



**Facultad de Medicina
Departamento de Pediatría**

TESIS DOCTORAL

**ESTUDIO ALEATORIZADO CON GRUPO CONTROL DE
INMUNOTERAPIA ORAL RÁPIDA CON HUEVO EN NIÑOS
CON ALERGIA PERSISTENTE MEDIADA POR IgE:
DESENSIBILIZACIÓN CLÍNICA Y MODULACIÓN DE LA
RESPUESTA INMUNOLÓGICA**

Doctorando:

D^a. Inmaculada Pérez Rangel

Director:

Dra. D^a. M^a Dolores Ibáñez Sandín

Madrid, a 19 de Mayo de 2017

Agradecimientos

Mil gracias a mi familia, mi padre y todos los que están en mi corazón, por todo su apoyo incondicional a lo largo de toda mi etapa formativa y profesional, en especial a mi madre por ser mi guía en este camino de obstáculos, por darme tanto amor y enseñarme qué es la humanidad tanto en la vida como en nuestra profesión permitiéndome haber sido médico voluntario en Perú y Sierra Leona.

“Thanks baby” por haberme regalado el amor más grandioso de mi vida, nuestra hija, ayudarme a mejorar como persona y hacerme ver el lado positivo de las cosas cada día.

Gracias a la Dra. Ibáñez Sandín, Jefe de Sección de Alergia del Hospital Infantil Universitario Niño Jesús de Madrid, Jefe de Grupo de Investigación del Instituto de Investigación Sanitaria La Princesa y Directora de Tesis, por todas sus enseñanzas desde mi etapa como médico residente, por confiar en mí como médico e investigador y por su apoyo personal impagable.

Particular agradecimiento a todos los profesionales que han colaborado de forma activa en este estudio: personal médico y de Enfermería de la Sección de Alergia del Hospital Infantil Universitario Niño Jesús de Madrid (Dr. Escudero Díez, Dr. Rodríguez del Río, Dra. Sánchez García, Catalina Quiñonero, Ascensión López, Inmaculada Sanz, Carmen Ballesteros, Esperanza Doval y María Jesús Jiménez) y del Servicio de Análisis Clínicos (Dr. Otero de Becerra y Dr. Vila).

Mi sincera gratitud a los investigadores del Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL) – Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) – Universidad Autónoma de Madrid (Dr. López Expósito, Dra. Pérezabad García, Dra. Molina Hernández, Dra. López-Fandiño y Pedro Javier Martín Álvarez), sin su gran colaboración no habría sido posible la realización de gran parte del estudio inmunológico de este trabajo y el análisis de los datos.

Al Dr. José Javier Sánchez Hernández, estadístico de la Unidad de Investigación en Salud Pública de Monterrey, México, por su generosa ayuda y disponibilidad para solucionar nuestros problemas estadísticos.

Mención señalada, por supuesto, a todos los pacientes y sus familias por haber participado amablemente en este estudio ya que sin su implicación no se habría podido llevar a cabo.

Agradecer a la Fundación Salud 2000 (actualmente Fundación Merck Salud) por haberme concedido las Ayudas Merck Serono de Investigación en el año 2012 que me ha permitido desarrollar este proyecto, así como a los Laboratorios ALK-Abelló por su ayuda económica y formativa desde que soy médico alergólogo.

Finalmente, reconocimiento también a aquellas personas que me han aportado enseñanzas constructivas a lo largo de este recorrido, en especial al grupo de la Dra. Castells en Harvard (Boston, MA, USA) y a mis compañeros de Badajoz y Ferrol (España).

Deseo que este trabajo sea de interés científico y contribuya al conocimiento y tratamiento de la alergia a alimentos y, por tanto, permita mejorar la calidad de vida de la población infantil y sus familias.

“La verdadera sabiduría está en reconocer la propia ignorancia”

(Sócrates)

Tabla de contenido

| | |
|--|-----------|
| TABLA DE CONTENIDO | 7 |
| ÍNDICE DE FIGURAS | 11 |
| ÍNDICE DE TABLAS | 13 |
| ABREVIATURAS | 15 |
| 1 RESUMEN / SUMMARY | 19 |
| 2 ORGANIZACIÓN DEL DOCUMENTO | 31 |
| 3 INTRODUCCIÓN | 35 |
| 3.1 ALERGIA A ALIMENTOS | 35 |
| 3.1.1 <i>Concepto y clasificación</i> | 35 |
| 3.1.2 <i>Epidemiología</i> | 36 |
| 3.1.3 <i>Etiopatogenia</i> | 37 |
| 3.1.4 <i>Manifestaciones clínicas</i> | 39 |
| 3.1.5 <i>Diagnóstico</i> | 40 |
| 3.1.6 <i>Historia natural</i> | 43 |
| 3.1.7 <i>Prevención y tratamiento</i> | 43 |
| 3.1.8 <i>Calidad de vida en alergia a alimentos</i> | 44 |
| 3.2 HUEVO..... | 45 |
| 3.2.1 <i>Características y consumo</i> | 45 |
| 3.2.2 <i>Alérgenos y naturaleza bioquímica</i> | 46 |
| 3.2.3 <i>Composición</i> | 48 |
| 3.2.4 <i>Alergia a huevo</i> | 50 |
| 3.2.4.1 <i>Epidemiología</i> | 50 |
| 3.2.4.2 <i>Etiopatogenia y factores de riesgo</i> | 50 |
| 3.2.4.3 <i>Aspectos clínicos</i> | 50 |
| 3.2.4.3.1 <i>Síntomas</i> | 50 |
| 3.2.4.3.2 <i>Diagnóstico</i> | 51 |
| 3.2.4.3.3 <i>Pronóstico</i> | 54 |
| 3.2.4.3.4 <i>Prevención</i> | 55 |
| 3.2.4.3.5 <i>Tratamiento</i> | 56 |
| 3.2.4.4 <i>Otras enfermedades alérgicas por huevo</i> | 56 |
| 3.2.4.5 <i>Enfermedades alérgicas concomitantes con alergia a huevo</i> | 57 |
| 3.2.4.6 <i>Reactividad cruzada en alergia a huevo</i> | 57 |
| 3.2.4.7 <i>El huevo como fuente de alérgeno oculto en productos alimenticios y médicos</i> | 57 |
| 3.2.4.8 <i>Tolerancia del huevo procesado</i> | 58 |
| 3.3 INMUNOTERAPIA CON ALIMENTOS | 59 |
| 3.3.1 <i>Concepto y fases de la ITO con alimentos</i> | 59 |
| 3.3.2 <i>Indicaciones y contraindicaciones de la ITO con alimentos</i> | 60 |
| 3.3.3 <i>Mecanismo de acción de la ITO con alimentos</i> | 61 |
| 3.3.4 <i>Eficacia clínica de la ITO con alimentos</i> | 61 |
| 3.3.5 <i>Modulación de la respuesta inmunológica por la ITO con alimentos</i> | 64 |
| 3.3.6 <i>Reacciones adversas durante la ITO con alimentos</i> | 67 |
| 3.3.7 <i>ITO con distintos productos de huevo</i> | 69 |
| 3.3.8 <i>ITO con alimentos y Omalizumab</i> | 70 |
| 3.3.9 <i>Beneficios y limitaciones de la ITO con alimentos</i> | 71 |
| 3.3.10 <i>Otras rutas y formas de inmunoterapia con alimentos</i> | 72 |
| 3.3.10.1 <i>Sublingual</i> | 72 |
| 3.3.10.2 <i>Epicutánea</i> | 73 |
| 3.3.10.3 <i>Con alérgenos modificados</i> | 73 |
| 4 JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS DE TRABAJO, OBJETIVOS Y APLICABILIDAD | 77 |
| 4.1 JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO | 77 |
| 4.2 HIPÓTESIS DE TRABAJO | 77 |

| | | |
|-----------|---|------------|
| 4.3 | OBJETIVOS | 77 |
| 4.3.1 | <i>Primario</i> | 77 |
| 4.3.2 | <i>Secundarios</i> | 77 |
| 4.4 | APLICABILIDAD Y UTILIDAD PRÁCTICA | 77 |
| 5 | MÉTODOS | 81 |
| 5.1 | DISEÑO DEL ESTUDIO Y ÉTICA | 81 |
| 5.2 | PLAN DE TRABAJO Y FINANCIACIÓN | 81 |
| 5.3 | PARTICIPANTES | 82 |
| 5.4 | GENERACIÓN DE LOS GRUPOS, TIEMPOS DEL ESTUDIO E INTERVENCIONES | 83 |
| 5.5 | DATOS DEMOGRÁFICOS Y ANTECEDENTES CLÍNICOS | 86 |
| 5.6 | PROCEDIMIENTOS IN VIVO | 86 |
| 5.6.1 | <i>Prick tests: neumoaérgenos inhalantes y fracciones proteicas de huevo</i> | 86 |
| 5.6.2 | <i>Material utilizado para la PODCCP y la ITO con huevo</i> | 87 |
| 5.6.3 | <i>Provocación oral doble ciego controlada con placebo o prueba de exposición oral doble ciego controlada con placebo</i> | 88 |
| 5.6.4 | <i>Inmunoterapia oral rápida con huevo</i> | 89 |
| 5.6.5 | <i>Clasificación y abordaje de reacciones adversas</i> | 90 |
| 5.7 | PROCEDIMIENTOS IN VITRO | 91 |
| 5.7.1 | <i>Hemograma</i> | 91 |
| 5.7.2 | <i>IgE sérica total y específica e IgG₄ sérica específica a fracciones proteicas de huevo</i> | 92 |
| 5.7.3 | <i>Cuantificación de producción in vitro de citoquinas</i> | 93 |
| 5.7.4 | <i>Análisis del perfil genético de la población de células T</i> | 94 |
| 5.7.5 | <i>Detección de células FoxP3</i> | 95 |
| 5.8 | SEGUIMIENTO CLÍNICO Y ENCUESTA EVOLUTIVA | 95 |
| 5.9 | ANÁLISIS ESTADÍSTICO | 96 |
| 6 | RESULTADOS EXPERIMENTALES | 101 |
| 6.1 | COMPARACIÓN GRUPO ACTIVO (ITO1) CON GRUPO CONTROL (GC) | 101 |
| 6.1.1 | <i>Análisis descriptivo de la población</i> | 101 |
| 6.1.1.1 | <i>Sexo y edad</i> | 101 |
| 6.1.1.2 | <i>Antecedentes personales de alergia a alimentos</i> | 102 |
| 6.1.1.3 | <i>Antecedentes personales de dermatitis atópica</i> | 103 |
| 6.1.1.4 | <i>Antecedentes personales de enfermedades respiratorias alérgicas</i> | 103 |
| 6.1.1.5 | <i>Antecedentes personales de sensibilización a neumoaérgenos inhalantes</i> | 103 |
| 6.1.1.6 | <i>Antecedentes familiares alérgicos</i> | 104 |
| 6.1.2 | <i>Características clínicas de la alergia a huevo</i> | 105 |
| 6.1.2.1 | <i>Diagnóstico</i> | 105 |
| 6.1.2.2 | <i>Síntomas en la primera reacción</i> | 105 |
| 6.1.2.3 | <i>Edad de la primera reacción</i> | 106 |
| 6.1.2.4 | <i>Intervalo en la primera reacción</i> | 106 |
| 6.1.2.5 | <i>Reacciones inadvertidas</i> | 107 |
| 6.1.3 | <i>Estudio inmunológico basal</i> | 107 |
| 6.1.3.1 | <i>Prick tests a huevo</i> | 107 |
| 6.1.3.2 | <i>Eosinófilos en sangre periférica</i> | 107 |
| 6.1.3.3 | <i>IgE sérica total</i> | 108 |
| 6.1.3.4 | <i>IgE sérica específica a fracciones proteicas de huevo</i> | 108 |
| 6.1.3.5 | <i>IgG₄ sérica específica a fracciones proteicas de huevo</i> | 109 |
| 6.1.3.6 | <i>Producción in vitro de citoquinas (IL-5, IL-10, IL-13, IFN-γ, TNF-α)</i> | 109 |
| 6.1.3.7 | <i>Detección de células FoxP3</i> | 109 |
| 6.1.4 | <i>Provocación oral basal con huevo doble ciego controlada con placebo</i> | 110 |
| 6.1.4.1 | <i>Dosis de reacción</i> | 110 |
| 6.1.4.2 | <i>Síntomas desarrollados</i> | 110 |
| 6.1.5 | <i>Resultados de inmunoterapia oral rápida con huevo: comparación grupo activo ITO1 con grupo control</i> | 113 |
| 6.1.5.1 | <i>Eficacia clínica</i> | 113 |
| 6.1.5.2 | <i>Cambios inmunológicos</i> | 116 |
| 6.1.5.2.1 | <i>Análisis intragrupo</i> | 116 |
| 6.1.5.2.2 | <i>Análisis entre grupo activo ITO1 y grupo control</i> | 119 |

| | | |
|-----------|---|------------|
| 6.2 | COMPARACIÓN DEL TOTAL DE PACIENTES SOMETIDOS A INMUNOTERAPIA ORAL RÁPIDA CON HUEVO (GRUPO ITO2) . | 121 |
| 6.2.1 | <i>Eficacia clínica</i> | 121 |
| 6.2.2 | <i>Duración y dosis de la fase de inducción de la inmunoterapia oral rápida con huevo</i> | 125 |
| 6.2.3 | <i>Cambios inmunológicos</i> | 126 |
| 6.2.4 | <i>Seguridad clínica</i> | 132 |
| 6.2.4.1 | Provocación oral con huevo doble ciego controlada con placebo | 132 |
| 6.2.4.2 | Reacciones adversas durante la fase de inducción de la inmunoterapia oral rápida con huevo | 133 |
| 6.2.4.3 | Reacciones adversas durante la fase de mantenimiento de la inmunoterapia oral rápida con huevo... | 135 |
| 6.2.4.4 | Variables subjetivas (adherencia, gusto y miedo)..... | 138 |
| 6.2.4.5 | Factores facilitadores | 139 |
| 6.2.4.6 | Seguimiento clínico a largo plazo..... | 139 |
| 6.2.4.7 | Identificación de factores de riesgo durante la fase de inducción de la inmunoterapia oral rápida con huevo | 140 |
| 7 | DISCUSIÓN DE RESULTADOS | 145 |
| 8 | CONCLUSIONES | 153 |
| 9 | BIBLIOGRAFÍA | 157 |
| 10 | ANEXOS | 181 |
| 10.1 | ANEXO I: CONSENTIMIENTOS INFORMADOS..... | 181 |
| 10.2 | ANEXO II: ESQUEMAS DEL ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN | 195 |
| 10.3 | ANEXO III: PODCCP CON CHD..... | 196 |
| 10.4 | ANEXO IV: PROTOCOLO DE FASE DE INDUCCIÓN DE LA ITOR CON CHD | 197 |
| 10.5 | ANEXO V: INFORMACIÓN PARA PADRES Y PACIENTES | 198 |
| 10.6 | ANEXO VI: CALENDARIO DE SEGUIMIENTO | 200 |
| 10.7 | ANEXO VII: ARTÍCULOS CIENTÍFICOS PUBLICADOS | 204 |
| 10.8 | ANEXO VIII: TRAYECTORIA DEL DOCTORANDO..... | 224 |
| 10.8.1 | <i>Cursos de doctorado y líneas de investigación</i> | 224 |
| 10.8.2 | <i>Producción científica</i> | 226 |
| 10.8.2.1 | Revistas internacionales de impacto..... | 227 |
| 10.8.2.2 | Congresos internacionales (premios recibidos) | 227 |
| 10.8.2.3 | Libros divulgativos | 228 |

Índice de figuras

| | |
|--|-----|
| FIGURA 1. CLASIFICACIÓN DE REACCIONES ADVERSAS A ALIMENTOS [2]. | 35 |
| FIGURA 2. TIPOS DE REACCIONES ADVERSAS A ALIMENTOS [1]. | 36 |
| FIGURA 3. POTENCIALES FACTORES GENÉTICOS, EPIGENÉTICOS Y AMBIENTALES PARA EL AUMENTO DE ALERGIA MEDIADA POR IGE A ALIMENTOS EN FASES PRENATAL, NATAL Y POSTNATAL (EXTRAÍDO DE [14]). | 39 |
| FIGURA 4. ALGORITMO PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA ALERGIA A ALIMENTOS [37]. | 42 |
| FIGURA 5. LÍNEAS DE TERAPIA EN LA ALERGIA A ALIMENTOS (EXTRAÍDO DE [48]). | 44 |
| FIGURA 6. CÓDIGO DE MARCADO EN EL HUEVO. | 45 |
| FIGURA 7. ESQUEMA DE UN HUEVO. | 46 |
| FIGURA 8. PIRÁMIDE DE LA ALIMENTACIÓN SALUDABLE. | 49 |
| FIGURA 9. ALGORITMO DIAGNÓSTICO DE LA ALERGIA A HUEVO EN NIÑOS CON CLÍNICA DE TIPO INMEDIATO [113]. | 53 |
| FIGURA 10. ALGORITMO DIAGNÓSTICO DE LA ALERGIA A HUEVO: SÍNTOMAS AGUDOS [65]. | 53 |
| FIGURA 11. ALGORITMO DIAGNÓSTICO DE LA ALERGIA A HUEVO EN NIÑOS CON CLÍNICA DE DERMATITIS ATÓPICA O SÍNTOMAS GASTROINTESTINALES TARDÍOS (EXCLUÍDO ENTEROCOLITIS POR HUEVO) [113]. | 54 |
| FIGURA 12. ALGORITMO DIAGNÓSTICO DE LA ALERGIA A HUEVO: SÍNTOMAS CRÓNICOS (ADAPTADO DE [65]). | 54 |
| FIGURA 13. ESQUEMA DEL ENFOQUE TÍPICO DE LA ITO CON ALIMENTOS (EXTRAÍDO DE [154]). | 60 |
| FIGURA 14. ESQUEMA DE LA ITO CON ALIMENTOS (REPRODUCIDO CON PERMISO DE [155]). | 60 |
| FIGURA 15. MECANISMO DE ACCIÓN DE LA ITO (OIT) CON ALIMENTOS (EXTRAÍDO DE [156]). | 61 |
| FIGURA 16. CAMBIOS INMUNOLÓGICOS INDUCIDOS POR LA ITO MARCADORES DE DESARROLLO DE TOLERANCIA A ALÉRGENOS ALIMENTARIOS (EXTRAÍDO DE [200]). | 65 |
| FIGURA 17. ESTRATEGIAS DE TRATAMIENTO PARA LA ALERGIA Y EL ASMA (EXTRAÍDO DE [226]). | 70 |
| FIGURA 18. ESTRATEGIAS EN INVESTIGACIÓN PARA MEJORAR LA EFICACIA Y LA SEGURIDAD DE LA ITO CON ALIMENTOS (REPRODUCIDO DE [237]). | 72 |
| FIGURA 19. ESQUEMA DEL ESTUDIO SEGÚN LOS TIEMPOS DE EVALUACIÓN E INTERVENCIONES EN EL GRUPO ACTIVO. | 83 |
| FIGURA 20. ESQUEMA DEL ESTUDIO SEGÚN LOS TIEMPOS DE EVALUACIÓN E INTERVENCIONES EN EL GRUPO CONTROL. | 84 |
| FIGURA 21. DIAGRAMA DE FLUJO DEL ESTUDIO SEGÚN LOS GRUPOS Y LAS INTERVENCIONES DEL ESTUDIO. | 84 |
| FIGURA 22. PRESENTACIÓN COMERCIAL DEL PRODUCTO OVO-DES®. | 88 |
| FIGURA 23. DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DEL PRINCIPIO DEL IMMUNOCAP. | 92 |
| FIGURA 24. POBLACIÓN DE CÉLULAS T, GENES Y MEDIADORES DE LA RESPUESTA INMUNE. CAMBIOS INMUNOLÓGICOS INDUCIDOS POR LA ITO (OIT). | 93 |
| FIGURA 25. SEXO POR GRUPOS Y TOTAL DE PACIENTES INCLUIDOS EN EL ESTUDIO. | 101 |
| FIGURA 26. MÁXIMO, MEDIA Y MÍNIMO DE EDAD (EN AÑOS) POR GRUPOS Y TOTAL DE PACIENTES AL INICIO DEL ESTUDIO. | 101 |
| FIGURA 27. DISTRIBUCIÓN POR EDADES (EN AÑOS) DEL TOTAL DE PACIENTES AL INICIO DEL ESTUDIO. | 102 |
| FIGURA 28. ALERGIA A OTROS ALIMENTOS POR GRUPOS Y TOTAL DE PACIENTES. | 102 |
| FIGURA 29. NÚMERO DE ALERGIAS A OTROS ALIMENTOS POR PACIENTE. | 102 |
| FIGURA 30. NÚMERO DE PACIENTES POR GRUPOS CON ASMA BRONQUIAL Y RINITIS. | 103 |
| FIGURA 31. FRECUENCIA DE NEUMOALÉRGENOS INHALANTES POSITIVOS EN PRICK TEST POR TOTAL DE PACIENTES. | 104 |
| FIGURA 32. SÍNTOMAS REFERIDOS Y AFECTACIÓN DE ÓRGANOS EN LA PRIMERA RA POR HUEVO EN EL ITO1. | 105 |
| FIGURA 33. SÍNTOMAS REFERIDOS Y AFECTACIÓN DE ÓRGANOS EN LA PRIMERA RA POR HUEVO EN EL GC. | 106 |
| FIGURA 34. DISTRIBUCIÓN POR PACIENTES DEL INTERVALO (EN MESES) TRAS LA PRIMERA TOMA DE HUEVO Y LA APARICIÓN DE LA PRIMERA RA. | 106 |
| FIGURA 35. DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES POR GRUPOS DEL INTERVALO (EN MIN) HASTA LA APARICIÓN DE SÍNTOMAS EN LA PRIMERA RA POR HUEVO. | 107 |
| FIGURA 36. DISTRIBUCIÓN POR GRUPOS Y TOTAL DE PACIENTES DEL NIVEL DE IGE SÉRICA TOTAL (EN UI/ML) EN T0 (BASAL). | 108 |
| FIGURA 37. NIVELES DE IGE SÉRICA ESPECÍFICA (EN KU/L) A FRACCIONES PROTEICAS DE HUEVO PARA EL TOTAL DE PACIENTES EN T0 (BASAL). | 108 |
| FIGURA 38. FRECUENCIA DE DOSIS UMBRAL DE REACCIÓN (EN MG) EN LA PODCCP BASAL CON CHD POR GRUPOS. | 110 |
| FIGURA 39. FRECUENCIA DE SÍNTOMAS Y AFECTACIÓN DE ÓRGANOS EN LA PODCCP BASAL CON CHD EN EL ITO1. | 111 |
| FIGURA 40. FRECUENCIA DE SÍNTOMAS Y AFECTACIÓN DE ÓRGANOS EN LA PODCCP BASAL CON CHD EN EL GC. | 111 |
| FIGURA 41. DIAGRAMA DE FLUJO Y DISTRIBUCIÓN DE LOS PACIENTES EN LOS DIFERENTES GRUPOS DEL ESTUDIO. | 113 |
| FIGURA 42. FRECUENCIA DE DOSIS UMBRAL DE REACCIÓN (EN MG) EN LA SEGUNDA PODCCP CON CHD EN EL GC. | 114 |
| FIGURA 43. CAMBIOS EN LA DOSIS UMBRAL DE REACCIÓN (EN MG) EN LAS PODCCP REALIZADAS CON CHD EN EL GC. | 115 |
| FIGURA 44. FRECUENCIA DE SÍNTOMAS Y AFECTACIÓN DE ÓRGANOS EN LA PODCCP CON CHD EN EL GC A LOS 5 MESES BAJO DIETA DE EXCLUSIÓN DE HUEVO. | 115 |

| | |
|---|-----|
| FIGURA 45. MEDIA (IC AL 95%) DE LOS PRICK TESTS A FRACCIONES PROTEICAS DE HUEVO (EN MM) AL INICIO DEL ESTUDIO (T0) Y A LOS 5 MESES (T3) DE LA ITOR CON HUEVO EN EL GRUPO ACTIVO (ITO1) (*P<0.05-0.001) Y DE DIETA DE EXCLUSIÓN DE HUEVO EN EL GRUPO CONTROL (GC). | 116 |
| FIGURA 46. MEDIA (IC AL 95%) DE LA IGG ₄ SÉRICA ESPECÍFICA A FRACCIONES PROTEICAS DE HUEVO (EN MG/ML) AL INICIO DEL ESTUDIO (T0) Y A LOS 5 MESES (T3) DE LA ITOR CON HUEVO EN EL GRUPO ACTIVO (ITO1) (*P<0.05-0.001) Y DE DIETA DE EXCLUSIÓN DE HUEVO EN EL GRUPO CONTROL (GC). | 116 |
| FIGURA 47. MEDIA (IC AL 95%) DE EOSINÓFILOS EN SANGRE PERIFÉRICA (EN EO/MM ³) Y DE LA IGE SÉRICA TOTAL (EN UI/ML) AL INICIO DEL ESTUDIO (T0) Y A LOS 5 MESES (T3) DE LA ITOR CON HUEVO EN EL GRUPO ACTIVO (ITO1) Y DE DIETA DE EXCLUSIÓN DE HUEVO EN EL GRUPO CONTROL (GC) (P>0.05). | 117 |
| FIGURA 48. MEDIA (IC AL 95%) DE LA IGE SÉRICA ESPECÍFICA A FRACCIONES PROTEICAS DE HUEVO (EN KU/L) AL INICIO DEL ESTUDIO (T0) Y A LOS 5 MESES (T3) DE LA ITOR CON HUEVO EN EL GRUPO ACTIVO (ITO1) Y DE DIETA DE EXCLUSIÓN DE HUEVO EN EL GRUPO CONTROL (GC) (P>0.05). | 117 |
| FIGURA 49. VALORES MEDIOS (EN RQ) DE LOS FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN FoxP3, TBET Y GATA3 EN ITO1 Y GC. | 118 |
| FIGURA 50. MEDIANA (RIQ) DEL PORCENTAJE DE CÉLULAS TREG FoxP3 ⁺ AL INICIO DEL ESTUDIO (T0) Y A LOS 5 MESES (T3) DE LA ITOR CON HUEVO EN EL GRUPO ACTIVO (ITO1) (P=0.125) Y DE DIETA DE EXCLUSIÓN DE HUEVO EN EL GRUPO CONTROL (GC) (P=0.844). | 119 |
| FIGURA 51. NÚMERO DE DÍAS NECESITADOS POR PACIENTE DEL ITO2 PARA COMPLETAR LA FI DE LA ITOR CON CHD. | 125 |
| FIGURA 52. FRECUENCIA DE DOSIS DE INICIO (EN MG) DE LA FI DE LA ITOR CON CHD EN EL ITO2. | 125 |
| FIGURA 53. NÚMERO DE DOSIS DE CHD ADMINISTRADAS POR PACIENTE DEL ITO2 DURANTE LA FI DE LA ITOR. | 126 |
| FIGURA 54. MEDIA (IC AL 95%) DE LOS PRICK TESTS A FRACCIONES PROTEICAS DE HUEVO (EN MM) PARA EL GRUPO ACTIVO TOTAL (ITO2) AL INICIO DEL ESTUDIO (T0), A LOS 15 DÍAS DE FINALIZAR LA FI (T1), 1 MES DESPUÉS (T2) Y A LOS 5 MESES DE LA ITOR CON HUEVO (T3) (*P<0.001). | 126 |
| FIGURA 55. MEDIA (IC AL 95%) DE LA IGG ₄ SÉRICA ESPECÍFICA A FRACCIONES PROTEICAS DE HUEVO (EN MG/ML) PARA EL GRUPO ACTIVO TOTAL (ITO2) AL INICIO DEL ESTUDIO (T0), A LOS 15 DÍAS DE FINALIZAR LA FI (T1), 1 MES DESPUÉS (T2) Y A LOS 5 MESES DE LA ITOR CON HUEVO (T3) (*P<0.001). | 127 |
| FIGURA 56. MEDIA DEL RATIO IGE/IgG ₄ ESPECÍFICA A FRACCIONES PROTEICAS DE HUEVO PARA EL GRUPO ACTIVO TOTAL (ITO2) AL INICIO DEL ESTUDIO (T0), A LOS 15 DÍAS DE FINALIZAR LA FI (T1), 1 MES DESPUÉS (T2) Y A LOS 5 MESES DE LA ITOR CON HUEVO (T3) (*P<0.001). | 127 |
| FIGURA 57. MEDIA (IC AL 95%) DE LA IGE SÉRICA ESPECÍFICA A FRACCIONES PROTEICAS DE HUEVO (EN KU/L) PARA EL GRUPO ACTIVO TOTAL (ITO2) AL INICIO DEL ESTUDIO (T0), A LOS 15 DÍAS DE FINALIZAR LA FI (T1), 1 MES DESPUÉS (T2) Y A LOS 5 MESES DE LA ITOR CON HUEVO (T3) (*P<0.05-0.001). | 128 |
| FIGURA 58. MEDIA (IC AL 95%) DE EOSINÓFILOS EN SANGRE PERIFÉRICA (EN EO/MM ³) Y DE LA IGE SÉRICA TOTAL (EN UI/ML) PARA EL GRUPO ACTIVO TOTAL (ITO2) AL INICIO DEL ESTUDIO (T0), A LOS 15 DÍAS DE FINALIZAR LA FI (T1), 1 MES DESPUÉS (T2) Y A LOS 5 MESES DE LA ITOR CON HUEVO (T3) (P>0.05). | 128 |
| FIGURA 59. VALORES MEDIOS (EN RQ) DE LOS FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN FoxP3, TBET Y GATA3 EN ITO2. | 131 |
| FIGURA 60. MEDIANA (RIQ) DEL PORCENTAJE DE CÉLULAS TREG FoxP3 ⁺ EN INDIVIDUOS ALÉRGICOS (ITO2) Y EN NO ALÉRGICOS EN T0 (BASAL). | 131 |
| FIGURA 61. MEDIANA (RIQ) DEL PORCENTAJE DE CÉLULAS TREG FoxP3 ⁺ EN EL GRUPO ACTIVO TOTAL (ITO2) EN T0 (BASAL) Y T3 (A LOS 5 MESES DE LA ITOR CON HUEVO). | 132 |
| FIGURA 62. NÚMERO DE RAS ACONTECIDAS DURANTE LA FI DE LA ITOR CON CHD EN EL ITO2. | 133 |
| FIGURA 63. SÍNTOMAS PRESENTADOS Y AFECTACIÓN POR ÓRGANOS DURANTE LA FI DE LA ITOR CON CHD EN EL ITO2. | 133 |
| FIGURA 64. GRAVEDAD DE LAS RAS EN TOTAL Y POR PACIENTE DEL ITO2 DURANTE LA FI DE LA ITOR CON CHD. | 134 |
| FIGURA 65. PORCENTAJE DE RAS DURANTE LA FI DE LA ITOR CON CHD SEGÚN DOSIS ADMINISTRADA EN EL ITO2. | 134 |
| FIGURA 66. ADMINISTRACIÓN DE ADRENALINA INTRAMUSCULAR EN PODCCP E ITOR CON CHD. | 135 |
| FIGURA 67. MEDIA (IC AL 95%) DEL TOTAL DE RAS CON HUEVO DURANTE LA FM SEGÚN LOS TIEMPOS DE EVOLUCIÓN DEL ESTUDIO (T1: (FIN FI-T1) 15 DÍAS; T2: (T1-T2) 1 MES; T3: (T2-T3) 3 MESES). | 136 |
| FIGURA 68. NÚMERO DE RAS POR PACIENTE DEL ITO2 DURANTE LA FM CON HUEVO. | 137 |
| FIGURA 69. FRECUENCIA DE SÍNTOMAS EN EL ITO2 DURANTE LA FM CON HUEVO (T1: (FIN FI-T1) 15 DÍAS; T2: (T1-T2) 1 MES; T3: (T2-T3) 3 MESES). | 138 |
| FIGURA 70. FACTORES FACILITADORES DE RAS EVALUADOS DURANTE LA FM CON HUEVO SEGÚN LOS TIEMPOS DE EVOLUCIÓN DEL ESTUDIO (T1: (FIN FI-T1) 15 DÍAS; T2: (T1-T2) 1 MES; T3: (T2-T3) 3 MESES). | 139 |
| FIGURA 71. ASOCIACIÓN ENTRE DURACIÓN DE LA FI DE LA ITOR CON HUEVO Y EL DESARROLLO DE >2 VERSUS ≤2 RAS. | 140 |
| FIGURA 72. POTENCIAL DISCRIMINATIVO DE LOS RESULTADOS BASEALES (T0) A HUEVO PARA DETERMINAR EL DESARROLLO DE >2 RAS DURANTE LA FASE DE INDUCCIÓN DE LA ITOR CON HUEVO: A) PRICK TEST; B) IGE SÉRICA ESPECÍFICA; C) IGG ₄ SÉRICA ESPECÍFICA; Y D) RATIO IGE/IgG ₄ ESPECÍFICA. | 141 |

Índice de tablas

| | |
|--|-----|
| TABLA 1. PREVALENCIA DE LA ALERGIA A ALIMENTOS MAYORITARIOS EN EUROPA: REFERIDA VERSUS CONFIRMADA POR PROVOCACIÓN ORAL [9]. | 37 |
| TABLA 2. VALOR PREDICTIVO POSITIVO DE LA IGE SÉRICA ESPECÍFICA A ALIMENTOS [31]. | 41 |
| TABLA 3. PROTEÍNAS DE LA CLARA DE HUEVO. | 46 |
| TABLA 4. PROTEÍNAS DE LA YEMA DE HUEVO. | 47 |
| TABLA 5. COMPOSICIÓN DEL HUEVO (POR CADA 100 GRAMOS). | 49 |
| TABLA 6. BASE DE DATOS DE NUTRIENTES DEL HUEVO. | 49 |
| TABLA 7. NIVELES DE IGE SÉRICA ESPECÍFICA A CLARA PREDICTORES DE ALERGIA PERSISTENTE A HUEVO [106]. | 52 |
| TABLA 8. MARCADORES PREDICTORES DE ALERGIA PERSISTENTE A HUEVO [110]. | 52 |
| TABLA 9. EJEMPLOS DE FUENTES DE PROTEÍNAS DE HUEVO COMO ALÉRGENO OCULTO. | 57 |
| TABLA 10. ESTUDIOS DE ITO CON ALIMENTOS: DESENSIBILIZACIÓN TRANSITORIA. | 62 |
| TABLA 11. ESTUDIOS DE ITO CON ALIMENTOS: FALTA DE RESPUESTA SOSTENIDA. | 64 |
| TABLA 12. REACCIONES ADVERSAS EN ESTUDIOS DE ITO CON HUEVO (ADAPTADO DE [155]). | 68 |
| TABLA 13. CASOS DE ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA TRAS ITO CON DISTINTOS ALIMENTOS. | 68 |
| TABLA 14. TIPOS DE PRODUCTOS DE HUEVO EMPLEADOS EN ITO (REPRODUCIDO CON PERMISO DE [155]). | 69 |
| TABLA 15. BENEFICIOS Y LIMITACIONES DE LA ITO PARA LA ALERGIA A ALIMENTOS (REPRODUCIDO DE [237]). | 71 |
| TABLA 16. PLAN DE TRABAJO REALIZADO. | 81 |
| TABLA 17. EVALUACIONES REALIZADAS SEGÚN LOS GRUPOS DE INTERVENCIÓN Y TIEMPOS DEL ESTUDIO. | 85 |
| TABLA 18. POBLACIÓN ANALIZADA POR CADA OBJETIVO DEL ESTUDIO. | 85 |
| TABLA 19. NÚMERO DE DOSIS, PRESENTACIÓN Y MILÍGRAMOS CORRESPONDIENTES DEL PRODUCTO OVO-DES®. | 87 |
| TABLA 20. PROTOCOLO DE PODCCP CON CHD. | 89 |
| TABLA 21. PROTOCOLO DE FASE DE INDUCCIÓN DE LA ITOR CON CHD INICIANDO CON LA ÚLTIMA DOSIS TOLERADA EN LA PODCCP. | 89 |
| TABLA 22. TIPOS DE ALIMENTOS IMPLICADOS POR TOTAL Y GRUPOS DE PACIENTES DEL ESTUDIO. | 103 |
| TABLA 23. MEDIA (SD) DE PRICK TESTS (EN MM) A NEUMOALÉRGENOS INHALANTES POR TOTAL Y GRUPOS DE PACIENTES DEL ESTUDIO. | 104 |
| TABLA 24. ANTECEDENTES ALÉRGICOS EN FAMILIARES DE PRIMER GRADO POR TOTAL Y GRUPOS DE PACIENTES DEL ESTUDIO. | 104 |
| TABLA 25. SÍNTOMAS REFERIDOS Y AFECTACIÓN DE ÓRGANOS EN LA PRIMERA RA POR HUEVO POR TOTAL Y GRUPOS DE PACIENTES DEL ESTUDIO. | 105 |
| TABLA 26. MEDIA (SD) DE PRICK TESTS (EN MM) A FRACCIONES PROTEICAS DE HUEVO POR TOTAL Y GRUPOS DE PACIENTES EN T0 (BASAL). | 107 |
| TABLA 27. MEDIANA (RIQ) DE IGE SÉRICA ESPECÍFICA (EN KU/L) A FRACCIONES PROTEICAS DE HUEVO POR TOTAL Y GRUPOS DE PACIENTES EN T0 (BASAL). | 109 |
| TABLA 28. MEDIANA (RIQ) DE IGG ₄ SÉRICA ESPECÍFICA (EN MG/L) A FRACCIONES PROTEICAS DE HUEVO POR TOTAL Y GRUPOS Y TOTAL DE PACIENTES EN T0 (BASAL). | 109 |
| TABLA 29. MEDIANA (RIQ) DEL NIVEL DE CITOQUINAS (EN PG/ML) POR TOTAL Y GRUPOS DE PACIENTES EN T0 (BASAL). | 109 |
| TABLA 30. MEDIANA (RIQ) DE CÉLULAS TREG FOXP3 ⁺ (EN %) POR TOTAL Y GRUPOS DE PACIENTES EN T0 (BASAL). | 110 |
| TABLA 31. SÍNTOMAS REFERIDOS Y AFECTACIÓN DE ÓRGANOS EN LA PODCCP BASAL CON CHD POR TOTAL Y GRUPOS DE PACIENTES DEL ESTUDIO. | 111 |
| TABLA 32. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E INMUNOLÓGICAS BASALES Y DE LA PODCCP BASAL POR TOTAL Y GRUPOS ACTIVO Y CONTROL CON LA COMPARACIÓN ENTRE AMBOS GRUPOS DEL ESTUDIO. | 112 |
| TABLA 33. MEDIANA (RIQ) DEL NIVEL DE CITOQUINAS (EN PG/ML) AL INICIO DEL ESTUDIO (T0) Y A LOS 5 MESES (T3) DE LA ITOR CON HUEVO EN EL GRUPO ACTIVO (ITO1) Y DE DIETA DE EXCLUSIÓN DE HUEVO EN EL GRUPO CONTROL (GC). | 118 |
| TABLA 34. MEDIA DE EXPRESIÓN DE FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN FOXP3, TBET Y GATA3 (EN RQ) AL INICIO DEL ESTUDIO (T0) Y A LOS 5 MESES (T3) DE LA ITOR CON HUEVO EN EL GRUPO ACTIVO (ITO1) Y DE DIETA DE EXCLUSIÓN DE HUEVO EN EL GRUPO CONTROL (GC). | 118 |
| TABLA 35. MEDIANA (RIQ) DEL NIVEL DE CÉLULAS TREG FOXP3 ⁺ (EN %) AL INICIO DEL ESTUDIO (T0) Y A LOS 5 MESES (T3) DE LA ITOR CON HUEVO EN EL GRUPO ACTIVO (ITO1) Y DE DIETA DE EXCLUSIÓN DE HUEVO EN EL GRUPO CONTROL (GC). | 119 |
| TABLA 36. COMPARACIÓN DE LOS PRICK TESTS Y DEL ESTUDIO <i>IN VITRO</i> ENTRE LOS GRUPOS ACTIVO (ITO1) Y CONTROL (GC) A LOS 5 MESES (T3) DE LA ITOR CON HUEVO Y DE DIETA DE EXCLUSIÓN DE HUEVO, RESPECTIVAMENTE. | 120 |
| TABLA 37. COMPARACIÓN DE LA PRODUCCIÓN <i>IN VITRO</i> DE CITOQUINAS, EL PERFIL GENÉTICO DE LA POBLACIÓN DE CÉLULAS T Y LA DETECCIÓN DE CÉLULAS TREG FOXP3 ⁺ ENTRE LOS GRUPOS ACTIVO (ITO1) Y CONTROL (GC) A LOS 5 MESES (T3) DE LA ITOR CON HUEVO Y DE DIETA DE EXCLUSIÓN DE HUEVO, RESPECTIVAMENTE. | 121 |
| TABLA 38. CARACTERÍSTICAS DE CADA PARTICIPANTE DEL ESTUDIO. | 122 |

| | |
|--|-----|
| TABLA 39. COMPARACIÓN INTRAGRUPO ACTIVO TOTAL (ITO2) DE LOS PRICK TESTS Y DEL ESTUDIO <i>IN VITRO</i> AL INICIO DEL ESTUDIO (T0), A LOS 15 DÍAS DE FINALIZAR LA FI (T1), 1 MES DESPUÉS (T2) Y A LOS 5 MESES DE LA ITOR CON HUEVO (T3). | 129 |
| TABLA 40. MEDIANA (RIQ) DEL NIVEL DE CITOQUINAS (EN PG/ML) EN EL GRUPO ACTIVO TOTAL (ITO2) Y EN INDIVIDUOS NO ALÉRGICOS (NA) EN T0 (BASAL). | 130 |
| TABLA 41. MEDIANA (RIQ) DEL NIVEL DE CITOQUINAS (EN PG/ML) EN EL GRUPO ACTIVO TOTAL (ITO2) EN T0 (BASAL), T1 (AL MES DE FINALIZAR LA FI) Y T3 (A LOS 5 MESES DE LA ITOR CON HUEVO). | 130 |
| TABLA 42. MEDIA DE EXPRESIÓN DE FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN FOXP3, TBET Y GATA3 (EN RQ) EN EL GRUPO ACTIVO TOTAL (ITO2) ENTRE T0 (BASAL), T1 (AL MES DE FINALIZAR LA FI) Y T3 (A LOS 5 MESES DE LA ITOR CON HUEVO). | 131 |
| TABLA 43. MEDIANA (RIQ) DEL NIVEL DE CÉLULAS TREG FOXP3 ⁺ (EN %) EN INDIVIDUOS ALÉRGICOS (ITO2) Y EN NO ALÉRGICOS (NA) EN T0 (BASAL). | 131 |
| TABLA 44. MEDIANA (RIQ) DEL NIVEL DE CÉLULAS TREG FOXP3 ⁺ (EN %) EN EL GRUPO ACTIVO TOTAL (ITO2) EN T0 (BASAL) Y T3 (A LOS 5 MESES DE LA ITOR CON HUEVO). | 132 |
| TABLA 45. DESCRIPCIÓN DE FRECUENCIAS DEL TOTAL DE RAS EN RELACIÓN CON LA TOMA DE HUEVO DURANTE LA FM SEGÚN LOS TIEMPOS DE EVOLUCIÓN DEL ESTUDIO (T1: (FIN FI-T1) 15 DÍAS; T2: (T1-T2) 1 MES; T3: (T2-T3) 3 MESES). | 136 |
| TABLA 46. DESCRIPCIÓN DE FRECUENCIA DE SÍNTOMAS EN EL ITO2 DURANTE LA FM CON HUEVO (T1: (FIN FI-T1) 15 DÍAS; T2: (T1-T2) 1 MES; T3: (T2-T3) 3 MESES). | 137 |
| TABLA 47. VARIABLES SUBJETIVAS EVALUADAS AL FINAL DE LA FM CON HUEVO. | 138 |
| TABLA 48. FACTORES FACILITADORES DE RAS EVALUADOS DURANTE LA FM CON HUEVO. | 139 |
| TABLA 49. PUNTOS DE CORTE ÓPTIMOS DE LAS VARIABLES A ESTUDIO AL INICIO (T0) Y SU POTENCIAL DISCRIMINATIVO PARA DETERMINAR EL DESARROLLO DE >2 RAS DURANTE LA ITOR CON HUEVO. | 142 |

Abreviaturas

| | |
|---------------|---|
| a | Activo |
| ABC | Área bajo la curva |
| AINE | Anti-inflamatorio no esteroideo |
| c | Control |
| CHD | Clara de huevo cruda en polvo pasteurizada y deshidratada |
| col | Colaboradores |
| E | Especificidad |
| Eo | Eosinófilos |
| FI | Fase de inducción |
| FM | Fase de mantenimiento |
| FoxP3 | Forkhead box P3 |
| GC | Grupo control |
| IC | Intervalo de confianza |
| IFN | Interferón |
| Ig | Inmunoglobulina |
| IL | Interleuquina |
| IT | Inmunoterapia |
| ITO | Inmunoterapia oral |
| ITOR | Inmunoterapia oral rápida |
| MI | Marcadores inmunológicos |
| n | Tamaño muestral |
| NA | No alérgicos |
| Nº | Número |
| OVA | Ovoalbúmina |
| OVM | Ovomucoide |
| P | Valor estadístico P |
| Pac | Paciente |
| PO | Provocación oral |
| PODCCP | Provocación oral doble ciego controlada con placebo |
| PT | Prick test |
| RA | Reacción adversa |
| RC | Registro clínico |



| | |
|-------------|----------------------------|
| RIQ | Rango intercuartílico |
| RVP | Razón de verosimilitud |
| S | Sensibilidad |
| SAO | Síndrome de alergia oral |
| SD | Desviación estándar |
| T | Tiempo de estudio |
| Th | T helper |
| TNF | Factor de necrosis tumoral |
| Treg | T reguladora |
| VNP | Valor predictivo negativo |
| VPP | Valor predictivo positivo |



Resumen / Summary



1 Resumen / Summary

La presente memoria resume un estudio aleatorizado y controlado que investiga la eficacia y seguridad clínicas de un protocolo de inmunoterapia oral rápida (ITOR) con huevo en población infantil con alergia persistente mediada por IgE y la modulación inmunológica producida por dicha intervención durante 5 meses. Se compara con una población de características similares que realiza únicamente dieta de exclusión durante el mismo intervalo de 5 meses. También se investiga la modulación inmunológica intragrupo en los diferentes tiempos de tratamiento mediante seguimiento de niveles de prick tests (PT), IgE e IgG₄ séricas específicas a huevo y sus alérgenos, ratio IgE/IgG₄ específica, producción *in vitro* de citoquinas, perfil genético de población de células T y detección de células FoxP3. Además, se evaluaron posibles factores de riesgo para el desarrollo de reacciones adversas (RA) durante el tratamiento.

El documento sigue la estructura clásica de un trabajo de investigación en el campo de la Alergología, presentando en primer lugar las motivaciones y objetivos que han llevado al doctorando a desarrollar un nuevo protocolo de tratamiento respondiendo una necesidad claramente existente en la actualidad para la alergia persistente a huevo. A continuación, se realiza un estudio en profundidad del estado del arte en dicho campo, que fundamenta la base de este estudio. El núcleo del presente trabajo viene dado por la propuesta de un protocolo de ITOR para tratar la alergia persistente a huevo en niños, con una fase de inducción (FI) programada para 5 días de duración, comenzando con la máxima dosis aislada tolerada en la provocación oral doble ciego controlada con placebo (PODCCP) basal, y con análisis del procedimiento a los 5 meses de fase de mantenimiento (FM). Una vez introducidas las bases teórica y metodológica del estudio, se presentan los resultados obtenidos de eficacia y seguridad, así como cambios inmunológicos y factores de riesgo que pudieran servir como biomarcadores de respuesta al tratamiento.

INTRODUCCIÓN

La alergia a huevo es la segunda alergia alimentaria más frecuente en la población pediátrica en todo el mundo y la mayoría de los pacientes llegan a tolerar el huevo durante la infancia. Sin embargo, estudios recientes encuentran hasta una persistencia de la alergia a huevo en el 42% de los niños en la adolescencia, lo que sugiere el aumento de esta patología en la edad adulta.

La estricta evitación de las proteínas de huevo es el único tratamiento universalmente admitido en la práctica clínica habitual. Sin embargo, el cumplimiento de esta dieta es difícil por el uso extensivo del huevo en muchos alimentos, lo que perjudica significativamente la calidad de vida tanto de los pacientes como de sus familias. El contacto involuntario con huevo es frecuente y puede desencadenar reacciones potencialmente mortales. La inmunoterapia oral (ITO) es uno de los avances más importantes de los últimos años en el tratamiento de la alergia persistente a alimentos. Consiste en una FI o incremento de dosis en la que se se administran al paciente alérgico dosis progresivamente crecientes del alimento por vía oral hasta alcanzar hasta alcanzar la dosis diana establecida, que en muchas ocasiones es la cantidad normal para su edad. En ese momento comienza la FM en la que el paciente

toma una cantidad constante y periódica del alimento. La ITO con alimentos se ha mostrado eficaz porque permite que el paciente pueda comer el alimento y evita riesgos de RA por contacto inadvertido, por lo que aumenta la calidad de vida. Se ha utilizado con éxito preferentemente en la alergia a leche, huevo, cacahuete y trigo. Sin embargo, es un procedimiento que consume mucho tiempo ya que la mayoría de los protocolos publicados implican una FI de varias semanas o meses (habitualmente 16 semanas). Además, el objetivo de algunos de estos protocolos es lograr una dosis de mantenimiento inferior a una ración completa normal de la dieta. Actualmente solo hay 2 protocolos rápidos de 12 y 5 días de duración, pero su dosis objetivo es de un huevo cocido que tiene una menor alergenidad que el huevo crudo. Además, suele ser un procedimiento que no está libre de riesgos ya que muchos pacientes presentan RAs (urticaria, dolor abdominal, vómitos, dificultad respiratoria...) que precisan tratamiento de rescate, por lo que en la actualidad no es un protocolo establecido para la práctica clínica habitual. Por el momento, no se ha detectado ningún marcador definitivo que pueda predecir la buena o mala tolerancia del tratamiento o si éste va a ser exitoso o no.

OBJETIVOS

Evaluar la eficacia y seguridad clínicas de un protocolo de ITOR con una dosis objetivo equivalente a una clara de huevo cruda comparada con la dieta de exclusión en pacientes pediátricos con alergia persistente a huevo mediada por IgE para conseguir el estado de desensibilización; detectar los cambios inmunológicos inducidos por dicho procedimiento en un periodo de 5 meses y los potenciales factores de riesgo de fracaso del tratamiento o de RAs durante el mismo.

MÉTODOS

Treinta y tres niños alérgicos confirmados por PODCCP fueron randomizados para recibir ITOR con huevo desde el inicio del estudio (grupo ITO1) o para continuar con dieta sin huevo durante 5 meses (grupo control [GC]). Los individuos del ITO1 y aquellos del GC que presentaron una segunda provocación oral positiva a los 5 meses y que posteriormente recibieron la ITOR con huevo y nuevo seguimiento durante 5 meses conformaron el grupo ITO2. Los tiempos de análisis del estudio fueron: T0 (basal); T1 (15 días después de finalizar la FI, en mantenimiento con huevo en el domicilio); T2 (1 mes después del T1, en mantenimiento con huevo en el domicilio); y T3 (3 meses después del T2, en mantenimiento con huevo en el domicilio).

- Procedimientos *in vivo*:

- 1) Se realizaron PTs con extractos comerciales de inhalantes y de huevo completo, clara, yema, ovoalbúmina (OVA) y ovomucoide (OVM).

- 2) La PODCCP y la ITOR se realizaron la misma semana de forma ambulatoria. Se empleó clara de huevo en polvo pasteurizada y deshidratada (CHD). El objetivo fue alcanzar al final de la FI la tolerancia de 3600 mg de dicho producto (que corresponden a 43 mL de clara de un huevo de tamaño mediano y su contenido proteico es del 78%, aproximadamente 2808 mg de proteína de clara). La ITOR fue diseñada para una FI consecutiva de 5 días de duración. Se

inició con la última dosis aislada tolerada en la PODCCP. Si transcurrida 1 hora el paciente no presentaba RA o ésta era de carácter leve y autolimitada, se administraba(n) la(s) dosis siguiente(s) hasta finalizar el protocolo pautado para cada día de tratamiento, con un periodo de observación final de 2 horas. Se indicó la toma de cetirizina durante la FI y hasta la primera mitad de la primera semana de mantenimiento con 3600 mg de CHD en el domicilio. Posteriormente, el paciente continuaba comiendo un huevo poco cocinado cada 48 horas, así como aquellos alimentos que lo contuvieran entre sus ingredientes.

- Procedimientos *in vitro*:

- 1) Se extrajo hemograma para cuantificar eosinófilos en sangre periférica.

- 2) Se evaluaron los niveles de IgE sérica total y sérica específica a huevo completo, clara, yema, OVA, OVM y lisozima, así como de IgG₄ sérica específica a clara, OVA y OVM mediante técnica ImmunoCAP. También se calculó el ratio IgE/IgG₄ específica a clara, OVA y OVM.

- 3) Se realizó test de producción *in vitro* de citoquinas específicas a OVA [IFN- γ , TNF- α (Th1); IL-5, IL-13 (Th2); IL-10 (Treg)] en la sangre de pacientes mediante técnica BDTM Cytometric Bead Array.

- 4) Se analizó el perfil genético de la población de células T del paciente [factores de transcripción T-bet (Th1), GATA-3 (Th2) y FoxP3 (Treg)] mediante extracción de RNA y análisis por PCR cualitativa a tiempo real.

- 5) Se detectó el porcentaje de células T reguladoras CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ en células polimorfonucleares del paciente tras estimulación con OVA y análisis por citometría de flujo.

- Seguimiento clínico y encuesta evolutiva:

- 1) Durante la FM el paciente debía cumplimentar un calendario de administración de dosis y de registro de RAs. También se evaluaron factores facilitadores de RAs y factores subjetivos con la toma de huevo (adherencia, gusto y miedo).

- 2) Se realizó una encuesta a los 27-32 meses de finalizar el estudio para valorar el estado de los pacientes con respecto al tratamiento.

RESULTADOS

El 89.47% (17/19) de los niños del grupo activo inicial y ninguno del GC estaban desensibilizados a los 5 meses de finalizar la FI (P<0.001).

El 96.87% (31/32) del total de los pacientes tratados completaron la FI y el 93.75% (30/32) mantuvieron la desensibilización a los 5 meses.

El 81.3% de los pacientes completaron la FI en ≤ 5 días. El 68.8% de los niños presentaron RAs durante la FI (el 50% de ellos tuvieron ≤ 2 RAs) y en el 31% de las dosis (leves en el 85.35% de los casos; tipo gastrointestinal en el 54.84%).

Los PTs y el ratio IgE/IgG₄ específica a todas las fracciones proteicas de huevo analizadas disminuyeron a lo largo del tratamiento (P<0.001), mientras que las IgG₄ séricas

específicas aumentaron ($P < 0.001$). También disminuyó el nivel de la IgE sérica específica a OVA y OVM a lo largo de la ITOR ($P < 0.001$).

Se detectó una disminución significativa de la IL-13 solo al final del tratamiento ($P < 0.01$). Sin embargo, no se objetivó modulación inmunológica respecto a otras citoquinas de perfil Th1/Th2/Treg, a la expresión de factores de transcripción Tbet/GATA3/FoxP3 ni a la detección de células $CD4^+CD25^+FoxP3^+$.

Respecto a factores de riesgo, un menor umbral en la PODCCP basal se asoció ($P = 0.04$) a un mayor riesgo de presentar RAs durante la ITOR. Los mejores valores basales discriminativos para predecir el desarrollo de >2 RAs durante la FI fueron IgE específica ≥ 18 kU/L para huevo y clara ($P < 0.0001$) y ≥ 15 kU/L para OVA ($P < 0.0001$) e IgE/IgG₄ específica ≥ 11 para clara ($P = 0.001$) y OVA ($P = 0.002$).

A los 27-32 meses de finalizar el estudio, el 85.18% (23/27 pacientes evaluables) continuaban comiendo huevo con buena tolerancia, mientras que el 14.82% de los niños suspendieron su toma por RAs o falta de cumplimiento del tratamiento. El 43.48% (10/23) reconocían que no les gustaba el huevo crudo.

CONCLUSIONES

1. Se demuestra la eficacia de un protocolo corto de inmunoterapia oral con huevo diseñado con una fase de inducción de 5 días consecutivos y estableciendo la dosis inicial en la última dosis tolerada en la provocación oral doble ciego controlada con placebo basal.

2. La mayoría de los niños (94%) con alergia persistente a huevo que recibieron tratamiento con inmunoterapia oral rápida con clara cruda completaron la fase de inducción con una mediana de 3 días y pudieron comer huevo durante, al menos, 5 meses en comparación con ningún niño no tratado.

3. La inmunoterapia oral rápida con huevo indujo una disminución significativa de parámetros inmunológicos como el prick test a huevo y todas sus fracciones, los niveles de IgE sérica específica a ovoalbúmina y ovomucoide, y el ratio IgE/IgG₄ específica a clara, ovoalbúmina y ovomucoide. Además, produjo un aumento significativo de la IgG₄ sérica específica a clara, ovoalbúmina y ovomucoide.

4. La inmunoterapia oral rápida con huevo indujo una disminución significativa de la producción *in vitro* de IL-13 específica a ovoalbúmina al final del tratamiento. Sin embargo, no se detectó modulación inmunológica respecto a otras citoquinas de perfil Th1/Th2/Treg, a la expresión de factores de transcripción Tbet/GATA3/FoxP3 ni a la detección de células $CD4^+CD25^+FoxP3^+$.

5. Las reacciones adversas en la fase de incremento de dosis ocurrieron en el 69% de los pacientes y en un tercio de las dosis administradas. La gran mayoría de las reacciones adversas (85%) fueron leves, por lo que el protocolo se puede considerar aceptablemente seguro.

6. Se pueden considerar factores de riesgo para presentar más de 2 reacciones adversas durante la fase de inducción de la inmunoterapia oral rápida con huevo: 1) una dosis umbral

de clara de huevo baja en la provocación oral doble ciego controlada con placebo basal; 2) una IgE sérica específica a huevo y clara ≥ 18 kU/L; 3) una IgE sérica específica a ovoalbúmina ≥ 15 kU/L; y 4) un ratio IgE/IgG₄ específica a clara y ovoalbúmina ≥ 11 .

7. Es necesario un control prolongado durante años de los pacientes sometidos a inmunoterapia oral con huevo, ya que aproximadamente el 15% de los pacientes suspendieron la toma de huevo con posterioridad al estudio por reacciones adversas o falta de cumplimiento del tratamiento.

The present report summarizes a controlled, randomized trial investigating the clinical efficacy and safety of an egg rush oral immunotherapy (ROIT) protocol in children with persistent IgE-mediated allergy, and the immunological modulation produced by this intervention for 5 months. It is compared to a population with similar characteristics that only performs egg avoidance diet during the same interval of 5 months. Intragroup immunological modulation at different times of treatment is also investigated by monitoring levels of skin prick tests (SPT), serum specific IgE and IgG₄ to egg and its protein fractions, specific IgE/IgG₄ ratio, in *vitro* cytokine production, genetic profile of T cell population, and FoxP3 cells detection. In addition, potential risk factors for developing adverse events (AE) during the treatment were evaluated.

The document follows the classic structure of a research work in the field of Allergology, presenting first the motivations and objectives that have led the doctoral student to develop a new treatment protocol responding to a clearly need for persistent egg allergy. Then, an in-depth study of the state of the art in this field is made, which underlies the basis of this study. The nucleus of the present research is given by the proposal of a ROIT protocol to treat persistent egg allergy in children, with a 5-day build-up phase (BP) starting at the highest tolerated single dose in the baseline double-blind, placebo-controlled food challenge (DBPCFC), and with analysis of the procedure at 5 months of maintenance phase (MP). Once the theoretical and methodological bases of the study have been introduced, the results obtained of efficacy and safety are presented, as well as immunological changes and risk factors that could be used as biomarkers of response to treatment.

BACKGROUND

Egg allergy is the second most frequent food allergy in the pediatric population worldwide, and most patients come to tolerate egg during childhood. However, recent studies have found a persistence of egg allergy in 42% of children in adolescence, suggesting the increase in this pathology in adulthood. Strict avoidance of egg proteins is the only treatment universally admitted in usual clinical practice. However, compliance with this diet is difficult because of the extensive use of egg in many foodstuffs, which significantly impairs both patients and their families' quality of life. Inadvertent egg contact is frequent and can trigger life-threatening reactions. Oral immunotherapy (OIT) is one of the most important advances in recent years in the treatment of persistent food allergy. It consists of a BP or dose increasing phase in which progressively increasing doses of the food are administered orally to the allergic patient until reaching the established target dose, which in many cases is the normal amount for his/her age. Then, the MP begins in which the patient takes a constant and periodic amount of the food. Egg OIT has been shown to be effective because it allows the patient to be able to eat the food, and it avoids risks of AE by inadvertent contact which increases the quality of life. It has been used successfully with preference in allergy to milk, egg, peanut and wheat. However, it is a time-consuming procedure since most published protocols involve a BP of several weeks or months (usually 16 weeks). In addition, the goal of some such protocols is to reach a lower maintenance dose rather than attaining a normal amount of diet. Currently, there are only 2 rush protocols of 12 and 5 days but their targeted

dose is one boiled egg that has a lower allergenicity than the raw egg. Besides, it is a procedure that usually is not risk-free as many patients present AEs (urticaria, abdominal pain, vomiting, respiratory distress...) requiring rescue treatment, so it is currently not an established protocol for routine clinical practice. At the moment, no definitive marker has been detected that can predict the good or bad tolerance of the treatment or if it is going to be successful or not.

OBJECTIVES

To assess the clinical efficacy and safety of a ROIT protocol with a targeted dose equivalent to a raw egg white (EW) compared to egg avoidance diet in pediatric patients with persistent IgE-mediated egg allergy to achieve desensitization status; to detect immunologic changes induced by this procedure in a 5-month period, and potential risk factors for failure or AEs development during the treatment.

