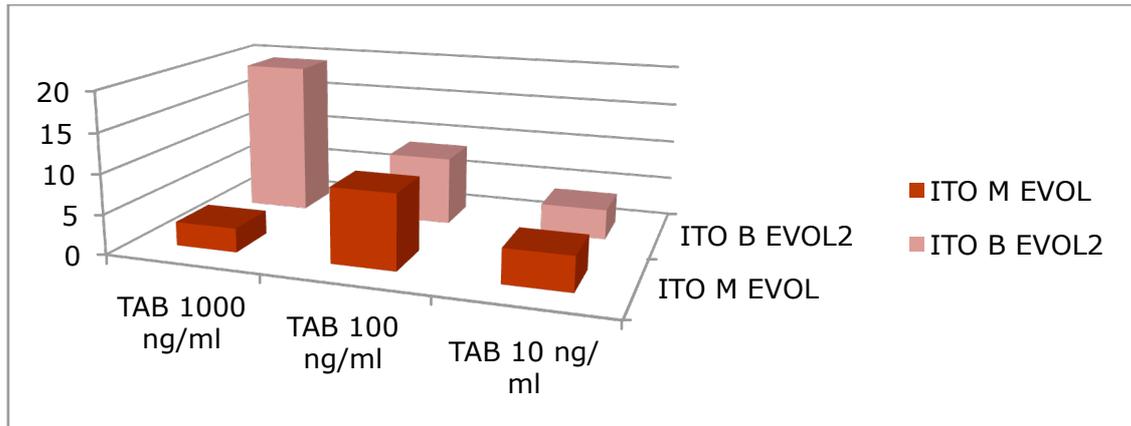
No se encontraron diferencias significativas en cuanto a activación de basófilos antes del inicio de la ITO entre pacientes con buena y mala tolerancia al tratamiento, con ninguna de las concentraciones de leche probadas, tal como detallo en la siguiente tabla:

Tabla 30: TAB en base a la seguridad.

TAB (% activación)	ITO B. EVOLUCIÓN	ITO M. EVOLUCIÓN	P
LV 1000 ng/ml	19,31 (4,83-52,64)	33,00 (9,63 70,74)	ns
LV 100 ng/ml	8,60 (2,31-32,85)	9,34 (3,02-50,30)	ns
LV 10 ng/ml	3,77 (1,09-9,87)	4,27 (2,12-32,41)	ns

TAB: test de activación de basófilos; ITO: inmunoterapia oral; B: buena; M: mala; LV: leche de vaca; ng/ml: nanogramos por mililitro; ns: no significativo.

Gráf. 15: TAB de los pacientes en base a la seguridad.



TAB: test de activación de basófilos; ng/ml: nanogramos por mililitro; M EVOL: mala evolución; B EVOL: buena evolución; LV: leche de vaca.

#### 6.2.2.2.2 IgE e IgG4 totales y específicas a leche y sus proteínas basales (T0) en relación a la seguridad

Atendiendo a las IgE específicas y la IgE total basales y los cocientes entre ellas, se observaron niveles significativamente mayores en el grupo de mala evolución para la IgE específica a leche de vaca, a caseína, leche de cabra, de oveja y hervida y sus respectivos cocientes con la cifra de IgE total, como se indica a continuación:

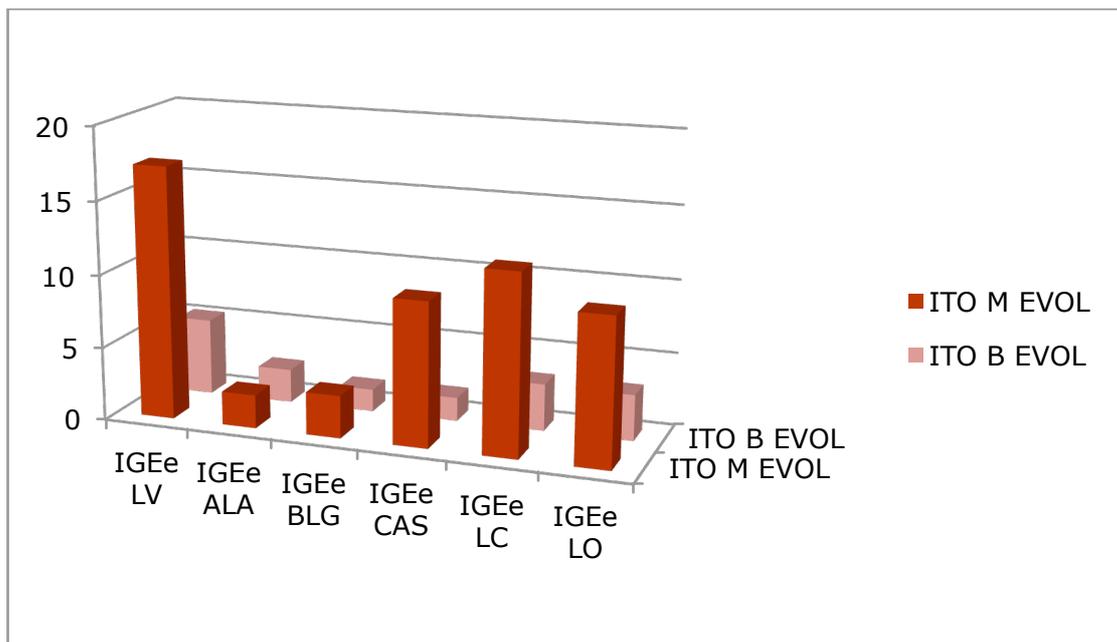
Tabla 31: IgE total y específicas y cocientes IgEe/IgE total en base a la seguridad.

IGE Y COCIENTES (KU/L) mediana (ric)	ITO B. EVOLUCIÓN N=42	ITO M. EVOLUCIÓN N=28	P
TOTAL	407,00 (71,55-828,00)	308,50 (81,35-735,00)	ns
IGEe LV	5,24 (2,89-9,24)	17,25 (3,06-35,45)	0,01
IGEe ALA	2,29 (0,50-4,17)	2,28 (0,69-8,92)	ns
IGEe BLG	1,52 (0,49-2,85)	2,90 (0,55-6,48)	ns
IGEe CAS	1,60 (0,33-4,16)	9,83 (1,15-25,28)	0,005
IGEe LC	3,20 (1,47-7,42)	12,3 (2,62-26,65)	0,006
IGEe LO	3,13 (1,67-7,38)	10,06 (2,29-23,68)	0,017
IGEe LH	2,78 (1,46-6,89)	11,85 (1,82-32,25)	0,009
IGEe BSA	5,62 (2,88-10,50)	10,50 (3,13-27,20)	ns

IGEe LV/IGET	0,0149 (0,007-0,044)	0,050 (0,009-0,175)	0,037
IGEe ALA/IGET	0,005 (0,001-0,014)	0,011 (0,002-0,028)	ns
IGEe BLG/IGET	0,004 (0,001-0,017)	0,006 (0,002-0,035)	ns
IGEe CAS/IGET	0,005 (0,001-0,017)	0,026 (0,004-0,216)	0,003
IGEe LC/IGET	0,014 (0,004-0,025)	0,039 (0,008-0,204)	0,009
IGEe LO/IGET	0,011 (0,004-0,029)	0,035 (0,007-0,176)	0,020
IGEe LH/IGET	0,012 (0,003-0,03)	0,034 (0,008-0,201)	0,006
IGEe BSA/IGET	0,017 (0,096-0,059)	0,032 (0,007-0,131)	ns

kU/L: kilounidades por litro; ric: rango intercuartílico; ITO: inmunoterapia oral; B:buena; M: mala; N: Número de pacientes; IGEe: IgE específica; LV: leche de vaca; ALA: alfactoalbúmina; BLG: betalactoglobulina; CAS: caseína; BSA: albúmina sérica bovina; LC: leche de cabra; LO: leche de oveja; LH: leche hervida; IGET: IgE total; ns: no significativo.

Gráf. 16: IgE específicas de los pacientes en base a la seguridad.



TAB: test de activación de basófilos; ng/ml: nanogramos por mililitro; M EVOL: mala evolución; B EVOL: buena evolución; LV: leche de vaca.

En cambio, no se alcanzó significación estadística en las diferencias en los resultados de las determinaciones basales de las IgG4 específicas, la IgG4 total y sus cocientes, entre ambos grupos:

Tabla 32: IgG4 total y específicas y cocientes IgG4e/IgG4t en base a la seguridad.

IGG4 Y COCIENTES (mg/ml) mediana (ric)	ITO B. EVOLUCIÓN N=42	ITO M. EVOLUCIÓN N=28	P
TOTAL	0,152 (0,103-0,308)	0,160 (0,087-0,395)	ns
IGG4 ALA	0,475 (0,120-1,896)	0,630 (0,095-2,438)	ns
IGG4e BLG	0,470 (0,170-1,590)	0,385 (0,113-2,125)	ns
IGG4e CAS	0,935 (0,315-2,302)	1,555 (0,755-3,918)	ns
IGG4e BSA	5,955 (2,698-10,500)	6,680 (2,200-18,800)	ns
IGG4e LC	2,600 (0,840-5,545)	2,910 (1,152-7,088)	ns
IGG4e LO	2,595 (0,910-5,210)	2,080 (0,910-7,360)	ns
IGG4e LC	1,205 (0,208-3,345)	1,300 (0,613-6,808)	ns
IGG4e ALA/IGG4 T	3,109 (0,656-10,150)	1,474 (0,00-7,826)	ns
IGG4e BLG/IGG4 T	2,985 (0,912-13,662)	1,275 (0,122-5,872)	ns
IGG4e CAS/IGG4 T	6,882 (3,599-16,229)	4,950 (2,659-33,780)	ns
IGG4e BSA/IGG4 T	25,277 (16,292-89,991)	26,038 (13,750-79,730)	ns
IGG4e LC/IGG4 T	14,278 (8,329-39,077)	11,370 (4,797-26,849)	ns
IGG4e LO/IGG4 T	9,941 (5,536-27,000)	9,979 (6,180-19,927)	ns
IGG4e LH/IGG4 T	6,022 (2,289-20,000)	7,009 (3,763-20,597)	ns

N: Número de pacientes; mg/ml: miligramos por mililitro; ric: rango intercuartílico; ITO: inmunoterapia oral; B: buena; M: mala; IGG4e: IgG4 específica; LV: leche de vaca; ALA: alfa lactoalbúmina; BLG: betalactoglobulina; CAS: caseína; BSA: albúmina sérica bovina; LC: leche de cabra; LO: leche de oveja; LH: leche hervida; ns: no significativo.

En cuanto a los cocientes entre las IgE e IgG4 específicas basales de cada extracto, volvemos a observar diferencias significativas entre ambos grupos de ITO de buena y mala evolución en sólo dos de los ratios: el de caseína y leche de cabra, que fueron mayores en el grupo de mala evolución.

Tabla 33: Cocientes IgEe/IgG4e en base a la seguridad.

COCIENTE (KU/L)	IGEe/IGG4e	ITO B. EVOLUCIÓN N=42	ITO M. EVOLUCIÓN N=28	P
IGEe ALA/IGG4e ALA		1,864 (0,516-17,889)	3,053 (1,298-7,744)	ns
IGEe BLG/IGG4e BLG		1,485 (0,593-6,556)	3,781 (1,154-16,149)	ns
IGEe CAS/IGG4e CAS		1,807 (0,341-3,855)	3,667(1,064-11,754)	0,028
IGEe BSA/IGG4e BSA		0,818 (0,556-2,012)	1,443 (0,756-5,429)	ns
IGEe LC/IGG4e LC		1,418 (0,511-4,451)	2,976 (1,262-11,300)	0,023
IGEe LO/IGG4e LO		1,528 (0,496-5,407)	2,501 (1,034-14,849)	ns
IGEe LH/IGG4e LH		2,317 (0,822-13,984)	3,239 (1,000-29,322)	ns

IGEe: IgE específica; IgG4e: IgG4 específica; KU/L: kilounidades por litro; ITO: inmunoterapia oral; B: buena; M: mala; N: número de pacientes; LV: leche de vaca; ALA: alfa lactoalbúmina; BLG: betalactoglobulina; CAS: caseína; BSA: albúmina sérica bovina; LC: leche de cabra; LO: leche de oveja; LH: leche hervida; ns: no significativo.

### 6.2.2.3 Curvas ROC de parámetros diagnósticos basales en relación a la seguridad de la ITO

Se han calculado las curvas ROC con sus áreas bajo la curva e intervalos de confianza al 95% de las pruebas diagnósticas realizadas en la valoración basal en relación a la evolución durante la ITO. Cuando el área bajo la curva de una determinada variable era significativa se determinó el punto de corte por encima del cual dicha variable de valoración basal predice con una especificidad del 95% mala tolerancia en ITO. Asimismo se determinaron las sensibilidades correspondientes a esos puntos de corte.

**6.2.2.3.1 Curvas ROC de Pruebas in vivo basales en relación a la seguridad de la ITO**

En el caso de las pruebas cutáneas, las áreas bajo la curva oscilaron entre 0,506 para BLG y 0,553 con leche de vaca, sin significación estadística.

**6.2.2.3.2 Curvas ROC de Pruebas in vitro basales en relación a la seguridad de la ITO**

**6.2.2.3.2.1 Curvas ROC del Test de activación de basófilos basal en relación a la seguridad de la ITO**

En la siguiente tabla se exponen las áreas bajo la curva de los resultados del TAB en sus tres concentraciones, en relación a la evolución de la ITO. Ninguna de estas áreas alcanzó significación estadística.

Tabla 34: Curvas ROC del TAB en base a la seguridad.

TAB (% activación)	N	ABC	IC 95%
LV 1000 ng/ml	58	0,593	0,443-0,743
LV 100 ng/ml	58	0,587	0,435-0,739
LV 10 ng/ml	58	0,578	0,426-0,729

TAB: test de activación de basófilos; N: número de pacientes; ABC: área bajo la curva; IC 95%: intervalo de confianza al 95%; LV: leche de vaca, ng: nanogramos; ml: mililitros.

**6.2.2.3.2.2 Curvas ROC de los niveles basales de IgE e IgG4 totales y específicas frente a leche y sus proteínas, en relación a la seguridad de la ITO**

En la siguiente tabla se recogen los datos relativos a las curvas ROC de los valores de IgE específicas y total junto con sus cocientes:

Tabla 35: Curvas ROC de la IgE total y específicas y de los cocientes IgEe/IgEt en base a la seguridad.

IGE (KU/L) Y COCIENTES	N	ABC	IC 95%	Pto corte E 95%	S (%)	VPP (%)	VPN (%)	P
<b>TOTAL</b>	69	0,477	0,338-0,616	3149,5	3,6	NC	NC	ns
<b>IGEE LV</b>	67	0,685	0,544-0,827	30,5	28,6	90	53	0,01
<b>IGEE ALA</b>	70	0,556	0,410-0,702	8,16	28,6	NC	NC	ns
<b>IGEE BLG</b>	70	0,628	0,486-0,769	9,62	21,4	NC	NC	ns
<b>IGEE CAS</b>	70	0,701	0,573-0,829	32,65	21,4	88	52	0,005
<b>IGEE LC</b>	68	0,697	0,563-0,832	37,2	21	88	52	0,006
<b>IGEE LO</b>	68	0,671	0,532-0,809	27	21,4	88	52	0,017
<b>IGEE LH</b>	68	0,687	0,553-0,821	32,8	25	89	53	0,009
<b>IGEE BSA</b>	65	0,641	0,492-0,790	36,9	19	88	51	0,054
<b>IGEE LV/IGET</b>	67	0,650	0,511-0,789	0,24	18	86	50	0,037
<b>IGEE ALA/IGET</b>	70	0,616	0,474-0,759	0,050	10,7	NC	NC	ns
<b>IGEE BLG/IGET</b>	69	0,561	0,417-0,704	0,026	28,6	NC	NC	ns
<b>IGEE CAS/IGET</b>	70	0,713	0,586-0,840	0,116	32,10	91	54	0,003
<b>IGEE BSA/IGET</b>	65	0,596	0,449-0,744	0,175	19	NC	NC	ns
<b>IGEE LC/IGET</b>	68	0,688	0,556-0,821	0,088	35,7	91	54	0,009
<b>IGEE LO/IGET</b>	68	0,667	0,532-0,802	0,100	28,6	90	53	0,02
<b>IGEE LH/IGET</b>	68	0,696	0,565-0,828	0,128	32,10	91	54	0,006

IGET: IgE total; kU/L: kilounidades por litro; N: número de pacientes; ABC: área bajo la curva; IC 95%: intervalo de confianza al 95%; Pto corte: punto de corte; E 95%: especificidad del 95%; S: sensibilidad; VPP: Valor predictivo positivo correspondiente al punto de corte; VPN: Valor predictivo negativo correspondiente al punto de corte; IGEE: IgE específica; LV: leche de vaca; ALA: alfa lactoalbúmina; BLG: betalactoglobulina; CAS: caseína; BSA: albúmina sérica bovina; LC: leche de cabra; LO: leche de oveja; LH: leche hervida; NC: No calculado; ns: no significativo.

Las áreas bajo las curvas ROC de los valores basales de IgG4 total, IgG4 específicas y sus cocientes oscilaron entre 0,501 para IgG4 a BLG y 0,6 para IgG4 a leche hervida, todas ellas no significativas.

Los resultados de los cocientes entre las IgE e IgG específicas se exponen en la siguiente tabla:

Tabla 36: Curvas ROC de los cocientes IgEe/IgG4e en base a la seguridad.

COCIENTE IGEE/IGG4e	N	ABC	IC 95%	Pto corte E 95%	S (%)	VPP (%)	VPN (%)	P
IGEE ALA/IGG4e ALA	57	0,535	0,383-0,687	29	5	NC	NC	ns
IGEE BLG/IGG4e BLG	59	0,613	0,464-0,762	26	13	NC	NC	ns
IGEE CAS/IGG4e CAS	69	0,656	0,524-0,789	13	21	75	51	0,028
IGEE BSA/IGG4e BSA	59	0,633	0,487-0,779	7	17	NC	NC	ns
IGEE LC/IGG4e LC	68	0,662	0,530-0,795	10	36	82	53	0,023
IGEE LC/IGG4e LO	68	0,625	0,488-0,762	17	21	NC	NC	ns
IGEE LH/IGG4e LH	63	0,575	0,429-0,721	43	22	NC	NC	ns

IGEE: IgE específica; IGG4e: IgG4 específica; N: número de pacientes; ABC: área bajo la curva; IC 95%: intervalo de confianza al 95%; Pto corte: punto de corte; E 95%: especificidad del 95%; S: sensibilidad; VPP: Valor predictivo positivo correspondiente al punto de corte; VPN: Valor predictivo negativo correspondiente al punto de corte; LV: leche de vaca; ALA: alfa lactoalbúmina; BLG: betalactoglobulina; CAS: caseína; BSA: albúmina sérica bovina; LC: leche de cabra; LO: leche de oveja; LH: leche hervida; NC: No calculado; ns: no significativo.

### 6.2.3 Evolución de las pruebas diagnósticas durante la ITO

A continuación presento las distintas tablas que muestran las medianas y los rangos intercuartílicos de las distintas pruebas *in vivo* e *in vitro* a lo largo de los distintos tiempos del estudio.

#### 6.2.3.1 Evolución de las Pruebas *in vivo* durante la ITO

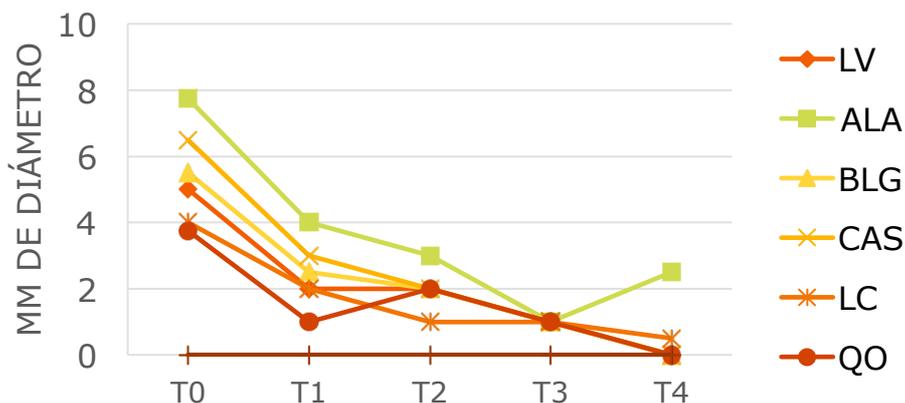
A lo largo de los distintos tiempos del estudio se observa un descenso estadísticamente significativo de las pruebas intraepidérmicas realizadas con todos los extractos, a excepción de la leche hidrolizada, tal y como se observa en la tabla:

Tabla 37: Evolución de las pruebas intraepidérmicas a lo largo de los tiempos del estudio.

Prueba intraepidérmica (mm)	T0 N 70	T1 N 50	T2 N 43	T3 N 32	T4 N 24	P
Mediana (ric)						
LV	5(3-6,63)	2,00(0-4,5)	2(0-3)	1(0-2)	0(0-2)	<0,001
ALA	7,75(5,38-10)	4(2,5-6,13)	3(1-5,5)	1(0-5,88)	2,5(0-5)	<0,001
BLG	5,5(4-8)	2,5(0-4)	2(0-4)	1(0-2,5)	0(0-3)	<0,001
CAS	6,5(4-9)	3(0-6)	2(0-4)	1(0-2,88)	0(0-2)	<0,001
LC	4(2-6)	2(0-3,5)	1(0-3)	1(0-2,75)	0,5(0-4)	0,002
QO	3,75(2-6)	1(0-2,5)	2(0-2,5)	1(0-2)	0(0-2,38)	0,001
HIDROLIZADO	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	ns

mm: milímetros; ric: rango intercuartílico; T: tiempo del estudio; N: número de pacientes; LV: leche de vaca; ALA: alfa lactoalbúmina; BLG: betalactoglobulina; CAS: caseína; LC: leche de cabra; QO: queso de oveja; ns: no significativo

Gráf. 17: Evolución de las pruebas intraepidérmicas a lo largo de los tiempos del estudio.



mm: milímetros; Valores expresados en medianas; T: tiempo del estudio; LV: leche de vaca; ALA: alfa lactoalbúmina; BLG: betalactoglobulina; CAS: caseína; LC: leche de cabra; QO: queso de oveja.

En todos los tiempos y con todas las fracciones se aprecian diferencias significativas (\*P <0.002), excepto en las pruebas con hidrolizado (ns: no significativo).

### 6.2.3.2 Evolución de las pruebas *in vitro* durante la ITO

#### 6.2.3.2.1 Evolución del test de activación de basófilos durante la ITO

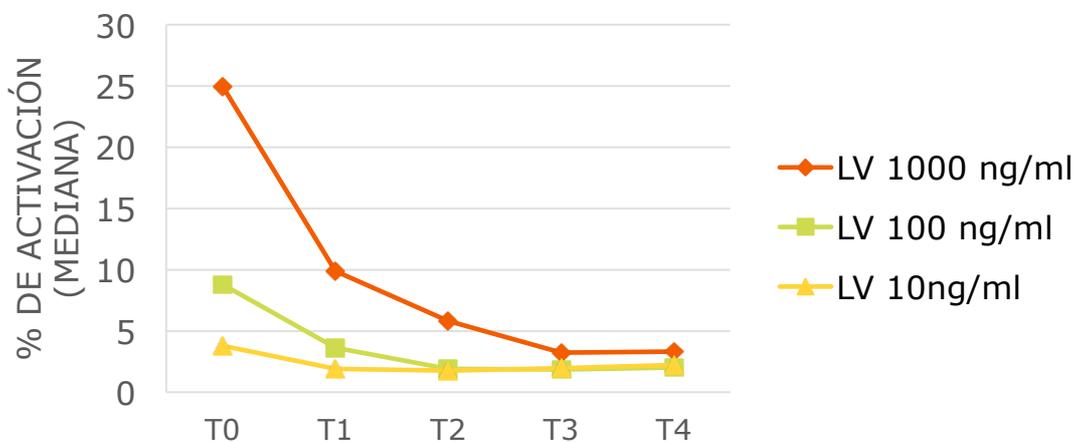
La activación de basófilos por leche de vaca a concentración de 1.000 y 100 ng/ml se redujo significativamente por efecto de la ITO, según se indica en la siguiente tabla:

Tabla 38: Evolución de los valores del TAB a lo largo de los tiempos del estudio.

TAB (% activación mediana (ric))	T0	T1	T2	T3	T4	P
LV 1000 ng/ml	24,96 (5,28-61,76)	9,88 (2,42-36,1)	5,80 (2,03-15,62)	3,23 (2,15-12,49)	3,30 (2,21-7,78)	0,002
LV 100 ng/ml	8,8 (2,46-39,5)	3,64 (2-12,8)	1,91 (0,93-5,18)	1,84 (1,32-6,93)	2,02 (1,1-4,67)	<0,001
LV 10 ng/ml	3,79 (1,82-13,0,8)	1,92 (1-4,19)	1,76 (1,23-3,76)	1,96 (1,24-4,14)	2,22 (1,51-3,87)	ns

TAB: test de activación de basófilos; T: tiempo del estudio, ric: rango intercuartílico; LV: leche de vaca; ng/ml: nanogramo por mililitro, ns: no significativo.

Gráf. 18: Evolución de los valores del TAB a lo largo de los tiempos del estudio.



T: tiempo del estudio; LV: leche de vaca; ng/ml: nanogramo por mililitro.

**6.2.3.2.2 Evolución de IgE e IgG4 totales y específicas a leche y sus proteínas durante la ITO**

Los niveles de IgE total no se modificaron significativamente durante la ITO. En cuanto a las IgE específicas, y su fracción respecto a la IgE total, observamos también un descenso progresivo y estadísticamente significativo en todas las determinaciones:

Tabla 39: Evolución de los valores de IgE total y específicas a lo largo de los tiempos del estudio.

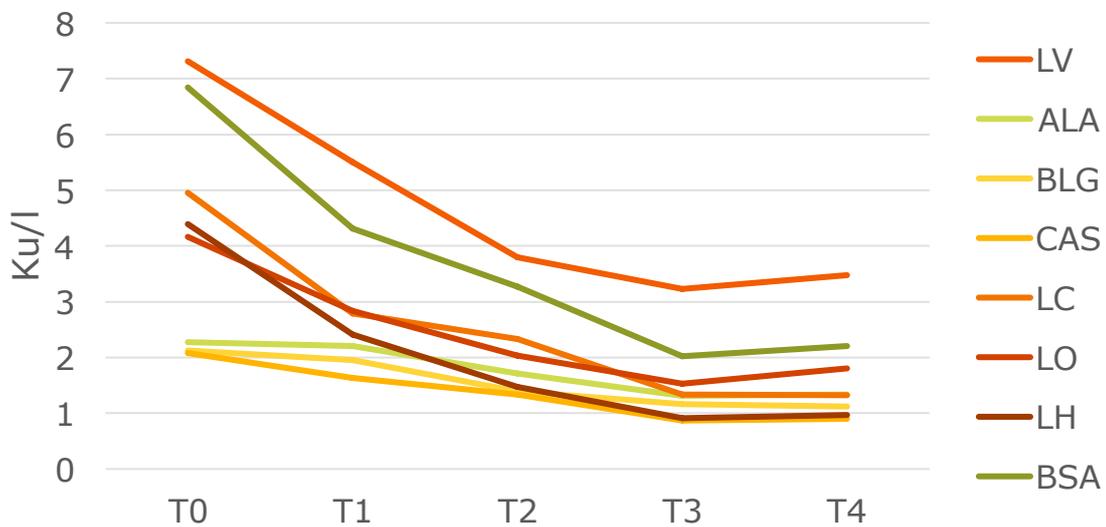
IGE (KU/L)	T0 N Mediana (ric)	T1 N Mediana (ric)	T2 N Mediana (ric)	T3 N Mediana (ric)	T4 N Mediana (ric)	P
TOTAL	69 337 (71,9-738)	56 505 (147-1108,75)	44 418,5 (106,5-1252,75)	35 339 (143-1690)	24 455 (185,5-1439)	ns
IGEE LV	67 7,32 (2,91-20,2)	57 5,5 (2,46-11,75)	44 3,8 (1,34-9,69)	35 3,23 (1,25-6,38)	24 3,48 (0,89-7,66)	<0,001
IGEE ALA	70 2,28 (0,58-5,04)	57 2,21 (0,43-5,05)	44 1,71 (0,39-3,56)	35 1,31 (0,36-2,77)	24 1,34 (0,23-2,97)	<0,001
IGEE BLG	70 2,12 (0,55-3,82)	57 1,95 (0,69-5,79)	44 1,39 (0,38-3,46)	35 1,16 (0,39-3,38)	24 1,12 (0,25-4,06)	0,003
IGEE CAS	70 2,08 (0,57-11,5)	57 1,63 (0,44-7,36)	44 1,33 (0,33-5,45)	35 0,87 (0,36-3,33)	24 0,9 (0,31-2,67)	<0,001

RESULTADOS

IGEe LC	68 4,96 (1,84-13,48)	56 2,79 (1,03-11,16)	44 2,33 (0,78-7,48)	35 1,34 (0,62-4)	24 1,32 (0,52-3,3)	<
IGEe LO	68 4,17 (1,68-14,33)	55 2,84 (1,1-8,24)	44 2,03 (0,82-6,21)	35 1,53 (0,61-4,04)	24 1,8 (0,68-2,89)	<
IGEe LH	68 4,39 (1,67-17,15)	56 2,41 (0,72-9,54)	44 1,47 (0,55-6,78)	35 0,91 (0,55-3,64)	24 0,97 (0,38-2,95)	<
IGEe BSA	65 6,84 (3,07-16,85)	54 4,31 (1,48-11)	44 3,27 (1,14-7,78)	35 2,02 (0,92-4,67)	24 2,21 (0,98-3,07)	<

IGEe: IgE específica; kU/L: kilounidades por litro; N: número de pacientes; ric: rango intercuartílico; LV: leche de vaca; ALA: alfa lactoalbúmina; BLG: betalactoglobulina; CAS: caseína; BSA: albúmina sérica bovina; LC: leche de cabra; LO: leche de oveja; LH: leche hervida; ns: no significativo.