METHODS

Thirty-three allergic children confirmed by DBPCFC were randomized to receive egg ROIT from the start of the study (ROIT1 group) or to continue with egg avoidance diet for 5 months (control group [CG]). Children from the ROIT1 group plus children from the CG who failed a second DBPCFC at 5 months and subsequently received egg ROIT and were re-followed up for 5 months conformed the ROIT2 group. The study time points were: time 0 [T0] (baseline); time 1 [T1] (15 days from the end of BP, in maintenance with egg at home); time 2 [T2] (1 month from T1, in maintenance with egg at home); and time 3 [T3] (3 months from T2, in maintenance with egg at home).

- *In vivo* procedures:

1) SPTs with commercial extracts to inhalants and whole egg, EW, ovalbumin (OVA), and ovomucoid (OVM) were performed.

2) DPBCFC and ROIT were performed the same week on an outpatient basis. Pasteurized and dehydrated EW powder (DEW) was used. The goal was to achieve a tolerance of 3600 mg of this product (corresponding to 43 mL of one medium-sized EW and 78% protein content, approximately 2808 mg of EW protein) at the end of BP. ROIT was scheduled for a consecutive 5-day BP. It was started at the highest tolerated single dose in the baseline DBPCFC. If after one hour the patient did not suffer AE or it was mild and self-limiting, the next dose(s) was(were) administered until the protocol was completed for each day of treatment, with a final surveillance of 2 hours. Cetirizine intake was indicated during BP and the first half-week of maintenance with 3600 mg of DEW at home. Subsequently, patients continued to eat one undercooked egg every 48 hours, as well as any other egg-containing foodstuffs.

- *In vitro* procedures:

1) Blood count was drawn to quantify eosinophils in peripheral blood.

2) Serum total and serum specific IgE levels to whole egg, EW, yolk, OVA, OVM and lysozyme, as well as serum specific IgG₄ to EW, OVA and OVM were evaluated using ImmunoCAP System. Specific IgE/IgG₄ ratio to EW, OVA and OVM was also calculated.

3) *In vitro* cytokines production specific to OVA [IFN- γ , TNF- α (Th1); IL-5, IL-13 (Th2); IL-10 (Treg)] test was performed in blood of patients using BDTM Cytometric Bead Array technique.

4) The genetic profile of T-cell population of patient [T-bet (Th1), GATA-3 (Th2) and FoxP3 (Treg) transcription factors] was analyzed by RNA extraction and qualitative real-time PCR analysis.

5) The percentage of CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ regulatory T cells was detected in polymorphonuclear cells of patient after OVA stimulation and flow cytometry analysis.

- Clinical follow-up and evolutionary survey:

1) During FM, the patient had to complete a schedule of dose administrations and of AE recording. AE cofactors and subjective factors with egg intake (adherence, taste and fear) were also evaluated.

2) A survey was conducted 27-32 months after finishing the study to assess the status of patients with respect to treatment.

RESULTS

A total of 17 (89.47%) of 19 children in initial active group and none in CG were desensitized 5 months after finishing the BP (P<0.001).

Thirty-one (96.87%) of 32 children in total group of treated patients completed the BP, and 30 (93.75%) of 32 maintained desensitization at 5 months.

Twenty-six (81.3%) of 32 patients completed BP in ≤ 5 days. AEs occurred in 68.8% of patients (50% had ≤ 2 AEs) and 31% of doses (85.35% mild, 54.84% gastrointestinal).

SPTs and specific IgE/IgG₄ ratio to all egg fractions evaluated significantly decreased throughout the treatment (P<0.001), whereas serum specific IgG₄ levels increased (P<0.001). OVA and OVM serum specific IgE levels also decreased throughout the ROIT (P<0.001).

Significant decrease in IL-13 level was detected only at the end of treatment (P<0.01). However, no immunological modulation was detected with respect to other Th1/Th2/Treg profile cytokines, expression of Tbet/GATA3/FoxP3 transcription factors or detection of CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ cells.

Regarding risk factors, a lower threshold dose in the baseline DBPCFC was associated (P=0.04) with greater probability of AEs during the ROIT. The best discriminative baseline values to predict the development of >2 AEs during BP were serum specific IgE ≥ 18 kU/L to whole egg and EW (P<0.0001) and ≥ 15 kU/L to OVA (P<0.0001), and specific IgE/IgG₄ ratio ≥ 11 to EW (P=0.001) and OVA (P=0.002).

After 27-32 months of study completion, 85.18% (23/27 evaluable patients) continued to eat egg with good tolerance, while 14.82% of children stopped its intake due to AEs or non-compliance. Ten (43.48%) of 23 children acknowledged that they disliked raw egg.

CONCLUSIONS

1. It has been demonstrated the efficacy of a short protocol of egg oral immunotherapy designed with a 5-day consecutive build-up phase, and setting the initial dose at the last tolerated single dose in the baseline double-blind, placebo-controlled food challenge.

2. Most children (94%) with persistent egg allergy who received rush oral immunotherapy with raw egg white completed build-up phase with a median of 3 days, and could eat egg for, at least, 5 months compared to no untreated child.

3. Egg rush oral immunotherapy induced a significant decrease in immunological parameters such as skin prick tests to egg and all its fractions, levels of serum specific IgE to ovalbumin and ovomucoid, and specific IgE/IgG₄ ratio to egg white, ovalbumin and ovomucoid. Besides, it induced a significative increase in serum specific IgG₄ to egg white, ovalbumin and ovomucoid.

4. Egg rush oral immunotherapy induced a significant decrease in *in vitro* production of ovalbumin specific IL-13 at the end of treatment. However, no immunological modulation was detected with respect to other Th1/Th2/Treg profile cytokines, expression of Tbet/GATA3/FoxP3 transcription factors or detection of CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ cells.

5. Adverse events occurred in 69% of patients and in one-third of the doses administered during build-up phase. The vast majority of adverse events (85%) were mild, so the protocol can be considered acceptably safe.

6. Risk factors for presenting more than 2 adverse events during build-up phase of rush oral egg immunotherapy may be considered: 1) a low egg white threshold dose in the baseline double-blind, placebo-controlled food challenge; 2) whole egg and egg white serum specific IgE ≥ 18 kU/L; 3) ovalbumin serum specific IgE ≥ 15 kU/L; and 4) egg white and ovalbumin specific IgE/IgG₄ ratio ≥ 11 .

7. Long-term control of patients undergoing egg oral immunotherapy is required for years, as approximately 15% of patients discontinued egg-taking after the study because of adverse events or non-compliance.





Organización del documento



2 Organización del documento

El presente documento se estructura de la siguiente forma:

1. **Introducción.** En este capítulo se presentan antecedentes relevantes relacionados con la alergia a alimentos, la alergia a huevo en particular, técnicas inmunológicas empleadas en Alergología y la inmunoterapia (IT) con alimentos.
2. **Justificación, hipótesis de trabajo, objetivos y aplicabilidad.** En este apartado se justifica la realización del presente estudio y se exponen la hipótesis de trabajo, los objetivos perseguidos y su presumible utilidad práctica.
3. **Métodos.** En este capítulo se detallan de forma pormenorizada la población seleccionada para llevar a cabo el presente trabajo de investigación, las variables a estudio, el material utilizado y los métodos aplicados.
4. **Resultados experimentales.** En este apartado se realiza un exhaustivo análisis descriptivo y de resultados obtenidos de todas las variables a estudio, tanto comparativo entre grupos (activo y control) como intragrupo en distintas fases del tratamiento.
5. **Discusión de resultados.** En este apartado se analizan desde un punto de vista crítico aspectos de interés sobre resultados obtenidos en comparación con datos recogidos en la bibliografía relacionada con el campo a estudio.
6. **Conclusiones.** En este capítulo se presentan las principales conclusiones obtenidas tras la realización del trabajo de investigación descrito en el presente documento.
7. **Bibliografía.** En este apartado se incluyen las referencias bibliográficas consultadas para el diseño del estudio y la elaboración de este documento, así como aquellas que completan los conceptos fundamentales presentados a lo largo del presente trabajo.
8. **Anexos.** En este capítulo se recoge el material accesorio empleado durante el trabajo de investigación (consentimientos informados, calendario de síntomas y hoja de tratamiento), así como el esquema del estudio y los protocolos de provocación oral (PO) e inmunoterapia oral rápida (ITOR) con huevo. Además, se resume la trayectoria investigadora del candidato, incluyendo cursos de doctorado, líneas de investigación ejercidas y publicaciones conseguidas.





Introducción



3 Introducción

3.1 Alergia a alimentos

3.1.1 *Concepto y clasificación*

Acorde a la definición realizada en el año 2010 por el Instituto Nacional de Alergia y Enfermedades infecciosas (NIAID) de EEUU, una reacción alérgica a un alimento es un efecto adverso en la salud provocado por una respuesta inmunológica específica que se reproduce tras exposición a un determinado alimento o aditivo [1]. Puede producirse por ingestión, contacto o inhalación y, en algunos casos, solo se necesita una mínima cantidad del alimento para inducir la reacción.

Desde hace mucho tiempo ha existido confusión en relación al concepto de alergia a alimentos, su clasificación y la terminología usada. En el año 1995, el Subcomité de Reacciones Adversas a Alimentos de la Academia Europea de Alergia e Inmunología Clínica (EAACI) [2] clasificó las reacciones adversas (RA) a alimentos (Fig. 1), según los mecanismos implicados, en tóxicas y no tóxicas. Las tóxicas son causadas por sustancias naturales del alimento o contaminantes del mismo; las no tóxicas dependen de la susceptibilidad individual a un alimento y se subdividen en inmunológicas y no inmunológicas. Aquellas producidas por un mecanismo inmunológico son las que se conocen como alergia alimentaria, siendo las más frecuentes y mejor estudiadas las mediadas por mecanismo IgE o de hipersensibilidad tipo I según la clasificación de Gell y Coombs [3].



Figura 1. Clasificación de reacciones adversas a alimentos [2].

En el año 2001, la Comisión de Nomenclatura de la EAACI propuso que cualquier RA a alimentos se defina como hipersensibilidad a alimentos [4]. En el año 2003, esta última nomenclatura fue refrendada por el Comité de Revisión de Nomenclaturas de la Organización Mundial de Alergia (WAO) [5]. En el año 2010, el NIAID de EEUU desarrolló unas guías que incluyen una definición de consenso para la alergia a alimentos (Fig. 2).

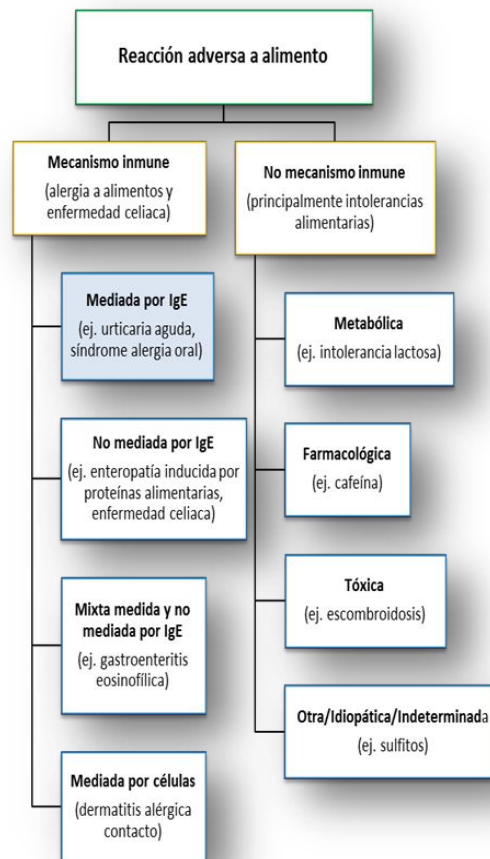


Figura 2. Tipos de reacciones adversas a alimentos [1].

3.1.2 *Epidemiología*

La prevalencia real de la alergia a alimentos se desconoce en la actualidad y varía dependiendo de la edad de la población estudiada, los hábitos alimenticios y los criterios utilizados para el diagnóstico [basados en síntomas o en resultados de prick tests (PT), IgE sérica específica y/o provocación oral (PO)]. Según el NIAID de EEUU, la prevalencia estimada por metaanálisis entre todos los grupos de edad es del 1-10% [6] siendo la real confirmada por PO del 8% en niños [7]. En Europa, la prevalencia autoinformada mediante cuestionarios según metaanálisis del programa Europrevall es del 12% en niños y del 13% en adultos, pero la real por PO sería del 6% en niños y del 3% en adultos [8]. Este mismo estudio recoge que la prevalencia autoinformada varía del 1.2% al 17% para la leche, del 0.2% al 7% para el huevo, del 0% al 2% para cacahuete y pescado, del 0% al 10% para marisco y del 3% al 35% para cualquier otro alimento [8]. Por su parte, la prevalencia puntual confirmada mediante PO es inferior al 1%, siendo más alta en niños que en adultos y en el noroeste de Europa, mientras que el sur tendría la menor prevalencia [9]. Según el trabajo europeo de Muraro y cols [10], la prevalencia puntual autoinformada fue aproximadamente 6 veces mayor que la comprobada, en general mayor en niños que en adultos. Si bien la prevalencia de la alergia primaria a alimentos parece permanecer estable durante el tiempo, la secundaria por reacciones cruzadas de alérgenos alimentarios con inhalantes estaría aumentando [10].

Finalmente, según el estudio Alergológica 2005 realizado en España [11], la frecuencia de alergia a alimentos fue del 7.4% a cualquier edad, lo que supone que en España dicha patología ocupa el quinto lugar de las estudiadas en los Servicios de Alergología, siendo la leche de vaca el alimento más prevalente en <2 años y el huevo en <5 años. Además, se está convirtiendo en un problema de salud pública pues la prevalencia se ha duplicado pasando del 3.6% al 7.4% comparando con el estudio Alergológica realizado en el año 1992 [12].

Aunque en teoría cualquier alimento de la dieta puede inducir una RA (hay más de 170 identificados), solo una minoría (los denominados “alérgenos mayoritarios alimentarios”: cacahuete, frutos secos, huevo, leche, pescados, crustáceos, trigo y soja) son los causantes de la mayoría de las reacciones [1]. La prevalencia de alergia a dichos alérgenos alimentarios en Europa se detalla en la Tabla 1. En España, según el estudio Alergológica 2005 [11], los alimentos más frecuentemente implicados son las frutas (33.3%) seguidas de frutos secos (26%), marisco (22%), huevo (16%), leche (13.9%) y pescado (9.8%). En concreto, rosáceas y crustáceos inducen el 23.6% y 18.7% de las RAs, respectivamente. Huevo (39%) y leche (32%) son los más frecuentes, especialmente en <7 años [13], seguidos de frutos secos, frutas, pescado y legumbres. En españoles adultos y niños >15 años, los alimentos más frecuentes son vegetales y marisco.

Tabla 1. Prevalencia de la alergia a alimentos mayoritarios en Europa: referida versus confirmada por provocación oral [9].

| Alimento | Prevalencia (%) | |
|---------------|-----------------|------------------|
| | Referida | Provocación oral |
| Leche de vaca | 2.3 | 0.3 |
| Huevo | 1.5 | 0.2 |
| Cacahuete | 1.7 | 0.2 |
| Frutos secos | 1.8 | 0.5 |
| Trigo | 0.7 | 0.1 |
| Soja | 1.5 | 0.3 |
| Pescado | 0.6 | 0.1 |
| Marisco | 0.5 | 0.1 |

No obstante, la prevalencia de alergia a un alimento sobre otros depende de las dietas de alimentación de cada población estudiada. Por ejemplo, el cacahuete es uno de los alimentos que más sensibilizaciones produce en EEUU, la soja en Japón, el sésamo en Israel y el pescado en Escandinavia. En España, las legumbres son la sexta causa más frecuente de alergia a alimentos en la población infantil [13].

3.1.3 Etiopatogenia

Aunque no está suficientemente claro, se han descrito diversos factores que pueden influir para el desarrollo de alergia a alimentos [14, 15] (Fig. 3):

- Dependientes del individuo:

* No se conoce bien el tipo de herencia pero existe una clara influencia de antecedentes familiares en primer grado (progenitores y hermanos). Se han asociado algunos

polimorfismos genéticos y en alérgicos a cacahuete se ha descrito una mutación del gen de la filagrina [16].

* Respecto a la edad, la prevalencia de esta enfermedad es mayor en preescolares afectando a un 7% [17] y, respecto al sexo, los niños tienen más riesgo [18] pero en la edad adulta predominan las mujeres afectas [11, 19].

* Indirectamente, factores maternos como edad elevada de la madre, cesárea y toma de multivitaminas o antiácidos también se han relacionado con el desarrollo de asma bronquial y alergia a alimentos en el niño.

- Dependientes del alimento:

* Edad de introducción: La lactancia materna tiene numerosos beneficios para la madre y el niño y, por lo tanto, se recomienda para todos los lactantes. Las Guías actuales de la EAACI recomiendan la introducción de la alimentación complementaria a los 4-6 meses de vida acorde a las prácticas locales y las necesidades del bebé, independientemente de la carga hereditaria de atopia [20], pero el momento de introducción de alimentos alergénicos sigue siendo una cuestión de controversia aunque en la actualidad parece que su retraso no ha contribuido a disminuir la frecuencia de alergia.

* Vía de exposición: Según la hipótesis de la “exposición alérgica doble”, la sensibilización a alimentos puede ocurrir a través de la piel (facilitada por la disfunción de la barrera epitelial en la dermatitis atópica) y por contactos repetidos con dosis bajas del alérgeno, mientras que la introducción precoz de alimentos alergénicos por vía oral (incluyendo embarazo y lactancia materna) induciría su tolerancia a nivel digestivo.

* Tipo de dieta: Se especula que son factores de riesgo la deficiencia de vitamina D (en relación con la exposición solar), el consumo reducido de ácidos grasos poliinsaturados omega 3, vegetales y frutas frescas, y la obesidad, mientras que los antioxidantes y suplementos vitamínicos disminuirían el riesgo [21]. No existen datos concluyentes en la actualidad sobre la administración de probióticos y la reducción de alergia a alimentos [22].

- Dependientes de la exposición ambiental:

* Aumento de la permeabilidad de la barrera intestinal: Puede existir un aumento transitorio de la permeabilidad de la barrera intestinal y facilitar así la sensibilización, como son las infecciones intestinales que pueden alterar la microbiota o el tratamiento con antiácidos, antibióticos o inmunosupresores.

* Teoría de la higiene: El control de infecciones en países desarrollados puede dar lugar a una alteración del equilibrio entre células epiteliales, dendríticas y Treg, lo que conlleva una desviación hacia respuesta Th2 que favorece el desarrollo de alergia.

* Otros: exposición a contaminación (partículas de gasóleo), tabaquismo y mascotas.

- Epigenética:

El periodo perinatal es crítico con respecto a la inducción de la alergia alimentaria [23]. La interacción continua entre el genoma (predisposición genética) y el medio ambiente (estilo

de vida y dieta) es importante para la patogénesis de enfermedades complejas. La epigenética regula los cambios de expresión génica que acompañan a la diferenciación celular y representan un mecanismo importante que sustenta la mayoría de los cambios mediados por el medio ambiente a la expresión génica.

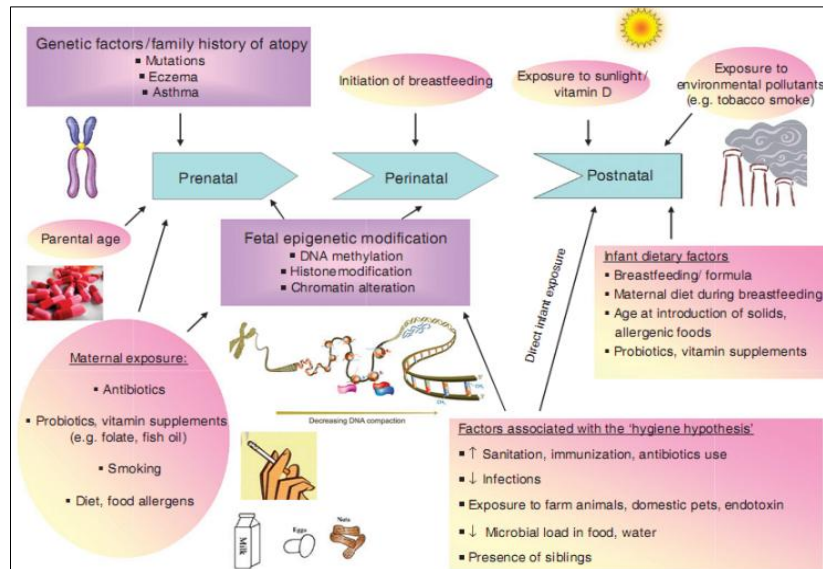


Figura 3. Potenciales factores genéticos, epigenéticos y ambientales para el aumento de alergia mediada por IgE a alimentos en fases prenatal, natal y postnatal (extraído de [14]).

3.1.4 Manifestaciones clínicas

Las manifestaciones clínicas de la alergia a alimentos pueden afectar a uno o varios sistemas (cutáneo, respiratorio, digestivo, cardiocirculatorio) con una intensidad leve a grave incluso pudiendo llegar a comprometer la vida:

- 1) Los síntomas más frecuentes son los cutáneos en forma de urticaria y angioedema locales o generalizados. En pacientes con dermatitis atópica, la presencia de alergia a alimentos se ha relacionado con formas más graves de la dermatitis.
- 2) Los síntomas digestivos como dolor abdominal, vómitos y/o diarrea suelen aparecer con frecuencia junto con otras manifestaciones clínicas (cutáneas, respiratorias).
- 3) Los síntomas respiratorios como rinitis, conjuntivitis y/o asma bronquial aparecen en un menor porcentaje de pacientes sobre todo como síntoma único y, generalmente aquellos que forman parte de una anafilaxia, se asocian con antecedentes de asma.
- 4) La anafilaxia incluye síntomas de ≥ 2 de los sistemas anteriores. Los síntomas intestinales son más frecuentes en la anafilaxia por alimentos y ocurren en el 41% de los episodios [24]. También son comunes las reacciones bifásicas o prolongadas [25]. La triptasa sérica se eleva con menos frecuencia y ello puede deberse a un mayor papel de los basófilos respecto a mastocitos. En el registro europeo online de anafilaxias (NORA), el 64.9% de las anafilaxias en <18 años y el 20.2% en adultos fueron por alergia a alimentos [26]. Según revisión sistemática y metaanálisis, es responsable de 1.8 millones de muertes/año [27] que acontecen generalmente con cacahuete y en pacientes con historia previa de asma bronquial.

La anafilaxia inducida por el ejercicio dependiente de alimentos ocurre en 1/3 de los pacientes. Los alimentos más frecuentes implicados son mariscos y trigo tanto en niños como en adultos [28].

La aparición de síntomas del sistema cardiocirculatorio (shock anafiláctico) es menos frecuente pero supone una urgencia médica que puede producir la muerte si no se administra adrenalina de forma precoz. Se presenta en individuos muy sensibles y en ocasiones con cantidades mínimas o enmascaradas del alimento, principalmente cacahuete, leche y huevo.

5) Un síndrome relativamente frecuente, sobre todo con alimentos de origen vegetal (melón, plátano, manzana, kiwi, tomate...), es el síndrome de alergia oral (SAO) que está considerado como una forma de urticaria de contacto. Sus manifestaciones clínicas están limitadas a la cavidad orofaríngea en forma de prurito y/o urticaria/angioedema peribucales de escasa duración. Es más común en adultos que en niños y usualmente ocurre con el alimento en crudo. Este síndrome generalmente es leve pero en ocasiones puede ser el síntoma inicial de una anafilaxia. Afecta a alrededor del 2% de la población de Reino Unido y al 50-90% de los afectos de alergia al polen de abedul [29].

3.1.5 *Diagnóstico*

El diagnóstico de la alergia mediada por IgE a alimentos se orienta mediante una historia clínica, se apoya en la demostración de sensibilización mediante estudios de detección de IgE específica al alimento *in vivo* (pruebas cutáneas) e *in vitro* (determinación de IgE sérica específica) y se confirma mediante prueba de PO [30].

- Historia clínica:

Como en el estudio de cualquier enfermedad, el primer paso diagnóstico es la realización de una historia clínica lo más detallada y completa posible que, además de recoger antecedentes personales y familiares de interés (atopia, comorbilidades, tratamiento actual...), esté dirigida a proporcionar el mayor número de datos posibles sobre la/s RAs con el/los alimento/s implicado/s. Se deberá recoger la vía de exposición (digestiva, respiratoria o cutánea), cantidad del alimento que provocó la reacción, su preparación (crudo o cocinado) e ingredientes en caso de ser un producto procesado, el tiempo de latencia entre la exposición al alimento y la aparición de la sintomatología, los síntomas desencadenados, el tratamiento recibido y lugar de asistencia clínica, el tiempo de resolución del cuadro clínico, el número de reacciones acontecidas con el mismo alimento (incluyendo tiempo transcurrido desde el último episodio) y lugar donde se produjeron, factores asociados (anti-inflamatorio no esteroideo (AINE), infección, ejercicio físico...), si existió tolerancia previa y/o posterior y reacciones cruzadas.

Toda historia clínica debe ir seguida de una exploración física completa y dirigida.

- Pruebas cutáneas:

Se realizan mediante PT el cual se considera positivo cuando se obtiene una pápula cuyo diámetro medio es 3 mm mayor que el control negativo. Se debe tener en cuenta que en niños <2 años, especialmente en <6 meses, la reactividad cutánea puede ser más baja y

pápulas <3 mm deben considerarse positivas si la historia clínica es compatible. Los extractos de alérgenos de alimentos vegetales no son estables por lo que es frecuente recurrir a la realización del prick-prick con el propio alimento (crudo o cocido) para evitar falsos negativos. Las pruebas cutáneas tienen un VPP muy alto por lo que, si son negativos, la alergia queda excluida pero el VPN es bajo por lo que en la mayoría de los casos se requieren otros tests para confirmar la reactividad clínica.

- IgE sérica específica:

Su determinación se debe realizar como apoyo cuando las pruebas cutáneas proporcionen resultados dudosos o cuando éstas no se puedan practicar (dermatitis atópica extensa, no suspensión de antihistamínicos orales...), pero en general su rentabilidad es menor pues un resultado negativo no excluye reactividad clínica. En la actualidad se emplea la técnica ImmunoCAP y es de utilidad tanto en el diagnóstico como en el seguimiento de la enfermedad. También se disponen de alérgenos recombinantes, moléculas producidas biotecnológicamente identificadas a partir de extractos alérgenos, con los que se realiza diagnóstico de sensibilización molecular, útiles para la evaluación de reactividades cruzadas y como marcadores de gravedad y pronóstico del paciente alérgico a un alimento.

La IgE sérica específica da idea de la evolución de la sensibilización y orienta sobre cuándo realizar la prueba de PO con probabilidad de tolerancia del alimento (Tabla 2).

Tabla 2. Valor predictivo positivo de la IgE sérica específica a alimentos [31].

| Alérgeno | IgE sérica específica (kU/L) | VPP (%) |
|----------------------------|------------------------------|---------|
| Huevo | 7 | 98 |
| Huevo en <2 años | 2 | 95 |
| Leche | 15 | 95 |
| Leche en <2 años | 5 | 95 |
| Cacahuete | 14 | 100 |
| Frutos secos | 15 | 95 |
| Pescado | 20 | 100 |
| Soja | 30 | 73 |
| Trigo | 26 | 74 |

- Activación de basófilos:

Este test *in vitro* se ha empleado para el diagnóstico de alergia a leche [32], huevo [33] y cacahuete [34]. Presenta mayor especificidad y VPN que el PT y la IgE sérica específica; sin embargo, dado que requiere de un laboratorio especializado y de más estudios clínicos, en la actualidad se considera una herramienta prometedora limitada a la investigación.

- Prueba de provocación o exposición oral:

Ya sea en forma abierta, simple ciego o doble ciego controlada con placebo, se debe llevar a cabo en casos de duda sobre la implicación del alimento como causante de los síntomas, siempre que no existan contraindicaciones para la utilización de adrenalina y no suponga un riesgo para la vida del paciente por referir un episodio reciente de anafilaxia, así como para confirmar la tolerancia del mismo [35]. Una historia de reacciones alérgicas

repetidas y convincentes con unas pruebas cutáneas y/o IgE sérica específica positivas para el alimento implicado sería suficiente para llegar al diagnóstico. Esta prueba debe realizarse en medio hospitalario por personal entrenado y el paciente debe haber suspendido la toma de antihistamínicos, corticoides y betabloqueantes [36]. Consiste en incrementar de forma progresiva la cantidad del alimento hasta que aparezcan síntomas objetivos o hasta llegar a la cantidad consumida habitualmente. Aunque la PODCCP se considera hasta el día de hoy como la prueba definitiva en el diagnóstico de alergia a alimentos y la única aceptada en investigación como diagnóstico definitivo, presenta varios inconvenientes para su realización en la práctica diaria: 1) alto coste sanitario; 2) administración de un elevado número de dosis; 3) posible modificación de las proteínas alergénicas si se utilizan alimentos modificados; 4) una PODCCP negativa debe ser confirmada por una PO abierta.

En la segunda edición del Tratado de Alergología de la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica (SEAIC) se propone el siguiente algoritmo diagnóstico de la alergia a alimentos (Fig. 4):

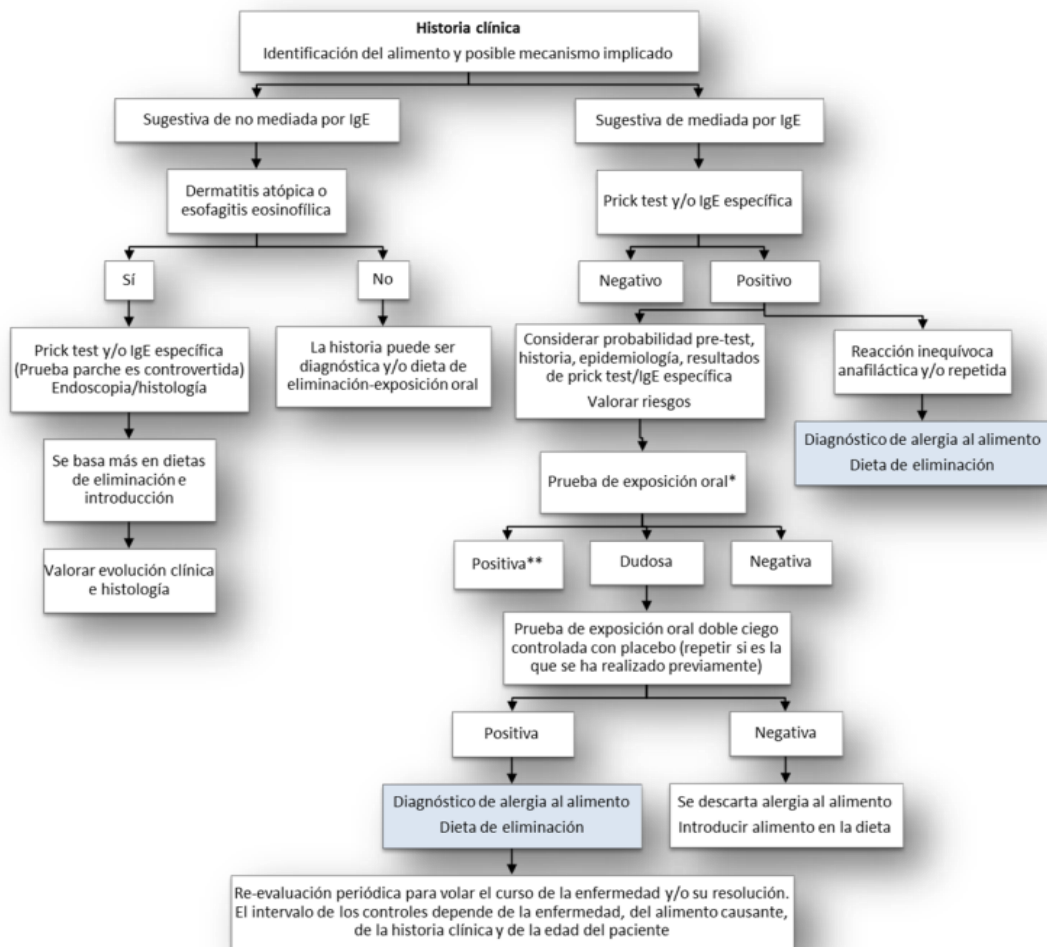


Figura 4. Algoritmo para el diagnóstico de la alergia a alimentos [37].

*Según indicaciones, requisitos y tipos que constan en el texto. **Si prick test e IgE específica negativas, valorar la calidad de las pruebas (extracto, técnica...).

3.1.6 *Historia natural*

La tolerancia depende del alimento y de la población pero la tendencia es a una mayor persistencia a lo largo de los años de estudio [38]. Se ha publicado una tasa del 21% de no tolerancia de leche en niños de 16 años [39] y del 32% para el huevo en el mismo grupo etario [40]. Aproximadamente el 50% de los alérgicos a soja superan dicha alergia a los 7 años de edad [41] y el 65% de los alérgicos a trigo son tolerantes a los 12 años [42]. La alergia a sésamo está aumentando en muchos países, produce reacciones inmediatas con mínimas cantidades del alimento y su persistencia es del 80% [43]. Respecto al cacahuete y los frutos secos, la tolerancia ocurre en el 20% y en menos del 10% de los jóvenes alérgicos, respectivamente, con riesgo de anafilaxia y recurrencia de hasta el 8% [44]. Por último, la alergia a pescado y marisco también se muestra persistente en adultos y de riesgo vital [45].

3.1.7 *Prevención y tratamiento*

La alergia a alimentos puede conllevar deficiencias nutricionales [46] y, a pesar de una evitación estricta, a RAs frecuentes y potencialmente de riesgo vital [47]. El manejo de esta enfermedad requiere, por tanto, educación sanitaria para niños y padres/cuidadores en la evitación y tratamiento de las RAs por contacto inadvertido directo e indirecto. Deben estar informados del potencial de exposición accidental a alimentos por contaminación tanto en sólidos como por vapor de cocción e incluso en fármacos y vacunas. Es esencial la lectura del etiquetado de ingredientes pues la legislación ha sido promulgada para poder identificar la presencia de los “8 alérgenos alimentarios mayoritarios” (cacahuete, frutos secos, huevo, leche, pescados, crustáceos, trigo y soja) incluyendo las trazas. Además, en caso de alergia a varios grupos de alimentos, para asegurar que la dieta de eliminación no se traduce en una deficiencia nutricional, un dietista debe estar implicado en el cuidado del paciente.

Para el tratamiento de los síntomas agudos contamos con medidas de soporte vital, antihistamínicos y corticoides vía oral o parenteral y adrenalina autoinyectable (el adiestramiento de esta última debe realizarse en aquellos pacientes con historia previa o riesgo de anafilaxia).

En cuanto al tratamiento general de la alergia a alimentos, tal y como recoge el grupo de Nowak-Węgrzyn y cols [48], en la actualidad existen diversas terapias alérgeno-específicas y no específicas en fase de estudios clínicos y pre-clínicos (Fig. 5). En caso de alergia persistente destacan los protocolos de desensibilización o inmunoterapia oral (ITO), que consisten en la administración de cantidades progresivamente crecientes del alimento hasta alcanzar la máxima dosis tolerada o la cantidad de consumo habitual. El consenso actual tras metaanálisis es que la ITO no se ha demostrado aún como un tratamiento efectivo y seguro [49, 50] pues, aunque tras la realización de estos protocolos el alcance de la tolerancia permite al individuo llevar una vida normal y de que se han observado modificaciones de diversos parámetros inmunológicos, es una intervención terapéutica en fase de investigación y no se considera en la práctica médica habitual por desarrollo de RAs durante la misma (apartado 3.3).

Otras estrategias empleadas para tratar la alergia a alimentos (Fig. 5) son antagonistas H1 y H2 empleados frecuentemente con aparente beneficio aunque no ha sido estudiado

formalmente, ketotifeno [51], antagonistas de receptores de leucotrienos [52], probióticos [53], IFN-gamma [54], hierbas chinas [55], promotores adyuvantes de respuesta Th1 [56] y anticuerpos monoclonales contra vías asociadas a la inflamación mediada por Th2 [57].

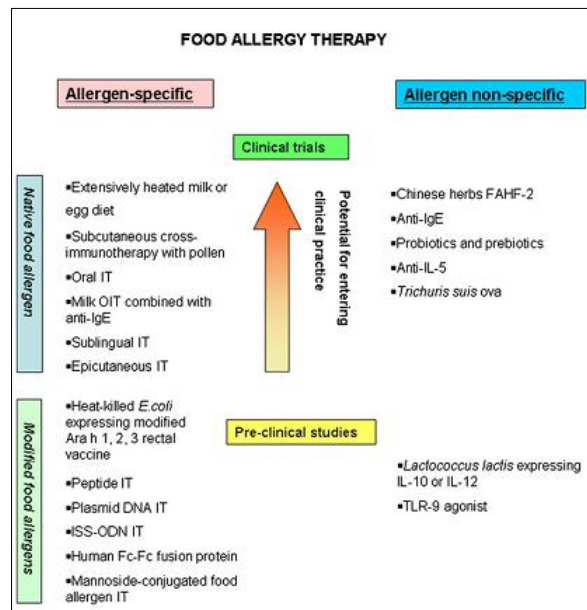


Figura 5. Líneas de terapia en la alergia a alimentos (extraído de [48]).

3.1.8 *Calidad de vida en alergia a alimentos*

La alergia a alimentos tiene un profundo impacto psicosocial en niños, adolescentes y sus familias [58]. La constante vigilancia para evitar los alérgenos y la gestión diaria de los efectos de la alergia influyen en actividades familiares y eventos sociales. También parece tener un considerable efecto perjudicial sobre la calidad de vida emocional, escolar y el funcionamiento físico. Las mujeres, los individuos con un mayor número de alergias alimentarias o un mayor número de RAs previas y aquellos con enfermedades alérgicas coexistentes comunican una calidad de vida más pobre, mientras que los adolescentes están claramente en mayor riesgo de presentar RAs.

Hasta la fecha, la interpretación y comparativa entre estudios que investigan los efectos psicológicos de la alergia a alimentos en niños se ha visto limitada por la falta de herramientas de estudio, el cuestionamiento de los padres en lugar de a los niños y el pobre fenotipado del trastorno alérgico. Es por ello que en el año 2009 se desarrolló y validó en holandés un cuestionario para la calidad de vida en alergia a alimentos en niños, adolescentes y adultos [59], pero aún no está validado en España. En concreto respecto a la ITO con alimentos, los cuidadores han comunicado una mejora en la calidad de vida en niños sometidos a ITO con múltiples alérgenos con/sin Omalizumab [60], así como en la ITO con cacahuete en niños y adolescentes [61]. Recientemente Vázquez-Ortiz y cols [62] han realizado un estudio que compara la calidad de vida según niños y padres antes de la ITO y 12 meses después, observándose que los padres manifestaban una mínima mejoría en sus hijos tras la ITO pero, por el contrario, los niños relataban una mayor mejoría principalmente en el apartado de restricción dietética.

3.2 *Huevo*

3.2.1 *Características y consumo*

Los huevos de aves, entre ellos el de gallina (*Gallus domesticus*) que es el consumido preferentemente en la alimentación humana en todo el mundo desde la antigüedad, constituyen una fuente importante de proteínas de alto valor plástico y de vitaminas con bajo coste económico respecto a otros alimentos de contenido proteico similar. Su gran consumo y la capacidad alergénica de sus proteínas hacen que el huevo sea una de las causas más frecuentes de alergia a alimentos en la infancia.

El huevo de gallina es un ingrediente empleado en comidas de muchas culturas incluyendo un amplio rango de productos alimenticios manufacturados (ovoproductos). Los ovoproductos más comunes disponibles en el mercado son:

- * Huevo entero pasteurizado: obtenido del huevo sin cáscara y sometido a pasteurización.
- * Clara líquida pasteurizada: obtenida del huevo fresco sin cáscara al que se le ha retirado la yema y se le ha sometido a pasteurización.
- * Yema líquida pasteurizada: obtenida del huevo fresco sin cáscara al que se le ha retirado la clara y se le ha sometido a pasteurización.
- * Huevo entero cocido: huevo que se ha cocido en agua con su cáscara.
- * Huevo deshidratado: obtenido del huevo sin cáscara, pasteurizado y al que se le ha eliminado el agua de su composición.
- * Clara deshidratada: obtenida de la clara de huevo pasteurizada una vez eliminado el agua.
- * Yema deshidratada: obtenida de la yema de huevo pasteurizada y a la que se le ha eliminado parcial o totalmente el agua.

El código de marcado oficial para la venta de huevos se ilustra en la Fig. 6.

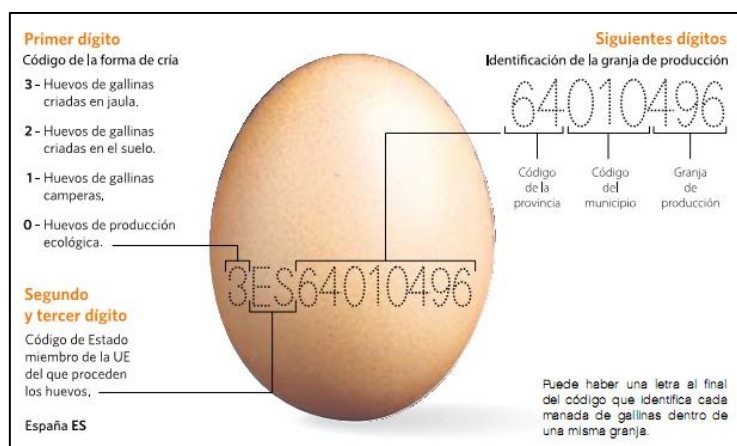


Figura 6. Código de marcado en el huevo¹.

¹ Extraído de *El gran libro del huevo*. <http://www.huevo.org.es/>

3.2.2 Alérgenos y naturaleza bioquímica

El peso medio de un huevo de gallina es de unos 60-70 gramos, de los cuales la clara representa aproximadamente el 60% y la yema el 30%, correspondiendo el 10% restante a la cáscara y las membranas (Fig. 7).

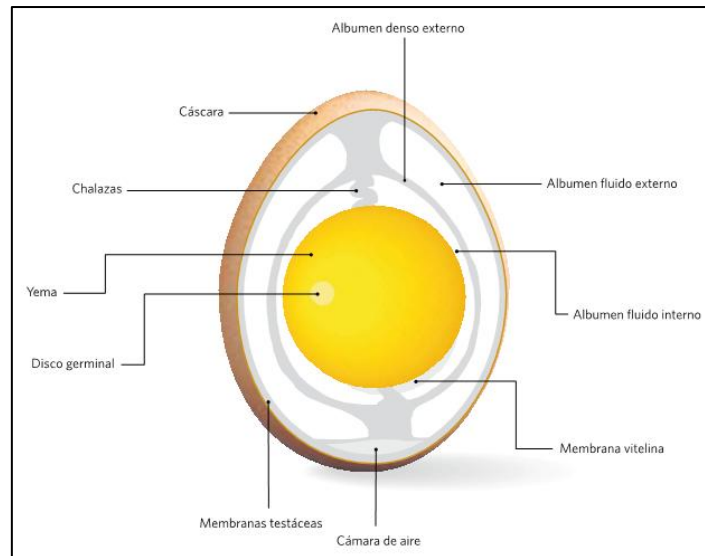


Figura 7. Esquema de un huevo².

Se han determinado por inmunoelectroforesis cruzada 24 proteínas diferentes en el huevo [63, 64, 65]. Tanto la clara como la yema contienen proteínas que pueden provocar sensibilización alérgica, pero son las de la clara las que con mayor frecuencia producen patología (Tabla 3).

Tabla 3. Proteínas de la clara de huevo.

| Proteína | Total proteico de clara (%) | Peso molecular (kDa) | Número aminoácidos | Labilidad (calor y enzimas digestivas) | Actividad alérgica | Funciones | Usos |
|--|-----------------------------|----------------------|--------------------|--|--------------------|--|----------------|
| Ovoalbúmina (Gal d 2) | 54 | 45 | 385 | Lábil | ++ | Proteína de reserva (familia serpinas) | Espumante |
| Ovotranferrina o Conalbúmina (Gal d 3) | 12 | 76.6 | 686 | Lábil | + | Transporte de hierro | Antibacteriano |
| Ovomucoide (Gal d 1) | 11 | 28 | 186 | Alta resistencia | +++ | Inhibición de serín proteasas | |
| Lisozima (Gal d 4) | 3.5 | 14.3 | 129 | Lábil | ++ | Glicosil hidrolasa | Antibacteriano |
| Ovomucina (fracciones soluble e insoluble) | 1.5 | | | | | | Antitumoral |
| Otras: | 18 | | | | | | |
| Avidina | | | | | | | |
| Ovoinhibidor | | | | | | | |
| Flavoproteínas | | | | | | | |
| Catalasa | | | | | | | |

² Extraído de *El gran libro del huevo*. <http://www.huevo.org.es/>

La ovoalbúmina (OVA) y el ovomucoide (OVM) están descritos como los alérgenos más relevantes de la clara. Aunque la OVA es la más abundante, el OVM es la fracción proteica inmunodominante en humanos [66] pues es más resistente al calor y a la acción enzimática digestiva que la OVA y, además, se relaciona con la persistencia de la clínica y la ausencia de tolerancia al huevo cocido [67, 68]. Los niños con alergia persistente a huevo desarrollan IgE sérica específica frente a más epítomos lineales y conformacionales de OVA y OVM que los que tienen una alergia transitoria al mismo. Mediante inmunoensayo de microarrays de péptidos de OVM en pacientes alérgicos a huevos se concluyó que la IgE del 34% de los pacientes no reconocía ningún epítomo lineal [69]. También se ha observado que la IgE sérica específica de los niños con alergia persistente reconocen 4 secuencias epitópicas principales del OVM mientras que aquellos que tienen alergia transitoria no reconocen ninguna; por tanto, la presencia de IgE sérica específica frente a dichos epítomos secuenciales del OVM podría emplearse como marcador de persistencia de la alergia a huevo [70].

La conalbúmina y la lisozima son más termolábiles, por lo que son antígenos más débiles pero no dejan de ser importantes [71]. Por ejemplo, la lisozima se puede encontrar como alérgeno oculto en otros alimentos (quesos, vinos...) y también en algunos medicamentos [72, 73]. Recientemente se han comunicado 2 casos [74, 75] de alergia a Lizipaina® (contiene lisozima 5 mg, bacitracina 3 mg, papaína 2 mg) en pacientes desensibilizados a huevo crudo y cocinado, respectivamente. En el primer caso publicado por nuestro grupo de investigación, dado que el paciente ya no presentaba alergia a lisozima tras someterse a la ITOR con clara cruda, se hipotiza que la administración combinada de lisozima con enzimas proteolíticas como papaína puede generar reacciones alérgicas en pacientes sensibilizados. El segundo grupo comenta que los niveles de lisozima en el huevo pasteurizado en polvo (5 veces menor que en la clara de huevo cruda) no fueron suficientes para inducir una respuesta alérgica y, a la inversa, que las proteínas se desnaturalizaron después de la cocción y la alergenidad de la lisozima podría haberse modificado, lo que podría explicar que el paciente permaneciera asintomático durante la ITO con huevo cocinado pero no con el pasteurizado. Menos común, la ovotransferrina podría ocasionar RAs en pacientes alérgicos a huevo que reciban terapia de hierro oral con productos basados en esta proteína.

En la yema hay 3 fracciones proteicas principales que unen IgE [63, 65, 76] (Tabla 4).

Tabla 4. Proteínas de la yema de huevo.

| Proteína | Peso molecular (kDa) | Número aminoácidos | Labilidad | Funciones | Usos |
|--|----------------------|--------------------|---------------------|--|--|
| Gránulos | | | | | |
| Livetinas: | | | | | |
| α-livetina o albúmina sérica de pollo (Gal d 5) | 70 | 52 | Termolábil (a 90°C) | Regulación de presión osmótica | |
| Lipoproteínas de baja densidad: | | | | | |
| Apovitelina I | Bajo | | | Proteínas de almacenamiento y transportadoras de lípidos | Emulsificantes |
| Apovitelina VI | Alto | | | | |
| Fosvitina | | | | | |
| Proteína YGP42 (Gal d 6) | | | Termorresistente | | Antibacteriano, antioxidante y estabilizante de emulsiones |

Las apovitelinas podrían considerarse como antígenos mayoritarios aunque las livetinas desempeñan un papel importante en los síndromes de alergia a plumas asociados a alergia a la yema de huevo. La α -livetina se corresponde con la albúmina sérica de pollo (CSA) y está presente en plumas, carne y huevo de gallina, lo que explica el **síndrome ave-huevo** [77, 78, 79, 80], que consiste en que el paciente experimenta síntomas respiratorios al inhalar partículas de plumas de aves y posteriormente aparecen de síntomas digestivos, cutáneos y respiratorios al ingerir yema de huevo o carne de pollo. Quirce y cols demostraron la presencia de partículas aerotransportadas de albúmina sérica de ave en el ambiente doméstico de los pacientes. Dado que existe reactividad cruzada entre proteínas séricas y huevos de diversas especies de aves [81, 82], explicaría que en el síndrome ave-huevo la sensibilización inicial pueda producirse por aeroalérgenos procedentes de otras aves (como loros, canarios y periquitos). Además, en sujetos alérgicos a la clara de huevo a menudo se observa sensibilización en pruebas cutáneas a carne de pollo con buena tolerancia a su ingestión, ya que la reactividad cruzada con relevancia clínica entre el huevo y la carne de pollo es <5% [83, 84]. Este síndrome es una entidad rara en niños pues suele ser a la inversa y, tras sensibilizarse a las proteínas de la yema, pueden presentar síntomas respiratorios al inhalar proteínas de plumas (**síndrome huevo-ave**) [85, 86].

3.2.3 *Composición*

La Sociedad Española de Nutrición Comunitaria (SENC) indica en sus Guías Alimentarias que «para un niño, persona de tamaño pequeño-mediano o inactiva sería conveniente un consumo de 3-4 huevos por semana, mientras que una persona corpulenta o físicamente activa podría consumir hasta 7 huevos por semana» (Fig. 8).

La Asociación Española de Pediatría recomienda introducir yema cocida en la dieta a partir de los 10 meses de vida y la clara cocida al año de edad.

La composición y los nutrientes del huevo se recogen en las Tablas 5 y 6, respectivamente. La grasa del huevo se encuentra únicamente en la yema. Es uno de los alimentos de origen animal con menos grasas saturadas y en el que la relación entre ácidos grasos insaturados y saturados es considerada nutricionalmente recomendable. Además, no contiene grasas consideradas de riesgo denominadas «trans». Es destacable la riqueza en ácido oleico que reduce el riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares y hepáticas. Investigaciones apuntan que la ingesta de un huevo al día no influye en los niveles de colesterol. El huevo es la principal fuente de fosfolípidos y contribuye a satisfacer las necesidades en ácido linoleico y linolénico, ácidos esenciales que el organismo no puede sintetizar. También es destacable su acción antioxidante que protege de procesos degenerativos pues contiene vitaminas (A, B1, B2, B6, B12, ácido fólico C, D3, E, K), minerales (fósforo, selenio, hierro, calcio, magnesio, yodo, zinc) y carotenoides (luteína, zeaxantina).



Figura 8. Pirámide de la alimentación saludable³.

Tabla 5. Composición del huevo (por cada 100 gramos)⁴.

| Parte del huevo | Proteínas | Lípidos | Agua | Minerales |
|-----------------|-----------|---------|------|-----------|
| Clara | 11.8 | 0.2 | 88 | 0.8 |
| Yema | 17.5 | 32.5 | 48 | 2 |
| Cáscara | 3 | | 1 | 96 |

Tabla 6. Base de datos de nutrientes del huevo⁵.

| | |
|-------------------------------|---------------|
| Carbohidratos | 0.0 g |
| Grasas | 10.6 g |
| Proteínas | 12.6 g |
| Agua | 75 g |
| Retinol (vitamina A) | 140 µg (16%) |
| Tiamina (vitamina B1) | 0.66 mg (51%) |
| Riboflavina (vitamina B2) | 0.5 mg (33%) |
| Ác. Pantoténico (vitamina B5) | 1.4 mg (28%) |
| Ác. Fólico (vitamina B9) | 44 µg (11%) |
| Calcio | 50 mg (5%) |
| Hierro | 1.2 mg (10%) |
| Magnesio | 10 mg (3%) |
| Fósforo | 172 mg (25%) |
| Potasio | 126 mg (3%) |
| Zinc | 1.0 mg (10%) |
| Colina | 225 mg |
| Colesterol | 424 mg |

³ Extraído de *El gran libro del huevo*. <http://www.nutricioncomunitaria.org/>

⁴ Extraído de [https://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Huevo_\(alimento\)&oldid=96107714](https://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Huevo_(alimento)&oldid=96107714)

⁵ Extraído de <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list>

3.2.4 *Alergia a huevo*

3.2.4.1 **Epidemiología**

El huevo se introduce en la dieta en nuestro medio alrededor de los 12 meses de vida, por lo que el inicio de la clínica suele coincidir aproximadamente con esa edad y es la sensibilización alimentaria más común al año de vida [87]. Acorde a datos bibliográficos, la incidencia de alergia sintomática a huevo es del 1.6% en el primer año de vida y la acumulada es del 2.4-2.6% en los 2 primeros años [88, 89]. Según el Estudio Alergológica 2005 realizado en España [11], alergia a alimentos fue diagnosticada en el 7.4% de los pacientes, siendo el 16% de los casos alergia a huevo, lo que constituye la cuarta causa más frecuente de alergia a alimentos en la población general y la principal en <5 años. En aquellos sujetos <5 años, la alergia a huevo resultó en el 78.9% de los casos de la alergia a alimentos y el principal sensibilizante junto con la leche de vaca principalmente en <2 años, mientras que la frecuencia de alergia a huevo en <14 años fue del 39% [13]. Destacar que la prevalencia de sensibilización a huevo es mayor en niños alérgicos a leche de vaca (PO positiva en el 36.5% de los casos) [90] y en aquellos con dermatitis atópica (confirmada en el 27-67.3%) [91, 92]. Según el estudio multicéntrico ya comentado realizado en el año 2007 [8], la prevalencia en población general de pacientes alérgicos a huevo fue del 0-1.7% cuando se realizó PO.

3.2.4.2 **Etiopatogenia y factores de riesgo**

En el lactante se ha demostrado la posibilidad de desarrollar sensibilización a huevo antes de que éste sea introducido en la dieta [93], bien mediante vía intrauterina, por contactos inadvertidos (inhalatoria o cutánea) o por exposición a proteínas de huevo a través de la lactancia materna, por lo que en estos casos pueden aparecer síntomas desde la primera ingestión [92].

Los principales factores de riesgo para desarrollar alergia a huevo son la carga atópica familiar, la alergia previa a leche de vaca y la dermatitis atópica. El desarrollo de eczema atópico antes de los 6 meses de vida y severo en el primer año se asocian con la aparición de alergia a huevo, leche y cacahuete [94]. Otro factor influyente, según un estudio realizado por Koplin y cols [95], es la edad de introducción del huevo en la dieta pues la ingesta de huevo cocido a los 4-6 meses puede reducir el riesgo de alergia.

3.2.4.3 **Aspectos clínicos**

El diagnóstico se basa en la sospecha clínica y se confirma o descarta mediante la realización de estudio alergológico, que incluye pruebas cutáneas, determinación de IgE sérica específica y, en los casos que fuera necesario, PO controlada.

3.2.4.3.1 *Síntomas*

Para el diagnóstico clínico es esencial elaborar una anamnesis detallada en la que se debe recoger la edad de introducción del huevo (yema y clara por separado y huevo completo), la edad de la primera RA especificando si era la primera exposición aparente, la cantidad y forma de preparación culinaria del huevo, el tiempo de latencia entre la toma del alimento y la aparición de la clínica, los síntomas presentados, tratamiento y tiempo

requeridos para su resolución, la reaparición de RA si hubiera acontecido, la fecha de la última RA y la tolerancia o no de diferentes presentaciones de cocinado del huevo. Todo ello orientará sobre el tipo de RA sufrida y la gravedad del cuadro.

Los síntomas típicos provocados tras ingestión o contacto con huevo en individuos alérgicos son fundamentalmente cutáneos. Según distintas series, hasta el 90% de las reacciones alérgicas a huevo afectan a la piel, hasta un 60% desarrollan síntomas digestivos siendo el vómito el síntoma dominante, hasta un 40% síntomas respiratorios de vías altas y/o bajas y la anafilaxia está presente en el 3% [1, 96, 97]. En un estudio retrospectivo que consideró todos los motivos de estudio de alergia a huevo [98], la sintomatología inicial fue cutánea en el 39.6% (23.6% generalizada y 16% local), digestiva en el 7.5% y se produjo afectación simultánea de ≥ 2 órganos en el 16% de los casos.

La sintomatología suele aparecer con la toma de huevo completo aunque no es rara la tolerancia previa de la yema, que suele introducirse antes y por separado de la clara y casi siempre cocida. El tiempo de latencia entre la ingestión y la aparición de la clínica suele ser < 60 min (< 30 min en el 83% de los casos) [99]. Puede desencadenarse, además de por ingestión, por contacto directo o indirecto (a través de la piel o de partículas volátiles) con el alimento, o por su presencia en otros alimentos como alérgeno oculto.

Ante un cuadro clínico sugerente de etiología alérgica en un lactante, una vez descartados los otros alimentos que esté consumiendo y aunque aparentemente no haya tomado nunca huevo, debe realizarse un estudio con este alimento ya que no es excepcional un debut a través de trazas u otros alimentos que, tras su manipulación, pueden arrastrar pequeñas cantidades de huevo. No obstante, el diagnóstico de alergia a leche y huevo en la infancia debe ser revisado periódicamente ya que la alergia suele ser transitoria.

Caso especial debe considerarse la dermatitis atópica [100, 101], ya que los pacientes presentan con frecuencia pruebas cutáneas e IgE sérica específica positivas a huevo pero los periodos de latencia están mal definidos y la sensibilidad de la historia clínica es baja, por lo que los resultados reflejan solo sensibilización y no alergia. Si el huevo ya ha sido introducido en la dieta y el paciente está sensibilizado puede necesitarse un test de evitación del mismo durante 2-4 semanas y su reintroducción puede provocar exacerbación o cronificación de la dermatitis o síntomas inmediatos [94, 102].

3.2.4.3.2 Diagnóstico

Los antígenos empleados en los PTs pueden ser extractos comerciales de huevo completo, clara y yema por separado, de los alérgenos más relevantes como OVA u OVM o de otros alérgenos sospechosos como lisozima y α -livetina. Los PTs tienen una elevada sensibilidad (73-100%) y una menor especificidad (46-71%), el VPP es del 61-92% y el VPN del 86-94%, por lo que su negatividad prácticamente excluye la alergia a huevo [103, 104]. Además, existe una correlación entre el tamaño de la pápula del PT para huevo y la probabilidad de alergia según resultados de PO [105].

Sin embargo, la IgE sérica específica no distingue entre sensibilización y verdadera alergia. Se está investigando en la búsqueda de un punto de corte para la IgE sérica específica

que permita orientar sobre el desarrollo de tolerancia y realizar pruebas de PO controlada minimizando los riesgos. Según Boyano y cols [99], una IgE sérica específica ≥ 0.35 kU/L para la clara en los primeros 24 meses de vida predice reactividad clínica en el 90% de los casos. En el año 2004 Sampson [31] estimó un VPP del 98% para una IgE a huevo de 7 kU/L y del 95% si el valor era de 2 kU/L en niños < 2 años (Tabla 2). En España, Montesinos y cols [106] propusieron unos niveles de IgE a clara para evitar la realización de PO con huevo en pacientes alérgicos (Tabla 7). Para Shek y cols [107], una reducción del 50% del nivel de IgE sérica específica a huevo durante un periodo de 12 meses se asocia con una posibilidad del 52% de tolerarlo en PO.

Tabla 7. Niveles de IgE sérica específica a clara predictores de alergia persistente a huevo [106].

| Edad (años) | IgE sérica específica (kU/L) | VPP (%) |
|-------------|------------------------------|---------|
| < 2 | > 0.35 | 92 |
| 2-3 | 1.52 | 100 |
| 3-4 | 1.35 | 100 |
| 4-5 | 2.59 | 100 |
| > 5 | 1.84 | 100 |

Vazquez-Ortiz y cols [108] han comunicado que el ratio IgE específica a OVA/IgE total en solitario es una mejor herramienta diagnóstica que el PT o la IgE sérica específica a clara, OVA u OVM para predecir el desarrollo de tolerancia a huevo crudo en niños de edad escolar y adolescentes, proponiendo un valor de dicho ratio de decisión negativa (0.0019) y positiva (0.0023) para la PO. Por su parte, Diéguez y cols [109] han propuesto que no se debe realizar PO con huevo si el sujeto presenta PT > 7 mm o IgE sérica específica a clara > 1.3 kU/L porque existe un 90% de probabilidad de persistir la alergia, mientras que Sánchez-García y cols [110] han establecido otros marcadores predictores de alergia persistente a huevo tanto crudo como calentado en base a niveles de PT e IgE sérica específica (Tabla 8).

Tabla 8. Marcadores predictores de alergia persistente a huevo [110].

| Edad | Resultados de estudios con clara de huevo como predictores de provocación oral positiva | | |
|---------------|---|-----------------|-------------------------|
| | Alergia huevo crudo | | Alergia huevo calentado |
| | Prick test | IgE específica | Prick test |
| < 2 años | ≥ 4 mm | ≥ 1.7 kU/L | ≥ 5 mm |
| ≥ 2 años | ≥ 10 mm | ≥ 7.3 kU/L | ≥ 11 mm |

La PO, en base al documento de posicionamiento de la EAACI [36], es la prueba definitiva para el diagnóstico etiológico de la alergia a huevo y para confirmar el desarrollo de tolerancia (intervalo desde el último episodio clínico de no menos de 6 meses en el segundo año de vida y no menos de 1 año en niños mayores para realizar la PO). En sujetos sensibilizados que no hayan introducido huevo en la dieta, también debe realizarse una PO antes de introducirlo [111].

Puede emplearse la PO abierta en niños pequeños y con clínica objetiva y la simple o doble ciego en adultos o con clínica dudosa o subjetiva. Moneret-Vautrin y cols [112] han realizado un estudio para determinar los umbrales en alérgicos a alimentos estableciendo que una dosis reactiva (LOAEL: “lowest observed adverse effect level”) de menos de 65 mg de huevo caracteriza al 16% de los pacientes alérgicos a huevo.

La anafilaxia grave no se considera contraindicación absoluta para realizar la PO mientras que un episodio reciente (3-6 meses) de historia clínica inequívoca con PTs e IgE sérica específica positivos podría considerarse como una contraindicación para la misma. No sería necesaria en niños <2 años con síntomas de tipo cutáneo, digestivo o respiratorio que hayan ocurrido en el último año, en las 2 primeras horas tras la toma de huevo y con positividad de PTs e IgE (Fig. 9 y 10). Cuando se evalúan síntomas crónicos, previa a la PO sería recomendable realizar dieta de exclusión de huevo durante 2 semanas para comprobar la desaparición o al menos la mejoría de la sintomatología (Fig. 11 y 12).

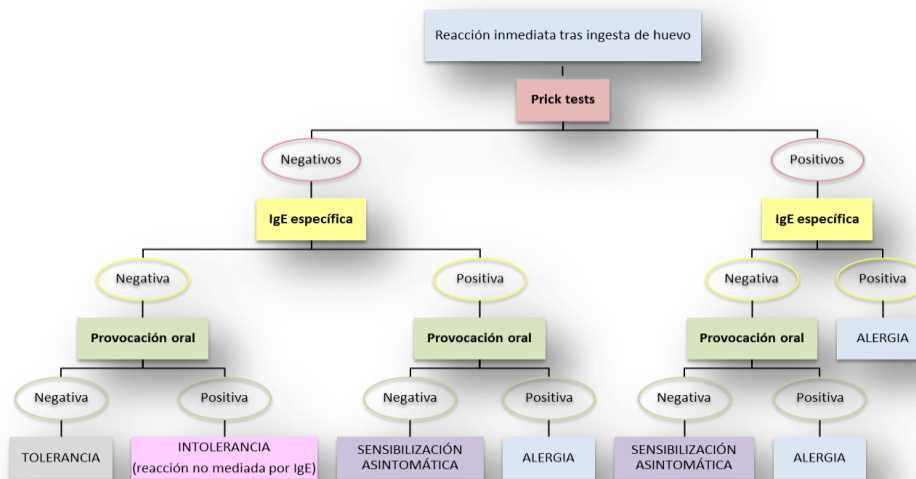


Figura 9. Algoritmo diagnóstico de la alergia a huevo en niños con clínica de tipo inmediato [113].

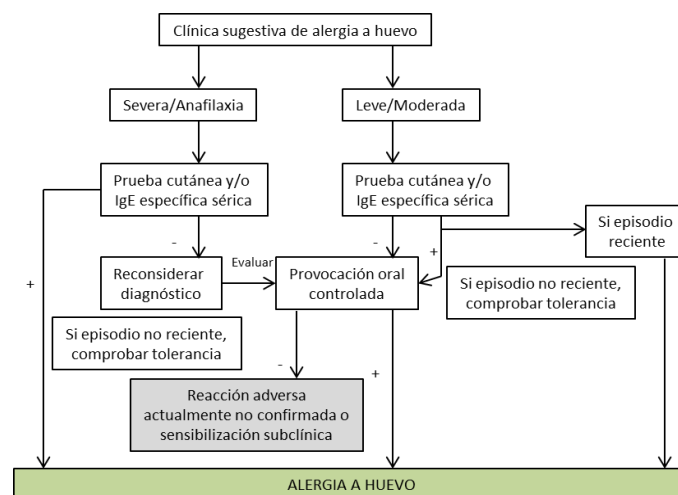


Figura 10. Algoritmo diagnóstico de la alergia a huevo: síntomas agudos [65].

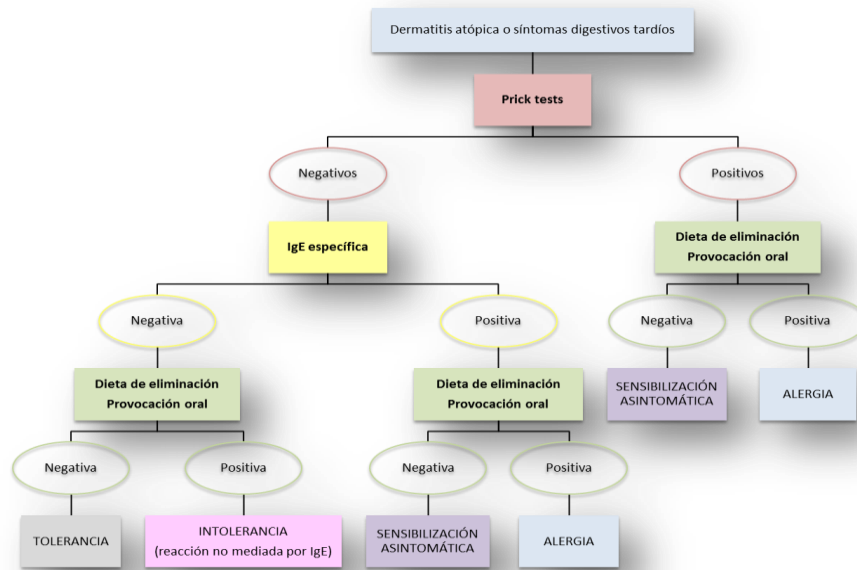


Figura 11. Algoritmo diagnóstico de la alergia a huevo en niños con clínica de dermatitis atópica o síntomas gastrointestinales tardíos (excluido enterocolitis por huevo) [113].

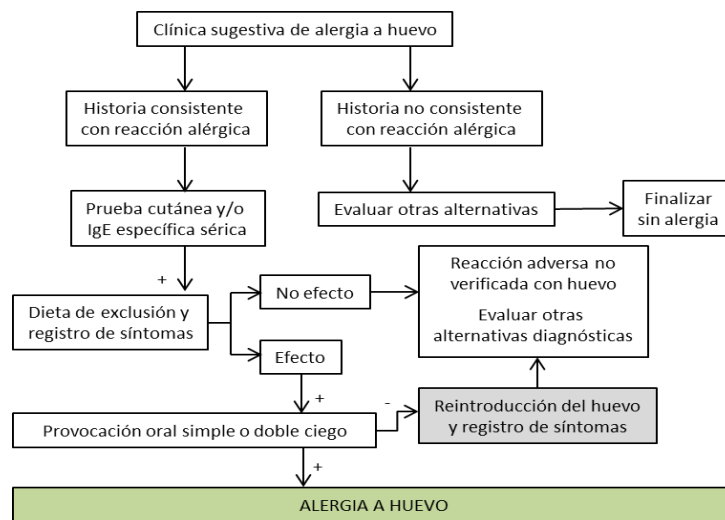


Figura 12. Algoritmo diagnóstico de la alergia a huevo: síntomas crónicos (adaptado de [65]).

3.2.4.3.3 Pronóstico

La tolerancia natural al huevo es alcanzada por la mayoría de los niños alérgicos, con una resolución del 50% de los casos a los 3 años de vida y del 66% a los 5 años [114]. Sin embargo, otros estudios sugieren que esta alergia es más persistente con una resolución del 4% a los 4 años y hasta del 68% a los 16 años de edad [40]. En la serie de Alonso y cols [98] publicada en el año 2001 con 106 niños evaluados en el Hospital Infantil Universitario Niño Jesús de Madrid, la evolución hacia la tolerancia se confirmó mediante prueba de PO controlada en el 71.7% de los niños: a los 2 años toleraban el huevo el 19.7% del total; a los 3 años, el 32.7%; a los 5 años, el 52.7%; y a los 9 años, el 63.6%. La aparición de tolerancia al

huevo pasada la adolescencia es excepcional y la evolución del cuadro a lo largo de la vida adulta es desconocida. El 25% de los pacientes que sin clínica previa fueron diagnosticados de sensibilización a huevo mediante PTs realizados por presentar alergia a leche o dermatitis atópica, no llegaron a alcanzar la tolerancia del alimento. La falta de tolerancia se asoció significativamente con asma en el 83.3% de los casos y con alergia a neuroalérgenos en el 90%, pero no con dermatitis atópica a pesar de que el 64.1% la presentaban.

Se han identificado varios indicadores pronósticos para el desarrollo de tolerancia a huevo [115]: 1) edad más temprana al diagnóstico; 2) síntomas leves de tipo cutáneo; 3) menor tamaño de pápula del PT; 4) niveles menores de IgE sérica específica (≤ 50 kU/L) [40]; 5) mayor tasa de disminución de la IgE sérica específica a lo largo del tiempo; 6) ausencia de reacciones en los últimos 24 meses; 7) tolerancia de alimentos cocinados; y 8) no coexistencia de otras enfermedades atópicas ni alergias a otros alimentos.

3.2.4.3.4 Prevención

La prevención primaria es la más eficaz pero la más difícil de realizar pues consiste en evitar que se produzca la sensibilización al huevo. Acorde a revisiones realizadas sobre la evitación antigénica durante el embarazo y la lactancia materna, la exclusión del huevo de la dieta de la madre durante la lactancia [116, 117] y el retraso de su introducción en la dieta del niño hasta los 2 años de vida parecen reducir la aparición de dermatitis atópica pero no modifica el desarrollo posterior de alergia a huevo [95] ni a otros alimentos ni de otras enfermedades alérgicas. La introducción de huevo cocinado a los 4-6 meses puede proteger contra el desarrollo de alergia a huevo y la introducción más tardía a los 10-12 meses de vida puede aumentar el riesgo [118]. Igualmente, la introducción temprana progresiva de huevo en bebés con eczema combinada con un óptimo tratamiento del mismo es una terapéutica segura y eficaz para prevenir la alergia a huevo en niños de alto riesgo [119]; sin embargo, en niños con riesgo hereditario de enfermedades alérgicas pero sin dermatitis no se encontró evidencia de que la toma regular de polvo de huevo crudo pasteurizado a los 4-6 meses influya en el riesgo de padecer alergia a huevo al año de vida [120]. Sin embargo, según otros autores, la introducción de huevo en polvo a los 4-6 meses de edad en lactantes de alto riesgo reduce la sensibilización a clara e induce niveles de IgG₄ sérica específica a huevo al año de vida, si bien el 8.5% de estos niños no serían susceptibles de esta prevención primaria [121].

La prevención secundaria consiste en evitar que se desarrolle la enfermedad una vez que el paciente está sensibilizado. Esta práctica se realiza en lactantes con alergia a leche en los que se detecta sensibilización a huevo pues en estos niños no se introduce el huevo hasta que los niveles de sensibilización lo permitan, según los criterios publicados [122].

La prevención terciaria se lleva a cabo en el niño sensibilizado y que ya ha desarrollado clínica, indicándole medidas de evitación de huevo para que no se produzcan nuevas RAs dado que las exposiciones accidentales son frecuentes [123]: 1) limitar el consumo de productos industriales y platos preparados fuera del hogar; 2) evitar la contaminación durante el cocinado de los alimentos; 3) portar pulsera o chapa identificativa del alimento al cual es alérgico; 4) prescripción de adrenalina autoinyectable y entrenamiento

a paciente, familiares y cuidadores para su administración; 5) advertir al médico y al farmacéutico la condición de alérgico y leer el prospecto de cada medicamento.

3.2.4.3.5 Tratamiento

El único tratamiento avalado hasta el momento es la dieta de eliminación de huevo y aquellos alimentos que lo contengan. El huevo no es un alimento esencial en la dieta pues puede suplirse sin plantear problemas nutricionales importantes (desorden alimenticio o malnutrición), pero se utiliza con mucha frecuencia en alimentos atractivos para el niño (helados, repostería, golosinas...), por lo que debe instruirse adecuadamente al niño y a familiares o cuidadores acerca de administrar medicación sintomática y de leer cuidadosamente el etiquetado de los alimentos que lo puedan contener, además de extremar las medidas de precaución en comedores escolares y restaurantes, lo que conlleva una merma en su calidad de vida (vigilancia constante, limitación de la vida social, impacto negativo en trabajo/escuela, mayor tiempo para realizar la compra...) y riesgo de sufrir RA por contacto inadvertido.

Los estudios de inmunoterapia (IT) con alérgenos alimentarios deben realizarse solo en entornos de investigación supervisados u ofrecidos como tratamiento avanzado moderno por médicos capacitados [124]. Existen casos con huevo con resultados variables y es un procedimiento terapéutico en desarrollo cada vez con mejores perspectivas futuras en cuanto a eficacia y seguridad para pacientes con alergia persistente. No obstante, los resultados obtenidos hacen pensar si la tolerancia que adquieren los pacientes es real o transitoria con la ingesta regular y si los síntomas reaparecerán cuando se suspenda la administración del alimento por lo que, como ya se ha comentado, no se recomienda como práctica clínica habitual debido además a la elevada tasa de RAs (apartado 3.3).

3.2.4.4 Otras enfermedades alérgicas por huevo

Aunque mucho menos frecuente, el huevo no solo está implicado en reacciones alérgicas mediadas por IgE sino también en no mediadas por IgE y en reacciones mixtas:

* La alergia a huevo puede manifestarse, especialmente en niños y adolescentes, como dermatitis atópica de inicio precoz y de intensidad moderada a severa (apartado 3.2.4.2), por lo que la dieta de eliminación de huevo disminuye la extensión y severidad de la dermatitis. Además, la combinación de alergia a huevo y eczema atópico es un factor de riesgo para desarrollar asma bronquial y, a su vez, los pacientes asmáticos tienen mayor riesgo de reacciones alérgicas graves a alimentos (apartado 3.2.4.5).

* Esofagitis eosinofílica [125]. Caracterizada por vómitos, dolor abdominal y disfagia. Los bebés pueden presentar pérdida de apetito, pérdida de peso y rechazo del alimento, mientras que niños más mayores pueden manifestar disconfort abdominal, impatación del alimento y dolor retroesternal. Es el 2º alimento más frecuente que produce esta patología.

* Enterocolitis y enteropatía inducida por proteínas de huevo [126]. La enterocolitis se caracteriza por una reacción de instauración brusca con vómitos a las 2-3 horas de la toma y

afectación grave del estado general (postración, palidez +/- hipotensión) con/sin diarrea. La enteropatía cursa de forma crónica con síntomas de malabsorción, anemia e hipoalbuminemia.

3.2.4.5 Enfermedades alérgicas concomitantes con alergia a huevo

El hecho de presentar IgE sérica específica a huevo durante el primer año de vida es factor predictivo de riesgo de enfermedad atópica. Además, la reactividad inmunológica a huevo y leche puede ser el principal y más precoz marcador de riesgo de una posterior sensibilización a aeroalérgenos y de desarrollo de patología alérgica respiratoria. En el primer año de vida, la combinación de una historia de enfermedad atópica en familiar de primer grado con una IgE sérica específica frente a clara de huevo >2 kU/L constituye un marcador de sensibilización a aeroalérgenos a los 3 años de edad, con una especificidad del 99% y un VPP del 78% [127] y, si la sensibilización persiste más de 1 año, existe un riesgo de desarrollo de asma bronquial del 67% y de rinitis del 50% a los 5 años de edad [128]. Si la alergia a huevo se asocia a dermatitis atópica, el riesgo de presentar patología alérgica respiratoria a los 4 años se eleva al 80% [88]. Por extensión, presentar sensibilización a las proteínas de leche de vaca o a huevo durante el primer año de vida constituye un factor predictivo de padecer asma bronquial en edad adulta [129].

3.2.4.6 Reactividad cruzada en alergia a huevo

Existe reactividad cruzada, tanto clínica como serológica, entre el huevo de gallina y el de otras aves (pavo, pato, ganso, codorniz, gaviota) [81, 82, 130], especialmente si su homología filogenética es alta. En el caso de los huevos de gallina y codorniz, ambos pertenecientes al orden *Galliforme*, es destacable un reciente estudio en el que pacientes alérgicos a huevo de codorniz pueden mostrar positividad de diferentes pruebas alérgicas (PT y/o prick-prick y/o IgE sérica específica) para proteínas de huevo de gallina pero con buena tolerancia del mismo [131].

3.2.4.7 El huevo como fuente de alérgeno oculto en productos alimenticios y médicos

El huevo está incluido entre los 8 alérgenos mayoritarios que, sea cual sea la proporción en que se encuentren, son de declaración obligatoria en el etiquetado de los alimentos envasados según el Real Decreto Español 1245/2008 y Europeo 1169/2011 [65]. Pero el huevo puede estar como alérgeno oculto (Tabla 9) en algunos medicamentos [132] y alimentos por sus propiedades como emulsionante, abrillantador o clarificador y, en otras ocasiones, por contaminación de un alimento con proteínas de huevo durante su proceso de elaboración/cocinado (aceite, utensilios de cocina). Un tercio de los pacientes alérgicos a este alimento refiere síntomas con huevo como alérgeno oculto [98], aunque las reacciones accidentales son más frecuentes y graves con la leche de vaca.

Tabla 9. Ejemplos de fuentes de proteínas de huevo como alérgeno oculto.

| Alimentos que contienen huevo | Alérgenos ocultos en etiquetado |
|---|---|
| Hojaldres, empanadas | E-161b luteína, pigmento amarillo albúmina |
| Helados, batidos, turrónes, flanes, golosinas | E-322 lecitina o fosfatidilcolina (si no es de soja) <ul style="list-style-type: none"> • Propofol; nutrición parenteral |

| Alimentos que contienen huevo | Alérgenos ocultos en etiquetado |
|---|--|
| Productos de pastelería y bollería: galletas, bizcochos | E-1105 lisozima <ul style="list-style-type: none"> • Quesos • Medicamentos (Lizipaina®, Trofalgon®, Rinodexa pediátrico® gotas nasales...) • Cosméticos (jabones, geles, cremas, champús) |
| Consomés, sopas, salsas, margarinas, gelatinas | Globulina |
| Cereales de desayuno | Coagulante (si se desconoce la procedencia) |
| Pasta de huevo, rebozados, empanados | OVA (Ferroprotina®, Kilor®, Profer®), ovotransferrina o conalbúmina, OVM |
| Fiambres, embutidos, salchichas, patés | Ovomucina, ovomacroglobulina, ovovitelina |
| Cafés con crema | Catalasa, apriteleninas |
| Vinos (aclarados con clara de huevo) | Fosvitina, α -livetinas |

Ciertas presentaciones de vacunas para la hepatitis A o la de la rabia están cultivadas en células diploides humanas; sin embargo, existen otras vacunas que pueden contener pequeñas cantidades de proteínas de huevo:

* Dado que la triple vírica procede de cultivos de fibroblastos de embriones de pollo, puede administrarse incluso en casos de anafilaxia pero, si ha habido RA con dosis previa, el paciente debe ser valorado por un alergólogo para descartar alergia a otros componentes [133, 134].

* La vacuna antigripal contiene trazas de OVA desde picogramos hasta 42 g/mL por dosis [135]. En caso de alergia leve-moderada a huevo y tolerancia de huevo cocinado, una vacuna con 0.6-1 g/mL de OVA es segura [136] y puede administrarse en el centro convencional de vacunación en una única dosis sin realizar test cutáneo previo [137]. Pero si la concentración de OVA es alta, administrar 1/10 (0.05 mL) de la dosis y, si buena tolerancia, administrar los 9/10 restantes a los 30 min [138], aunque otros autores han comprobado su tolerancia en dosis no fraccionada [139]. Si el paciente presenta alergia anafiláctica a huevo y necesidad de vacunación, se debe emplear el mismo protocolo pero en ámbito hospitalario. En caso de reacción anafiláctica con una dosis previa de *Influenza*, esta vacuna está contraindicada.

* La vacuna de la fiebre amarilla tiene virus vivos atenuados cultivados en embriones de pollo y pueden contener cantidad significativa de proteínas de huevo. Si la vacunación es necesaria, se debe realizar PT e intradermorreacción 1/100 y, si resultado positivo, administrar la vacuna en ámbito hospitalario mediante técnica de desensibilización [140].

3.2.4.8 Tolerancia del huevo procesado

La tolerancia de huevo horneado puede ser progresión natural de superación de la alergia a huevo o un marcador de fenotipo leve o transitorio [141]. Es posible que el huevo horneado actúe como una forma de ITO [142] pues su introducción en la dieta induce cambios inmunológicos (disminución del PT y de IgE a OVA, así como aumento de IgG₄ a OVA y OVM) que pueden acelerar la resolución de la alergia [143], aunque otros autores no han objetivado que el consumo frecuente de huevo horneado se asocie con una tasa diferente de disminución del PT en comparación con la dieta de evitación [144]. Es conveniente destacar que la cantidad de proteína de huevo y el tipo de preparación del mismo [145] pueden influir en la tolerancia de productos con huevo horneado y, por tanto, en el desarrollo

de tolerancia de huevo en niños alérgicos [146], ya que el empleo de huevo completo versus claras y yemas procesadas por separado afecta a las proteínas de huevo de forma diferente y transforma la estructura final del producto horneado. Se ha comprobado que existe una asociación entre la tolerancia de productos horneados y la presencia de epítomos conformacionales, no lineales [143, 147, 148]. Siguiendo esa línea, Kato y cols [149] comunicaron una disminución de la antigenicidad del OVM cuando se mezcla con el trigo en el pan como resultado de las reacciones disulfáticas entre las proteínas del huevo y del trigo, sugiriendo al gluten como principal responsable de dicho proceso. Sin embargo, a pesar de que hay un 14.6% más de probabilidad de tolerar huevo crudo en aquellos niños que toleran el horneado [150], hay que advertir que los niños desensibilizados a huevo cocinado no necesariamente alcanzan la desensibilización completa a huevo crudo [151]. Ello iría en contra de lo que postulan Clark y cols [147], pues indican la introducción en el hogar del huevo bien cocinado en niños de 2-3 años con RA previa leve y sin asma y, cuando fuera tolerado, continuar con huevo menos cocinado.

Por otro lado, se han observado beneficios respecto a permitir la ingesta de productos cocinados como son mejora en la calidad de vida en cuanto a la preocupación a sufrir reacciones accidentales y una adecuada nutrición más fácil [148]. Otros autores [110] han constatado que un valor del PT a huevo calentado ≥ 5 mm en < 2 años y ≥ 11 mm en ≥ 2 años puede ser predictor de alergia persistente, mientras que niveles de IgE específica > 12.8 kU/L muestran reactividad clínica en el 95% [152]. También se ha declarado que los niños reactivos a huevo horneado tienen mayor nivel del ratio IgE/IgG₄ específica a OVA y OVM que aquellos tolerantes [152] y, en concreto, que el ratio IgE/IgG₄ específica a OVA es un predictor independiente de desarrollo de tolerancia del huevo crudo [153].

3.3 *Inmunoterapia con alimentos*

3.3.1 *Concepto y fases de la ITO con alimentos*

La ITO específica con alimentos, también denominada inducción de tolerancia oral o desensibilización oral, consiste en la administración progresiva del alimento vía oral hasta alcanzar la tolerancia equivalente a la cantidad de consumo habitual.

Según la reciente revisión elaborada por Wood RA [154], el esquema típico de este procedimiento se recoge en la Fig. 13. En líneas generales, tras realizar una PO basal con el alimento problema, consiste en:

- Fase de inducción o de incremento de dosis (FI). Escalada inicial de dosis seguida de una acumulación gradual, la cual puede realizarse de forma “convencional” (las subidas de dosis se llevan a cabo cada 1-2 semanas durante varios meses) versus “rápida” (se hacen una o varias subidas de dosis en el mismo día). En esta fase algunos autores administran antihistamínico oral para disminuir la aparición e intensidad de potenciales RAs.
- Fase de mantenimiento (FM). Tras la FI se administra la cantidad máxima tolerada (por ejemplo, $\frac{1}{2}$ o 1 huevo entero cada 2-3 días) durante varios meses o años. Si durante la FI y la FM no se alcanza la dosis objetivo (por ejemplo, una ración del

alimento), los investigadores realizan PO para constatar si ha aumentado el umbral de tolerancia del paciente.

- Después de un tiempo más o menos prolongado, si se quiere explorar el estado de tolerancia permanente o falta de respuesta sostenida del paciente, tras una dieta de evitación del alimento generalmente de 4-8 semanas, se realiza PO para constatar si el paciente ha alcanzado dicha tolerancia permanente o solo el estado de desensibilización mientras toma el huevo como tratamiento en dosis de mantenimiento (Fig. 14).

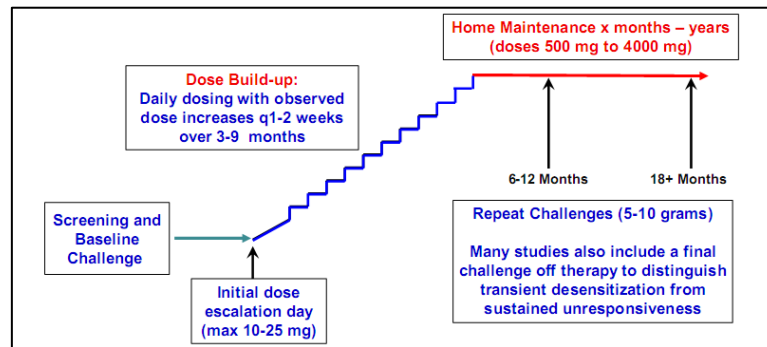


Figura 13. Esquema del enfoque típico de la ITO con alimentos (extraído de [154]).

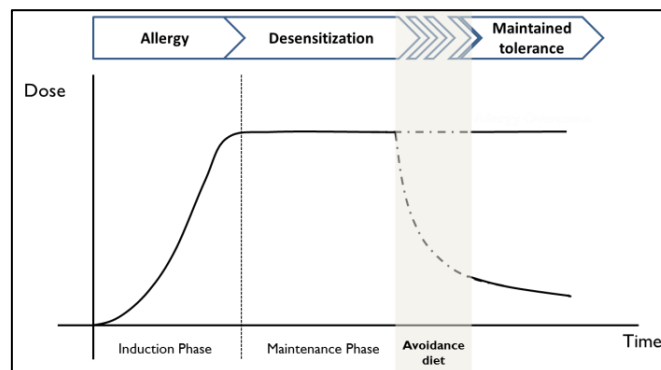


Figura 14. Esquema de la ITO con alimentos (reproducido con permiso de [155]).

3.3.2 **Indicaciones y contraindicaciones de la ITO con alimentos**

Las indicaciones para realizar dicho procedimiento terapéutico es la alergia mediada por IgE al alimento con la intención de cambiar la evolución natural en pacientes muy sensibilizados con escasa probabilidad de tolerancia espontánea o de adelantarla en aquellos con mejor pronóstico.

Sus principales contraindicaciones son: 1) RAs no mediadas por IgE o no inmunológicas; 2) reacción grave por exposición al alimento (shock, hipoxia, hipotensión o afectación neurológica); 3) asma bronquial grave o mal controlado; 4) enfermedades malignas, inmunopatológicas y/o inmunodeficiencias primarias o secundarias graves; 5) tratamiento inmunosupresor o con beta-bloqueantes (incluso tópicos); 6) patología asociada que contraindique el empleo de adrenalina como enfermedades cardiovasculares o hipertensión grave.

3.3.3 Mecanismo de acción de la ITO con alimentos

El mecanismo de acción de esta intervención se postula como múltiple (Fig. 15):

- Depleción o inactivación de linfocitos específicos de antígenos.
- Expansión transitoria de células Treg.
- Supresión de IgE e inducción de IgG₄ específicas.
- Supresión de células dendríticas inflamatorias e inducción de productoras de IL-10.

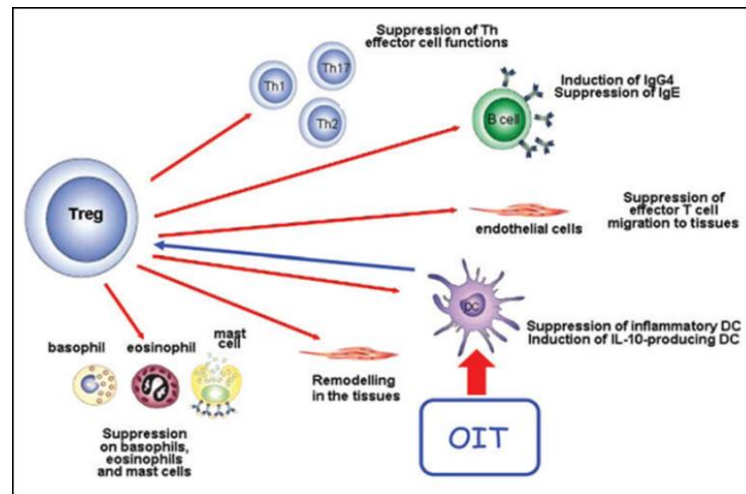


Figura 15. Mecanismo de acción de la ITO (OIT) con alimentos (extraído de [156]).

Por estudios de IT específica con alérgenos [157] se conoce que la IL-10 y el TGF- β suprimen la producción de IgE e inducen IgG₄ e IgA, respectivamente. Ambas citoquinas suprimen directamente la inflamación alérgica inducida por células efectoras tales como mastocitos, basófilos y eosinófilos. Además, las células Th2 son suprimidas por células Treg y, por lo tanto, ya no pueden proporcionar citoquinas como IL-3, IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13, las cuales son necesarias para la diferenciación, supervivencia y actividad de mastocitos, basófilos, eosinófilos y células productoras de moco. Por su parte, la citoquina de perfil Th1 IFN- γ , en combinación con el TNF- α y/o el ligando Fas, induce la apoptosis de células del músculo liso, queratinocitos y células epiteliales bronquiales. Destacar el papel clave de las células Treg CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ y las poblaciones inducibles de células Treg tipo 1 secretoras de IL-10 pues contribuyen al control de respuestas inmunes específicas de alérgenos como supresión de células dendríticas que soportan la generación de células T efectoras, supresión de las células efectoras Th1, Th2 y Th17, supresión de IgE específica, inducción de IgG₄, supresión de mastocitos, basófilos y eosinófilos, interacción con células tisulares residente y remodelado, y supresión de la migración de células T efectoras a los tejidos [158].

3.3.4 Eficacia clínica de la ITO con alimentos

Respecto a la eficacia de este tratamiento, es preciso diferenciar distintos términos:

- Tolerancia completa: tolerancia de la cantidad máxima establecida para ese alimento.

- Tolerancia parcial: tolerancia de una cantidad menor que la establecida por la aparición de RAs con el incremento de dosis, pero que permite aumentar el umbral de reacción a lo largo del tratamiento.
- Desensibilización transitoria: falta de respuesta clínica que solo se mantiene mientras el alimento se toma de forma mantenida.
- Falta de respuesta sostenida (tolerancia permanente): tolerancia del alimento a pesar de periodos prolongados de evitación del alimento o toma irregular.

El primer caso de ITO publicado en la literatura científica fue en el año 1908 en un niño con anafilaxia por huevo [159] y existen otros casos de ITO con alimentos que se remontan al menos a la década de 1940 [160]. No fue hasta casi un siglo después que comenzó a ser utilizada para el tratamiento de la alergia a los alimentos [161] y en el año 2012 se publicó el primer estudio multicéntrico doble ciego controlado con placebo de ITO con huevo [162].

En la Tabla 10 se resumen los trabajos más relevantes publicados respecto a desensibilización transitoria por ITO con alimentos, en particular con huevo. De forma secundaria se adjuntan datos de seguridad de cada estudio.

Tabla 10. Estudios de ITO con alimentos: desensibilización transitoria.

| Alimentos | Referencias | Grupos | Resultados | |
|---------------|---------------------------|--|--|--|
| | | | Eficacia | Seguridad |
| Leche | Meglio 2004 [163] | 21 activos | 71.4% toleraron 200 mL a 6 meses | 14% abandono |
| | Staden 2008 [164] | 9 activos | 66.7% toleraron 120 mL en 3-7 días | 100% tuvieron RA Ninguna grave |
| | Skripak 2008 [165] | 13 activos 7 controles | 100% toleraron 153 mL | ≈90% tuvieron RA leve |
| | Longo 2008 [166] | 30 activos 30 controles | 36% toleraron ≥150 mL al año 54% toleraron 5-150 mL al año | 10% abandono |
| | Zapatero 2008 [167] | 18 activos | 88.9% toleraron 200-250 mL en 14 sem | 68.75% tuvieron RA |
| | Caminiti 2009 [168] | 10 activos 3 controles | 70% toleraron 200 mL en 4 meses | 2 pac RA grave |
| | Pajno 2010 [169] | 15 activos 15 controles | 10 activos toleraron 200 mL a 18 sem | 2 pac RA grave |
| | Martorell 2011 [170] | 30 activos 30 controles | 90% activos tolerancia completa al año 23% controles tolerancia completa al año | 47% tuvieron RA moderada |
| | Vázquez-Ortiz 2012 [171] | 81 activos | 71.6% toleraron 200 mL en mediana 4.5 meses de FI | 95% tuvieron RA 75% leve-moderada |
| | Sánchez-García 2012 [172] | 105 activos | 81.9% toleraron 200 mL en media 19 sem de FI | 12.44% tuvieron RA leve-moderada |
| Leche y huevo | García-Ara 2013 [173] | 36 activos 19 controles | 100% de IgE específica <3.5 kU/L toleraron 200 mL al año 88% de IgE específica >3.5-50 kU/L toleraron 200 mL al año | 90% en <3 meses si IgE <3.5 kU/L con menos RA graves 75% RA en FI, 60% RA en FM |
| | Morisset 2007 [174] | 60 pac leche 90 pac huevo | 69% sin diferencias con dieta de evitación a 6 meses | Más RAs graves en grupo de evitación |
| | Patriarca 2003 [175] | 29 pac leche 15 pac huevo 16 controles | Leche: 79.2% tolerantes a 3-12 meses Huevo: 84.6% tolerantes a 3-8 meses | Leche: 5 pac abandono Huevo: 2 pac abandono |

| Alimentos | Referencias | Grupos | Resultados | |
|---------------|-----------------------------|--|--|--|
| | | | Eficacia | Seguridad |
| Leche y huevo | Patriarca 2007 [176] | 18 pac leche 17 pac huevo 10 controles | Leche: 66.7% toleraron 130 mL en 6-8 meses Huevo: 70.6% tolerantes en 5-8 meses | Leche: 3 pac abandono por RA Huevo: 1 pac abandono por RA |
| | Vickery 2010 [177] | 8 activos | 75% toleraron 300 mg de huevo en polvo en FI 100% toleraron mediana 2400 mg en mediana 33 meses | 83% RA en FI, no RA en FM |
| | Itoh 2010 [178] | 6 activos con alergia grave | 100% toleraron 60 g huevo calentado en 9-18 días de FI 3 pac toleraron 1 g huevo en polvo a 9-12 meses de FM | 100% tuvieron RA Ninguna grave |
| | García-Rodríguez 2011 [179] | 23 activos | 86.9% toleraron huevo cocido, 14 pac en 5 días | 78.3% tuvieron RA 35 leves, 20 moderadas |
| Huevo | Tortajada-Girbés 2012 [180] | 19 activos | 89.5% toleraron 30 g huevo pasteurizado a 16 sem | 10.5% abandono |
| | Meglio 2013 [181] | 10 activos 10 controles | 80% activos toleraron 25 mL de huevo crudo a 6 meses 20% controles tolerantes a 6 meses | 70% tuvieron RA |
| | Dello Iacono 2013 [182] | 10 activos 10 controles | 9 pac toleraron <40 mL de huevo crudo a 6 meses | 100% tuvieron RA 66% grado 3 Sampson |
| | Fuentes-Aparicio 2013 [183] | 40 activos 32 controles | 92.5% toleraron 1 huevo en 4-28 sem 21.8% controles tolerantes | 52.5% tuvieron RA 38.1% leves, 3 abandonos |
| | Vazquez-Ortiz 2014 [184] | 50 activos 32 controles | 80% tolerancia completa de clara pasteurizada en FI 54% tolerancia completa a 12 meses 15.6% controles tolerantes a 12 meses | 90% tuvieron RA 61.2% leves |
| Cacahuete | Jones 2009 [185] | 29 activos | 93% (27/29 pac) toleraron 3.9 g | 25% abandono 92% RA en fase escalada |
| | Varshney 2011 [186] | 16 activos 9 controles | 15 pac toleraron 5 g en mediana 1 año | 3 casos anafilaxia |
| | Anagnostou 2014 [187] | 49 activos 50 controles | 54% toleraron 1400 mg y 91% 800 mg en 2ª fase | 1 paciente adrenalina |

Existen pocos estudios sobre sobre eficacia y seguridad a largo plazo [188]. Por ejemplo, en el trabajo de Keet y cols [189] se recogen 2 estudios de ITO con leche tras 3-5 años de completar el tratamiento. Encontraron que solo el 31% de los pacientes toleraban leche no procesada sin presentar síntomas, el 22% limitaba su consumo por síntomas incluyendo anafilaxia, el 6% comía solo trazas y el 16% realizaba dieta estricta de evitación.

Son también escasos los trabajos que investigan la falta de respuesta sostenida. Destacar el estudio con grupo control de ITO con huevo llevado a cabo por Escudero y cols [190], en el que el 93% de los 30 niños tratados toleraron 2808 mg de proteína de clara con una FM de 3 meses y, tras dieta sin huevo durante 1 mes, se constató la falta de respuesta sostenida en el 37% de los casos.

Recientemente se ha publicado que la condición de tolerancia permanente está en relación a la duración de la FM de la ITO pues la falta de respuesta sostenida aumentó del 28% a los 22 meses al 50% a los 48 meses, lo que sugiere que una mayor duración del tratamiento sería beneficioso en algunos pacientes [191]. Existe fuerte evidencia científica de que la ITO induce cambios inmunomoduladores y promueve la desensibilización pero, dada

la falta de evidencia respecto a la seguridad y eficacia a largo plazo, algunos autores apuntan que la ITO no debiera utilizarse en la actualidad fuera del ámbito de la investigación [50].

En la Tabla 11 se resumen trabajos relevantes publicados respecto a la falta de respuesta sostenida por ITO con alimentos. Se podría postular que factores claves para alcanzar dicho estado serían la dosis y duración del mantenimiento con el alimento.

Tabla 11. Estudios de ITO con alimentos: falta de respuesta sostenida.

| Alimentos | Referencias | Grupos | Resultados |
|---------------|--------------------------------|--|--|
| Leche y huevo | Rolinck-Werninghaus 2005 [192] | Leche: tolerancia de 250 mL y FM con 100 mL Huevo: tolerancia de 4.5 g y FM con 2.5 g | FM 4-39 sem y evitación 2 días o 2 meses: 100% RA sistémica moderada |
| | Staden 2007 [193] | 14 pac leche, 11 pac huevo 20 controles | FM mediana 21 meses y evitación 2 meses: 36% falta de respuesta 35% tolerantes en GC |
| | Buchanan 2007 [194] | 7 activos no anafilácticos | 2 años: 57% toleraron 14.7 g clara en polvo Evitación 3 meses: 2 pac falta de respuesta |
| | Burks 2012 [162] | 40 activos 15 controles | 10 meses: 55% activos toleraban 10 g clara en polvo, 0% controles 22 meses: 75% (30/40) tolerantes Evitación 6-8 sem |
| Huevo | Caminiti 2015 [195] | 17 activos 14 controles | 24 meses: 28% (11/40) falta de respuesta 30 y 36 meses: persistía falta de respuesta 16 pac toleraron clara deshidratada FM 6 meses y evitación 3 meses: 31% falta de respuesta |
| | Escudero 2015 [190] | 30 activos 31 controles | 93% toleraron 2808 mg de proteína clara en mediana 32.5 días FM 3 meses y evitación 1 mes: 37% falta de respuesta |

3.3.5 Modulación de la respuesta inmunológica por la ITO con alimentos

La valoración de la modulación inmunológica inducida por la ITO con alimentos se ve dificultada por la no existencia de trabajos de investigación homogéneos en cuanto a criterios de inclusión (nivel de IgE sérica específica y umbral de reactividad), diagnósticos (realización de PO), existencia de grupo control, vía de administración del alimento (oral o sublingual), protocolos (dosis de incremento y frecuencia, duración de las FI y FM, dosis máxima objetivo) y evaluación de la falta de respuesta sostenida.

En líneas generales, los cambios inmunológicos inducidos por la ITO (Fig. 16) han sido descritos en varios estudios y generalmente incluyen:

- En los primeros meses de tratamiento [162, 196]:

- 1) Disminución del diámetro del PT.
- 2) Aumento temprano y constante de la IgG₄ sérica específica.
- 3) Disminución de la activación de basófilos *ex vivo* tras estimulación antigénica.

4) Aumento inicial de la IgE sérica específica seguido de una disminución gradual por debajo de los niveles basales. Algunos estudios han demostrado que la ITO altera el patrón de unión del antígeno a la IgE, posiblemente a través de cambios en la diversidad de reconocimiento de epítomos o afinidad antigénica alterada [197].

- A los 6-12 meses de tratamiento:

5) Alteraciones en las respuestas de células T, tales como anergia clonal y supresión inmune por células Treg $CD4^+CD25^+FoxP3^+$, aumento de IL-10 y cambios en citoquinas (IL-5, IL-13, $IFN-\gamma$ o $TNF-\alpha$) de perfil Th2 a Th1 [185, 198, 199]. En consonancia con la eficacia clínica potencialmente transitoria de la ITO, se ha demostrado que muchos de estos cambios inmunológicos son transitorios, incluso durante la FM [199].

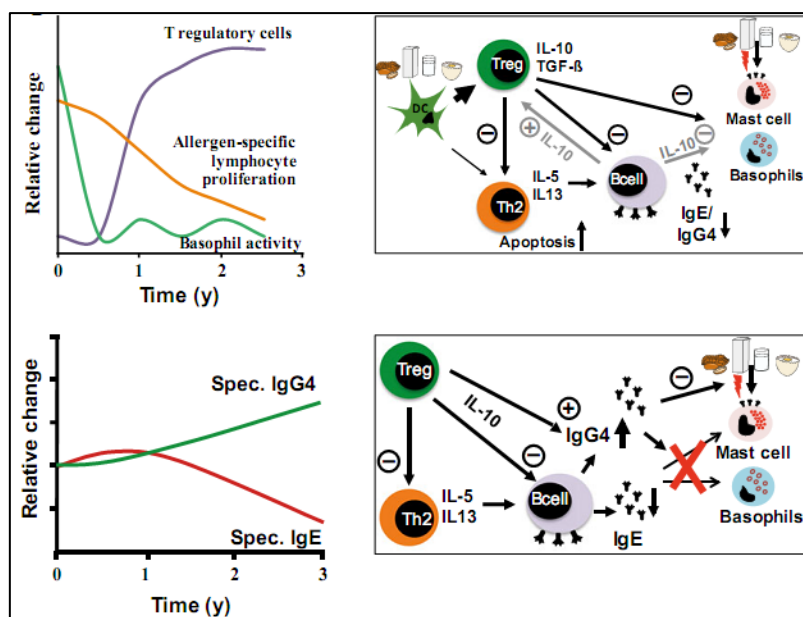


Figura 16. Cambios inmunológicos inducidos por la ITO marcadores de desarrollo de tolerancia a alérgenos alimentarios (extraído de [200]).

A continuación se exponen los principales cambios inmunológicos detectados en estudios relevantes y/o recientes de ITO con huevo y con otros alimentos de interés:

Cambios significativos han sido descritos para PT a clara y/u OVM durante la ITO [177, 183] pero no por todos los autores [178]. La disminución fue detectada a los 6 meses de mantenimiento [179, 181, 182], a los 10 meses [195] e incluso tras alcanzar la falta de respuesta sostenida [162, 190].

Algunos trabajos no han encontrado cambios significativos en los niveles de IgE sérica específica a clara, OVA y/u OVM [162, 183, 195] tanto al final de la FI como de la FM, mientras que otros autores sí han detectado una disminución intragrupo de la IgE sérica específica a clara y/u OVM [181, 201] tras la FI, a clara, OVA y OVM a los 15 días de finalizar el tratamiento [202], a OVA a los 4 meses [190], a clara a los 6 meses [177, 179, 182], al año [178, 203] y a los 2 años [194].

Cambios significativos también se han observado en los niveles de IgG₄ a clara u OVA [177, 181] pero no a OVM [181]. Dicho aumento se detectó desde fases tempranas [179, 183, 190, 195, 204], al año [178] y a los 22 meses [162, 181]. Sin embargo, algunos no encontraron correlación de los niveles de IgG₄ con resultados clínicos de respuesta sostenida [201]. Por otro lado, se ha objetivado que la IgG e IgG₄ en plasma de sujetos sometidos a ITO con cacahuete inhiben la activación específica de basófilos mediada por IgE [205].

Dado que la IgA es la inmunoglobulina más abundante en el cuerpo humano, es bien conocido su papel en la inmunidad de mucosas y particularmente importante para la exclusión de antígenos en el tracto gastrointestinal [206]. El grupo de Wright y cols [207] detectó de forma significativa mayor ratio IgG₄/IgE para OVM, ratios IgG₄/IgE, IgA/IgE e IgA₂/IgE para clara y ratio IgA/IgE para OVA en los respondedores a la ITO con huevo. Por su lado, otros autores han comunicado que la IgA sérica específica a OVA y OVM no parece asociarse a tolerancia inducida o natural a huevo [208].

En cuanto al test de activación de basófilos en la ITO con huevo, Gamboa y cols [202] concluyeron que existe una reducción en la activación antígeno específica con clara de huevo, OVA y OVM pero únicamente con las dos concentraciones más bajas (5 y 0.05 ng/ml) empleadas. Previamente este grupo de trabajo [209] había notificado una disminución significativa en la activación específica de basófilos pero a concentraciones de 500, 50 y 5 ng/mL tras 1-4 meses de completar el tratamiento de ITO con huevo en pacientes que presentaban menor nivel de IgE específica. Burks y cols [162] también comunicaron una disminución en la activación de basófilos después de 22 meses de tratamiento de ITO con huevo, aunque no se observó relación estadísticamente significativa con la tolerancia permanente.

Referente a la secreción de citoquinas en estudios de ITO con huevo, se ha detectado aumento significativo de la IL-5 inmediatamente tras la FI [181], mientras que otros autores no han encontrado cambios en la secreción de IL-4, IL-6, IL-12, IL-13, IFN- γ , TNF- α , TGF- β 1, or TGF- β 2 [177, 178, 181, 210]. Se han comunicado resultados contradictorios en la secreción de la IL-10 pues algunos estudios objetivaron una disminución de su nivel [178], otros un aumento [177] y otros no detectaron cambios [181]. También se ha informado que la ITO con huevo en niños se asocia a un aumento en la frecuencia y en el número de células Treg que participan en el control de las células efectoras implicadas en el proceso alérgico [210].

Pérezabad y cols, en un estudio de ITO con huevo [211], encontraron una disminución de la IgE y un aumento de la IgG₄ para clara, OVA y OVM, una tendencia a menor nivel de IL-5 e IL-13 y a mayor nivel de TNF- α e IFN- γ , un aumento significativo de la IL-10 y una regulación al alza para los factores de transcripción T-bet y FoxP3 pero sin relevancia.

En un trabajo de ITO con cacahuete realizado por Jones y cols [185], los PTs y la activación de basófilos disminuyeron de forma significativa a los 6 meses, la IgE específica disminuyó de 12 a 18 meses y la IgG₄ aumentó significativamente, la secreción de IL-10, IL-5, IFN- γ y TNF- α aumentaron durante un período de 6 a 12 meses, las células FoxP3 específicas aumentaron hasta los 12 meses y disminuyeron con posterioridad y los

microarrays de células T mostraron regulación a la baja de genes en las vías apoptóticas. En otro estudio de ITO con cacahuete [212] se observó un aumento significativo en la IgG₄ específica y una disminución de IL-5, IL-4 e IL-2 específicas del alérgeno. Comentar que aumentos relativos más que absolutos en la IgG₄ distingue a sujetos respondedores de los no respondedores pues dichos cambios pueden estar en relación con secreción aumentada de IL-10 a través de células T reguladoras [198] o células B reguladoras [213].

El grupo de Bedoret y cols [214] comunicó una anergia o eliminación de las células CD4⁺ específicas a la semana de tratamiento con ITO con leche y, en los 3 meses siguientes con altas dosis diarias de leche, la respuesta de células CD4⁺ regresó caracterizada por un cambio de IL-4 (Th2) a producción de IFN- γ (Th1), por lo que sugieren que alta dosis de alérgenos orales puede estar asociada con la delección de células T específicas de alérgenos sin aparente desarrollo de células T reguladoras FoxP3⁺ específicas. Otro estudio de ITO exitosa con leche [215] estuvo acompañada de aumentos significativos de IgG₄ específica a caseína con reducción en concentración de IgE específica y en producción de IL-5, IL-13 e IL-10 por células polimorfonucleadas estimuladas con β -caseína, sin diferencias significativas con respecto al perfil inmunológico de un grupo de niños no alérgicos.

En el estudio de ITO con huevo realizado por el grupo de investigación del Hospital Infantil Universitario Niño Jesús de Madrid [190], cuyo objetivo era evaluar la inducción de falta de respuesta sostenida tras 3 meses de ITO con huevo, niveles de IgE sérica específica a clara mayores de 7.1 kU/L y de IgE sérica específica a OVM mayores de 1.7 kU/L indicaron probabilidad del 90% y 73%, respectivamente, de no pasar la PODCCP con 2808 mg de proteína de clara 1 mes después de parar el tratamiento.

3.3.6 *Reacciones adversas durante la ITO con alimentos*

Esta intervención terapéutica no está exenta de la aparición de RAs que oscila, según los trabajos publicados [216], entre un 30% y un 100% con proporción similar para leche, huevo y cacahuete. El 32% coinciden con el aumento de dosis pero suelen tener un carácter leve con tendencia a disminuir su frecuencia durante el tratamiento. Existen alternativas para minimizar dichos eventos como son alargar la FI realizando el aumento de dosis en intervalos mayores de tiempo, no alcanzar la dosis máxima del alimento sino mantener una dosis menor a la establecida en el protocolo para simplemente aumentar el umbral de tolerancia o incluso retirar al paciente del protocolo.

La sintomatología acontecida en las RAs durante la ITO es la habitual de las reacciones alérgicas (SAO o dolor abdominal transitorio son los más comunes y generalmente leves), pero ciertos autores han observado mayor afectación de algunos órganos según el alimento: acorde al trabajo publicado por Vázquez-Ortiz y cols [171], los síntomas más frecuentes de forma decreciente que aparecen durante la ITO con leche son broncoespasmo, urticaria, dolor abdominal y anafilaxia, mientras que en el trabajo realizado con huevo por Fuentes-Aparicio y cols [183], destacan SAO, dermatitis perioral y dolor abdominal leve, seguido de rinoconjuntivitis-asma, urticaria y, por último, de anafilaxia. En concreto, en el comentado trabajo de ITO con huevo realizado por Escudero y cols [190], acontecieron 79 RAs (54.5%) durante la FI, de ellas 96% leves y 4% moderadas: 65 RAs (82%) fueron

síntomas gastrointestinales, 17 (21.5%) SAO, 9 (11.4%) rinitis, 5 (6.3%) asma y 3 (3.8%) urticaria generalizada.

Algunos pacientes se benefician de un pretratamiento con antihistamínicos H1 y/o H2. Las RAs severas que requieren adrenalina son más comunes durante el incremento de dosis pero también pueden acontecer durante la FM [154]. Por ejemplo, en el estudio de Escudero y cols [190], los pacientes tratados presentaron 45 RAs (31%) durante la FM, todas ellas leves: síntomas gastrointestinales en 20 de las RAs (44%), SAO en 24 (53%), rinitis en 11 (24%) y urticaria generalizada en 4 (9%). Los eventos que aparecen con dosis previamente toleradas en ocasiones se asocian con factores facilitadores tipo infecciones, ejercicio físico o exposición alérgica [165]. En general, un 10-20% de los pacientes son retirados de los estudios debido a RAs graves o repetidas, incluso hasta un 36% [154], ya sea por síntomas gastrointestinales crónicos no tolerables (motivo más frecuente de suspensión del tratamiento), anafilaxia o esofagitis eosinofílica [217].

En la Tabla 12 se resume la seguridad de estudios publicados de ITO con huevo.

Tabla 12. Reacciones adversas en estudios de ITO con huevo (adaptado de [155]).

| | Nº pac | Nº RA | | Severidad RA | | | | | |
|------------------------|--------|--------------|------------|------------------------|-------|----------|-------|-------|-------|
| | | Nº RA | Nº (%) pac | Leve | | Moderado | | Grave | |
| | | | | % RA | % pac | % RA | % pac | % RA | % pac |
| Staden [193] | 25 | 47 | 25 (100) | | 84 | | 16 | | 0 |
| Buchanan [194] | 7 | 7 | 7 (100) | | 57.1 | | 28.6 | | 14.3 |
| Vickery [177] | 6 | 12 | 5 (83) | 66.6 | | 33.3 | | 0 | |
| Itoh [178] | 6 | 7 | 6 (100) | 71.4 | | 28.6 | | 0 | |
| Fuentes-Aparicio [183] | 40 | 36 | 21 (52.5) | 22.2 | | 61 | | 0 | |
| García-Rodríguez [179] | 23 | 55 | 18 (78.3) | 63.63 | | 36.36 | | 0 | |
| Ojeda [218] | 31 | 180 | 22 (74.19) | 86.1 | | 13.9 | | 0 | |
| Meglio [181] | 10 | 79 | 7 (70) | | | | | | |
| Dello Iacono [182] | 10 | 53 | 10 (100) | 24.5 | | 66 | | 9 | |
| Vazquez-Ortiz [184] | 50 | 1024 | 45 (90) | 61.2 | | 38.8 | | 0.09 | |
| Caminiti [195] | 17 | 3 | 3 (17.64) | 66.6 | | 0 | | 33.3 | |
| | Nº pac | RA (% dosis) | | Severidad RA (% dosis) | | | | | |
| | | | | Leve | | Moderado | | Grave | |
| Burks [162] | 40 | | 25 | 14.3 | | 0.7 | | 0 | |
| Escudero [190] | 30 | | 5.9 | 98 | | 2 | | 0 | |

En una revisión reciente con meta-análisis [219] se evaluó la relación entre el desarrollo de esofagitis eosinofílica tras la ITO con alimentos, con una estimación aproximada del 2.7% (Tabla 13).

Tabla 13. Casos de esofagitis eosinofílica tras ITO con distintos alimentos.

| Alimento | Referencias | Casos |
|------------------|------------------------|-----------|
| Leche | Sanchez-Garcia [217] | 3/110 pac |
| Huevo | Ridolo [220] | 1/1 pac |
| | Fuentes-Aparicio [183] | 1/40 pac |
| Cacahuete | Hofmann [221] | 1/28 pac |

Hay que tener en cuenta la existencia de factores facilitadores (ejercicio físico, infecciones, posición en decúbito, exacerbación de asma bronquial, toma de AINEs, estrés, ayuno, cansancio...) durante la ITO con alimentos, cuya implicación, por ejemplo, en la aparición de RAs con la leche de vaca es de un 12% [171].

Los puntos de corte publicados para la IgE sérica específica que predicen un mayor riesgo de presentar RAs durante la ITO son IgE a clara y OVM >8.85 kU/L, y a OVA >6.49 kU/L [184].

3.3.7 ITO con distintos productos de huevo

La evaluación de estudios de ITO realizados en alérgicos a huevo es complicado dado que la naturaleza del producto administrado varía según los autores (Tabla 14).

Tabla 14. Tipos de productos de huevo empleados en ITO (reproducido con permiso de [155]).

| Referencias | Producto | Equivalencia a fuente natural | % proteína |
|---|--|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Crudo: Dello Iacono [182], Meglio [181], Patriarca [176] • Cocinado: Itoh [178], García-Rodríguez [179] • Cocido: Morisset [174] | Huevo completo natural | 100% | 13% 1 huevo medio (60 g) = 7 g de proteínas |
| - | Clara natural | 70% del peso comestible del huevo | 10.2% |
| - | Yema natural | 30% del peso comestible del huevo | 16.1% |
| Ojeda [218] | Huevo entero líquido pasteurizado | 50 mL = 1 huevo | 11.5% |
| Vazquez-Ortiz [184], Tortajada [180] | Clara líquida pasteurizada | 1 mL = 83 mg de proteína de clara | 10.7% |
| García-Rodríguez [179] | | 30 mL = 1 clara | No comunicado |
| Staden [193] | Huevo completo liofilizado | 7 g = 5.6 g of protein = 1 egg | 80% |
| Fuentes-Aparicio [183] | Huevo completo deshidratado | 10 g = 1 huevo | No comunicado |
| Itoh [178] | | 1 g = 8 g de clara | No comunicado |
| Escudero [190], Ruiz-García [222] | | 3.6 g = 2.8 g de proteína de clara = 1 clara | 78% |
| Buchanan [194], Vickery [177], Burks [162] | Clara deshidratada | 2 g = 1.6 g de proteína de clara | 80% |
| Caminiti [195] | | 4 g = 1 clara | No comunicado |

Además, recientemente otros autores han empleado **huevo horneado** para realizar la ITO [223] con una dosis objetivo de 6.250 mg de proteína.

A pesar de que se ha demostrado que la ITO a dosis bajas con 3 mL leche resulta en falta de respuesta sostenida respecto a una dosis mayor de 25 mL [224], pocos estudios se han comunicado sobre ITO con objetivo de dosis baja para acelerar la tolerancia en la alergia a huevo [225].

3.3.8 ITO con alimentos y Omalizumab

Omalizumab (TNX-901) es un anticuerpo monoclonal dirigido contra la porción Fc de la IgE. Se une a la IgE circulante evitando su unión a los receptores de membrana de basófilos y mastocitos y, consecuentemente, se reduce la liberación de mediadores tras la exposición al alérgeno. Además, disminuye la expresión de receptores FcεRI en basófilos, mastocitos y células dendríticas [226] (Fig. 17).

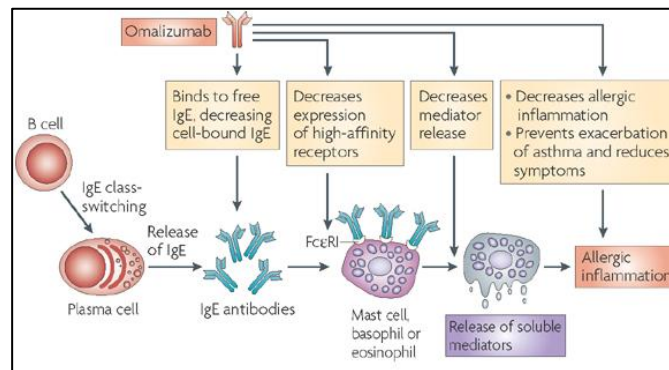


Figura 17. Estrategias de tratamiento para la alergia y el asma (extraído de [226]).

Se ha demostrado que la anti-IgE aumenta la dosis umbral que desencadena síntomas en pacientes alérgicos a cacahuete [227] y facilita la ITO con cacahuete en pacientes de riesgo [228], por lo que parece que el tratamiento concomitante de ITO y Omalizumab puede mejorar la rapidez, eficacia y seguridad de la ITO [229, 230].

En el año 2011, Nadeau y cols publicaron el primer estudio que combinaba ITO y Omalizumab como tratamiento de niños alérgicos a leche con una mediana de IgE sérica específica a leche de 50 kU/L [231]. El primer ensayo doble ciego controlado con placebo de ITO y Omalizumab fue publicado recientemente con 57 pacientes muy alérgicos a leche e incluyó la valoración tanto de desensibilización como de falta de respuesta sostenida [232]. En la actualidad se están realizando estudios de ITO con multialérgenos sin [233] y con coadministración de Omalizumab [234].

Es debido reseñar que Omalizumab no recoge en su ficha técnica la alergia a alimentos como indicación terapéutica. Las dosis en la ITO con alimentos son las mismas que las empleadas en el asma bronquial grave. No está claro cuánto tiempo antes de iniciar la ITO se debe administrar la anti-IgE y qué test emplear para evaluar su eficacia: 1) los niveles de IgE sérica específica no son de mucha utilidad por el propio mecanismo de acción del medicamento; 2) una disminución del PT o su conversión negativa podría servir de guía. Otro aspecto controvertido es cuándo tiempo después de finalizar la ITO se debe suspender Omalizumab y si la misma debe realizarse gradual o de repente, pues no se puede descartar una RA al alimento tras suspenderlo. Por último, tampoco se conoce si los cambios inmunológicos referidos con la ITO serán los mismos que bajo tratamiento concomitante con la anti-IgE.

3.3.9 *Beneficios y limitaciones de la ITO con alimentos*

Varios problemas deben ser abordados antes de que la IT con alimentos pueda ser recomendada en la práctica clínica habitual [235]. Dicha aplicación se beneficiaría enormemente de la identificación de biomarcadores que pudieran predecir tanto los riesgos como las respuestas individuales a esta terapia:

- Previo al tratamiento: protocolo óptimo de la FI (dosis de inicio y ritmo de aumento, duración de la fase) con el fin de detectar
 - sujetos con mayor riesgo de presentar RAs.
 - sujetos que se beneficiarían de Omalizumab u otros agentes coadyuvantes versus los que podrían escalar más rápido en el protocolo.
- Durante el tratamiento:
 - riesgo de desarrollar esofagitis eosinofílica.
 - papel de los factores facilitadores en la aparición de RAs.
 - pacientes con buenas respuestas en comparación con aquellos que pudieran necesitar más tiempo o mayor frecuencia de dosis de tratamiento o los de falta de respuesta sostenida versus los de mayor riesgo de perder la protección.
 - dado que la IT con alimentos requiere visitas frecuentes y un seguimiento estrecho, está por determinar el coste-beneficio en comparación con la dieta de evitación del alimento o si la calidad de vida a largo plazo mejorará de manera significativa [236].

Los principales beneficios y limitaciones en la actualidad de la ITO para tratar la alergia a alimentos se resumen en la Tabla 15. En la Fig. 18 se recogen estrategias de futuro para mejorar tanto la eficacia como la seguridad de la ITO con alimentos.