Gráf.19: Evolución de los valores de las IgE específicas a lo largo de los tiempos del estudio.



kU/L: kilounidades por litro. Valores expresados en mediana; T: tiempo del estudio; LV: leche de vaca; ALA: alfa lactoalbúmina; BLG: betalactoglobulina; CAS: caseína; LC: leche de cabra; LO: Leche de oveja; BSA: albúmina sérica bovina.

Se observan diferencias significativas en los cambios de IgE de todas las fracciones. En todos los tiempos y con todas las fracciones se aprecian diferencias significativas (\*P <0.002), excepto en las pruebas con leche hervida.

Tabla 40: Evolución de los cocientes IgEe/IgEtotal en los tiempos del estudio.

IGE (KU/L) Y COCIENTE S	T0 N Mediana (ric)	T1 N Mediana (ric)	T2 N Mediana (ric)	T3 N Mediana (ric)	T4 N Mediana (ric)	P
IGEE LV/IGET	67 0,02 (0,01-0,07)	56 0,01 (0,01-0,07)	44 0,01 (0-0,04)	35 0,01 (0-0,05)	24 0 (0-0,03)	<0,001
IGEE ALA/IGET	70 0,01 (0-0,02)	56 0,01 (0-0,02)	44 0(0-0,01)	35 0 (0-0,02)	24 0 (0-0,01)	0,011
IGEE BLG/IGET	69 0,01 (0-0,02)	56 0,01 (0-0,02)	44 0,01 (0-0,01)	35 0 (0-0,02)	24 0 (0-0,01)	0,006
IGEE CAS/IGET	70 0,01 (0-0,03)	56 0,01 (0-0,02)	44 0 (0-0,02)	35 0 (0-0,02)	24 0 (0-0,01)	<0,001
IGEE BSA/IGET	65 0,02 (0,01-0,08)	53 0,01 (0-0,04)	44 0,01 (0-0,03)	35 0,01 (0-0,03)	24 0 (0-0,01)	<0,001
IGEE LC/IGET	68 0,02 (0,01-0,04)	55 0,01 (0-0,03)	44 0,01 (0-0,03)	35 0 (0-0,02)	24 0 (0-0,01)	<0,001
IGEE LO/IGET	68 0,01 (0,01-0,04)	54 0,01 (0-0,03)	43 0,01 (0-0,02)	35 0,01 (0-0,03)	24 0 (0-0,01)	<0,001
IGEE LH/IGET	68 0,02 (0,01-0,05)	55 0,01 (0-0,02)	44 0 (0-0,02)	35 0 (0-0,02)	24 0 (0-0,01)	<0,001

IGEE: IgE específica; kU/L: kilounidades por litro; N: número de pacientes; ric: rango intercuartílico; LV: leche de vaca; ALA: alfa lactoalbúmina; BLG: betalactoglobulina; CAS: caseína; BSA: albúmina sérica bovina; LC: leche de cabra; LO: leche de oveja; LH: leche hervida; IGET: IgE total, ns: no significativo.

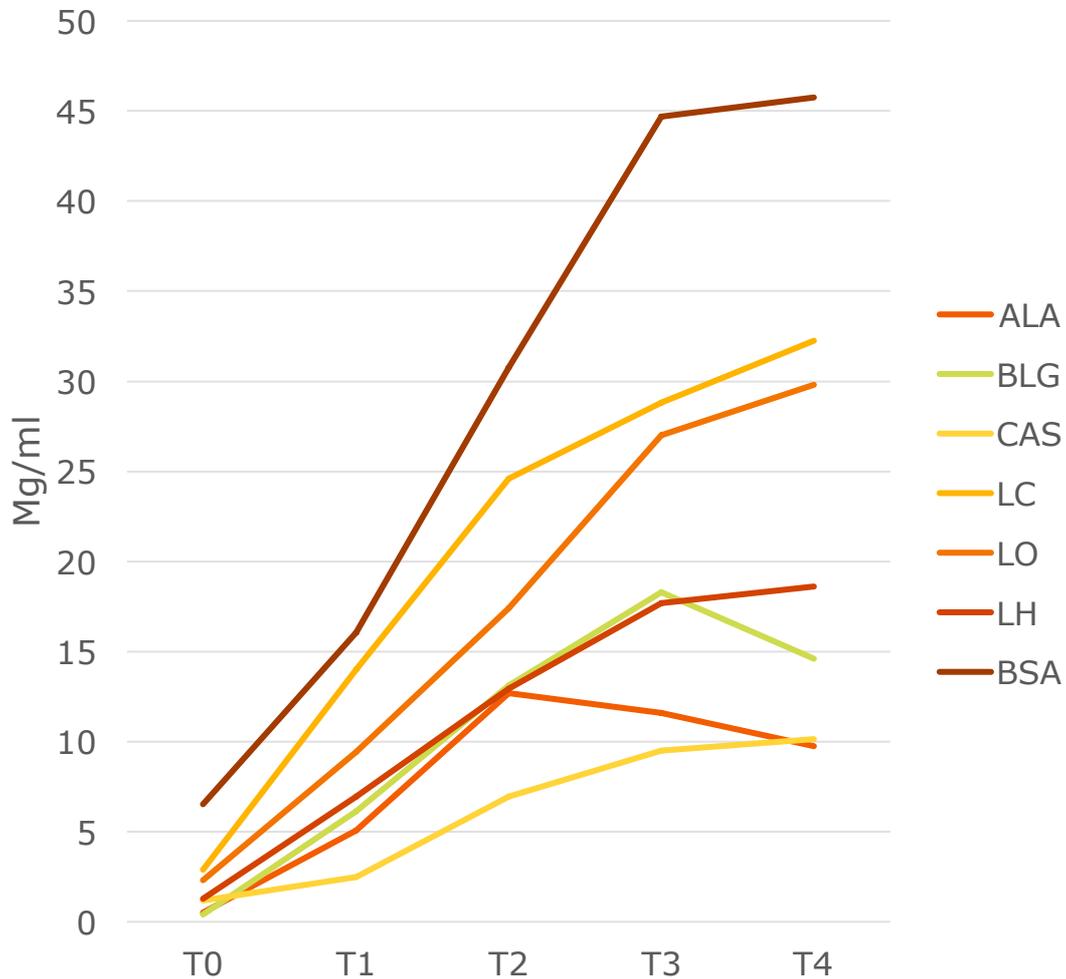
Por el contrario se observó un aumento significativo de los valores de IgG4 específica frente a las distintas proteínas de leche, leche hidrolizada, leche de cabra y oveja:

Tabla 41: Evolución de los valores de IgG4 específicas a lo largo de los tiempos del estudio.

IGG4 (mg/ml)	T0 N Mediana (ric)	T1 N Mediana (ric)	T2 N Mediana (ric)	T3 N Mediana (ric)	T4 N Mediana (ric)	P
TOTAL	53 0,16 (0,09-0,30)	51 0,28 (0,12-0,63)	43 0,4 (0,17-0,62)	33 0,40 (0,20-0,74)	23 0,54 (0,19-0,83)	ns
IGG4 ALA	68 0,51 (0,11-2,19)	56 5,08 (0,81-25,1)	44 12,7 (1,91-103,38)	35 11,6 (1,12-130)	24 9,75 (1,09-53,95)	<0,001
IGG4e BLG	68 0,40 (0,13-1,85)	57 6,15 (1,52-32,7)	44 13,1 (1,26-77,48)	35 18,3 (1,61-71,2)	24 14,6 (1,26-11,03)	<0,001
IGG4e CAS	68 1,18 (0,37-2,90)	57 2,5 (0,84-14,65)	44 6,95 (1,34-40,75)	35 9,5 (1,52-58)	24 10,13 (2,25-63,9)	<0,001
IGG4e BSA	59 6,51 (2,28-13,20)	54 16,05 (8,13-76,23)	42 30,75 (11,05-204,75)	35 44,7 (8,95-204)	24 45,75 (14,7-253)	<0,001
IGG4e LC	68 2,89 (1,04-5,55)	57 14 (4,17-48,7)	44 24,6 (7,96-181)	35 28,8 (7,13-181)	24 32,25 (10,28-160,55)	<0,001
IGG4e LO	68 2,30 (0,91-5,39)	57 9,43 (4,30-54,55)	44 17,4 (6,18-148,75)	35 27 (5,12-154)	24 29,8 (6,97-153,18)	<0,001
IGG4e LH	68 1,28 (0,32-4,27)	57 6,96 (2,47-39,8)	44 12,95 (3,87-98,8)	35 17,7 (2,85-123)	24 18,6 (3,75-134,18)	<0,001

IGG4e: IgG4 específica; mg/ml: miligramos por mililitro; T: tiempo del estudio; N: número de pacientes; ric: rango intercuartílico; ALA: alfa lactoalbúmina; BLG: betalactoglobulina; CAS: caseína; BSA: albúmina sérica bovina; LC: leche de cabra; LO: leche de oveja; LH: leche hervida; ns: no significativo.

Gráf. 20: Evolución de los valores de IgG4 específicas a lo largo de los tiempos del estudio.



IGG4e: IgG4 específica; mg/ml: miligramos por mililitro; T: tiempo del estudio. Valores expresados en mediana; ALA: alfa lactoalbúmina; BLG: beta lactoglobulina; CAS: caseína; BSA: albúmina sérica bovina; LC: leche de cabra; LO: leche de oveja; LH: leche hervida; IGG4 T: IgG4 total; ns: no significativo.

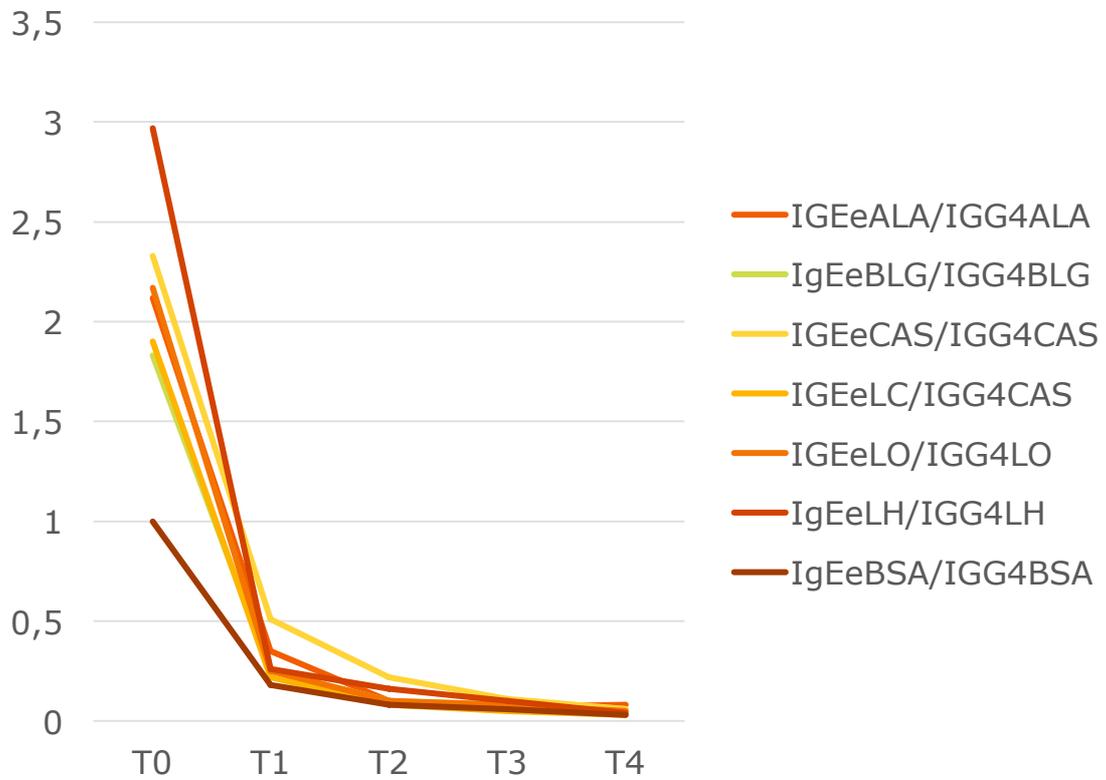
Los cocientes IgE/IgG4 para cada proteína de leche, leche hervida, leche de cabra y de oveja disminuyeron significativamente con la ITO, tal como se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 42: Evolución de los cocientes IgEe/IgG4e a lo largo de los tiempos del estudio.

COCIENTE IGEe/IGGe	T0 N Mediana (ric)	T1 N Mediana (ric)	T2 N Mediana (ric)	T3 N Mediana (ric)	T4 N Mediana (ric)	P
IGEe ALA/ IGG4 ALA	57 2,12 (0,76-13,8)	53 0,35 (0,07-0,97)	44 0,10 (0,02-0,62)	34 0,07 (0,01-0,51)	23 0,08 (0,01-0,23)	<0,001
IGEe BLG/ IGG4 BLG	59 1,83 (0,8-7,3)	55 0,25 (0,04-1,02)	42 0,1 (0,02-0,35)	31 0,08 (0,01-0,18)	20 0,06 (0,02-0,16)	<0,001
IGEe CAS/ IGG4 CAS	69 2,33 (0,52-6,83)	57 0,51 (0,1-1,23)	44 0,22 (0,05-0,61)	35 0,11 (0,02-0,35)	24 0,06 (0,03-0,22)	<0,001
IGEe BSA/ IGG4 BSA	59 1 (0,60-2,52)	53 0,18 (0,05-0,55)	42 0,08 (0,02-0,26)	35 0,06 (0,02-0,27)	24 0,03 (0,01-0,14)	<0,001
IGEe LC/ IGG4 LC	68 1,9 (0,6-6,64)	56 0,22 (0,05-0,98)	44 0,08 (0,02-0,49)	35 0,05 (0,02-0,30)	24 0,03 (0,02-0,14)	<0,001
IGEe LO/ IGG4 LO	68 2,17 (0,65-6,19)	55 0,25 (0,04-1,12)	44 0,10 (0,02-0,64)	35 0,08 (0,03-0,37)	24 0,05 (0,02-0,22)	<0,001
IGEe LH/ IGG4 LH	63 2,97 (1-15,93)	55 0,26 (0,04-1)	44 0,16 (0,01-0,66)	35 0,1 (0,01-1)	24 0,04 (0,02-0,23)	<0,001

IGEe: IgE específica; IgG4e: IgG4 específica; N: número de pacientes; ric: rango intercuartílico; LV: leche de vaca; ALA: alfa lactoalbúmina; BLG: betalactoglobulina; CAS: caseína; BSA: albúmina sérica bovina; LC: leche de cabra; LO: leche de oveja; LH: leche hervida; ns: no significativo.

Gráf. 21: Evolución de los cocientes IgEe/IgG4e a lo largo de los tiempos del estudio.



IGEe: IgE específica; IgG4e: IgG4 específica; ALA: alfa lactoalbúmina; BLG: betalactoglobulina; CAS: caseína; BSA: albúmina sérica bovina; LC: leche de cabra; LO: leche de oveja; LH: leche hervida; T: tiempo del estudio.

## 7. DISCUSIÓN

---



En los niños, la leche de vaca es, junto con el huevo, el alimento más frecuentemente implicado. En concreto la prevalencia de alergia a la leche en el primer año de vida es del 2,5% de los recién nacidos (77)(78). Datos en nuestro país ofrecen datos algo inferiores, situándola entre el 0,36 y el 1,9% (84,85). Dada su prevalencia y debido a que es un alérgeno en el que está indicado el uso de ITO según los criterios de Mc Ewen (305), es el motivo del trabajo que ahora mostramos.

Las reacciones alérgicas a las proteínas de la leche de vaca son reacciones adversas de mecanismo inmunológico con frecuencia mediadas por IgE (67). Es por ello que nos hemos centrado exclusivamente en este tipo de reacciones.

En concreto, hemos incluido en este trabajo 104 niños entre 3 y 18 años que acudían a nuestra consulta de manera consecutiva para valoración de su APLV y que habían sido previamente diagnosticados en nuestro hospital o fuera de él. Este diagnóstico, siguiendo las guías de diagnóstico propuesto por la SEAIC (144), se había realizado por presentar los pacientes una historia clínica sugestiva de APLV y que se acompañaba de la demostración de la presencia de IgEe frente a este alimento, ya fuera por pruebas cutáneas, determinación sérica de IgEe o ambas, en el momento del diagnóstico. Esto fue confirmado en el momento del reclutamiento de los pacientes, independientemente de dónde se hubiera realizado el diagnóstico, ya que existen publicaciones que muestran que muchas de las sospechas de reacciones alérgicas a los alimentos en realidad no son tales (99–102).

Una de las debilidades potenciales de nuestro trabajo es que la estimación del tamaño muestral fue de 110 pacientes y la muestra realmente seleccionada fue de 104 niños

## **7.1 VALORACIÓN BASAL SEGÚN TOLERANCIA O REACTIVIDAD CLÍNICA A LECHE**

La primera parte del estudio comprendió la búsqueda de parámetros predictivos de utilidad para determinar si un paciente diagnosticado de APLV, en evolución sigue siendo reactivo a la leche de vaca o ha superado su APLV. En este sentido, uno de los puntos débiles de este trabajo es que no se realizó una PEOC con leche a los niños con valores elevados de IgEe, por lo que no podíamos definir claramente en todos los pacientes reclutados en el estudio si pertenecían al grupo de APLV persistente o por el contrario la habían superado. De los 54 pacientes que efectuaron esta prueba, 34 de ellos la superaron, por lo que pudimos comprobar que eran pacientes tolerantes y así los definimos, con una excepción. El paciente 56 superó en el momento inmediato de la PEOC la administración de leche pero, tal y como se ha descrito por otros autores que sucede (148,149), presentó síntomas de APLV en los días siguientes a la

realización de la prueba y se definió como reactivo. Los otros 20 pacientes presentaron síntomas durante la PEOC, por lo que pudieron clasificarse como reactivos. Un paciente adicional a quien se indicó PEOC con leche abandonó el estudio antes de su realización. En cualquier caso, restaban 49 pacientes a los que no se les realizó la prueba. A todos estos se les ofreció y aceptaron la realización del tratamiento con ITO con leche. Durante este procedimiento, 42 de estos niños que no hicieron PEOC presentaron reacciones adversas subjetivas repetidas u objetivas, por lo que pudimos también clasificarlos como pacientes reactivos de manera inequívoca, perdiendo así únicamente 7 pacientes que, a pesar de tener valores de IgEe con VPP elevado de presentar APLV persistente, no consideramos para el análisis respecto a la adquisición de tolerancia o persistencia de reactividad por no poder tener certeza de ello. Estos datos demuestran la utilidad de los puntos de corte en predecir muchos de los pacientes con reactividad clínica y nos ayudarán en la toma de decisión de realizar o no la PEOC en función de la certeza diagnóstica que queramos alcanzar y el riesgo que estemos dispuestos a asumir (414).

### **7.1.1 Parámetros clínicos y demográficos de los pacientes en la valoración basal (T0) según tolerancia o reactividad**

Observamos homogeneidad entre los grupos de pacientes tolerantes y reactivos en cuanto a sexo, no observando mayor reactividad de APLV entre los pacientes varones, aunque se ha definido como factor de riesgo de persistencia (225). Sin embargo, observamos una mayor edad de inclusión en el estudio en aquellos pacientes reactivos, de acuerdo con otros grupos que establecen los 5 años como edad a partir de la cual el pronóstico de superación se ensombrece (223,224)(225)(224)(224)(224)(224)(224)(223).

En los pacientes reactivos fueron más frecuentes los antecedentes personales de alergia alimentaria y alergia respiratoria, tanto en forma de rinitis como de asma bronquial. La evolución a alergia a otros alimentos y a patología alérgica respiratoria es frecuente en los pacientes con APLV (415–417) (418)(419) (416,420) (421)(422), y quizá el que la frecuencia sea mayor en los pacientes reactivos tenga que ver con la gravedad del condicionamiento atópico, de forma que sean estos los pacientes que protagonizan la marcha o progresión atópica.

La mediana de edad de inicio es de 5 meses en ambos grupos, edad típica de debut de la APLV, que es excepcional después del segundo año de vida. Los síntomas al

diagnóstico que se presentan en nuestros pacientes con más frecuencia son los síntomas cutáneos, tal y como definen otros autores (123)(124) pero, a diferencia de ellos, no son los síntomas digestivos los segundos en frecuencia, sino la anafilaxia que otros estudios encuentran infrecuentemente al debut diagnóstico. Las ingestiones accidentales antes del reclutamiento, son igualmente frecuentes en los pacientes independientemente de que fueran reactivos o tolerantes, presentándose en más de la mitad de los pacientes, algo superior a la cifra del 40% referida por otros autores previamente (262). El 96% de estas transgresiones fueron positivas. En este valor puede influir el sesgo de memoria, ya que es más probable que se recuerden aquellas transgresiones positivas que negativas. En cualquier caso, estos datos no hacen sino demostrar la dificultad de la evitación de este alérgeno tan ubicuo en nuestro medio.

## **7.1.2 Pruebas diagnósticas en la valoración basal según tolerancia o reactividad**

### **7.1.2.1 Pruebas *in vivo***

En los resultados de las pruebas intraepidérmicas observamos diferencias significativas entre los grupos de tolerantes y reactivos para los resultados obtenidos con todos los extractos, siendo mayores en los niños del grupo de reactivos.

Por otro lado, encontramos que, como se ha descrito previamente (43)(58), la mayoría de los pacientes están sensibilizados a más de uno de los alérgenos de la leche de vaca, en ambos grupos de pacientes. Sin embargo, la presencia de reactividad cruzada con leches de otros mamíferos como la cabra y oveja descrita por diferentes autores (59,60), al menos en las pruebas cutáneas, la observamos predominantemente en los pacientes reactivos, lo que es lógico si tenemos en cuenta que una vez alcanzada la tolerancia espontánea frente a leche de vaca, se logra también para la leche del resto de mamíferos. La persistencia de sensibilización cutánea frente a leche oveja y/o cabra, podría constituir un dato de mal pronóstico de evolución a tolerancia espontánea.

El análisis ROC de las pruebas cutáneas como método para clasificar a los pacientes como tolerantes o reactivos mostró buenas áreas bajo la curva, con valores por encima de 0,76 salvo para la prueba intraepidérmica con leche hidrolizada (0,61). La máxima eficacia discriminadora entre estas dos situaciones clínicas la obtuvimos con la prueba intraepidérmica con queso de oveja (0,91) donde una positividad (pápula de

3 o más milímetros) ofrece una especificidad del 95% y una sensibilidad del 68% con un valor predictivo positivo de persistencia del 96% y un valor predictivo negativo del 63% para diagnóstico de persistencia de reactividad clínica.

### **7.1.2.2 Pruebas *in vitro***

#### **7.1.2.2.1 TAB**

El TAB cuantifica la activación de los basófilos en respuesta al antígeno, midiendo el porcentaje de basófilos que expresan la proteína CD63 (216) o CD203c (218)(219) en su membrana, que es detectada mediante citometría de flujo con la ayuda de anticuerpos monoclonales unidos a fluorocromos y ha sido considerada como una prueba de provocación *ex vivo*.

El TAB ha sido empleado como método diagnóstico y de seguimiento en la alergia a alimentos, con distintos niveles de sensibilidad y especificidad según el alérgeno en estudio (220) (221) (118) (119).

Wanich N et al, en el año 2008, obtiene un resultado significativo para la diferenciación entre los 13 pacientes alérgicos de su estudio, que obtienen una mediana de 66,5% de activación (ric: 51,6-71,3) y los 32 pacientes tolerantes (mediana 15,9, ric 4,5-22,1), realizando el TAB con una concentración de leche de  $3 \times 10^{-1}$  a  $3 \times 10^{-4}$   $\mu\text{g/ml}$  (119). Rubio A, et al en el año 2010, analizando un mayor número de pacientes y enfrentando los basófilos a unas concentraciones de leche de vaca de 100, 10 y 1 ng/ml, obtiene resultados del 20,9% de activación de basófilos de media (sd 18,8) en los 36 niños alérgicos y del 3,9% (sd 9,8) en los 61 pacientes tolerantes. Obtiene un buen valor de esta prueba como predictor de reactividad clínica (ABC 0,866) así como una buena correlación del TAB con dosis umbral de leche que ocasiona la reacción alérgica. El punto de corte que establece para la APLV es del 6% de activación de basófilos, con una S 91%, E 90%, VPP 81%, VPN 96% (118).

En nuestro trabajo, en los resultados obtenidos mediante el TAB también observamos que la activación de basófilos a leche de vaca en cualquiera de las concentraciones testadas (1.000, 100 y 10 ng/ml) fue significativamente mayor en los pacientes reactivos que en los tolerantes.

Sin embargo, con los datos obtenidos en 83 pacientes, su valor como predictor de tolerancia no alcanza un buen valor bajo la curva para la concentración de 10ng/ml de leche (ABC: 0,68 (0,57-0,80)) y es aceptable para las concentraciones de 100 ng/ml y 1.000 ng/ml, que es de 0,78 (0,68-0,88) y 0,77 (0,67-0,87) respectivamente, pero lejos

de los valores de Rubio A et al.

Hemos establecido los puntos de corte para alcanzar una especificidad del 95%, siendo éstos del 48%, 34% y 13% de activación de basófilos para las concentraciones de leche de vaca de 1.000 ng/ml, 100 ng/ml y 10 ng/ml con unas sensibilidades de tan solo el 35%, 33% y 26%, respectivamente. Los valores predictivos positivos de estos punto de corte de activación de basófilos, sólo alcanzan el 90% en el caso del TAB a la concentración de 1.000 ng/ml y su valor predictivo negativo es del 48%.

Si consideramos los valores de activación que otorgan a la técnica una especificidad del 90%, como hacen Rubio A, et al, los resultados son más cercanos a los suyos: un punto de corte del 31%, 11% y 6% de activación de basófilos para las concentraciones de 1.000 ng/ml, 100 ng/ml y 10 ng/ml de leche de vaca, respectivamente, con unas sensibilidades del 51% para la concentración menor y del 43% para las otras dos concentraciones restantes.

Una limitación del TAB es que sus resultados dependen de la reactividad celular definida como la máxima respuesta celular en respuesta a una estimulación óptima (220)(217). Se ha descrito la existencia de pacientes no respondedores, esto es, pacientes cuyos basófilos no responden a los controles positivos (220) (423) (424). En el presente estudio encontramos a 7 pacientes en esta situación, por lo que los hemos excluido del análisis por ser imposible interpretarlos como positivos o negativos, de la misma manera que se ha permitido en otros casos (425) y han decidido otros autores previamente (118)(376)(222). Del mismo modo, hemos eliminado otros 9 pacientes con los que se obtuvo resultado positivo en el TAB con el control negativo, por no poder garantizar la fiabilidad de los resultados de la prueba, quedando así 83 pacientes para el análisis previamente descrito, lejos de los 110 estimados en el cálculo muestral, lo que supone una debilidad para este estudio.

Hay autores que valoran la utilidad de esta prueba en base al cociente entre la activación específica obtenida en respuesta al alérgeno y la activación no específica obtenida por la unión a FcεRI (control positivo), encontrando una correlación con la reactividad clínica, la gravedad de la reacción y la dosis umbral que ocasiona la reacción durante la PEOC (118).

El TAB presenta, como otras técnicas, falsos positivos, lo que se podría deber a que el TAB mide *in vitro* la activación de basófilos aislados, sin tener en cuenta el resto de mecanismos reguladores involucrados en la inducción de tolerancia clínica *in vivo* a nivel del TGI o sistémico (118). Estos mecanismos podrían ser el de la acción bloqueante de la IgG específica como postula Wanich (222) o por las células T reguladores antígenoespecíficas como hipotetizan otros autores (87)(88).

Del mismo modo, existen también falsos negativos en el TAB, pudiendo no detectar pacientes incluso con reacciones graves en la PEOC (118). Esto podría deberse a la implicación de otros factores diferentes a los basófilos en el desencadenamiento de la reacción alérgica.

En cualquier caso, según nuestros resultados, el TAB es útil en diferenciar pacientes tolerantes y reactivos y hemos podido establecer puntos de corte de decisión con buena especificidad aunque baja sensibilidad. Estos datos, unidos a los resultados de las pruebas cutáneas e IgE específicas, podrían ayudarnos en la elección del momento en el que realizar la PEOC con leche de vaca, pero de forma aislada, su rentabilidad diagnóstica es inferior a la de estos procedimientos diagnósticos.

#### **7.1.2.2.2 IGE total, específica y cocientes**

La determinación de IgE específica tiene buena rentabilidad diagnóstica para la leche (133)(163), de forma que un valor negativo para la IgE específica frente a esta proteína permite obviar el resto de determinaciones de IgE frente a proteínas. Sin embargo según algunos autores, en caso de presentar una prueba positiva frente a leche completa, la determinación de sus fracciones proteicas podría resultar de interés pronóstico (166), ya que se ha descrito que su descenso guardaría una buena correlación con la tolerancia clínica (168), en concreto para la IgE específica frente a caseína y betalactoglobulina (169). En nuestro trabajo observamos que los niveles de IgE específica tanto frente a leche de vaca cruda o hervida, frente a sus diferentes proteínas y a leche de oveja y cabra fueron significativamente mayores en el grupo de niños reactivos en T0 que los tolerantes en ese momento. La utilidad de la determinación de IgE frente a las diferentes especificidades para distinguir entre pacientes tolerantes y reactivos, valorada mediante curvas ROC, arrojó buenas áreas bajo las curvas ROC en todas las determinaciones de IgE específica, pero no especialmente para la caseína o betalactoglobulina como se ha descrito previamente, sino que los mejores resultados los hemos obtenido para la leche de vaca (0,88), cabra (0,90), oveja (0,89) y hervida (0,87) y para la BSA (0,88).