Tabla 15. Beneficios y limitaciones de la ITO para la alergia a alimentos (reproducido de [237]).

| Beneficios | Limitaciones |
|---|---|
| Capacidad para inducir desensibilización | Capacidad limitada para inducir tolerancia sostenida |
| Mejora en calidad de vida <ul style="list-style-type: none"> • Limitaciones en alimentación • Restricciones sociales • Impacto emocional • Ansiedad | Riesgo elevado de reacciones alérgicas |
| Mejora en nutrición | Necesidad de consumo regular a largo plazo |
| Protección potencial contra reacciones accidentales | Necesidad de monitorización prolongada incluyendo consumo de recursos a largo plazo |
| | Tasa de fracaso alrededor del 10-35% por reacciones alérgicas significativas |
| | Tasa de recaída relativamente elevada a largo plazo |



Figura 18. Estrategias en investigación para mejorar la eficacia y la seguridad de la ITO con alimentos (reproducido de [237]).

3.3.10 *Otras rutas y formas de inmunoterapia con alimentos*

3.3.10.1 Sublingual

La proteína alimentaria se suministra de forma sublingual en forma líquida y se mantiene normalmente durante 2 minutos antes de tragar. El esquema de tratamiento es similar al de la ITO aunque con dosis objetivo mucho más bajas y un incremento de dosis algo más rápida: las dosis habitualmente comienzan con microgramos de la proteína alergénica y aumentan a 1-10 mg para el mantenimiento.

Se cree que la IT sublingual capitaliza las células presentadoras de antígeno tolerogénicas en la mucosa oral y que su eficacia puede verse aumentada por la exposición a la proteína del alimento en su forma intacta antes de que los epítomos posibles se desglosen a través de la digestión gástrica [238]. Sin embargo, las dosis y su eficacia potencial están limitadas por la concentración de los extractos disponibles y el volumen de líquido que puede mantenerse sublingualmente. En cuanto a la seguridad, según estudios realizados con cacahuete [239, 240], la RA más frecuente es a nivel orofaríngeo y generalmente no precisa tratamiento.

Un grupo español [241] publicó en el año 2005 un estudio randomizado controlado con placebo de IT sublingual con avellana. Casi el 50% de los pacientes sometidos al tratamiento alcanzaron la dosis más alta (20 g) pero solo el 9% en el grupo placebo. Observaron reacciones sistémicas en el 0.2% de las dosis totales administradas. Los datos de laboratorio mostraron un aumento en los niveles de IgG₄ e IL-10 después de la IT solo en el grupo activo. Otros cambios inmunológicos se han observado en la IT sublingual con cacahuete en niños [240]: disminución de PT, IgE específica e IL-5 y aumento de IgG₄ específica, pero sin significación respecto al nivel de IL-13, IL-10, IFN- γ ni al porcentaje de células Treg.

Un estudio realizado por el Consorcio de Investigación de Alergia a Alimentos (CoFAR) concluyó tras 3 años de seguimiento que la IT sublingual con cacahuete induce un modesto nivel de desensibilización con una excelente seguridad [242]. Existen estudios que han comparado la ITO con la IT sublingual con leche [243] y cacahuete [244] concluyendo que, aunque la ITO es más eficaz, conlleva un mayor riesgo de RAs sistémicas [245] y de discontinuación del tratamiento.

3.3.10.2 Epicutánea

La IT epicutánea se basa en la aplicación de un parche que contiene alérgenos diseñado para activar las células de Langerhans cutáneas con la subsiguiente reducción sistémica de las respuestas de células efectoras [246].

En un ensayo doble ciego controlado con placebo de 18 niños alérgicos a leche tratados durante 3 meses con IT epicutánea [247], las RAs fueron frecuentes pero en la mayoría en forma de eritema o eczema en los sitios de aplicación y esta vía mostró alguna evidencia científica de desensibilización pero sin diferencias estadísticas significativas. En otro estudio multicéntrico randomizado doble ciego controlado con placebo de 74 pacientes alérgicos a cacahuete [248], la administración de IT epicutánea con cacahuete se asoció a una modesta respuesta de tratamiento tras 52 semanas, siendo más alta entre los niños más pequeños, con RAs predominantemente locales y leves. Se observaron incrementos en los niveles de IgG₄ específicas y en el ratio IgG₄/IgE junto con tendencias hacia la reducción de la activación de basófilos y citoquinas Th2 específicas.

3.3.10.3 Con alérgenos modificados

La IT con alérgenos modificados teóricamente se realiza con proteínas que se han variado de tal manera que los epítomos de unión a la IgE se eliminan o se alteran significativamente para reducir la reactividad mientras que se mantiene la unión de células T relevantes, o bien por identificación de epítomos tolerogénicos específicos, lo que podría proporcionar una eficacia similar a la proteína no modificada pero con una seguridad mejorada: "IT peptídica" [249]. Sin embargo, un ensayo fase I con el producto producto EMP-123 (Ara h 1, 2 y 3 modificados), que se administra vía rectal, resultó decepcionante [250].





Justificación, hipótesis de trabajo, objetivos y aplicabilidad



4 Justificación, hipótesis de trabajo, objetivos y aplicabilidad

4.1 Justificación del estudio

Los protocolos actuales de inmunoterapia oral (ITO) con alimentos están diseñados para una fase de inducción (FI) o de incremento de dosis de semanas o meses. Una pauta inicial más corta facilitaría a pacientes y familiares realizar dicha fase en un número menor de sesiones y en un periodo de tiempo más corto, lo que influiría en un mejor cumplimiento del tratamiento.

4.2 Hipótesis de trabajo

La alergia persistente a huevo en niños puede ser tratada mediante ITO con huevo. Un protocolo con una pauta rápida de la FI puede ser eficaz y seguro para conseguir la desensibilización a huevo en un periodo corto de tiempo. Este efecto se lograría mediante una modulación inmunológica con un cambio de perfil de respuesta Th2 a Th1 o Treg frente a huevo.

4.3 Objetivos

4.3.1 *Primario*

- i. Evaluar la eficacia clínica de un protocolo de ITO rápida (ITOR) con huevo comparada con la dieta de exclusión en pacientes pediátricos con alergia persistente a huevo mediada por IgE para conseguir el estado de desensibilización.

4.3.2 *Secundarios*

- i. Evaluar la seguridad clínica de la ITOR con huevo.
- ii. Evaluar los cambios inmunológicos de la ITOR con huevo comparada con la dieta de exclusión en un periodo de 5 meses, así como intragrupo en distintas fases del tratamiento.
- iii. Investigar factores de riesgo individuales o combinados, tanto clínicos como inmunológicos, de fracaso del tratamiento o de reacción adversa (RA) durante la ITOR.

4.4 Aplicabilidad y utilidad práctica

- i. Instaurar un protocolo rápido de ITO con huevo en niños con alergia persistente a huevo mediada por IgE para acortar el tiempo inicial del tratamiento con respecto a los protocolos habituales.
- ii. Comprensión de los mecanismos inmunológicos subyacentes en la ITO con alimentos.
- iii. Obtención de biomarcador/es para la monitorización del riesgo y respuesta a la ITO con huevo.





Métodos



5 Métodos

5.1 *Diseño del estudio y ética*

Estudio abierto de grupos paralelos, prospectivo, aleatorizado, controlado. Aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) del Hospital Infantil Universitario Niño Jesús (Madrid, España) a fecha de 10/04/2012 (código interno: R-0019/12).

5.2 *Plan de trabajo y financiación*

La intervención clínica se llevó a cabo de Marzo de 2012 a Julio de 2013 en el Hospital de Día del Servicio de Alergología de dicho hospital. La investigación *in vitro* se realizó en el Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Infantil Universitario Niño Jesús y en los Laboratorios del Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL, CSIC - UAM, Madrid, España) según se resume en la Tabla 16.

Tabla 16. Plan de trabajo realizado.

| | |
|--|---|
| Abril 2012 - Mayo 2012 | Evaluación de candidatos y reclutamiento de pacientes. Requisitos: <ul style="list-style-type: none"> • Cumplimiento de todos los criterios de inclusión y ninguno de exclusión • Firma de consentimiento informado • PODCCP con huevo positiva • Randomización ITO1 versus GC |
| ITO1 | |
| Junio 2012 - Octubre 2012 (T0a) | <ul style="list-style-type: none"> • Extracción de sangre y suero para estudio inmunológico y realización de PTs • Inicio de ITOR con huevo |
| Julio 2012 - Febrero 2013 (T1a, T2a, T3a) | Revisión periódica de los activos que completaron la FI de tolerancia del protocolo: <ul style="list-style-type: none"> • Control clínico (cumplimiento del tratamiento, tolerancia a huevo y posibles RAs) • Extracción de sangre y suero para estudio <i>in vitro</i> y realización de PTs |
| GC e ITO2 | |
| Junio 2012 - Octubre 2012 (T0c) | Extracción de sangre y suero para estudio inmunológico y realización de PTs previo a 5 meses de seguimiento con dieta de exclusión de huevo |
| Noviembre 2012 - Febrero 2013 (T3c=T0a) | <ul style="list-style-type: none"> • Extracción de sangre y suero para estudio inmunológico y realización de PTs • Inicio de ITOR con huevo |
| Diciembre 2012 - Julio 2013 (T1a, T2a, T3a) | Revisión periódica de los activos que completaron la FI de tolerancia del protocolo: <ul style="list-style-type: none"> • Control clínico (cumplimiento del tratamiento, tolerancia a huevo y posibles RAs) • Extracción de sangre y suero para estudio <i>in vitro</i> y realización de PTs |
| Junio 2012 - Julio 2013 (T0, T1, T2, T3) | <ul style="list-style-type: none"> • Realización de técnicas de inmunidad humoral (IgE total, IgE e IgG₄ séricas específicas) • Realización de tests <i>in vitro</i> (producción de citoquinas, perfil genético de la población de células T y detección de células FoxP3) |

ITO2

Noviembre 2015

Control clínico a largo plazo sobre toma de huevo en pacientes desensibilizados

Este estudio es parte de un proyecto de investigación subvencionado en parte por las Ayudas Merck Serono de Investigación 2012 de la Fundación Salud 2000 (en la actualidad Fundación Merck Salud) y por una beca de los Laboratorios ALK-Abelló. Por su parte, el CIAL ha contado con el apoyo del Proyecto AGL2011-24740 (MINECO9).

5.3 *Participantes*

Se seleccionaron 40 niños de ambos sexos por muestreo probabilístico no consecutivo de los 70 con alergia persistente a huevo que se encontraban en la base de datos de candidatos a realizar ITO con huevo en Marzo de 2012 de la Sección de Alergología del Hospital Infantil Universitario Niño Jesús (Madrid, España) y que estaban realizando dieta exenta de huevo. Se contactó vía telefónica con los candidatos y se realizó una entrevista personal con los padres/tutores de los mismos con el fin de darles información explícita sobre todos los procedimientos incluidos en el estudio de investigación.

Se consideraron los siguientes criterios para participar en el presente estudio:

Criterios de inclusión

- 1) Historia clínica clara de reacción alérgica durante las 2 horas siguientes a la exposición a huevo (ingestión y/o contacto).
- 2) Edad comprendida entre 5 y 18 años.
- 3) Seguir dieta exenta de huevo crudo y cocinado.
- 4) PT ≥ 3 mm y/o IgE sérica específica >0.7 kU/L para huevo completo, clara, yema, OVA, OVM y/o lisozima.
- 5) PODCCP positiva a huevo en el momento de inclusión en el estudio.

Criterios de exclusión

- 1) Shock anafiláctico por exposición a huevo en el año previo.
- 2) Asma bronquial grave o mal controlado.
- 3) RA a huevo no mediada por anticuerpo IgE o no inmunológica.
- 4) Esofagitis eosinofílica activa.
- 5) Enfermedades malignas, inmunopatológicas y/o inmunodeficiencias primarias o secundarias graves.
- 6) Pacientes bajo tratamiento inmunosupresor o que estén recibiendo tratamiento con beta-bloqueantes (incluso tópicos).
- 7) Patología asociada que contraindique el empleo de adrenalina como enfermedades cardiovasculares o hipertensión grave.
- 8) Alergia a algún componente del placebo.
- 9) Progenitores o tutores legales y/o pacientes (si >11 años) que no firmen el consentimiento informado o con mala predisposición a colaborar.

5.4 Generación de los grupos, tiempos del estudio e intervenciones

Tras la comprobación de que cumplían todos los criterios de inclusión y ninguno de exclusión, los pacientes fueron asignados a los grupos activo o control mediante una tabla de asignación al azar y se formaron los siguientes grupos:

- ❖ Grupo Activo 1 (ITO1): pacientes sometidos a ITOR con huevo al inicio del estudio.
- ❖ Grupo Control (GC): pacientes que siguieron una dieta sin huevo durante 5 meses y que después fueron sometidos a ITOR con huevo siguiendo las intervenciones y los tiempos realizados con el grupo ITO1.
- ❖ Posteriormente para el análisis intragrupo se creó el Grupo Activo 2 (ITO2): todos los pacientes sometidos al comienzo del estudio a ITOR con huevo (ITO1) + pacientes del GC que tras 5 meses de dieta sin huevo tuvieron una PODCCP negativa y fueron sometidos a ITOR con huevo.

De esta forma se pudieron realizar comparaciones intergrupos e intragrupo con un aumento del tamaño muestral de pacientes sometidos al tratamiento.

Los tiempos de análisis e intervenciones por grupos del estudio fueron como sigue:

- ❖ Grupo activo (ITO1) (Fig. 19 – Anexo II)

T0: momento de inclusión en el estudio e inicio de la ITOR con huevo.

T1: a los 15 días del fin de la FI de la ITOR con huevo (duración según protocolo de 5 días) y toma de dosis de huevo domiciliarias.

T2: al mes del T1 en mantenimiento con toma de dosis de huevo domiciliarias.

T3: a los 3 meses del T2 en mantenimiento con toma de dosis de huevo domiciliarias.

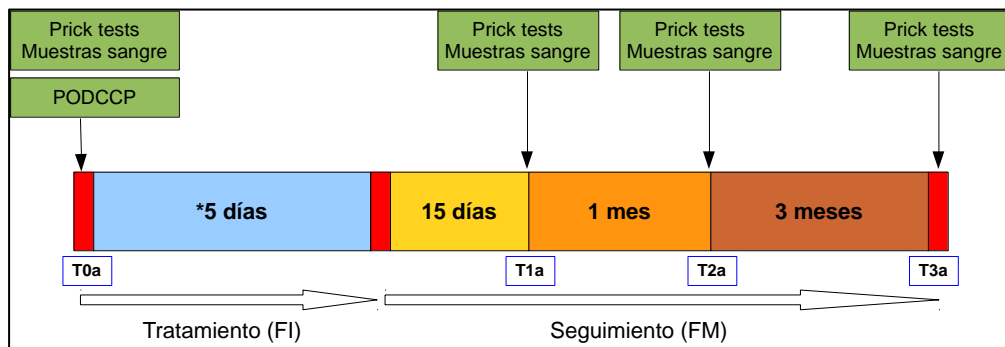


Figura 19. Esquema del estudio según los tiempos de evaluación e intervenciones en el grupo activo.

a: activo; T0a: en el momento de inclusión en el estudio e inicio de la ITOR con huevo; T1a: a los 15 días del fin de la FI de tolerancia oral de la ITOR; T2a: al mes del T1 en mantenimiento con huevo en el domicilio; T3a: a los 3 meses del T2 en mantenimiento con huevo en el domicilio; FI: fase de inducción de tolerancia oral a huevo; FM: fase de mantenimiento con toma de huevo en el domicilio; PODCCP: provocación oral doble ciego controlada con placebo. *Duración variable de la FI de la ITOR basada en protocolo de 5 días.

- ❖ Grupo control (GC) (Fig. 20 – Anexo II)

T0: momento de inclusión en el estudio y continuación de dieta de exclusión de huevo.

T3: a los 5 meses bajo dieta de exclusión de huevo. Se les somete a PODCCP y, si positiva, inician la ITOR con huevo.

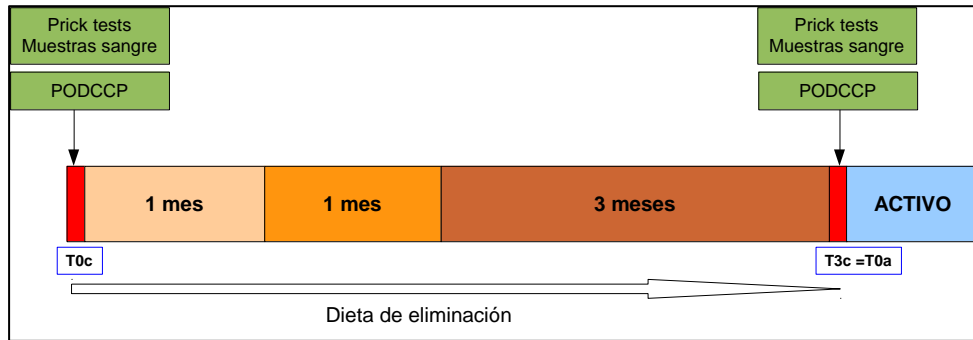


Figura 20. Esquema del estudio según los tiempos de evaluación e intervenciones en el grupo control.

c: control; T0c: en el momento de inclusión en el estudio; T3c: a los 5 meses de realizar dieta de exclusión de huevo, corresponde al T0a cuando entra a formar parte del grupo activo para inicio de la ITOR con huevo; PODCCP: provocación oral doble ciego controlada con placebo.

Los tiempos de análisis de la población completa del estudio fueron como sigue (Fig. 21 – Anexo II):

T0: momento de inclusión en el estudio e inicio de la ITOR con huevo (ITO1) versus continuación de dieta de exclusión de huevo (GC).

T1: a los 15 días del fin de la FI de la ITOR con huevo (duración según protocolo de 5 días) y toma de dosis de huevo domiciliarias.

T2: al mes del T1 en mantenimiento con toma de dosis de huevo domiciliarias.

T3: a los 3 meses del T2 en mantenimiento con huevo en el domicilio (ITO1) versus a los 5 meses bajo dieta de exclusión de huevo (GC); corresponde al T0 cuando los pacientes del GC inician la ITOR con huevo.

Los procedimientos relativos a la ITOR, los formularios de registro clínico, los marcadores inmunológicos y la PODCCP se realizaron de acuerdo con los grupos y los tiempos indicados en la Figura 21.

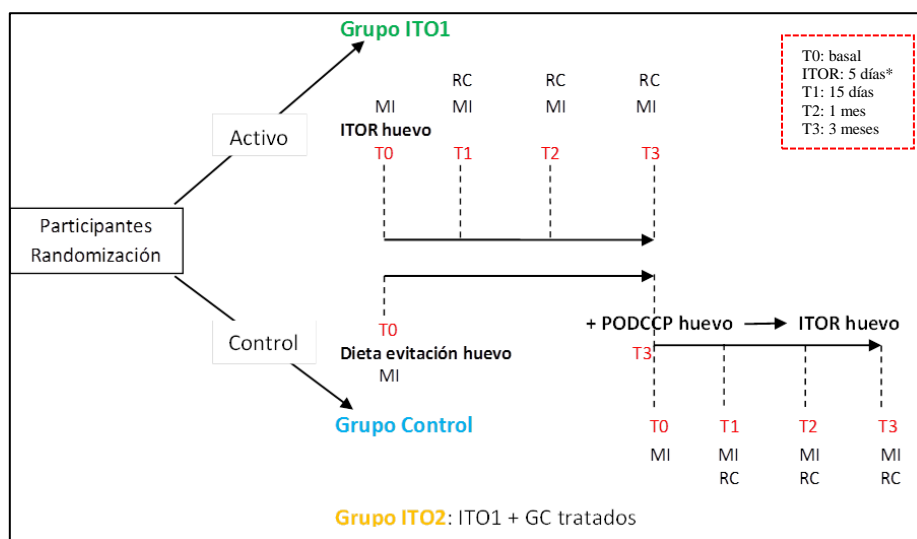


Figura 21. Diagrama de flujo del estudio según los grupos y las intervenciones del estudio.

*ITOR: inmunoterapia oral rápida; MI: marcadores inmunológicos; PODCCP: provocación oral doble ciego controlada con placebo; RC: registro clínico. *Duración variable de la FI de la ITOR basada en protocolo de 5 días.*

En la Tabla 17 se detallan las evaluaciones realizadas según los grupos de intervención y tiempos del estudio. Las intervenciones y los análisis de la ITOR con huevo en el GC se realizaron en los mismos tiempos que los especificados para la ITOR en el grupo ITO1.

Tabla 17. Evaluaciones realizadas según los grupos de intervención y tiempos del estudio.

| | Tiempo de estudio | | | | | | | | | |
|-------------------------------|-------------------|------|------|------|------|------|------|----|------|------|
| | T0 | | | T1 | | T2 | | T3 | | |
| Grupo intervención | GC | ITO1 | ITO2 | ITO1 | ITO2 | ITO1 | ITO2 | GC | ITO1 | ITO2 |
| Nº pacientes | 14 | 19 | 33 | 18 | 32 | 17 | 30 | 14 | 17 | 30 |
| Historia clínica | + | + | + | | | | | | | |
| Exploración física | + | + | + | | | | | | | |
| PODCCP huevo | + | + | + | | | | | + | | |
| RAs en ITOR huevo | | | | + | + | + | + | | + | + |
| Factores subjetivos | | | | | | | | | + | + |
| Factores facilitadores | | | | | | | | | + | + |
| PTs neumalérgenos | + | + | + | | | | | | | |
| PTs huevo | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Eosinófilos sangre periférica | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| IgE total | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| IgE e IgG4 específicas | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Ratio IgE/IgG4 | | | + | | + | | + | | | + |
| Nº pacientes | 13 | 17 | 30* | | 30 | | | 13 | 17 | 30 |
| Citoquinas | + | + | + | | + | | | + | + | + |
| Genes células T | + | + | + | | + | | | + | + | + |
| Nº pacientes | 8 | 8 | 16* | | | | | 6 | 4 | 10 |
| Células FoxP3 | + | + | + | | | | | + | + | + |

*También se analizaron 9 pacientes no alérgicos (NA) del mismo rango de edad para comparar a nivel basal el perfil inmunológico respecto al grupo ITO2.

En la Tabla 18 se detalla la población analizada por cada objetivo planteado del estudio.

Tabla 18. Población analizada por cada objetivo del estudio.

| Primario | Secundarios |
|---|---|
| i. Eficacia ITO1 versus GC en T0 y T3 ITO2 en T0 y T3 | i. Seguridad ITO2 en T0, T1, T2 y T3 |
| | ii. Cambios inmunológicos ITO1 en T0 y T3 GC en T0 y T3 ITO1 versus GC en T0 y T3 ITO2 en T0, T1, T2 y T3 |
| | ii. Factores de riesgo ITO2 en T0 |

En la primera parte del estudio se compararon el grupo activo (ITO1) sometido a ITOR con huevo con respecto al GC que realizaba dieta sin huevo, con el objetivo de determinar el efecto la intervención terapéutica.

En la segunda parte del estudio, tras someter a los controles a la ITOR con huevo, se analizaron las variables en un único grupo que incluía a todos los pacientes que realizaron la ITOR (ITO2), con el objetivo de observar cambios intragrupo durante el tratamiento.

5.5 Datos demográficos y antecedentes clínicos

Se recogieron datos demográficos de los pacientes como sexo, edad actual, fecha de nacimiento y fecha de consulta, así como teléfonos de contacto.

Igualmente, se recogió información detallada sobre:

- 1) Antecedentes personales de alergia: dermatitis atópica, urticaria/angioedema, rinoconjuntivitis, asma bronquial, sensibilización a neumoaérgenos, infecciones frecuentes en la infancia y alergia a alimentos.
- 2) Antecedentes personales de otras enfermedades concomitantes de interés, así como la toma actual de medicamentos.
- 3) Antecedentes familiares de primer grado de alergia.
- 4) Datos personales con relación al huevo:
 - Edad de introducción del huevo.
 - Orden de introducción (yema → clara → huevo completo).
 - Edad de la primera RA.
 - Tolerancia previa, tras la primera toma o sensibilización en PTs en pacientes alérgicos a leche.
 - Periodo de latencia.
 - Síntomas presentados.
 - Antecedentes de reacciones por exposiciones accidentales inadvertidas posteriores.
 - Antecedentes de anafilaxia y fecha del último episodio.

También se realizó una exploración física general y específica por aparatos.

En una base Access se recogieron los datos de cada paciente así como las variables a estudio y los evolutivos, información que automáticamente quedaba recogida también en la base Excel de análisis. En dicho Excel, los pacientes fueron identificados mediante codificación interna por iniciales, número y grupo para asociarlos con sus respectivos resultados.

5.6 Procedimientos in vivo

5.6.1 Prick tests: neumoaérgenos inhalantes y fracciones proteicas de huevo

Se estudió la existencia de sensibilización alérgica (sin tener en cuenta la relevancia clínica) mediante PT a neumoaérgenos inhalantes y la alergia a huevo mediante respuesta cutánea a fracciones proteicas de huevo.

Los PTs se realizaron y evaluaron de acuerdo con las recomendaciones de la EAACI [251]. Para ello se empleó una batería estándar de extractos comerciales de inhalantes (ácaro *Dermatophagoides pteronyssinus* 30 HEP [10 µg/mL de Der p 1 y 20 µg/mL de Der p 2], hongo alternaria 30 HEP [25 µg/mL de Alt a 1], pólenes phleum 30 HEP [60 µg/mL de Phl p 5], olea 30 HEP [180 µg/mL de Ole e 1 y 6 µg/mL de Ole e 9] y *Cupressus arizónica* 30 HEP, y epitelios de perro 10 HEP y gato 10 HEP) (Laboratorios ALK-Abelló, Madrid, España) y fracciones proteicas de huevo (huevo completo 5 mg/mL, clara 1 mg/mL, yema 1 mg/mL, OVA 1 mg/mL y OVM 1 mg/mL) (Laboratorio Leti, Madrid, España). Se utilizaron lancetas estandarizadas (Laboratorios ALK-Abelló, Madrid, España) con una punta de 1 mm, que se introducían perpendicularmente en la epidermis del antebrazo a través de una gota de cada extracto alergénico y de una gota de las soluciones de control positivo (histamina 10 mg/mL) y negativo (suero salino) (ambos Laboratorios ALK-Abelló, Madrid, España). La lectura del resultado se realizó a los 15 min, considerándose positivo si se producía una pápula ≥ 3 mm de diámetro sobre el control negativo. Para la correcta interpretación de estas pruebas cutáneas se interrumpió la toma de antihistamínicos u otros fármacos capaces de interferir con el resultado durante el tiempo que recomienda la EAACI, si es que el paciente los estuviera utilizando.

5.6.2 *Material utilizado para la PODCCP y la ITOR con huevo*

La clara de huevo cruda en polvo pasteurizada y deshidratada (CHD) se obtiene a partir de huevos de la especie *Gallus gallus domesticus* (OVO-SEC S.A., Valladolid, España). Este material es equivalente en alergenicidad a la clara cruda, como se ha demostrado previamente [252]. Por lo tanto, la CHD puede ser utilizada como clara cruda de huevo en los procedimientos diagnósticos y terapéuticos de alergia a huevo. Este producto está comercializado como OVO-DES NM® y OVO-PRO NM® (Nutrición Médica S.L., Madrid, España) en dosis individuales de diferentes cantidades (Tabla 19 y Fig. 22) para realizar ambas intervenciones diagnóstica-terapéuticas. Según el productor, 3600 mg de dicho producto corresponden a 43 mL de clara de un huevo de tamaño mediano y su contenido proteico es del 78% (aproximadamente 2808 mg de clara). Puede almacenarse a temperatura ambiente hasta 18 meses.

Tabla 19. Número de dosis, presentación y miligramos correspondientes del producto OVO-DES®.

| Dosis | Presentación | Cantidad (mg) |
|-------|--------------|---------------|
| 1 | Cápsula | 4 |
| 2 | Cápsula | 20 |
| 3 | Cápsula | 50 |
| 4 | Cápsula | 100 |
| 5 | Cápsula | 225 |
| 6 | Cápsula | 450 |
| 7 | Sobre | 900 |
| 8 | Sobre | 1800 |
| 9 | Sobre | 3600 |



Figura 22. Presentación comercial del producto OVO-DES®.

El placebo empleado para realizar la PODCCP consistió en 50 mL de batido de soja más cacao.

5.6.3 *Provocación oral doble ciego controlada con placebo o prueba de exposición oral doble ciego controlada con placebo*

La PODCCP se realizó bajo las recomendaciones sobre toma de medicación, estado del paciente y recursos necesarios indicadas por la EAACI [36]. Para la administración del activo de la prueba de PODCCP, se diluyeron 50 mL de batido de soja más cacao con un sobre de 3600 mg de CHD mezclados con una mini-batidora. Como placebo se administró el batido de soja más cacao sin CHD. Las dos provocaciones se realizaron en días seguidos en la misma semana. Las 8 dosis sucesivamente crecientes se administraron según protocolo (Tabla 20 – Anexo III) cada 20 min si la previa era tolerada hasta alcanzar la dosis final (aproximadamente 2808 mg de proteína de clara) o bien hasta la aparición de una respuesta alérgica inmediata objetiva (urticaria, rinitis/rinoconjuntivitis, broncoespasmo, vómitos, hipotensión) o subjetiva tipo dolor abdominal con duración >40 min o dolor abdominal grave independientemente de su duración (prueba positiva). Los pacientes que tomaron el total de CHD sin presentar RA fueron considerados como no alérgicos (prueba negativa). Todos los pacientes permanecieron bajo observación durante al menos 2 horas desde la última dosis administrada o desde la resolución de los síntomas (en caso de PO positiva).

El resultado de la PODCCP fue registrado de forma detallada. Se tuvieron en cuenta la toma de medicación concomitante por otra patología alérgica (broncodilatadores, corticoides inhalados, antagonistas de receptores de leucotrienos). En el caso de PODCCP positiva, se registró la clínica experimentada, la dosis de huevo que ocasionó la reacción y el tratamiento requerido para su control. En el caso de resultado negativo, se catalogó al paciente como “tolerante natural” y no se incluyó en el estudio por no cumplir el criterio de inclusión.

En el GC la PODCCP se realizó al inicio y 5 meses después antes de someterse al protocolo de ITOR con huevo para constatar la persistencia de la alergia a huevo y la dosis umbral de CHD que provocaba la reacción al inicio del tratamiento.

Tabla 20. Protocolo de PODCCP con CHD.

| Nº dosis | Dosis de CHD (mg) | Volumen (mL) | Proteína clara (mg) |
|----------|-------------------|--------------|---------------------|
| 1 | 4 | 0.05 | 3.12 |
| 2 | 20 | 0.3 | 15.6 |
| 3 | 50 | 0.7 | 39 |
| 4 | 100 | 1.5 | 78 |
| 5 | 225 | 3 | 175.5 |
| 6 | 450 | 6.2 | 351 |
| 7 | 900 | 12.5 | 702 |
| 8 | 1800 | 25.75 | 1404 |

5.6.4 Inmunoterapia oral rápida con huevo

La ITOR con huevo fue diseñada para una FI de 5 días de duración con administraciones de las dosis en el Hospital de Día del hospital (Tabla 21 – Anexo IV). Se realizó de forma ambulatoria. Cada dosis correspondiente de CHD se mezcló en 30-50 mL de zumo o batido de sabor. La FI se inició con la última dosis aislada tolerada por el paciente en la prueba de PODCCP. Si tras 1 hora de observación tras la administración de la dosis el paciente no presentaba RA o ésta era de carácter leve y autolimitada, se procedía a administrar la(s) dosis siguiente(s) hasta finalizar el protocolo pautado para cada día de tratamiento, con un periodo de observación final de 2 horas. En caso de RA, la dosis previa tolerada se administraba como primera dosis el día siguiente. Durante el fin de semana los pacientes continuaban tomando la última dosis tolerada en el domicilio. La dosis objetivo final era de 3600 mg pero el último día del protocolo se administraba una dosis acumulada de 5400 mg (aproximadamente 4212 mg de proteína de clara) para mayor seguridad.

Tabla 21. Protocolo de fase de inducción de la ITOR con CHD iniciando con la última dosis tolerada en la PODCCP.

| PODCCP positiva con CHD (mg) | Día ITOR | Número dosis | Dosis inicio de ITOR con CHD (mg) | Proteína clara (mg) |
|------------------------------|----------|--------------|-----------------------------------|---------------------|
| 4 | 1 | 1 | 0.04 | 0.03 |
| | | 2 | 0.08 | 0.06 |
| | | 3 | 0.16 | 0.125 |
| | | 4 | 0.32 | 0.25 |
| | | 5 | 0.64 | 0.50 |
| 20 | 2 | 6 | 0.4 | 0.31 |
| | | 7 | 0.8 | 0.62 |
| | | 8 | 1.6 | 1.25 |
| | | 9 | 4 | 3.12 |
| | | 10 | 20 | 15.6 |
| 50 100 225 450 | 3 | 11 | 20 | 15.6 |
| | | 12 | 50 | 39 |
| | | 13 | 100 | 78 |
| | | 14 | 225 | 175.5 |
| | | 15 | 450 | 351 |
| 900 1800 | 4 | 16 | 450 | 351 |
| | | 17 | 900 | 702 |
| | | 18 | 1800 | 1404 |
| | 5 | 19 | 1800 | 1404 |
| | | 20 | 3600 | 2808 |

Durante la FM el paciente debía tomar un sobre de 3600 mg de CHD durante la primera semana y, posteriormente, comer un huevo poco cocinado (huevo poco frito o revuelto, tortilla, mahonesa...) cada 48 horas, además de comer libremente alimentos que contuvieran huevo entre sus ingredientes.

5.6.5 *Clasificación y abordaje de reacciones adversas*

Las RAs se catalogaron, acorde a modificación de la clasificación de Clark y Ewan [253], en:

- Leves: SAO, dolor abdominal, náuseas/vómitos, rinitis, conjuntivitis y/o eritema/urticaria/edema localizado.
- Moderadas: dolor abdominal persistente, eritema/urticaria generalizada, angioedema facial/laríngeo y/o broncoespasmo leve.
- Graves: broncoespasmo grave y/o shock.

Los criterios utilizados para la anafilaxia siguieron las directrices de la EAACI [254]: aparición en minutos a varias horas de hipotensión o ≥ 2 de los siguientes (afectación de piel y/o mucosas, compromiso respiratorio, compromiso cardiovascular, síntomas gastrointestinales persistentes).

El protocolo terapéutico seguido en caso de RA en la ITOR con huevo fue el siguiente:

- SAO y/o dolor abdominal aislado:
 - Observación de resolución espontánea.
 - Continuación de la pauta.
 - En caso de dolor abdominal intenso y persistente (>40 min), administración de dexclorfeniramina jarabe (1.25 mL para niños de 2-6 años; 2.5 mL para 6-12 años; 5 mL para >12 años) y repetición de dosis al día siguiente.
- Vómitos y/o diarrea repetitivos:
 - Observación en consulta hasta su control.
 - Al día siguiente repetición de dosis; si la reacción se repetía, se volvía a la dosis anterior y, si ésta era tolerada, se seguía la pauta.
- Dermatitis peribucal o habones faciales:
 - Observación de resolución espontánea.
 - Continuación de la pauta.
- Urticaria generalizada y/o angioedema y/o rinoconjuntivitis:
 - Administración de dexclorfeniramina jarabe (1.25 mL para niños de 2-6 años; 2.5 mL para 6-12 años; 5 mL para >12 años) +/- prednisona comprimido (1 mg/kg).
 - Al día siguiente administración de la dosis anterior tolerada en consulta y continuación de la pauta.
- Disfonía y/o disfagia y/o disnea con sibilancias y/o disminución del nivel de conciencia:

- Por este orden, administración de adrenalina vía intramuscular (0.01 mg/kg), dexclorfeniramina jarabe (1.25 mL para niños de 2-6 años, 2.5 mL para 6-12 años, 5 mL para >12 años) y prednisona comprimido (1 mg/kg). Si fuera necesario, completar con otras medidas como oxigenoterapia, salbutamol (1-2 inhalaciones), hidrocortisona vía intravenosa (100-200 mg) o repetición de nueva dosis de adrenalina a los 20 min.
- Al día siguiente administración de la dosis anterior tolerada en la consulta y continuación de la pauta.
- Si se repite de forma recurrente la reacción de urticaria generalizada y/o angioedema y/o síntomas digestivos y/o en 2 ocasiones disnea con sibilancias:
 - Al día siguiente administración de la dosis anterior tolerada en consulta y, si ésta era bien tolerada, continuación con esta cantidad como dosis de mantenimiento y realización de pauta convencional de subida de dosis semanal hasta completar el protocolo.

Tras la PODCCP, el paciente debía premedicarse a diario con cetirizina 10 mg desde la tarde antes al inicio de la ITOR con CHD para minimizar síntomas leves como SAO o dolor abdominal. Este pre-tratamiento se debía mantener durante la FI y hasta la primera mitad de la primera semana de la FM con CHD en el domicilio.

En aquellos casos de dolor abdominal recurrente y de intensidad moderada-grave durante la ITO, se asoció tratamiento con cromoglicato disódico cápsulas (100 mg/6 horas) hasta finalizar la FI y se procedió a la reducción progresiva de dosis de esta medicación cada 7-14 días según control de la sintomatología.

Las causas para la suspensión de la ITOR con huevo (fracaso) fueron:

- >1 reacción grave
- >3 reacciones moderadas
- Decisión por parte del paciente o padres/tutores
- Baja adhesión al tratamiento

5.7 *Procedimientos in vitro*

5.7.1 *Hemograma*

Se realizó una extracción de hemograma en la primera consulta y en los seguimientos para determinar el nivel basal de eosinófilos en sangre periférica y observar si dicho nivel se modificaba tras someterse los pacientes a la ITOR con huevo.

Dicha cuantificación se llevó a cabo mediante venopunción antecubital y extracción de hemograma sanguíneo en el Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Infantil Universitario Niño Jesús (Madrid, España). Se emplearon tubos para hematología en plástico transparente con el interior recubierto de silicona y con K2 EDTA pulverizado en las paredes del tubo, con tapa de seguridad HEMOGARD y tapón siliconado hemorrepeleante (Cat. 367841, BD Diagnostic Systems).

La eosinofilia en sangre periférica se define como la presencia de un número >500 eosinófilos / mm^3 , clasificándose en leve si $500-1500/\text{mm}^3$, moderada si $1500-5000/\text{mm}^3$ o grave si $>5000 \text{ mm}^3$.

5.7.2 *IgE sérica total y específica e IgG₄ sérica específica a fracciones proteicas de huevo*

En cada extracción sanguínea se recogió suero para determinar el nivel basal de IgE total, IgE e IgG₄ específicas a huevo, así como su evolución durante el protocolo con el objetivo de determinar si dichos valores se relacionaban con la eficacia y seguridad clínicas del tratamiento.

Se analizaron los niveles de IgE sérica total y específica frente a las fracciones proteicas de huevo (huevo completo, clara, yema, OVA, OVM y lisozima) mediante fluoroenzimoinmunoanálisis (ImmunoCAP System, Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts) en el Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Infantil Universitario Niño Jesús (Madrid, España). Se siguieron las indicaciones del fabricante en todas las muestras de suero con EDTA de los pacientes activo y control para evaluar la sensibilización alérgica. El resultado se expresó en kU/L. Igualmente, se empleó dicho sistema para analizar los niveles de IgG₄ sérica específica frente a proteínas de huevo (clara, OVA y OVM).

En esta técnica *in vitro* cualitativa y semicuantitativa se utiliza el ImmunoCAP⁶ (Fig. 23), que es un inmunoanálisis en sandwich. Consiste en una estructura sólida de celulosa hidrófila dentro de una cápsula activada con bromuro de cianógeno que facilita la reacción antígeno-anticuerpo. El alérgeno unido de manera covalente a la fase sólida reacciona con la IgE específica del suero estudiado. Se añaden anticuerpos anti-IgE marcados con la enzima β -galactosidasa, formándose un inmunocomplejo Alérgeno + IgE específica + Anticuerpos anti-IgE marcados. Después de la incubación, la anti-IgE no unida marcada es eliminada mediante otro lavado y el complejo final es posteriormente incubado con un agente de desarrollo. Después de detener la reacción, se mide la fluorescencia del eluido en un lector. La fluorescencia detectada es proporcional a la cantidad de IgE específica del suero del paciente estudiado. Este mismo método se sigue para medir la IgG₄ específica.

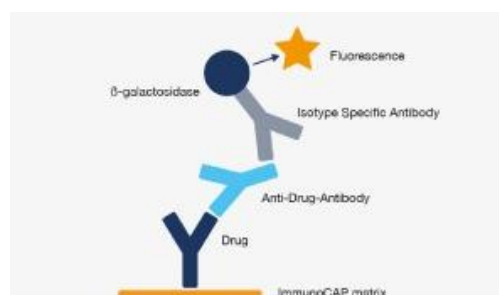


Figura 23. Diagrama esquemático del principio del ImmunoCAP⁷.

⁶ Extraído de <http://www.phadia.com/es/5/Productos/Ensayos/1/Principio-del-test-ImmunoCAP-Specific-IgE/>

⁷ Extraído de <http://diagnostics.thermofisher.com/partner/us/en/partnering.html>

En el Laboratorio del Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL) perteneciente al Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) de Madrid - Universidad Autónoma de Madrid (UAM) se realizaron las distintas pruebas inmunológicas que se detallan a continuación. Dichos tests se llevaron a cabo en base a aspectos básicos de la alergia y la ITO con alimentos (Fig. 24): división de población de células T, factores de transcripción reguladores, citoquinas y otros mediadores así como inmunoglobulinas que intervienen en la respuesta frente a la exposición a un antígeno.

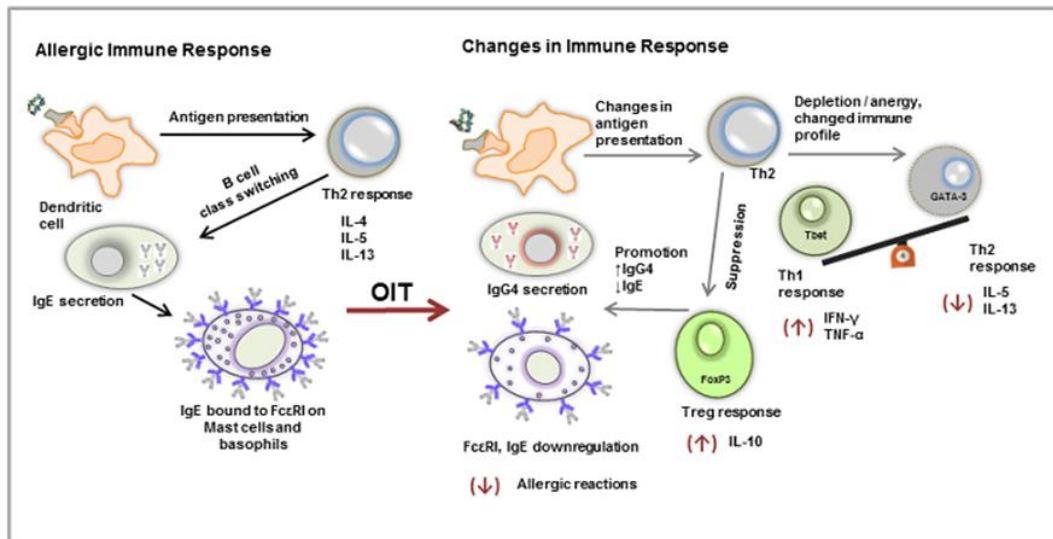


Figura 24. Población de células T, genes y mediadores de la respuesta inmune. Cambios inmunológicos inducidos por la ITO (OIT)⁸.

5.7.3 Cuantificación de producción *in vitro* de citoquinas

Se recogió sangre para determinar la producción *in vitro* de citoquinas de perfil tipo Th1, Th2 y Treg, en los tiempos T0, T1 y T3 del estudio, para definir si dicho perfil inmunológico se modificaba tras la ITOR con huevo. Además, se evaluó la producción basal de citoquinas en un grupo de individuos NA del mismo rango de edad para comparar el perfil inmunológico entre niños alérgicos a huevo y no alérgicos.

En primer lugar, se recogieron muestras de sangre periférica en tubos tratados con EDTA y fueron centrifugadas a 150 g durante 15 minutos a 20 °C para separar los sueros de las muestras de sangre completa. Se aislaron células polimorfonucleadas a través de un gradiente de Ficoll (Ficoll-Paque PLUS, GE Healthcare, Barcelona, España). Para este procedimiento, la sangre se diluyó 1:1 con solución salina tamponada con fosfato (PBS) sin Ca⁺⁺/Mg⁺⁺ y se colocó suavemente en un tubo cónico con Ficoll. Después de la centrifugación a 500 g durante 30 min a 20 °C con aceleración lenta y sin desaceleración para evitar la mezcla de las fases, se aspiró la capa que contenía las células desde la interfaz plasma-Ficoll

⁸ Extraído de Tesis Doctoral “Milk and egg allergies in children. Immunological changes and mechanisms underlying oral immunotherapy”. Laura Perezábad García (CSIC-UAM).

con una pipeta de transferencia desechable, se transfirió a un nuevo tubo cónico y se lavó dos veces mediante centrifugación con PBS a 300 g durante 10 minutos a 20 °C.

Las células polimorfonucleadas sedimentadas (2×10^6 céls/mL) fueron cultivadas *in vitro* con OVA (200 µg/mL; Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) en medio AIM-V (Biowest, Nuaille, Francia) durante 72 horas a 37 °C al 5%. Se empleó OVA en lugar de OVM ya que corresponde al mayor porcentaje proteico de la clara. El medio solo se empleó como control negativo y el mitógeno fitohemaglutinina (PHA) (4 µg/mL; Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) como control positivo. Todos los experimentos se realizaron en placas de 24 pocillos (Corning, New York) con un volumen final de 1 mL de medio. Después de la estimulación específica del alérgeno, las placas se centrifugaron a 1100 rpm durante 10 min y los sobrenadantes se congelaron a -80 °C.

Tras la incubación, se evaluó la respuesta celular en los sobrenadantes recogidos a través de un panel completo de citoquinas tipo Th1 (IFN- γ , TNF- α) como Th2 (IL-5, IL-13) y Treg (IL-10). Estos experimentos de cuantificación se llevaron a cabo mediante multiplex bead assay (BD™ Cytometric Bead Array, BD Biosciences, CA, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante. Las concentraciones de citoquinas detectadas se calcularon usando curvas estándar de 10 puntos de cada una de las citoquinas humanas (0-2500 pg/mL). Se empleó el citómetro de flujo Gallios™ (Beckman Coulter, Barcelona, España) para la adquisición de datos, los cuales fueron analizados mediante software Beckman Coulter Kaluza y FCAP Array v3 (BD Biosciences). Los resultados se expresaron como la cantidad de citoquina detectada después de la estimulación con OVA menos la cantidad detectada después de la estimulación *in vitro* con el control negativo.

5.7.4 **Análisis del perfil genético de la población de células T**

Se trató de definir el perfil genético de la población de células T mediante los factores de transcripción T-bet (Th1), GATA3 (Th2) y FoxP3 (Treg), al inicio del estudio (T0) y durante el tratamiento (T1 y T3) en el ITO2, para determinar la influencia de la ITOR con huevo sobre el perfil génico. Un valor de RQ <1 significa que el gen se expresa menos, RQ=1 que no hay cambio en la expresión y RQ >1 el gen se expresa más (por consenso hay establecido que un valor de RQ <0.5 y un valor >2 puede considerarse un movimiento en la expresión lo suficientemente grande como para considerar relevante el cambio genético).

Para el análisis del perfil genético por PCR cuantitativa, células polimorfonucleadas sedimentadas remanentes tras incubación con OVA se almacenaron a -80 °C en Trizol para posteriormente llevar a cabo la extracción del RNA a través de un proceso automatizado siguiendo el kit iPrep™ TRIzol® Plus RNA Kit (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante. La integridad del RNA total se evaluó cualitativamente mediante el sistema Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) y se cuantificó midiendo los ratios de las absorbancias A260/A280 mediante NanoDrop ND1000 (Thermo Fisher Scientific Inc. MA, USA). El DNA complementario (cDNA) se sintetizó a partir del RNA total extraído empleando el Transcriptor First Strand cDNA Synthesis Kit (Roche, Mannheim, Alemania) siguiendo las instrucciones del fabricante. Para llevar a cabo los análisis de PCR a tiempo real se empleó un sistema de detección

ViiA™ 7 Real-Time PCR System (Applied Biosystems) usando un total de 6 ng del cDNA transcrito y las sondas TaqMan Gene Expression Assay (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) para los factores de transcripción GATA3 (Human Assay ID Hs00231122m1), T-bet (ID Hs00203436m1) y FoxP3 (ID Hs01085834m1) siguiendo las instrucciones del fabricante. Los datos obtenidos se normalizaron con respecto al gen que codifica para la hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa (HPRT) (ID Hs02800695m1). El programa de amplificación utilizado fue: 1 ciclo de calentamiento (Hold Stage) durante 2 minutos a 50 °C y 10 min a 95 °C y, posteriormente, 40 ciclos de amplificación (PCR Stage) durante 15 segundos a 95 °C y 1 min a 60 °C. Todas las reacciones se llevaron a cabo por triplicado. El valor medio de las replicaciones para cada muestra se expresó como el ciclo de cuantificación (Cq). Los valores relativos de expresión génica (RQ) de un gen entre dos tiempos del tratamiento se calcularon según lo publicado por Livak y Schmittgen [255].

5.7.5 *Detección de células FoxP3*

Por último, a partir de la sangre extraída se detectó el nivel de células FoxP3, basal (T0) y en el evolutivo T3, para determinar si la ITOR con huevo promueve el desarrollo de estas células de perfil Treg. También se detectó el nivel basal de células FoxP3 en el grupo de individuos NA para comparar el perfil inmunológico entre niños alérgicos a huevo y no alérgicos.

Para el análisis del porcentaje de células T reguladoras CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ en células polimorfonucleares tras su estimulación con OVA, las células primero se sometieron a tinción superficial con anticuerpos conjugados con fluoróforos CD4-FITC y CD25-APC (eBiosciences) durante 15 min a 4 °C en la oscuridad. Posteriormente se llevó a cabo una tinción intracelular con el anticuerpo fluorescente anti-FoxP3-PE tras un protocolo de fijación y permeabilización celular (eBiosciences) siguiendo las instrucciones del fabricante. Se incluyeron controles isotípicos para cada condición. Las muestras se analizaron en un citómetro de flujo Gallios™ (Beckman Coulter, Francia). Se adquirieron al menos 10.000 eventos para cada condición y los datos se procesaron a través del software Kaluza (Beckman Coulter, Francia).

5.8 *Seguimiento clínico y encuesta evolutiva*

Se entregó información a padres y pacientes (si >11 años) para administrar las dosis de CHD y posteriormente de huevo, así como el tratamiento para controlar las RAs que pudieran acontecer (Anexo V).

Para el análisis del protocolo de ITOR con huevo se determinó la dosis de CHD inicial basada en la última dosis tolerada en la PODCCP basal, el número de dosis necesarias para completar la FI y la duración de la FI.

Para valorar la seguridad del protocolo de ITOR con huevo se registraron las RAs por dosis y paciente, el tipo de síntomas y gravedad y el tratamiento administrado para su resolución.

El seguimiento clínico durante la FM se realizó mediante un calendario (Anexo VI) de registro de datos que incluía: administración de las dosis, síntomas de RAs, empleo de medicamentos para el control sintomático y posibles factores facilitadores de RAs (estrés, ejercicio físico, infecciones, toma de AINEs). El paciente debía cumplimentar cada casillero con una "X" en el caso de acontecer alguna RA durante el mantenimiento domiciliario con CHD y, posteriormente, con huevo poco cocinado. En cada consulta de revisión se recogió información detallada de cada RA en formato Word, así como factores subjetivos relacionados en la base Excel de análisis: adherencia a la toma de huevo (sí/no), gusto por el alimento (mucho, algo, nada) y miedo a comerlo poco cocinado (mucho, poco, nada).

Se realizó una encuesta telefónica a los 27-32 meses de finalizar el protocolo para investigar el estado del paciente con respecto a la toma de huevo. Se les preguntó: hábitos de la toma de huevo, si había acontecido alguna incidencia, si les gustaba comerlo y si habían realizado una dieta de evitación del alimento para su introducción posterior mediante PO con el fin de confirmar la falta de respuesta sostenida al huevo o, por el contrario, habían precisado una nueva ITO con el mismo.

5.9 Análisis estadístico

La información de cada paciente del estudio fue reunida en archivos de Microsoft Office Access y Excel con el fin de obtener una recopilación detallada y sistemática de los datos. Las características de los pacientes y el porcentaje de ellos que alcanzaron la tolerancia tras la FI de la ITO con huevo fueron evaluados y comparados con la evolución natural en el GC e intragrupo para valorar los cambios inmunológicos producidos por la intervención terapéutica.

El tamaño muestral necesario fue predeterminado para estimar las proporciones de pacientes tras la ITO con huevo y sin ella: con un alpha del 95% y un poder estadístico (1b) del 90%; una proporción esperada del 86% en el grupo ITO1 basada en el estudio de García Rodríguez y cols [179] y del 20% en el GC, aunque se esperaba encontrar una proporción muy baja en este grupo. Suponiendo que el 20% de los participantes se perdieran en el seguimiento en cada grupo, el tamaño muestral mínimo requerido fue de 12 pacientes en cada grupo. Finalmente, se incluyeron algunos pacientes más por la oportunidad de hacerlo y para asegurar el logro de nuestro objetivo final. Todos los resultados clínicos fueron evaluados por análisis de intención de tratar.

A fin de resumir la información de los datos, se calcularon valores descriptivos estadísticos para las variables cuantitativas (media, desviación estándar (SD) y mínimo & máximo para aquellas con distribución normal; mediana y cuartiles Q1 & Q3 para las de distribución no normal). Las variables cualitativas fueron resumidas en tablas de frecuencia.

El tratamiento estadístico de los datos se realizó como sigue: el test de Shapiro-Wilk para verificar la distribución normal de los datos; el test de la t-Student para muestras independientes y su correspondiente test no paramétrico de la U de Mann-Whitney para comparar las variables estudiadas entre el ITO1 y el GC; el test de la t-Student para muestras apareadas y su correspondiente test no paramétrico de Wilcoxon para comparar los mismos

parámetros en el ITO2 entre los distintos tiempos de estudio (T1, T2, T3) con sus valores basales (T0); el análisis de la varianza (ANOVA) de medidas repetidas para contrastar el efecto del factor tiempo como factor intrasujetos en los diferentes seguimientos y el test no paramétrico de Kruskal-Wallis para comparar el valor medio de las variables en los diferentes grupos; el test no paramétrico de la Chi-cuadrado de Pearson para comprobar la dependencia entre variables cualitativas y el test exacto de Fisher para comparar proporciones de datos categóricos en tablas de contingencia. Se utilizó la prueba estadística de doble cola con un nivel de significación del 5% y una potencia del 80%; se consideró un valor de $P < 0.05$ para la significación estadística.

El análisis de regresión multivariante se empleó para analizar las variables relacionadas con el número de días necesarios para la FI de la ITOR. El análisis de regresión logística univariante y, posteriormente, multivariante se utilizaron para predecir factores de riesgo independientes para sufrir >2 RA. Mediante el análisis de la curva característica operativa del receptor (curva COR), se estudiaron los niveles de PT, IgE e IgG₄ séricas específicas y ratios IgE/IgG₄ específicas en T0 para predecir >2 RA. Tras identificar el punto de corte, se calcularon los valores predictivos positivos y negativos para determinar dicha probabilidad de desarrollar >2 RA.

Para el procesamiento de los datos se emplearon los paquetes estadísticos STATISTICA versión 7.1 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA) y STATA versión 12 (StataCorp LP, College Station, TX, USA).





Resultados experimentales



6 Resultados experimentales

6.1 Comparación grupo activo (ITO1) con grupo control (GC)

Se ofreció participar en el estudio a 40 pacientes que se encontraban en la base de datos, de los cuales 4 no acudieron a la PODCCP y en 3 casos dicha prueba fue negativa, por lo que salieron del estudio. Finalmente, 33 pacientes fueron aleatorizados, 19 de ellos al grupo ITO1 y 14 al GC.

6.1.1 Análisis descriptivo de la población

6.1.1.1 Sexo y edad

El sexo predominante de los pacientes incluidos fue masculino (54.55%; ITO1 11M/8F, GC 7M/7F; $P=0.652$) (Fig. 25).

Con respecto a la edad, la media total al inicio del estudio fue de 10.4 años (SD 2.55), con una distribución homogénea por grupos y con predominio de pacientes de 8 y 10 años (Fig. 26-27).

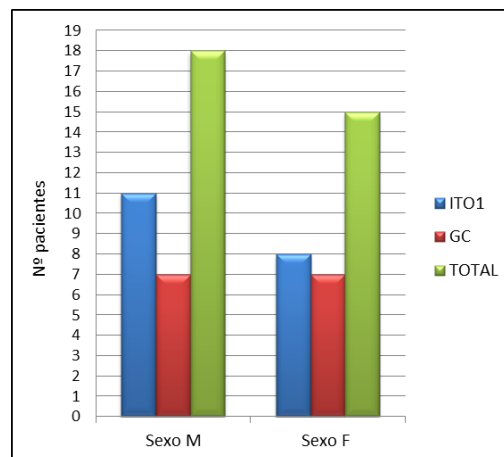


Figura 25. Sexo por grupos y total de pacientes incluidos en el estudio.

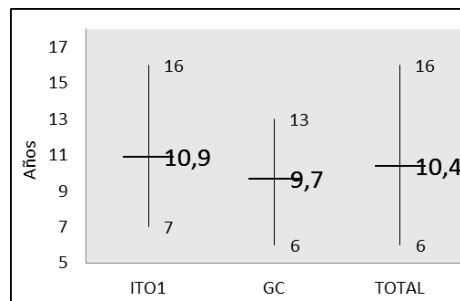


Figura 26. Máximo, media y mínimo de edad (en años) por grupos y total de pacientes al inicio del estudio.

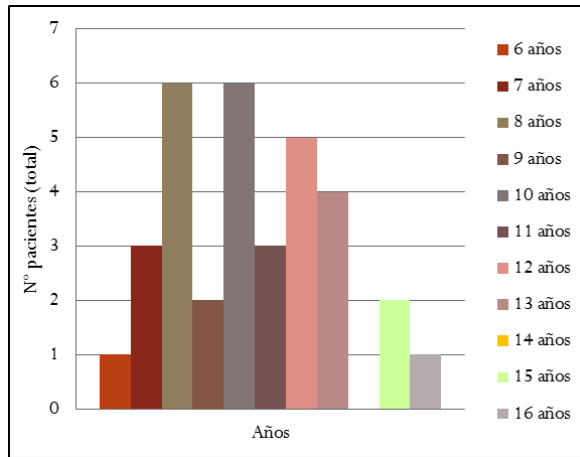


Figura 27. Distribución por edades (en años) del total de pacientes al inicio del estudio.

6.1.1.2 Antecedentes personales de alergia a alimentos

El 69.70% del total de pacientes presentaba alergia a otros alimentos (11 pacientes en ITO1: 57.90%, 12 pacientes en GC: 85.71%; $P > 0.05$) (Fig. 28), siendo el número máximo de alergias detectadas de 4 alimentos por paciente además del huevo (Fig. 29).

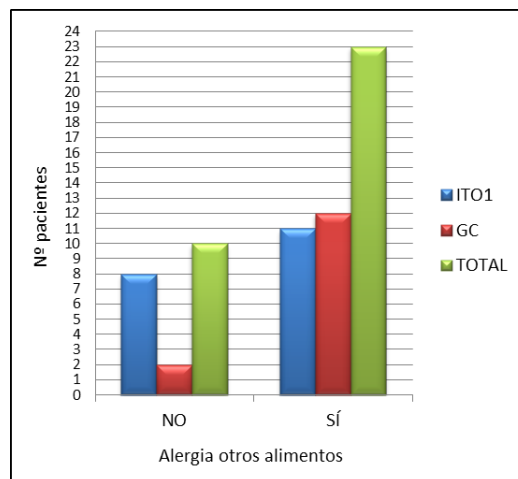


Figura 28. Alergia a otros alimentos por grupos y total de pacientes.

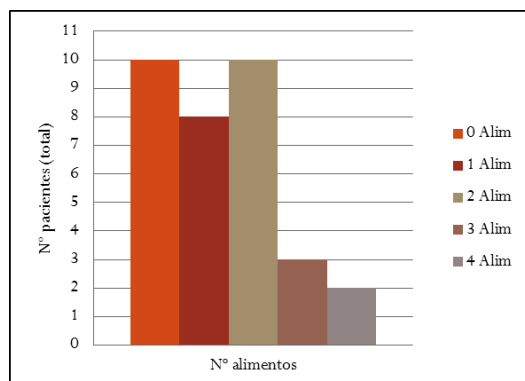


Figura 29. Número de alergias a otros alimentos por paciente.

Los alimentos más frecuentemente implicados fueron leche y frutos secos (Tabla 22).

Tabla 22. Tipos de alimentos implicados por total y grupos de pacientes del estudio.

| | TOTAL | ITO1 | GC | P |
|---------------------|-------------|------|----|-------|
| Leche | 11 (33.33%) | 5 | 6 | 0.319 |
| Frutos secos | 11 (33.33%) | 5 | 6 | 0.319 |
| Mariscos | 8 (24.24%) | 4 | 4 | 0.618 |
| Frutas | 7 (21.21%) | 3 | 4 | 0.374 |
| Pescados | 5 (15.15%) | 4 | 1 | 0.270 |
| Legumbres | 2 (6.06%) | 1 | 1 | 0.823 |
| Cereales | 1 (3.03%) | 0 | 1 | 0.236 |

6.1.1.3 Antecedentes personales de dermatitis atópica

El 100% de los pacientes había presentado dermatitis atópica durante la infancia encontrándose asintomáticos en el momento de inclusión en el estudio o controlada con medidas generales y medicación sintomática.