Existen diferentes técnicas de laboratorio para la detección de IgE específica, pero es a partir de 1990 cuando aparece la nueva generación de técnicas, siendo el sistema CAP de Thermofisher® la más perfeccionada. Es por ello por lo que hemos seleccionado esta técnica para la determinación de IgE específicas de los pacientes en nuestro estudio. Su sensibilidad permite la determinación cuantitativa de IgE específica de antígeno, lo que ha hecho posible el estudio de la relación entre el valor

de IgE específica y la reactividad o sensibilidad clínica del individuo (135)(137)(138)(168)(169)(170)(171) y el establecimiento de puntos de corte de interés en la toma de decisiones clínicas. A este respecto, la utilidad del CAP ha pretendido ir más allá en la diferenciación entre pacientes tolerantes y reactivos. Se ha postulado que la monitorización de los niveles de IgE específica a lo largo del tiempo puede ser útil para determinar la oportunidad o no de realizar una nueva prueba de exposición oral. Para ello, muchos autores han tratado de definir diferentes puntos de corte que permitan predecir el momento de realizar estas pruebas que son laboriosas y ponen en riesgo al paciente. Tras varios trabajos publicados, se ha puesto de manifiesto la existencia de una gran variabilidad entre los diversos puntos de corte para el mismo alimento. Esta variabilidad está originada por las diferencias en la metodología empleada, la heterogeneidad en los criterios de inclusión de la población en estudio (edad, presencia o no de dermatitis atópica,..) y la falta de definición de la reacción clínica que se va a evaluar. Esto va a condicionar la pertinencia de aplicar un determinado punto de corte a nuestra población. Será factible su utilización para predecir reactividad clínica en la medida en que la población del estudio y la nuestra sean parecidas (177). Por este motivo, los puntos de corte seleccionados en nuestro trabajo para la toma de decisión de la realización o no de una PEOC, han sido los de un grupo español (412). Este trabajo selecciona, como en nuestro caso, niños previamente diagnosticados de APLV y observa que niveles de IgEe indicadores de reactividad clínica aumentan con la edad del paciente, definiendo los puntos de corte en función de la edad:

- Niño 12 meses: IgEe leche  $\geq 2,58$  kU/L o IgEe caseína  $\geq 0,97$  kU/L.
- Niños 18 meses: IgEe leche:  $\geq 2,5$  kU/L o IgEe caseína  $\geq 1,22$  kU/L.
- Niños 24 meses: IgEe leche  $\geq 2,7$  kU/L o IgEe caseína  $\geq 3$  kU/L.
- Niños 36 meses: IgEe leche  $\geq 2,26$  KU/L o IgEe caseína  $\geq 2,39$  kU/L.
- Niños 48 meses: IgEe leche  $\geq 5$  kU/L o IgEe caseína  $\geq 2,73$  kU/L.

Según estos y otros autores, los puntos de corte pueden ser útiles en el diagnóstico y también en el seguimiento de los niños alérgicos a la leche. Por lo tanto, se puede considerar de utilidad la monitorización de los niveles de IgE específica a lo largo del tiempo para determinar la oportunidad o no de realizar una nueva prueba de exposición oral.

En nuestro trabajo, hemos aplicado estos puntos de corte de VPP previsto del 90% para tomar la decisión de si realizar o no PEOC en el momento de la inclusión. Es

decir, el 90% (44 niños) de los 49 pacientes que iniciaron la ITO directamente, sin realizar PEOC, podríamos esperar que mantuvieran la reactividad clínica. Durante la ITO de estos 49 pacientes, 42 (86%) presentaron reacciones adversas, confirmándose la reactividad clínica. Tan sólo en 7 pacientes desconocemos si eran tolerantes al inicio del tratamiento o si por el contrario eran reactivos pero presentaron una buena tolerancia a la ITO. Estas cifras avalan la pertinencia de aplicar los puntos de corte seleccionados en otra población de similares características.

Respecto a las concentraciones de IgE frente a las diferentes especificidades que en nuestro estudio mostraron una especificidad del 95% en la distinción entre tolerancia adquirida y persistencia de reactividad clínica, fue la de IgE a leche de cabra la que se correspondió con mayor sensibilidad, de forma que 2,6 KU/L a leche de cabra es la concentración por encima de la cual la técnica ofrece una especificidad del 95% con una sensibilidad del 69% en la distinción de estas dos situaciones evolutivas de la APLV. Para el resto de determinaciones, a los valores con especificidad del 95% les corresponden valores de sensibilidad de entre el 37 y el 67%. El máximo valor predictivo positivo en nuestra muestra lo obtuvo la determinación de IgE a leche de vaca en la que una concentración mayor o igual a 3,9 KU/L predice con un 97% de probabilidad persistencia de reactividad clínica, pero el valor predictivo negativo de niveles de IgE a leche de vaca por debajo de 3,9 KU/L es de tan solo el 59%. Este punto de decisión para nuestra muestra cuya edad mediana fue de 48 meses (rango intercuartílico 39-80 meses) coincide con lo publicado (420), no así el punto de corte de IgE a caseína con VPP del 95%, que en nuestra muestra fue de 1,4 KU/L, inferior a lo descrito por estos autores para esta edad. Aunque los puntos de corte pueden proporcionar una valiosa orientación que nos permita decidir no realizar una PEOC, están lejos de tener un buen rendimiento en el diagnóstico de la alergia mediada por IgE, ya que, en general, a los puntos de corte con VPP de 95% correspondieron VPN que oscilaron entre el 54 y el 60%, lo cual limita su ayuda en la toma de decisión con respecto a la exposición oral (164). Queremos resaltar que según nuestros resultados la determinación de IgE a leche de cabra ofrece buen rendimiento en la distinción de tolerancia adquirida versus persistencia de reactividad clínica, de forma que los niveles de IgE a leche de cabra por encima de 2,6 KU/L predicen con un 95% de probabilidad de acierto persistencia de la reactividad clínica y los niveles por debajo de esta cifra en el 60% de los casos se obtienen en pacientes que han alcanzado la tolerancia de forma espontánea.

También se ha estudiado si la cantidad de IgE total puede modificar la interpretación de los niveles de IgE específica. Según estudios publicados, el cociente entre IgE específica y total no aportaría ninguna ventaja adicional en la precisión de la prueba (184). De acuerdo con esto, en nuestros resultados observamos que, si bien los cocientes entre cada una de las IgE específicas y la IgE total fueron significativamente superiores en el grupo de reactivos, no aportan datos adicionales a la determinación

única de las IgE específicas.

En cuanto al valor de la IgE total de manera aislada, aunque no se trata de una determinación que se haya definido de utilidad, nosotros encontramos que sus valores fueron significativamente mayores en el grupo de niños reactivos en T0 que los tolerantes en ese momento.

En los últimos años se ha desarrollado la investigación sobre el reconocimiento por parte de la IgE de determinados epítomos de las proteínas de la leche de vaca, identificándose ciertos epítomos lineales de la BLG y de la caseína reconocidos por pacientes con alergia persistente a la leche de vaca (186) (187) (188) (189) (426) (49)(191) (50)(193). Sin embargo, el papel de estos epítomos en el diagnóstico y manejo de la APLV no está bien establecido (194) y no los hemos utilizado en nuestro trabajo.

#### **7.1.2.2.3 IGG4 total, específica y cocientes**

La producción de IgG e IgG4 frente a los alimentos ingeridos ocurre normalmente y no implica que se manifiesten síntomas clínicos (195), sino que sus valores dependen de exposición, la ruta de exposición e incluso del grado de sensibilización IgE (196)(197).

En este trabajo, observamos que ni los valores de IgG4 total ni IgG4 específicas frente a leche y sus proteínas, ni los cocientes entre éstas y la IgG4 total, son útiles para diferenciar entre pacientes tolerantes o reactivos frente a PLV, no mostrándose diferencias significativas entre ambos grupos, salvo para las IgG4 específicas frente a caseína y leche hervida, que fueron significativamente más altos en el grupo de pacientes reactivos. Por lo tanto, de acuerdo con publicaciones previas, no encontramos correlación entre la determinación de IgG4 sérica específica y la prueba de exposición oral con alimentos (195)(198). Aunque diversos autores han intentado relacionar distintas patologías con la presencia de anticuerpos IgG frente a alimentos (205)(206)(207)(208), a día de hoy la falta de rigor científico de las pruebas desaconseja su uso en el diagnóstico o tratamiento de la alergia a los alimentos (209).

Según los datos bibliográficos, tampoco la proporción IgE/IgG4 (202) parece ser de utilidad diagnóstica, salvo en un estudio en el que encuentran proporción más alta de IgE/IgG4 e IgG1/IgG en los niños alérgicos a huevo con prueba de exposición positiva (204). Nosotros encontramos que todos los cocientes entre las IgE específicas frente a las proteínas de leche de vaca, leche de cabra, leche de oveja y BSA y sus correspondientes IgG4 específicas, mostraron significación en sus diferencias entre los grupos tolerantes y reactivos, probablemente por la significación de la IgE específica frente a esos extractos, que como he descrito previamente, eran las que ofrecían mejores resultados para distinguir entre pacientes tolerantes y reactivos.

## 7.2 Tratamiento de la APLV

### 7.2.1 Tratamiento convencional

El tratamiento convencional de la alergia alimentaria es de difícil cumplimiento. Por un lado, la evitación del alérgeno es difícil en un alimento tan ubicuo como la leche, como ya ha sido ampliamente descrito (130) y lo demuestra el alto número de transgresiones y el alto porcentaje de positividad de las mismas obtenido en nuestro trabajo. Por otro lado, el reconocimiento y tratamiento de las reacciones alérgicas es difícil si no se prescribe un adecuado tratamiento de rescate, como ocurre en 88% de los pacientes encuestados a pesar de que el 32% de ellos presentó anafilaxia en su debut en la APLV. Esto probablemente se deba a que el 85% de los diagnósticos se realizan fuera de las consultas especializadas, con un peor conocimiento en el manejo a largo plazo de la patología alergológica. Todo esto muestra la necesidad de la educación no sólo a pacientes, sino también al personal sanitario, en el tratamiento de las reacciones alérgicas.

### 7.2.2 Tratamiento con inmunoterapia oral con leche

La inmunoterapia con alimentos surgió como alternativa al tratamiento convencional. La leche de vaca es uno de los alérgenos más adecuados para este tratamiento dada su dificultad para eliminar su exposición (303)(306).

Como resalta Yee CS, existe gran heterogeneidad en los protocolos utilizados por los distintos autores y nosotros elegimos los distintos aspectos de la ITO tal y como detallo a continuación (139).

Elegimos como fuente alergénica la leche fresca por su accesibilidad y facilidad de dosificación.

Dado que no existe, por el momento, consenso sobre si la inmunoterapia está más indicada en pacientes con alergia grave, en pacientes con alergia leve-moderada a leche de vaca, o en ambos grupos y de que en ambos casos el tratamiento se ha mostrado eficaz, ofrecimos, y aceptaron, la ITO los 21 pacientes que presentaron reacciones adversas durante la PEOC y los 49 en los que no se realizó la PEOC por presentar valores elevados de IgE específica, resultando en total 70 pacientes.

En cuanto a la edad en la selección de pacientes, es a partir de los 4 años cuando se ha definido que la evolución a la tolerancia es más difícil y los pacientes constituyen un grupo de riesgo de reacciones anafilácticas por ingestión de leche como alérgeno oculto (264), por lo que la mayoría de los centros inician la ITO a partir de esta edad (306). Sin embargo, nosotros establecimos la edad de 3 años como periodo de

inclusión y edad de inicio de la ITO por dos motivos fundamentales: por un lado, porque el porcentaje de evolución a la curación disminuye a partir de esta edad (223,224). Por otro lado, Martorell y cols (315) demostraron un claro beneficio del tratamiento con ITO con leche respecto al tratamiento convencional en niños menores de 4 años de edad.

La vía oral fue la ruta elegida dado que es la vía más ampliamente utilizada y la que ha demostrado mayor eficacia hasta el momento (302).

La elección de la pauta de tratamiento, lenta, rápida o combinada no está claramente establecida. Nosotros seleccionamos la pauta combinada propuesta por una sociedad científica como es la SEICAP, con pauta hospitalaria y domiciliaria (307)(312)(330).

Aunque esta pauta tiene una dosis fija de inicio de la que partimos en los pacientes que no siguieron PEOC, utilizamos una dosis de inicio variable en los pacientes que siguieron PEOC y que correspondió a la dosis inferior a la dosis que produjo la reacción alérgica en la PEOC en los pacientes que no toleraron la leche durante la misma, lo que es superior a la utilizada por algunos autores (308) e inferior a otros (321).

El incremento de dosis fue semanal, tal y como se describe en otras pautas combinadas y duplicando dosis cada vez (313)(318,327). La dosis de mantenimiento final fue una dosis elevada, equivalente a una ración de leche de 200 ml, como ya han utilizado otros autores previamente (314)(313)(323), administrada una vez al día.

En cuanto a la eficacia obtenida con este tratamiento, la describimos en primer lugar como aquellos pacientes que alcanzaba esta dosis final. Según este criterio, los resultados descritos de eficacia en la bibliografía oscilan entre el 36% (307) y el 88% (314). Nosotros nos colocamos en el rango máximo de eficacia según este criterio, obteniendo un resultado del 88,7%.

Pero actualmente, para referirnos a la eficacia real del tratamiento con inmunoterapia oral, debemos distinguir los términos, desensibilización y tolerancia permanente, para lo que es necesaria la realización de una PEOC tras un periodo de eliminación de la leche como dosis de mantenimiento. Esta prueba se está llevando a cabo en el momento actual, por lo que aún no podemos determinar el porcentaje de curación real alcanzada en nuestros pacientes.

Sin embargo, se debe tener en cuenta que los resultados de eficacia en sí misma no tienen un valor real si no se contrastan con los resultados de seguridad, por lo que sí quisimos definir lo que consideramos ITO de buena o mala evolución en función de los criterios explicados previamente (apartado 6.2.2). Según estos criterios, obtuvimos un porcentaje del 60% de ITOs de buena evolución.

En base a esta clasificación, intentamos ver si existían criterios que nos pudieran predecir, antes de iniciar el tratamiento, qué pacientes iban a pertenecer a uno u otro grupo.

Entre los grupos de buena y mala tolerancia durante el tratamiento, no hubo diferencias significativas en los datos demográficos en cuanto a sexo, edad (tanto de inclusión como al diagnóstico), tipo de reacción adversa al diagnóstico, antecedentes familiares y antecedentes personales, salvo la frecuencia de alergia respiratoria que fue significativamente mayor en el grupo de mala evolución. De acuerdo con esto, se ha descrito que el asma bronquial es un factor de gravedad en la alergia alimentaria y de peor tolerancia en la ITO (348).

Tampoco se obtuvo significación en el curso del procedimiento en cuanto a dosis mínima que ocasionó la reacción ni duración de la fase de inicio.

Tampoco se presentaron diferencias significativas en el resultado de la tolerancia a leche de oveja comprobada mediante PEOC. El resultado global de falta de tolerancia fue del 7,7%, muy inferior al descrito previamente del 26% de Rodríguez y cols (355). Esto probablemente se debe a que en algunos pacientes no se realizó la prueba por persistir valores muy elevados de IgEe, habiendo generado un sesgo de selección para la realización de esta prueba de exposición a leche de oveja.

Se ha descrito que las reacciones adversas son frecuentes (307)(300). En nuestra experiencia el porcentaje global se elevó al 90%, la mayoría correspondientes a reacciones mediadas por IgE. Si bien siempre se ha descrito que la mayoría de las reacciones son leves, en nuestro caso la reacción más veces documentada fue la anafilaxia, presente en el 21% de los pacientes durante la fase de inicio, seguidas por los SAOs, urticarias faciales y síntomas digestivos, síntomas respiratorios de vías altas, urticaria sistémica y, por último, síntomas de vías respiratorias inferiores. Llama la atención que la anafilaxia haya sido el tipo de reacción más frecuentemente documentada, a diferencia de los SAO y urticarias faciales habitualmente más frecuentes. Esto se explica porque las reacciones que se han documentado han sido las más graves, por lo tanto, en pacientes que han sufrido reacciones diferentes a las orales o periorales, éste tipo de reacciones leves no se ha registrado, por existir otra de gravedad superior. En cualquier caso, el número de anafilaxias supera el descrito habitualmente por otros autores (334)(348). Esta cifra de anafilaxias aumenta al 57% si describimos únicamente aquellas registradas en el grupo de ITO de mala evolución, lo que apoya la utilidad de los criterios empleados en su definición.

Hay que destacar que la mayoría de las reacciones adversas ocurren durante la fase de inicio (presentes en el 77% de los pacientes), para disminuir drásticamente, tanto en gravedad como en frecuencia, ya en el primer mes de la fase de mantenimiento (20%) y más drásticamente a partir del segundo año de ITO (8%). No se registró ninguna anafilaxia en esta última fase del tratamiento.

Tal y como se ha descrito previamente, las reacciones adversas no relacionadas con factores aumentadores predominaron significativamente en la fase de incremento de dosis y durante el primer mes de mantenimiento (353,354).

Nuestra tasa de abandonos fue del 7% (5,7% debido a la presencia de reacciones adversas), muy inferior a la de otros autores (308). De los abandonos por reacciones adversas, uno de ellos se debió a una probable aparición de esofagitis eosinofílica, lo que corresponde al 1,4 % de los pacientes, también inferior al 2,7%-6,25% documentado previamente (346)(347). Quizá el inicio del tratamiento en edad temprana podría explicar esta cifra, aunque no se puede descartar que un mayor tiempo de seguimiento nos proporcionara cifras mayores ya que, aunque la prevalencia del 2,7% corresponde a un periodo de seguimiento corto, la cifra de 6,25% de prevalencia de EEO en pacientes en tratamiento con ITO, corresponde a un seguimiento de los pacientes durante un periodo de 8 años.

### **7.2.2.1 Pruebas *in vivo* e *in vitro* basales en relación a la seguridad durante la ITO con leche**

Tal y como hemos observado y está descrito, la inmunoterapia oral con leche es eficaz pero presenta un importante número de reacciones adversas que nos gustaría poder predecir.

En primer lugar buscamos diferencias significativas entre los grupos de ITOs de mala y buena evolución para las distintas exploraciones complementarias realizadas.

El TAB no resultó útil en la discriminación entre el tipo de evolución de la ITO, aunque se ha descrito que el ascenso temprano en la activación de basófilos expresada mediante el marcador CD63 está relacionado con una peor evolución durante el proceso de desensibilización, posicionándose como posibles marcadores de respuesta clínica (302).

Tampoco se encontraron diferencias en ninguna de las pruebas intraepidérmicas llevadas a cabo con ninguno de los extractos, ni en los resultados de las determinaciones basales de las IgG4 específicas, la IgG4 total y sus cocientes.

Atendiendo a las IgE específicas y la IgE total basales y los cocientes entre ellas, observamos niveles significativamente mayores en el grupo de mala evolución para la IgE específica a leche de vaca, caseína, leche de cabra, de oveja y hervida y sus respectivos cocientes con la cifra de IgE total. También los cocientes entre las IgEe IgG4 específicas basales de cada extracto tuvieron diferencias significativas en el caso de la caseína y leche de cabra, que fueron mayores en el grupo de mala evolución, aunque no para el resto.

Posteriormente, realizamos las curvas ROC para aquellas pruebas para las que obtuvimos significación estadística, pero obtuvimos valores del área bajo la curva mediocres. Por lo tanto, no encontramos valores en ninguna de las pruebas complementarias realizadas que pudieran predecir con un 95% de probabilidad los

pacientes que van a presentar mala evolución durante la ITO por razón de seguridad. No obstante hemos detectado algunos puntos de corte de utilidad en la toma de decisiones previas al inicio de la ITO por señalar a pacientes con mayor riesgo de evolución tórpida durante la ITO. Observamos que la probabilidad de mala evolución en ITO es del 90% o superior con unas cifras iguales o mayores a 30,5 KU/L de IgE a LV, algo menores que las descritas por Vázquez-Ortiz y cols que son de 50 KU/L (319). Por otro lado, encontramos que los cocientes IgEe/IgE total parecen mejorar ligeramente la eficacia predictiva respecto a los valores crudos de IgE específica. En este sentido, cuando la fracción de IgE a caseína, leche de cabra y de oveja, respecto de la IgE total es mayor o igual a 0,116, 0,088 y 0,100 respectivamente, la probabilidad de mala evolución en ITO es también del 90% o superior. Por lo tanto estos casos, junto con los anteriores, deberían contemplarse como malos candidatos para ITO o candidatos a tratamiento con omalizumab como coadyuvante a la ITO y, en todo caso, esta circunstancia debería quedar recogida en el consentimiento informado como riesgo particular. Los valores predictivos negativos asociados a estos puntos de decisión clínica son bajos, de forma que en torno a la mitad de los pacientes con mala tolerancia durante la ITO no serán identificados por estos parámetros y por lo tanto las medidas de cautela y vigilancia seguirán siendo imprescindibles.

### **7.2.2.2 Cambios inmunológicos durante la ITO con leche**

Los mecanismos básicos por los cuales la inmunoterapia modifica la respuesta inmunológica de hipersensibilidad hacia la de tolerancia no se conocen con exactitud pero parece probable que se logre a través de la modificación de la respuesta inmunológica de tipo predominantemente Th2 hacia una respuesta de tipo Th1(361)(362). En el seguimiento de los pacientes con inmunoterapia oral con alimentos, se han evaluado diversos factores que pueden ser útiles como marcadores del cambio en la respuesta inmunológica, desde la valoración del tamaño de la prueba intraepidérmica con el alimento hasta la determinación de diferentes marcadores celulares o séricos, entre los que se incluyen el estudio de la actividad de los basófilos y los niveles séricos de IgE e IgG4 específicos, que son los parámetros que hemos evaluado en este trabajo (361).

La modulación de las células efectoras de la respuesta alérgica valorado a través de las pruebas intraepidérmicas o el test de activación de basófilos, ha obtenido resultados variables, a pesar de que se ha descrito que tanto los mastocitos como los basófilos, quedan en estado de anergia durante la inmunoterapia (363), al ser degranulados progresivamente o inhibidos por las células T reguladoras.

Existe controversia acerca de si existe cambio en las pruebas intraepidérmicas a lo

largo del tratamiento (372)(316). En nuestros resultados, encontramos un claro descenso de los valores a lo largo de los distintos tiempos del estudio, obteniendo significación para todos los extractos, a excepción de para la leche hidrolizada, que partía de resultados frecuentemente negativos desde el diagnóstico para la mayoría de los pacientes.

Algunos estudios sitúan al basófilo como pieza central del proceso de desensibilización (363), pero también el test de activación de basófilos ha demostrado resultados variables en su modificación a lo largo del tratamiento (373)(374). En nuestros pacientes, la modificación en los valores del TAB a lo largo de la fase de mantenimiento fue significativa para los resultados obtenidos al exponer los basófilos a las concentraciones de 1.000 y 100 ng/ml de leche, pero no con la de 10ng/ml, que partía de porcentajes de activación inferiores.

Uno de los primeros marcadores estudiados en pacientes durante la inmunoterapia oral con alimentos fue el de los niveles de IgE específica frente al alérgeno. Nosotros, tal y como se ha constatado en la mayor parte de las series, hallamos una disminución en los niveles de IgE respecto a los niveles basales (317)(308)(316)(382)(320)(319)(317)(326)(383) y, por tanto, también en sus cocientes con la IgE total. Sin embargo, no encontramos el aumento al comienzo del procedimiento que otros autores describen (384,385)(314)(342,386), posiblemente porque el T1 corresponde al final de la fase de inicio, lo que supone al menos 4 meses desde el inicio del tratamiento.

De forma paralela pero en sentido inverso, se puede observar en las series de pacientes con inmunoterapia alimentaria el incremento gradual de IgG4 específica (361), de forma que la reducción de la ratio IgE/IgG4 específicas se hará más significativo cuanto más prolongado sea el tratamiento (330)(388,389), lo que coincide con nuestros resultados. La elevación progresiva y significativa de IgG4 se considera de importancia por su capacidad de competir con la IgE en la unión al alérgeno y suprimir la degranulación secundaria de mastocitos y basófilos (387), aunque algunos autores han postulado que estos cambios inmunológicos observados podrían deberse únicamente a la exposición alérgica y no serían un factor activo capaz de modificar la historia natural de la alergia alimentaria (336).

### **7.2.2.3 Uso de premedicación durante la ITO con leche**

Algunos pacientes se consideraron de mala evolución por presentar reacciones locales frecuentes que requirieron premedicación con antihistamínico. Sin embargo, hubo 4 pacientes a quienes indicamos, previamente al inicio de la ITO, premedicación con Omalizumab por considerarlos de alto riesgo y presentar una edad superior a 6 años, según los criterios del apartado 5.6.3.7.3.1. Hubo 3 pacientes que cumplían también criterios de alto riesgo pero no iniciaron este tratamiento por su corta edad.

Todos ellos abandonaron la ITO, 2 por reacciones adversas repetidas y 1 por miedo a las mismas, nada más iniciar la fase lenta de la fase de inicio del tratamiento al haber presentado ya mala tolerancia a la dosis de 0,3 ml. Esto apoya la eficacia de los criterios empleados, aunque aún está por establecer la definición de alergia alimentaria grave en la que basar las indicaciones del tratamiento con biológicos, del mismo modo que se ha hecho para el asma.

En estos 4 pacientes iniciamos la ITO tras 70 días (10 semanas) del inicio del tratamiento con omalizumab, buscando del efecto máximo en la reducción de la IgE libre y receptores de alta afinidad de basófilos y de mastocitos (413), aunque posteriormente se ha descrito que 8 semanas son suficientes para proteger de las reacciones adversas de la ITO (411).

La dosis de omalizumab se determinó en función de la dosis recomendada por el fabricante. Durante la fase de inicio del tratamiento, 2 pacientes presentaron síntomas rinoconjuntivales en su dosis de ascenso en el hospital y de ellos uno recibió tratamiento antihistamínico. Otro de los pacientes presentó síntomas subjetivos repetidos (SAO) y otro de ellos presentó una anafilaxia tratada en el domicilio. Este último paciente presentó dolores abdominales intensos y síntomas compatibles con EEO, pero se le retiró el tratamiento antes de poder realizar la gastroscopia que la confirmara. No obstante, se diagnosticó como tal, cesando los síntomas con la suspensión de la ITO.

Tal y como se ha descrito previamente, nuestros pacientes en tratamiento con omalizumab tuvieron una baja tasa de reacciones adversas graves mediadas por IgE, en línea con la demostración de que este fármaco disminuye las reacciones adversas graves tanto en la fase de incremento de dosis como en la fase de mantenimiento (395)(253)(298)(316). Sin embargo, no aprovechamos este tratamiento para realizar protocolos de inmunoterapia oral más rápidos (395)(253), como han realizado otros grupos con anterioridad.

A pesar de esta premedicación, un paciente presentó una probable esofagitis eosinofílica, lo que es compatible con afirmaciones de otros autores que afirman que este tratamiento no consigue disminuir el riesgo de esta enfermedad (334)(410).

A pesar de los buenos resultados publicados, la dificultad de este tratamiento radica en el momento y modo de discontinuación de omalizumab, ya que se ha descrito la recurrencia de síntomas con su cese (411)(395).

Una vez alcanzada la fase de mantenimiento en los 3 pacientes que continuaron el procedimiento, fijamos la dosis del omalizumab en 300 mg/mes, no presentado ninguno de ellos reacción adversa en este descenso. Posiblemente esta dosis sea eficaz como dosis universal en todos los pacientes, sin necesidad de precisar la dosificación de los pacientes asmáticos, del mismo modo que ocurre en los pacientes con urticaria.

La duración del tratamiento con omalizumab no está bien determinada. La vida media de este fármaco es de 2 semanas, pero el periodo de lavado de las moléculas ocurre en 2-3 meses tras la suspensión del mismo, por lo que algunos autores efectúan la PEOC tras la suspensión del omalizumab durante este periodo (407)(397)(253). Recientemente, Lafuente y cols (427), sugieren que los pacientes son susceptibles de reacción hasta 3-4 meses después de la suspensión del omalizumab. Estos autores recomiendan la comprobación de la tolerancia a la leche tras este periodo de eliminación del fármaco por lo que, a diferencia de los autores referidos anteriormente que establecen un periodo de tiempo de 2 meses, recomienda esperar mayor tiempo a la retirada del medicamento y la realización de la PEOC.

En base a estos tiempos descritos decidimos, tras 6 meses de dosis de mantenimiento, disminuir la dosis progresivamente cada 2 meses. Dos pacientes presentaron síntomas rinoconjuntivales por lo que se volvió a ascender la dosis de omalizumab para volver a descenderla más adelante. Otro paciente continuó con ITO de huevo, por lo que aún continúa con omalizumab. Parece que habría un mayor beneficio de este tratamiento al usarlo por un mayor periodo de tiempo (409).

La administración de omalizumab se perfila como una opción de tratamiento adyuvante a la inmunoterapia en pacientes con alergia grave a los alimentos y otros factores de riesgo asociados como el asma, pero es necesario definir y establecer un protocolo para pacientes con alergia alimentaria grave (253)(307), aunque es difícil definir qué pacientes son aquellos con esta condición (349) ya que son varios los criterios que se deben tener en cuenta. Atendiendo a los valores de IgE específica frente a leche, como al inicio del estudio definimos como pacientes con alergia grave aquellos con valores superiores a 50 kU/L en base a los criterios de Vázquez-Ortiz y cols (319), en el momento actual ajustaríamos esta cifra a 30,5 kU/L, en base a los resultados obtenidos en este trabajo.