6.1.1.4 Antecedentes personales de enfermedades respiratorias alérgicas

El 78.79% (26) de los pacientes tenía antecedentes de enfermedad respiratoria. El 57.58% (19) presentaba asma bronquial intermitente o persistente controlado con inhaladores en monoterapia o en combinación corticoide + broncodilatador de corta duración, ya fuera por alergia a inhalantes o en contexto de infecciones respiratorias, y el 66.67% (22) presentaba rinitis +/- conjuntivitis con sensibilización alérgica. La distribución de frecuencias no mostró diferencias significativas entre ambos grupos: asma 10 pacientes en ITO1, 9 en GC; (P=0.503) y rinitis 12 pacientes en ITO1, 10 en GC (P=0.618) (Fig. 30).

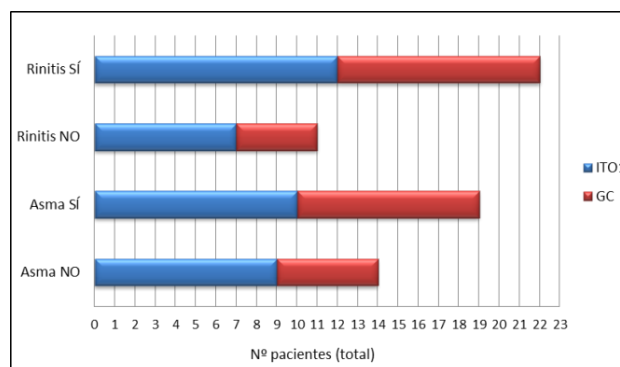


Figura 30. Número de pacientes por grupos con asma bronquial y rinitis.

6.1.1.5 Antecedentes personales de sensibilización a neuroalérgenos inhalantes

Todos los pacientes mostraron sensibilización en PT a una batería básica de neuroalérgenos inhalantes del territorio geográfico en el que se llevó a cabo el estudio, siendo los más frecuentemente detectados los pólenes seguidos del epitelio de perro (Fig. 31).

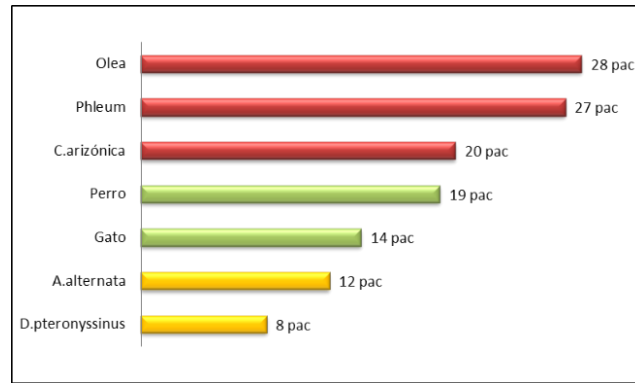


Figura 31. Frecuencia de neuroalérgenos inhalantes positivos en prick test por total de pacientes.

No se hallaron diferencias estadísticamente significativas para ninguno de los alérgenos testados en PT entre ambos grupos del estudio al inicio del mismo (Tabla 23).

Tabla 23. Media (SD) de prick tests (en mm) a neuroalérgenos inhalantes por total y grupos de pacientes del estudio.

| | TOTAL | ITO1 | GC | P |
|---------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------|
| Dermatophagoides pteronyssinus | 1.30 (1.75) | 1.57 (1.74) | 0.92 (1.77) | 0.300 |
| Alternaria alternata | 2.15 (2.79) | 1.94 (2.50) | 2.42 (3.22) | 0.112 |
| Perro | 2.87 (2.16) | 2.68 (2.38) | 3.14 (1.87) | 0.401 |
| Gato | 2.48 (3.28) | 3.05 (3.86) | 1.71 (2.19) | 0.447 |
| Phleum | 6.51 (3.58) | 6.94 (4.19) | 5.92 (2.55) | 0.470 |
| Olea | 6.48 (3.32) | 5.68 (3.90) | 7.57 (1.98) | 0.480 |
| Cupressus arizónica | 3.21 (2.64) | 3.73 (2.70) | 2.50 (2.47) | 0.747 |

6.1.1.6 Antecedentes familiares alérgicos

El 66.67% (14 pacientes en ITO1, 8 en GC; P=0.31) refirió la existencia de enfermedades alérgicas en familiares de primer grado sin significación estadística entre ambos grupos (Tabla 24).

Tabla 24. Antecedentes alérgicos en familiares de primer grado por total y grupos de pacientes del estudio.

| | Alergia a alimentos | | | Eczema | | | Asma bronquial | | | Rinitis | | |
|-----------------|---------------------|------------------------|---------|--------|------------------------|---------|----------------|------------------------|---------|---------|------------------------|---------|
| Madre | 9.09% | 2 pac ITO1 1 pac GC | P=0.738 | 12.12% | 1 pac ITO1 3 pac GC | P=0.159 | 9.09% | 2 pac ITO1 1 pac GC | P=0.738 | 27.27% | 6 pac ITO1 3 pac GC | P=0.517 |
| Padre | 3.03% | 1 pac ITO1 | P=0.383 | 0% | | | 6.06% | 1 pac ITO1 1 pac GC | P=0.823 | 39.39% | 8 pac ITO1 5 pac GC | P=0.710 |
| Hermanos | 18.18% | 4 pac ITO1 2 pac GC | P=0.618 | 24.24% | 3 pac ITO1 5 pac GC | P=0.186 | 12.12% | 2 pac ITO1 1 pac GC | P=0.743 | 18.18% | 4 pac ITO1 2 pac GC | P=0.618 |

6.1.2 Características clínicas de la alergia a huevo

6.1.2.1 Diagnóstico

De los 33 niños finalmente incluidos en el estudio, 10 pacientes (3 en ITO1 y 7 en GC) fueron diagnosticados de sensibilización a huevo por PT al someterse a estudio de alergia a leche en la infancia; posteriormente presentaron reacción alérgica (urticaria local por contacto y/o PO con huevo positiva) antes de incluirles en el estudio. Veintitrés pacientes consultaron al alergólogo por haber sufrido RA en relación con la toma de clara o huevo completo.

6.1.2.2 Síntomas en la primera reacción

Los síntomas más frecuentemente referidos en la primera RA por huevo fueron cutáneos (eritema/urticaria o exacerbación de la dermatitis) seguidos de digestivos (dolor abdominal y vómitos). No se encontraron diferencias significativas en ninguno de los síntomas entre el ITO1 y el GC. La mayoría de los pacientes presentaron 1-2 síntomas, sin diferencias significativas entre ambos grupos; solo 1 paciente del GC asoció >2 síntomas (Tabla 25 y Fig. 32-33).

Tabla 25. Síntomas referidos y afectación de órganos en la primera RA por huevo por total y grupos de pacientes del estudio.

| | TOTAL [34 RA] | ITO1 [22 RA] | GC [12 RA] | P |
|-------------------|----------------------|---------------------|------------------|-------|
| SAO | 1 (2.94%) | 0 (0%) | 1 (8.33%) | 0.179 |
| Digestivo | 8 (23.53%) | 6 (27.27%) | 2 (16.67%) | 0.491 |
| Dermatitis | 8 (23.53%) | 6 (27.27%) | 2 (16.67%) | 0.491 |
| Eritema/Urticaria | 11 (32.35%) | 7 (31.82%) | 4 (33.33%) | 0.929 |
| Angioedema | 6 (17.65%) | 3 (13.64%) | 3 (25%) | 0.410 |
| Rinitis | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 1.0 |
| Asma bronquial | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 1.0 |
| | TOTAL [23/33 pac] | ITO1 [16/19 pac] | GC [7/14 pac] | P |
| 1 síntoma | 14 (60.87%) | 10 (62.5%) | 4 (57.14%) | 0.810 |
| 2 síntomas | 8 (34.78%) | 6 (37.5%) | 2 (28.57%) | 0.683 |
| >2 síntomas | 1 (4.35%) | 0 (0%) | 1 (14.29%) | 0.137 |

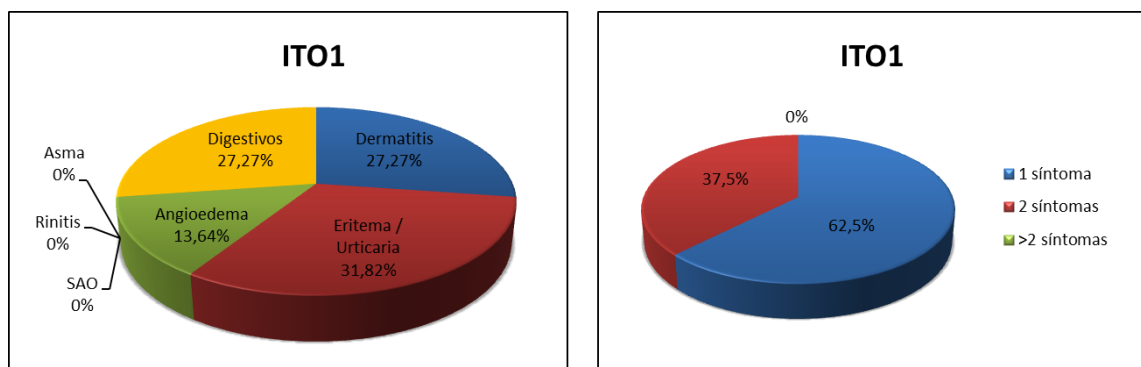


Figura 32. Síntomas referidos y afectación de órganos en la primera RA por huevo en el ITO1.

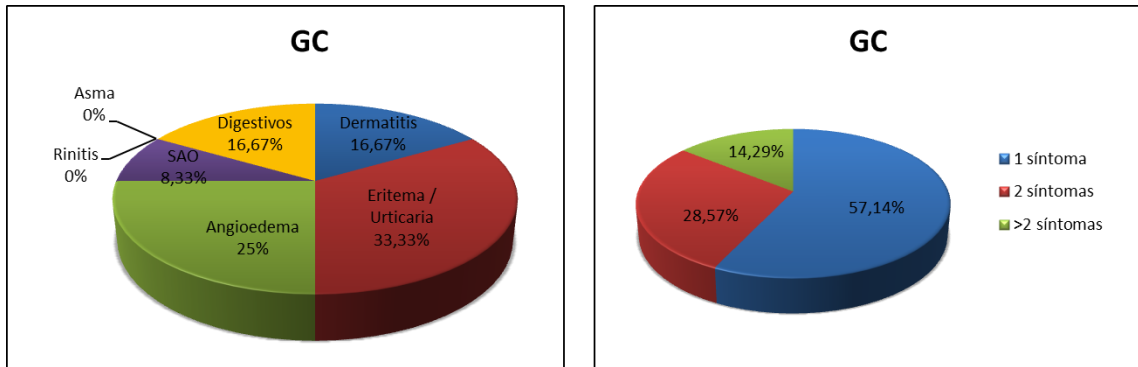


Figura 33. Síntomas referidos y afectación de órganos en la primera RA por huevo en el GC.

6.1.2.3 Edad de la primera reacción

La media de edad de la primera RA por huevo fue de 12.94 meses (SD 13.63, rango 5-84 meses), siendo de 11.05 meses en ITO1 y de 15.5 meses en GC ($P=0.436$). Diez de los 23 pacientes que habían sufrido síntomas los presentaron con la primera toma de clara cruda o huevo completo, mientras que los 13 restantes (8 sujetos en ITO1 y 5 en GC), a los que se les introdujeron las distintas partes del huevo de forma progresiva, los presentaron con un intervalo de media de 9.84 meses (mediana 3 meses) tras el 1^{er} contacto con yema (SD 20.08, rango 1-75 meses), siendo la media de 4.12 meses (mediana 2.5 meses) en ITO1 y de 19.0 meses (mediana 3 meses) en GC ($P=0.355$) (Fig. 34).

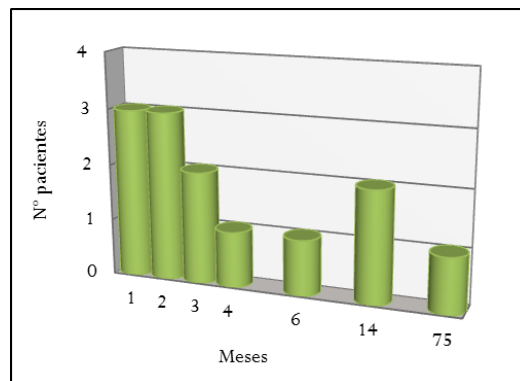


Figura 34. Distribución por pacientes del intervalo (en meses) tras la primera toma de huevo y la aparición de la primera RA.

6.1.2.4 Intervalo en la primera reacción

De los 23 pacientes que habían sufrido RA con huevo (16 en ITO1 y 7 en GC), el intervalo medio referido por el progenitor desde la toma del alimento hasta la aparición de los síntomas fue de 20.65 min (SD 27.64, rango 5-120 min), siendo de 19.06 min en ITO1 y de 24.29 min en GC ($P=0.687$) (Fig. 35).

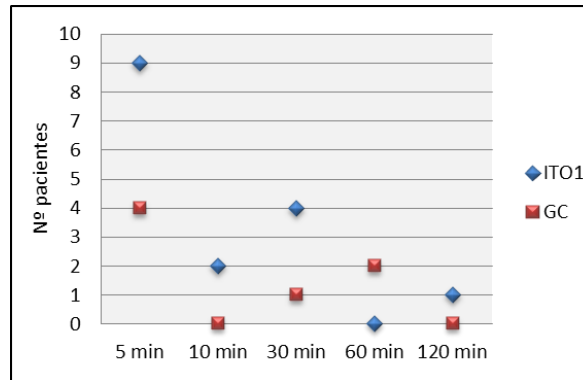


Figura 35. Distribución de pacientes por grupos del intervalo (en min) hasta la aparición de síntomas en la primera RA por huevo.

6.1.2.5 Reacciones inadvertidas

Tras el diagnóstico de alergia a huevo, 32 pacientes (96.97%; excepto 1 del GC) habían sufrido RA por la toma inadvertida de productos que contenían huevo, de los cuales 14 pacientes (42.42%; 6 en ITO1 y 8 en GC) refirieron haber presentado algún episodio de anafilaxia. La media de la última RA desde la inclusión en este estudio fue de 2.56 años (SD 3.25, máximo 12 años) y la de la última anafilaxia fue de 3.14 años (SD 3.93).

6.1.3 Estudio inmunológico basal

6.1.3.1 Prick tests a huevo

Los PTs con huevo, clara, yema y fracciones proteicas resultaron positivos en todos los pacientes a excepción de 1 sujeto del GC que tuvo el prick negativo con OVM y con un máximo de 16 mm para OVM en otro sujeto del GC. La distribución fue homogénea entre el ITO1 y el GC al inicio del estudio (Tabla 26).

Tabla 26. Media (SD) de prick tests (en mm) a fracciones proteicas de huevo por total y grupos de pacientes en T0 (basal).

| | TOTAL | ITO1 | GC | P |
|--------------|-------------|-------------|-------------|-------|
| Huevo | 7.18 (2.10) | 7.16 (2.39) | 7.21 (1.72) | 0.941 |
| Clara | 7.21 (1.60) | 7.21 (1.23) | 7.21 (2.04) | 0.995 |
| Yema | 6.70 (2.53) | 6.58 (2.32) | 6.86 (2.88) | 0.760 |
| OVA | 6.48 (2.41) | 6.21 (2.07) | 6.86 (2.85) | 0.455 |
| OVM | 8.12 (2.90) | 7.47 (1.95) | 9.00 (3.74) | 0.180 |

6.1.3.2 Eosinófilos en sangre periférica

Al inicio del estudio, el 45.45% de los pacientes (7 en ITO1 y 8 en GC) presentaban eosinofilia periférica leve ($500-1500 \text{ Eo/mm}^3$) y en el 54.55% el valor de eosinófilos en sangre se encontraba en rangos normales, con un valor mediano de 440.00 Eo/mm^3 y rango intercuartílico (RIQ) $320-640 \text{ Eo/mm}^3$ (ITO1 440.00 Eo/mm^3 , RIQ $300-570 \text{ Eo/mm}^3$; GC 540.00 Eo/mm^3 , RIQ $330-820 \text{ Eo/mm}^3$; $P=0.512$).

6.1.3.3 IgE sérica total

La mediana de la IgE sérica total basal fue de 679.00 UI/mL y RIQ 249-1102 UI/mL (ITO1 525.00 UI/mL, RIQ 205-1086 UI/mL; GC 842.00 UI/mL, RIQ 342-1116 UI/mL), sin diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (P=0.382). La distribución de pacientes según la IgE sérica total se muestra en la Fig. 36.

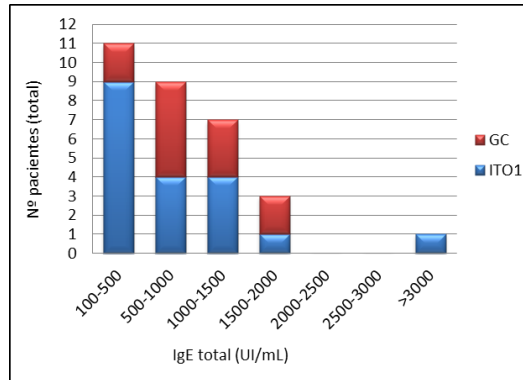


Figura 36. Distribución por grupos y total de pacientes del nivel de IgE sérica total (en UI/mL) en T0 (basal).

6.1.3.4 IgE sérica específica a fracciones proteicas de huevo

Los niveles de la IgE sérica específica basal mostraron predominio en el rango de <0.34 kU/L para lisozima, de 0.70-3.4 kU/L para yema y OVA y de 3.5-17.4 kU/L para huevo, clara y OVM. Tres pacientes tuvieron valores >100 kU/L para todas las determinaciones (Fig. 37).

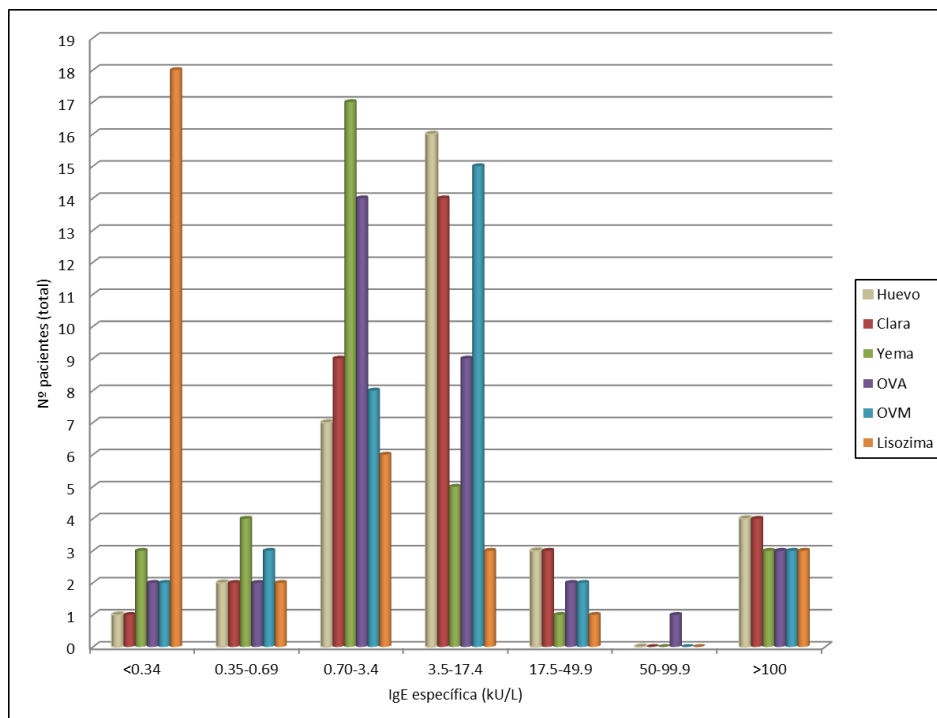


Figura 37. Niveles de IgE sérica específica (en kU/L) a fracciones proteicas de huevo para el total de pacientes en T0 (basal).

La distribución del nivel de IgE sérica específica basal a las fracciones proteicas de huevo entre el ITO1 y el GC resultó homogénea (Tabla 27).

Tabla 27. Mediana (RIQ) de IgE sérica específica (en kU/L) a fracciones proteicas de huevo por total y grupos de pacientes en T0 (basal).

| | TOTAL | ITO1 | GC | P |
|-----------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------|
| Huevo | 6.04 (3.34-14.30) | 5.95 (3.13-14.30) | 7.03 (3.41-45.10) | 0.636 |
| Clara | 5.62 (3.02-13.10) | 5.43 (3.02-13.10) | 5.88 (2.87-37.20) | 0.799 |
| Yema | 1.91 (0.76-4.41) | 2.18 (0.60-3.47) | 1.58 (1.24-14.60) | 0.560 |
| OVA | 2.73 (1.53-7.23) | 3.61 (1.23-7.23) | 2.70 (1.71-21.40) | 0.689 |
| OVM | 4.76 (1.60-11.50) | 4.10 (0.92-11.50) | 5.59 (1.60-12.80) | 0.623 |
| Lisozima | 0.27 (0.12-1.01) | 0.28 (0.12-1.10) | 0.21 (0.12-0.91) | 0.841 |

6.1.3.5 IgG₄ sérica específica a fracciones proteicas de huevo

La IgG₄ sérica específica basal determinada a fracciones proteicas de huevo mostró valores mínimos en todos los pacientes del estudio. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el ITO1 y el GC (Tabla 28).

Tabla 28. Mediana (RIQ) de IgG₄ sérica específica (en mg/L) a fracciones proteicas de huevo por total y grupos y total de pacientes en T0 (basal).

| | TOTAL | ITO1 | GC | P |
|--------------|------------------|------------------|------------------|-------|
| Clara | 0.39 (0.12-0.83) | 0.21 (0.07-0.83) | 0.39 (0.16-0.98) | 0.512 |
| OVA | 0.34 (0.10-0.80) | 0.22 (0.07-0.76) | 0.38 (0.12-0.82) | 0.500 |
| OVM | 0.15 (0.03-0.58) | 0.13 (0.02-0.66) | 0.19 (0.11-0.58) | 0.308 |

6.1.3.6 Producción in vitro de citoquinas (IL-5, IL-10, IL-13, IFN- γ , TNF- α)

Se evaluaron los niveles basales de citoquinas liberadas por células polimorfonucleares estimuladas con OVA en los 30 pacientes que finalmente completaron el protocolo. No se encontraron diferencias significativas entre el ITO1 y el GC (Tabla 29).

Tabla 29. Mediana (RIQ) del nivel de citoquinas (en pg/mL) por total y grupos de pacientes en T0 (basal).

| | TOTAL [n=30] | ITO1 [n=17] | GC [n=13] | P |
|--------------------------------|---------------------|---------------------|-------------------|--------|
| IL-10 | 255.2 (170.8-416.2) | 256.4 (160.8-395.7) | 242.4 (198-487.3) | 0.7696 |
| IL-5 | 0 (0-1.39) | 0 (0-1.3) | 0.24 (0-1.84) | 0.5172 |
| IL-13 | 14.16 (5.64-27.58) | 20.23 (4.12-37.73) | 11.71 (5.0-19.62) | 0.2935 |
| IFN-γ | 0 (0-17.57) | 0 (0-18.56) | 0 (0-8.70) | 0.5356 |
| TNF-α | 12.24 (0-81.30) | 26.19 (0-158.5) | 0 (0-47.25) | 0.2216 |

6.1.3.7 Detección de células FoxP3

El porcentaje basal de células Treg FoxP3⁺, tras estimulación con OVA de las células polimorfonucleares de sangre periférica, se estudió en 16 pacientes (8 del ITO1 y 8 del GC). No se detectaron diferencias estadísticamente significativas intergrupales (Tabla 30).

Tabla 30. Mediana (RIQ) de células Treg FoxP3⁺ (en %) por total y grupos de pacientes en T0 (basal).

| TOTAL [n=16] | ITO1 [n=8] | GC [n=8] | P |
|-------------------|------------------|-------------------|-------|
| 6.38 (4.49-10.02) | 7.03 (4.35-9.92) | 5.48 (4.53-10.32) | 0.959 |

6.1.4 *Provocación oral basal con huevo doble ciego controlada con placebo*

6.1.4.1 Dosis de reacción

La mediana de dosis que produjo reacción en la PODCCP basal con CHD fue de 225 mg (RIQ 100-900 mg, rango 20-3600 mg): ITO1 225 mg (RIQ 225-1800 mg, rango 50-3600 mg) y GC 225 mg (RIQ 50-450 mg, rango 20-1800 mg), sin existir diferencias significativas entre ambos grupos (P=0.508). Tanto en el ITO1 como en el GC se observaron 2 picos de umbral de reacción que corresponden a dosis que podríamos llamar medias y altas, siendo las más frecuentes las de 225 mg (6 pacientes en ITO1 y 4 en GC) y 1800 mg (5 pacientes en ITO1 y 2 en GC), que equivalen al 30.30% y 21.21% del total, respectivamente (Fig. 38).

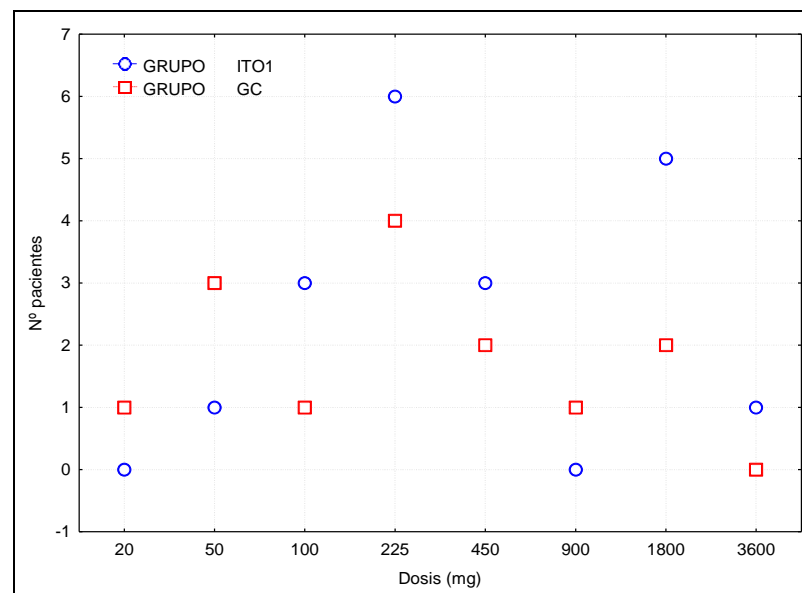


Figura 38. Frecuencia de dosis umbral de reacción (en mg) en la PODCCP basal con CHD por grupos.

6.1.4.2 Síntomas desarrollados

Los síntomas más frecuentemente presentados en la PODCCP basal con CHD fueron SAO seguido de síntomas digestivos sumando entre ambos el 59.38% del total de RAs. Les siguen en frecuencias los síntomas cutáneos que suponen un 20.83%, mientras que los síntomas respiratorios constituyen un 5.21% del total. No hubo diferencias significativas en la frecuencia de síntomas entre el ITO1 y el GC excepto para asma bronquial en el GC (P=0.043). Destacar que los pacientes de ambos grupos presentaron principalmente 2 síntomas aunque en el GC hubo mayor frecuencia de afectación de varios órganos a diferencia de lo referido en la primera RA acontecida con huevo (Tabla 31 y Fig. 39-40).

Tabla 31. Síntomas referidos y afectación de órganos en la PODCCP basal con CHD por total y grupos de pacientes del estudio.

| | TOTAL [96 RA] | ITO1 [51 RA] | GC [45 RA] | P |
|--------------------------|-------------------|------------------|----------------|-------|
| SAO | 29 (30.21%) | 15 (29.41%) | 14 (31.11%) | 0.878 |
| Digestivo | 28 (29.17%) | 16 (31.37%) | 12 (26.67%) | 0.614 |
| Dermatitis | 2 (2.08%) | 2 (3.92%) | 0 (0%) | 0.183 |
| Eritema/Urticaria | 14 (14.58%) | 9 (17.65%) | 5 (11.11%) | 0.367 |
| Angioedema | 4 (4.17%) | 1 (1.96%) | 3 (6.67%) | 0.252 |
| Rinitis | 14 (14.58%) | 7 (13.72%) | 7 (15.56%) | 0.799 |
| Conjuntivitis | 1 (1.04%) | 1 (1.96%) | 0 (0%) | 0.348 |
| Asma bronquial | 4 (4.17%) | 0 (%) | 4 (8.89%) | 0.043 |
| | TOTAL [33 pac] | ITO1 [19 pac] | GC [14 pac] | P |
| 1 síntoma | 10 (30.30%) | 6 (31.58%) | 4 (28.57%) | 0.854 |
| 2 síntomas | 16 (48.48%) | 10 (52.63%) | 6 (42.86%) | 0.583 |
| >2 síntomas | 7 (21.21%) | 3 (15.79%) | 4 (28.57%) | 0.381 |

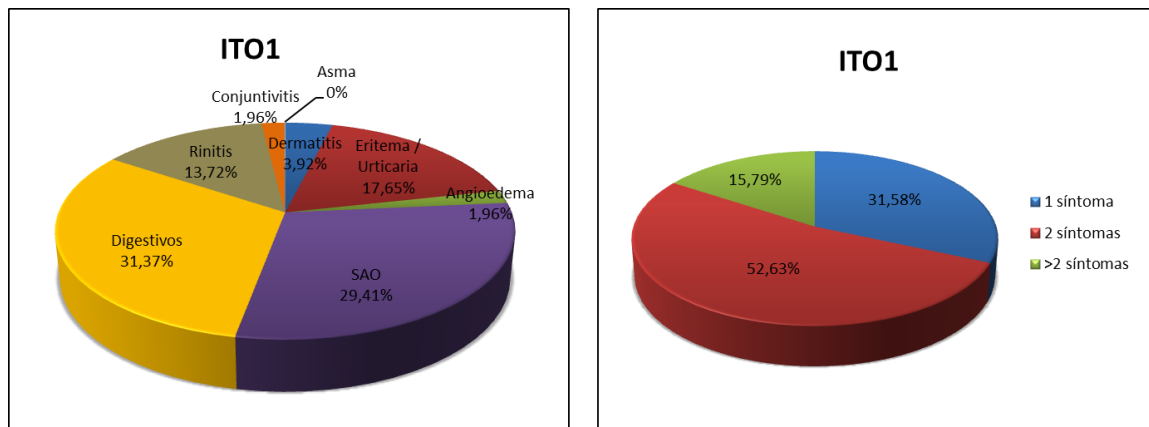


Figura 39. Frecuencia de síntomas y afectación de órganos en la PODCCP basal con CHD en el ITO1.

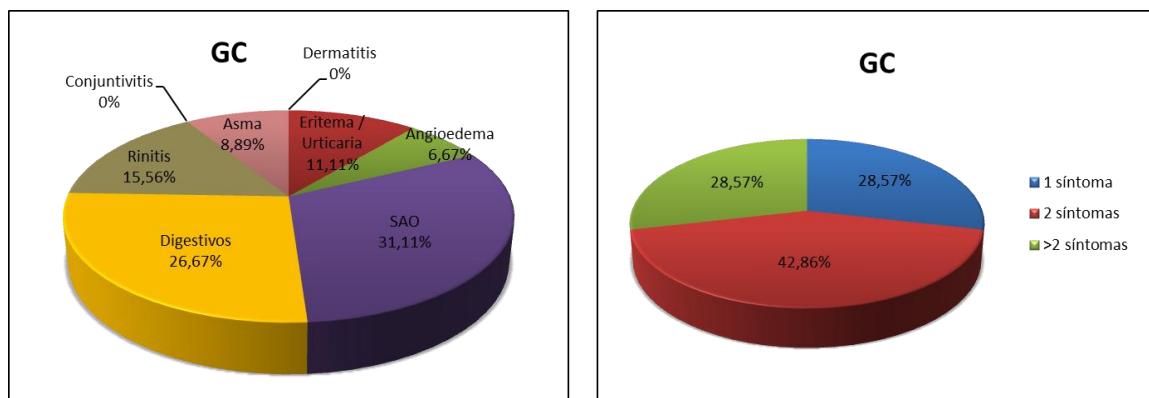


Figura 40. Frecuencia de síntomas y afectación de órganos en la PODCCP basal con CHD en el GC.

En la Tabla 32 se resumen datos basales según los grupos de estudio. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el ITO1 y el GC excepto para una variable, lo que demuestra la homogeneidad de ambos grupos. El asma en la PODCCP fue la única variable en la que se observó una mayor frecuencia en el GC (P=0.043).

Tabla 32. Características clínicas e inmunológicas basales y de la PODCCP basal por total y grupos activo y control con la comparación entre ambos grupos del estudio.

| | TOTAL [n=33] | ITO1 [n=19] | GC [n=14] | P |
|--|-------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|--------|
| Varón; n (%) | 18 (54.55) | 11 (57.89) | 7 (50) | 0.652 |
| Edad (años); media (SD, rango) | 10.4 (2.55, 6-16) | 10.9 (2.68, 7-16) | 9.7 (2.27, 6-13) | 0.173 |
| Edad de 1^o RA huevo (meses); media (SD, rango) | 12.94 (13.63, 5-84) | 11.05 (4.6, 5-24) | 15.5 (20.4, 6-84) | 0.436 |
| Dermatitis atópica; n (%) | 33 (100) | 19 (100) | 14 (100) | - |
| Asma bronquial; n (%) | 19 (57.58) | 10 (30.30) | 9 (27.27) | 0.503 |
| Prick tests inhalantes (mm); n (%) | | | | |
| Olea | 28 (84.85) | 14 (73.69) | 14 (100) | 0.480 |
| Phleum | 27 (81.82) | 15 (78.95) | 12 (85.71) | 0.470 |
| Cupressus arizónica | 20 (60.61) | 13 (68.42) | 7 (50) | 0.747 |
| Epitelio de perro | 19 (57.58) | 11 (57.90) | 8 (57.14) | 0.401 |
| Alergia alimentos; n (%) | 23 (69.70) | 11 (57.90) | 12 (85.71) | 0.856 |
| Leche | 11 (33.33) | 5 (15.15) | 6 (18.18) | 0.319 |
| Frutos secos | 11 (33.33) | 5 (15.15) | 6 (18.18) | 0.319 |
| Anafilaxia previa; n (%) | 14 (42.42) | 6 (31.58) | 8 (57.14) | 0.141 |
| Clínica en PODCCP basal con huevo (%) | | | | |
| Cutánea | 20.83 | 23.53 | 17.78 | |
| Angioedema | 4.17 | 1.96 | 6.67 | 0.252 |
| Dermatitis | 2.08 | 3.92 | 0 | 0.183 |
| Urticaria | 14.58 | 17.65 | 11.11 | 0.367 |
| SAO | 30.21 | 29.41 | 31.11 | 0.878 |
| Digestiva | 29.17 | 31.37 | 26.67 | 0.614 |
| Respiratoria | 19.79 | 15.68 | 24.45 | |
| Conjuntivitis | 1.04 | 1.96 | 0 | 0.348 |
| Rinitis | 14.58 | 13.72 | 15.56 | 0.799 |
| Asma bronquial | 4.17 | 0 | 8.89 | 0.043* |
| Anafilaxia | 0 | 0 | 0 | - |
| Dosis umbral PODCCP (mg); mediana (rango) | 225 (20-3600) | 225 (50-3600) | 225 (20-1800) | 0.508 |
| Prick tests huevo (mm); media (SD, rango) | | | | |
| Huevo | 7.18 (2.10, 4-12) | 7.16 (2.39, 4-12) | 7.21 (1.72, 5-10) | 0.941 |
| Clara | 7.21 (1.60, 4-12) | 7.21 (1.23, 5-10) | 7.21 (2.04, 4-12) | 0.995 |
| Yema | 6.70 (2.53, 3-14) | 6.58 (2.32, 3-12) | 6.86 (2.88, 4-14) | 0.760 |
| OVA | 6.48 (2.41, 3-15) | 6.21 (2.07, 3-11) | 6.86 (2.85, 3-15) | 0.455 |
| OVM | 8.12 (2.90, 0-16) | 7.47 (1.95, 4-11) | 9.00 (3.74, 0-16) | 0.180 |
| Eosinófilos sangre (Eo/mm³); mediana (RIQ) | 440 (320-640) | 440 (300-570) | 540 (330-820) | 0.512 |
| IgE sérica total (UI/mL); mediana (RIQ) | 679 (249-1102) | 525 (205-1086) | 842 (342-1116) | 0.382 |
| IgE sérica específica (kU/L); mediana (RIQ) | | | | |
| Huevo | 6.04 (3.34-14.30) | 5.95 (3.13-14.30) | 7.03 (3.41-45.10) | 0.636 |
| Clara | 5.62 (3.02-13.10) | 5.43 (3.02-13.10) | 5.88 (2.87-37.20) | 0.799 |
| Yema | 1.91 (0.76-4.41) | 2.18 (0.60-3.47) | 1.58 (1.24-14.60) | 0.560 |
| OVA | 2.73 (1.53-7.23) | 3.61 (1.23-7.23) | 2.70 (1.71-21.40) | 0.689 |
| OVM | 4.76 (1.60-11.50) | 4.10 (0.92-11.50) | 5.59 (1.60-12.80) | 0.623 |
| Lisozima | 0.27 (0.12-1.01) | 0.28 (0.12-1.10) | 0.21 (0.12-0.91) | 0.841 |
| IgG₄ sérica específica (mg/mL); mediana (RIQ) | | | | |
| Clara | 0.39 (0.12-0.83) | 0.21 (0.07-0.83) | 0.39 (0.16-0.98) | 0.512 |
| OVA | 0.34 (0.10-0.80) | 0.22 (0.07-0.76) | 0.38 (0.12-0.82) | 0.500 |
| OVM | 0.15 (0.03-0.58) | 0.13 (0.02-0.66) | 0.19 (0.11-0.58) | 0.308 |
| Citoquinas (pg/mL); mediana (RIQ) | | | | |
| IL-10 | [n=30] 255.2 (170.8-416.2) | [n=17] 256.4 (160.8-395.7) | [n=13] 242.4 (198-487.3) | 0.7696 |
| IL-5 | 0 (0-1.39) | 0 (0-1.3) | 0.24 (0-1.84) | 0.5172 |
| IL-13 | 14.16 (5.64-27.58) | 20.23 (4.12-37.73) | 11.71 (5.0-19.62) | 0.2935 |
| IFN- γ | 0 (0-17.57) | 0 (0-18.56) | 0 (0-8.70) | 0.5356 |
| TNF- α | 12.24 (0-81.30) | 26.19 (0-158.5) | 0 (0-47.25) | 0.2216 |
| Células FoxP3 (%); mediana (RIQ) | | | | |
| | [n=16] 6.38 (4.49-10.02) | [n=8] 7.03 (4.35-9.92) | [n=8] 5.48 (4.53-10.32) | 0.959 |

ITO1: grupo que se sometió a la ITO al inicio del estudio; GC: grupo control; OVA: ovoalbúmina; OVM: ovomucoide; PODCCP: provocación oral doble ciego controlada con placebo; RA: reacción adversa; RIQ: rango intercuartílico; SAO: síndrome de alergia oral; SD: desviación estándar.

*No hubo diferencias significativas entre el ITO1 y el GC excepto para asma en la PODCCP basal que fue más frecuentemente observado en el GC (P<0.05).

6.1.5 Resultados de inmunoterapia oral rápida con huevo: comparación grupo activo ITO1 con grupo control

6.1.5.1 Eficacia clínica

Diecisiete de 19 pacientes (89.47%) del grupo ITO1 completaron la FI y la FM con huevo hasta concluir 5 meses de tratamiento. Un paciente fue retirado del estudio por falta de colaboración familiar al final de la FI y otro abandonó al mes de la FM por dolor abdominal recurrente con control parcial con cromoglicato disódico oral y rechazo a comer el alimento (IgE sérica específica basal a clara de 25.4 kU/L y de 112 kU/L, respectivamente). Trece de los 14 pacientes (92.85%) del GC mantuvieron dieta sin huevo durante 5 meses. Un paciente abandonó el estudio antes de someterse a la segunda PODCCP por miedo a sufrir RAs (Fig. 41).

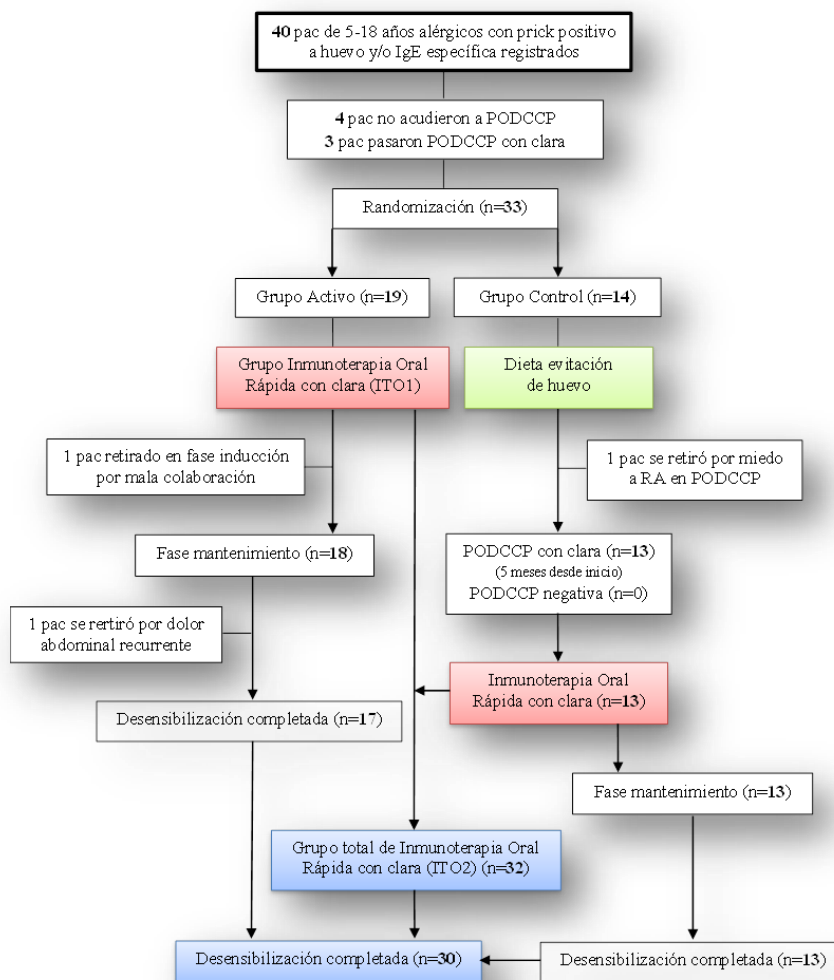


Figura 41. Diagrama de flujo y distribución de los pacientes en los diferentes grupos del estudio.

PODCCP: provocación oral doble ciego controlada con placebo; RA: reacción adversa.

Ninguno de los 13 sujetos del GC que fueron sometidos a una segunda PODCCP tras 5 meses de dieta sin huevo (T3) superó la prueba pues en todos ellos (100%) resultó positiva.

Los resultados indican que este protocolo de ITOR obtuvo una eficacia de desensibilización del 89.47% en el grupo ITO1 comparado con el 0% en el GC (intervalo de confianza (IC) al 95%, 59-97%; $P < 0.001$).

La segunda PODCCP del GC se consideró la basal (T0) para el inicio de la ITOR con huevo en este grupo. La mediana de la dosis umbral de reacción en la segunda PODCCP realizada en el GC fue de 450 mg (RIQ 225-1800 mg, rango 50-1800 mg). La dosis de 1800 mg fue la más reactiva (12.12%) seguida por las de 225 mg y 450 mg (9.09% cada dosis) (Fig. 42).

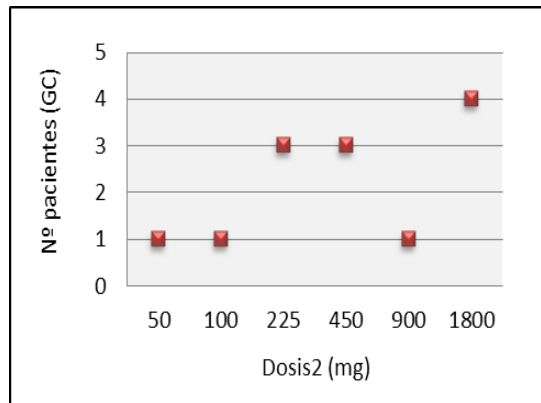


Figura 42. Frecuencia de dosis umbral de reacción (en mg) en la segunda PODCCP con CHD en el GC.

Los cambios en la dosis umbral entre las 2 provocaciones llevadas a cabo en el GC no fueron significativos ($P = 0.115$) (Fig. 43): solo 1 paciente toleró menos cantidad en la segunda PODCCP que en la previa, 5 pacientes reaccionaron con la misma dosis y 7 pacientes toleraron una dosis mayor (en 2 de los cuales incluso 4 veces mayor). El paciente que disminuyó su umbral de reacción en la segunda PODCCP tenía una IgE sérica específica basal a clara de 6.14 kU/L y previa a la segunda PODCCP de 7.52 kU/L.

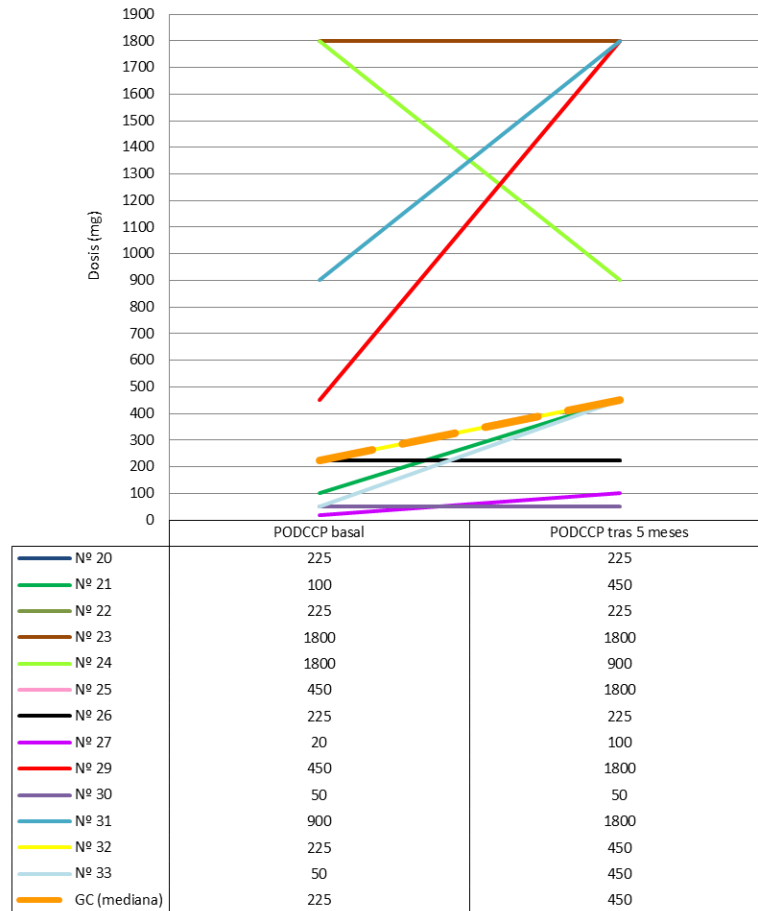


Figura 43. Cambios en la dosis umbral de reacción (en mg) en las PODCCP realizadas con CHD en el GC.

Los síntomas más frecuentemente acontecidos en esta segunda PODCCP con CHD efectuada en el GC fueron SAO y digestivos con igual frecuencia (35.14%), predominando la afectación de 1 único órgano (46.15%) (Fig. 44).

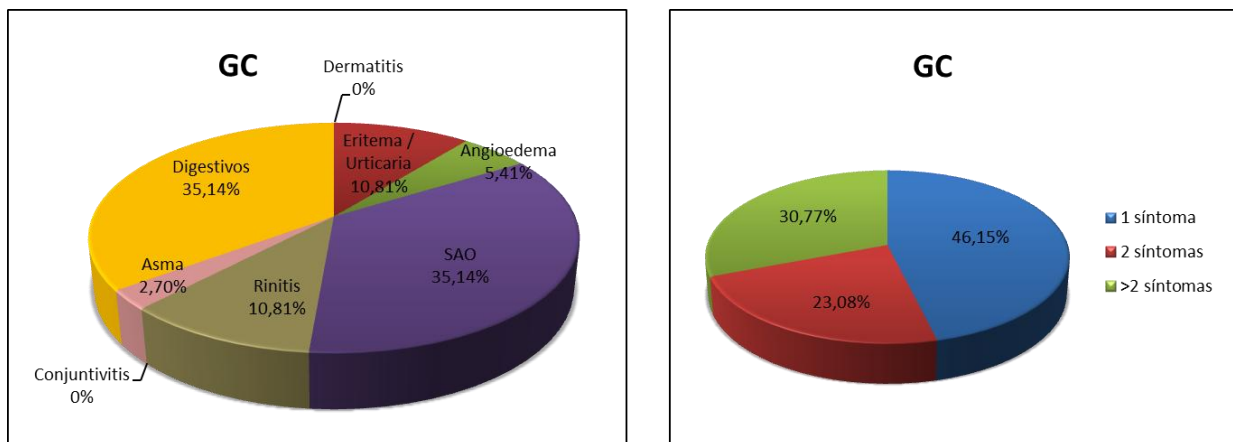


Figura 44. Frecuencia de síntomas y afectación de órganos en la PODCCP con CHD en el GC a los 5 meses bajo dieta de exclusión de huevo.

6.1.5.2 Cambios inmunológicos

6.1.5.2.1 Análisis intragrupo

Se encontraron diferencias significativas en las variables PTs e IgG₄ sérica específica intragrupo en el ITO1 pero no en el GC. Los PTs a todas las fracciones proteicas de huevo disminuyeron significativamente ($P < 0.05-0.001$) en el grupo ITO1 entre T0 y T3 (Fig. 45), mientras que los niveles de las IgG₄ sérica específicas testadas aumentaron de forma significativa ($P < 0.05-0.001$) en el ITO1 entre T0 y T3 (Fig. 46).

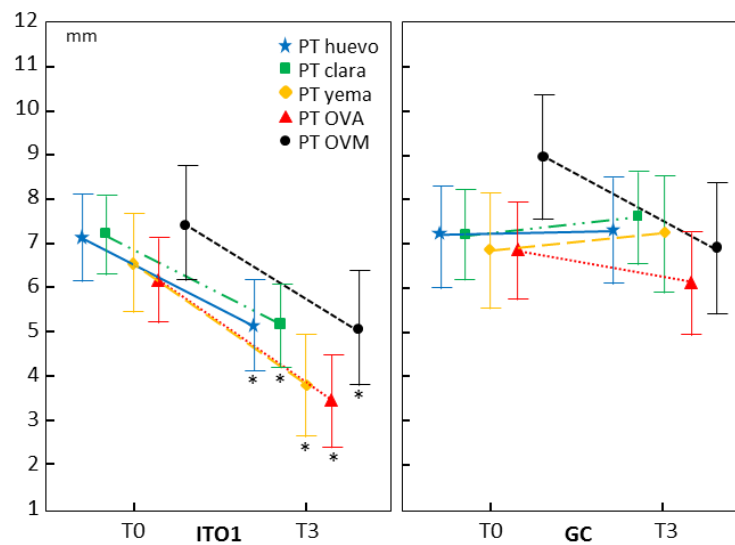


Figura 45. Media (IC al 95%) de los prick tests a fracciones proteicas de huevo (en mm) al inicio del estudio (T0) y a los 5 meses (T3) de la ITOR con huevo en el grupo activo (ITO1) ($*P < 0.05-0.001$) y de dieta de exclusión de huevo en el grupo control (GC).

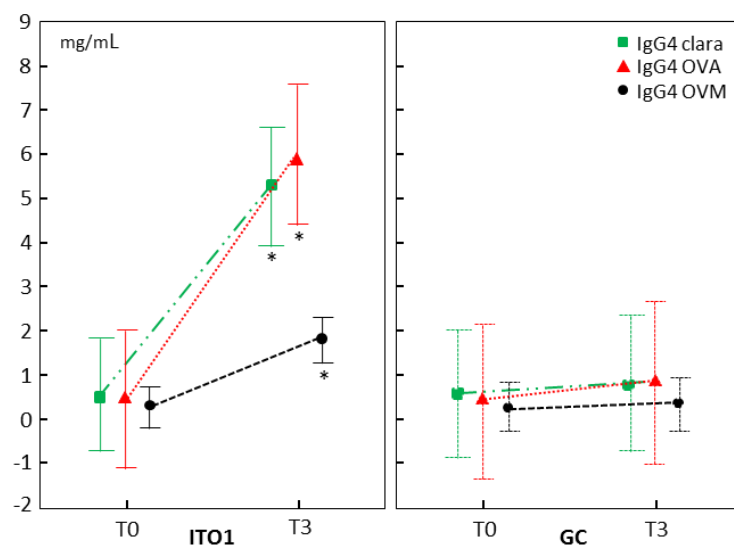


Figura 46. Media (IC al 95%) de la IgG₄ sérica específica a fracciones proteicas de huevo (en mg/mL) al inicio del estudio (T0) y a los 5 meses (T3) de la ITOR con huevo en el grupo activo (ITO1) ($*P < 0.05-0.001$) y de dieta de exclusión de huevo en el grupo control (GC).

Los eosinófilos en sangre periférica (Fig. 47), la IgE sérica total (Fig. 46) y la IgE sérica específica a fracciones proteicas de huevo (Fig. 48) no se modificaron significativamente en el ITO1 ni en el GC entre los tiempos T0 y T3.

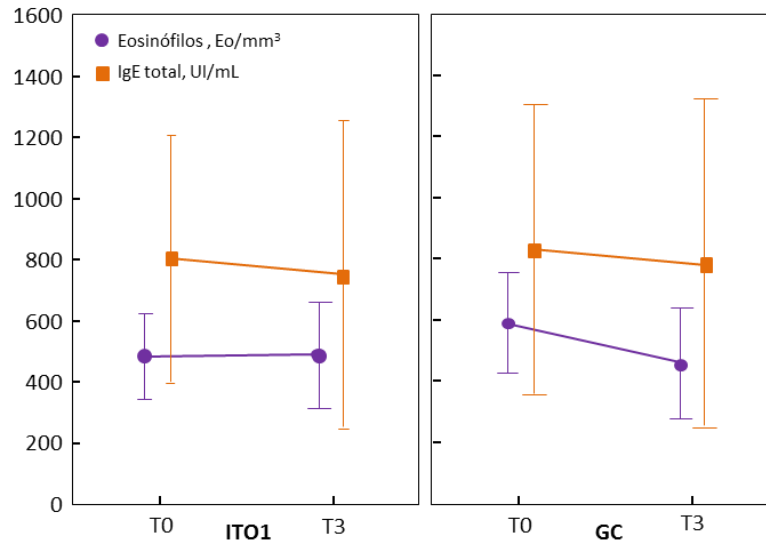


Figura 47. Media (IC al 95%) de eosinófilos en sangre periférica (en Eo/mm³) y de la IgE sérica total (en UI/mL) al inicio del estudio (T0) y a los 5 meses (T3) de la ITOR con huevo en el grupo activo (ITO1) y de dieta de exclusión de huevo en el grupo control (GC) (P>0.05).

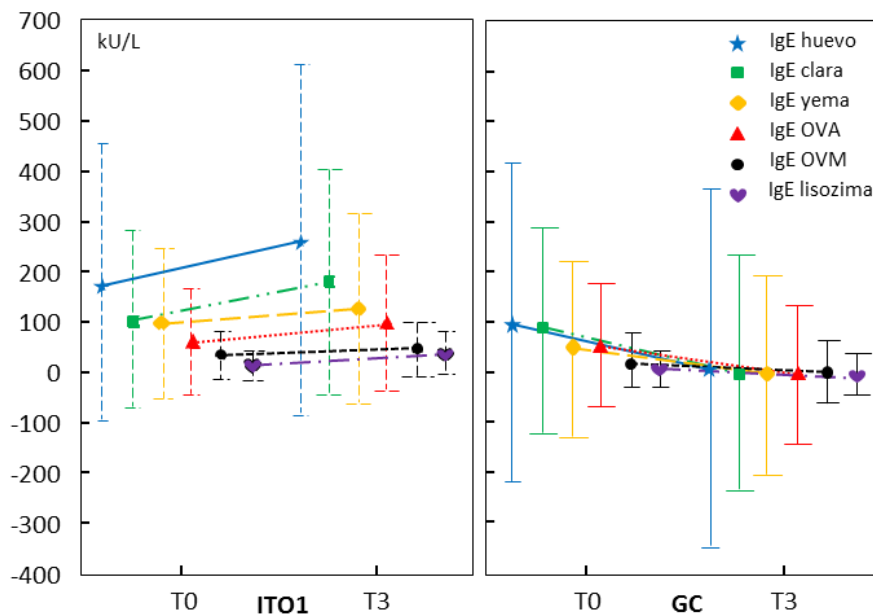


Figura 48. Media (IC al 95%) de la IgE sérica específica a fracciones proteicas de huevo (en kU/L) al inicio del estudio (T0) y a los 5 meses (T3) de la ITOR con huevo en el grupo activo (ITO1) y de dieta de exclusión de huevo en el grupo control (GC) (P>0.05).

La concentración de IL-13 específica para OVA (citoquina de perfil Th2) disminuyó significativamente entre T0 y T3 en el grupo ITO1 ($P < 0.05$). No se observaron cambios en esa misma citoquina entre el mismo periodo tiempo en el GC. Las concentraciones del resto de citoquinas testadas específicas para OVA (IL-10, IL-5, IFN- γ y TNF- α) no se modificaron ni en el ITO1 ni en el GC al finalizar el estudio a pesar de la intervención terapéutica realizada en los individuos del ITO1 (Tabla 33).

Tabla 33. Mediana (RIQ) del nivel de citoquinas (en pg/mL) al inicio del estudio (T0) y a los 5 meses (T3) de la ITOR con huevo en el grupo activo (ITO1) y de dieta de exclusión de huevo en el grupo control (GC).

| | ITO1 [n=17] | | | GC [n=13] | | |
|--------------------------------|---------------------|---------------------|-------|---------------------|---------------------|-------|
| | T0 | T3 | P | T0 | T3 | P |
| IL-10 | 256.4 (160.8-395.7) | 227.8 (116.0-375.0) | 0.623 | 242.4 (198.0-487.3) | 275.1 (119.8-530.1) | 0.999 |
| IL-5 | 0 (0-1.30) | 0 (0-0) | 0.313 | 0.24 (0-1.84) | 0 (0-8.49) | 0.553 |
| IL-13 | 20.2 (4.20-37.73) | 3.3 (0-13.6) | <0.05 | 11.7 (5.0-19.62) | 14.5 (0-62.30) | 0.086 |
| IFN-γ | 0 (0-18.56) | 0 (0-0.22) | 0.250 | 0 (0-8.70) | 0 (0-130.1) | 0.625 |
| TNF-α | 26.2 (0-158.5) | 13.39 (0-183.4) | 0.761 | 0 (0-47.25) | 12.1 (0.27-130.0) | 0.492 |

La expresión de los factores de transcripción FoxP3 (Treg), Tbet (Th1) y GATA3 (Th2) se evaluó en los mismos pacientes en los que se evaluaron las citoquinas. Dicha expresión no se vio modificada entre T0 y T3 en el ITO1 ni en el GC con valores muy cercanos a 1 (Tabla 34 y Fig. 49).

Tabla 34. Media de expresión de factores de transcripción FoxP3, Tbet y GATA3 (en RQ) al inicio del estudio (T0) y a los 5 meses (T3) de la ITOR con huevo en el grupo activo (ITO1) y de dieta de exclusión de huevo en el grupo control (GC).

| | ITO [n=17] | GC [n=13] |
|--------------|---------------|--------------|
| FoxP3 | 0.76 | 0.8 |
| Tbet | 1.14 | 0.77 |
| GATA3 | 1.17 | 0.97 |

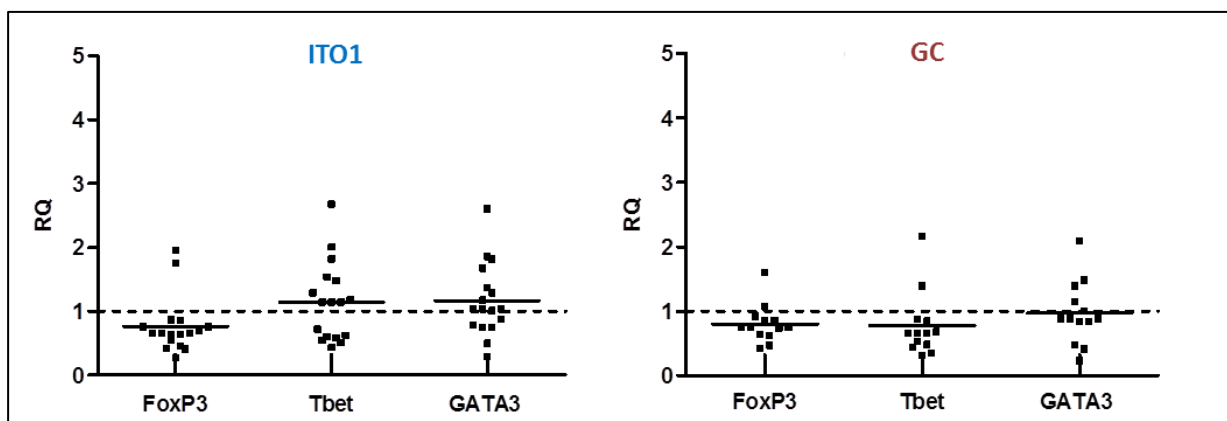


Figura 49. Valores medios (en RQ) de los factores de transcripción FoxP3, Tbet y GATA3 en ITO1 y GC. Los cuadrados representan el cambio entre T0 y T3.

Tras estimulación de células polimorfonucleares periféricas con OVA, se analizó el porcentaje de células Treg ($CD4^+CD25^+FoxP3^+$) en ambos grupos en los tiempos T0 y T3. En T0 se analizaron 8 pacientes del grupo ITO1 y 8 pacientes del GC. En T3 se evaluaron 4 sujetos del ITO1 y 6 del GC. No se objetivaron diferencias estadísticamente significativas de células Treg intragrupo en el ITO1 y el GC entre los tiempos T0 y T3 (Tabla 35 y Fig. 50).