La alergia grave es probablemente responsable de un gran gasto sanitario en cuanto a visitas a urgencias, ingresos hospitalarios, necesidad de ambulancias, prescripción de autoinyectores de adrenalina (428) y muerte (429), y también de absentismo escolar y laboral de los pacientes y familiares, lo que haría que este tratamiento sea coste-efectivo. Sin embargo, el análisis farmacoeconómico del uso de omalizumab en la ITO es complejo, porque el coste y beneficio del propio procedimiento en sí mismo no ha sido bien establecido y varía en función del país y la cobertura sanitaria. En cualquier caso, son necesarios estudios que determinen el uso de este medicamento para pacientes con fracaso en el tratamiento con ITO o aquellos con dosis umbral del alimento necesario para el desencadenamiento de reacciones alérgicas más bajas.

En definitiva, son necesarios estudios más largos con protocolos más homogéneos para poder determinar la aplicabilidad clínica de la ITO, con o sin omalizumab, en la efectividad a largo plazo y el efecto en la calidad de vida(139). Este tratamiento es todavía, a día de hoy, considerado como una terapia experimental (337)(411).



## 8. CONCLUSIONES

---



1. Los valores de activación de basófilos registrados en el TAB son significativamente más elevados en cualquiera de las concentraciones de leche testadas (1.000, 100 y 10 ng/ml) en los niños que a partir de los 3 años de edad continúan con reactividad clínica frente a las proteínas de leche de vaca respecto a los niños que han evolucionado espontáneamente hacia la tolerancia, pero su utilidad en la predicción de la evolución a tolerancia espontánea es limitada. El máximo valor predictivo positivo del TAB para persistencia de reactividad fue del 90%, para el 35% de basófilos activados por leche a 1.000 ng/ml y su valor predictivo negativo es del 48%.
2. El TAB no resulta útil en la predicción de la seguridad de la ITO, en ninguna de las concentraciones de leche probadas.
3. Durante el tratamiento con inmunoterapia oral con leche observamos un descenso en los valores de activación de basófilos para las concentraciones de 100 y 1.000 ng/ml, pero no así para la de 10 ng/mL.
4. Los valores de IgE específica frente a la leche de vaca y sus proteínas y las leches de cabra, oveja y hervida son útiles en la discriminación de los pacientes tolerantes y reactivos. Las de mayor utilidad son las determinaciones de leche de vaca, cabra, oveja, hervida y BSA, siendo todos ellos significativamente más altos en pacientes reactivos. Los puntos de corte que mejor discriminan la reactividad clínica son aquellas IgE específicas iguales o superiores 2,6 KU/L frente a leche de cabra y a 3,9 KU/L para la leche de vaca.
5. Únicamente los valores de IgE específica frente a leche de vaca, cabra, oveja, hervida y frente a caseína y los cocientes entre IgE e IgG4 específicas frente a caseína y leche de cabra son significativamente más elevados en los pacientes que presentan una mala evolución durante la ITO. Las cifras de IgE específica frente a leche de vaca iguales o superiores a 30,5 KU/L muestran una probabilidad de mala evolución durante la ITO del 90%.
6. Durante el tratamiento con inmunoterapia oral con leche observamos un descenso en las IgE específicas frente a la leche de vaca y sus proteínas y las

leches de cabra, oveja y hervida, así como un incremento en las IgG4 específicas frente a esas mismas determinaciones.

7. Las pruebas cutáneas son significativamente más elevadas en los pacientes reactivos frente a los tolerantes a la leche, siendo la prueba con queso de oveja ( $\geq 3$  mm) la más discriminativa.
8. No existen diferencias significativas en los parámetros clínicos o demográficos entre los pacientes tolerantes y reactivos, a excepción de la edad y los antecedentes personales de otras alergias alimentarias y alergia respiratoria que son más frecuentes en los pacientes reactivos frente a leche.
9. Los parámetros clínicos o demográficos no son de utilidad para discriminar la seguridad durante la ITO, salvo la alergia respiratoria, que es más frecuente en los pacientes que han presentado mala evolución.
10. Las reacciones adversas son frecuentes durante la ITO. El 21% del total de nuestros pacientes y el 57% de los pacientes del grupo de mala evolución presentó alguna anafilaxia durante el tratamiento.
11. Las transgresiones alimentarias durante el tratamiento de evitación están presentes en más de la mitad de los pacientes, siendo la mayoría de estas positivas.
12. El tratamiento con ITO es eficaz pero con una alta tasa de reacciones adversas, por lo que es necesario mejorar su seguridad antes de considerarlo un tratamiento de rutina.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

---



1. Johansson SGO, Bieber T, Dahl R, Friedmann PS, Lanier BQ, Lockey RF, et al. Revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature Review Committee of the World Allergy Organization, October 2003. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2004 May [cited 2017 Apr 18];113(5):832–6. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674904009303>
2. Johansson SG, Hourihane JO, Bousquet J, Bruijnzeel-Koomen C, Dreborg S, Haahtela T, et al. A revised nomenclature for allergy. An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force. *Allergy* [Internet]. 2001 Sep [cited 2017 Apr 18];56(9):813–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11551246>
3. Weiner HL. Oral tolerance. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 1994 Nov 8 [cited 2017 Apr 24];91(23):10762–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7971958>
4. Chehade M, Mayer L. Oral tolerance and its relation to food hypersensitivities. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2005 Jan [cited 2017 Apr 24];115(1):3–12; quiz 13. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674904030465>
5. Burks AW, Laubach S, Jones SM. Oral tolerance, food allergy, and immunotherapy: Implications for future treatment. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2008 Jun [cited 2017 Apr 24];121(6):1344–50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18410959>
6. Ogra PL. Mucosal immune response in the ear, nose and throat. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. 2000 May [cited 2017 Apr 24];19(5 Suppl):S4–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10821466>
7. Dupont C. Food allergy: recent advances in pathophysiology and diagnosis. *Ann Nutr Metab* [Internet]. 2011 [cited 2017 Apr 24];59 Suppl 1(s1):8–18. Available from: <http://www.karger.com/doi/10.1159/000334145>
8. Palomares O, Rückert B, Jartti T, Kucüksezer UC, Puhakka T, Gomez E, et al. Induction and maintenance of allergen-specific FOXP3+ Treg cells in human tonsils as potential first-line organs of oral tolerance. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2012 Feb [cited 2017 Apr 24];129(2):510–20, 520–9. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674911015028>
9. Perry M, Whyte A. Immunology of the tonsils. *Immunol Today* [Internet]. 1998 Sep [cited 2017 Apr 24];19(9):414–21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9745205>
10. Scott-Taylor TH, Hourihane JB, Harper J, Strobel S. Patterns of food allergen-specific cytokine production by T lymphocytes of children with multiple allergies. *Clin Exp Allergy* [Internet]. 2005 Nov [cited 2017 Apr 24];35(11):1473–80. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2222.2005.02355.x>
11. Warshaw AL, Walker WA, Isselbacher KJ. Protein uptake by the intestine: evidence for absorption of intact macromolecules. *Gastroenterology* [Internet]. 1974 May [cited 2017 Apr 18];66(5):987–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4207917>
12. Scheiner O, Aberer W, Ebner C, Ferreira F, Hoffmann-Sommergruber K, Hsieh LS, et al. Cross-reacting allergens in tree pollen and pollen-related food allergy: implications for diagnosis of specific IgE. *Int Arch Allergy Immunol* [Internet]. [cited 2017 Apr 18];113(1–3):105–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9130495>
13. Fritsch R, Bohle B, Vollmann U, Wiedermann U, Jahn-Schmid B, Krebitz M, et al. Bet v 1, the major birch pollen allergen, and Mal d 1, the major apple allergen, cross-react at the level of allergen-specific T helper cells. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 1998 Oct [cited 2017 Apr 18];102(4 Pt 1):679–86. Available

- from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9802379>
14. Knight AK, Blázquez AB, Zhang S, Mayer L, Sampson HA, Berin MC. CD4 T cells activated in the mesenteric lymph node mediate gastrointestinal food allergy in mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* [Internet]. 2007 Dec 4 [cited 2017 Apr 18];293(6):G1234-43. Available from: <http://ajpgi.physiology.org/cgi/doi/10.1152/ajpgi.00323.2007>
  15. Brandt EB, Munitz A, Orekov T, Mingler MK, McBride M, Finkelman FD, et al. Targeting IL-4/IL-13 signaling to alleviate oral allergen-induced diarrhea. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2009 Jan [cited 2017 Apr 18];123(1):53-8. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674908017429>
  16. Burton OT, Darling AR, Zhou JS, Noval-Rivas M, Jones TG, Gurish MF, et al. Direct effects of IL-4 on mast cells drive their intestinal expansion and increase susceptibility to anaphylaxis in a murine model of food allergy. *Mucosal Immunol* [Internet]. 2013 Jul 14 [cited 2017 Apr 18];6(4):740-50. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/mi.2012.112>
  17. Mathias CB, Hobson SA, Garcia-Lloret M, Lawson G, Poddighe D, Freyschmidt E-J, et al. IgE-mediated systemic anaphylaxis and impaired tolerance to food antigens in mice with enhanced IL-4 receptor signaling. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2011 Mar [cited 2017 Apr 18];127(3):795-805-6. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674910017537>
  18. Forbes EE, Groschwitz K, Abonia JP, Brandt EB, Cohen E, Blanchard C, et al. IL-9- and mast cell-mediated intestinal permeability predisposes to oral antigen hypersensitivity. *J Exp Med* [Internet]. 2008 Apr 14 [cited 2017 Apr 18];205(4):897-913. Available from: <http://www.jem.org/lookup/doi/10.1084/jem.20071046>
  19. Macfarlane AJ, Kon OM, Smith SJ, Zeibecoglou K, Khan LN, Barata LT, et al. Basophils, eosinophils, and mast cells in atopic and nonatopic asthma and in late-phase allergic reactions in the lung and skin. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2000 Jan [cited 2017 Apr 18];105(1 Pt 1):99-107. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10629459>
  20. Iikura Y, Imai Y, Imai T, Akasawa A, Fujita K, Hoshiyama K, et al. Frequency of immediate-type food allergy in children in Japan. *Int Arch Allergy Immunol* [Internet]. [cited 2017 Apr 18];118(2-4):251-2. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10224400>
  21. Bischoff SC, Mayer J, Wedemeyer J, Meier PN, Zeck-Kapp G, Wedi B, et al. Colonoscopic allergen provocation (COLAP): a new diagnostic approach for gastrointestinal food allergy. *Gut* [Internet]. 1997 Jun [cited 2017 Apr 18];40(6):745-53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9245928>
  22. Bischoff SC, Mayer JH, Manns MP. Allergy and the gut. *Int Arch Allergy Immunol* [Internet]. 2000 Apr [cited 2017 Apr 18];121(4):270-83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10828717>
  23. Finkelman FD. Anaphylaxis: Lessons from mouse models. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2007 Sep [cited 2017 Apr 18];120(3):506-15. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17765751>
  24. Arias K, Chu DK, Flader K, Botelho F, Walker T, Arias N, et al. Distinct immune effector pathways contribute to the full expression of peanut-induced anaphylactic reactions in mice. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2011 Jun [cited 2017 Apr 18];127(6):1552-61.e1. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674911005847>
  25. Vadas P, Gold M, Perelman B, Liss GM, Lack G, Blyth T, et al. Platelet-Activating Factor, PAF Acetylhydrolase, and Severe Anaphylaxis. *N Engl J Med* [Internet]. 2008 Jan 3 [cited 2017 Apr 18];358(1):28-35. Available from:

- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18172172>
26. Bischoff S, Crowe SE. Gastrointestinal food allergy: new insights into pathophysiology and clinical perspectives. *Gastroenterology* [Internet]. 2005 Apr [cited 2017 Apr 18];128(4):1089–113. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15825090>
  27. Chafen JJS, Newberry SJ, Riedl MA, Bravata DM, Maglione M, Suttorp MJ, et al. Diagnosing and managing common food allergies: a systematic review. *JAMA* [Internet]. 2010 May 12 [cited 2017 Apr 18];303(18):1848–56. Available from: <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jama.2010.582>
  28. Sampson HA, Aceves S, Bock SA, James J, Jones S, Lang D, et al. Food allergy: a practice parameter update-2014. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2014 Nov [cited 2017 May 12];134(5):1016–25.e43. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674914006721>
  29. Jansen JJ, Kardinaal AF, Huijbers G, Vlieg-Boerstra BJ, Martens BP, Ockhuizen T. Prevalence of food allergy and intolerance in the adult Dutch population. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 1994 Feb [cited 2017 Apr 18];93(2):446–56. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8120272>
  30. Bock SA. Prospective appraisal of complaints of adverse reactions to foods in children during the first 3 years of life. *Pediatrics* [Internet]. 1987 May [cited 2017 Apr 18];79(5):683–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3575022>
  31. Kajosaari M. Food allergy in Finnish children aged 1 to 6 years. *Acta Paediatr Scand* [Internet]. 1982 Sep [cited 2017 Apr 18];71(5):815–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7180451>
  32. Rona RJ, Keil T, Summers C, Gislason D, Zuidmeer L, Sodergren E, et al. The prevalence of food allergy: a meta-analysis. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2007 Sep [cited 2017 Apr 18];120(3):638–46. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674907009918>
  33. Soost S, Leynaert B, Almqvist C, Edenharter G, Zuberbier T, Worm M. Risk factors of adverse reactions to food in German adults. *Clin Exp Allergy* [Internet]. 2009 Jul [cited 2017 Apr 18];39(7):1036–44. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2222.2008.03184.x>
  34. Young E, Stoneham MD, Petruckevitch A, Barton J, Rona R. A population study of food intolerance. *Lancet (London, England)* [Internet]. 1994 May 7 [cited 2017 Apr 18];343(8906):1127–30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7910231>
  35. Zuberbier T, Edenharter G, Worm M, Ehlers I, Reimann S, Hantke T, et al. Prevalence of adverse reactions to food in Germany - a population study. *Allergy* [Internet]. 2004 Mar [cited 2017 Apr 18];59(3):338–45. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14982518>
  36. Bruijnzeel-Koomen C, Ortolani C, Aas K, Bindslev-Jensen C, Björkstén B, Moneret-Vautrin D, et al. Adverse reactions to food. European Academy of Allergology and Clinical Immunology Subcommittee. *Allergy* [Internet]. 1995 Aug [cited 2017 Apr 18];50(8):623–35. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7503398>
  37. Muraro A, Werfel T, Hoffmann-Sommergruber K, Roberts G, Beyer K, Bindslev-Jensen C, et al. EAACI food allergy and anaphylaxis guidelines: diagnosis and management of food allergy. *Allergy* [Internet]. 2014 Aug [cited 2017 Apr 21];69(8):1008–25. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/all.12429>
  38. Hanson LA. Breastfeeding provides passive and likely long-lasting active immunity. *Ann Allergy Asthma Immunol* [Internet]. 1998 Dec [cited 2017 Apr 18];81(6):523-33-4, 537. Available from:

- <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1081120610627044>
39. Bueno Lozano O, Lázaro Almarza A. Ergon M 2001. Lactancia materna. En: Nutrición en la infancia y adolescencia, segunda edición.
  40. Wal J-M. Cow's milk proteins/allergens. *Ann Allergy Asthma Immunol* [Internet]. 2002 Dec [cited 2017 Apr 18];89(6 Suppl 1):3–10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12487197>
  41. Dupont C. Diagnosis of cow's milk allergy in children: determining the gold standard? *Expert Rev Clin Immunol* [Internet]. 2014 Feb 13 [cited 2017 Apr 18];10(2):257–67. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24410539>
  42. Cerecedo I, Zamora J, Shreffler WG, Lin J, Bardina L, Dieguez MC, et al. Mapping of the IgE and IgG4 sequential epitopes of milk allergens with a peptide microarray-based immunoassay. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2008 Sep [cited 2017 Apr 18];122(3):589–94. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674908013171>
  43. Wal J-M. Bovine milk allergenicity. *Ann Allergy Asthma Immunol* [Internet]. 2004 Nov [cited 2017 Apr 18];93(5 Suppl 3):S2-11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15562868>
  44. Coscia A, Orrù S, Di Nicola P, Giuliani F, Rovelli I, Peila C, et al. Cow's milk proteins in human milk. *J Biol Regul Homeost Agents* [Internet]. [cited 2017 Apr 18];26(3 Suppl):39–42. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23158513>
  45. Fiocchi A, Brozek J, Schünemann H, Bahna SL, von Berg A, Beyer K, et al. World Allergy Organization (WAO) Diagnosis and Rationale for Action against Cow's Milk Allergy (DRACMA) Guidelines. *Pediatr Allergy Immunol* [Internet]. 2010 Jul 1 [cited 2017 Apr 18];21:1–125. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20618740>
  46. Permyakov EA, Berliner LJ. alpha-Lactalbumin: structure and function. *FEBS Lett* [Internet]. 2000 May 19 [cited 2017 Apr 18];473(3):269–74. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10818224>
  47. Alessandri C, Sforza S, Palazzo P, Lambertini F, Paoletta S, Zennaro D, et al. Tolerability of a fully matured cheese in cow's milk allergic children: biochemical, immunochemical, and clinical aspects. Taube C, editor. *PLoS One* [Internet]. 2012 Jul 19 [cited 2017 Apr 18];7(7):e40945. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0040945>
  48. Järvinen K-M, Beyer K, Vila L, Chatchatee P, Busse PJ, Sampson HA. B-cell epitopes as a screening instrument for persistent cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2002 Aug [cited 2017 Apr 18];110(2):293–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12170271>
  49. Chatchatee P, Järvinen KM, Bardina L, Vila L, Beyer K, Sampson HA. Identification of IgE and IgG binding epitopes on beta- and kappa-casein in cow's milk allergic patients. *Clin Exp Allergy* [Internet]. 2001 Aug [cited 2017 Apr 18];31(8):1256–62. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11529896>
  50. Chatchatee P, Järvinen K-M, Bardina L, Beyer K, Sampson HA. Identification of IgE- and IgG-binding epitopes on  $\alpha$ s1-casein: Differences in patients with persistent and transient cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2001 Feb [cited 2017 Apr 18];107(2):379–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11174208>
  51. Järvinen KM, Chatchatee P, Bardina L, Beyer K, Sampson HA. IgE and IgG binding epitopes on alpha-lactalbumin and beta-lactoglobulin in cow's milk allergy. *Int Arch Allergy Immunol* [Internet]. 2001 Oct [cited 2017 Apr

- 18];126(2):111–8. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11729348>
52. Beyer K, Jarvinen K-M, Bardina L, Mishoe M, Turjanmaa K, Niggemann B, et al. IgE-binding peptides coupled to a commercial matrix as a diagnostic instrument for persistent cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2005 Sep [cited 2017 Apr 18];116(3):704–5. Available from:  
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674905012881>
53. Fiocchi A, Restani P, Riva E, Mirri GP, Santini I, Bernardo L GC. Heat treatment modifies the allergenicity of beef and bovine serum albumin. - PubMed - NCBI. *Allergy* [Internet]. 1998 [cited 2017 Apr 18];53(8):798–802. Available from:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Heat+treatment+modifies+the+allergenicity+of+beef+and+bovine+serum+albu-+min>.
54. Werfel SJ, Cooke SK, Sampson HA. Clinical reactivity to beef in children allergic to cow's milk. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 1997 Mar [cited 2017 Apr 18];99(3):293–300. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9058683>
55. Restani P, Ballabio C, Tripodi S, Fiocchi A. Meat allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2009 Jun [cited 2017 Apr 18];9(3):265–9. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19369863>
56. Fiocchi A, Restani P, Riva E, Mirri GP, Santini I, Bernardo L, et al. Heat treatment modifies the allergenicity of beef and bovine serum albumin. *Allergy* [Internet]. 1998 Aug [cited 2017 Apr 18];53(8):798–802. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9722230>
57. Martelli A, De Chiara A, Corvo M, Restani P, Fiocchi A. Beef allergy in children with cow's milk allergy; cow's milk allergy in children with beef allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol* [Internet]. 2002 Dec [cited 2017 Apr 18];89(6 Suppl 1):38–43. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12487203>
58. Docena GH, Fernandez R, Chirido FG, Fossati CA. Identification of casein as the major allergenic and antigenic protein of cow's milk. *Allergy* [Internet]. 1996 Jun [cited 2017 Apr 18];51(6):412–6. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8837665>
59. Restani P, Gaiaschi A, Plebani A, Beretta B, Cavagni G, Fiocchi A, et al. Cross-reactivity between milk proteins from different animal species. *Clin Exp Allergy* [Internet]. 1999 Jul [cited 2017 Apr 18];29(7):997–1004. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10383602>
60. Spuergerin P, Walter M, Schiltz E, Deichmann K, Forster J, Mueller H. Allergenicity of alpha-caseins from cow, sheep, and goat. *Allergy* [Internet]. 1997 Mar [cited 2017 Apr 18];52(3):293–8. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9140519>
61. Umpiérrez A, Quirce S, Marañón F, Cuesta J, García-Villamuza Y, Lahoz C, et al. Allergy to goat and sheep cheese with good tolerance to cow cheese. *Clin Exp Allergy* [Internet]. 1999 Aug [cited 2017 Apr 18];29(8):1064–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10457109>
62. Hazebrouck S, Ah-Leung S, Bidat E, Paty E, Drumare M-F, Tilleul S, et al. Goat's milk allergy without cow's milk allergy: suppression of non-cross-reactive epitopes on caprine  $\beta$ -casein. *Clin Exp Allergy* [Internet]. 2014 Apr [cited 2017 Apr 18];44(4):602–10. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/cea.12261>
63. Wüthrich B, Johansson SG. Allergy to cheese produced from sheep's and goat's milk but not to cheese produced from cow's milk. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 1995 Aug [cited 2017 Apr 18];96(2):270–3. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7636068>
64. Restani P, Ballabio C, Di Lorenzo C, Tripodi S, Fiocchi A. Molecular aspects of

- milk allergens and their role in clinical events. *Anal Bioanal Chem* [Internet]. 2009 Sep 5 [cited 2017 Apr 18];395(1):47–56. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00216-009-2909-3>
65. Rozenfeld P, Docena GH, Añón MC, Fossati CA. Detection and identification of a soy protein component that cross-reacts with caseins from cow's milk. *Clin Exp Immunol* [Internet]. 2002 Oct [cited 2017 Apr 18];130(1):49–58. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12296853>
66. Curciarello R, Smaldini PL, Candreva AM, González V, Parisi G, Cauherff A, et al. Targeting a cross-reactive Gly m 5 soy peptide as responsible for hypersensitivity reactions in a milk allergy mouse model. Giambartolomei GH, editor. *PLoS One* [Internet]. 2014 Jan 9 [cited 2017 Apr 18];9(1):e82341. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0082341>
67. Martín Esteban M, Bone Calvo J, Martorell Aragonés A, Nevot Falcó S, Plaza Martín AM. Adverse reactions to cow's milk proteins. *Allergol Immunopathol (Madr)* [Internet]. [cited 2017 Apr 18];26(4):171–94. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9816407>
68. Høst A, Husby S, Osterballe O. A prospective study of cow's milk allergy in exclusively breast-fed infants. Incidence, pathogenetic role of early inadvertent exposure to cow's milk formula, and characterization of bovine milk protein in human milk. *Acta Paediatr Scand* [Internet]. 1988 Sep [cited 2017 Apr 18];77(5):663–70. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3201972>
69. Rona RJ, Keil T, Summers C, Gislason D, Zuidmeer L, Sodergren E, et al. The prevalence of food allergy: A meta-analysis. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2007 Sep [cited 2017 Apr 19];120(3):638–46. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17628647>
70. Liu AH, Jaramillo R, Sicherer SH, Wood RA, Bock SA, Burks AW, et al. National prevalence and risk factors for food allergy and relationship to asthma: Results from the National Health and Nutrition Examination Survey 2005-2006. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2010 Oct [cited 2017 Apr 19];126(4):798–806.e14. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20920770>
71. Ebisawa M, Ito K, Fujisawa T, Committee for Japanese Pediatric Guideline for Food Allergy, The Japanese Society of Pediatric Allergy and Clinical Immunology, The Japanese Society of Allergology. Japanese guidelines for food allergy 2017. *Allergol Int* [Internet]. 2017 Apr [cited 2017 Apr 19];66(2):248–64. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28285847>
72. Fiocchi A, Brozek J, Schünemann H, Bahna SL, von Berg A, Beyer K, et al. World Allergy Organization (WAO) Diagnosis and Rationale for Action against Cow's Milk Allergy (DRACMA) Guidelines. *World Allergy Organ J* [Internet]. 2010 Apr [cited 2017 Apr 19];3(4):57–161. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23268426>
73. Sicherer SH. Epidemiology of food allergy. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2011 Mar [cited 2017 Apr 19];127(3):594–602. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21236480>
74. 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* [Internet]. 2011 Mar [cited 2017 Apr 19];127(3):668-76-2. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674911001357>
75. Nwaru BI, Hickstein L, Panesar SS, Roberts G, Muraro A, Sheikh A. Prevalence of common food allergies in Europe: a systematic review and meta-analysis. *Allergy* [Internet]. 2014 Aug [cited 2017 Apr 19];69(8):992–1007. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/all.12423>

76. Nwaru BI, Hickstein L, Panesar SS, Roberts G, Muraro A, Sheikh A, et al. Prevalence of common food allergies in Europe: a systematic review and meta-analysis. *Allergy* [Internet]. 2014 Aug [cited 2017 Apr 19];69(8):992–1007. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/all.12423>
77. Tikkanen S, Kokkonen J, Juntti H, Niinimäki A. Status of children with cow's milk allergy in infancy by 10 years of age. *Acta Paediatr* [Internet]. 2000 Oct [cited 2017 Apr 18];89(10):1174–80. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11083371>
78. Zeiger RS, Heller S. The development and prediction of atopy in high-risk children: follow-up at age seven years in a prospective randomized study of combined maternal and infant food allergen avoidance. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 1995 Jun [cited 2017 Apr 18];95(6):1179–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7797786>
79. Keil T, McBride D, Grimshaw K, Niggemann B, Xepapadaki P, Zannikos K, et al. The multinational birth cohort of EuroPrevall: background, aims and methods. *Allergy* [Internet]. 2010 Apr [cited 2017 Apr 19];65(4):482–90. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1398-9995.2009.02171.x>
80. Mills ENC, Mackie AR, Burney P, Beyer K, Frewer L, Madsen C, et al. The prevalence, cost and basis of food allergy across Europe. *Allergy* [Internet]. 2007 Jul 15 [cited 2017 Apr 19];62(7):717–22. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1398-9995.2007.01425.x>
81. Wasserman S, Watson W. Food allergy. *Allergy Asthma Clin Immunol* [Internet]. 2011 Nov 10 [cited 2017 Apr 19];7 Suppl 1(Suppl 1):S7. Available from: <http://aacijournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/1710-1492-7-S1-S7>
82. Fernández Rivas M. Food allergy in *Alergológica-2005*. *J Investig Allergol Clin Immunol* [Internet]. 2009 [cited 2017 Apr 19];19 Suppl 2:37–44. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19530417>
83. Sporik R, Henderson J, Hourihane JO. Clinical Immunology Review Series: An approach to the patient with allergy in childhood. *Clin Exp Immunol* [Internet]. 2009 Mar [cited 2017 Apr 19];155(3):378–86. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2249.2008.03852.x>
84. García Ara MC, Boyano Martínez MT, Díaz Pena JM, Martín Muñoz F, Pascual Marcos C, García Sánchez G, et al. [Incidence of allergy to cow's milk protein in the first year of life and its effect on consumption of hydrolyzed formulae]. [Internet]. Vol. 58, *Anales de pediatría* (Barcelona, Spain : 2003). 1995 [cited 2017 Apr 19]. 163-83 p. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12628139>
85. Sanz Ortega J, Martorell Aragonés A, Michavila Gómez A, Nieto García A, Grupo de Trabajo para el Estudio de la Alergia Alimentaria. [Incidence of IgE-mediated allergy to cow's milk proteins in the first year of life]. [Internet]. Vol. 54, *Anales españoles de pediatría*. 1995 [cited 2017 Apr 19]. 163-83 p. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11412399>
86. Crespo JF, Pascual C, Burks AW, Helm RM, Esteban MM. Frequency of food allergy in a pediatric population from Spain. *Pediatr Allergy Immunol* [Internet]. 1995 Feb [cited 2017 Apr 19];6(1):39–43. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7550764>
87. Karlsson MR, Rugtveit J, Brandtzaeg P. Allergen-responsive CD4+CD25+ regulatory T cells in children who have outgrown cow's milk allergy. *J Exp Med* [Internet]. 2004 Jun 21 [cited 2017 Apr 19];199(12):1679–88. Available from: <http://www.jem.org/lookup/doi/10.1084/jem.20032121>
88. Shreffler WG, Wanich N, Moloney M, Nowak-Wegrzyn A, Sampson HA. Association of allergen-specific regulatory T cells with the onset of clinical