Tabla 35. Mediana (RIQ) del nivel de células Treg FoxP3⁺ (en %) al inicio del estudio (T0) y a los 5 meses (T3) de la ITOR con huevo en el grupo activo (ITO1) y de dieta de exclusión de huevo en el grupo control (GC).

| ITO1 [n=4] | | | GC [n=6] | | |
|-------------------|------------------|-------|-------------------|------------------|-------|
| T0 | T3 | P | T0 | T3 | P |
| 5.75 (3.40-10.64) | 3.67 (2.29-5.84) | 0.125 | 4.93 (4.31-12.51) | 8.35 (5.69-8.75) | 0.844 |

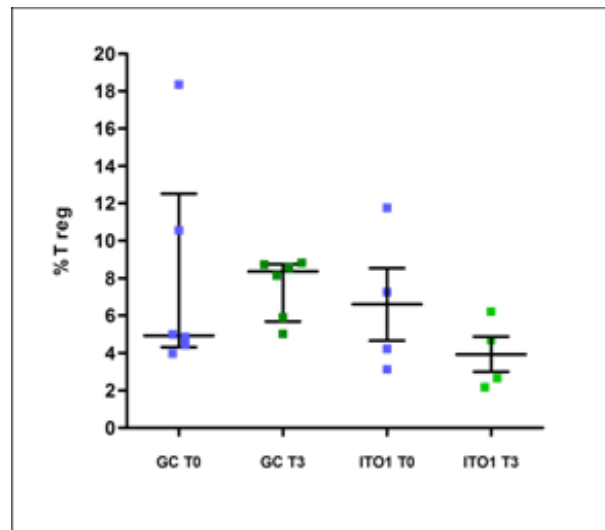


Figura 50. Mediana (RIQ) del porcentaje de células Treg FoxP3⁺ al inicio del estudio (T0) y a los 5 meses (T3) de la ITOR con huevo en el grupo activo (ITO1) (P=0.125) y de dieta de exclusión de huevo en el grupo control (GC) (P=0.844).

6.1.5.2.2 Análisis entre grupo activo ITO1 y grupo control

A los 5 meses del estudio (T3), se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ITO1 y GC respecto a las variables PT e IgG₄ sérica específica a todas las fracciones de huevo estudiadas. En el grupo ITO1, los PTs a huevo, clara, yema, OVA y OVM disminuyeron en el T3 y los niveles de IgG₄ a clara, OVA y OVM aumentaron en el mismo tiempo en el ITO1. No se objetivaron diferencias en el número de eosinófilos en sangre periférica, los niveles de IgE sérica total ni de IgE sérica específica a ninguna de las fracciones de huevo testadas en ninguno de los grupos al finalizar el tratamiento (Tabla 36). Tampoco se observaron diferencias en el nivel de citoquinas ni en el perfil genético de la población de células T, pero se detectó mayor nivel de células Treg FoxP3⁺ en el GC en el T3 en comparación con el ITO1 (Tabla 37).

Tabla 36. Comparación de los prick tests y del estudio *in vitro* entre los grupos activo (ITO1) y control (GC) a los 5 meses (T3) de la ITOR con huevo y de dieta de exclusión de huevo, respectivamente.

| | ITO1 [n=17] | GC [n=13] | P |
|---|------------------|-------------------|-------|
| Prick tests (mm); media (SD, rango) | | | |
| Huevo | 5.18 (1.91, 2-9) | 7.31 (2.59, 3-12) | 0.014 |
| Clara | 5.18 (2.01, 2-9) | 7.62 (2.36, 5-13) | 0.004 |
| Yema | 3.82 (1.38, 2-7) | 7.23 (2.98, 4-13) | 0.001 |
| OVA | 3.47 (0.94, 2-5) | 6.15 (2.15, 2-10) | 0.001 |
| OVM | 5.06 (1.82, 2-9) | 6.92 (3.01, 0-11) | 0.044 |
| Eosinófilos sangre (Eo/mm³); mediana (RIQ) | | | |
| | 400 (280-650) | 520 (450-670) | 0.414 |
| IgE sérica total (UI/mL); mediana (RIQ) | | | |
| | 649 (232-974) | 811 (223-1182) | 0.769 |
| IgE sérica específica (kU/L); mediana (RIQ) | | | |
| Huevo | 5.28 (1.59-9.24) | 6.49 (2.33-13.70) | 0.660 |
| Clara | 5.72 (1.51-8.97) | 6.01 (2.11-7.89) | 0.851 |
| Yema | 0.58 (0.22-1.34) | 1.04 (0.54-8.21) | 0.132 |
| OVA | 0.96 (0.50-2.17) | 2.31 (1.78-3.49) | 0.107 |
| OVM | 2.83 (1.44-8.69) | 4.14 (1.72-8.51) | 0.722 |
| Lisozima | 0.14 (0.09-1.36) | 0.26 (0.08-1.39) | 0.706 |
| IgG₄ sérica específica (mg/mL); mediana (RIQ) | | | |
| Clara | 3.74 (1.28-7.15) | 0.68 (0.29-1.18) | 0.001 |
| OVA | 3.78 (1.44-8.85) | 0.67 (0.22-1.13) | 0.001 |
| OVM | 1.41 (0.67-2.63) | 0.30 (0.28-0.68) | 0.019 |

ITO1: grupo que se sometió a la ITOR al inicio del estudio; GC: grupo control; OVA: ovoalbúmina; OVM: ovomucoide; RIQ: rango intercuartílico; SD: desviación estándar.

Tabla 37. Comparación de la producción *in vitro* de citoquinas, el perfil genético de la población de células T y la detección de células Treg FoxP3⁺ entre los grupos activo (ITO1) y control (GC) a los 5 meses (T3) de la ITOR con huevo y de dieta de exclusión de huevo, respectivamente.

| | ITO1 [n=17] | GC [n=13] | P |
|--|---------------------|---------------------|-------|
| Citoquinas (pg/mL); mediana (RIQ) | | | |
| IL-10 | 227.8 (116.0-375.0) | 234.3 (117.0-493.8) | 0.808 |
| IL-5 | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0.949 |
| IL-13 | 3.29 (0-13.60) | 3.29 (0-12.76) | 0.915 |
| IFN-γ | 0 (0-0.22) | 0 (0-0) | 0.742 |
| TNF-α | 13.39 (0-183.4) | 14.78 (0-47.90) | 0.848 |
| | ITO1 [n=17] | GC [n=13] | P |
| Genes (RQ); media | | | |
| FoxP3 | 0.76 | 0.80 | - |
| Tbet | 1.14 | 0.77 | - |
| GATA3 | 1.17 | 0.97 | - |
| | ITO1 [n=4] | GC [n=6] | P |
| FoxP3 (%); mediana (RIQ) | | | |
| | 3.67 (5.84-2.29) | 8.35 (5.69-8.75) | 0.038 |

ITO1: grupo que se sometió a la ITOR al inicio del estudio; GC: grupo control; RIQ: rango intercuartílico.

6.2 Comparación del total de pacientes sometidos a inmunoterapia oral rápida con huevo (grupo ITO2)

6.2.1 **Eficacia clínica**

El grupo ITO2 estaba formado por los 32 pacientes sometidos a ITOR con huevo: 19 del ITO1 y 13 del GC. Todos los pacientes del GC completaron la FI y la FM. Del grupo ITO1, 18 completaron la FI y 17 también la FM. Por tanto, 31 pacientes (96.87%) completaron la FI y 30 la FM con un éxito del tratamiento a los 5 meses del 93.75% (Fig. 41).

En la Tabla 38 se detallan características descriptivas, clínicas e inmunológicas de la alergia a huevo y respuesta a la ITOR con huevo por cada participante del estudio.

Tabla 38. Características de cada participante del estudio.

| N° pacientes* | Sexo Edad (años) | Diagnóstico síntomas respiratorios | Alergia otros alimentos | Anafilaxia previa con huevo | PODCCP | | | | Prick-tests (mm) | | | | IgE específica (kU/L) | | | | IgG ₄ (mg/mL) | | | | ITOR huevo | | Fracaso |
|---------------|---------------------|--|---|-----------------------------------|---|-------------------------|-------|-------|------------------|-----|-------|-------|-----------------------|------|-------|-------|--------------------------|-----|------------------|------------------|-------------|--|---------|
| | | | | | Síntomas en PODCCP | Dosis umbral (mg) | Huevo | Clara | OVA | OVM | Huevo | Clara | OVA | OVM | Huevo | Clara | OVA | OVM | FI N° RAAs | FM N° RAAs | | | |
| 1 | Hombre 16 | Si | Lleche Pescados Frutas Mariscos | No | Digestivos SAO Rinitis | 50 | 11 | 8 | 7 | 8 | 7.78 | 6.09 | 4.75 | 0.85 | 0.14 | 0.12 | 0.03 | 6 | 6 | 22 | No** | | |
| 2 | Hombre 15 | Si | No | Si | Digestivos SAO Urticaria Rinitis | 225 | 9 | 8 | 10 | 9 | 10.8 | 10.5 | 5.53 | 11.5 | 0.02 | 0.02 | 0.01 | 3 | 4 | 4 | No | | |
| 3 | Mujer 12 | No | Frutas Frutos secos | No | Digestivos SAO | 450 | 10 | 7 | 6 | 7 | 5.45 | 4.78 | 1.54 | 1.6 | 0.17 | 0.22 | 0.03 | 3 | 3 | 3 | No | | |
| 4 | Mujer 12 | Si | Lleche | No | Digestivos Dermatitis Urticaria | 1800 | 5 | 7 | 5 | 9 | 1.83 | 1.74 | 0.63 | 1.92 | 0.07 | 0.08 | 0.03 | 0 | 2 | 10 | No | | |
| 5 | Hombre 10 | No | Lleche | Si | Urticaria Rinitis | 225 | 6 | 8 | 6 | 8 | 6.81 | 6.02 | 4.1 | 6.09 | 0.04 | 0.03 | 0.01 | 5 | 4 | 0 | No | | |
| 6 | Mujer 10 | No | No | No | Digestivos SAO | 100 | 9 | 8 | 5 | 7 | 32.8 | 25.4 | 6.9 | 4.76 | 0.63 | 0.42 | 0.26 | 6 | 10 | 1 | Si En T2 | | |
| 7 | Mujer 10 | Si | Pescados Mariscos | Si | Digestivos SAO Rinitis | 100 | 12 | 10 | 6 | 7 | 3065 | 1735 | 1075 | 515 | 0.55 | 0.5 | 0.28 | 11 | 12 | 9 | No** | | |
| 8 | Mujer 9 | Si | Lleche | Si | Digestivos Rinitis | 225 | 7 | 6 | 7 | 6 | 104 | 112 | 50.5 | 46.1 | 2.96 | 2.39 | 1.99 | 17 | 12 | - | Si En FI | | |
| 9 | Hombre 12 | Si | No | No | Digestivos SAO Urticaria | 450 | 10 | 9 | 11 | 10 | 5.48 | 5.43 | 3.61 | 6.57 | 0.21 | 0.14 | 0.13 | 1 | 4 | 11 | No | | |
| 10 | Mujer 8 | Si | No | No | Digestivos SAO | 225 | 7 | 5 | 6 | 5 | 10.9 | 9.83 | 8.73 | 3.78 | 0.83 | 0.76 | 0.97 | 6 | 4 | 7 | No | | |
| 11 | Hombre 8 | No | Lleche Pescados Mariscos Frutas secos | No | Digestivos Urticaria | 1800 | 5 | 6 | 4 | 4 | 1.96 | 1.82 | 1.85 | 0.66 | 0.04 | 0.03 | 0.01 | 0 | 2 | 0 | No | | |
| 12 | Hombre 8 | No | No | No | Digestivos SAO | 100 | 6 | 6 | 5 | 7 | 4.85 | 4.75 | 2.19 | 5.59 | 0.07 | 0.04 | 0.06 | 2 | 4 | 17 | No | | |
| 13 | Hombre 7 | No | Mariscos Frutas secos | No | Digestivos SAO Urticaria Rinitis | 225 | 5 | 7 | 6 | 7 | 3.34 | 3.12 | 1.23 | 3.78 | 0.06 | 0.07 | 0.02 | 6 | 3 | 6 | No | | |
| 14 | Hombre 8 | No | No | No | Digestivos SAO Urticaria Rinitis | 450 | 5 | 7 | 5 | 6 | 15.2 | 13.9 | 9.16 | 13.3 | 1.12 | 0.87 | 0.73 | 2 | 3 | 31 | No | | |
| 15 | Mujer 12 | No | No | No | Urticaria | 3600 | 4 | 8 | 3 | 4 | 0.68 | 0.61 | 0.43 | 0.46 | 1.15 | 1.12 | 0.13 | 0 | 1 | 1 | No | | |

| Nº pacientes* | Sexo Edad (años) | Diagnóstico síntomas respiratorios | Alergia otros alimentos | Anafilaxia previa con huevo | PODCCP Síntomas en PODCCP | Dosis umbral (mg) | Prick tests (mm) | | | | IgE específica (kU/L) | | | | IgG ₄ (ng/mL) | | | | ITOR huevo | | Fracaso |
|---------------|---------------------|--|--|-----------------------------------|---|-------------------------|------------------|-------|-----|-----|-----------------------|-------|------|------|--------------------------|------|------|-----|------------|-----|------------|
| | | | | | | | Huevo | Clara | OVA | OVM | Huevo | Clara | OVA | OVM | Clara | OVA | OVM | OVM | Clara | OVA | |
| 16 | Hombre 13 | Si | Frutas Frutos secos | Si | Angioedema Conjuntivitis | 1800 | 5 | 6 | 4 | 8 | 0.32 | 0.28 | 0.15 | 0.26 | 0.09 | 0.07 | 0.01 | 0 | 2 | 0 | No |
| 17 | Mujer 10 | Si | Mariscos | No | Digestivos Urticaria | 225 | 7 | 7 | 9 | 11 | 14.3 | 13.1 | 7.23 | 13.4 | 0.56 | 0.48 | 0.25 | 8 | 5 | 5 | No |
| 18 | Hombre 13 | No | No | No | Digestivos SAO Urticaria | 1800 | 8 | 6 | 8 | 9 | 3.13 | 3.02 | 1.53 | 4.1 | 0.57 | 0.42 | 0.82 | 0 | 2 | 0 | No |
| 19 | Hombre 15 | Si | Pescados Frutos secos | Si | Digestivos SAO | 1800 | 5 | 8 | 5 | 10 | 5.95 | 4.72 | 0.76 | 0.92 | 2.37 | 1.79 | 0.66 | 0 | 2 | 3 | No |
| 20 | Hombre 12 | Si | Leche Frutos secos | Si | Digestivos Urticaria Rinitis Asma | 225 | 8 | 7 | 5 | 8 | 7.1 | 6.02 | 2.48 | 4.14 | 0.48 | 0.28 | 0.6 | 3 | 5 | 3 | No |
| 21 | Hombre 11 | Si | No | Si | Digestivos SAO | 100 | 10 | 9 | 5 | 6 | 3.56 | 3.1 | 2.31 | 1.72 | 0.34 | 0.26 | 0.3 | 5 | 3 | 39 | No |
| 22 | Hombre 10 | Si | Frutas Frutos secos | Si | Angioedema Digestivos Urticaria Rinitis SAO | 225 | 7 | 7 | 5 | 6 | 6.49 | 6.01 | 2.55 | 7.7 | 2.22 | 3.08 | 0.68 | 0 | 3 | 5 | No |
| 23 | Mujer 10 | Si | Leche | No | Urticaria Rinitis Asma | 1800 | 8 | 5 | 6 | 7 | 2.52 | 2.21 | 1.83 | 1.76 | 1.41 | 1.08 | 0.37 | 1 | 2 | 5 | No |
| 24 | Hombre 11 | Si | Pescados Mariscos Frutos secos | Si | Digestivos SAO Urticaria | 1800 | 12 | 10 | 8 | 11 | 13.7 | 7.52 | 1.78 | 6.45 | 1.15 | 1.13 | 0.78 | 1 | 3 | 1 | No |
| 25 | Hombre 8 | No | Leche | No | Digestivos SAO Urticaria Rinitis | 450 | 6 | 7 | 4 | 8 | 2.33 | 2.11 | 0.98 | 2.56 | 0.68 | 0.72 | 0.28 | 1 | 2 | 2 | No |
| 26 | Mujer 13 | No | Frutas Frutos secos Mariscos Leche | Si | Digestivos SAO | 225 | 7 | 13 | 9 | 10 | 8.11 | 7.89 | 3.49 | 10.5 | 0.12 | 0.1 | 0.08 | 3 | 5 | 3 | No |
| 27 | Hombre 6 | No | Cereales Frutos secos | Si | Digestivos SAO Rinitis | 20 | 5 | 7 | 5 | 8 | 56.6 | 48.7 | 25.8 | 37.9 | 0.28 | 0.18 | 0.3 | 5 | 5 | 10 | No |
| 28 | Mujer 7 | Si | Leche Mariscos | No | Digestivos SAO Asma | 50 | 8 | 11 | 7 | 11 | 664 | 580 | 526 | 184 | 0.85 | 0.78 | 0.47 | - | - | - | No ITOR |

| N° pacientes* | Sexo Edad (años) | Diagnóstico síntomas respiratorios | Alergia otros alimentos | Anafilaxia previa con huevo | PODCCP Síntomas en PODCCP | Dosis umbral (mg) | Prick tests (mm) | | | IgE específica (kU/L) | | | IgG ₄ (mg/mL) | | | ITOR huevo | | | | | |
|---------------|---------------------|--|-------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------------|-------------------------|------------------|-------|-----|-----------------------|-------|-------|--------------------------|------|-------|------------|------|------------|-----------------|----|------|
| | | | | | | | Huevo | Clara | OVA | OVM | Huevo | Clara | OVA | OVM | Clara | OVA | OVM | FI Días | FM N° RAs | | |
| 29 | Mujer 11 | No | Mariscos Frutos secos | No | Digestivos SAO | 450 | 5 | 5 | 7 | 0 | 1.89 | 1.67 | 2 | 0.18 | 1.06 | 0.67 | 0.83 | 0 | 2 | 0 | No |
| 30 | Mujer 7 | Si | Legumbres | No | Digestivos SAO | 50 | 11 | 10 | 10 | 7 | 59.3 | 45.3 | 24.3 | 8.51 | 1.18 | 1.27 | 0.28 | 4 | 6 | 3 | No** |
| 31 | Mujer 8 | Si | Lecche Frutas | Si | Angioedema Rinitis Asma SAO | 900 | 3 | 5 | 2 | 2 | 0.97 | 0.91 | 0.63 | 0.65 | 0.29 | 0.22 | 0.27 | 0 | 2 | 4 | No |
| 32 | Hombre 13 | Si | No | Si | Angioedema Rinitis SAO | 225 | 5 | 8 | 7 | 8 | 0.55 | 0.55 | 0.31 | 0.59 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0 | 3 | 1 | No |
| 33 | Mujer 9 | No | Frutas | No | Digestivos SAO | 50 | 8 | 6 | 7 | 9 | 1312 | 1023 | 816 | 402 | 2.29 | 2.08 | 0.89 | 17 | 14 | 20 | No** |

FI: fase de inducción; FM: fase de mantenimiento; ITOR: inmunoterapia oral rápida; PODCCP: provocación oral doble ciego controlada con placebo; RA: reacción adversa; SAO: síndrome de alergia oral; OVA: ovoalbúmina; OVM: ovomucoide.

*1-19: pacientes del grupo ITO1; 20-33: pacientes del grupo control.

**Pacientes que finalizaron el protocolo con éxito pero que posteriormente debieron suspender la toma de huevo.

6.2.2 Duración y dosis de la fase de inducción de la inmunoterapia oral rápida con huevo

La media de días necesitados para realizar el incremento de dosis en la FI fue de 4.37 días por paciente (SD 3.23, rango 1-14 días; mediana 3 días) en el ITO2. El 81.3% (26/32 pacientes) completaron la FI en 5 días o menos, 2 pacientes necesitaron 6 días, otro requirió 10 días y 3 pacientes (Tabla 38) (con IgE sérica específica basal a clara de 1735, 112 y 1023 kU/L) la completaron en 12, 12 y 14 días, respectivamente (Nº paciente 7, 8 y 30) (Fig. 51).

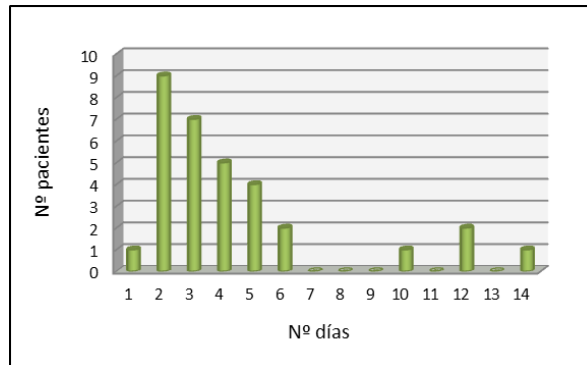


Figura 51. Número de días necesitados por paciente del ITO2 para completar la FI de la ITOR con CHD.

La ITOR se inició con la última dosis de CHD tolerada en la PODCCP basal. La mediana de la dosis de inicio de la FI en el grupo ITO2 fue de 225 mg (RIQ 100-900 mg, rango 20-1800 mg), siendo la dosis más frecuente la de 900 mg (28.13%) seguida de las de 100 mg (25%) y 225 mg (21.88%) (Fig. 52).

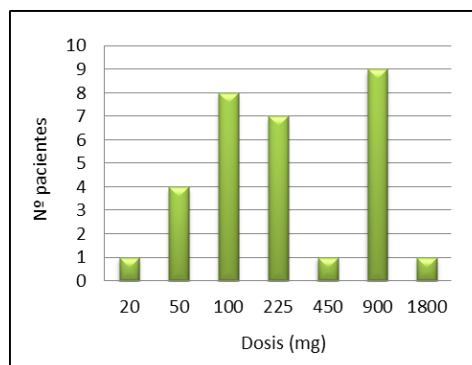


Figura 52. Frecuencia de dosis de inicio (en mg) de la FI de la ITOR con CHD en el ITO2.

El total de dosis administradas durante la FI fue de 372 dosis, siendo la media de 11.62 dosis por paciente del ITO2 (SD 9.39, rango 2-42 dosis; mediana 11 dosis). El número más frecuente para completar la FI fue de 4 dosis (en 9 pacientes) seguido de 11 dosis, mientras que el 9.4% (los 3 niños que presentaban niveles basales elevados de IgE específica a clara y OVM) necesitaron la administración de >30 dosis (31, 36 y 42 dosis, respectivamente), de tal forma que entre ellos sumaron 109 dosis del total (equivalente al 29.3%) (Fig. 53).

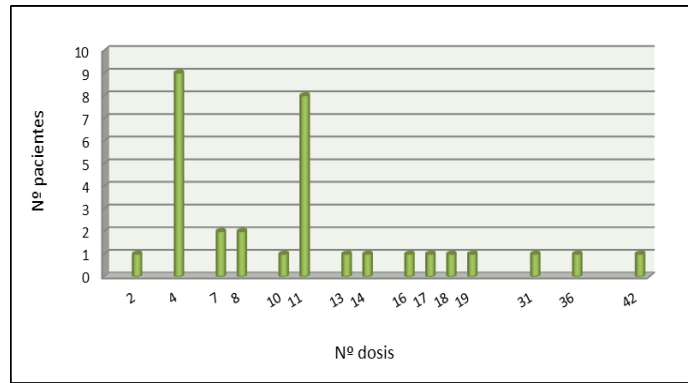


Figura 53. Número de dosis de CHD administradas por paciente del ITO2 durante la FI de la ITO2.

6.2.3 Cambios inmunológicos

Los PTs a todas las fracciones proteicas de huevo disminuyeron significativamente en T1, T2 y T3 con respecto al T0 ($P < 0.001$), permaneciendo estables entre T1 y T2 pero con tendencia a aumentar en T3 principalmente para huevo y OVM (Tabla 39 y Fig. 54).

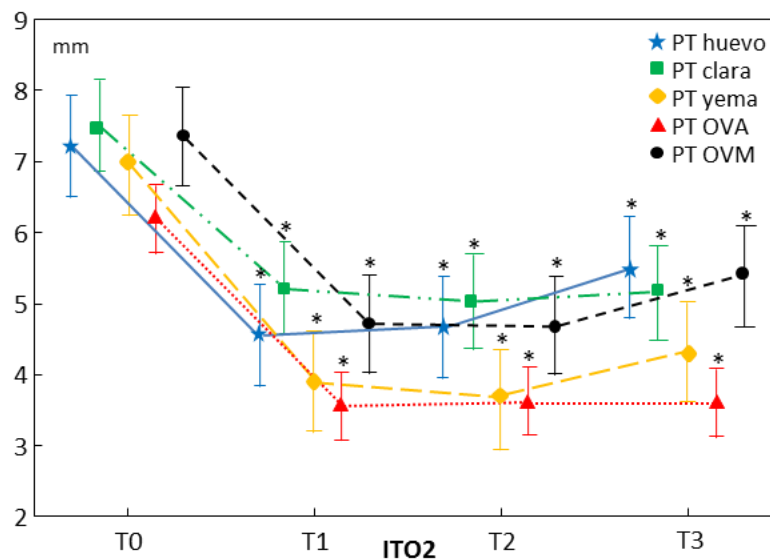


Figura 54. Media (IC al 95%) de los prick tests a fracciones proteicas de huevo (en mm) para el grupo activo total (ITO2) al inicio del estudio (T0), a los 15 días de finalizar la FI (T1), 1 mes después (T2) y a los 5 meses de la ITO2 con huevo (T3) ($*P < 0.001$).

También mostró diferencias para los niveles de las IgG₄ séricas específicas analizadas que aumentaron de forma significativa en T1, T2 y T3 respecto al T0 ($P < 0.001$), con una ligera tendencia a disminuir entre T2 y T1 que se hizo evidente en T3 aunque sin llegar a alcanzar el nivel basal (Tabla 39 y Fig. 55).

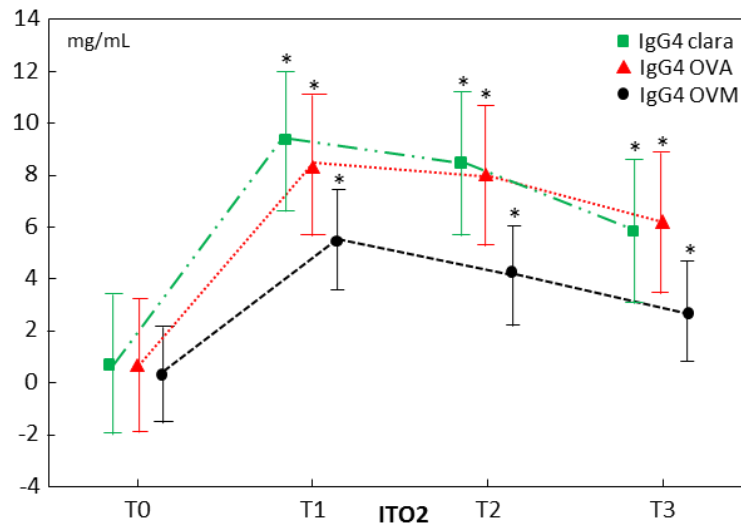


Figura 55. Media (IC al 95%) de la IgG₄ sérica específica a fracciones proteicas de huevo (en mg/mL) para el grupo activo total (ITO2) al inicio del estudio (T0), a los 15 días de finalizar la FI (T1), 1 mes después (T2) y a los 5 meses de la ITOR con huevo (T3) (*P<0.001).

El ratio IgE/IgG₄ específica disminuyó significativamente en todos los tiempos de análisis con respecto a T0 (P<0.001), permaneciendo estable entre T1 y T3 (Tabla 39 y Fig. 56).

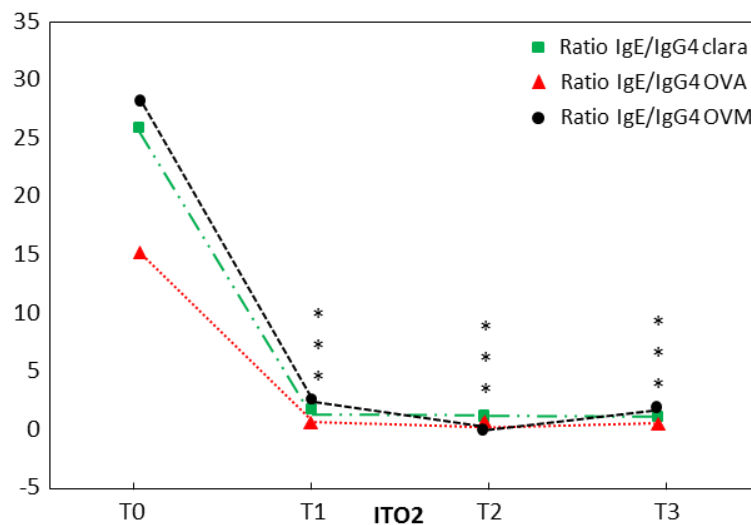


Figura 56. Media del ratio IgE/IgG₄ específica a fracciones proteicas de huevo para el grupo activo total (ITO2) al inicio del estudio (T0), a los 15 días de finalizar la FI (T1), 1 mes después (T2) y a los 5 meses de la ITOR con huevo (T3) (*P<0.001).

La IgE sérica específica también disminuyó de forma significativa para yema (P<0.05) y OVA (P<0.001) en T1, T2 y T3 con respecto a T0. El nivel para OVM disminuyó en T1 y T3 (P<0.001). La disminución para huevo y lisozima fue estadísticamente significativa solo en T3 y T2, respectivamente (P<0.05). No hubo diferencias significativas para la IgE sérica específica a clara en ninguno de los tiempos (Tabla 39 y Fig. 57).

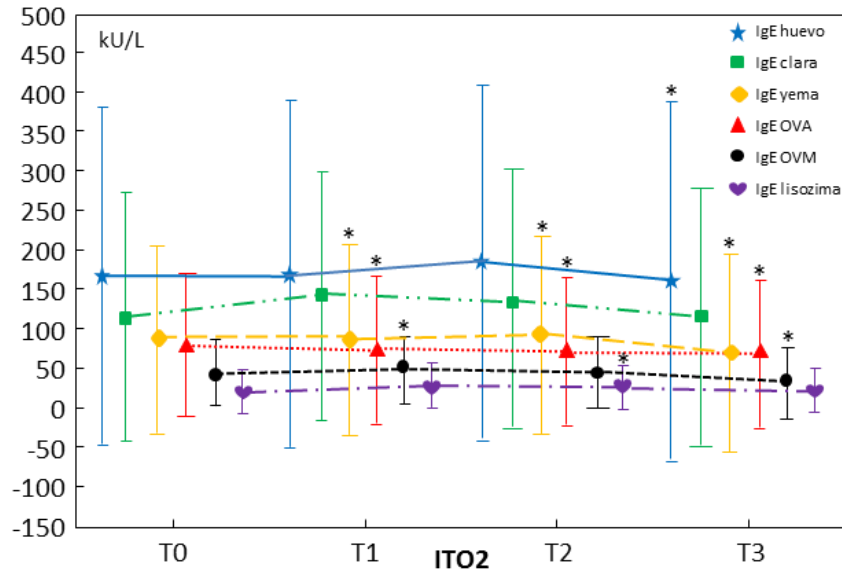


Figura 57. Media (IC al 95%) de la IgE sérica específica a fracciones proteicas de huevo (en kU/L) para el grupo activo total (ITO2) al inicio del estudio (T0), a los 15 días de finalizar la FI (T1), 1 mes después (T2) y a los 5 meses de la ITOR con huevo (T3) (* $P < 0.05$ - 0.001).

La variable eosinófilos en sangre periférica no mostró diferencias significativas durante los 3 tiempos evolutivos y la IgE sérica total aumentó significativamente ($P < 0.05$) en T1 con respecto a T0 (Tabla 39 y Fig. 58).

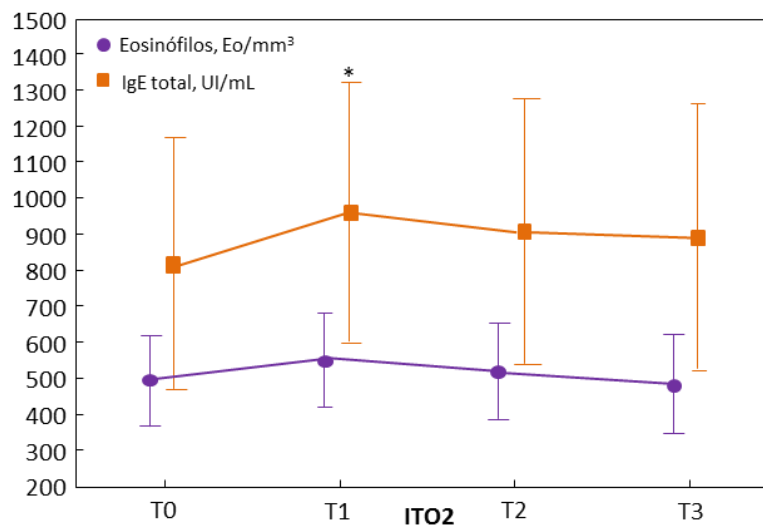


Figura 58. Media (IC al 95%) de eosinófilos en sangre periférica (en Eo/mm^3) y de la IgE sérica total (en UI/mL) para el grupo activo total (ITO2) al inicio del estudio (T0), a los 15 días de finalizar la FI (T1), 1 mes después (T2) y a los 5 meses de la ITOR con huevo (T3) ($P > 0.05$).

En la Tabla 39 se muestran los valores analizados en cada tiempo del estudio del grupo ITO2 y su variación y significación estadística con respecto a los valores basales (T0).

Tabla 39. Comparación intragrupo activo total (ITO2) de los prick tests y del estudio *in vitro* al inicio del estudio (T0), a los 15 días de finalizar la FI (T1), 1 mes después (T2) y a los 5 meses de la ITOR con huevo (T3).

| ITO2 | | | | | | | |
|---|----------------------|-------------------------|---------------|----------------------|---------------|----------------------|---------------|
| | T0 [n=33] | T1 [n=33] | P T1 vs T0 | T2 [n=30] | P T2 vs T0 | T3 [n=30] | P T3 vs T0 |
| Prick tests (mm); media (SD, rango) | | | | | | | |
| Huevo | 7.24 (2.40, 3-12) | 4.56 (1.85, 2-12) | 0.000 | 4.67 (1.67, 2-9) | 0.000 | 5.50 (1.91, 1-9) | 0.001 |
| Clara | 7.48 (1.84, 5-13) | 5.22 (1.88, 2-9) | 0.000 | 5.03 (1.96, 2-10) | 0.000 | 5.17 (1.78, 2-9) | 0.000 |
| Yema | 6.97 (2.64, 3-13) | 3.91 (2.04, 0-10) | 0.000 | 3.70 (1.26, 2-7) | 0.000 | 4.33 (1.75, 1-8) | 0.000 |
| OVA | 6.21 (2.04, 2-11) | 3.56 (1.01, 2-6) | 0.000 | 3.63 (1.25, 2-8) | 0.000 | 3.60 (0.93, 2-5) | 0.000 |
| OVM | 7.36 (2.46, 0-11) | 4.72 (1.78, 0-10) | 0.000 | 4.70 (1.51, 2-8) | 0.000 | 5.40 (2.14, 1-11) | 0.000 |
| Eosinófilos sangre (Eo/mm³); mediana (RIQ) | | | | | | | |
| | 460 (360-630) | 465 (290-665) | 0.877 | 475 (250-620) | 0.399 | 470 (360-650) | 0.711 |
| IgE sérica total (UI/mL); mediana (RIQ) | | | | | | | |
| | 649 (223-1177) | 662.50 (291-1131.50) | 0.004 | 705.50 (239-1102) | 0.440 | 732 (232-1191) | 0.544 |
| IgE sérica específica (kU/L); mediana (RIQ) | | | | | | | |
| Huevo | 6.49 (2.52-14.30) | 6.05 (2.71-13.10) | 0.178 | 5.10 (2.47-8.72) | 0.221 | 4.41 (1.59-9.26) | 0.045 |
| Clara | 6.01 (2.21-13.10) | 5.70 (2.57-12.90) | 0.844 | 4.90 (2.43-8.41) | 0.558 | 3.85 (1.51-8.97) | 0.084 |
| Yema | 1.91 (0.57-4.41) | 0.63 (0.30-2.32) | 0.004 | 0.60 (0.28-1.54) | 0.000 | 0.61 (0.22-1.71) | 0.000 |
| OVA | 2.48 (1.53-7.23) | 1.62 (0.79-4.65) | 0.000 | 1.60 (0.57-2.25) | 0.000 | 1.44 (0.54-2.30) | 0.000 |
| OVM | 4.14 (1.60-10.50) | 4.38 (1.71-12.50) | 0.000 | 3.57 (1.62-9.35) | 0.118 | 3.03 (1.40-8.69) | 0.008 |
| Lisozima | 0.28 (0.12-1.39) | 0.22 (0.10-1.37) | 0.144 | 0.21 (0.10-1.53) | 0.048 | 0.17 (0.10-1.36) | 0.767 |
| IgG₄ sérica específica (mg/mL); mediana (RIQ) | | | | | | | |
| Clara | 0.55 (0.12-1.12) | 5.80 (1.79-11.43) | 0.000 | 5.88 (1.64-12.10) | 0.000 | 3.86 (1.91-7.15) | 0.000 |
| OVA | 0.42 (0.10-0.87) | 4.61 (1.44-9.73) | 0.000 | 5.27 (1.34-9.35) | 0.000 | 3.75 (1.44-7.27) | 0.000 |
| OVM | 0.28 (0.03-0.66) | 2.48 (0.39-5.31) | 0.000 | 2.03 (0.70-4.45) | 0.000 | 1.53 (0.68-3.90) | 0.000 |
| Ratio IgE/IgG₄ específica; mediana (RIQ) | | | | | | | |
| Clara | 25.86 (5.3-55) | 1.26 (0.6-4.2) | 0.000 | 0.94 (0.4-2.6) | 0.000 | 1.07 (0.3-2.9) | 0.000 |
| OVA | 15.06 (3.0-39.6) | 0.59 (0.2-2.4) | 0.000 | 0.36 (0.1-1.4) | 0.000 | 0.48 (0.1-2.0) | 0.000 |
| OVM | 28.33 (6.9-93.2) | 2.39 (0.9-10.6) | 0.000 | 0.07 (0.0-0.2) | 0.000 | 1.70 (0.8-8.8) | 0.000 |

ITO2: grupo activo total; OVA: ovoalbúmina; OVM: ovomucoide; RIQ: rango intercuartilico; SD: desviación estándar.

Valor de P calculado según la prueba de los rangos con signo de Wilcoxon.

Se comparó la producción basal de citoquinas específicas para OVA entre el conjunto de pacientes alérgicos que finalmente completaron todo el protocolo de ITOR con huevo con un grupo de individuos NA del mismo rango de edad. Se observó un mayor nivel de citoquinas de perfil Th1 (IFN- γ y TNF- α) en los niños NA en T0 ($P < 0.001$), sin diferencias significativas con respecto al resto de citoquinas evaluadas (Tabla 40).

Tabla 40. Mediana (RIQ) del nivel de citoquinas (en pg/mL) en el grupo activo total (ITO2) y en individuos no alérgicos (NA) en T0 (basal).

| | ITO2 [n=30] | NA [n=9] | P |
|--------------------------------|----------------------|---------------------|--------|
| IL-10 | 255.2 (170.8- 416.2) | 180.4 (135.3-333.0) | 0.224 |
| IL-5 | 0 (0-1.40) | 0 (0-0) | 0.065 |
| IL-13 | 14.16 (5.64-27.58) | 7.1 (4.96-13.01) | 0.176 |
| IFN-γ | 0 (0-17.57) | 134.2 (31.97-1388) | <0.001 |
| TNF-α | 12.24 (0-81.30) | 382.9 (117.7-741.1) | <0.001 |

Se objetivó una disminución de la respuesta Th2 en el grupo ITO2 en T3, pues la concentración de IL-13 específica disminuyó significativamente respecto a su valor basal ($P < 0.01$) y, aunque de forma no significativa, también disminuyó la producción de IL-5 específica. Estos cambios, sin embargo, no se observaron en T1. Tampoco se detectaron cambios en las citoquinas de perfil Th1 como IFN- γ en T1 ni en T3, aunque se observó una fuerte tendencia a una menor producción de TNF- α específico para OVA en T3 ($P = 0.08$). Se observó un aumento del nivel de IL-10 específica en T1, acorde a hallazgos previos de disminución de PTs y aumento de IgG₄ sérica específica, aunque de forma transitoria igualándose a niveles basales en T3 (Tabla 41).

Tabla 41. Mediana (RIQ) del nivel de citoquinas (en pg/mL) en el grupo activo total (ITO2) en T0 (basal), T1 (al mes de finalizar la FI) y T3 (a los 5 meses de la ITOR con huevo).

| | ITO2 [n=30] | | | | | |
|--------------------------------|---------------------|-------------------|-------|---------------------|---------------------|-------|
| | T0 | T1 | P | T0 | T3 | P |
| IL-10 | 265.8 (157.9-434.2) | 326 (220.3-546.7) | 0.104 | 265.8 (157.9-434.2) | 234.3 (118.1-338.0) | 0.435 |
| IL-5 | 0 (0-1.14) | 0 (0-0.76) | 0.376 | 0 (0-1.14) | 0 (0-0) | 0.160 |
| IL-13 | 17.6 (0-37.05) | 17.3 (4.28-59.14) | 0.875 | 17.6 (0-37.05) | 3.3 (0-13.53) | <0.01 |
| IFN-γ | 0 (0-36.79) | 0 (0-30.02) | 0.502 | 0 (0-36.79) | 0 (0-0) | 0.99 |
| TNF-α | 20.1 (0-130.8) | 12.4 (0-186.9) | 0.856 | 20.1 (0-130.8) | 14.8 (0-55.43) | 0.080 |

No se detectaron cambios significativos en la expresión de los factores de transcripción FoxP3 (Treg), Tbet (Th1) y GATA3 (Th2) en el grupo ITO2 entre T0, T1 y T3, con valores muy cercanos a 1 en todos los casos (Tabla 42 y Fig. 59).

Tabla 42. Media de expresión de factores de transcripción FoxP3, Tbet y GATA3 (en RQ) en el grupo activo total (ITO2) entre T0 (basal), T1 (al mes de finalizar la FI) y T3 (a los 5 meses de la ITOR con huevo).

| | ITO2 [n=30] | |
|--------------|----------------|-------|
| | T0-T1 | T0-T3 |
| FoxP3 | 1.12 | 0.96 |
| Tbet | 1.35 | 1.25 |
| GATA3 | 1.27 | 1.13 |

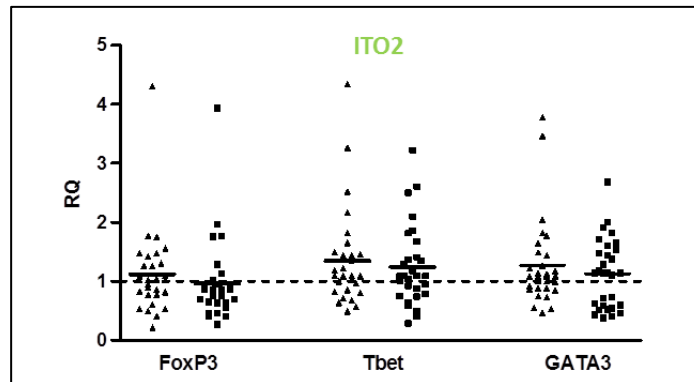


Figura 59. Valores medios (en RQ) de los factores de transcripción FoxP3, Tbet y GATA3 en ITO2. Los triángulos representan el cambio entre T0 y T1. Los cuadrados representan el cambio entre T0 y T3.

No se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre perfiles de niños alérgicos (8 del ITO1: N° 1, 2, 3, 9, 14, 16, 17, 19; y 8 del GC: N° 21, 22, 23, 24, 25, 27, 30, 33) (Tabla 38) y NA a tiempo basal en el porcentaje de células Treg (CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺) tras estimulación de células polimorfonucleares periféricas con OVA (Tabla 43 y Fig. 60).

Tabla 43. Mediana (RIQ) del nivel de células Treg FoxP3⁺ (en %) en individuos alérgicos (ITO2) y en no alérgicos (NA) en T0 (basal).

| ITO2 [n=16] | NA [n=9] | P |
|-------------------|------------------|-------|
| 6.38 (4.50-10.02) | 4.49 (3.61-6.89) | 0.107 |

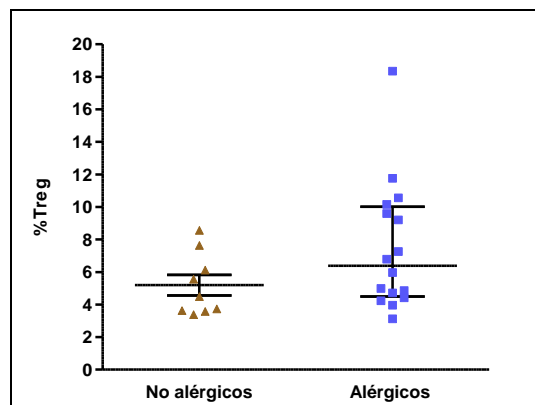


Figura 60. Mediana (RIQ) del porcentaje de células Treg FoxP3⁺ en individuos alérgicos (ITO2) y en no alérgicos en T0 (basal).

De los 16 pacientes del ITO2 que se analizaron para la detección de células Treg ($CD4^+CD25^+FoxP3^+$) tras estimulación con OVA, finalmente solo 10 pacientes (N° 1, 2, 14, 17, 21, 22, 23, 24, 26, 33) (Tabla 38) pudieron ser analizados al inicio y al final del estudio. El análisis reveló sorprendentemente una disminución no significativa de dicho porcentaje alcanzando los valores más bajos en el último punto del estudio (Tabla 44 y Fig. 61).

Tabla 44. Mediana (RIQ) del nivel de células Treg $FoxP3^+$ (en %) en el grupo activo total (ITO2) en T0 (basal) y T3 (a los 5 meses de la ITOR con huevo).

| ITO2 [n=10] | | |
|------------------|------------------|-------|
| T0 | T3 | P |
| 6.59 (3.95-8.62) | 5.13 (4.18-6.12) | 0.160 |

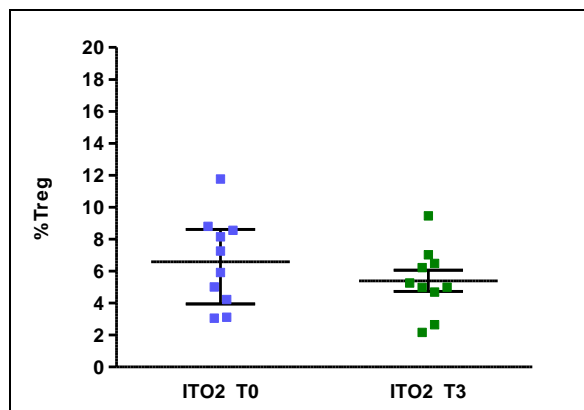


Figura 61. Mediana (RIQ) del porcentaje de células Treg $FoxP3^+$ en el grupo activo total (ITO2) en T0 (basal) y T3 (a los 5 meses de la ITOR con huevo).

6.2.4 Seguridad clínica

6.2.4.1 Provocación oral con huevo doble ciego controlada con placebo

Teniendo en cuenta que el protocolo de ITOR con huevo se basa en la última dosis tolerada en la PODCCP basal, habría que contemplar los riesgos de dicha prueba. Los resultados y las características de los síntomas presentados por los paciente en la PODCCP ya han sido ampliamente abordados en otros apartados de este documento. Como breve resumen, los síntomas fueron graves en 2 pacientes en la primera PODCCP con CHD, moderados en 7 casos (5 pacientes en la primera, 2 en la segunda) y leves en 37 casos (26 pacientes en la primera, 11 en la segunda). Necesitaron ser tratados en 29/33 pacientes (87.88%). El tratamiento administrado para el control de los mismos fue antihistamínico oral en 29 de los casos (87.88%), corticoide oral en 7 (21.21%), broncodilatador de corta duración en 4 (12.12%) y adrenalina intramuscular en solo 2 de ellos ambos del GC (6.06%).

6.2.4.2 Reacciones adversas durante la fase de inducción de la inmunoterapia oral rápida con huevo

Únicamente 4 pacientes (12.5%) del grupo ITO2, con niveles basales de IgE sérica específica a clara de 1.82, 0.28, 302 y 1.67 kU/L (Nº 11, 16, 18 y 29, respectivamente) (Tabla 38), no sufrieron RAs en la FI ni en la FM.

Las RAs sucedieron en el 31% (116 eventos) de las 372 dosis de CHD administradas durante la FI en el ITO2. El 68.8% (22/32 pacientes) presentaron ≥ 1 RA durante la FI. La mediana de RAs por paciente fue de 2.5 (rango 0-17): 10 pacientes (31.25%) sin ninguna RA, 16 niños (50%) tuvieron ≤ 2 RAs y 3 niños (9.4%) desarrollaron >10 RAs (45 RAs del total equivalente al 38.8%). Esos 3 pacientes son los que tenían mayores niveles basales de IgE sérica específica y los que precisaron más días y más dosis para completar la FI (Fig. 62).

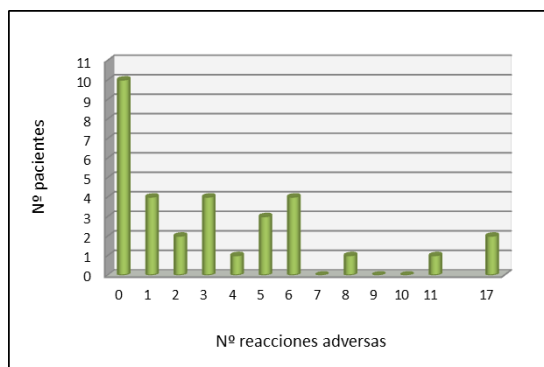


Figura 62. Número de RAs acontecidas durante la FI de la ITO2 con CHD en el ITO2.

Sobre dicho total de RAs, desglosando los síntomas registrados en la FI, se contabilizaron 155 eventos con predominio de sintomatología digestiva (54.84%, 85 eventos) seguida de SAO (19.35%, 30 eventos). Solo se registraron 2 episodios de anafilaxia (1.29% de las RAs). Respecto a la afectación por órganos teniendo en cuenta el conjunto de dosis administradas por paciente durante esta fase, predominaron por igual aquellos sujetos que no presentaron ningún síntoma y los que solo tuvieron afectación de 1 solo órgano (contando SAO como aparato digestivo, urticaria/angioedema como cutáneo y rinoconjuntivitis/asma bronquial como respiratorio) (Fig. 63).

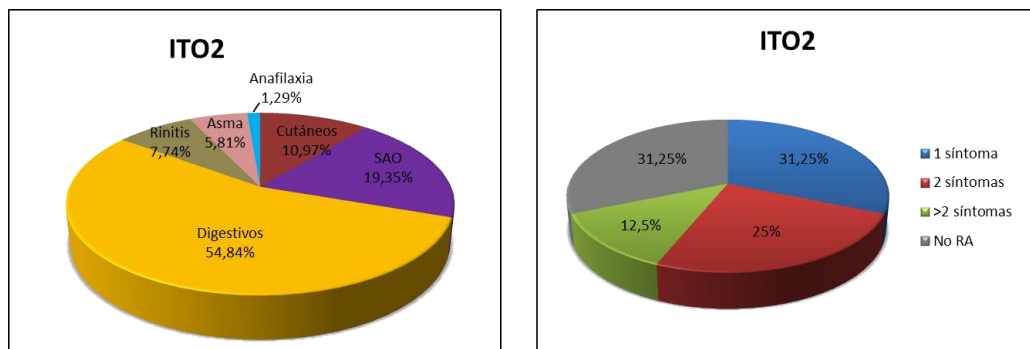


Figura 63. Síntomas presentados y afectación por órganos durante la FI de la ITO2 con CHD en el ITO2.

Los síntomas presentados durante la FI de la ITOR en el ITO2 fueron de carácter leve en 99 casos (85.35%), moderado en 15 (12.93%) y grave en 2 (1.72%). Destacar que en los 3 pacientes que sufrieron >10 RAs todas ellas fueron leves (Fig. 64).

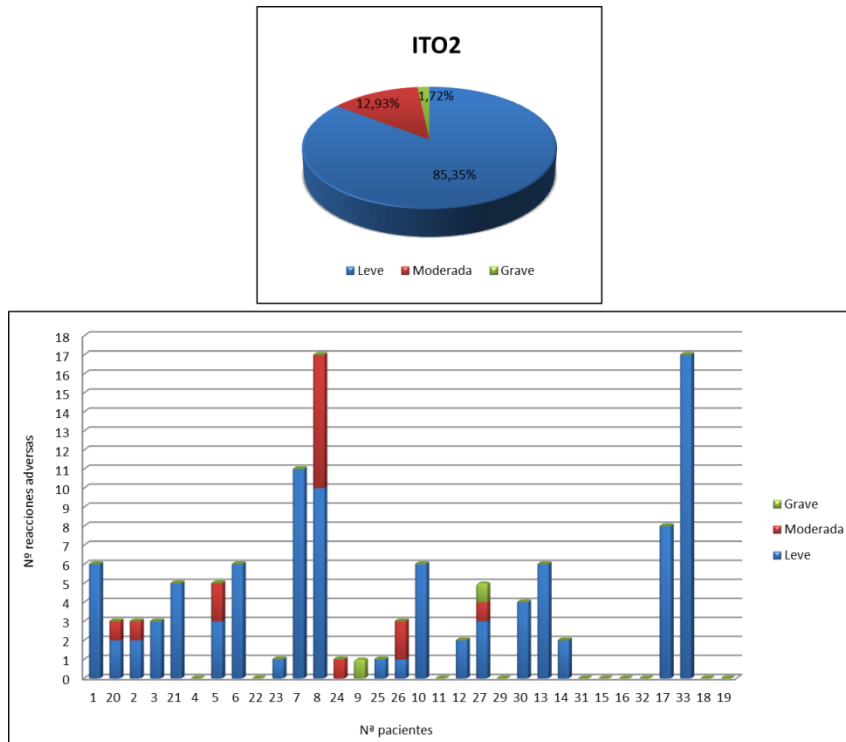


Figura 64. Gravedad de las RAs en total y por paciente del ITO2 durante la FI de la ITOR con CHD. *El número 28 abandonó antes de someterse a la ITOR.

Las dosis que con más frecuencia produjeron RAs fueron la de 900 mg (29%) y 1800 mg (22%) seguidas con igual frecuencia por las dosis de 225 mg (15.5%) y 450 mg (15%). Ningún paciente precisó la administración de la dosis de 4 mg, la de 20 mg se suministró a 2 pacientes sin ocasionar RA, la de 50 mg provocó RA en solo 2 de los 7 niños a los que se les administró y la de 3600 mg no produjo RA en 24 pacientes. Las dosis bajas de CHD fueron bien toleradas mientras que las medias-altas causaron con mayor frecuencia RAs (Fig. 65).

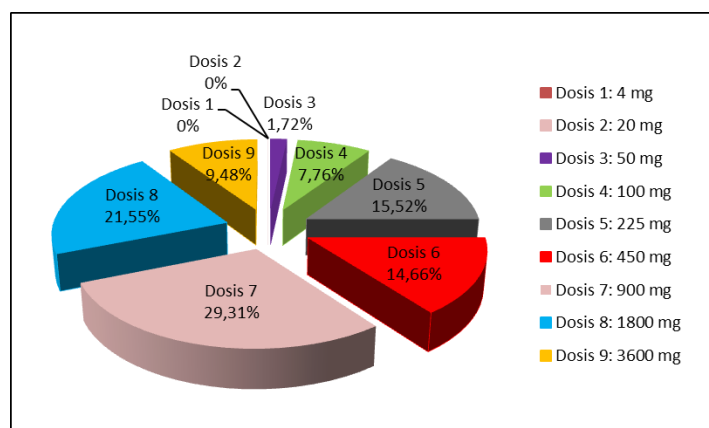


Figura 65. Porcentaje de RAs durante la FI de la ITOR con CHD según dosis administrada en el ITO2.

Los síntomas presentados durante la ITOR con huevo fueron tratados en 15/32 pacientes (46.87%) del ITO2, ya que en las mayorías de las ocasiones el síntoma más frecuente referido por los pacientes, el dolor abdominal, resultó de carácter leve y autolimitado en aproximadamente 1 hora. El tratamiento administrado para el control de los mismos fue antihistamínico oral en 15 casos (46.87%), corticoide oral en 4 (12.5%), broncodilatador de corta duración en 3 (9.38%), oxigenoterapia en 2 (6.25%) y adrenalina intramuscular en otros 2 pacientes (6.25%).

Respecto al número total de inyecciones de adrenalina intramuscular administradas durante el estudio, se precisaron 2 dosis en la primera PODCCP (ambos individuos del GC con IgE sérica específica a clara de 3.11 y 1.76 kU/L, respectivamente) y otras 2 durante la ITOR (pacientes con IgE sérica específica a clara de 5.43 y 48.7 kU/L) (Fig. 66).

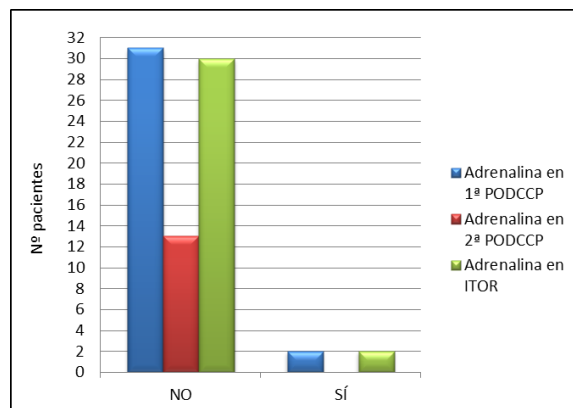


Figura 66. Administración de adrenalina intramuscular en PODCCP e ITOR con CHD.

En un caso del grupo ITO1 que abandonó tras el T1 de la FM del estudio se prescribió cromoglicato disódico 400 mg/día vía oral al iniciar la ITOR debido a dolor abdominal de gran intensidad y persistente a pesar de tratamiento con antihistamínico oral. Este fármaco permitió la subida de dosis durante la FI y fue parcialmente retirado durante el mantenimiento inicial con huevo en el domicilio.

Los pacientes que seguían terapia con broncodilatadores y/o montelukast vía oral para el control del asma bronquial no lo suspendieron.

6.2.4.3 Reacciones adversas durante la fase de mantenimiento de la inmunoterapia oral rápida con huevo

Los pacientes registraron un total de 226 RAs durante la FM. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la frecuencia de RAs sufridas en el grupo ITO2 en los diferentes periodos de tiempo durante la FM (T1: (fin FI-T1) 15 días; T2: (T1-T2) 1 mes; T3: (T2-T3) 3 meses) (P=0.651) (Tabla 45 y Fig. 67). El valor medio de RAs/día/paciente fue de 0.03 entre el final de la FI y T1, 0.01 entre T1 y T2, y 0.01 entre T2 y T3.

Tabla 45. Descripción de frecuencias del total de RAs en relación con la toma de huevo durante la FM según los tiempos de evolución del estudio (T1: (fin FI-T1) 15 días; T2: (T1-T2) 1 mes; T3: (T2-T3) 3 meses).

| | Total | Media del total RA | SD | Mínimo | Máximo |
|---------------------------------------|-------|--------------------|------|--------|--------|
| Reacciones fin FI-T1 [n=31] | 68 | 2.23 | 2.89 | 0 | 12 |
| Reacciones T1-T2 [n=30] | 65 | 2.16 | 3.35 | 0 | 10 |
| Reacciones T2-T3 [n=30] | 93 | 3.10 | 6.93 | 0 | 30 |

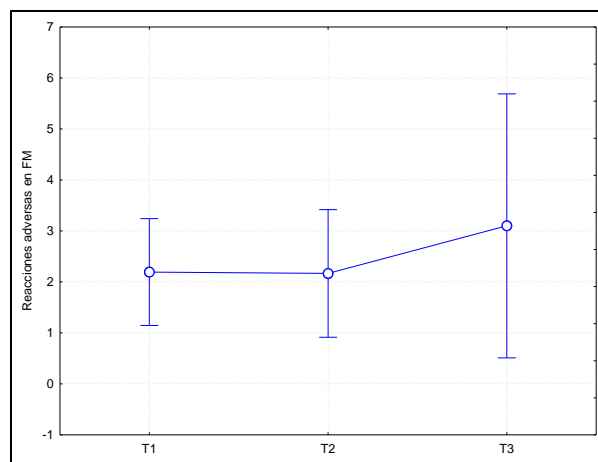


Figura 67. Media (IC al 95%) del total de RAs con huevo durante la FM según los tiempos de evolución del estudio (T1: (fin FI-T1) 15 días; T2: (T1-T2) 1 mes; T3: (T2-T3) 3 meses).

En cuanto a las RAs presentadas por cada paciente y tiempo de evolución del estudio, solo 2 pacientes (N° 14 y 21; IgE sérica específica a clara de 3.1 y 13.9 kU/L, respectivamente) sufrieron 25 y 30 un número importante RAs, respectivamente, en el T3 que es el mayor periodo de seguimiento, pero todas ellas fueron referidas como SAO. Otros sujetos (N° 9, 12) presentaron ligeramente más síntomas en el periodo entre T1 y T2 con respecto al periodo entre el fin de la FI y T1, mientras que la mayoría permanecieron asintomáticos durante todo el evolutivo o el número de RAs fue disminuyendo durante el mismo.

En cuanto al número de las RAs totales referidas por paciente durante la FM con huevo, sin tener en cuenta el tiempo de evolución, el mínimo fue de 0 eventos (5 pacientes, 16.1%), el máximo de 39 (1 paciente) y 23/31 sujetos (74.2%) presentaron <10 RAs durante todo el evolutivo. Todas las RAs fueron de carácter leve como se expone a continuación (Fig. 68).

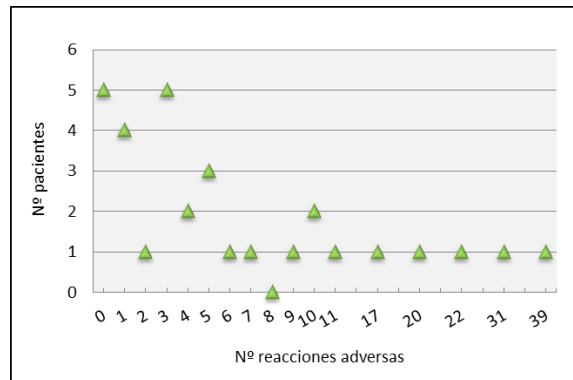


Figura 68. Número de RAs por paciente del ITO2 durante la FM con huevo.

Desglosando la clínica referida por los pacientes (312 eventos en conjunto), tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tiempos de evolución ($P=0.246-0.778$) (Tabla 46).

Tabla 46. Descripción de frecuencia de síntomas en el ITO2 durante la FM con huevo (T1: (fin FI-T1) 15 días; T2: (T1-T2) 1 mes; T3: (T2-T3) 3 meses).

| | Total | Media | SD | Mínimo | Máximo | P |
|-------------------|-------|-------|------|--------|--------|-------|
| SAO | | | | | | 0.593 |
| Fin FI-T1 | 55 | 1.83 | 2.71 | 0 | 12 | |
| T1-T2 | 56 | 1.86 | 3.29 | 0 | 10 | |
| T2-T3 | 86 | 2.86 | 6.99 | 0 | 30 | |
| Cutáneos | | | | | | 0.778 |
| Fin FI-T1 | 6 | 0.20 | 0.48 | 0 | 2 | |
| T1-T2 | 11 | 0.36 | 1.65 | 0 | 9 | |
| T2-T3 | 20 | 0.66 | 3.28 | 0 | 18 | |
| Rinitis | | | | | | 0.311 |
| Fin FI-T1 | 3 | 0.13 | 0.34 | 0 | 1 | |
| T1-T2 | 1 | 0.03 | 0.18 | 0 | 1 | |
| T2-T3 | 4 | 0.13 | 0.57 | 0 | 3 | |
| Asma | | | | | | 0.367 |
| Fin FI-T1 | 0 | 0.00 | - | 0 | 0 | |
| T1-T2 | 1 | 0.03 | 0.18 | 0 | 1 | |
| T2-T3 | 2 | 0.06 | 0.36 | 0 | 2 | |
| Digestivos | | | | | | 0.246 |
| Fin FI-T1 | 25 | 0.80 | 2.09 | 0 | 10 | |
| T1-T2 | 26 | 0.86 | 2.17 | 0 | 10 | |
| T2-T3 | 16 | 0.53 | 1.59 | 0 | 6 | |

Durante la FM, la reacción clínica más frecuentemente referida por los pacientes fue SAO (63.14%, 197 eventos) seguida de dolor abdominal leve (21.47%, 67 eventos) y de eritema perioral (11.86%, 37 eventos). Es destacable que no aconteció ningún caso de anafilaxia (Fig. 69).

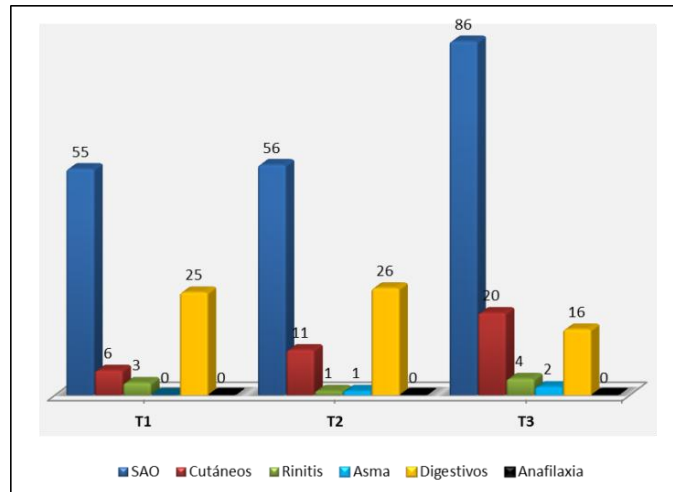


Figura 69. Frecuencia de síntomas en el ITO2 durante la FM con huevo (T1: (fin FI-T1) 15 días; T2: (T1-T2) 1 mes; T3: (T2-T3) 3 meses).

Los pacientes recibieron tratamiento con cetirizina vía oral durante la FI de la ITOR y hasta la mitad de la primera semana de la FM en el domicilio. La sintomatología presentada durante la FM se resolvió de forma espontánea por su carácter autolimitado y/o de corta duración en el 67.74% (21/31) de los pacientes, mientras que en el resto fue tratada según las normas entregadas y a criterio de la familia del niño con cetirizina oral (15 RAs en 10 pacientes), salbutamol inhalado (5 RAs en 3 pacientes) y/o corticoide oral (1 RA). Generalmente fueron tratados el dolor abdominal duradero, la clínica cutánea no localizada y la hiperreactividad bronquial leve en contexto de proceso infeccioso concomitante. El tratamiento domiciliario indicado por el facultativo fue orientativo, pero se vio influido por el miedo del paciente y/o sus familiares a la toma de huevo poco cocinado o por el rechazo al huevo, lo que indujo la automedicación con antihistamínico oral los días protocolizados de toma de huevo crudo para prevenir la aparición de RAs (en especial el individuo N° 7 con IgE sérica específica basal a clara de 1735 kU/L).

6.2.4.4 Variables subjetivas (adherencia, gusto y miedo)

Se evaluaron variables subjetivas durante el seguimiento domiciliario con dosis de mantenimiento de un huevo poco cocinado 3 veces a la semana en 31 pacientes (30 completaron el periodo de 5 meses (T3) y 1 solo hasta 15 días (T1) del mantenimiento). A los 5 meses, el 12.9% de los niños aún tenían miedo a comer huevo poco cocinado y el 48.4% referían cierto rechazo porque no les gustaba el huevo; sin embargo, el 96.8% de los pacientes mostraban buena adherencia al régimen alimenticio indicado (Tabla 47).

Tabla 47. Variables subjetivas evaluadas al final de la FM con huevo.

| Miedo | Gusto | Adherencia |
|----------------------|-----------------------|--------------------|
| Mucho (3.2%, 1 pac) | Mucho (51.6%, 16 pac) | Sí (96.8%, 30 pac) |
| Algo (9.7%, 3 pac) | Poco (32.3%, 10 pac) | No (3.2%, 1 pac) |
| Nada (87.1%, 27 pac) | Nada (16.1%, 5 pac) | |

6.2.4.5 Factores facilitadores

El factor facilitador más frecuentemente referido durante una RA por huevo durante toda la FM fueron las infecciones de vías respiratorias o de tracto digestivo (4.2% en 10 RAs), el estrés y el ejercicio físico (ambos 0.4%), lo que en conjunto dichos factores supusieron un porcentaje muy pequeño del total de RAs acontecidas durante la FM (Tabla 48). El periodo donde se detectaron más factores facilitadores de RAs fue el comprendido entre el fin de la FI y el T1 (6 casos) (Fig. 70).

Tabla 48. Factores facilitadores de RAs evaluados durante la FM con huevo.

| Infeciones | Estrés | Ejercicio físico | AINEs |
|--|---------------------|---------------------|-------------------|
| Sí (4.2%, 3 pac/1 RA + 2 pac/2 RA + 1 pac/3 RA) | Sí (0.4%, 1 RA/pac) | Sí (0.4%, 1 RA/pac) | - |
| No (95.8%, 25 pac) | No (99.6%, 30 pac) | No (99.6%, 30 pac) | No (100%, 31 pac) |

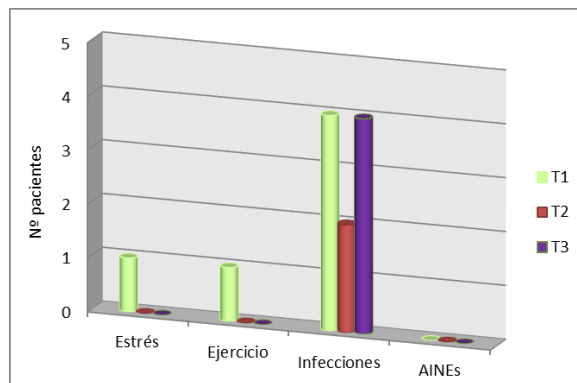


Figura 70. Factores facilitadores de RAs evaluados durante la FM con huevo según los tiempos de evolución del estudio (T1: (fin FI-T1) 15 días; T2: (T1-T2) 1 mes; T3: (T2-T3) 3 meses).

6.2.4.6 Seguimiento clínico a largo plazo

Veintisiete de los 30 pacientes que finalizaron la FM de 5 meses completaron la encuesta de seguimiento a los 27-32 meses de finalizar el estudio. No se pudo contactar con 3 niños. El 85.18% (23/27) continuaban comiendo huevo y 4 pacientes no:

1) El paciente N° 1, con IgE sérica específica basal a clara de 6.09 kU/L y que completó la FI en 6 días, comenzó a presentar episodios de dolor abdominal intenso con huevo poco cocinado a los 2 años. Se le realizó PO con resultado positivo. No come huevo ni trazas.

2) El paciente N° 7, con IgE sérica específica basal a clara de 1735 kU/L y que completó la FI en 12 días, presentó un episodio de anafilaxia con huevo crudo al año. No come huevo en ninguna presentación incluyendo trazas.

3) El paciente N° 30, con IgE sérica específica basal a clara de 45.3 kU/L y que completó la FI en 6 días, a los 18 meses comenzó a presentar dolor abdominal y rechazo del alimento. Se le realizó PO con resultado positivo. Toma y tolera trazas de huevo.

4) El paciente N° 33, con IgE sérica específica basal a clara de 1023 kU/L y que completó la FI en 14 días, tardaba horas en comer un huevo por lo que se le retiró de su dieta a los 12 meses. Toma y tolera trazas de huevo.

Los 23 pacientes que continuaban tolerando huevo lo comían poco cocinado 2-3 veces a la semana, excepto dos pacientes. Un paciente que tomaba CHD a diario por haber tenido una RA con la ingestión de tortilla más realización de ejercicio físico y otro niño que tomaba CHD 3 veces a la semana porque no le gustaba el huevo. Los 23 pacientes tomaban alimentos que contenían huevo sin presentar incidencias clínicas.

Al 56.52% (13/23) de los niños sí les gustaba el huevo poco cocinado. Al 43.48% (10/23) no les gustaba el huevo crudo, pero a pesar de ello lo seguían comiendo con buena adherencia terapéutica.

El 21.74% (5/23) de los pacientes se habían sometido a dieta de eliminación de huevo durante 1 mes tras llevar mínimo 1 año comiendo huevo poco cocinado para explorar el estado de tolerancia mantenida a huevo. El 80% (4/5) (N° 15, 19, 23 y 31) mostraron una PO negativa con CHD, por lo que se constató la tolerancia mantenida al alimento. El paciente con resultado positivo se sometió a una segunda ITO (4.35%, 1/23) (N° 3) con buena tolerancia y actualmente come huevo poco cocinado 3 veces en semana.

6.2.4.7 Identificación de factores de riesgo durante la fase de inducción de la inmunoterapia oral rápida con huevo

Se analizaron variables que pudieran predecir la seguridad del protocolo de ITOR. Únicamente 1 paciente de los 32 sometidos a ITOR con huevo no completó la FI, por lo que los factores de riesgo se evaluaron con respecto a RAs y no sobre éxito/fracaso. El 50% de los pacientes del grupo ITO2 presentaron >2 RAs durante la FI, por lo que se realizó el análisis de factores de riesgo en relación a haber sufrido >2 o ≤ 2 RAs.

No se encontró asociación entre la edad ($P=0.63$), el sexo ($P=0.28$), la edad de primera RA con huevo, asma bronquial de base ($P=1.00$) o síntomas desarrollados durante la PODCCP y la aparición de >2 RAs. Sin embargo, umbrales más bajos en la PODCCP se asociaron con mayor probabilidad de RAs ($P=0.04$).

Se observó asociación entre la duración de la FI y la aparición de >2 RAs (media (SD) 2.43 (0.81) días para ≤ 2 RAs versus 6.31 (3.51) días para >2 RAs) ($P<0.001$) (Fig. 71).

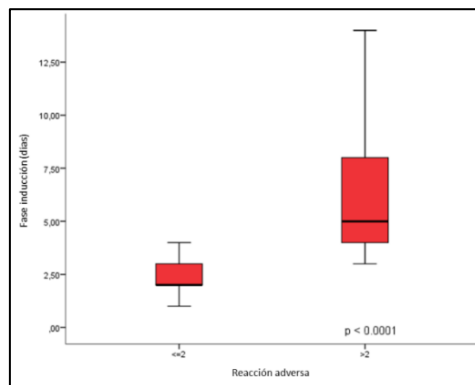


Figura 71. Asociación entre duración de la FI de la ITOR con huevo y el desarrollo de >2 versus ≤ 2 RAs.

No se observó relación entre el sexo ($P=0.07$), la edad ($P=0.34$) y la presencia de asma bronquial ($P=0.89$) con la duración de la FI de la ITOR. Un mayor nivel basal de IgE sérica específica a OVM se asoció con una mayor duración de la FI ($P=0.01$; β estandarizado 7.15).

Los niveles de IgE sérica específica a huevo, clara y OVA, seguidos por el ratio IgE/IgG₄ específicas a clara y OVA, mostraron el mejor rendimiento diagnóstico al inicio del estudio para la predicción de sufrir >2 RAs durante la FI de la ITOR (Fig. 72).

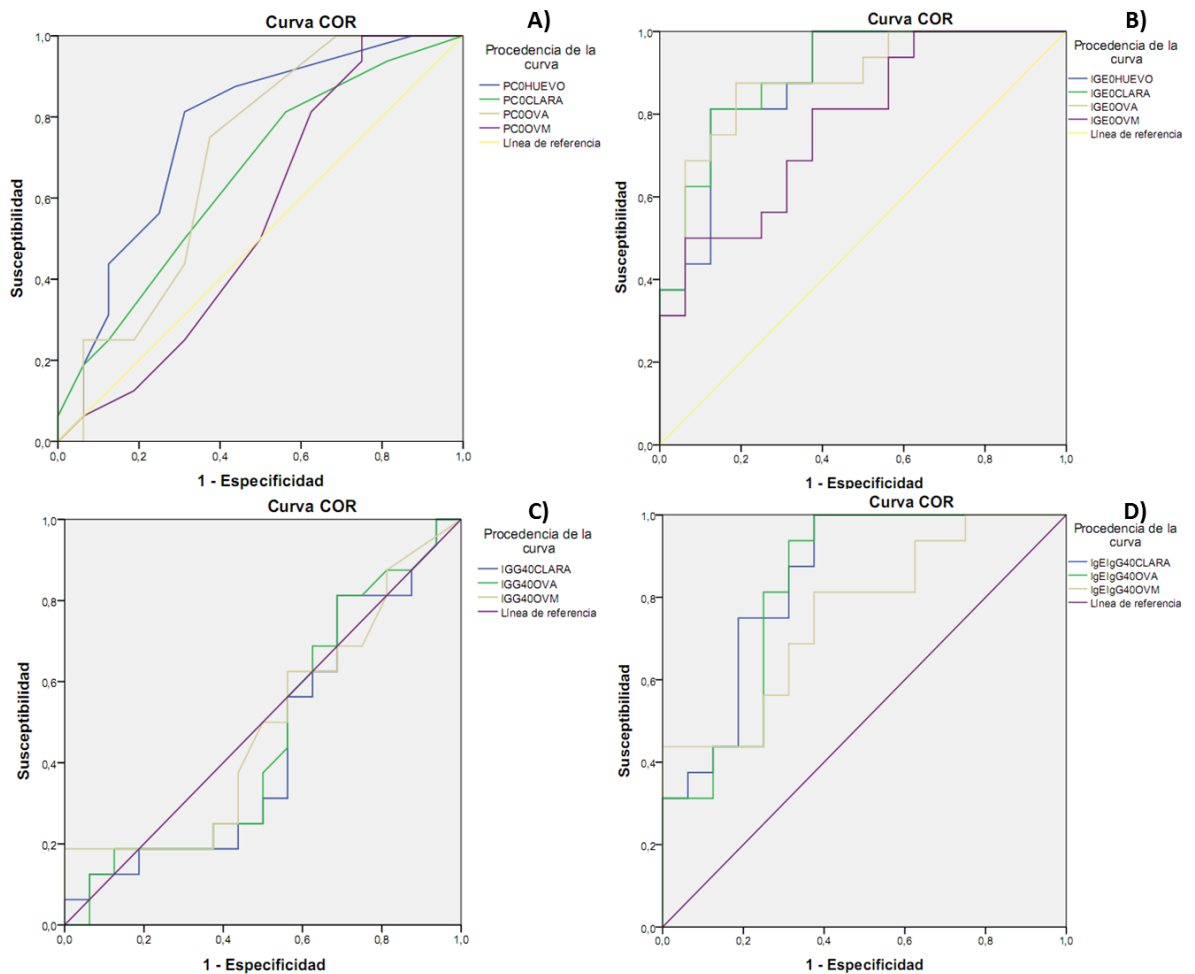


Figura 72. Potencial discriminativo de los resultados basales (T0) a huevo para determinar el desarrollo de >2 RAs durante la fase de inducción de la ITOR con huevo: A) prick test; B) IgE sérica específica; C) IgG₄ sérica específica; y D) ratio IgE/IgG₄ específica.

Los mejores puntos de corte en T0 para predecir >2 RAs fueron (Tabla 49):

- ✓ IgE sérica específica para huevo y clara ≥ 18 kU/L.
- ✓ IgE sérica específica para OVA ≥ 15 kU/L.
- ✓ Ratio IgE/IgG₄ específica para clara y OVA ≥ 11 .

Tabla 49. Puntos de corte óptimos de las variables a estudio al inicio (T0) y su potencial discriminativo para determinar el desarrollo de >2 RAs durante la ITOR con huevo.

| | Valor | ABC | IC 95% | Valor P | S (%) | E (%) | VPP (%) | VPN (%) | RVP+ |
|----------------------------------|----------|------|-----------|---------|-------|-------|---------|---------|------|
| PT huevo | ≥5 mm | 0.76 | 0.56-0.88 | 0.01 | 81.3 | 68.8 | 100 | 60 | 2.6 |
| IgE huevo | ≥18 kU/L | 0.88 | 0.71-0.96 | <0.0001 | 81.3 | 87.5 | 81.2 | 100 | 6.5 |
| IgE clara | ≥18 kU/L | 0.89 | 0.75-0.98 | <0.0001 | 81.3 | 87.5 | 81.2 | 100 | 6.5 |
| IgE OVA | ≥15 kU/L | 0.88 | 0.71-0.96 | <0.0001 | 87.5 | 81.3 | 80.1 | 100 | 4.7 |
| IgE OVM | ≥14 kU/L | 0.77 | 0.60-0.91 | 0.007 | 81.3 | 62.5 | 25 | 100 | 2.2 |
| IgE/IgG₄ clara | ≥11 | 0.84 | 0.67-0.94 | 0.001 | 100 | 62.5 | 87.5 | 62.5 | 2.7 |
| IgE/IgG₄ OVA | ≥11 | 0.82 | 0.67-0.94 | 0.002 | 100 | 62.5 | 81.3 | 75.0 | 2.7 |
| IgE/IgG₄ OVM | ≥14 | 0.75 | 0.26-0.88 | 0.01 | 81.3 | 62.5 | 81.3 | 43.8 | 2.2 |

ABC: área bajo la curva; IC: intervalo de confianza; S: sensibilidad; E: especificidad; VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo.

*Razón de verosimilitud: RVP; un valor >1 incrementa la probabilidad de que la RA esté presente y tanto más cuanto más se aleje del valor 1.



Discusión de resultados



7 Discusión de resultados

Mediante un estudio aleatorizado con grupo control, se demuestra la eficacia para conseguir la desensibilización a huevo en niños con alergia persistente de un protocolo con una fase de incremento de dosis de 5 días basado en la PODCCP basal y una dosis objetivo equivalente a una clara de huevo cruda. El 89.5% del grupo activo pudieron comer huevo a los 5 meses en comparación con ninguno del GC. La inclusión de los controles en el grupo de tratamiento activo permitió valorar la eficacia en un número mayor de pacientes. De los 32 pacientes sometidos a ITOR con huevo, el 93.75% cumplieron el objetivo de comer al menos un huevo entero a los 5 meses del inicio del tratamiento, con una mediana de duración de la FI de 3 días. El procedimiento no ocasionó reacciones graves y moduló el estado inmunológico específico a huevo de los pacientes.

A diferencia de otras publicaciones [162, 174, 181, 183] en las que no se realizó PO, en este estudio cada participante fue sometido a una PODCCP antes de iniciar el protocolo. Este enfoque garantizó la inclusión de exclusivamente pacientes alérgicos a huevo y se evitó tratar a un 8% de los individuos reclutados que cumplían el resto de los criterios de inclusión pues toleraban huevo en el momento del inicio del estudio.

La PODCCP basal permitió determinar las dosis bien toleradas por los pacientes y así evitar su administración durante la fase de incremento de dosis. La ITOR se comenzó por la última dosis tolerada por el paciente en la PODCCP y de esta manera se evitó la administración de las dosis más bajas del presente protocolo de ITOR con huevo en todos los pacientes. Es importante realizar la PODCCP inmediatamente antes de iniciar el protocolo, ya que hemos detectado variabilidad en la dosis umbral en el GC al inicio del estudio y 5 meses después cuando este grupo de pacientes inició el protocolo de ITOR con huevo. Solo 2 estudios previos no aleatorizados y no controlados [178, 222] iniciaron el tratamiento siguiendo un método similar. Sin embargo, en el trabajo de Ruiz-García y cols [222] solo 4 pacientes se sometieron a una PO basal con huevo y en el protocolo seguido por Itoh y cols [178] la dosis inicial se fijó en aproximadamente una décima parte de la dosis umbral en la PODCCP para 6 niños en lugar de en la última dosis individual tolerada.

Los tratamientos cortos son más fáciles de cumplir. Una menor duración de la FI podría mejorar la adherencia al tratamiento tanto de los niños como de los padres. Además, facilitaría la diferenciación de los efectos reales de la intervención respecto a la superación natural de la alergia. De hecho, el 81.3% de los pacientes tratados en este estudio completaron la FI en ≤ 5 días. Sin embargo, la mayoría de los protocolos publicados hasta la fecha de ITO con huevo han sido diseñados para una duración de la FI de aproximadamente 60 días [155]. Únicamente García-Rodríguez y cols [179] utilizaron en 21 pacientes un protocolo de 5 días, como en el presente estudio, pero con una dosis diana menos alérgica que consistía en un huevo cocinado (por ejemplo, cocido, tortilla...) más 8 mL de clara cruda.

Los estudios han encontrado que la ITO es capaz de inducir la desensibilización a huevo, con una eficacia que oscila del 0% [182] al 100% [178] y una mediana en la tasa de éxito de más del 80% de los pacientes [155]. En el protocolo actual, después de 5 meses de terapia ninguno de los pacientes del GC fue capaz de comer una ración regular de huevo en

comparación con el 89.5% de los que recibieron la ITOR. Tras aumentar el número total de pacientes tratados a 32 niños alérgicos a huevo, el porcentaje de individuos desensibilizados aumentó al 93.75%, cifra similar al alcanzado con el protocolo de 32 días previamente publicado por el grupo del Hospital Niño Jesús (93%) [190]. En la única revisión sistemática de las publicaciones sobre ITO con huevo [256], con 4 estudios aleatorizados controlados utilizando un extracto con capacidad alérgica preservada [162, 181, 182, 183], se recoge que el 39% de los pacientes que se sometieron a ITO con huevo fueron capaces de tolerar un huevo completo en comparación con el 11.9% de los sujetos de los grupos control. Con el protocolo actual, el 93.75% pudo ingerir un huevo tras 5 meses de tratamiento. La mayor eficacia de este estudio con respecto a los previos se puede atribuir a las diferencias en los niveles basales de IgE sérica específica a huevo. En el grupo activo, la mediana de la IgE específica basal a clara fue menor (6.0 kU/L) que los publicados en los estudios de Dello Iacono y cols (23.3 kU/L) [182], Vickery y cols (12.5 kU/L) [177] y Burks y cols (10.3 kU/L) [162]. Sin embargo, todos excepto 2 pacientes con niveles de IgE a clara mayores de 20 kU/L fueron desensibilizados en este trabajo. En particular, 2 niños con IgE basal a clara de 1023 y 1735 kU/L se desensibilizaron aunque con más dosis administradas, más RAs sufridas y una duración de la FI mayor que la media. Por otra parte, la dosis diana de huevo de este protocolo es más alta (2808 mg de proteína) que en otros estudios (300 mg [194] y 1600 mg [162]), a pesar de ser un protocolo más corto, destacando así su eficacia. Caminiti y cols [195], con una elevada dosis objetivo (3200 mg), también alcanzaron un alto índice de éxito (94%) aunque con una FI más larga (112 días). Esto indicaría que, tal como se ha descrito con la IT con neuroalérgenos inhalantes [257, 258], también se puede observar una tendencia de la eficacia dependiente de la dosis en la ITO con huevo.

Se puede debatir la influencia de la utilización de huevo crudo o cocido en la eficacia de la ITO. Algunos trabajos con huevo cocido encontraron una disminución en la eficacia durante la FM. En el estudio de Itoh y cols [178], los 6 pacientes incluidos alcanzaron el objetivo intermedio de 1 g de huevo crudo en polvo seguido de 1 huevo calentado como principal resultado del protocolo, lo que se hizo en una FI de aproximadamente 12 días (rango 9-18 días). Sin embargo, solo el 50% de los pacientes toleraron 1 g de clara deshidratada después de 9 meses de FM. Fuentes-Aparicio y cols [183] comunicaron que solo 20 (54%) de los 37 pacientes que toleraron una clara cruda al final de la FI superaron la PO con clara cruda 6 meses después. En ambos estudios, la FI de los pacientes se realizó con huevo crudo pero la FM incluyó huevo cocido, lo que puede haber sido la causa de la pérdida del estado de desensibilización a huevo. En el actual trabajo, el huevo se administró en un estado poco cocinado (casi crudo) durante la FM. Aunque la utilización de huevo poco cocinado como tal no es un procedimiento estandarizado, se prefirió preservar su alergenidad, mejorar la adherencia al tratamiento y reproducir un consumo real de huevo.

En suma, varios factores críticos pueden explicar la alta eficacia obtenida con nuestro protocolo: la realización de un protocolo rápido en la FI, el menor nivel de IgE sérica específica a proteínas de huevo comparado con el de otros protocolos, las altas dosis objetivo en las FI y FM, y el empleo de huevo crudo o poco cocinado con alergenidad preservada para realizar ambas fases.

Los mecanismos inmunológicos subyacentes a los cambios clínicos observados durante la ITO no están totalmente elucidados en la actualidad. Los aumentos en los niveles de IgG₄ sérica específica, con o sin disminución en los niveles de IgE sérica específica, se han asociado con la pérdida de reactividad clínica a la leche y al huevo [143, 162, 165, 243]. En el presente estudio, solo en los niños que recibieron la ITOR con huevo se evidencia de forma muy significativa con respecto al GC ($P < 0.05-0.001$), una disminución del tamaño de la pápula del PT, lo que sugiere una supresión de la liberación de mediadores de los mastocitos, y un aumento de los niveles de la IgG₄ específica. El análisis del grupo activo final de 32 niños reveló cambios inmunológicos significativos ($P < 0.001$) entre el estado basal de los pacientes y a lo largo del tratamiento: la ITOR con huevo produjo una disminución del tamaño de la pápula del PT para todas las fracciones proteicas de huevo y de los ratios IgE/IgG₄ específicas, así como un aumento de las IgG₄ específicas analizadas. La disminución de la IgE a OVA fue también muy significativa ($P < 0.001$) aunque algo menor para OVM y de poca relevancia para huevo completo y lisozima. Es de reseñar que el descenso de los resultados de PTs y ratios IgE/IgG₄ específicas, así como el incremento de IgG₄ específicas, sucedieron más precozmente y fueron más significativos que los cambios en los niveles de IgE específica. En concreto, la inducción de anticuerpos IgG₄ específicos se considera uno de los mecanismos centrales de la ITO con huevo [162]. Como ya ha sido comunicado por el grupo de trabajo del CIAL, una ITO exitosa con huevo se asocia a un aumento de la IgG₄ específica a OVA respecto al nivel basal junto con una caída de la IgE específica a OVA [211]. La disminución de la IgE específica a OVA es muy significativa en el presente estudio. Otros trabajos de ITO con huevo han mostrado niveles más bajos de IgE específica a antígeno al finalizar la ITO [181, 182, 259], incluyendo aquellos estudios con un protocolo rápido [178, 179]. Sin embargo, en otros estudios no se detectaron cambios en los niveles de IgE específica durante la ITO [162, 183]. Ello podría explicarse por la respuesta inmunológica dinámica de la IgE a través del desarrollo de la ITO, aunque los mecanismos por los cuales la IgE específica se modifica están todavía bajo investigación. Algunos estudios han demostrado que la ITO altera el patrón de unión del antígeno a la IgE, posiblemente a través de cambios en la diversidad de reconocimiento de epítomos o afinidad antigénica alterada [197]. La IgG humana consiste en cuatro subclases IgG₁₋₄ que son funcionalmente diversas y reguladas de forma diferente. Este estudio no midió otras subclases séricas específicas a OVA diferentes de la IgG₄ que, según estudios recientes, podrían ser relevantes en la alergia a los alimentos [260, 261]. Por ejemplo, Sugimoto y cols [260] sugieren que un incremento significativo en los niveles de IgG₁ específica después de la fase acelerada de la ITO podría ser un biomarcador útil de respuesta positiva a la ITO con huevo.

Para el estudio de citoquinas, en primer lugar se comparó el estado basal de los niños alérgicos a huevo con respecto a los no alérgicos. Los sujetos alérgicos mostraron una producción significativamente menor de citoquinas Th1 (IFN- γ y TNF- α) de las células polimorfonucleadas estimuladas con OVA con respecto a los no alérgicos. Por consiguiente, los niños seleccionados para la ITOR mostraron una respuesta de células T diferente al del estado no alérgico. En un estudio realizado en el año 2011 con 54 niños alérgicos a alimentos y 26 niños sanos no atópicos, se detectó que los alérgicos mostraban menores niveles significativos de expresión de genes FoxP3 e IL-10 que los sanos, mientras que los que

adquirían la tolerancia del alimento presentaban significativamente mayor nivel de expresión del gen FoxP3 que los que continuaban con alergia activa [262].

Cuando la ITO con alérgeno es eficaz, puede haber un cambio en la producción de citoquinas Th2 (característica del estado alérgico) hacia un perfil Th1 (no alérgico) [154, 263, 264]. En las respuestas de células T durante el curso de la ITO está implicada una inducción de células Treg [198, 210, 264], que liberan IL-10, que induce más IgG₄. En este estudio se han medido las poblaciones de células Treg específicas a OVA y la producción de IL-10 específica a OVA en la que las células Th también están involucradas. Este análisis sólo se pudo efectuar en 10 pacientes ya que esta técnica requiere un volumen de sangre para la obtención de un número adecuado de células que puedan ser analizadas por citometría pero no se pudo obtener muestra suficiente en el resto de los niños.

Estudios previos han comunicado un aumento significativo en los niveles de IL-10 tras una ITO exitosa [177, 185, 198, 211, 259]. Sin embargo, en el actual protocolo de ITOR, los niveles de IL-10 específicos a OVA disminuyeron levemente y de forma no significativa en los niños desensibilizados a los 5 meses de intervención con un aumento no significativo a los 15 días de finalizar la FI (P=0.104). Este resultado es consistente con los hallazgos del protocolo de ITOR con huevo de Itoh y cols [178] y con una publicación reciente del grupo del CIAL de ITO con leche de vaca [215]. Está descrito el aumento de IL-10 a partir de al menos 6 meses de tratamiento [185]. Con este estudio no se puede descartar un incremento posterior a los 5 meses de la IL-10 pues no se ha realizado un seguimiento más prolongado.

Junto con los niveles de IL-10, la liberación de otras citoquinas claves implicadas en el equilibrio Th1/Th2 parece ser un factor importante para la tolerancia oral del alimento. Tras la estimulación específica con alérgeno, una reducción en los niveles de citoquinas relacionadas con el perfil Th2 (IL-4, IL-13, IL-5) y un aumento de las citoquinas Th1 (IFN- γ TNF- α , IL-2) es el patrón de citoquinas que se espera detectar después de una ITO exitosa [264]. Sin embargo, las conclusiones que se pueden extraer de las publicaciones disponibles sobre ITO son controvertidas y no todos detectan claramente este cambio [177, 178, 181, 185, 186, 198, 215, 259, 261, 265, 266]. En concreto respecto a la IL-13, varios autores [181, 266] no han detectado cambios significativos, mientras que Perezábad y cols [211] encontraron una tendencia a menor nivel de dicha citoquina. En el presente estudio se demostró que con la ITOR con huevo se produce una reducción significativa de la IL-13 específica a OVA intragrupo ITO1 (P<0.05) y en ITO2 (P<0.01) a los 5 meses de tratamiento con respecto a los valores basales, resultados que apoyan que dicho cambio no es fruto de la tolerancia espontánea, por lo que podría ser un biomarcador útil de respuesta positiva a la ITOR con huevo. Por otro lado, el TNF- α específico a OVA disminuyó también a los 5 meses del tratamiento aunque no de forma significativa (P=0.08). Una explicación a este hallazgo inesperado es que el TNF- α no solo lo producen las células T de sangre periférica, sino también monocitos fibroblastos y células epiteliales que no han sido evaluadas en este estudio. No ha sido posible comunicar otras diferencias significativas para las citoquinas testadas. Puede atribuirse a la alta variación interindividual, a los niveles de citoquinas indetectables a nivel basal que permanecieron así en varios individuos, a la limitación para obtener un mayor tamaño muestral durante el curso del tratamiento y/o a la posibilidad de que

los cambios inmunológicos inducidos por la ITO sean potencialmente transitorios. Siguiendo esa línea, Gorelik y cols [199] informaron que muchos de los cambios inmunológicos que acontecen durante la ITO con cacahuete son transitorios, incluso mientras los pacientes reciben terapia de mantenimiento.

En contra de lo esperado, los niveles de células $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ (respuesta Treg) fueron mayores en el GC respecto al grupo ITO1 a los 5 meses de tratamiento. Además, los niveles de estas células disminuyeron levemente y de forma no significativa durante el tratamiento en el grupo activo total. Este hecho también ha sido detectado por otros autores en relación con la ITO con leche [214, 267] y la ITO con huevo [268]. Según otro trabajo publicado por Fuentes-Aparicio y cols [266], los niños tratados con ITO con huevo presentan una disminución de la población de células T $CD4^+$ efectoras de memoria y un aumento en la subpoblación de células $CD4^+CD38^+CD45RO^-$ con fenotipo hipoproliferativo y no reactivo.

Este estudio tampoco ha sido capaz de mostrar cambios en la expresión de los factores de transcripción Tbet (Th1), GATA3 (Th2) y FoxP3 (respuesta Treg) como resultado de la intervención terapéutica realizada. Hay una carencia de estudios que informen de la expresión génica de las células polimorfonucleares de sujetos alérgicos bajo estimulación específica de alérgeno. Una reciente publicación sobre ITO con huevo ha mostrado estos datos [211] y, acorde con dicho artículo, tampoco se detectaron cambios en la expresión de cualquiera de los factores de transcripción mencionados.

Referente a la seguridad del protocolo de ITOR con huevo, las RAs ocurrieron en el 31% de las dosis administradas durante la FI, que es comparable con el 36% comunicado por Burks y cols [162]. En todos los estudios de ITO con huevo excepto en uno [195], el porcentaje de pacientes con al menos una RA durante la FI fue alto (50-100%) [155]. En el presente estudio, el 68.8% de los pacientes experimentaron ≥ 1 RA en la FI con una mediana de 2.5 episodios por paciente; este hallazgo es similar a otros estudios divulgados [190, 218]. En los 2 protocolos rápidos publicados, con una FI de 12 y 5 días, el 100% y el 78% de los pacientes, respectivamente, desarrollaron RAs [178, 179]. Aunque en protocolos publicados las RAs graves fueron raras o inexistentes [162, 177, 178, 190], en algunos casos la interrupción del tratamiento fue necesaria [162, 182, 184, 190]. En este estudio, el único paciente que abandonó el tratamiento en la FI fue por falta de adherencia al mismo pero ningún paciente tuvo que suspenderlo en la FI por RAs ya que el 85.35% de las RAs fueron leves. Al igual que en este trabajo, las RAs más frecuentes publicadas durante la ITO con huevo fueron gastrointestinales (54.84%) [178, 183, 184, 190, 194, 218]. Un único paciente que abandonó en este estudio durante la FM fue debido a dolor abdominal leve persistente y rechazo a comer huevo. Se podría haber descartado la esofagitis eosinofílica [217] pero los padres se negaron a realizar la endoscopia y todos los síntomas disminuyeron con la retirada del huevo. Al igual que otros autores, se identificaron las infecciones [181, 193, 195] como el factor facilitador más frecuente (4.2%) para las RAs que ocurren durante la FM.

Un interés importante para la mayoría de clínicos o investigadores es encontrar marcadores clínicos y/o biológicos para identificar pacientes con riesgo de presentar RAs durante la ITO. Los factores de riesgo clínicos, como el asma subyacente y una dosis umbral baja en la PO, se han asociado con anafilaxia o interrupción temprana de la ITO con huevo

[184]. En el presente estudio, no se encontró asociación entre alguna característica clínica y el riesgo de RAs. Sin embargo, un umbral de dosis de clara de huevo bajo en la PODCCP basal se asoció con un mayor riesgo de RAs durante la FI. Además, la duración de la FI se asoció a la aparición de >2 RAs, lo que implica que las RAs son las que hacen que se alargue la duración del protocolo. Los marcadores inmunológicos correlacionados con un mayor riesgo para presentar >2 RA fueron los niveles basales de IgE sérica específica a huevo y clara (18 kU/L), IgE a OVA (15 kU/L) y los ratios IgE/IgG₄ específicas a clara y OVA (>11). Los valores de corte publicados para la IgE sérica específica predictores de un mayor riesgo de sufrir RA durante la ITO a huevo son menores (>8.85 kU/L para clara y OVM, y >6.49 kU/L para OVA) [184] que los encontrados en este trabajo. Se puede atribuir a que los criterios de riesgo analizados son significativamente diferentes en base a parámetros clínicos/inmunológicos asociados a evolución de RAs en subgrupos de pacientes.

Para valorar la evolución a largo plazo, se realizó una encuesta de seguimiento entre los 27-32 meses de finalización del estudio. Durante este tiempo los pacientes solo estaban bajo el control de su alergólogo clínico. El 85.18% de los pacientes seguían tomando huevo; sin embargo, 4 (14.82%) pacientes lo habían dejado de comer por falta de adherencia al tratamiento o por RAs. Estos datos indican que los pacientes que han recibido ITO con huevo deben seguir siendo controlados de forma prolongada por su médico.

Aunque habitualmente no se tienen en cuenta variables subjetivas, el gusto por el huevo *per sé* puede ser un factor relevante que influya en la adherencia al tratamiento [190]. Sin embargo, este estudio no registró una falta de adherencia atribuible a dicho factor a pesar de que al 48.4% de los pacientes que comían huevo no les gustaba el alimento.

Se podría argumentar que la falta de un grupo placebo disminuye la fiabilidad de los datos comunicados en este estudio; sin embargo, el uso de la PODCCP basal en toda la población y el resultado positivo de la segunda PODCCP en todos los pacientes del GC minimizan esta debilidad. Además, la tasa de éxito en los pacientes con niveles bajos y altos de IgE sérica específica a clara (>20 kU/L) fue mayor que la encontrada en una revisión sistemática reciente [256]. Por lo tanto, los diferentes perfiles de pacientes tratados permitirían el uso de este tratamiento en individuos con ambos perfiles, teniendo en cuenta las diferentes expectativas de éxito. Otro factor que podría explicar el aumento de la eficacia del presente protocolo en comparación con el de otros autores podría ser el hecho de que la dosis umbral de la PODCCP basal fue alta en 8 pacientes, circunstancia que debiera tenerse en cuenta antes de extrapolar estos datos a otra población.

En resumen, los resultados de este estudio indican que la fase de inducción o incremento de dosis de inmunoterapia oral con huevo se puede acortar estableciendo la dosis inicial en función del resultado de la provocación oral doble ciego basal y estableciendo el incremento de dosis en 5 días consecutivos. Este protocolo fue seguro y efectivo en el 94% de los niños estudiados con alergia persistente a huevo. El tratamiento moduló la respuesta inmunológica del paciente a huevo. La dosis umbral en la provocación oral basal con huevo, así como los niveles basales de IgE sérica específica y del ratio IgE/IgG₄ específica a huevo podrían ser herramientas útiles para detectar pacientes de riesgo de reacciones adversas.



Conclusiones



8 Conclusiones

1. Se demuestra la eficacia de un protocolo corto de inmunoterapia oral con huevo diseñado con una fase de inducción de 5 días consecutivos y estableciendo la dosis inicial en la última dosis tolerada en la provocación oral doble ciego controlada con placebo basal.

2. La mayoría de los niños (94%) con alergia persistente a huevo que recibieron tratamiento con inmunoterapia oral rápida con clara cruda completaron la fase de inducción con una mediana de 3 días y pudieron comer huevo durante, al menos, 5 meses en comparación con ningún niño no tratado.

3. La inmunoterapia oral rápida con huevo indujo una disminución significativa de parámetros inmunológicos como el prick test a huevo y todas sus fracciones, los niveles de IgE sérica a ovoalbúmina y ovomucoide, y el ratio IgE/IgG₄ a clara, ovoalbúmina y ovomucoide. Además, produjo un aumento significativo de la IgG₄ sérica específica a clara, ovoalbúmina y ovomucoide.

4. La inmunoterapia oral rápida con huevo indujo una disminución significativa de la producción *in vitro* de IL-13 específica a ovoalbúmina al final del tratamiento. Sin embargo, no se detectó modulación inmunológica respecto a otras citoquinas de perfil Th1/Th2/Treg, a la expresión de factores de transcripción Tbet/GATA3/FoxP3 ni a la detección de células CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺.

5. Las reacciones adversas en la fase de incremento de dosis ocurrieron en el 69% de los pacientes y en un tercio de las dosis administradas. La gran mayoría de las reacciones adversas (85%) fueron leves, por lo que el protocolo se puede considerar aceptablemente seguro.

6. Se pueden considerar factores de riesgo para presentar más de 2 reacciones adversas durante la fase de inducción de la inmunoterapia oral rápida con huevo: 1) una dosis umbral de clara de huevo baja en la provocación oral doble ciego controlada con placebo basal; 2) una IgE sérica específica a huevo y clara ≥ 18 kU/L; 3) una IgE sérica específica a ovoalbúmina ≥ 15 kU/L; y 4) un ratio IgE/IgG₄ específica a clara y ovoalbúmina ≥ 11 .

7. Es necesario un control prolongado durante años de los pacientes sometidos a inmunoterapia oral con huevo, ya que aproximadamente el 15% de los pacientes suspendieron la toma de huevo con posterioridad al estudio por reacciones adversas o falta de cumplimiento del tratamiento.





Bibliografía



9 Bibliografía

- [1] Boyce JA, Assa'ad A, Burks AW, Jones SM, Sampson HA, Wood RA, Plaut M, Cooper SF, Fenton MJ, Arshad SH, Bahna SL, Beck LA, Byrd-Bredbenner C, Camargo CA Jr, Eichenfield L, Furuta GT, Hanifin JM, Jones C, Kraft M, Levy BD, Lieberman P, Luccioli S, McCall KM, Schneider LC, Simon RA, Simons FE, Teach SJ, Yawn BP, Schwaninger JM; NIAID-Sponsored Expert Panel. Guidelines for the diagnosis and management of food allergy in the United States: report of the NIAID-sponsored expert panel. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;126(6):S1-58.
- [2] Bruijnzeel-Koomen C, Ortolani C, Aas K, Bindslev-Jensen C, Björkstén B, Moneret-Vautrin D, Wüthrich B. Adverse reactions to food. European Academy of Allergology and Clinical Immunology Subcommittee. *Allergy.* 1995;50(8):623-35.
- [3] Gell PGH, Coombs RRA. *Clinical aspects of Immunology.* 1st ed. Oxford, England: Blackwell;1963.
- [4] Johansson SG, Hourihane JO, Bousquet J, Bruijnzeel-Koomen C, Dreborg S, Haahtela T, Kowalski ML, Mygind N, Ring J, van Cauwenberge P, van Hage-Hamsten M, Wüthrich B; EAACI (the European Academy of Allergology and Clinical Immunology) nomenclature task force. A revised nomenclature for allergy. An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force. *Allergy.* 2001;56(9):813-24.
- [5] Johansson SG, Bieber T, Dahl R, Friedmann PS, Lanier BQ, Lockey RF, Motala C, Ortega Martell JA, Platts-Mills TA, Ring J, Thien F, Van Cauwenberge P, Williams HC. Revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature Review Committee of the World Allergy Organization, October 2003. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;113(5):832-6.
- [6] Chafen JJ, Newberry SJ, Riedl MA, Bravata DM, Maglione M, Suttorp MJ, Sundaram V, Paige NM, Towfigh A, Hulley BJ, Shekelle PG. Diagnosing and managing common food allergies: a systematic review. *JAMA.* 2010;303(18):1848-56.
- [7] Gupta RS, Springston EE, Warrier MR, Smith B, Kumar R, Pongracic J, Holl JL. The prevalence, severity, and distribution of childhood food allergy in the United States. *Pediatrics.* 2011;128(1):e9-17.
- [8] Rona RJ, Keil T, Summers C, Gislason D, Zuidmeer L, Sodergren E, Sigurdardottir ST, Lindner T, Goldhahn K, Dahlstrom J, McBride D, Madsen C. The prevalence of food allergy: a meta-analysis. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;120(3):638-46.
- [9] Nwaru BI, Hickstein L, Panesar SS, Muraro A, Werfel T, Cardona V, Dubois AE, Halken S, Hoffmann-Sommergruber K, Poulsen LK, Roberts G, Van Ree R, Vlieg-Boerstra BJ, Sheikh A; EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines Group. The epidemiology of food allergy in Europe: a systematic review and meta-analysis. *Allergy.* 2014;69(1):62-75.
- [10] Muraro A, Werfel T, Hoffmann-Sommergruber K, Roberts G, Beyer K, Bindslev-Jensen C, Cardona V, Dubois A, duToit G, Eigenmann P, Fernandez Rivas M, Halken S, Hickstein L, Høst A, Knol E, Lack G, Marchisotto MJ, Niggemann B, Nwaru BI, Papadopoulos NG,

Poulsen LK, Santos AF, Skypala I, Schoepfer A, Van Ree R, Venter C, Worm M, Vlieg-Boerstra B, Panesar S, de Silva D, Soares-Weiser K, Sheikh A, Ballmer-Weber BK, Nilsson C, de Jong NW, Akdis CA; EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines Group. EAACI food allergy and anaphylaxis guidelines: diagnosis and management of food allergy. *Allergy*. 2014;69(8):1008-25.

[11] Fernández Rivas M. Food allergy in *Alergológica-2005*. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2009;19(2):37-44.

[12] Alergia a alimentos. En: Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica y Alergia e Inmunología Abelló S.A., editores. *Alergológica. Factores epidemiológicos, clínicos y socioeconómicos de las enfermedades alérgicas en España*. Madrid. 1995. p.163-83.

[13] Ibáñez MD, Garde JM. Allergy in patients under fourteen years of age in *Alergológica 2005*. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2009;19(2):61-8.

[14] Tan TH, Ellis JA, Saffery R, Allen KJ. The role of genetics and environment in the rise of childhood food allergy. *Clin Exp Allergy*. 2012;42(1):20-9.

[15] McBride D, Keil T, Grabenhenrich L, Dubakiene R, Drasutiene G, Fiocchi A, Dahdah L, Sprickelman AB, Schoemaker AA, Roberts G, Grimshaw K, Kowalski ML, Stanczyk-Przyluska A, Sigurdardottir S, Clausen M, Papadopoulos NG, Mitsias D, Rosenfeld L, Reche M, Pascual C, Reich A, Hourihane J, Wahn U, Mills EN, Mackie A, Beyer K. The EuroPrevall birth cohort study on food allergy: baseline characteristics of 12,000 newborns and their families from nine European countries. *Pediatr Allergy Immunol*. 2012;23(3):230-9.

[16] Brown SJ, Asai Y, Cordell HJ, Campbell LE, Zhao Y, Liao H, Northstone K, Henderson J, Alizadehfar R, Ben-Shoshan M, Morgan K, Roberts G, Masthoff LJ, Pasmans SG, van den Akker PC, Wijmenga C, Hourihane JO, Palmer CN, Lack G, Clarke A, Hull PR, Irvine AD, McLean WH. Loss-of-function variants in the filaggrin gene are a significant risk factor for peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;127(3):661-7.

[17] Prescott SL, Pawankar R, Allen KJ, Campbell DE, Sinn JKh, Fiocchi A, Ebisawa M, Sampson HA, Beyer K, Lee BW. A global survey of changing patterns of food allergy burden in children. *World Allergy Organ J*. 2013 4;6(1):21.

[18] Liu AH, Jaramillo R, Sicherer SH, Wood RA, Bock SA, Burks AW, Massing M, Cohn RD, Zeldin DC. National prevalence and risk factors for food allergy and relationship to asthma: results from the National Health and Nutrition Examination Survey 2005-2006. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;126(4):798-806.e13.

[19] Moneret-Vautrin DA, Morisset M. Adult food allergy. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2005;5(1):80-5.

[20] Muraro A, Halken S, Arshad SH, Beyer K, Dubois AE, Du Toit G, Eigenmann PA, Grimshaw KE, Hoest A, Lack G, O'Mahony L, Papadopoulos NG, Panesar S, Prescott S, Roberts G, de Silva D, Venter C, Verhasselt V, Akdis AC, Sheikh A; EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines Group. EAACI food allergy and anaphylaxis guidelines: primary prevention of food allergy. *Allergy*. 2014;69(5):590-601.

- [21] Lack G. Update on risk factors for food allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2012;129(5):1187-97.
- [22] de Silva D, Geromi M, Panesar SS, Muraro A, Werfel T, Hoffmann-Sommergruber K, Roberts G, Cardona V, Dubois AE, Halken S, Host A, Poulsen LK, Van Ree R, Vlieg-Boerstra BJ, Agache I, Sheikh A; EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines Group. Acute and long-term management of food allergy: systematic review. *Allergy.* 2014;69(2):159-67.
- [23] Brandtzaeg P. Food allergy: separating the science from the mythology. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2010;7(7):380-400.
- [24] Keet CA, Wood RA. Food allergy and anaphylaxis. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2007;27(2):193-212.
- [25] Sampson HA, Muñoz-Furlong A, Campbell RL, Adkinson NF Jr, Bock SA, Branum A, Brown SG, Camargo CA Jr, Cydulka R, Galli SJ, Gidudu J, Gruchalla RS, Harlor AD Jr, Hepner DL, Lewis LM, Lieberman PL, Metcalfe DD, O'Connor R, Muraro A, Rudman A, Schmitt C, Scherrer D, Simons FE, Thomas S, Wood JP, Decker WW. Second symposium on the definition and management of anaphylaxis: summary report--Second National Institute of Allergy and Infectious Disease/Food Allergy and Anaphylaxis Network symposium. *J Allergy Clin Immunol.* 2006;117(2):391-7.
- [26] Worm M, Moneret-Vautrin A, Scherer K, Lang R, Fernandez-Rivas M, Cardona V, Kowalski ML, Jutel M, Poziomkowska-Gesicka I, Papadopoulos NG, Beyer K, Mustakov T, Christoff G, Bilò MB, Muraro A, Hourihane JO, Grabenhenrich LB. First European data from the network of severe allergic reactions (NORA). *Allergy.* 2014;69(10):1397-404.
- [27] Umasunthar T, Leonardi-Bee J, Hodes M, Turner PJ, Gore C, Habibi P, Warner JO, Boyle RJ. Incidence of fatal food anaphylaxis in people with food allergy: a systematic review and meta-analysis. *Clin Exp Allergy.* 2013;43(12):1333-41.
- [28] Shadick NA, Liang MH, Partridge AJ, Bingham III CO, Wright E, Fossel AH, Sheffer AL. The natural history of exercise-induced anaphylaxis: survey results from a 10-year follow-up study. *J Allergy Clin Immunol.* 1999;104(1):123-7.
- [29] Skypala IJ, Calderon MA, Leeds AR, Emery P, Till SJ, Durham SR. Development and validation of a structured questionnaire for the diagnosis of oral allergy syndrome in subjects with seasonal allergic rhinitis during the UK birch pollen season. *Clin Exp Allergy.* 2011;41(7):1001-11.
- [30] Sicherer SH, Sampson HA. Food allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;125(2 Suppl 2):S116-25.
- [31] Sampson HA. Update on food allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;113(5):805-19.
- [32] Sato S, Tachimoto H, Shukuya A, Kurosaka N, Yanagida N, Utsunomiya T, Iguchi M, Komata T, Imai T, Tomikawa M, Ebisawa M. Basophil activation marker CD203c is useful in the diagnosis of hen's egg and cow's milk allergies in children. *Int Arch Allergy Immunol.* 2010;152(1):54-61.

- [33] Ocmant A, Mulier S, Hanssens L, Goldman M, Casimir G, Mascart F, Schandené L. Basophil activation tests for the diagnosis of food allergy in children. *Clin Exp Allergy*. 2009;39(8):1234-45.
- [34] Glaumann S, Nopp A, Johansson SG, Rudengren M, Borres MP, Nilsson C. Basophil allergen threshold sensitivity, CD-sens, IgE-sensitization and DBPCFC in peanut-sensitized children. *Allergy*. 2012;67(2):242-7.
- [35] Niggemann B, Rolinck-Werninghaus C, Mehl A, Binder C, Ziegert M, Beyer K. Controlled oral food challenges in children--when indicated, when superfluous? *Allergy*. 2005;60(7):865-70.
- [36] Bindslev-Jensen C, Ballmer-Weber BK, Bengtsson U, Blanco C, Ebner C, Hourihane J, Knulst AC, Moneret-Vautrin DA, Nekam K, Niggemann B, Osterballe M, Ortolani C, Ring J, Schnopp C, Werfel T. Standardization of food challenges in patients with immediate reactions to foods--position paper from the European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Allergy*. 2004;59(7):690-7.
- [37] Ibáñez Sandín MDP, de la Hoz Caballer MB, Diéguez Pastor MC, Goikoetxea Lapresa MJ. Metodología diagnóstica en la alergia a alimentos. En: Dávila González IJ, Jáuregui Presa I, Olaguibel Rivera JM, Zubeldia Ortuño JM. *Alergia a los alimentos. Tratado de Alergología de la SEAIC*. Madrid: Ergon. 2015; Tomo III (Cap 17): p.1071-92.
- [38] Longo G, Berti I, Burks AW, Krauss B, Barbi E. IgE-mediated food allergy in children. *Lancet*. 2013;382(9905):1656-64.
- [39] Skripak JM, Matsui EC, Mudd K, Wood RA. The natural history of IgE-mediated cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2007;120(5):1172-7.
- [40] Savage JH, Matsui EC, Skripak JM, Wood RA. The natural history of egg allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2007;120(6):1413-7.
- [41] Savage JH, Kaeding AJ, Matsui EC, Wood RA. The natural history of soy allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;125(3):683-6.
- [42] Keet CA, Matsui EC, Dhillon G, Lenahan P, Paterakis M, Wood RA. The natural history of wheat allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2009;102(5):410-5.
- [43] Cohen A, Goldberg M, Levy B, Leshno M, Katz Y. Sesame food allergy and sensitization in children: the natural history and long-term follow-up. *Pediatr Allergy Immunol*. 2007;18(3):217-23.
- [44] Skripak JM, Wood RA. Peanut and tree nut allergy in childhood. *Pediatr Allergy Immunol*. 2008;19(4):368-73.
- [45] Tsabouri S, Triga M, Makris M, Kalogeromitros D, Church MK, Priftis KN. Fish and shellfish allergy in children: review of a persistent food allergy. *Pediatr Allergy Immunol*. 2012;23(7):608-15.
- [46] Robbins KA, Wood RA, Keet CA. Milk allergy is associated with decreased growth in US children. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;134(6):1466-8.e6.

- [47] Fleischer DM, Perry TT, Atkins D, Wood RA, Burks AW, Jones SM, Henning AK, Stablein D, Sampson HA, Sicherer SH. Allergic reactions to foods in preschool-aged children in a prospective observational food allergy study. *Pediatrics*. 2012;130(1):e25-32.
- [48] Nowak-Węgrzyn A, Sampson HA. Future therapies for food allergies. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;127(3):558-573.
- [49] Fisher HR, du Toit G, Lack G. Specific oral tolerance induction in food allergic children: is oral desensitisation more effective than allergen avoidance?: a meta-analysis of published RCTs. *Arch Dis Child*. 2011;96(3):259-64.
- [50] Nurmatov U, Devereux G, Worth A, Healy L, Sheikh A. Effectiveness and safety of orally administered immunotherapy for food allergies: a systematic review and meta-analysis. *Br J Nutr*. 2014;111(1):12-22.
- [51] Jagdis A, Berlin N, Barron C, Giruparajah M, Leader N, Maclachlan S, Sussman GL. Effect of ketotifen premedication on adverse reactions during peanut oral immunotherapy. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2014;10(1):36.
- [52] 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*. 2014;10(1):3.
- [53] Tang ML, Ponsonby AL, Orsini F, Tey D, Robinson M, Su EL, Licciardi P, Burks W, Donath S. Administration of a probiotic with peanut oral immunotherapy: a randomized trial. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;135(3):737-44.e8.
- [54] Noh G, Lee SS. A pilot study of interferon-gamma-induced specific oral tolerance induction (ISOTI) for immunoglobulin E-mediated anaphylactic food allergy. *J Interferon Cytokine Res*. 2009;29(10):667-75.
- [55] Wang J, Patil SP, Yang N, Ko J, Lee J, Noone S, Sampson HA, Li XM. Safety, tolerability, and immunologic effects of a food allergy herbal formula in food allergic individuals: a randomized, double-blinded, placebo-controlled, dose escalation, phase 1 study. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2010;105(1):75-84.
- [56] Beeh KM, Kanniss F, Wagner F, Schilder C, Naudts I, Hammann-Haenni A, Willers J, Stocker H, Mueller P, Bachmann MF, Renner WA. The novel TLR-9 agonist QbG10 shows clinical efficacy in persistent allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;131(3):866-74.
- [57] Pelaia G, Vatrella A, Maselli R. The potential of biologics for the treatment of asthma. *Nat Rev Drug Discov*. 2012;11(12):958-72.
- [58] Cummings AJ, Knibb RC, King RM, Lucas JS. The psychosocial impact of food allergy and food hypersensitivity in children, adolescents and their families: a review. *Allergy*. 2010;65(8):933-45.
- [59] Flokstra-de Blok BM, DunnGalvin A, Vlieg-Boerstra BJ, Oude Elberink JN, Duiverman EJ, Hourihane JO, Dubois AE. Development and validation of a self-administered Food Allergy Quality of Life Questionnaire for children. *Clin Exp Allergy*. 2009;39(1):127-37.

- [60] Otani IM, Bégin P, Kearney C, Dominguez TI, Mehrotra A, Bacal LR, Wilson S, Nadeau K. Multiple-allergen oral-immunotherapy improves quality of life in caregivers of food-allergic pediatric subjects. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2014;10(1):25.
- [61] Factor JM, Mendelson L, Lee J, Nouman G, Lester MR. Effect of oral immunotherapy to peanut on food-specific quality of life. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2012;109(5):348-52.e2.
- [62] Vazquez-Ortiz M, Alvaro M, Piquer M, Dominguez O, Giner MT, Lozano J, Jiménez-Feijoo R, Plaza AM. Impact of oral immunotherapy on quality of life in egg-allergic children. *Pediatr Allergy Immunol.* 2015;26(3):291-4.
- [63] Heine RG, Laske N, Hill DJ. The diagnosis and management of egg allergy. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2006;6(2):145-52.
- [64] Benhamou AH, Caubet JC, Eigenmann PA, Nowak-Węgrzyn A, Marcos CP, Reche M, Urisu A. State of the art and new horizons in the diagnosis and management of egg allergy. *Allergy.* 2010;65(3):283-9.
- [65] Martorell A, Alonso E, Boné J, Echeverría L, López MC, Martín F, Nevot S, Plaza AM; Food Allergy Committee of SEICAP. Position document: IgE-mediated allergy to egg protein. *Allergol Immunopathol (Madr).* 2013;41(5):320-36.
- [66] Bernhisel-Broadbent J, Dintzis HM, Dintzis RZ, Sampson HA. Allergenicity and antigenicity of chicken egg ovomucoid (Gal d III) compared with ovalbumin (Gal d I) in children with egg allergy and in mice. *J Allergy Clin Immunol.* 1994;93(6):1047-59.
- [67] Urisu A, Ando H, Morita Y, Wada E, Yasaki T, Yamada K, Komada K, Torii S, Goto M, Wakamatsu T. Allergenic activity of heated and ovomucoid-depleted egg white. *J Allergy Clin Immunol.* 1997;100(2):171-6.
- [68] Caubet JC, Kondo Y, Urisu A, Nowak-Węgrzyn A. Molecular diagnosis of egg allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2011;11(3):210-5.
- [69] Martínez-Botas J, Cerecedo I, Zamora J, Vlaicu C, Dieguez MC, Gómez-Coronado D, de Dios V, Terrados S, de la Hoz B. Mapping of the IgE and IgG4 sequential epitopes of ovomucoid with a peptide microarray immunoassay. *Int Arch Allergy Immunol.* 2013;161(1):11-20.
- [70] Järvinen KM, Beyer K, Vila L, Bardina L, Mishoe M, Sampson HA. Specificity of IgE antibodies to sequential epitopes of hen's egg ovomucoid as a marker for persistence of egg allergy. *Allergy.* 2007;62(7):758-65.
- [71] Frémont S, Kanny G, Nicolas JP, Moneret-Vautrin DA. Prevalence of lysozyme sensitization in an egg-allergic population. *Allergy.* 1997;52(2):224-8.
- [72] Pichler WJ, Campi P. Allergy to lysozyme/egg white-containing vaginal suppositories. *Ann Allergy.* 1992;69(6):521-5.