- tolerance to milk protein. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2009 Jan [cited 2017 Apr 19];123(1):43–52.e7. Available from:  
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S009167490801868X>
89. Järvinen KM, Laine ST, Järvenpää AL, Suomalainen HK. Does low IgA in human milk predispose the infant to development of cow's milk allergy? *Pediatr Res* [Internet]. 2000 Oct [cited 2017 Apr 19];48(4):457–62. Available from:  
<http://www.nature.com/doi/10.1203/00006450-200010000-00007>
  90. Kulis M, Saba K, Kim EH, Bird JA, Kamilaris N, Vickery BP, et al. Increased peanut-specific IgA levels in saliva correlate with food challenge outcomes after peanut sublingual immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2012 Apr [cited 2017 Apr 19];129(4):1159–62. Available from:  
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674911019105>
  91. Smits HH, Engering A, van der Kleij D, de Jong EC, Schipper K, van Capel TMM, et al. Selective probiotic bacteria induce IL-10-producing regulatory T cells in vitro by modulating dendritic cell function through dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule 3-grabbing nonintegrin. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2005 Jun [cited 2017 Apr 19];115(6):1260–7. Available from:  
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674905006974>
  92. Boyle RJ, Tang MLK. The Role of Probiotics in the Management of Allergic Disease. *Clin Exp Allergy* [Internet]. 2006 May [cited 2017 Apr 19];36(5):568–76. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16650040>
  93. Martín M, Reche M, Valbuena T, Fiandor A P. Alergia alimentaria. *Tratado de Alergología Pediátrica*. 2a ed. 2011. 211-30 p.
  94. Ramirez DA, Bahna SL. Food hypersensitivity by inhalation. *Clin Mol Allergy* [Internet]. 2009 Feb 20 [cited 2017 Apr 19];7(1):4. Available from:  
<http://clinicalmolecularallergy.biomedcentral.com/articles/10.1186/1476-7961-7-4>
  95. Nowak-Węgrzyn A, Shapiro GG, Beyer K, Bardina L, Sampson HA. Contamination of dry powder inhalers for asthma with milk proteins containing lactose. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2004 Mar [cited 2017 Apr 19];113(3):558–60. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15007361>
  96. Campbell RL, Hagan JB, Manivannan V, Decker WW, Kanthala AR, Bellolio MF, et al. Evaluation of National Institute of Allergy and Infectious Diseases/Food Allergy and Anaphylaxis Network criteria for the diagnosis of anaphylaxis in emergency department patients. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2012 Mar [cited 2017 Apr 19];129(3):748–52. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22051698>
  97. Estelle F SR. Anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;121:s-402-7.
  98. García-Ara MC, Sánchez AV, Martínez MTB, Díaz Pena JM. Cow's milk-dependent, exercise-induced anaphylaxis: case report of a patient with previous allergy to cow's milk. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2003 Mar [cited 2017 Apr 19];111(3):647–8. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12642852>
  99. Bernstein M, Day JH, Welsh A. Double-blind food challenge in the diagnosis of food sensitivity in the adult. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 1982 Sep [cited 2017 Apr 19];70(3):205–10. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6179975>
  100. Bock SA AF. Patterns of food hypersensitivity during sixteen years of double-blind, placebo-controlled food challenges. - PubMed - NCBI. *J Pediatr* [Internet]. 1990 [cited 2017 Apr 19];117(4):561–7. Available from:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Patterns+of+food+hypersensitivity+>

- during+sixteen+years+of+dou+ble-blind%2C+placebo-controlled+food+challenges.
101. Sampson HA. Immunologically mediated food allergy: the importance of food challenge procedures. *Ann Allergy* [Internet]. 1988 Mar [cited 2017 Apr 19];60(3):262–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2894786>
  102. Nørgaard A, Bindslev-Jensen C. Egg and milk allergy in adults. Diagnosis and characterization. *Allergy* [Internet]. 1992 Oct [cited 2017 Apr 19];47(5):503–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1283061>
  103. MD I. Metodología diagnóstica en la alergia a los alimentos. *Rev Esp Alergol Inmunol Clin*. 1999;14:50–62.
  104. Flicker S, Valenta R. Renaissance of the blocking antibody concept in type I allergy. *Int Arch Allergy Immunol* [Internet]. 2003 Sep [cited 2017 Apr 21];132(1):13–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14555854>
  105. Wachholz PA, Durham SR. Mechanisms of immunotherapy: IgG revisited. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2004 Aug [cited 2017 Apr 21];4(4):313–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15238798>
  106. Nouri-Aria KT, Wachholz PA, Francis JN, Jacobson MR, Walker SM, Wilcock LK, et al. Grass pollen immunotherapy induces mucosal and peripheral IL-10 responses and blocking IgG activity. *J Immunol* [Internet]. 2004 Mar 1 [cited 2017 Apr 21];172(5):3252–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14978133>
  107. Aalberse R. The role of IgG antibodies in allergy and immunotherapy. *Allergy* [Internet]. 2011 Jul [cited 2017 Apr 21];66:28–30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21668848>
  108. Caubet JC, Bencharitiwong R, Moshier E, Godbold JH, Sampson HA, Nowak-Węgrzyn A. Significance of ovomucoid- and ovalbumin-specific IgE/IgG(4) ratios in egg allergy. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2012 Mar [cited 2017 Apr 21];129(3):739–47. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674911029320>
  109. Vazquez-Ortiz M, Pascal M, Jiménez-Feijoo R, Lozano J, Giner MT, Alsina L, et al. Ovalbumin-specific IgE/IgG4 ratio might improve the prediction of cooked and uncooked egg tolerance development in egg-allergic children. *Clin Exp Allergy* [Internet]. 2014 Apr [cited 2017 Apr 21];44(4):579–88. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/cea.12273>
  110. Ahrens B, Lopes de Oliveira LC, Schulz G, Borres MP, Niggemann B, Wahn U, et al. The role of hen's egg-specific IgE, IgG and IgG4 in the diagnostic procedure of hen's egg allergy. *Allergy* [Internet]. 2010 Dec [cited 2017 Apr 21];65(12):1554–7. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1398-9995.2010.02429.x>
  111. Okamoto S, Taniuchi S, Sudo K, Hatano Y, Nakano K, Shimo T, et al. Predictive value of IgE/IgG4 antibody ratio in children with egg allergy. *Allergy, Asthma Clin Immunol* [Internet]. 2012 Jun 7 [cited 2017 Apr 21];8(1):9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22676477>
  112. Tay SS, Clark AT, Deighton J, King Y, Ewan PW. Patterns of immunoglobulin G responses to egg and peanut allergens are distinct: ovalbumin-specific immunoglobulin responses are ubiquitous, but peanut-specific immunoglobulin responses are up-regulated in peanut allergy. *Clin Exp Allergy* [Internet]. 2007 Oct 7 [cited 2017 Apr 21];37(10):1512–8. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2222.2007.02802.x>
  113. Geroldinger-Simic M, Zelniker T, Aberer W, Ebner C, Egger C, Greiderer A, et al. Birch pollen-related food allergy: clinical aspects and the role of allergen-

- specific IgE and IgG4 antibodies. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2011 Mar [cited 2017 Apr 21];127(3):616–22.e1. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674910016428>
114. Cerecedo I, Zamora J, Shreffler WG, Lin J, Bardina L, Dieguez MC, et al. Mapping of the IgE and IgG4 sequential epitopes of milk allergens with a peptide microarray-based immunoassay. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2008 Sep [cited 2017 Apr 21];122(3):589–94. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674908013171>
115. Matsumoto N, Okochi M, Matsushima M, Kato R, Takase T, Yoshida Y, et al. Peptide array-based analysis of the specific IgE and IgG4 in cow's milk allergens and its use in allergy evaluation. *Peptides* [Internet]. 2009 Oct [cited 2017 Apr 21];30(10):1840–7. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0196978109002824>
116. Lee J-H, Kim W-S, Kim H, Hahn Y-S. Increased cow's milk protein-specific IgG4 levels after oral desensitization in 7- to 12-month-old infants. *Ann Allergy Asthma Immunol* [Internet]. 2013 Dec [cited 2017 Apr 21];111(6):523–8. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1081120613006431>
117. Moneret-Vautrin DA, Kanny G, Frémont S. Laboratory tests for diagnosis of food allergy: advantages, disadvantages and future perspectives. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2003 Apr [cited 2017 Apr 21];35(4):113–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12793113>
118. Rubio A, Vivinus-Nébot M, Bourrier T, Saggio B, Albertini M, Bernard A. Benefit of the basophil activation test in deciding when to reintroduce cow's milk in allergic children. *Allergy* [Internet]. 2011 Jan [cited 2017 Apr 21];66(1):92–100. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1398-9995.2010.02432.x>
119. Wanich N, Nowak-Wegrzyn A, Sampson HA, Shreffler WG. Allergen-specific basophil suppression associated with clinical tolerance in patients with milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2009 Apr [cited 2017 Apr 21];123(4):789–94.e20. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674909001195>
120. Ibáñez MD, Martínez M, Muñoz MC, Rosales JM, Alonso E, Laso MT. [Assessment of diagnostic tests in food allergy]. *Allergol Immunopathol (Madr)* [Internet]. 1996 [cited 2017 Apr 21];24 Suppl 1:6–17. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8815723>
121. Järvinen KM, Mäkinen-Kiljunen S, Suomalainen H. Cow's milk challenge through human milk evokes immune responses in infants with cow's milk allergy. *J Pediatr* [Internet]. 1999 Oct [cited 2017 Apr 21];135(4):506–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10518086>
122. Vaswani SK, Sampson HA, Chang BW, Hamilton RG. Adult-onset sensitization to casein after occupational exposure to aerosolized Tryptone powder. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 1999 Nov [cited 2017 Apr 21];104(5):1108–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10550761>
123. Alonso E, Fernández L SM. Alergia a leche y huevo en niños. *Alergol Inmunol Clín*. 2001;6:96–110.
124. Moneret-Vautrin DA. Cow's milk allergy. *Allerg Immunol (Paris)* [Internet]. 1999 Jun [cited 2017 Apr 21];31(6):201–10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10443301>
125. Alvarado MI, Alonso E, García Álvarez M, Ibáñez MD LM. Persistencia de sensibilización a proteínas de leche de vaca: estudio clínico. *Allergol et Immunopathol*. 2000;28:189–92.
126. Caubet J-C, Eigenmann PA. Allergic Triggers in Atopic Dermatitis. *Immunol Allergy Clin North Am* [Internet]. 2010 Aug [cited 2017 Apr 21];30(3):289–307.

- Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20670814>
127. Sampson H SS. Eczema and food Hypersensitivity. *Immunol Allergy Clin North Am*. 1999;19:496–518.
  128. Salvatore S, Vandenplas Y. Gastroesophageal reflux and cow milk allergy: is there a link? *Pediatrics* [Internet]. 2002 Nov [cited 2017 Apr 21];110(5):972–84. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12415039>
  129. Iacono G, Carroccio A, Cavataio F, Montalto G, Kazmierska I, Lorello D, et al. Gastroesophageal reflux and cow's milk allergy in infants: a prospective study. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 1996 Mar [cited 2017 Apr 21];97(3):822–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8613639>
  130. Steinman HA. "Hidden" allergens in foods. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 1996 Aug [cited 2017 Apr 24];98(2):241–50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8757199>
  131. Position paper: Allergen standardization and skin tests. The European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Allergy* [Internet]. 1993 [cited 2017 Apr 21];48(14 Suppl):48–82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8342740>
  132. Skin tests used in type I allergy testing Position paper. Sub-Committee on Skin Tests of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Allergy* [Internet]. 1989 [cited 2017 Apr 21];1–59. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2683837>
  133. Norgaard A, Skov PS, Bindslev-Jensen C. Egg and milk allergy in adults: comparison between fresh foods and commercial allergen extracts in skin prick test and histamine release from basophils. *Clin Exp Allergy* [Internet]. 1992 Oct [cited 2017 Apr 21];22(10):940–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1281442>
  134. Sampson HA. Comparative study of commercial food antigen extracts for the diagnosis of food hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 1988 Nov [cited 2017 Apr 21];82(5 Pt 1):718–26. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2461401>
  135. García-Ara C, Boyano-Martínez T, Díaz-Pena JM, Martín-Muñoz F, Reche-Frutos M, Martín-Esteban M. Specific IgE levels in the diagnosis of immediate hypersensitivity to cows' milk protein in the infant. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2001 Jan [cited 2017 Apr 21];107(1):185–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11150010>
  136. Eigenmann PA, Sampson HA. Interpreting skin prick tests in the evaluation of food allergy in children. *Pediatr Allergy Immunol* [Internet]. 1998 Nov [cited 2017 Apr 21];9(4):186–91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9920216>
  137. Boyano-Martínez T, García-Ara C, Díaz-Pena JM, Martín-Esteban M. Prediction of tolerance on the basis of quantification of egg white-specific IgE antibodies in children with egg allergy. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2002 Aug [cited 2017 Apr 21];110(2):304–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12170273>
  138. Sampson HA. Utility of food-specific IgE concentrations in predicting symptomatic food allergy. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2001 May [cited 2017 Apr 21];107(5):891–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11344358>
  139. Polloni L, Schiff S, Ferruzza E, Lazzarotto F, Bonaguro R, Toniolo A, et al. Food allergy and attitudes to close interpersonal relationships: an exploratory study on attachment. *Pediatr Allergy Immunol* [Internet]. 2017 May 8 [cited 2017 May 12]; Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/pai.12732>

140. Sporik R, Hill DJ, Hosking CS. Specificity of allergen skin testing in predicting positive open food challenges to milk, egg and peanut in children. *Clin Exp Allergy* [Internet]. 2000 Nov [cited 2017 Apr 21];30(11):1540–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11069561>
141. Keskin O, Tuncer A, Adalioglu G, Sekerel BE, Sackesen C, Kalayci O. Evaluation of the utility of atopy patch testing, skin prick testing, and total and specific IgE assays in the diagnosis of cow's milk allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol* [Internet]. 2005 May [cited 2017 Apr 21];94(5):553–60. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1081120610611337>
142. Mehl A, Rolinck-Werninghaus C, Staden U, Verstege A, Wahn U, Beyer K, et al. The atopy patch test in the diagnostic workup of suspected food-related symptoms in children. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2006 Oct [cited 2017 Apr 21];118(4):923–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17030247>
143. Kido J, Hirata M, Ueno H, Nishi N, Mochinaga M, Ueno Y, et al. Evaluation of the skin-prick test for predicting the outgrowth of cow's milk allergy. *Allergy Rhinol* [Internet]. 2016 Jan 1 [cited 2017 Jul 15];7(3):139–43. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28107145>
144. Comité de reacciones adversas a alimentos. SEAIC. Metodología diagnóstica en la alergia a los alimentos (Artículo especial). *Alergol Inmunol Clín*. 1999;14:50–62.
145. Taylor SL, Hefle SL, Bindslev-jensen C, Atkins FM, Andre C, Bruijnzeel-koomen C, et al. A consensus protocol for the determination of the threshold doses for allergenic foods: how much is too much? *Clin Exp Allergy* [Internet]. 2004 May [cited 2017 Apr 21];34(5):689–95. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15144458>
146. Morisset M, Moneret-Vautrin DA, Kanny G, Guénard L, Beaudouin E, Flabbée J, et al. Thresholds of clinical reactivity to milk, egg, peanut and sesame in immunoglobulin E-dependent allergies: evaluation by double-blind or single-blind placebo-controlled oral challenges. *Clin Exp Allergy* [Internet]. 2003 Aug [cited 2017 Apr 21];33(8):1046–51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12911777>
147. Bindslev-Jensen C, Briggs D, Osterballe M. Can we determine a threshold level for allergenic foods by statistical analysis of published data in the literature? *Allergy* [Internet]. 2002 Aug [cited 2017 Apr 21];57(8):741–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12121196>
148. Caffarelli C, Petroccione T. False-negative food challenges in children with suspected food allergy. *Lancet (London, England)* [Internet]. 2001 Dec 1 [cited 2017 Apr 21];358(9296):1871–2. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673601068970>
149. Plaza Martín AM, Martín Mateos MA, Giner Muñoz MT, Sierra Martínez JI. Challenge testing in children with allergy to cow's milk proteins. *Allergol Immunopathol (Madr)* [Internet]. [cited 2017 Apr 21];29(2):50–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11420027>
150. Sampson HA. Food allergy. Part 2: diagnosis and management. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 1999 Jun [cited 2017 Apr 21];103(6):981–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10359874>
151. Nørgaard A, Bindslev-Jensen C. Egg and milk allergy in adults. Diagnosis and characterization. *Allergy* [Internet]. 1992 Oct [cited 2017 Apr 21];47(5):503–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1283061>
152. Dutau G. Allergies alimentaires et alternatives diagnostiques: test de provocation labial, test de provocation oral. *Rev Fr Allergol Immunol Clin* 2000;

- 40 728-40. 2000;40:728-40.
153. Moreno A, Alonso E, Beitia JM, Rico P, Zapatero L MM. Utilidad del test de frotamiento en el diagnóstico de alergia alimentaria. *Alergol Inmunol Clín.* 2002;17(2):208.
  154. Martínez MI, Vicente ME, Gómez S, Fuentes V, Martín MA PT et al. Provocaciones labiales con alimentos. *Alergol Inmunopatol Clín.* 2000;15(3):47.
  155. Rance F, Dutau G. Labial food challenge in children with food allergy. *Pediatr Allergy Immunol [Internet].* 1997 Feb [cited 2017 Apr 21];8(1):41-4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9260218>
  156. Sanz ML, Prieto I, García BE, Oehling A. Diagnostic reliability considerations of specific IgE determination. *J Investig Allergol Clin Immunol [Internet].* [cited 2017 Apr 21];6(3):152-61. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8807505>
  157. Selner JC, Sullivan JT, Ahlstedt S, Claman HN, Dolen WK, Nelson HS E. Current issues relating to in vitro testing for allergen-specific IgE: a workshop report. *Ann Allergy Asthma Immunol [Internet].* 1999 May [cited 2017 Apr 21];82(5):407-12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10353569>
  158. Yman L. Standardization of in vitro methods. *Allergy [Internet].* 2001 [cited 2017 Apr 21];70-4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11298014>
  159. Ahlstedt S. Understanding the usefulness of specific IgE blood tests in allergy. *Clin Exp Allergy [Internet].* 2002 Jan [cited 2017 Apr 21];32(1):11-6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12002727>
  160. Moneret-Vautrin DA, Gueant JL, Abdel-Ghani A, Maria Y, Nicolas JP. Comparative evaluation between two immunoenzymatic techniques (FAST and Phadezym) and the Phadebas RAST in food allergy. *Allergy [Internet].* 1990 Feb [cited 2017 Apr 21];45(2):104-8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2316820>
  161. Hamilton RG, Franklin Adkinson N. In vitro assays for the diagnosis of IgE-mediated disorders. *J Allergy Clin Immunol [Internet].* 2004 Aug [cited 2017 Apr 21];114(2):213-25; quiz 226. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15316492>
  162. Vieths S, Hoffmann A, Holzhauser T, Müller U, Reindl J, Hausteiner D. Factors influencing the quality of food extracts for in vitro and in vivo diagnosis. *Allergy [Internet].* 1998 [cited 2017 Apr 21];53(46 Suppl):65-71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9826003>
  163. Sampson HA, Albergo R. Comparison of results of skin tests, RAST, and double-blind, placebo-controlled food challenges in children with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol [Internet].* 1984 Jul [cited 2017 Apr 21];74(1):26-33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6547461>
  164. Sicherer SH, Sampson HA. Food allergy: Epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment. *J Allergy Clin Immunol [Internet].* 2014 Feb [cited 2017 Apr 21];133(2):291-307.e5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24388012>
  165. NIAID-Sponsored Expert Panel, Boyce JA, Assa'ad A, Burks AW, Jones SM, Sampson HA, et al. Guidelines for the Diagnosis and Management of Food Allergy in the United States: Report of the NIAID-Sponsored Expert Panel. *J Allergy Clin Immunol [Internet].* 2010 Dec [cited 2017 Apr 21];126(6):S1-58. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21134576>
  166. Williams P, Sewell WAC, Bunn C, Pumphrey R, Read G, Jolles S. Clinical Immunology Review Series: An approach to the use of the immunology laboratory in the diagnosis of clinical allergy. *Clin Exp Immunol [Internet].* 2008

- Jul [cited 2017 Apr 21];153(1):10–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18577028>
167. Martín-Muñoz F, Díaz-Pena JM, García-Ara MC, Boyano T, Pascual C BM. Factores predictivos de tolerancia en niños con alergia a alimentos. *Alergol Immunol*. 2001;6(2):126–33.
168. Perry TT, Matsui EC, Kay Conover-Walker M, Wood RA. The relationship of allergen-specific IgE levels and oral food challenge outcome. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2004 Jul [cited 2017 Apr 21];114(1):144–9. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674904013168>
169. Sampson HA, Ho DG. Relationship between food-specific IgE concentrations and the risk of positive food challenges in children and adolescents. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 1997 Oct [cited 2017 Apr 21];100(4):444–51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9338535>
170. Celik-Bilgili S, Mehl A, Verstege A, Staden U, Nocon M, Beyer K, et al. The predictive value of specific immunoglobulin E levels in serum for the outcome of oral food challenges. *Clin Exp Allergy* [Internet]. 2005 Mar [cited 2017 Apr 21];35(3):268–73. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15784102>
171. Osterballe M, Bindslev-Jensen C. Threshold levels in food challenge and specific IgE in patients with egg allergy: is there a relationship? *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2003 Jul [cited 2017 Apr 21];112(1):196–201. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12847499>
172. van den Berg ME, Flokstra-de Blok BMJ, Vlieg-Boerstra BJ, Kerkhof M, van der Heide S, Koppelman GH, et al. Parental Eczema Increases the Risk of Double-Blind, Placebo-Controlled Reactions to Milk but Not to Egg, Peanut or Hazelnut. *Int Arch Allergy Immunol* [Internet]. 2012 [cited 2017 Apr 21];158(1):77–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22212824>
173. García-Ara MC, Boyano-Martínez MT, Díaz-Pena JM, Martín-Muñoz MF, Martín-Esteban M. Cow's milk-specific immunoglobulin E levels as predictors of clinical reactivity in the follow-up of the cow's milk allergy infants. *Clin Exp Allergy* [Internet]. 2004 Jun [cited 2017 Apr 21];34(6):866–70. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2222.2004.01976.x>
174. Vanto T, Helppilä S, Juntunen-Backman K, Kalimo K, Klemola T, Korpela R, et al. Prediction of the development of tolerance to milk in children with cow's milk hypersensitivity. *J Pediatr* [Internet]. 2004 Feb [cited 2017 Apr 21];144(2):218–22. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14760265>
175. Position paper: Allergen standardization and skin tests. The European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Allergy* [Internet]. 1993 [cited 2017 May 19];48(14 Suppl):48–82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8342740>
176. Wang J, Godbold JH, Sampson HA. Correlation of serum allergy (IgE) tests performed by different assay systems. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2008 May [cited 2017 May 8];121(5):1219–24. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674907035774>
177. Jaeschke R, Guyatt GH, Sackett DL. Users' guides to the medical literature. III. How to use an article about a diagnostic test. B. What are the results and will they help me in caring for my patients? The Evidence-Based Medicine Working Group. *JAMA* [Internet]. 1994 Mar 2 [cited 2017 Apr 21];271(9):703–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8309035>
178. Skolnick HS, Conover-Walker MK, Koerner CB, Sampson HA, Burks W, Wood RA. The natural history of peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2001 Feb [cited 2017 May 8];107(2):367–74. Available from:

- <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S009167490148941X>
179. Crespo JF, Pascual C, Ferrer A, Burks AW, Diaz Pena JM, Martin Esteban M. Egg white-specific IgE level as a tolerance marker in the follow up of egg allergy. *Allergy Proc* [Internet]. [cited 2017 May 8];15(2):73–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8034192>
  180. Komata T, Söderström L, Borres MP, Tachimoto H, Ebisawa M. The predictive relationship of food-specific serum IgE concentrations to challenge outcomes for egg and milk varies by patient age. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2007 May [cited 2017 May 8];119(5):1272–4. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S009167490700348X>
  181. Sampson HA. Utility of food-specific IgE concentrations in predicting symptomatic food allergy. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2001 May [cited 2017 May 8];107(5):891–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11344358>
  182. Hansen TK, Bindslev-Jensen C, Skov PS, Poulsen LK. Codfish allergy in adults. Specific tests for IgE and histamine release vs double-blind, placebo-controlled challenges. *Clin Exp Allergy* [Internet]. 1996 Nov [cited 2017 May 8];26(11):1276–85. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8955577>
  183. Shek LPC, Soderstrom L, Ahlstedt S, Beyer K, Sampson HA. Determination of food specific IgE levels over time can predict the development of tolerance in cow's milk and hen's egg allergy. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2004 Aug [cited 2017 Apr 21];114(2):387–91. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674904014022>
  184. Mehl A, Verstege A, Staden U, Kulig M, Nocon M, Beyer K, et al. Utility of the ratio of food-specific IgE/total IgE in predicting symptomatic food allergy in children. *Allergy* [Internet]. 2005 Aug [cited 2017 Apr 21];60(8):1034–9. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1398-9995.2005.00806.x>
  185. Niggemann B, Rolinck-Werninghaus C, Mehl A, Binder C, Ziegert M, Beyer K. Controlled oral food challenges in children--when indicated, when superfluous? *Allergy* [Internet]. 2005 Jul [cited 2017 Apr 21];60(7):865–70. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1398-9995.2005.00828.x>
  186. Gaudin J-C, Rabesona H, Choiset Y, Yeretssian G, Chobert J-M, Sakanyan V, et al. Assessment of the immunoglobulin E-mediated immune response to milk-specific proteins in allergic patients using microarrays. *Clin Exp Allergy* [Internet]. 2008 Apr [cited 2017 Apr 21];38(4):686–93. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2222.2008.02952.x>
  187. Ott H, Baron JM, Heise R, Ocklenburg C, Stanzel S, Merk H-F, et al. Clinical usefulness of microarray-based IgE detection in children with suspected food allergy. *Allergy* [Internet]. 2008 Nov [cited 2017 Apr 21];63(11):1521–8. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1398-9995.2008.01748.x>
  188. Järvinen KM, Chatchatee P, Bardina L, Beyer K, Sampson HA. IgE and IgG binding epitopes on alpha-lactalbumin and beta-lactoglobulin in cow's milk allergy. *Int Arch Allergy Immunol* [Internet]. 2001 Oct [cited 2017 Apr 21];126(2):111–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11729348>
  189. Wang J, Lin J, Bardina L, Goldis M, Nowak-Wegrzyn A, Shreffler WG, et al. Correlation of IgE/IgG4 milk epitopes and affinity of milk-specific IgE antibodies with different phenotypes of clinical milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2010 Mar [cited 2017 Apr 21];125(3):695–702, 702.e1–702.e6. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674909018119>
  190. Vila L, Beyer K, Järvinen KM, Chatchatee P, Bardina L, Sampson HA. Role of

- conformational and linear epitopes in the achievement of tolerance in cow's milk allergy. *Clin Exp Allergy* [Internet]. 2001 Oct [cited 2017 Apr 21];31(10):1599–606. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11678861>
191. Järvinen K-M, Beyer K, Vila L, Chatchatee P, Busse PJ, Sampson HA. B-cell epitopes as a screening instrument for persistent cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2002 Aug [cited 2017 Apr 21];110(2):293–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12170271>
192. Chatchatee P, Järvinen KM, Bardina L, Vila L, Beyer K, Sampson HA. Identification of IgE and IgG binding epitopes on beta- and kappa-casein in cow's milk allergic patients. *Clin Exp Allergy* [Internet]. 2001 Aug [cited 2017 Apr 21];31(8):1256–62. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11529896>
193. Caubet JC, Lin J, Ahrens B, Gimenez G, Bardina L, Niggemann B, et al. Natural tolerance development in cow's milk allergic children: IgE and IgG4 epitope binding. *Allergy* [Internet]. 2017 Mar 27 [cited 2017 May 8]; Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/all.13167>
194. Wang J. Utility of component diagnostic testing in guiding oral food challenges to milk and egg. *Allergy asthma Proc* [Internet]. 2016 Nov [cited 2017 May 8];37(6):439–42. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27931298>
195. Teuber SS, Porch-Curren C. Unproved diagnostic and therapeutic approaches to food allergy and intolerance. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2003 Jun [cited 2017 Apr 21];3(3):217–21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12840706>
196. Schwarz A, Panetta V, Cappella A, Hofmaier S, Hatzler L, Rohrbach A, et al. IgG and IgG4 to 91 allergenic molecules in early childhood by route of exposure and current and future IgE sensitization: Results from the Multicentre Allergy Study birth cohort. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2016 Nov [cited 2017 May 8];138(5):1426–1433.e12. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674916301567>
197. Siroux V, Lupinek C, Resch Y, Curin M, Just J, Keil T, et al. Specific IgE and IgG measured by the MeDALL allergen-chip depend on allergen and route of exposure: The EGEA study. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2017 Feb [cited 2017 May 8];139(2):643–654.e6. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674916305218>
198. Burks AW, Williams LW, Casteel HB, Fiedorek SC, Connaughton CA. Antibody response to milk proteins in patients with milk-protein intolerance documented by challenge. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 1990 May [cited 2017 Apr 21];85(5):921–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1692051>
199. Kemeny DM, Urbanek R, Amlot PL, Ciclitira PJ, Richards D, Lessof MH. Sub-class of IgG in allergic disease. I. IgG sub-class antibodies in immediate and non-immediate food allergy. *Clin Allergy* [Internet]. 1986 Nov [cited 2017 Apr 21];16(6):571–81. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3791631>
200. McGowan EC, Bloomberg GR, Gergen PJ, Visness CM, Jaffee KF, Sandel M, et al. Influence of early-life exposures on food sensitization and food allergy in an inner-city birth cohort. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2015 Jan [cited 2017 May 9];135(1):171–8. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674914008999>
201. Ahrens B, Lopes de Oliveira LC, Grabenhenrich L, Schulz G, Niggemann B, Wahn U, et al. Individual cow's milk allergens as prognostic markers for tolerance development? *Clin Exp Allergy* [Internet]. 2012 Nov [cited 2017 May 9];42(11):1630–7. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/cea.12001>
202. Jenkins M, Vickers A. Unreliability of IgE/IgG4 antibody testing as a diagnostic

- tool in food intolerance. *Clin Exp Allergy* [Internet]. 1998 Dec [cited 2017 Apr 21];28(12):1526–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10024224>
203. Wood RA, Sicherer SH, Vickery BP, Jones SM, Liu AH, Fleischer DM, et al. The natural history of milk allergy in an observational cohort. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2013 Mar [cited 2017 May 9];131(3):805–12. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674912018593>
204. Lau S, Thiemeier M, Urbanek R, Kemeny M, Wahn U. Immediate hypersensitivity to ovalbumin in children with hen's egg white allergy. *Eur J Pediatr* [Internet]. 1988 Aug [cited 2017 Apr 21];147(6):606–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2460353>
205. Czaja-Bulsa G, Bulsa M, Gębala A. Food IgG4 antibodies are elevated not only in children with wheat allergy but also in children with gastrointestinal diseases. *BMC Gastroenterol* [Internet]. 2016 Dec 22 [cited 2017 May 8];16(1):39. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27004959>
206. Shakoor Z, AlFaifi A, AlAmro B, AlTawil LN, AlOhalay RY. Prevalence of IgG-mediated food intolerance among patients with allergic symptoms. *Ann Saudi Med* [Internet]. 2016 Dec [cited 2017 May 8];36(6):386–90. Available from: <http://www.annsaudimed.net/index.php/vol36/vol36iss6/962.html>
207. Beyer K, Teuber SS. Food allergy diagnostics: scientific and unproven procedures. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2005 Jun [cited 2017 Apr 21];5(3):261–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15864086>
208. Dixon HS. Treatment of delayed food allergy based on specific immunoglobulin G RAST testing. *Otolaryngol Head Neck Surg* [Internet]. 2000 Jul [cited 2017 Apr 21];123(1 Pt 1):48–54. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1067/mhn.2000.106402>
209. Gocki J, Bartuzi Z. Role of immunoglobulin G antibodies in diagnosis of food allergy. *Postępy dermatologii i Alergologii* [Internet]. 2016 Aug [cited 2017 May 8];33(4):253–6. Available from: <http://www.termedia.pl/doi/10.5114/ada.2016.61600>
210. Wüthrich B. Unproven techniques in allergy diagnosis. *J Invest Allergol Clin Immunol* [Internet]. 2005 [cited 2017 Apr 21];15(2):86–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16047707>
211. Martins TB, Bandhauer ME, Wilcock DM, Hill HR, Slev PR. Specific Immunoglobulin (Ig) G Reference Intervals for Common Food, Insect, and Mold Allergens. *Ann Clin Lab Sci* [Internet]. 2016 Dec [cited 2017 May 8];46(6):635–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27993877>
212. Carballo I, Alvela L, Pérez L-F, Gude F, Vidal C, Alonso M, et al. Serum Concentrations of IgG4 in the Spanish Adult Population: Relationship with Age, Gender, and Atopy. Remuzzi G, editor. *PLoS One* [Internet]. 2016 Feb 24 [cited 2017 May 8];11(2):e0149330. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26910567>
213. James LK, Till SJ. Potential Mechanisms for IgG4 Inhibition of Immediate Hypersensitivity Reactions. *Curr Allergy Asthma Rep* [Internet]. 2016 Mar 18 [cited 2017 May 8];16(3):23. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s11882-016-0600-2>
214. Woodfolk JA. Benign TH2 immunity in children: A fresh perspective on control of the allergic response. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2016 Feb [cited 2017 May 8];137(2):388–9. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674915029115>
215. Bochner BS. Systemic activation of basophils and eosinophils: markers and consequences. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2000 Nov [cited 2017 Apr

- 21];106(5 Suppl):S292-302. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11080745>
216. Sanz ML, Maselli JP, Gamboa PM, Oehling A, Diéguez I, de Weck AL. Flow cytometric basophil activation test: a review. *J Investig Allergol Clin Immunol* [Internet]. 2002 [cited 2017 May 9];12(3):143–54. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12530113>
217. Kleine-Tebbe J, Erdmann S, Knol EF, MacGlashan Jr. DW, Poulsen LK, Gibbs BF. Diagnostic Tests Based on Human Basophils: Potentials, Pitfalls and Perspectives. *Int Arch Allergy Immunol* [Internet]. 2006 Aug 16 [cited 2017 May 9];141(1):79–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16837789>
218. Ciepela O, Zwiazek J, Zawadzka-Krajewska A, Kotula I, Kulus M, Demkow U. Basophil activation test based on the expression of CD203c in the diagnostics of cow milk allergy in children. *Eur J Med Res* [Internet]. 2010 Nov 4 [cited 2017 May 9];15 Suppl 2:21–6. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21147615>
219. Ford LS, Bloom KA, Nowak-Węgrzyn AH, Shreffler WG, Masilamani M, Sampson HA. Basophil reactivity, wheal size, and immunoglobulin levels distinguish degrees of cow's milk tolerance. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2013 Jan [cited 2017 May 9];131(1):180–186.e3. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22819512>
220. de Weck AL, Sanz ML, Gamboa PM, Aberer W, Bienvenu J, Blanca M, et al. Diagnostic Tests Based on Human Basophils: More Potentials and Perspectives than Pitfalls. *Int Arch Allergy Immunol* [Internet]. 2008 [cited 2017 May 9];146(3):177–89. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18268385>
221. Santos AF, Lack G. Basophil activation test: food challenge in a test tube or specialist research tool? *Clin Transl Allergy* [Internet]. 2016 Dec 15 [cited 2017 May 9];6(1):10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26981234>
222. Wanich N, Nowak-Węgrzyn A, Sampson HA, Shreffler WG. Allergen-specific basophil suppression associated with clinical tolerance in patients with milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2009 Apr [cited 2017 May 9];123(4):789–94.e20. Available from:  
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674909001195>
223. Plaza AM BJ. Alergia a proteínas de leche de vaca. *Tratado de Alergología Pediátrica*. 2a ed. Madrid: Ergon; 2011. 231-40 p.
224. MartínM, RecheM, ValbuenaT, FiandoraP. Alergiaalimentaria. *Tratado de Alergología Pediátrica*. 2a ed. Madrid: Ergon; 2011. 211-30 p.
225. Saarinen KM, Pelkonen AS, Mäkelä MJ, Savilahti E. Clinical course and prognosis of cow's milk allergy are dependent on milk-specific IgE status. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2005 Oct [cited 2017 Apr 22];116(4):869–75. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674905015174>
226. Skripak JM, Matsui EC, Mudd K, Wood RA. The natural history of IgE-mediated cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2007 Nov [cited 2017 May 12];120(5):1172–7. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17935766>
227. Santos A, Dias A, Pinheiro JA. Predictive factors for the persistence of cow's milk allergy. *Pediatr Allergy Immunol* [Internet]. 2010 Dec [cited 2017 May 12];21(8):1127–34. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20444157>
228. Dambacher WM, de Kort EHM, Blom WM, Houben GF, de Vries E. Double-blind placebo-controlled food challenges in children with alleged cow's milk allergy: prevention of unnecessary elimination diets and determination of eliciting doses.

- Nutr J [Internet]. 2013 Feb 8 [cited 2017 Apr 22];12(1):22. Available from: <http://nutritionj.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2891-12-22>
229. Caubet J-C, Nowak-Węgrzyn A, Moshier E, Godbold J, Wang J, Sampson HA. Utility of casein-specific IgE levels in predicting reactivity to baked milk. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2013 Jan [cited 2017 Apr 22];131(1):222-4-4. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674912011232>
230. Peters RL, Gurrin LC, Dharmage SC, Koplin JJ, Allen KJ. The natural history of IgE-mediated food allergy: can skin prick tests and serum-specific IgE predict the resolution of food allergy? *Int J Environ Res Public Health* [Internet]. 2013 Oct 15 [cited 2017 Apr 22];10(10):5039–61. Available from: <http://www.mdpi.com/1660-4601/10/10/5039/>
231. Bartnikas LM, Sheehan WJ, Hoffman EB, Permaul P, Dioun AF, Friedlander J, et al. Predicting food challenge outcomes for baked milk: role of specific IgE and skin prick testing. *Ann Allergy Asthma Immunol* [Internet]. 2012 Nov [cited 2017 Apr 22];109(5):309–313.e1. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S108112061200556X>
232. Jacob CMA, Pastorino AC, Okay TS, Castro APBM, Gushken AKF, Watanabe LA, et al. Interleukin 10 (IL10) and transforming growth factor  $\beta$ 1 (TGF $\beta$ 1) gene polymorphisms in persistent IgE-mediated cow's milk allergy. *Clinics (Sao Paulo)* [Internet]. 2013 Jul 23 [cited 2017 Apr 22];68(7):1004–9. Available from: <http://clinics.org.br/article.php?id=1129>
233. Yavuz ST, Buyuktiryaki B, Sahiner UM, Birben E, Tuncer A, Yakarisik S, et al. Factors that predict the clinical reactivity and tolerance in children with cow's milk allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol* [Internet]. 2013 Apr [cited 2017 Apr 22];110(4):284–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23535094>
234. Høst A. Frequency of cow's milk allergy in childhood. *Ann Allergy Asthma Immunol* [Internet]. 2002 Dec [cited 2017 Apr 22];89(6 Suppl 1):33–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12487202>
235. Clark S, Bock SA, Gaeta TJ, Brenner BE, Cydulka RK, Camargo CA. Multicenter study of emergency department visits for food allergies ☆. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2004 Feb [cited 2017 Apr 24];113(2):347–52. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674903025375>
236. Bock SA, Muñoz-Furlong A, Sampson HA. Further fatalities caused by anaphylactic reactions to food, 2001-2006. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2007 Apr [cited 2017 Apr 24];119(4):1016–8. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674906038140>
237. Turner PJ, Gowland MH, Sharma V, Ierodiakonou D, Harper N, Garcez T, et al. Increase in anaphylaxis-related hospitalizations but no increase in fatalities: an analysis of United Kingdom national anaphylaxis data, 1992-2012. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2015 Apr [cited 2017 May 9];135(4):956–63.e1. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674914015164>
238. Gupta R, Sheikh A, Strachan DP, Anderson HR. Time trends in allergic disorders in the UK. *Thorax* [Internet]. 2007 Jan 1 [cited 2017 May 9];62(1):91–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16950836>
239. Kemp SF, Lockey RF, Wolf BL LP. Anaphylaxis. A review of 266 cases. - *PubMed - NCBI. Arch Intern Med* [Internet]. 1995 [cited 2017 Apr 24];155(16):1749–54. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7654108>
240. Sampson HA, Mendelson L, Rosen JP. Fatal and Near-Fatal Anaphylactic Reactions to Food in Children and Adolescents. *N Engl J Med* [Internet]. 1992 Aug 6 [cited 2017 Apr 24];327(6):380–4. Available from:

- <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM199208063270603>
241. Pumphrey RS. Lessons for management of anaphylaxis from a study of fatal reactions. - PubMed - NCBI. *Clin Exp Med* [Internet]. 2000 [cited 2017 Apr 24];30(8):1144–50. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Lessons+for+management+of+ana+phylaxis+from+a+study+of+fatal+reactions>.
  242. A. S. A case of egg poisoning. *Lancet*. 1908;;i, 716.
  243. E P. No Title. *Am J Dis Child*. 1920;19:46.
  244. BM K. No Title. *J Allergy Clin Immunol*. 1935;6:431–6.
  245. Edwards HE. No Title. *Can Med Assoc J*. 1945;43:234–6.
  246. Patriarca C, 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 Immunopathol (Madr)* [Internet]. [cited 2017 May 11];12(4):275–81. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6507224>
  247. Freeman J. *Lancet*. No Title. *Lancet*. 1930;1:774.
  248. 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* [Internet]. 1997 Jun [cited 2017 May 12];99(6 Pt 1):744–51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9215240>
  249. Oppenheimer JJ, Nelson HS, Bock SA, Christensen F, Leung DY. Treatment of peanut allergy with rush immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 1992 Aug [cited 2017 May 12];90(2):256–62. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1500630>
  250. Li X-M, Srivastava K, Grishin A, Huang C-K, Schofield B, Burks W, et al. Persistent protective effect of heat-killed *Escherichia coli* producing “engineered,” recombinant peanut proteins in a murine model of peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2003 Jul [cited 2017 May 12];112(1):159–67. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12847493>
  251. Holgate ST. New strategies with anti-IgE in allergic diseases. *World Allergy Organ J* [Internet]. 2014 [cited 2017 May 12];7(1):17. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25097719>
  252. Kopp MV. Omalizumab: Anti-IgE Therapy in Allergy. *Curr Allergy Asthma Rep* [Internet]. 2011 Apr 18 [cited 2017 May 12];11(2):101–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21243454>
  253. 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* [Internet]. 2016 Apr [cited 2017 May 10];137(4):1103-10-11. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674915014384>
  254. Leung DYM, Sampson HA, Yunginger JW, Burks AW, Schneider LC, Wortel CH, et al. Effect of anti-IgE therapy in patients with peanut allergy. *N Engl J Med* [Internet]. 2003 Mar 13 [cited 2017 May 10];348(11):986–93. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa022613>
  255. Bahna SL. Hypoallergenic formulas: optimal choices for treatment versus prevention. *Ann Allergy, Asthma Immunol* [Internet]. 2008 Nov [cited 2017 Apr 24];101(5):453–9. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1081120610602815>
  256. Spuergerin P, Walter M, Schiltz E, Deichmann K, Forster J, Mueller H. Allergenicity of alpha-caseins from cow, sheep, and goat. *Allergy* [Internet]. 1997 Mar [cited 2017 Apr 24];52(3):293–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9140519>

257. Restani P, Beretta B, Fiocchi A, Ballabio C, Galli CL. Cross-reactivity between mammalian proteins. *Ann Allergy Asthma Immunol* [Internet]. 2002 Dec [cited 2017 Apr 24];89(6 Suppl 1):11–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12487198>
258. de Boisseau D DC. Time course of allergy to extensively hydrolyzed cow's milk proteins in infants. - PubMed - NCBI. *J Pediatr* [Internet]. 2000 [cited 2017 Apr 24];136(1):119–20. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=J+Pediatr.+2000%3B+136%3A+119-20>.
259. Sicherer SH, Noone SA, Koerner CB, Christie L, Burks AW, Sampson HA. Hypoallergenicity and efficacy of an amino acid-based formula in children with cow's milk and multiple food hypersensitivities. *J Pediatr* [Internet]. 2001 May [cited 2017 Apr 24];138(5):688–93. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022347601160725>
260. Venter C, Brown T, Shah N, Walsh J, Fox AT. Diagnosis and management of non-IgE-mediated cow's milk allergy in infancy - a UK primary care practical guide. *Clin Transl Allergy* [Internet]. 2013 Jul 8 [cited 2017 Apr 24];3(1):23. Available from: <http://ctajournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/2045-7022-3-23>
261. Klemola T, Vanto T, Juntunen-Backman K, Kalimo K, Korpela R, Varjonen E. Allergy to soy formula and to extensively hydrolyzed whey formula in infants with cow's milk allergy: A prospective, randomized study with a follow-up to the age of 2 years. *J Pediatr* [Internet]. 2002 Feb [cited 2017 Apr 24];140(2):219–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11865274>
262. Boyano-Martínez T, García-Ara C, Pedrosa M, Díaz-Pena JM, Quirce S. Accidental allergic reactions in children allergic to cow's milk proteins. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2009 Apr [cited 2017 May 22];123(4):883–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19232704>
263. Ylitalo L, Mäkinen-Kiljunen S, Turjanmaa K, Palosuo T, Reunala T. Cow's milk casein, a hidden allergen in natural rubber latex gloves. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 1999 Jul [cited 2017 Apr 24];104(1):177–80. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10400857>
264. Alvarado MI, Alonso E, Álvarez MG, Ibáñez MD, Muñoz MC LM. Sensibilización persistente a proteínas de leche de vaca. *Estudio Clínico. Alergol Inmunopatol Clín*. 2000;15(Extr 3):19–20.
265. Mofidi S. Nutritional management of pediatric food hypersensitivity. *Pediatrics* [Internet]. 2003 Jun [cited 2017 Apr 24];111(6 Pt 3):1645–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12777605>
266. Ruiz López MD. Composición y calidad nutritiva de los alimentos. Tomo II. En: Gil A, ed. *Tratado de Nutrición*. Madrid: Acción Médica;
267. Carvalho NF, Kenney RD, Carrington PH, Hall DE. Severe nutritional deficiencies in toddlers resulting from health food milk alternatives. *Pediatrics* [Internet]. 2001 Apr [cited 2017 Apr 24];107(4):E46. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11335767>
268. De Vizia B, Mansi A, Giangregorio A, Troncone R. Metabolic alkalosis due to the use of an oligoantigenic diet in infancy. *Acta Paediatr* [Internet]. 1995 Jan [cited 2017 Apr 24];84(1):103–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7734889>
269. Massa G, Vanoppen A, Gillis P, Aerssens P, Alliet P, Raes M. Protein malnutrition due to replacement of milk by rice drink. *Eur J Pediatr* [Internet]. 2001 Jun [cited 2017 Apr 24];160(6):382–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11421421>

270. Isolauri E, Sütas Y, Salo MK, Isosomppi R, Kaila M. Elimination diet in cow's milk allergy: risk for impaired growth in young children. *J Pediatr* [Internet]. 1998 Jun [cited 2017 Apr 24];132(6):1004–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9627594>
271. Decsi T, Veitl V, Szász M, Pintér Z, Méhes K. Plasma amino acid concentrations in healthy, full-term infants fed hydrolysate infant formula. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* [Internet]. 1996 Jan [cited 2017 Apr 24];22(1):62–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8788289>
272. Thomassen RA, Kvammen JA, Eskerud MB, Júlíusson PB, Henriksen C, Rugtveit J. Iodine Status and Growth In 0-2-Year-Old Infants With Cow's Milk Protein Allergy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* [Internet]. 2017 May [cited 2017 May 12];64(5):806–11. Available from: <http://insights.ovid.com/crossref?an=00005176-201705000-00029>
273. Caffarelli C, Santamaria F, Cesari S, Sciorio E, Povesi-Dascola C, Bernasconi S. Advances in pediatrics in 2014: current practices and challenges in allergy, gastroenterology, infectious diseases, neonatology, nutrition, oncology and respiratory tract illnesses. *Ital J Pediatr* [Internet]. 2015 Oct 31 [cited 2017 May 12];41(1):84. Available from: <http://www.ijponline.net/content/41/1/84>
274. Yanagida N, Minoura T, Kitaoka S. Does Terminating the Avoidance of Cow's Milk Lead to Growth in Height. *Int Arch Allergy Immunol* [Internet]. 2015 [cited 2017 May 12];168(1):56–60. Available from: <https://www.karger.com/?doi=10.1159/000441499>
275. Miraglia Del Giudice M, D'Auria E, Peroni D, Palazzo S, Radaelli G, Comberiat P, et al. Flavor, relative palatability and components of cow's milk hydrolysed formulas and amino acid-based formula. *Ital J Pediatr* [Internet]. 2015 Jun 3 [cited 2017 May 12];41(1):42. Available from: <http://www.ijponline.net/content/41/1/42>
276. Dupont C, Bradatan E, Soulaïnes P, Nocerino R, Berni-Canani R. Tolerance and growth in children with cow's milk allergy fed a thickened extensively hydrolyzed casein-based formula. *BMC Pediatr* [Internet]. 2016 Jul 18 [cited 2017 May 12];16(1):96. Available from: <http://bmcpediatr.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12887-016-0637-3>
277. Larnkjær A, Bruun S, Pedersen D, Zachariassen G, Barkholt V, Agostoni C, et al. Free Amino Acids in Human Milk and Associations With Maternal Anthropometry and Infant Growth. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* [Internet]. 2016 Sep [cited 2017 May 12];63(3):374–8. Available from: <http://insights.ovid.com/crossref?an=00005176-201609000-00018>
278. Berry MJ, Adams J, Voutilainen H, Feustel PJ, Celestin J, Järvinen KM. Impact of elimination diets on growth and nutritional status in children with multiple food allergies. *Pediatr Allergy Immunol* [Internet]. 2015 Mar [cited 2017 May 12];26(2):133–8. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/pai.12348>
279. Conrad SC, Chiu H, Silverman BL. Soy formula complicates management of congenital hypothyroidism. *Arch Dis Child* [Internet]. 2004 Jan [cited 2017 Apr 24];89(1):37–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14709499>
280. Milner JD, Stein DM, McCarter R, Moon RY. Early infant multivitamin supplementation is associated with increased risk for food allergy and asthma. *Pediatrics* [Internet]. 2004 Jul [cited 2017 Apr 24];114(1):27–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15231904>
281. Maslin K, Grimshaw K, Oliver E, Roberts G, Arshad SH, Dean T, et al. Taste preference, food neophobia and nutritional intake in children consuming a cows' milk exclusion diet: a prospective study. *J Hum Nutr Diet* [Internet]. 2016 Dec [cited 2017 May 12];29(6):786–96. Available from:

- <http://doi.wiley.com/10.1111/jhn.12387>
282. Maslin K, Grundy J, Glasbey G, Dean T, Arshad SH, Grimshaw K, et al. Cows' milk exclusion diet during infancy: Is there a long-term effect on children's eating behaviour and food preferences? *Pediatr Allergy Immunol* [Internet]. 2016 Mar [cited 2017 May 12];27(2):141–6. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/pai.12513>
283. Herbert LJ, Mehta P, Sharma H. Mealtime behavior among parents and their young children with food allergy. *Ann Allergy, Asthma Immunol* [Internet]. 2017 Mar [cited 2017 May 12];118(3):345–50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28094121>
284. Xue Y, Lee E, Ning K, Zheng Y, Ma D, Gao H, et al. Prevalence of picky eating behaviour in Chinese school-age children and associations with anthropometric parameters and intelligence quotient. A cross-sectional study. *Appetite* [Internet]. 2015 Aug [cited 2017 May 12];91:248–55. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0195666315002111>
285. Yunginger JW, Sweeney KG, Sturner WQ, Giannandrea LA, Teigland JD, Bray M, et al. Fatal food-induced anaphylaxis. *JAMA* [Internet]. 1988 Sep 9 [cited 2017 Apr 24];260(10):1450–2. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3404604>
286. Marrs T, Lack G. Why do few food-allergic adolescents treat anaphylaxis with adrenaline?--Reviewing a pressing issue. *Pediatr Allergy Immunol* [Internet]. 2013 May [cited 2017 Apr 24];24(3):222–9. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/pai.12013>
287. Aas K. Societal implications of food allergy: coping with atopic disease in children and adolescents. *Ann Allergy* [Internet]. 1987 Nov [cited 2017 Apr 24];59(5 Pt 2):194–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3688574>
288. Sicherer SH, Noone SA, Muñoz-Furlong A. The impact of childhood food allergy on quality of life. *Ann Allergy, Asthma Immunol* [Internet]. 2001 Dec [cited 2017 Apr 24];87(6):461–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11770692>
289. Marklund B, Ahlstedt S, Nordström G. Health-related quality of life among adolescents with allergy-like conditions - with emphasis on food hypersensitivity. *Health Qual Life Outcomes* [Internet]. 2004 Nov 19 [cited 2017 Apr 24];2(1):65. Available from: <http://hqlo.biomedcentral.com/articles/10.1186/1477-7525-2-65>
290. DunnGalvin A, Dubois AEJ, Flokstra-de Blok BMJ, Hourihane JO. The effects of food allergy on quality of life. *Chem Immunol Allergy* [Internet]. 2015 [cited 2017 May 9];101:235–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26022884>
291. Avery NJ, King RM, Knight S, Hourihane JO. Assessment of quality of life in children with peanut allergy. *Pediatr Allergy Immunol* [Internet]. 2003 Oct [cited 2017 Apr 24];14(5):378–82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14641608>
292. Flokstra-de Blok BMJ, DunnGalvin A, Vlieg-Boerstra BJ, Oude Elberink JNG, Duiverman EJ, Hourihane JO, et al. Development and validation of the self-administered Food Allergy Quality of Life Questionnaire for adolescents. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2008 Jul [cited 2017 Apr 24];122(1):139–144.e2. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18602570>
293. Flokstra-de Blok BMJ, DunnGalvin A, Vlieg-Boerstra BJ, Oude Elberink JNG, Duiverman EJ, Hourihane JO, et al. Development and validation of a self-administered Food Allergy Quality of Life Questionnaire for children. *Clin Exp Allergy* [Internet]. 2009 Jan [cited 2017 Apr 24];39(1):127–37. Available from:

- <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2222.2008.03120.x>
294. Flokstra-de Blok BMJ, van der Meulen GN, DunnGalvin A, Vlieg-Boerstra BJ, Oude Elberink JNG, Duiverman EJ, et al. Development and validation of the Food Allergy Quality of Life Questionnaire - Adult Form. *Allergy* [Internet]. 2009 Aug [cited 2017 Apr 24];64(8):1209–17. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19210345>
  295. Wood RA, Sicherer SH, Vickery BP, Jones SM, Liu AH, Fleischer DM, et al. The natural history of milk allergy in an observational cohort. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2013 Mar [cited 2017 Apr 24];131(3):805–12. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674912018593>
  296. Elizur A, Rajuan N, Goldberg MR, Leshno M, Cohen A, Katz Y. Natural Course and Risk Factors for Persistence of IgE-Mediated Cow's Milk Allergy. *J Pediatr* [Internet]. 2012 Sep [cited 2017 Apr 24];161(3):482–487.e1. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22480700>
  297. Yeung JP, Kloda LA, McDevitt J, Ben-Shoshan M, Alizadehfar R. Oral immunotherapy for milk allergy. Yeung JP, editor. *Cochrane database Syst Rev* [Internet]. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2012 Nov 14 [cited 2017 Apr 24];11:CD009542. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD009542.pub2>
  298. 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* [Internet]. 2011 Jun [cited 2017 Apr 24];127(6):1622–4. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674911005823>
  299. Kim JS, Nowak-Węgrzyn A, Sicherer SH, Noone S, Moshier EL, Sampson HA. Dietary baked milk accelerates the resolution of cow's milk allergy in children. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2011 Jul [cited 2017 Apr 24];128(1):125–131.e2. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674911006749>
  300. Takahashi M, Taniuchi S, Soejima K, Hatano Y, Yamanouchi S, Kaneko K. Erratum to: Two-weeks-sustained unresponsiveness by oral immunotherapy using microwave heated cow's milk for children with cow's milk allergy. *Allergy, Asthma Clin Immunol* [Internet]. 2016 Dec 31 [cited 2017 May 12];12(1):57. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27822230>
  301. Takahashi M, Taniuchi S, Soejima K, Hatano Y, Yamanouchi S, Kaneko K. Two-weeks-sustained unresponsiveness by oral immunotherapy using microwave heated cow's milk for children with cow's milk allergy. *Allergy, Asthma Clin Immunol* [Internet]. 2016 Dec 26 [cited 2017 May 12];12(1):44. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27570533>
  302. Keet CA, Frischmeyer-Guerrero PA, Thyagarajan A, Schroeder JT, Hamilton RG, Boden S, et al. The safety and efficacy of sublingual and oral immunotherapy for milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2012 Feb [cited 2017 Apr 24];129(2):448–455.e5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22130425>
  303. Mondoulet L, Dioszeghy V, Ligouis M, Dhelft V, Dupont C, Benhamou P-H. Epicutaneous immunotherapy on intact skin using a new delivery system in a murine model of allergy. *Clin Exp Allergy* [Internet]. 2010 Apr 10 [cited 2017 Apr 24];40(4):659–67. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2222.2009.03430.x>
  304. Dupont C, Kalach N, Soulaines P, Legoué-Morillon S, Piloquet H, Benhamou P-H. Cow's milk epicutaneous immunotherapy in children: a pilot trial of safety, acceptability, and impact on allergic reactivity. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2010 May [cited 2017 Apr 24];125(5):1165–7. Available from:

- <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674910003921>
305. Mc Ewen LM. Hyposensitization. In: Brostoff J, Challacombe SJ, eds. Food Allergy and Intolerance. London: Baillière-Tindall; 1987. 985-94 p.
  306. 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* [Internet]. [cited 2017 Apr 24];45(19):52–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9496487>
  307. 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* [Internet]. 2008 Feb [cited 2017 Apr 24];121(2):343–7. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674907020003>
  308. 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* [Internet]. 2007 Nov [cited 2017 Apr 24];62(11):1261–9. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1398-9995.2007.01501.x>
  309. Staden U, Blumchen K, Blankenstein N, Dannenberg N, Ulbricht H, Dobberstein K, et al. Rush oral immunotherapy in children with persistent cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2008 Aug [cited 2017 Apr 24];122(2):418–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18602681>
  310. Sánchez-García S, Rodríguez del Río P, Escudero C, García-Fernández C, Ramirez A, Ibáñez MD. Efficacy of oral immunotherapy protocol for specific oral tolerance induction in children with cow's milk allergy. *Isr Med Assoc J* [Internet]. 2012 Jan [cited 2017 Apr 24];14(1):43–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22624442>
  311. Barbi E, Longo G, Berti I, Matarazzo L, Rubert L, Saccari A, et al. Adverse effects during specific oral tolerance induction: in home phase. *Allergol Immunopathol (Madr)* [Internet]. 2012 Jan [cited 2017 Apr 24];40(1):41–50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21802824>
  312. Mori F, Pucci N, Rossi ME, de Martino M, Azzari C, Novembre E. Oral desensitization to milk: how to choose the starting dose! *Pediatr Allergy Immunol* [Internet]. 2010 Mar [cited 2017 Apr 24];21(2 Pt 2):e450-3. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1399-3038.2009.00917.x>
  313. Caminiti L, Passalacqua G, Barberi S, Vita D, Barberio G, De Luca R, et al. A new protocol for specific oral tolerance induction in children with IgE-mediated cow's milk allergy. *Allergy asthma Proc* [Internet]. 2009 Jul 1 [cited 2017 Apr 24];30(4):443–8. Available from: <http://openurl.ingenta.com/content/xref?genre=article&issn=1088-5412&volume=30&issue=4&spage=443>
  314. Meglio P, Bartone E, Plantamura M, Arabito E, Giampietro PG. A protocol for oral desensitization in children with IgE-mediated cow's milk allergy. *Allergy* [Internet]. 2004 Sep [cited 2017 Apr 24];59(9):980–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15291907>
  315. 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* [Internet]. 2011 Sep [cited 2017 Apr 24];41(9):1297–304. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21481024>
  316. Skripak JM, Nash SD, Rowley H, Brereton NH, Oh S, Hamilton RG, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled study of milk oral immunotherapy for cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2008 Dec [cited 2017 Apr 24];122(6):1154–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18951617>

317. Zapatero L, Alonso E, Fuentes V, Martínez MI. Oral desensitization in children with cow's milk allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol* [Internet]. 2008 [cited 2017 Apr 24];18(5):389–96. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18973104>
318. Pajno GB, Caminiti L, Ruggeri P, De Luca R, Vita D, La Rosa M, et al. Oral immunotherapy for cow's milk allergy with a weekly up-dosing regimen: a randomized single-blind controlled study. *Ann Allergy Asthma Immunol* [Internet]. 2010 Nov [cited 2017 Apr 24];105(5):376–81. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1081120610003832>
319. 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* [Internet]. 2013 Jan [cited 2017 Apr 24];43(1):92–102. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/cea.12012>
320. 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* [Internet]. 2013 Apr [cited 2017 Apr 24];110(4):290–4. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S108112061300046X>
321. Barbi E, Longo G, Berti I, Neri E, Saccari A, Rubert L, et al. Adverse effects during specific oral tolerance induction: in-hospital "rush" phase. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2012 Feb [cited 2017 Apr 24];44(1):18–25. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22519128>
322. Patriarca G, Nucera E, Pollastrini E, Roncallo C, Pasquale T De, Lombardo C, et al. Oral Specific Desensitization in Food-Allergic Children. *Dig Dis Sci* [Internet]. 2007 Jun 1 [cited 2017 Apr 24];52(7):1662–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17245630>
323. Salmivesi S, Korppi M, Mäkelä MJ, Paassilta M. Milk oral immunotherapy is effective in school-aged children. *Acta Paediatr* [Internet]. 2013 Feb [cited 2017 Apr 24];102(2):172–6. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1651-2227.2012.02815.x>
324. Bauer A, Ekanayake Mudiyansele S, Wigger-Alberti W, Elsner P. Oral rush desensitization to milk. *Allergy* [Internet]. 1999 Aug [cited 2017 Apr 24];54(8):894–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10485398>
325. de Boissieu D, Dupont C. Sublingual immunotherapy for cow's milk protein allergy: a preliminary report. *Allergy* [Internet]. 2006 Oct [cited 2017 Apr 24];61(10):1238–9. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1398-9995.2006.01196.x>
326. Meglio P, Giampietro PG, Gianni S, Galli E. Oral desensitization in children with immunoglobulin E-mediated cow's milk allergy--follow-up at 4 yr and 8 months. *Pediatr Allergy Immunol* [Internet]. 2008 Aug [cited 2017 Apr 24];19(5):412–9. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1399-3038.2007.00670.x>
327. Kaneko H, Teramoto T, Kondo M, Morita H, Ohnishi H, Orii K, et al. Efficacy of the slow dose-up method for specific oral tolerance induction in children with cow's milk allergy: comparison with reported protocols. *J Investig Allergol Clin Immunol* [Internet]. 2010 [cited 2017 Apr 24];20(6):538–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21243943>
328. Yanagida N, Sato S, Asaumi T, Okada Y, Ogura K, Ebisawa M. A Single-Center, Case-Control Study of Low-Dose-Induction Oral Immunotherapy with Cow's Milk. *Int Arch Allergy Immunol* [Internet]. 2015 Dec 19 [cited 2017 May 12];168(2):131–7. Available from: <http://www.karger.com/?doi=10.1159/000442157>

329. Pajno GB, Caminiti L, Salzano G, Crisafulli G, Aversa T, Messina MF, et al. Comparison between two maintenance feeding regimens after successful cow's milk oral desensitization. *Pediatr Allergy Immunol* [Internet]. 2013 Jun [cited 2017 Apr 24];24(4):376–81. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/pai.12077>
330. Narisety SD, Skripak JM, Steele P, Hamilton RG, Matsui EC, Burks AW, et al. Open-label maintenance after milk oral immunotherapy for IgE-mediated cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2009 Sep [cited 2017 Apr 24];124(3):610–2. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674909009804>
331. Martorell Aragonés A, Félix Toledo R, Cerdá Mir JC, Martorell Calatayud A. Oral rush desensitization to cow milk. Following of desensitized patients during three years. *Allergol Immunopathol (Madr)* [Internet]. [cited 2017 May 19];35(5):174–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17923070>
332. Burks AW, Jones SM, Wood RA, Fleischer DM, Sicherer SH, Lindblad RW, et al. Oral Immunotherapy for Treatment of Egg Allergy in Children. *N Engl J Med* [Internet]. 2012 Jul 19 [cited 2017 Apr 24];367(3):233–43. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22808958>
333. 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* [Internet]. 2014 Feb [cited 2017 May 10];133(2):468–475.e6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24361082>
334. Brożek 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* [Internet]. 2012 Mar [cited 2017 Apr 24];42(3):363–74. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22356141>
335. Rolinck-Werninghaus C, Staden U, Mehl A, Hamelmann E, Beyer K, Niggemann B. Specific oral tolerance induction with food in children: transient or persistent effect on food allergy? *Allergy* [Internet]. 2005 Oct [cited 2017 Apr 24];60(10):1320–2. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16135001>
336. Tang MLK, Ponsonby A-L, Orsini F, Tey D, Robinson M, Su EL, et al. Administration of a probiotic with peanut oral immunotherapy: A randomized trial. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2015 Mar [cited 2017 May 12];135(3):737–44.e8. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674914017370>
337. 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* [Internet]. 2013 Sep [cited 2017 May 10];132(3):737–739.e6. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674913007689>
338. Anagnostou K, Islam S, King Y, Foley L, Pasea L, Bond S, et al. Assessing the efficacy of oral immunotherapy for the desensitisation of peanut allergy in children (STOP II): a phase 2 randomised controlled trial. *Lancet* [Internet]. 2014 Apr 12 [cited 2017 May 12];383(9925):1297–304. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24485709>
339. Wright BL, Kulis M, Orgel KA, Burks AW, Dawson P, Henning AK, et al. Component-resolved analysis of IgA, IgE, and IgG4 during egg OIT identifies markers associated with sustained unresponsiveness. *Allergy* [Internet]. 2016 Nov [cited 2017 May 10];71(11):1552–60. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/all.12895>

340. Jones SM, Burks AW, Keet C, Vickery BP, Scurlock AM, Wood RA, et al. Long-term treatment with egg oral immunotherapy enhances sustained unresponsiveness that persists after cessation of therapy. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2016 Apr [cited 2017 May 10];137(4):1117-27-10. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674916001172>
341. 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* [Internet]. 2017 May 11 [cited 2017 May 11]; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28058751>
342. Pajno GB, Caminiti L, Ruggeri P, De Luca R, Vita D, La Rosa M, et al. Oral immunotherapy for cow's milk allergy with a weekly up-dosing regimen: a randomized single-blind controlled study. *Ann Allergy, Asthma Immunol* [Internet]. 2010 Nov [cited 2017 May 12];105(5):376–81. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21055664>
343. Levy MB, Elizur A, Goldberg MR, Nachshon L, Katz Y. Clinical predictors for favorable outcomes in an oral immunotherapy program for IgE-mediated cow's milk allergy. *Ann Allergy, Asthma Immunol* [Internet]. 2014 Jan [cited 2017 Apr 24];112(1):58–63.e1. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24331395>
344. Nieto A, Fernandez-Silveira L, Mazon A, Caballero L. Life-threatening asthma reaction caused by desensitization to milk. *Allergy* [Internet]. 2010 Oct [cited 2017 May 10];65(10):1342–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20180790>
345. Paassilta M, Salmivesi S, Mäki T, Helminen M, Korppi M. Children who were treated with oral immunotherapy for cows' milk allergy showed long-term desensitisation seven years later. *Acta Paediatr* [Internet]. 2016 Feb [cited 2017 May 10];105(2):215–9. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/apa.13251>
346. 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* [Internet]. 2012 Apr [cited 2017 Apr 24];129(4):1155–7. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674911019038>
347. Echeverría-Zudaire LÁ, Fernández-Fernández S, Rayo-Fernández A, Muñoz-Archidona C, Checa-Rodríguez R. Primary eosinophilic gastrointestinal disorders in children who have received food oral immunotherapy. *Allergol Immunopathol (Madr)* [Internet]. 2016 Nov [cited 2017 May 10];44(6):531–6. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0301054616300933>
348. Wood RA. Food allergen immunotherapy: Current status and prospects for the future. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2016 Apr [cited 2017 May 12];137(4):973–82. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674916000865>
349. Nucera E, Pecora V, Buonomo A, Rizzi A, Aruanno A, Pascolini L, et al. Utility of Basophil Activation Test for monitoring the acquisition of clinical tolerance after oral desensitization to cow's milk: Pilot study. *United Eur Gastroenterol J* [Internet]. 2015 Jun [cited 2017 May 12];3(3):272–6. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/2050640615570694>
350. Clark AT, Ewan PW. Food allergy in childhood. *Arch Dis Child* [Internet]. 2004 Feb [cited 2017 Apr 24];89(2):197. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14736644>
351. Sampson HA. Anaphylaxis and emergency treatment. *Pediatrics* [Internet]. 2003 Jun [cited 2017 Apr 24];111(6 Pt 3):1601–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12777599>

352. Bock SA, Sampson HA, Atkins FM, Zeiger RS, Lehrer S, Sachs M, et al. Double-blind, placebo-controlled food challenge (DBPCFC) as an office procedure: a manual. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 1988 Dec [cited 2017 Apr 24];82(6):986–97. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3060514>
353. Caminiti L, Passalacqua G, Vita D, Ruggeri P, Barberio G, Pajno GB. Food-exercise-induced anaphylaxis in a boy successfully desensitized to cow milk. *Allergy* [Internet]. 2007 Mar 8 [cited 2017 Apr 24];62(3):335–6. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1398-9995.2006.01289.x>
354. Couto M, Gaspar A, Santa-Marta C, Morais-Almeida M. Cow's milk dependent exercise-induced urticaria after oral tolerance induction in an adolescent. *Allergol Immunopathol (Madr)* [Internet]. 2012 Jan [cited 2017 Apr 24];40(1):67–8. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0301054611001972>
355. Rodríguez del Río P, Sánchez-García S, Escudero C, Pastor-Vargas C, Sánchez Hernández JJ, Pérez-Rangel I, et al. Allergy to goat's and sheep's milk in a population of cow's milk-allergic children treated with oral immunotherapy. *Pediatr Allergy Immunol* [Internet]. 2012 Mar [cited 2017 Apr 24];23(2):128–32. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1399-3038.2012.01284.x>
356. Alonso-Lebrero E, Fuentes V, Zapatero L, Pérez-Bustamante S, Pineda F, Martínez-Molero MI. Goat's milk allergies in children following specific oral tolerance induction to cow's milk. *Allergol Immunopathol (Madr)* [Internet]. [cited 2017 Apr 24];36(3):180–1. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18680707>
357. 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* [Internet]. 2008 [cited 2017 Apr 24];18(3):219–22. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18564635>
358. Takahashi M, Taniuchi S, Soejima K, Sudo K, Hatano Y, Kaneko K. New efficacy of LTRAs (montelukast sodium): it possibly prevents food-induced abdominal symptoms during oral immunotherapy. *Allergy Asthma Clin Immunol* [Internet]. 2014 Jan 17 [cited 2017 Apr 24];10(1):3. Available from: <http://aacijournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/1710-1492-10-3>
359. Burks AW, Tang M, Sicherer S, Muraro A, Eigenmann PA, Ebisawa M, et al. ICON: food allergy. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2012 Apr [cited 2017 Apr 24];129(4):906–20. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674912002540>
360. Fisher HR, Toit G d., Lack G. Specific oral tolerance induction in food allergic children: is oral desensitisation more effective than allergen avoidance?: A meta-analysis of published RCTs. *Arch Dis Child* [Internet]. 2011 Mar 1 [cited 2017 May 11];96(3):259–64. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20522461>
361. Burks AW, Calderon MA, Casale T, Cox L, Demoly P, Jutel M, et al. Update on allergy immunotherapy: American Academy of Allergy, Asthma & Immunology/European Academy of Allergy and Clinical Immunology/PRACTALL consensus report. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2013 May [cited 2017 Apr 24];131(5):1288–96.e3. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674913002595>
362. 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* [Internet]. 2012 May 8 [cited 2017 May 10];5(3):267–76. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/mi.2012.5>
363. Sancho-Serra M del C, Simarro M, Castells M. Rapid IgE desensitization is

- antigen specific and impairs early and late mast cell responses targeting FcεRI internalization. *Eur J Immunol* [Internet]. 2011 Apr [cited 2017 Apr 24];41(4):1004–13. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/eji.201040810>
364. Fuentes-Aparicio V, Alonso-Lebrero E, Zapatero L, Infante S, Lorente R, Angeles Muñoz-Fernández M, et al. Oral immunotherapy in hen's egg-allergic children increases a hypo-proliferative subset of CD4+ T cells that could constitute a marker of tolerance achievement. *Pediatr Allergy Immunol* [Internet]. 2012 Nov [cited 2017 Apr 24];23(7):648–53. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1399-3038.2012.01333.x>
365. Fujita H, Soyka MB, Akdis M, Akdis CA. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *Clin Transl Allergy* [Internet]. 2012 Jan 5 [cited 2017 Apr 24];2(1):2. Available from: <http://ctajournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/2045-7022-2-2>
366. Akdis CA, Akdis M. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2011 Jan [cited 2017 Apr 24];127(1):18–27. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21211639>
367. Palomares O. The role of regulatory T cells in IgE-mediated food allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol* [Internet]. 2013 [cited 2017 Apr 24];23(6):371–82; quiz 2 p preceding 382. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24459813>
368. Shevach EM. Mechanisms of foxp3+ T regulatory cell-mediated suppression. *Immunity* [Internet]. 2009 May [cited 2017 Apr 24];30(5):636–45. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1074761309001976>
369. Syed A, Garcia MA, Lyu S-C, 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* [Internet]. 2014 Feb [cited 2017 Apr 24];133(2):500–10. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674913029576>
370. Shreffler WG, Wanich N, Moloney M, Nowak-Wegrzyn A, Sampson HA. Association of allergen-specific regulatory T cells with the onset of clinical tolerance to milk protein. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2009 Jan [cited 2017 Apr 24];123(1):43–52.e7. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S009167490801868X>
371. Wu Z. Antigen specific immunotherapy generates CD27(+) CD35(+) tolerogenic dendritic cells. *Cell Immunol* [Internet]. 2013 May [cited 2017 Apr 24];283(1–2):75–80. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0008874913001081>
372. Varshney P, Jones SM, Scurlock AM, Perry TT, Kemper A, Steele P, et al. A randomized controlled study of peanut oral immunotherapy: Clinical desensitization and modulation of the allergic response. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2011 Mar [cited 2017 Apr 24];127(3):654–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21377034>
373. 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* [Internet]. 2009 Aug [cited 2017 Apr 24];124(2):292–300, 300-97. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674909008136>
374. Frischmeyer-Guerrero PA, Chichester K, Bieneman A, Keet C, Wood RA SJ. Basophil responses in children undergoing immunotherapy for milk allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;127:Ab26-Ab.
375. Knol EF, Mul FP, Jansen H, Calafat J, Roos D. Monitoring human basophil activation via CD63 monoclonal antibody 435. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 1991 Sep [cited 2017 Apr 24];88(3 Pt 1):328–38. Available from:

- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1716273>
376. Wanich N, Nowak-Wegrzyn A, Sampson HA, Shreffler WG. Allergen-specific basophil suppression associated with clinical tolerance in patients with milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2009 Apr [cited 2017 Apr 24];123(4):789–94.e20. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674909001195>
377. Vila L, Moreno A, Gamboa PM, Martínez-Aranguren R, Sanz ML. Decrease in antigen-specific CD63 basophil expression is associated with the development of tolerance to egg by SOTI in children. *Pediatr Allergy Immunol* [Internet]. 2013 Aug [cited 2017 Apr 24];24(5):463–8. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/pai.12070>
378. Thyagarajan A, Jones SM, Calatroni A, Pons L, Kulis M, Woo CS, et al. Evidence of pathway-specific basophil anergy induced by peanut oral immunotherapy in peanut-allergic children. *Clin Exp Allergy* [Internet]. 2012 Aug [cited 2017 Apr 24];42(8):1197–205. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2222.2012.04028.x>
379. Kepley CL. Antigen-induced reduction in mast cell and basophil functional responses due to reduced Syk protein levels. *Int Arch Allergy Immunol* [Internet]. 2005 Sep 16 [cited 2017 Apr 24];138(1):29–39. Available from: <http://www.karger.com/?doi=10.1159/000087355>
380. Ono E, Taniguchi M, Higashi N, Mita H, Kajiwara K, Yamaguchi H, et al. CD203c expression on human basophils is associated with asthma exacerbation. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2010 Feb [cited 2017 Apr 24];125(2):483–489.e3. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674909017680>
381. Glez PP-R, Franco YB-A, Matheu V. MIP-1 $\alpha$ , MCP-1, and desensitization in anaphylaxis from cow's milk. *N Engl J Med* [Internet]. 2012 Jul 19 [cited 2017 Apr 24];367(3):282–4. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMc1200337>
382. 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* [Internet]. 2003 Feb [cited 2017 Apr 25];17(3):459–65. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12562461>
383. Álvaro M, Giner MT, Vázquez M, Lozano J, Domínguez O, Piquer M, et al. Specific oral desensitization in children with IgE-mediated cow's milk allergy. Evolution in one year. *Eur J Pediatr* [Internet]. 2012 Sep 11 [cited 2017 May 12];171(9):1389–95. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22576806>
384. Blumchen K, Ulbricht H, Staden U, Dobberstein K, Beschorner J, de Oliveira LCL, et al. Oral peanut immunotherapy in children with peanut anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2010 Jul [cited 2017 Apr 25];126(1):83–91.e1. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20542324>
385. Burks AW, Jones SM. Egg oral immunotherapy in non-anaphylactic children with egg allergy: follow-up. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2008 Jan [cited 2017 Apr 25];121(1):270–1. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674907015801>
386. Skripak JM, Nash SD, Rowley H, Brereton NH, Oh S, Hamilton RG, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled study of milk oral immunotherapy for cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2008 Dec [cited 2017 May 12];122(6):1154–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18951617>

387. Uermösi C, Beerli RR, Bauer M, Manolova V, Dietmeier K, Buser RB, et al. Mechanisms of allergen-specific desensitization. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2010 Aug [cited 2017 Apr 25];126(2):375–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20624641>
388. 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* [Internet]. 2009 Aug [cited 2017 Apr 25];124(2):292–300, 300-97. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674909008136>
389. Burks AW, Jones SM, Wood RA, Fleischer DM, Sicherer SH, Lindblad RW, et al. Oral Immunotherapy for Treatment of Egg Allergy in Children. *N Engl J Med* [Internet]. 2012 Jul 19 [cited 2017 Apr 25];367(3):233–43. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22808958>
390. Krishna MT, Huissoon AP. Clinical immunology review series: an approach to desensitization. *Clin Exp Immunol* [Internet]. 2011 Feb [cited 2017 Apr 25];163(2):131–46. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21175592>
391. Kerzl R, Simonowa A, Ring J, Ollert M, Mempel M. Life-threatening anaphylaxis to kiwi fruit: protective sublingual allergen immunotherapy effect persists even after discontinuation. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2007 Feb [cited 2017 Apr 25];119(2):507–8. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674906021233>
392. Varshney P, Steele PH, Vickery BP, Bird JA, Thyagarajan A, Scurlock AM, et al. Adverse reactions during peanut oral immunotherapy home dosing. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2009 Dec [cited 2017 Apr 25];124(6):1351–2. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19913285>
393. Brandström J, Vetander M, Lilja G, Johansson SGO, Sundqvist A-C, Kalm F, et al. Individually dosed omalizumab: an effective treatment for severe peanut allergy. *Clin Exp Allergy* [Internet]. 2017 Apr [cited 2017 May 12];47(4):540–50. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/cea.12862>
394. Dahdah L, Ceccarelli S, Amendola S, Campagnano P, Cancrini C, Mazzina O, et al. IgE Immunoabsorption Knocks Down the Risk of Food-Related Anaphylaxis. *Pediatrics* [Internet]. 2015 Dec 1 [cited 2017 May 12];136(6):e1617-20. Available from: <http://pediatrics.aappublications.org/cgi/doi/10.1542/peds.2015-1757>
395. Bégin 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* [Internet]. 2014 Feb 20 [cited 2017 May 10];10(1):7. Available from: <http://aacijournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/1710-1492-10-7>
396. MacGinnitie AJ, Rachid R, Gragg H, Little S V, Lakin P, Cianferoni A, et al. Omalizumab facilitates rapid oral desensitization for peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2017 Mar [cited 2017 May 10];139(3):873–881.e8. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674916308983>
397. 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* [Internet]. 2013 Dec [cited 2017 May 10];132(6):1368–74. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674913015492>
398. Khoriaty E, Umetsu DT. Oral immunotherapy for food allergy: towards a new horizon. *Allergy Asthma Immunol Res* [Internet]. 2013 Jan [cited 2017 May 10];5(1):3–15. Available from: <https://synapse.koreamed.org/DOIx.php?id=10.4168/aair.2013.5.1.3>
399. Nadeau KC, Kohli A, Iyengar S, DeKruyff RH, Umetsu DT. Oral immunotherapy

- and anti-IgE antibody-adjunctive treatment for food allergy. *Immunol Allergy Clin North Am* [Internet]. 2012 Feb [cited 2017 May 10];32(1):111–33. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889856111001081>
400. Sheikh A, Nurmatov U, Venderbosch I, Bischoff E. Oral immunotherapy for the treatment of peanut allergy: systematic review of six case series studies. *Prim Care Respir J* [Internet]. 2012 Mar 21 [cited 2017 May 10];21(1):41–9. Available from: <http://www.nature.com/articles/pcrj201171>
401. Savage JH, Courneya J-P, 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* [Internet]. 2012 Nov [cited 2017 May 10];130(5):1123–1129.e2. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674912009050>
402. Vichyanond P. Omalizumab in allergic diseases, a recent review. *Asian Pacific J Allergy Immunol* [Internet]. 2011 Sep [cited 2017 May 10];29(3):209–19. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22053590>
403. Nowak-Węgrzyn A, Sampson HA. Future therapies for food allergies. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2011 Mar [cited 2017 May 10];127(3):558–73-5. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674911000030>
404. Sampson HA, Leung DYM, Burks AW, Lack G, Bahna SL, Jones SM, et al. A phase II, randomized, double-blind, parallel-group, placebo-controlled oral food challenge trial of Xolair (omalizumab) in peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2011 May [cited 2017 May 10];127(5):1309–10.e1. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674911001813>
405. Rafi A, Do LT, Katz R, Sheinkopf LE, Simons CW, Klaustermeyer W. Effects of omalizumab in patients with food allergy. *Allergy asthma Proc* [Internet]. 2010 Jan 1 [cited 2017 May 10];31(1):76–83. Available from: <http://openurl.ingenta.com/content/xref?genre=article&issn=1088-5412&volume=31&issue=1&spage=76>
406. Martorell-Calatayud C, Michavila-Gómez A, Martorell-Aragonés A, Molini-Menchón N, Cerdá-Mir JC, Félix-Toledo R, et al. Anti-IgE-assisted desensitization to egg and cow's milk in patients refractory to conventional oral immunotherapy. *Pediatr Allergy Immunol* [Internet]. 2016 Aug [cited 2017 May 10];27(5):544–6. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/pai.12567>
407. 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* [Internet]. 2011 Jun [cited 2017 Apr 25];127(6):1622–4. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674911005823>
408. Carraro S, Frigo AC, Perin M, Stefani S, Cardarelli C, Bozzetto S, et al. Impact of oral immunotherapy on quality of life in children with cow milk allergy: a pilot study. *Int J Immunopathol Pharmacol* [Internet]. 2012 Jul [cited 2017 May 12];25(3):793–8. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/039463201202500329>
409. Takahashi M, Taniuchi S, Soejima K, Hatano Y, Yamanouchi S, Kaneko K. Successful desensitization in a boy with severe cow's milk allergy by a combination therapy using omalizumab and rush oral immunotherapy. *Allergy Asthma Clin Immunol* [Internet]. 2015 Dec 28 [cited 2017 May 12];11(1):18. Available from: <http://www.aacjournal.com/content/11/1/18>
410. Tang MLK, Martino DJ. Oral immunotherapy and tolerance induction in childhood. *Pediatr Allergy Immunol* [Internet]. 2013 Sep [cited 2017 May 12];24(6):512–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23905867>

411. Sopo SM, Onesimo R, Giorgio V, Fundarò C. Specific oral tolerance induction (SOTI) in pediatric age: Clinical research or just routine practice? *Pediatr Allergy Immunol* [Internet]. 2010 Mar [cited 2017 May 12];21(2p2):e446–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19573142>
412. Martorell A, García Ara MC, Plaza AM, Boné J, Nevot S, Echeverria L, et al. The predictive value of specific immunoglobulin E levels in serum for the outcome of the development of tolerance in cow's milk allergy. *Allergol Immunopathol (Madr)* [Internet]. [cited 2017 May 19];36(6):325–30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19150031>
413. Beck LA, Marcotte G V, MacGlashan D, Togias A, Saini S. Omalizumab-induced reductions in mast cell FcεR1 expression and function. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2004 Sep [cited 2017 May 19];114(3):527–30. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674904017348>
414. Niggemann B, Yürek S, Beyer K. Severe anaphylaxis requiring intensive care during oral food challenge-It is not always peanuts. *Pediatr Allergy Immunol* [Internet]. 2017 Mar [cited 2017 May 12];28(2):201–3. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/pai.12676>
415. Bishop JM, Hill DJ, Hosking CS. Natural history of cow milk allergy: clinical outcome. *J Pediatr* [Internet]. 1990 Jun [cited 2017 Apr 22];116(6):862–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2348289>
416. Tikkanen S, Kokkonen J, Juntti H, Niinimäki A. Status of children with cow's milk allergy in infancy by 10 years of age. *Acta Paediatr* [Internet]. 2000 Oct [cited 2017 Apr 22];89(10):1174–80. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11083371>
417. Høst A, Halken S. A prospective study of cow milk allergy in Danish infants during the first 3 years of life. Clinical course in relation to clinical and immunological type of hypersensitivity reaction. *Allergy* [Internet]. 1990 Nov [cited 2017 Apr 22];45(8):587–96. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2288394>
418. Osterballe M, Bindslev-Jensen C. Threshold levels in food challenge and specific IgE in patients with egg allergy: is there a relationship? *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2003 Jul [cited 2017 Apr 22];112(1):196–201. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12847499>
419. Hill DJ, Firer MA, Ball G, Hosking CS. Natural history of cows' milk allergy in children: immunological outcome over 2 years. *Clin Exp Allergy* [Internet]. 1993 Feb [cited 2017 Apr 22];23(2):124–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8448679>
420. Høst A. Cow's milk protein allergy and intolerance in infancy. Some clinical, epidemiological and immunological aspects. *Pediatr Allergy Immunol* [Internet]. 1994 [cited 2017 Apr 22];5(5 Suppl):1–36. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7704117>
421. Ng T-W, Holt PG, Prescott SL. Cellular immune responses to ovalbumin and house dust mite in egg-allergic children. *Allergy* [Internet]. 2002 Mar [cited 2017 Apr 22];57(3):207–14. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11906334>
422. Crespo JF, Pascual C, Burks AW, Helm RM, Esteban MM. Frequency of food allergy in a pediatric population from Spain. *Pediatr Allergy Immunol* [Internet]. 1995 Feb [cited 2017 Apr 22];6(1):39–43. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7550764>
423. Ebo DG, Bridts CH, Hagendorens MM, Aerts NE, De Clerck LS, Stevens WJ. Basophil activation test by flow cytometry: present and future applications in allergology. *Cytometry B Clin Cytom* [Internet]. 2008 Jul [cited 2017 May

- 9];74(4):201–10. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/cyto.b.20419>
424. Sainte-Laudy J, Vallon C, Guérin JC. [Analysis of membrane expression of the CD63 human basophil activation marker. Applications to allergologic diagnosis]. *Allerg Immunol (Paris)* [Internet]. 1994 Jun [cited 2017 May 9];26(6):211–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7524523>
425. Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, Gatsonis CA, Glasziou PP, Irwig LM, et al. Towards complete and accurate reporting of studies of diagnostic accuracy: the STARD initiative. *Ann Clin Biochem* [Internet]. 2003 Jul 1 [cited 2017 May 9];40(4):357–63. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12880535>
426. Vila L, Beyer K, Järvinen KM, Chatchatee P, Bardina L, Sampson HA. Role of conformational and linear epitopes in the achievement of tolerance in cow's milk allergy. *Clin Exp Allergy* [Internet]. 2001 Oct [cited 2017 Apr 18];31(10):1599–606. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11678861>
427. Lafuente I, Mazon A, Nieto M, Uixera S, Pina R, Nieto A. Possible recurrence of symptoms after discontinuation of omalizumab in anti-IgE-assisted desensitization to egg. *Pediatr Allergy Immunol* [Internet]. 2014 Nov [cited 2017 May 12];25(7):717–9. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/pai.12259>
428. Patel DA, Holdford DA, Edwards E, Carroll N V. Estimating the economic burden of food-induced allergic reactions and anaphylaxis in the United States. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2011 Jul [cited 2017 May 12];128(1):110–115.e5. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674911004313>
429. Umasunthar T, Leonardi-Bee J, Hodes M, Turner PJ, Gore C, Habibi P, et al. Incidence of fatal food anaphylaxis in people with food allergy: a systematic review and meta-analysis. *Clin Exp Allergy* [Internet]. 2013 Dec [cited 2017 May 12];43(12):1333–41. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/cea.12211>



## 10. ANEXOS

---



## ANEXO 1: Consentimiento informado para la realización de PEOC

### A. ELIKAGAIK ERAGITEN DUTEN ALERGIAREN GAINEKO AZTERKETARI BURUZKO INFORMAZIOA

Elikagaiak eragiten duten alergiaren azterketa egiteko historia kliniko bat egin behar da erreakzioaren datuak aztertzeko. Gero, kasuen arabera, proba batzuk odolean edo azalean elikagai estraktuekin, elikagai freskua edo kozinatuekin eta, batzuetan, elikagaiak jasaten diren ikusteko proba egin behar izan daiteke.

Jasankortasun frogan elikagai susmagarria kontrolpean ematen da jasankortasuna frogatzeko.

### B. ELIKAGAIK ERAGITEN DUTEN ALERGIAREN GAINEKO EGITEAREN ARRISKUAK ETA KONPLIKAZIOAK

Proba hauek gutxitan eragiten dituzte erreakzioak, eta, gehienetan, arinak izaten dira. Hala ere, inoiz edo behin, erreakzio larriak agertu daitezke. Horregatik proba horiek talde tekniko eta osasun-langile adituekin egiten dira.

Estudioa egitean edozein sintoma suertatuko balitz erantzukizuna dunak aztertuko luke eta, beharrezkoa bada, tratatuko luke.

### C. ADIERAZTEN DUT:

- Medikuak **aipatutako prozeduraren** aldekoak, kontrakoak eta izan daitezkeen konplikazioak azaldu dizkit, eta edozein momentutan emandako baimena atzera bota dezaket.
- Emandako informazioa ulertu dut, eta egin nahi izan ditudan galderak egiteko aukera izan dut.

**Ondorioz, azterketa egiteko baimena ematen dut**

### C. DECLARO:

- Que he sido informado por el Médico, de las ventajas, inconvenientes y complicaciones del **procedimiento mencionado** y de que en cualquier momento puedo revocar mi consentimiento.
- He comprendido la información recibida y he podido formular todas las preguntas que he creído oportunas.

**En consecuencia, doy mi consentimiento para que se realice el estudio**

Sinadura eta eguna :  
Firma y fecha :

### A. INFORMACIÓN SOBRE EL ESTUDIO DE ALERGIA A ALIMENTOS

El estudio de una alergia a alimentos consiste en la realización de una historia clínica, en la que se recogen datos referidos a la reacción.

Posteriormente se realizarán pruebas en la sangre y/o en la piel, con extractos de alimentos, alimentos frescos o cocinados según el caso, y al final se puede llegar a una prueba de exposición.

Esta prueba consiste en la administración controlada del alimento implicado, para comprobar su tolerancia.

### B. RIESGOS Y COMPLICACIONES DEL ESTUDIO DE ALERGIA A ALIMENTOS:

Estas pruebas pueden provocar reacciones, poco frecuentes y en su mayoría leves. Raramente pueden ser reacciones graves, realizándose por ello paso a paso, comenzando con dosis pequeñas y aumentándolas con cautela, bajo control del personal sanitario especializado y con un equipo técnico adecuado.

Cualquier síntoma que pudiera aparecer en el contexto del estudio será evaluado por el personal responsable y en caso necesario se administrará tratamiento específico.

## **ANEXO 2: Tratamiento de las reacciones adversas acontecidas durante la PEOC o ITO**

Las reacciones adversas fueron tratadas en función de su gravedad:

1. Presencia de síntomas subjetivos:
  - a. En caso de síntomas leves (SAO, dolor abdominal leve, prurito sin lesiones,...): no precisa tratamiento.
  - b. En caso de síntomas más intensos ( SAO intenso, dolor abdominal moderado-intenso, prurito cutáneo intenso,...): tratamiento con antihistamínico.
2. Signos exclusivamente cutáneo-mucosos:
  - a. En caso de presentar urticaria leve (afectación facial o habones sistémicos aislados): antihistamínico.
  - b. En caso de presentar urticaria más grave (habones sistémicos confluentes o en placas) o angioedema: antihistamínico y corticoide
  - c. En caso de urticaria grave con progresión rápida y prurito palmoplantar, valorar adrenalina.
3. Signos gastrointestinales exclusivos (objetivos):
  - a. En caso de manifestaciones leves (náuseas, vómito aislado, despeño diarreico aislado, ...): antihistamínico con o sin corticoides asociados.
  - b. En caso de manifestaciones intensas y/o persistentes (vómitos o despeños diarreicos recidivantes,...): asociar además adrenalina.
4. Sintomatología respiratoria exclusiva (dificultad respiratoria con sibilantes o estridor):
  - a. En caso de síntomas leves: broncodilatadores inhalados.
  - b. En caso de síntomas intensos: asociar además corticoides e incluso adrenalina nebulizada (1mg/10kg, mx 3mg ad 1:1.000 diluida en 3cc de SF) o intramuscular.
  - c. En caso de edema de glotis (disnea con estridor o disfonía): adrenalina nebulizada y/o im.
5. Anafilaxia (afectación de 2 órganos o sistemas):
  - a. Según protocolo de urgencias.
6. Esofagitis eosinofílica:
  - a. Suspensión del tratamiento.

## ANEXO 3: Cuaderno de ITO

### INFORMACIÓN SOBRE LA INMUNOTERAPIA ORAL CON ALIMENTOS (ITO)

Su hijo/a presenta alergia a leche. Este tipo de alergia es transitorio en la mayoría de los casos, alcanzando la tolerancia en los primeros años de vida. Pero en algunos casos persiste y permanece durante años con el riesgo de reacción, que puede llegar a ser grave, ante la ingestión accidental de alimentos o bebidas que contienen leche de vaca. Esta situación, obliga a estar pendiente de la composición de los alimentos que puede tomar el/la niño/a.

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

Este tratamiento tiene el riesgo de producir una reacción alérgica al llegar a una determinada cantidad de leche de vaca. Esta reacción puede llegar a ser grave, con aparición de urticaria (ronchas por el cuerpo), hinchazón de labios, de párpados, congestión nasal, ocular, espasmo bronquial, vómitos, diarrea, dificultad respiratoria por hinchazón de las vías respiratorias, caída de la tensión o shock y es la misma que se produciría si por accidente le dieran a tomar al niño una cantidad equivalente de leche de vaca en el colegio o durante una excursión fuera del domicilio, con la diferencia de que en el Hospital disponemos de los medios necesarios para tratarla y controlarla.

Esta reacción puede aparecer de manera inmediata o al cabo de unas horas, por lo que deberá permanecer el tiempo necesario en observación en nuestra consulta.

La clínica que puede aparecer más tardíamente fuera de horario de consulta es la misma pero habitualmente de menor intensidad. Por este motivo, deberá llevar siempre la medicación de rescate y el cuadernillo informativo con las instrucciones necesarias indicadas por su médico así como las indicaciones del proceso realizado por si tuviera que acudir a un Servicio de Urgencias.

Este tratamiento será realizado por personal sanitario especializado en el mismo y durante su realización su hijo/a recibirá continuamente la asistencia médica necesaria.

En el caso de no querer realizar el tratamiento deberá suspender de la dieta de sus hijo/a, de forma indefinida, la leche de vaca/huevo y todos aquellos alimentos que pudieran contener este alimento o sus proteínas.

Puede usted formular a su médico todas las preguntas que crea conveniente para aclarar todas sus dudas.

### INSTRUCCIONES PARA LA ITO

1.- Mantendrá la **dieta de exclusión** del alimento y los productos elaborados que lo contengan, según las recomendaciones que se entregaron por escrito.

2.- Tomará **todos los días** la cantidad de LECHE/HUEVO administrada en la consulta y que se indica en el cuadernillo.

3.- La dosis del alimento deberá administrarse **una vez al día**, eligiendo preferiblemente las horas de la tarde-noche y, aproximadamente, la misma hora todos los días.

4.- Se debe tomar la dosis del alimento con el estómago lleno, **evitando hacerlo en ayunas**.

5.- Deberá mantener a su hijo/a en **observación durante 1-2 horas** tras la administración del alimento.

6.- Deberá **evitar la realización del ejercicio físico durante las 3 horas** tras la administración del alimento.

7.- En caso necesario, deberá tomar la **medicación** indicada por su médico de manera ininterrumpida:

---

---

---

---

8.- Como analgésico/antiinflamatorio utilizará el **paracetamol**, debiendo evitar otro tipo de antiinflamatorios como el ibuprofeno,...

9.- En este cuadernillo se anotará la fecha en que tendrá que acudir a la Unidad de Alergología Infantil para la administración de la siguiente dosis del alimento.

10.- En caso de infecciones, empeoramiento de su proceso alérgico (rinoconjuntivitis, asma bronquial, dermatitis atópica,...) o aparición de otros **procesos intercurrentes**, no deberá suspender su dosis diaria del alimento, pero no podrá acudir a aumentar la dosis en la consulta.

11.- En caso de no poder acudir a la consulta al incremento de dosis por presentar alguna enfermedad o por otro motivo, deberá continuar con la misma dosis hasta la siguiente fecha de consulta. Deberá llamar para anular o cambiar la cita al **teléfono**:

---

12.- Ante cualquier duda o problema, llamará a estos mismos teléfonos.

## INSTRUCCIONES EN CASO DE REACCIÓN ALÉRGICA

Las reacciones adversas serán tratadas en función de su gravedad:

1.- En caso de presentar:

- Erupción cutánea, hinchazón,
- Dolor abdominal o vómito,

utilizará:

---

---

2.- En caso de presentar:

- Erupción cutánea extensa que progresa rápidamente y/o con picor de palmas y plantas o que se acompaña de síntomas de nariz o dolor abdominal o vómitos,
- Dificultad para respirar, pitos en el pecho, tos de perro, afonía brusca, ruido al respirar,
- Mareo,...

utilizará:

Adrenalina autoinyectable: \_\_\_\_\_

La medicación del punto 1: \_\_\_\_\_

Acudirán al Servicio Médico de Urgencias con este informe, para su valoración y completar el tratamiento si fuera necesario.

Tras cualquier tipo de reacción, además de administrar el tratamiento correspondiente, informarán de la reacción llamando al teléfono:

---

---

---

o escribiendo un correo electrónico a:

---

---

El uso de medicación de rescate no influirá para la continuación normal de la ITO.

## INSTRUCCIONES PARA EL AJUSTE DE DOSIS

1.- Si por algún motivo se interrumpe su administración durante tres días, informará por teléfono para administrar una toma bajo control en la consulta.

2.- En caso de que el paciente no pueda acudir al hospital al incremento de dosis semanal, continuará con la misma dosis hasta la fecha en que pueda acudir al hospital a dicho incremento.

3.- En caso de reacción adversa, deberá realizarse un ajuste de dosis en función de la gravedad de la reacción.

**1. Si la reacción consiste en síntomas subjetivos** (picor de boca, dolor abdominal,...) **o presenta sólo enrojecimiento alrededor de la boca:**

- Repetir la dosis al día siguiente.

**2. Si la reacción consiste en síntomas objetivos exclusivamente cutáneos leves** (erupción en la piel/hinchazón) **o sólo vómito:**

- Se pondrá en contacto con nosotros para valorar la administración de la siguiente dosis.

**3. Si la reacción consiste en síntomas objetivos cutáneos extensos o que tienen indicación del uso de adrenalina** (punto 2 de la página anterior):

- Acudir al Servicio de Urgencias del Hospital Donostia, tras haber administrado la medicación.

En caso de **duda** o de **reacciones repetidas con la misma dosis** (independientemente de su gravedad), se pondrán en contacto con nosotros, llamando por teléfono o escribiendo un correo electrónico.



## ANEXO 4: Cuaderno de adrenalina

### Información sobre el uso de autoinyectores de adrenalina

#### Debe conocer que:

1. La adrenalina es el tratamiento de elección en caso de anafilaxia.
2. La rapidez en su administración es **FUNDAMENTAL** ya que la evolución de la reacción alérgica es impredecible y puede progresar rápidamente de una reacción leve a otra muy severa.
3. El niño debe llevar **SIEMPRE** el autoinyector de adrenalina, porque la reacción alérgica puede ocurrir en cualquier lugar y contexto. En el centro escolar también deben tener la medicación.
4. El dispositivo es de un solo uso. Si los síntomas no ceden en 10 minutos y tiene otro autoinyector de adrenalina, puede utilizar una segunda dosis.

#### Cuándo usar la adrenalina:

Debe administrar la adrenalina en caso de:

- Afectación cutánea extensa que progresa rápidamente y/o se acompaña de picor intenso en palmas o plantas.
- Afectación cutánea que se acompaña de vómitos repetidos o síntomas de nariz-ojos de aparición brusca.
- Afonía brusca o dificultad para tragar brusca e intensa.
- Dificultad respiratoria, pitidos en el pecho, tos perruna o tos seca repetida
- Mareo o alteración de la conciencia

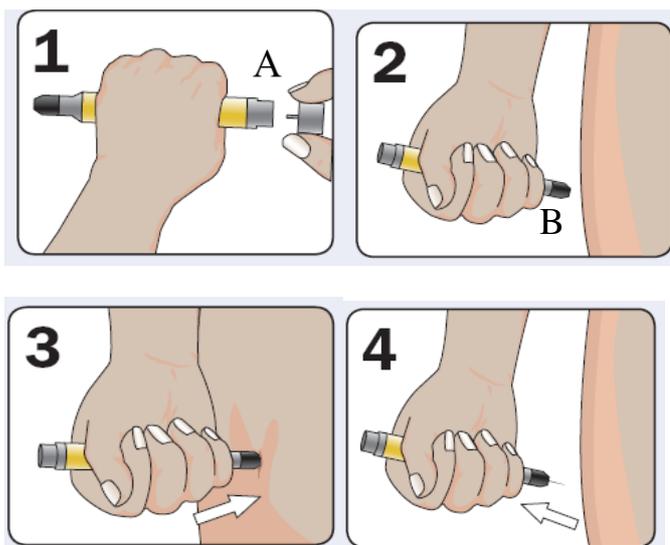
#### Qué efectos secundarios tiene la adrenalina:

Los efectos secundarios de la adrenalina intramuscular son leves y transitorios y son similares a los que sentimos cuando estamos nerviosos:

- Taquicardia y palpitaciones.
- Temblor de manos o generalizado.
- Dolor de cabeza.
- Sequedad de boca.

**Cómo usar la adrenalina:**

- Tumbarse al niño.
- Sacar la adrenalina de su envase.
- Agarrar el autoinyector con la mano asegurándose de que los dedos no están sobre el extremo del dispositivo.
- Retirar el tapón de seguridad.
- Presionar el extremo contrario al tapón de seguridad sobre la parte externa del muslo hasta oír un “click”.
- Mantener el autoinyector en esa posición durante 10 segundos.
- Masajear el muslo durante 10 segundos.
- Avisar al 112 explicando que el niño ha tenido una anafilaxia que ha precisado adrenalina.



- 1.- Quitar el tapón (A);
- 2.- Colocar el extremo opuesto (B) en la cara externa del muslo;
- 3.- Presionar con fuerza, se oye un “click”. Mantener 10 segundos la presión;
- 4.- Retirar y masajear durante 10 segundos.

## **ANEXO 5: Consentimiento informado para la realización de ITO**

Su hijo/a presenta alergia a las proteínas de la leche de vaca. Este tipo de alergia es transitorio en la mayoría de los casos, alcanzando la tolerancia en los primeros años de vida. Pero en algunos casos persiste y permanece durante años con el riesgo de reacción, que puede llegar a ser grave, ante la ingestión accidental de alimentos o bebidas que contienen leche de vaca. Esta situación, obliga a estar pendiente de la composición de los alimentos que puede tomar el/la niño/a.

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

Este tratamiento tiene el riesgo de producir una reacción alérgica al llegar a una determinada cantidad de leche de vaca. Esta reacción puede llegar a ser grave, con aparición de urticaria (ronchas por el cuerpo), hinchazón de labios, de párpados, congestión nasal, ocular, espasmo bronquial, vómitos, diarrea, dificultad respiratoria por hinchazón de las vías respiratorias, caída de la tensión o shock y es la misma que se produciría si por accidente le dieran a tomar al niño una cantidad equivalente de leche de vaca en el colegio o durante una excursión fuera del domicilio, con la diferencia de que en el Hospital disponemos de los medios necesarios para tratarla y controlarla.

Esta reacción puede aparecer de manera inmediata o al cabo de unas horas, por lo que deberá permanecer el tiempo necesario en observación en nuestra consulta.

Los síntomas que pueden aparecer más tardíamente fuera de horario de consulta son los mismos pero habitualmente de menor intensidad. Por este motivo, deberá llevar siempre la medicación de rescate y el cuadernillo informativo con las instrucciones necesarias indicadas por su médico así como las indicaciones del proceso realizado por si tuviera que acudir a un Servicio de Urgencias.

Este tratamiento será realizado por personal sanitario especializado en el mismo y durante su realización su hijo/a recibirá continuamente la asistencia médica necesaria.

En el caso de no querer realizar el tratamiento deberá suspender de la dieta de su hijo/a, de forma indefinida, la leche de vaca y todos aquellos alimentos que pudieran contener leche o sus proteínas.

Puede usted formular a su médico todas las preguntas que crea conveniente.

## DECLARACIONES Y FIRMAS

### Declaro que:

- He comprendido la naturaleza y propósitos del tratamiento de inmunoterapia oral con leche de vaca.
- Me han sido explicados los posibles beneficios y riesgos del procedimiento mencionado.
- Estoy satisfecho de la información recibida.
- He podido formular todas las preguntas que he creído conveniente y he tenido la oportunidad de aclarar mis dudas.
- En consecuencia, libre y voluntariamente autorizo a que se aplique este tratamiento de inducción de tolerancia oral con leche de vaca a mi hijo/a en la Unidad de Alergología Infantil del Hospital Universitario Donostia.
- Entiendo que este consentimiento puede ser reconsiderado y revocado por mí en cualquier momento.

Y para que conste, firmo el presente documento, después de haberlo leído y comprendido:

### CONSENTIMIENTO SUBROGADO

Nombre del representante legal en caso de incapacidad del paciente para prestar consentimiento, ya sea por minoría de edad, incapacidad legal o incompetencia, con indicación del carácter con que interviene (padre, madre, tutor, etc.)

**En calidad de ....., autorizo la realización del procedimiento mencionado.**

**San Sebastián ... de ..... de .....**

**Firma del representante legal**

**Firma del médico**

**Nombre: ..... Nombre:.....**

**DNI: .....**

**DNI: .....**

### REVOCACIÓN

Después de la lectura detallada, aclaradas todas mis dudas y explicadas todas las alternativas, revoco la realización de la inmunoterapia oral con leche de vaca.

**San Sebastián a ... de ..... de .....**

**Firma del representante legal**

**Firma del médico**

**Nombre: .....**

**Nombre:.....**

**DNI: .....**

**DNI: .....**

## **ANEXO 6: Consentimiento informado para la realización de ITO de alto riesgo**

Su hijo/a presenta alergia a las proteínas de la leche de vaca. Este tipo de alergia es transitorio en la mayoría de los casos, alcanzando la tolerancia en los primeros años de vida. Pero en algunos casos persiste y permanece durante años con el riesgo de reacción, que puede llegar a ser grave, ante la ingestión accidental de alimentos o bebidas que contienen leche de vaca. Esta situación, obliga a estar pendiente de la composición de los alimentos que puede tomar el/la niño/a.

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

Este tratamiento tiene el riesgo de producir una reacción alérgica al llegar a una determinada cantidad de leche de vaca. Esta reacción puede llegar a ser grave, con aparición de urticaria (ronchas por el cuerpo), hinchazón de labios, de párpados, congestión nasal, ocular, espasmo bronquial, vómitos, diarrea, dificultad respiratoria por hinchazón de las vías respiratorias, caída de la tensión o shock y es la misma que se produciría si por accidente le dieran a tomar al niño una cantidad equivalente de leche de vaca en el colegio o durante una excursión fuera del domicilio, con la diferencia de que en el Hospital disponemos de los medios necesarios para tratarla y controlarla.

Esta reacción puede aparecer de manera inmediata o al cabo de unas horas, por lo que deberá permanecer el tiempo necesario en observación en nuestra consulta.

Los síntomas que pueden aparecer más tardíamente fuera de horario de consulta son los mismos pero habitualmente de menor intensidad. Por este motivo, deberá llevar siempre la medicación de rescate y el cuadernillo informativo con las instrucciones necesarias indicadas por su médico así como las indicaciones del proceso realizado por si tuviera que acudir a un Servicio de Urgencias.

En ciertos casos como el de su hijo/a, en los que los valores de IgE específica sérica son muy elevados, presentan el antecedente de anafilaxias de repetición por ingesta o contacto con mínimas cantidades del alimento o presentan otros factores de riesgo, este proceso de inducción ocasiona prácticamente en todos los casos reacciones adversas (desde simples síntomas de prurito oral hasta shocks anafilácticos graves o potencialmente letales).

Este tratamiento será realizado por personal sanitario especializado en el mismo y durante su realización su hijo/a recibirá continuamente la asistencia médica

necesaria.

En el caso de no querer realizar el tratamiento deberá suspender de la dieta de su hijo/a, de forma indefinida, la leche de vaca y todos aquellos alimentos que pudieran contener leche o sus proteínas.

Puede usted formular a su médico todas las preguntas que crea conveniente para aclarar todas sus dudas.

## **DECLARACIONES Y FIRMAS**

### **Declaro que:**

- He comprendido la naturaleza y propósitos del tratamiento de inmunoterapia oral con leche de vaca.
- Me han sido explicados los posibles beneficios y riesgos del procedimiento mencionado.
- Estoy satisfecho de la información recibida.
- He podido formular todas las preguntas que he creído conveniente y he tenido la oportunidad de aclarar mis dudas.
- En consecuencia, libre y voluntariamente autorizo a que se aplique este tratamiento de inducción de tolerancia oral con leche de vaca a mi hijo/a en la Unidad de Alergología Infantil del Hospital Universitario Donostia.
- Entiendo que este consentimiento puede ser reconsiderado y revocado por mí en cualquier momento.

Y para que conste, firmo el presente documento, después de haberlo leído y comprendido:

### **CONSENTIMIENTO SUBROGADO**

Nombre del representante legal en caso de incapacidad del paciente para prestar consentimiento, ya sea por minoría de edad, incapacidad legal o incompetencia, con indicación del carácter con que interviene (padre, madre, tutor, etc.)

**En calidad de ....., autorizo la realización del procedimiento mencionado.**

**San Sebastián ... de ..... de .....**

**Firma del representante legal**

**Firma del médico**

**Nombre: .....**

**Nombre: .....**

**DNI: .....**

**DNI: .....**

**REVOCACIÓN**

Después de la lectura detallada, aclaradas todas mis dudas y explicadas todas las alternativas, revoco la realización de la inmunoterapia oral con leche de vaca.

**San Sebastián a ... de ..... de .....**

**Firma del representante legal**

**Firma del médico**

**Nombre: .....**

**Nombre:**

.....

**DNI: .....**

**DNI: .....**

**Nombre del paciente:**

.....

**Número de Historia Clínica: .....**

**Nombre del médico que informa: ..... N° colegiado: .....**

## **ANEXO 7: Consentimiento informado para el tratamiento con XOLAIR® (Omalizumab) en menores de edad en indicación no incluida en ficha técnica**

Xolair® (Omalizumab) está indicado para mejorar el control del asma cuando se administra como tratamiento adicional en pacientes adultos, adolescentes y niños mayores de 6 años con asma alérgica grave persistente. Estudios publicados indican que el tratamiento con Omalizumab en pacientes con alergia alimentaria puede aumentar los niveles de tolerancia frente al alimento sensibilizante, aunque actualmente el medicamento no está autorizado para esta indicación. En el caso de su hijo se va a administrar fuera de las indicaciones de la ficha técnica para aumentar la tolerancia a la leche de vaca con el fin de intentar llevar a cabo el tratamiento de inducción de tolerancia oral.

Las reacciones adversas notificadas más frecuentemente durante los ensayos clínicos fueron reacciones en el lugar de la inyección, que incluían dolor, tumefacción, eritema y prurito, y cefalea. La mayoría de las reacciones fueron de gravedad leve a moderada y dolor de cabeza. Puede haber otras reacciones adversas menos frecuentes como infecciones parasitarias, alergia, mareo, síncope, hipotensión, rojez en la piel, faringitis, náuseas, vómitos, incremento de peso, fatiga, brazos hinchados, enfermedad de tipo gripal. La proporción global de incidencia de cáncer observada en el programa de ensayos clínicos de Xolair® fue comparable a la notificada en la población general

Este tratamiento tiene el riesgo de producir una reacción alérgica, que puede llegar a ser grave, con aparición de urticaria (ronchas por el cuerpo), hinchazón de labios, de párpados, congestión nasal, ocular, espasmo bronquial, vómitos, diarrea, dificultad respiratoria por hinchazón de las vías respiratorias, caída de la tensión o shock.

Esta reacción puede aparecer de manera inmediata o al cabo de unas horas, por lo que deberá permanecer en observación en nuestra consulta 2 horas después de las tres primeras dosis y media hora tras las siguientes dosis del medicamento.

La sintomatología que puede aparecer más tardíamente fuera de horario de consulta es la misma, por lo que si aparece tendría que acudir de manera rápida a un Servicio de Urgencias.

En caso de no querer que se le administre este medicamento a su hijo/a, seguirá con el tratamiento indicado por su médico. Puede usted suspender el tratamiento en cualquier momento, informando a su médico para que le ajuste el tratamiento más adecuado para su hijo/a.

Puede usted formular a su médico todas las preguntas que crea conveniente.

## DECLARACIONES Y FIRMAS

### Declaro que:

- He comprendido la naturaleza y propósitos del tratamiento con Xolair®.
- Me han sido explicados los posibles beneficios y riesgos del procedimiento mencionado.
- Estoy satisfecho de la información recibida.
- He podido formular todas las preguntas que he creído conveniente y he tenido la oportunidad de aclarar mis dudas.
- En consecuencia, libre y voluntariamente autorizo a que se aplique este tratamiento a mi hijo/a en la Unidad de Alergología del Hospital Universitario Donostia.
- Entiendo que este consentimiento puede ser reconsiderado y revocado por mí en cualquier momento.

Y para que conste, firmo el presente documento, después de haberlo leído y comprendido:

### CONSENTIMIENTO SUBROGADO

Nombre del representante legal en caso de incapacidad del paciente para prestar consentimiento, ya sea por minoría de edad, incapacidad legal o incompetencia, con indicación del carácter con que interviene (padre, madre, tutor, etc.)

En calidad de ....., autorizo la realización del procedimiento mencionado.

San Sebastián a ... de ..... de .....

**Firma del representante legal**

**Firma del médico**

Nombre: .....

Nombre: .....

DNI: .....

DNI: .....

### REVOCACIÓN

Después de la lectura detallada, aclaradas todas mis dudas y explicadas todas las alternativas, revoco la autorización para la administración de este tratamiento a mi hijo/a.

Valencia a ... de ..... de .....

**Firma del representante legal**

**Firma del médico**

Nombre: .....

Nombre:.....

## ANEXO 8: Variables del estudio

### Cuaderno de recogida de datos

- edad actual en meses
- sexo (mujer-hombre)
- edad al diagnóstico en meses
- Síntomas (SAO-urticaria perioral, urticaria-angioedema sistémico, síntomas gastrointestinales, síntomas respiratorios altos, síntomas respiratorios bajos, anafilaxia)
- Periodo de latencia (min)
- Tratamiento al diagnóstico (sí, no)
- Medicación de rescate recetada (sí, no)
- Centro médico donde se realizó el diagnóstico (atención primaria, hospital, consulta de alergología).
- Transgresiones (transgresión positiva, transgresión negativa, no transgresión)
- Lugar donde ha ocurrido la transgresión (domicilio, centro escolar, otros)
- En caso de transgresión positiva: medicación de rescate utilizada (sí, no)
- Antecedentes personales de atopia (rinoconjuntivitis, asma bronquial, dermatitis atópica, otras alergias alimentarias).
- Antecedentes familiares de atopia en familiares de primer grado (padre, madre, hermanos, ninguno)

**Exploraciones complementarias:** recogidas al inicio, tras la inducción de tolerancia y a los 6 meses.

- Pruebas cutáneas intraepidérmicas valor calculado como la media del diámetro mayor y diámetro menor de la pápula en mm (variable cuantitativa).
- IgE total, IgG total, IgE e IgG4 específicas: valor cuantitativo expresado en kU/L.
- TAB: valor cuantitativo expresado en porcentaje de activación de basófilos.
- Triptasa: valor cuantitativo expresado en mcg/L.

### **Prueba de exposición oral controlada:**

- Síntomas (ausencia de síntomas, síntomas subjetivos persistentes, urticaria perioral, urticaria-angioedema, síntomas respiratorios altos, síntomas respiratorios bajos, síntomas gastrointestinales, anafilaxia).
- Dosis umbral tolerada (valor cuantitativo: ml de leche).

**Inmunoterapia oral:**

- Dosis inicial de ITO (valor cuantitativo: mL)
- Dosis final de ITO (valor cuantitativo: mL)
- Duración final del tratamiento (valor cuantitativo: meses)
- Número de reacciones adversas durante la ITO: ninguna, reacciones subjetivas repetidas, reacciones objetivas 1-5, 6-10, >10
- Dosis de leche con la que ha tenido la reacción (valor cuantitativo: mL)
- Dosis previamente tolerada: sí, no
- Síntomas de la reacción adversa: SAO-U perioral, U-AE sistémico, TGI, VRS, VRI, Anafilaxia.
- Lugar de la reacción adversa: domicilio, hospital, otros
- Factor aumentador: AINEs, ejercicio físico, proceso intercurrente, otros:
- Tratamiento administrado durante las reacciones adversas (ninguno, antihistamínicos, corticoides, broncodilatadores, adrenalina): no son excluyentes.
- Tratamiento utilizado: correcto, sobretratado, infratratado.
- Centro médico donde se atendió: domicilio, atención primaria, hospital, consulta alergia.