- [73] Pérez-Calderón R, Gonzalo-Garijo MA, Lamilla-Yerga A, Mangas-Santos R, Moreno-Gastón I. Recurrent angioedema due to lysozyme allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2007;17(4):264-6.
- [74] Benedé S, Pérez-Rangel I, Lozano-Ojalvo D, Molina E, Ibañez MD, López-Fandiño R, López-Expósito I. Anaphylaxis induced by a drug containing lysozyme and papain: influence of papain on the IgE response. *Int Arch Allergy Immunol*. 2014;165(2):83-90.
- [75] Infante S, López-Matas MÁ, Carnés J, Fuentes V, Alonso E, Zapatero L. Allergy reaction mediated by Gal d 4 (lysozyme) after the induction of tolerance with egg. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2014;113(4):491-2.
- [76] Anet J, Back JF, Baker RS, Barnett D, Burley RW, Howden ME. Allergens in the white and yolk of hen's egg. A study of IgE binding by egg proteins. *Int Arch Allergy Appl Immunol*. 1985;77(3):364-71.
- [77] Añíbarro B, García-Ara C, Ojeda JA. Bird-egg syndrome in childhood. *J Allergy Clin Immunol*. 1993;92(4):628-30.
- [78] de Blay F, Hoyet C, Candolfi E, Thierry R, Pauli G. Identification of alpha livetin as a cross reacting allergen in a bird-egg syndrome. *Allergy Proc*. 1994;15(2):77-8.
- [79] Szépfalusi Z, Ebner C, Pandjaitan R, Orlicek F, Scheiner O, Boltz-Nitulescu G, Kraft D, Ebner H. Egg yolk alpha-livetin (chicken serum albumin) is a cross-reactive allergen in the bird-egg syndrome. *J Allergy Clin Immunol*. 1994;93(5):932-42.
- [80] Quirce S, Marañón F, Umpiérrez A, de las Heras M, Fernández-Caldas E, Sastre J. Chicken serum albumin (Gal d 5*) is a partially heat-labile inhalant and food allergen implicated in the bird-egg syndrome. *Allergy*. 2001;56(8):754-62.
- [81] Langeland T. A clinical and immunological study of allergy to hen's egg white. VI. Occurrence of proteins cross-reacting with allergens in hen's egg white as studied in egg white from turkey, duck, goose, seagull, and in hen egg yolk, and hen and chicken sera and flesh. *Allergy*. 1983;38(6):399-412.
- [82] Añíbarro B, Seoane FJ, Vila C, Lombardero M. Allergy to eggs from duck and goose without sensitization to hen egg proteins. *J Allergy Clin Immunol*. 2000;105(4):834-6.
- [83] Liccardi G, Szépfalusi Z, Noschese P, Nentwich I, D'Amato M, D'Amato G. Allergy to chicken meat without sensitization to egg proteins: a case report. *J Allergy Clin Immunol*. 1997;100(4):577-9.
- [84] Martínez Alonso JC, Domínguez Ortega FJ, Fuentes Gonzalo MJ. Angioedema due to sensitization to chicken meat. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2003;31(1):50-2.
- [85] Nevot Falcó S, Casas Ramisa R, Leonart Bellfill R. Bird-egg syndrome in children. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2003;31(3):161-5.
- [86] Gomez Torrijos E, García Rodríguez C, Rodríguez J, De la Roca F, Cárdenas R, Alfaya F, Pineda F, Feo Brito JF. Occupational asthma and eosinophilic esophagitis in a patient with egg-bird syndrome. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2015;25(1):61-2.

- [87] Xepapadaki P, Fiocchi A, Grabenhenrich L, Roberts G, Grimshaw KE, Fiandor A, Larco JI Sigurdardottir S, Clausen M, Papadopoulos NG, Dahdah L, Mackie A, Sprickelman AB, Schoemaker AA, Dubakiene R, Butiene I, Kowalski ML, Zeman K, Gavrilis S, Keil T3, Beyer K. Incidence and natural history of hen's egg allergy in the first 2 years of life-the EuroPrevall birth cohort study. *Allergy*. 2016;71(3):350-7.
- [88] Tariq SM, Matthews SM, Hakim EA, Arshad SH. Egg allergy in infancy predicts respiratory allergic disease by 4 years of age. *Pediatr Allergy Immunol*. 2000;11(3):162-7.
- [89] Eggesbø M, Botten G, Halvorsen R, Magnus P. The prevalence of allergy to egg: a population-based study in young children. *Allergy*. 2001;56(5):403-11.
- [90] Diéguez MC, Cerecedo I, Muriel A, Zamora J, Sánchez-Cano M, De la Hoz B. Skin prick test predictive value on the outcome of a first known egg exposure in milk-allergic children. *Pediatr Allergy Immunol*. 2008;19(4):319-24.
- [91] García C, El-Qutob D, Martorell A, Febrer I, Rodríguez M, Cerdá JC, Félix R. Sensitization in early age to food allergens in children with atopic dermatitis. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2007;35(1):15-20.
- [92] Monti G, Muratore MC, Peltran A, Bonfante G, Silvestro L, Oggero R, Mussa GC. High incidence of adverse reactions to egg challenge on first known exposure in young atopic dermatitis children: predictive value of skin prick test and radioallergosorbent test to egg proteins. *Clin Exp Allergy*. 2002;32(10):1515-9.
- [93] Cant A, Marsden RA, Kilshaw PJ. Egg and cows' milk hypersensitivity in exclusively breast fed infants with eczema, and detection of egg protein in breast milk. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1985;291(6500):932-5.
- [94] Hill DJ, Hosking CS, de Benedictis FM, Oranje AP, Diepgen TL, Bauchau V; EPAAC Study Group. Confirmation of the association between high levels of immunoglobulin E food sensitization and eczema in infancy: an international study. *Clin Exp Allergy*. 2008;38(1):161-8.
- [95] Koplitz JJ, Osborne NJ, Wake M, Martin PE, Gurrin LC, Robinson MN, Tey D, Slaa M, Thiele L, Miles L, Anderson D, Tan T, Dang TD, Hill DJ, Lowe AJ, Matheson MC, Ponsonby AL, Tang ML, Dharmage SC, Allen KJ. Can early introduction of egg prevent egg allergy in infants? A population-based study. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;126(4):807-13.
- [96] Ford RP, Taylor B. Natural history of egg hypersensitivity. *Arch Dis Child*. 1982;57(9):649-52.
- [97] Boyano MT, Martín Esteban M, Díaz Pena JM, Ojeda JA. Food allergy in children. I. Clinical aspects and diagnosis. *An Esp Pediatr*. 1987;26(4):235-40.
- [98] Alonso Lebrero E, Fernández Moya L, Somoza Álvarez ML. Alergia a leche y huevo en niños. *Alergol Immunol Clin*. 2001;6:96-110.

- [99] Boyano Martínez T, García-Ara C, Díaz-Pena JM, Muñoz FM, García Sánchez G, Esteban MM. Validity of specific IgE antibodies in children with egg allergy. *Clin Exp Allergy*. 2001;31(9):1464-9.
- [100] Sampson HA, Scanlon SM. Natural history of food hypersensitivity in children with atopic dermatitis. *J Pediatr*. 1989;115(1):23-7.
- [101] Martorell A, García C, Febrer I, Rodríguez M, de la Cuadra J. Implicación de la alergia a alimentos en la dermatitis atópica. *Alergología e Inmunopatología Clínica*. 2001;6 extr 2:86-94.
- [102] Bath-Hextall F, Delamere FM, Williams HC. Dietary exclusions for established atopic eczema. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008 23;(1):CD005203.
- [103] Eigenmann PA, Sampson HA. Interpreting skin prick tests in the evaluation of food allergy in children. *Pediatr Allergy Immunol*. 1998;9(4):186-91.
- [104] 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*. 2000;30(11):1540-6.
- [105] Verstege A, Mehl A, Rolinck-Werninghaus C, Staden U, Nocon M, Beyer K, Niggemann B. The predictive value of the skin prick test weal size for the outcome of oral food challenges. *Clin Exp Allergy*. 2005;35(9):1220-6.
- [106] Montesinos E, Martorell A, Félix R, Cerdá JC. Egg white specific IgE levels in serum as clinical reactivity predictors in the course of egg allergy follow-up. *Pediatr Allergy Immunol*. 2010;21(4 Pt 1):634-9.
- [107] Shek LP, Soderstrom L, Ahlstedt S, Beyer K, Sampson HA. Determination of food specific IgE levels over time can predict the development of tolerance in cow's milk and hen's egg allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;114(2):387-91.
- [108] Vazquez-Ortiz M, Machinena-Spera A, Giner MT, Alvaro M, Piquer M, Dominguez O, Lozano J, Jimenez-Feijoo R, Plaza AM. Ovalbumin-specific IgE/total IgE ratio improves the prediction of tolerance development in egg-allergic children aged ≥ 5 years. *Pediatr Allergy Immunol*. 2015;26(6):580-3.
- [109] Diéguez MC, Cerecedo I, Muriel A, Zamora J, Abaira V, Camacho E, Antón M, de la Hoz B. Utility of diagnostic tests in the follow-up of egg-allergic children. *Clin Exp Allergy*. 2009;39(10):1575-84.
- [110] Sánchez-García S, Cipriani F, Ricci G. Food Allergy in childhood: phenotypes, prevention and treatment. *Pediatr Allergy Immunol*. 2015;26(8):711-20.
- [111] Fadeeva T, Asin JL, Horrillo ML, Baraut TG, Vela RF, Conde SL, Hontoria OE, Valero CB, Molina AM. Results of the oral egg-challenge test performed on two different groups of children. One group with a history, suggestive of allergic reaction with egg intake and the other group sensitised to hen's egg without previous egg intake. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2010;38(5):233-40.

- [112] Moneret-Vautrin DA, Kanny G. Update on threshold doses of food allergens: implications for patients and the food industry. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2004;4(3):215-9.
- [113] Martorell A, Alonso E, Martín MF. Alergia al huevo. En: Ibáñez MD. Alergia a alimentos. Monografía del Comité de Reacciones Adversas a Alimentos de la SEAIC. Barcelona: EUROMEDICE. 2004; p.51-64.
- [114] Boyano-Martínez T, García-Ara C, Díaz-Pena JM, Martín-Esteban M. Prediction of tolerance on the basis of quantification of egg white-specific IgE antibodies in children with egg allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2002;110(2):304-9.
- [115] Sicherer SH, Wood RA, Vickery BP, Jones SM, Liu AH, Fleischer DM, Dawson P, Mayer L, Burks AW, Grishin A, Stablein D, Sampson HA. The natural history of egg allergy in an observational cohort. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;133(2):492-9.
- [116] 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*. 1995;95(6):1179-90.
- [117] Martín-Muñoz MF, Pineda F, García Parrado G, Guillén D, Rivero D, Belver T, Quirce S. Food allergy in breastfeeding babies. Hidden allergens in human milk. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2016;48(4):123-8.
- [118] Prescott SL, Smith P, Tang M, Palmer DJ, Sinn J, Huntley SJ, Cormack B, Heine RG, Gibson RA, Makrides M. The importance of early complementary feeding in the development of oral tolerance: concerns and controversies. *Pediatr Allergy Immunol*. 2008;19(5):375-80.
- [119] Natsume O, Kabashima S, Nakazato J, Yamamoto-Hanada K, Narita M, Kondo M, Saito M, Kishino Ai, Takimoto T, Inoue E, Tang J, Prof Kido, Prof Wong, Matsumoto K, Saito H, Ohya Y; PETIT Study Team. Two-step egg introduction for prevention of egg allergy in high-risk infants with eczema (PETIT): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2017;389(10066):276-86.
- [120] Palmer DJ, Sullivan TR, Gold MS, Prescott SL, Makrides M. Randomized controlled trial of early regular egg intake to prevent egg allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2016 Aug 20. pii: S0091-6749(16)30793-X. doi: 10.1016/j.jaci.2016.06.052.
- [121] Wei-Liang Tan J, Valerio C, Barnes EH, Turner PJ, Van Asperen PA, Kakakios AM, Campbell DE; Beating Egg Allergy Trial (BEAT) Study Group. A randomized trial of egg introduction from 4 months of age in infants at risk for egg allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2016 Oct 11. pii: S0091-6749(16)31118-6. doi: 10.1016/j.jaci.2016.08.035.
- [122] Lack G. Epidemiologic risks for food allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;121(6):1331-6.
- [123] Boyano-Martínez T, Pedrosa M, Quirce S, García-Ara C. Accidental allergic reactions in children allergic to hen's egg. *J Allergy Clin Immunol*. 2012; 22(2):109-15.

- [124] Crisafulli G, Caminiti L, Pajno GB. Oral desensitization for immunoglobulin E-mediated milk and egg allergies. *Isr Med Assoc J*. 2012;14(1):53-6.
- [125] Sampson HA, Sicherer SH, Birnbaum AH. AGA technical review on the evaluation of food allergy in gastrointestinal disorders. American Gastroenterological Association. *Gastroenterology*. 2001;120(4):1026-40.
- [126] Boné J, Claver A, Guallar I, Plaza AM. Allergic proctocolitis, food-induced enterocolitis: immune mechanisms, diagnosis and treatment. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2009;37(1):36-42.
- [127] Nickel R, Kulig M, Forster J, Bergmann R, Bauer CP, Lau S, Guggenmoos-Holzmann I, Wahn U. Sensitization to hen's egg at the age of twelve months is predictive for allergic sensitization to common indoor and outdoor allergens at the age of three years. *J Allergy Clin Immunol*. 1997;99(5):613-7.
- [128] Kulig M, Bergmann R, Tacke U, Wahn U, Guggenmoos-Holzmann I. Long-lasting sensitization to food during the first two years precedes allergic airway disease. The MAS Study Group, Germany. *Pediatr Allergy Immunol*. 1998;9(2):61-7.
- [129] Rhodes HL, Sporik R, Thomas P, Holgate ST, Cogswell JJ. Early life risk factors for adult asthma: a birth cohort study of subjects at risk. *J Allergy Clin Immunol*. 2001;108(5):720-5.
- [130] Chapman JA, Bernstein IL, Lee RE, Oppenheimer J, Nicklas RA, Portnoy JM, Sicherer SH, Schuller DE, Spector SL, Khan D, Lang D, Simon RA, Tilles SA, Blessing-Moore J, Wallace D, Teuber SS. Food allergy: a practice parameter. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2006;96(3 Suppl 2):S1-68.
- [131] Micozzi S, Bartolomé B, Sanchís-Merino ME, Alfaya T, Aldunate T, Diaz M, Pastor-Vargas C. Hypersensitivity to quail egg proteins: what about hen egg? *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2016;26(5): 314-43.
- [132] Audicana-Berasategui MT, Barasona-Villarejo MJ, Corominas-Sánchez M, De Barrio-Fernández M, García-Avilés MC, García-Robaina JC, Gastaminza-Lasarte G, Laguna-Martínez JJ, Lobera-Labairu T, López-San Martín M, Martín-Lázaro J, Moreno-Rodilla E, Ortega-Rodríguez N, Torres-Jaén MJ; Drug Allergy Committee of the Spanish Society of Allergology and Clinical Immunology (SEAIC). Potential hypersensitivity due to the food or food additive content of medicinal products in Spain. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2011;21(7):496-506.
- [133] Cerecedo Carballo I, Dieguez Pastor MC, Bartolomé Zavala B, Sánchez Cano M, de la Hoz Caballer B. Safety of measles-mumps-rubella vaccine (MMR) in patients allergic to eggs. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2007;35(3):105-9.
- [134] Piquer-Gibert M, Plaza-Martín A, Martorell-Aragonés A, Ferré-Ybarz L, Echeverría-Zudaire L, Boné-Calvo J, Nevot-Falcó S; Food Allergy Committee of the Sociedad Española de Inmunología Clínica y Alergología Pediátrica. Recommendations for administering the

triple viral vaccine and antiinfluenza vaccine in patients with egg allergy. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2007;35(5):209-12.

[135] Chaloupka I, Schuler A, Marschall M, Meier-Ewert H. Comparative analysis of six European influenza vaccines. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1996;15(2):121-7.

[136] James JM, Zeiger RS, Lester MR, Fasano MB, Gern JE, Mansfield LE, Schwartz HJ, Sampson HA, Windom HH, Machtinger SB, Lensing S. Safe administration of influenza vaccine to patients with egg allergy. *J Pediatr*. 1998;133(5):624-8.

[137] Greenhawt MJ, Chernin AS, Howe L, Li JT, Sanders G. The safety of the H1N1 influenza A vaccine in egg allergic individuals. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2010;105(5):387-93.

[138] Owens G, MacGinnitie A. Higher-ovalbumin-content influenza vaccines are well tolerated in children with egg allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;127(1):264-5.

[139] Fung I, Spergel JM. Administration of influenza vaccine to pediatric patients with egg-induced anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;129(4):1157-9.

[140] Muñoz-Cano R, Sanchez-Lopez J, Bartra J, Valero A. Yellow fever vaccine and egg allergy: really a problem? *Allergy*. 2010;65(4):533-4.

[141] Dang TD, Peters RL, Allen KJ. Debates in allergy medicine: baked egg and milk do not accelerate tolerance to egg and milk. *World Allergy Organ J*. 2016;9:2.

[142] Leonard SA. Debates in allergy medicine: baked milk and egg ingestion accelerates resolution of milk and egg allergy. *World Allergy Organ J*. 2016;9:1.

[143] Lemon-Mulé H, Sampson HA, Sicherer SH, Shreffler WG, Noone S, Nowak-Węgrzyn A. Immunologic changes in children with egg allergy ingesting extensively heated egg. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;122(5):977-83.

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

[145] Saifi M, Swamy N, Crain M, Brown LS, Bird JA. Tolerance of a high-protein baked-egg product in egg-allergic children. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2016;116(5):415-9.

[146] Leonard SA. Does the amount of egg protein and type of preparation influence tolerability of baked egg products and potential development of regular egg tolerance in egg-allergic children? *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2016;116(5):381-2.

[147] Clark A, Islam S, King Y, Deighton J, Szun S, Anagnostou K, Ewan P. A longitudinal study of resolution of allergy to well-cooked and uncooked egg. *Clin Exp Allergy*. 2011;41(5):706-12.

[148] Kim JS, Nowak-Węgrzyn A, Sicherer SH, Noone S, Moshier EL, Sampson HA. Dietary baked milk accelerates the resolution of cow's milk allergy in children. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;128(1):125-131.e2.

- [149] Kato Y, Oozawa E, Matsuda T. Decrease in antigenic and allergenic potentials of ovomucoid by heating in the presence of wheat flour: dependence on wheat variety and intermolecular disulfide bridges. *J Agric Food Chem.* 2001;49(8):3661-5.
- [150] Leonard SA, Sampson HA, Sicherer SH, Noone S, Moshier EL, Godbold J, Nowak-Węgrzyn A. Dietary baked egg accelerates resolution of egg allergy in children. *J Allergy Clin Immunol.* 2012;130(2):473-80.e1.
- [151] Badina L, Matarrazzo L, Longo G, Barbi E. Could slightly cooked egg be a suitable medium for oral immunotherapy in persistent hen's egg allergy? *Allergol Immunopathol (Madr).* 2013;41(3):141-2.
- [152] 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.* 2012;129(3):739-47.
- [153] Vazquez-Ortiz M, Pascal M, Jiménez-Feijoo R, Lozano J, Giner MT, Alsina L, Martín-Mateos MA, Plaza AM. Ovalbumin-specific IgE/IgG4 ratio might improve the prediction of cooked and uncooked egg tolerance development in egg-allergic children. *Clin Exp Allergy.* 2014;44(4):579-88.
- [154] Wood RA. Food allergen immunotherapy: Current status and prospects for the future. *J Allergy Clin Immunol.* 2016;137(4):973-82.
- [155] Ibáñez MD, Escudero C, Sánchez-García S, Rodríguez del Río P. Comprehensive review of current knowledge on egg oral immunotherapy. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2015;25(5):316-28.
- [156] Pajno GB, Cox L, Caminiti L, Ramistella V, Crisafulli G. Oral immunotherapy for treatment of immunoglobulin E-mediated food allergy: the transition to clinical practice. *Pediatr Allergy Immunol Pulmonol.* 2014 1;27(2):42-50.
- [157] Akdis M, Akdis CA. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;119(4):780-91.
- [158] Akdis CA, Akdis M. Mechanisms and treatment of allergic disease in the big picture of regulatory T cells. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;123(4):735-46.
- [159] Schofield AT. A case of egg poisoning. *Lancet.* 1908;1:716.
- [160] Edwards HE. Oral desensitization in food allergy. *Can Med Assoc J.* 1940;43(3):234-6.
- [161] Patriarca C, Romano A, Venuti A, Schiavino D, Di Rienzo V, Nucera E, Pellegrino S. Oral specific hyposensitization in the management of patients allergic to food. *Allergol Immunopathol (Madr).* 1984;12(4):275-81.
- [162] Burks AW, Jones SM, Wood RA, Fleischer DM, Sicherer SH, Lindblad RW, Stablein D, Henning AK, Vickery BP, Liu AH, Scurlock AM, Shreffler WG, Plaut M, Sampson HA; Consortium of Food Allergy Research (CoFAR). Oral immunotherapy for treatment of egg allergy in children. *N Engl J Med.* 2012;367(3):233-43.

- [163] 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*. 2004;59(9):980-7.
- [164] Staden U, Blumchen K, Blankenstein N, Dannenberg N, Ulbricht H, Dobberstein K, Ziegert M, Niggemann B, Wahn U, Beyer K. Rush oral immunotherapy in children with persistent cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;122(2):418-9.
- [165] Skripak JM, Nash SD, Rowley H, Brereton NH, Oh S, Hamilton RG, Matsui EC, Burks AW, Wood RA. A randomized, double-blind, placebo-controlled study of milk oral immunotherapy for cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;122(6):1154-60.
- [166] Longo G, Barbi E, Berti I, Meneghetti R, Pittalis A, Ronfani L, Ventura A. Specific oral tolerance induction in children with very severe cow's milk-induced reactions. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;121(2):343-7.
- [167] Zapatero L, Alonso E, Fuentes V, Martínez MI. Oral desensitization in children with cow's milk allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2008;18(5):389-96.
- [168] Caminiti L, Passalacqua G, Barberi S, Vita D, Barberio G, De Luca R, Pajno GB. A new protocol for specific oral tolerance induction in children with IgE-mediated cow's milk allergy. *Allergy Asthma Proc*. 2009;30(4):443-8.
- [169] Pajno GB, Caminiti L, Ruggeri P, De Luca R, Vita D, La Rosa M, Passalacqua G. Oral immunotherapy for cow's milk allergy with a weekly up-dosing regimen: a randomized single-blind controlled study. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2010;105(5):376-81.
- [170] Martorell A, De la Hoz B, Ibáñez MD, Bone J, Terrados MS, Michavila A, Plaza AM, Alonso E, Garde J, Nevot S, Echeverria L, Santana C, Cerdá JC, Escudero C, Guallar I, Piquer M, Zapatero L, Ferré L, Bracamonte T, Muriel A, Martínez MI, Félix R. Oral desensitization as a useful treatment in 2-year-old children with cow's milk allergy. *Clin Exp Allergy*. 2011;41(9):1297-304.
- [171] Vazquez-Ortiz M, Alvaro-Lozano M, Alsina L, Garcia-Paba MB, Piquer-Gibert M, Giner-Muñoz MT, Lozano J, Domínguez-Sánchez O, Jiménez R, Días M, Martín-Mateos MA, Plaza-Martín AM. Safety and predictors of adverse events during oral immunotherapy for milk allergy: severity of reaction at oral challenge, specific IgE and prick test. *Clin Exp Allergy*. 2013;43(1):92-102.
- [172] 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*. 2012 Jan;14(1):43-7.
- [173] García-Ara C, Pedrosa M, Belver MT, Martín-Muñoz MF, Quirce S, Boyano-Martínez T. Efficacy and safety of oral desensitization in children with cow's milk allergy according to their serum specific IgE level. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2013;110(4):290-4.
- [174] Morisset M, Moneret-Vautrin DA, Guenard L, Cuny JM, Frenzt P, Hatahet R, Hanss Ch, Beaudouin E, Petit N, Kanny G. Oral desensitization in children with milk and egg allergies obtains recovery in a significant proportion of cases: a randomized study in 60

children with cow's milk allergy and 90 children with egg allergy. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2007;39(1):12-9.

[175] Patriarca G, Nucera E, Roncallo C, Pollastrini E, Bartolozzi F, De Pasquale T, Buonomo A, Gasbarrini G, Di Campi C, Schiavino D. Oral desensitizing treatment in food allergy: clinical and immunological results. *Aliment Pharmacol Ther.* 2003;17(3):459-65.

[176] Patriarca G, Nucera E, Pollastrini E, Roncallo C, De Pasquale T, Lombardo C, Pedone C, Gasbarrini G, Buonomo A, Schiavino D. Oral specific desensitization in food-allergic children. *Dig Dis Sci.* 2007;52(7):1662-72.

[177] Vickery BP, Pons L, Kulis M, Steele P, Jones SM, Burks W. Individualized IgE-based dosing of egg oral immunotherapy and the development of tolerance. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2010;105(6):444-50.

[178] Itoh N, Itagaki Y, Kurihara K. Rush specific oral tolerance induction in school-age children with severe egg allergy: one year follow up. *Allergol Int.* 2010;59(1):43-51.

[179] García-Rodríguez R, Urrea JM, Feo-Brito F, Galindo PA, Borja J, Gómez E, Lara P, Guerra F. Oral rush desensitization to egg: efficacy and safety. *Clin Exp Allergy.* 2011;41(9):1289-96.

[180] Tortajada-Girbés M, Porcar-Almela M, Martorell-Giménez L, Tallón-Guerola M, Gracia-Antequera M, Codoñer-Franch P. Specific Oral Tolerante Induction (SOTI) to egg: our experience with 19 children. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2012;22(1):75-7.

[181] Meglio P, Giampietro PG, Carello R, Gabriele I, Avitabile S, Galli E. Oral food desensitization in children with IgE-mediated hen's egg allergy: a new protocol with raw hen's egg. *Pediatr Allergy Immunol.* 2013;24(1):75-83.

[182] Dello Iacono I, Tripodi S, Calvani M, Panetta V, Verga MC, Miceli Sopo S. Specific oral tolerance induction with raw hen's egg in children with very severe egg allergy: a randomized controlled trial. *Pediatr Allergy Immunol.* 2013;24(1):66-74.

[183] Fuentes-Aparicio V, Alvarez-Perea A, Infante S, Zapatero L, D'Oleo A, Alonso-Lebrero E. Specific oral tolerance induction in paediatric patients with persistent egg allergy. *Allergol et Immunopathol (Madr).* 2013;41(3):143-50.

[184] Vazquez-Ortiz M, Alvaro M, Piquer M, Dominguez O, Machinena A, Martín-Mateos MA, Plaza AM. Baseline specific IgE levels are useful to predict safety of oral immunotherapy in egg-allergic children. *Clin Exp Allergy.* 2014;44(1):130-41.

[185] Jones SM, Pons L, Roberts JL, Scurlock AM, Perry TT, Kulis M, Shreffler WG, Steele P, Henry KA, Adair M, Francis JM, Durham S, Vickery BP, Zhong X, Burks AW. Clinical efficacy and immune regulation with peanut oral immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;124(2):292-300.e1-97.

[186] Varshney P, Jones SM, Scurlock AM, Perry TT, Kemper A, Steele P, Hiegel A, Kamilaris J, Carlisle S, Yue X, Kulis M, Pons L, Vickery B, Burks AW. A randomized

controlled study of peanut oral immunotherapy: clinical desensitization and modulation of the allergic response. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;127(3):654-60.

[187] Anagnostou K, Islam S, King Y, Foley L, Pasea L, Bond S, Palmer C, Deighton J, Ewan P, Clark A. Assessing the efficacy of oral immunotherapy for the desensitisation of peanut allergy in children (STOP II): a phase 2 randomised controlled trial. *Lancet.* 2014;383(9925):1297-304.

[188] 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.* 2008;19(5):412-9.

[189] Keet CA, Seopaul S, Knorr S, Narisety S, Skripak J, Wood RA. Long-term follow-up of oral immunotherapy for cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;132(3):737-9.e6.

[190] Escudero C, Rodríguez Del Río P, Sánchez-García S, Pérez-Rangel I, Pérez-Farinós N, García-Fernández C, Ibáñez MD. Early sustained unresponsiveness after short-course egg oral immunotherapy: a randomized controlled study in egg allergic children. *Clin Exp Allergy.* 2015;45(12):1833-43.

[191] Jones SM, Burks AW, Keet C, Vickery BP, Scurlock AM, Wood RA, Liu AH, Sicherer SH, Henning AK, Lindblad RW, Dawson P, Berin C, Fleischer DM, Leung DY, Plaut M, Sampson HA; Consortium of Food Allergy Research. Long-term treatment with egg oral immunotherapy enhances sustained unresponsiveness that persists after cessation of therapy. *J Allergy Clin Immunol.* 2016;137(4):1117-27.e1-10.

[192] 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.* 2005;60(10):1320-2.

[193] Staden U, Rolinck-Werninghaus C, Brewe F, Wahn U, Niggemann B, Beyer K. Specific oral tolerance induction in food allergy in children: efficacy and clinical patterns of reaction. *Allergy.* 2007;62(11):1261-9.

[194] Buchanan AD, Green TD, Jones SM, Scurlock AM, Christie L, Althage KA, Steele PH, Pons L, Helm RM, Lee LA, Burks AW. Egg oral immunotherapy in non-anaphylactic children with egg allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;119(1):199-205.

[195] Caminiti L, Pajno GB, Crisafulli G, Chiera F, Collura M, Panasci G, Ruggeri P, Guglielmo F, Passalacqua G. Oral immunotherapy for egg allergy: a double-blind placebo-controlled study, with postdesensitization follow-up. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2015;3(4):532-9.

[196] Berin MC. Future therapies for IgE-mediated food allergy. *Curr Pediatr Rep.* 2014;2(2):119-26.

[197] Vickery BP, Lin J, Kulis M, Fu Z, Steele PH, Jones SM, Scurlock AM, Gimenez G, Bardina L, Sampson HA, Burks AW. Peanut oral immunotherapy modifies IgE and IgG4 responses to major peanut allergens. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;131(1):128-34.e1-3.

- [198] Syed A, Garcia MA, Lyu SC, Bucayu R, Kohli A, Ishida S, Berglund JP, Tsai M, Maecker H, O'Riordan G, Galli SJ, Nadeau KC. Peanut oral immunotherapy results in increased antigen-induced regulatory T-cell function and hypomethylation of forkhead box protein 3 (FOXP3). *J Allergy Clin Immunol.* 2014;133(2):500-10.
- [199] Gorelik M, Narisety SD, Guerrerio AL, Chichester KL, Keet CA, Bieneman AP, Hamilton RG, Wood RA, Schroeder JT, Frischmeyer-Guerrerio PA. Suppression of the immunologic response to peanut during immunotherapy is often transient. *J Allergy Clin Immunol.* 2015;135(5):1283-92.
- [200] Ponce M, Diesner SC, Szépfalusi Z, Eiwegger T. Markers of tolerance development to food allergens. *Allergy.* 2016;71(10):1393-404.
- [201] Vickery BP, Scurlock AM, Kulis M, Steele PH, Kamilaris J, Berglund JP, Burk C, Hiegel A, Carlisle S, Christie L, Perry TT, Pesek RD, Sheikh S, Virkud Y, Smith PB, Shamji MH, Durham SR, Jones SM, Burks AW. Sustained unresponsiveness to peanut in subjects who have completed peanut oral immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol.* 2014;133(2):468-75.
- [202] Gamboa PM, Garcia-Lirio E, Gonzalez C, Gonzalez A, Martinez-Aranguren RM, Sanz María L. Is the quantification of antigen-specific basophil activation a useful tool for monitoring oral tolerance induction in children with egg allergy? *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2016;26(1):25-30.
- [203] Yanagida N, Sato S, Asaumi T, Nagakura K, Ogura K, Ebisawa M. Safety and efficacy of low-dose oral immunotherapy for hen's egg allergy in children. *Int Arch Allergy Immunol.* 2016;171(3-4):265-8.
- [204] Akashi M, Yasudo H, Narita M, Nomura I, Akasawa A, Ebisawa M, Takahashi T, Ohya Y. Randomized controlled trial of oral immunotherapy for egg allergy in Japanese patients. *Pediatr Int.* 2016 Dec 3. doi: 10.1111/ped.13210.
- [205] Santos AF, James LK, Bahnson HT, Shamji MH, Couto-Francisco NC, Islam S, Houghton S, Clark AT, Stephens A, Turcanu V, Durham SR, Gould HJ, Lack G. IgG inhibits peanut-induced basophil and mast cell activation in peanut-tolerant children sensitized to peanut major allergens. *J Allergy Clin Immunol.* 2015;135(5):1249-56.
- [206] Woof JM, Mestecky J. Mucosal immunoglobulins. *Immunol Rev.* 2005;206:64-82.
- [207] Wright BL, Kulis M, Orgel KA, Burks AW, Dawson P, Henning AK, Jones SM, Wood RA, Sicherer SH, Lindblad RW, Stablein D, Leung DY, Vickery BP, Sampson HA; Consortium of Food Allergy Research. Component-resolved analysis of IgA, IgE, and IgG4 during egg OIT identifies markers associated with sustained unresponsiveness. *Allergy.* 2016;71(11):1552-60.
- [208] Vazquez-Ortiz M, Pascal M, Juan M, Alsina L, Martín-Mateos MA, Plaza AM. Serum allergen-specific IgA is not associated with natural or induced tolerance to egg in children. *Allergy.* 2013;68(10):1327-32.

- [209] Vila L, Moreno A, Gamboa PM, Martínez-Aranguren R, San ML. Decrease in antigen-specific CD63 basophil expression is associated with the development of tolerance to egg by SOTI in children. *Pediatr Allergy Immunol*. 2013;24(5):463-8.
- [210] Fuentes-Aparicio V, Alonso-Lebrero E, Zapatero L, Infante S, Lorente R, Muñoz-Fernández MA, Correa-Rocha R. Induction of Treg cells after oral immunotherapy in hen's egg allergic children. *Pediatr Allergy Immunol*. 2014;25(1):103-6.
- [211] Perezábad L, Reche M, Valbuena T, López-Fandiño R, Molina E, López-Expósito I. Clinical efficacy and immunological changes subjacent to egg oral immunotherapy. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2015;114(6):504-9.
- [212] Blumchen K, Ulbricht H, Staden U, Dobberstein K, Beschoner J, de Oliveira LC, Shreffler WG, Sampson HA, Niggemann B, Wahn U, Beyer K. Oral peanut immunotherapy in children with peanut anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;126(1):83-91.e1.
- [213] van de Veen W, Stanic B, Yaman G, Wawrzyniak M, Sollner S, Akdis DG, Rückert B, Akdis CA, Akdis M. IgG4 production is confined to human IL-10-producing regulatory B cells that suppress antigen-specific immune responses. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;131(4):1204-12.
- [214] Bedoret D, Singh AK, Shaw V, Hoyte EG, Hamilton R, DeKruyff RH, Schneider LC, Nadeau KC, Umetsu DT. Changes in antigen-specific T-cell number and function during oral desensitization in cow's milk allergy enabled with omalizumab. *Mucosal Immunol*. 2012;5(3):267-76.
- [215] Perezábad L, Reche M, Valbuena T, López-Fandiño R, Molina E, López-Expósito I. Oral food desensitization in children with IgE-mediated cow's milk allergy: immunological changes underlying desensitization. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2017;9(1):35-42.
- [216] Boyano-Martínez T. Inmunoterapia oral en alergia alimentaria. En: *Alergia a alimentos en el niño*. Boyano-Martínez T, García-Ara MC. MRA Ediciones 2013;IX:169-78.
- [217] Sanchez-Garcia S, Rodriguez Del Rio P, Escudero C, Martinez-Gomez MJ, Ibanez MD. Possible eosinophilic esophagitis induced by milk oral immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;129(4):1155-7.
- [218] Ojeda P, Ojeda I, Rubio G, Pineda F. Home-based oral immunotherapy protocol with pasteurized egg for children allergic to hen's egg. *Isr Med Assoc J*. 2012;14(1):34-9.
- [219] Lucendo AJ, Arias A, Tenias JM. Relation between eosinophilic esophagitis and oral immunotherapy for food allergy: a systematic review with meta-analysis. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2014;113(6):624-9.
- [220] Ridolo E, De Angelis GL, Dall'aglio P. Eosinophilic esophagitis after specific oral tolerance induction for egg protein. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2011;106(1):73-4.
- [221] Hofmann AM, Scurlock AM, Jones SM, Palmer KP, Lokhnygina Y, Steele PH, Kamilaris J, Burks AW. Safety of a peanut oral immunotherapy protocol in children with peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2009;124(2):286-91.e1-6.

- [222] Ruiz-Garcia M, Haroun E, Landivar ME, Torres-Hernandez JA, Sastre J. Commercial dehydrated egg white for Specific Oral Tolerance Induction (SOTI): an easier treatment for egg allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2012;22(7):529-31.
- [223] Bravin K, Luyt D. Home-based oral immunotherapy with a baked egg protocol. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2016;26(1):61-3.
- [224] 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*. 2015;168(2):131-7.
- [225] Yanagida N, Okada Y, Sato S, Ebisawa M. New approach for food allergy management using low-dose oral food challenges and low-dose oral immunotherapies. *Allergol Int*. 2016;65(2):135-40.
- [226] Holgate ST, Polosa R. Treatment strategies for allergy and asthma. *Nat Rev Immunol*. 2008;8(3):218-30.
- [227] Sampson HA, Leung DY, Burks AW, Lack G, Bahna SL, Jones SM, Wong DA. A phase II, randomized, double blind, parallel group, placebo controlled oral food challenge trial of Xolair (omalizumab) in peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;127(5):1309-10.e1.
- [228] Schneider LC, Rachid R, LeBovidge J, Blood E, Mittal M, Umetsu DT. A pilot study of omalizumab to facilitate rapid oral desensitization in high-risk peanut-allergic patients. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;132(6):1368-74.
- [229] 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*. 2012;32(1):111-33.
- [230] Umetsu DT, Rachid R, Schneider LC. Oral immunotherapy and anti-IgE antibody treatment for food allergy. *World Allergy Organ J*. 2015 6;8(1):20.
- [231] Nadeau KC, Schneider LC, Hoyte L, Borrás I, Umetsu DT. Rapid oral desensitization in combination with omalizumab therapy in patients with cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;127(6):1622-4.
- [232] Wood RA, Kim JS, Lindblad R, Nadeau K, Henning AK, Dawson P, Plaut M, Sampson HA. A randomized, double-blind, placebo-controlled study of omalizumab combined with oral immunotherapy for the treatment of cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;137(4):1103-10.e1-11.
- [233] Begin P, Winterroth LC, Dominguez T, Wilson SP, Bacal L, Mehrotra A, Kausch B, Trela A, Hoyte E, O'Riordan G, Seki S, Blakemore A, Woch M, Hamilton RG, Nadeau KC. Safety and feasibility of oral immunotherapy to multiple allergens for food allergy. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2014;10(1):1.
- [234] Begin P, Dominguez T, Wilson SP, Bacal L, Mehrotra A, Kausch B, Trela A, Tavassoli M, Hoyte E, O'Riordan G, Blakemore A, Seki S, Hamilton RG, Nadeau KC. Phase 1 results

of safety and tolerability in a rush oral immunotherapy protocol to multiple foods using Omalizumab. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2014;10(1):7.

[235] Wood RA, Sampson HA. Oral immunotherapy for the treatment of peanut allergy: is it ready for prime time? *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2014;2(1):97-8.

[236] Nurmatov U, Dhimi S, Arasi S, Pajno GB, Fernandez-Rivas M, Muraro A, Roberts G, Akdis C, Alvaro-Lozano M, Beyer K, Bindslev-Jensen C, Burks W, du Toit G, Ebisawa M, Eigenmann P, Knol E, Makela M, Nadeau KC, O'Mahony L, Papadopoulos N, Poulsen LK, Sackesen C, Sampson H, Santos A, van Ree R, Timmermans F, Sheikh A. Allergen immunotherapy for IgE-mediated food allergy: a systematic review and meta-analysis. *Allergy.* 2017 Jan 6. doi: 10.1111/all.13124.

[237] Vazquez-Ortiz M, Turner PJ. Improving the safety of oral immunotherapy for food allergy. *Pediatr Allergy Immunol.* 2016;27(2):117-25.

[238] Untersmayr E, Jensen-Jarolim E. The role of protein digestibility and antacids on food allergy outcomes. *J Allergy Clin Immunol.* 2008;121(6):1301-8; quiz 1309-10.

[239] Fleischer DM, Burks AW, Vickery BP, Scurlock AM, Wood RA, Jones SM, Sicherer SH, Liu AH, Stablein D, Henning AK, Mayer L, Lindblad R, Plaut M, Sampson HA; Consortium of Food Allergy Research (CoFAR). Sublingual immunotherapy for peanut allergy: a randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter trial. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;131(1):119-27.e1-7.

[240] Kim EH, Bird JA, Kulis M, Laubach S, Pons L, Shreffler W, Steele P, Kamilaris J, Vickery B, Burks AW. Sublingual immunotherapy for peanut allergy: clinical and immunologic evidence of desensitization. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;127(3):640-6.e1.

[241] Enrique E, Pineda F, Malek T, Bartra J, Basagana M, Tella R, Castelló JV, Alonso R, de Mateo JA, Cerdá-Trias T, San Miguel-Moncín Mdel M, Monzón S, García M, Palacios R, Cisteró-Bahíma A. Sublingual immunotherapy for hazelnut food allergy: a randomized, double-blind, placebo-controlled study with a standardized hazelnut extract. *J Allergy Clin Immunol.* 2005;116(5):1073-9.

[242] Burks AW, Wood RA, Jones SM, Sicherer SH, Fleischer DM, Scurlock AM, Vickery BP, Liu AH, Henning AK, Lindblad R, Dawson P, Plaut M, Sampson HA; Consortium of Food Allergy Research (CoFAR). Sublingual immunotherapy for peanut allergy: Long-term follow-up of a randomized multicenter trial. *J Allergy Clin Immunol.* 2015;135(5):1240-8.e1-3.

[243] Keet CA, Frischmeyer-Guerrerio PA, Thyagarajan A, Schroeder JT, Hamilton RG, Boden S, Steele P, Driggers S, Burks AW, Wood RA. The safety and efficacy of sublingual and oral immunotherapy for milk allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2012;129(2):448-55.e1-5.

[244] Narisety SD, Frischmeyer-Guerrerio PA, Keet CA, Gorelik M, Schroeder J, Hamilton RG, Wood RA. A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study of sublingual versus oral immunotherapy for the treatment of peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2015;135(5):1275-82.e1-6.

- [245] Gernez Y, Nowak-Węgrzyn A. Immunotherapy for food allergy: are we there yet? *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2017;5(2):250-72.
- [246] Mondoulet L, Dioszeghy V, Thebault C, Benhamou PH, Dupont C. Epicutaneous immunotherapy for food allergy as a novel pathway for oral tolerance induction. *Immunotherapy.* 2015;7(12):1293-305.
- [247] Dupont C, Kalach N, Soulaines P, Legoue-Morillon S, Piloquet H, Benhamou PH. Cow's milk epicutaneous immunotherapy in children: a pilot trial of safety, acceptability, and impact on allergic reactivity. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;125(5):1165-7.
- [248] Jones SM, Sicherer SH, Burks AW, Leung DY, Lindblad RW, Dawson P, Henning AK, Berin MC, Chiang D, Vickery BP, Pesek RD, Cho CB, Davidson WF, Plaut M, Sampson HA, Wood RA; Consortium of Food Allergy Research. Epicutaneous immunotherapy for the treatment of peanut allergy in children and young adults. *J Allergy Clin Immunol.* 2017;139(4):1242-52.e9.
- [249] Yang M, Yang C, Mine Y. Multiple T cell epitope peptides suppress allergic responses in an egg allergy mouse model by the elicitation of forkhead box transcription factor 3- and transforming growth factor-beta-associated mechanisms. *Clin Exp Allergy.* 2010;40(4):668-78.
- [250] Wood RA, Sicherer SH, Burks AW, Grishin A, Henning AK, Lindblad R, Stablein D, Sampson HA. A phase 1 study of heat/phenol-killed, *E. coli*-encapsulated, recombinant modified peanut proteins Ara h 1, Ara h 2, and Ara h 3 (EMP-123) for the treatment of peanut allergy. *Allergy.* 2013;68(6):803-8.
- [251] Dreborg S, Frew A. Position Paper: allergen standardization and skin tests. *Allergy.* 1993;48(14):49-54.
- [252] Escudero C, Sánchez-García S, Rodríguez del Río P, Pastor-Vargas C, García-Fernández C, Pérez-Rangel I, Ramírez-Jiménez A, Ibáñez MD. Dehydrated egg white: an allergen source for improving efficacy and safety in the diagnosis and treatment for egg allergy. *Pediatr Allergy Immunol.* 2013;24(3):263-9.
- [253] Clark AT, Ewan PW. Food allergy in childhood. *Arch Dis Child.* 2003;88(1):79-81.
- [254] Muraro A, Roberts G, Clark A, Eigenmann PA, Halken S, Lack G, Moneret-Vautrin A, Niggemann B, Rancé F; EAACI Task Force on Anaphylaxis in Children. The management of anaphylaxis in childhood: position paper of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Allergy.* 2007;62(8):857-71.
- [255] Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C(T)}$ Method. *Methods.* 2001; 25(4):402-8.
- [256] Romantsik O, Bruschetti M, Tosca MA, Zappettini S, Della Casa Alberighi O, Calevo MG. Oral and sublingual immunotherapy for egg allergy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014;(11):CD010638.

- [257] Frew AJ, Powell RJ, Corrigan CJ, Durham SR; UK Immunotherapy Study Group. Efficacy and safety of specific immunotherapy with SQ allergen extract in treatment-resistant seasonal allergic rhinoconjunctivitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2006;117(2):319-25.
- [258] Didier A, Malling HJ, Worm M, Horak F, Jäger S, Montagut A, et al. Optimal dose, efficacy, and safety of once-daily sublingual immunotherapy with a 5-grass pollen tablet for seasonal allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;120(6):1338-45.
- [259] Brian P, Vickery BP, Pons L, Kulis M, Steele P, Jones SM, Burks AW. Individualized Ig-E based dosing of egg oral immunotherapy and the development of tolerance. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2010;105(6):444-50.
- [260] Sugimoto M, Kamemura N, Nagao M, Irahara M, Kagami S, Fujisawa T, Kido H. Differential response in allergen-specific IgE, IgGs and IgA levels for predicting outcome of oral immunotherapy. *Pediatr Allergy Immunol.* 2016;27(3):276-82.
- [261] Salmivesi S, Paasilta M, Huhtala H, Nieminen R, Moilanen E, Korppi M. Changes in biomarkers during a six-months oral immunotherapy intervention for cow's milk allergy. *Acta Paediatr.* 2016;105(11):1349-54.
- [262] Krogulska A, Borowiec M, Polakowska E, Dynowski J, Mlynarski W, Wasowska-Królikowska K. FoxP3, IL-10, and TGF- β genes expression in children with IgE-dependent food allergy. *J Clin Immunol.* 2011;31(2):205-15.
- [263] Burbank AJ, Sood P, Vickery BP, Wood RA. Oral immunotherapy for food allergy. *Immunol Allergy Clin N Am.* 2016;36(1):55-69.
- [264] Berin MC, Shreffler WG. Mechanisms underlying induction of tolerance to foods. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2016;36(1):87-102.
- [265] Wisniewski JA, Commins SP, Agrawal R, Hulse KE, Yu MD, Cronin J, Heymann PW, Pomes A4, Platts-Mills TA, Workman L, Woodfolk JA. Analysis of cytokine production by peanut-reactive T cells identifies residual Th2 effectors in highly allergic children who received peanut oral immunotherapy. *Clin Exp Allergy.* 2015;45(7):1201-13.
- [266] Fuentes-Aparicio V, Alonso-Lebrero E, Zapatero L, Infante S, Lorente R, Muñoz-Fernández MA, Correa-Rocha R. Oral immunotherapy in hen's egg-allergic children increases a hypo-proliferative subset of CD4+ T cells that could constitute a marker of tolerance achievement. *Pediatr Allergy Immunol.* 2012;23(7):648-53.
- [267] Mori F, Bianchi L, Pucci N, Azzari C, De Martino M, Novembre E. CD4+CD25+Foxp3+ T regulatory cells are not involved in oral desensitization. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2010;23(1):359-61.
- [268] Urra JM, Garcia-Rodriguez R, Feo-Brito F, Mur P, Guerra F. Oral desensitization to egg enables CD4+FoxP3+ cells to expand in egg-stimulated cells. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2012;22(1):71-3.



Anexos



10 Anexos

10.1 Anexo I: Consentimientos informados

| | | | |
|--|--|---|--|
| <p>Hospital Infantil Universitario Niño Jesús SaludMadrid Comunidad de Madrid</p> | | <p>PEGATINA</p> | |
| <p>CONSENTIMIENTO INFORMADO INDUCCIÓN ORAL DE TOLERANCIA A ALIMENTOS</p> | | | |
| <p>SECCIÓN ALERGOLOGÍA</p> | | <p>FACULTATIVO que informa: (Nombre y apellidos)</p> | |
| <p>JUICIO DIAGNÓSTICO:</p> | | | |
| <ul style="list-style-type: none"> • FINALIDAD: Se trata del único procedimiento del que dispone el alergólogo para tratar de resolver de forma individual y específica la alergia a un determinado alimento. • NATURALEZA DEL PROCEDIMIENTO: Habitualmente se desarrolla a través de la administración ORAL de dosis crecientes del alimento al que tú/su hijo está sensibilizado. La finalidad del procedimiento es normalizar la respuesta del organismo al alimento. • En algunas ocasiones se utilizará suero del paciente para realizar estudios inmunológicos para investigación, para lo cual se extrae un volumen de sangre algo superior al necesario para realizar el análisis de sangre de rutina. • MOLESTIAS HABITUALES DERIVADAS DEL PROCEDIMIENTO: Este procedimiento dura varios días, en cada uno de los cuales se requieren varias horas de observación médica. Posteriormente tendrá que seguir tomando este alimento hasta nueva orden de su médico para mantener la tolerancia de su organismo. Se pueden producir reacciones alérgicas durante el procedimiento. • RIESGOS LEVES: Reacciones leves como picor en la boca. El paciente también puede presentar un hematoma en el lugar de la extracción de sangre. • RIESGOS GRAVES Y SECUELAS: Raramente se produce una reacción grave y de tener lugar suele acontecer en los 30 minutos posteriores a la administración de la dosis. Las reacciones alérgicas graves requieren tratamiento y en algunos casos pueden poner en riesgo la vida del paciente. • RIESGOS PERSONALIZADOS: • CONTRAINDICACIONES: • ALTERNATIVAS: En tu caso/en el caso de su hijo hemos considerado que este tratamiento es el más adecuado para intentar la tolerancia al alimento que le produce alergia. El tratamiento alternativo consiste en la dieta exenta del alimento de por vida, si persiste la alergia a ese alimento, o hasta que lo tolere espontáneamente. | | | |
| <div style="border-left: 1px solid black; border-right: 1px solid black; padding-left: 5px; writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);"> <p>EJEMPLAR PARA EL CENTRO</p> </div> <p>D/Dª..... en calidad de padre/madre o tutor del niño da su autorización para la realización de las INDUCCIÓN ORAL DE TOLERANCIA A ALIMENTOS, quedando el que firma informado de los posibles riesgos que pudiera derivarse de la aplicación. De la misma forma declaro que he quedado satisfecho de la información recibida, habiendo solicitado SI/NO información adicional, y que se me ha explicado la posibilidad de revocar mi consentimiento.</p> <p style="text-align: center;">Madrid, a..... de..... de.....</p> <p>D/Dª..... D/Dª..... D/Dª..... (padre/madre/responsable) (paciente, en su caso) (facultativo) DNI Núm. colegiado</p> | | | |
| Documento | | ALG-CI-011 | |
| Aprobado | | SI | |
| Acta | | 01/2010 | |
| | | Edición 1 | |
| | | COPIA CONTROLADA | |



REVOCACIÓN

D/Dª
 revoco la decisión anteriormente tomada acerca de

Madrid, a de de

D/Dª D/Dª D/Dª
 (padre/madre/responsable) (paciente, en su caso) (facultativo)

NEGATIVA AL PROCEDIMIENTO PROPUESTO

Yo, D./Dª
 como (marcar lo que proceda):
 PACIENTE REPRESENTANTE LEGAL O TUTOR
 he sido debidamente informado por el médico de todos los aspectos mencionados en el presente documento y expreso, de forma libre, voluntaria y consciente, y en pleno uso de las capacidades que me facultan para ello, mi negativa a que se realice el procedimiento diagnóstico o terapéutico referido en el presente documento.

Madrid, a de de

D/Dª D/Dª D/Dª
 (padre/madre/responsable) (paciente, en su caso) (facultativo)

RENUNCIA A SER INFORMADO Y AUTORIZACIÓN DE PROCEDIMIENTOS

Yo, D./Dª
 como (marcar lo que proceda):
 PACIENTE REPRESENTANTE LEGAL O TUTOR
 manifiesto mi voluntad de no ser informado y autorizo el/los procedimientos diagnósticos y terapéuticos que el equipo clínico que me atiende considere necesarios.

Madrid, a de de

D/Dª D/Dª D/Dª
 (padre/madre/responsable) (paciente, en su caso) (facultativo)

Esta renuncia está limitada por el interés de la salud del propio paciente, de terceros, de la colectividad y por las exigencias terapéuticas del caso.

EJEMPLAR PARA EL CENTRO


CAMBIO DE MÉDICO

Yo, D./Dª
 como (marcar lo que proceda):
 PACIENTE REPRESENTANTE LEGAL O TUTOR
 manifiesto conocer y autorizo que el médico designado para realizar el procedimiento que me ha sido propuesto sea el Dr.

Madrid, a de de

D/Dª D/Dª D/Dª
 (padre/madre/responsable) (paciente, en su caso) (facultativo)

| | | | |
|-----------|------------|------------------|---|
| Documento | ALG-CI-011 | Edición | 1 |
| Aprobado | SI | COPIA CONTROLADA | |
| Acta | 01/2010 | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|--|-----------|------------|------------------|---------|---|----------|----|--|--|--|------|---------|--|--|------------------|
|  <p>Hospital Infantil Universitario Niño Jesús SaludMadrid Comunidad de Madrid</p> | PEGATINA | | | | | | | | | | | | | | | |
| CONSENTIMIENTO INFORMADO INDUCCIÓN ORAL DE TOLERANCIA A ALIMENTOS | | | | | | | | | | | | | | | | |
| SECCIÓN ALERGOLOGÍA | FACULTATIVO que informa: (Nombre y apellidos) | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>JUICIO DIAGNÓSTICO:</p> <ul style="list-style-type: none"> • FINALIDAD: Se trata del único procedimiento del que dispone el alergólogo para tratar de resolver de forma individual y específica la alergia a un determinado alimento. • NATURALEZA DEL PROCEDIMIENTO: Habitualmente se desarrolla a través de la administración ORAL de dosis crecientes del alimento al que tú/su hijo está sensibilizado. La finalidad del procedimiento es normalizar la respuesta del organismo al alimento. • En algunas ocasiones se utilizará suero del paciente para realizar estudios inmunológicos para investigación, para lo cual se extrae un volumen de sangre algo superior al necesario para realizar el análisis de sangre de rutina. • MOLESTIAS HABITUALES DERIVADAS DEL PROCEDIMIENTO: Este procedimiento dura varios días, en cada uno de los cuales se requieren varias horas de observación médica. Posteriormente tendrá que seguir tomando este alimento hasta nueva orden de su médico para mantener la tolerancia de su organismo. Se pueden producir reacciones alérgicas durante el procedimiento. • RIESGOS LEVES: Reacciones leves como picor en la boca. El paciente también puede presentar un hematoma en el lugar de la extracción de sangre. • RIESGOS GRAVES Y SECUELAS: Raramente se produce una reacción grave y de tener lugar suele acontecer en los 30 minutos posteriores a la administración de la dosis. Las reacciones alérgicas graves requieren tratamiento y en algunos casos pueden poner en riesgo la vida del paciente. • RIESGOS PERSONALIZADOS: • CONTRAINDICACIONES: • ALTERNATIVAS: En tu caso/en el caso de su hijo hemos considerado que este tratamiento es el más adecuado para intentar la tolerancia al alimento que le produce alergia. El tratamiento alternativo consiste en la dieta exenta del alimento de por vida, si persiste la alergia a ese alimento, o hasta que lo tolere espontáneamente. <p>D/Dª en calidad de padre/madre o tutor del niño da su autorización para la realización de las INDUCCIÓN ORAL DE TOLERANCIA A ALIMENTOS, quedando el que firma informado de los posibles riesgos que pudiera derivarse de la aplicación. De la misma forma declaro que he quedado satisfecho de la información recibida, habiendo solicitado SI/NO información adicional, y que se me ha explicado la posibilidad de revocar mi consentimiento.</p> <p style="text-align: center;">Madrid, a..... de..... de.....</p> <p>D/Dª..... D/Dª..... D/Dª..... (padre/madre/responsable) (paciente, en su caso) (facultativo) DNI..... Núm. colegiado.....</p> | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20%;">Documento</td> <td>ALG-CI-011</td> <td style="width: 20%;"></td> <td style="width: 20%;">Edición</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>Aprobado</td> <td>SI</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Acta</td> <td>01/2010</td> <td></td> <td></td> <td>COPIA CONTROLADA</td> </tr> </table> | | Documento | ALG-CI-011 | | Edición | 1 | Aprobado | SI | | | | Acta | 01/2010 | | | COPIA CONTROLADA |
| Documento | ALG-CI-011 | | Edición | 1 | | | | | | | | | | | | |
| Aprobado | SI | | | | | | | | | | | | | | | |
| Acta | 01/2010 | | | COPIA CONTROLADA | | | | | | | | | | | | |

EJEMPLAR PARA EL INTERESADO



REVOCACIÓN

D/Dª
revoco la decisión anteriormente tomada acerca de

Madrid, a..... de..... de.....

D/Dª D/Dª D/Dª
(padre/madre/responsable) (paciente, en su caso) (facultativo)

NEGATIVA AL PROCEDIMIENTO PROPUESTO

Yo, D./Dª
como (marcar lo que proceda):
 PACIENTE REPRESENTANTE LEGAL O TUTOR
he sido debidamente informado por el médico de todos los aspectos mencionados en el presente documento y expreso, de forma libre, voluntaria y consciente, y en pleno uso de las capacidades que me facultan para ello, mi negativa a que se realice el procedimiento diagnóstico o terapéutico referido en el presente documento.

Madrid, a..... de..... de.....

D/Dª D/Dª D/Dª
(padre/madre/responsable) (paciente, en su caso) (facultativo)

RENUNCIA A SER INFORMADO Y AUTORIZACIÓN DE PROCEDIMIENTOS

Yo, D./Dª
como (marcar lo que proceda):
 PACIENTE REPRESENTANTE LEGAL O TUTOR
manifiesto mi voluntad de no ser informado y autorizo el/los procedimientos diagnósticos y terapéuticos que el equipo clínico que me atiende considere necesarios.

Madrid, a..... de..... de.....

D/Dª D/Dª D/Dª
(padre/madre/responsable) (paciente, en su caso) (facultativo)

Esta renuncia está limitada por el interés de la salud del propio paciente, de terceros, de la colectividad y por las exigencias terapéuticas del caso.

CAMBIO DE MÉDICO

Yo, D./Dª
como (marcar lo que proceda):
 PACIENTE REPRESENTANTE LEGAL O TUTOR
manifiesto conocer y autorizo que el médico designado para realizar el procedimiento que me ha sido propuesto sea el Dr.

Madrid, a..... de..... de.....

D/Dª D/Dª D/Dª
(padre/madre/responsable) (paciente, en su caso) (facultativo)

EJEMPLAR PARA EL INTERESADO

| | | | |
|-----------|------------|------------------|---|
| Documento | ALG-CI-011 | Edición | 1 |
| Aprobado | SI | COPIA CONTROLADA | |
| Acta | 01/2010 | | |

HOJA DE INFORMACIÓN Y CONSENTIMIENTO INFORMADO A LOS PADRES DEL PACIENTE O A SU REPRESENTANTE LEGAL

TÍTULO DEL PROYECTO: “Estudio aleatorizado con grupo control de inmunoterapia oral rápida con huevo en niños con alergia persistente mediada por IgE: desensibilización clínica y modulación de la respuesta inmunológica”.

Introducción y Objetivos

Su hijo/a ha sido diagnosticado/a de alergia a las proteínas de huevo. Este tipo de alergia es transitoria en la mayoría de los casos, alcanzando la tolerancia en los primeros años de vida. Sin embargo, en algunos casos como en el de su hijo/a, persiste y permanece durante años, con riesgo de reacción, que puede llegar a ser grave, tras la ingestión accidental de alimentos o bebidas que contengan proteínas de huevo. Esta situación obliga a revisar cuidadosamente la composición de los alimentos que toma el/la niño/a.

El único tratamiento para la alergia a alimentos hasta hace pocos años ha sido la dieta de exclusión. Sin embargo, en los últimos años se ha abordado y estudiado el tratamiento activo para esta enfermedad, ya que existe la posibilidad de inducir la tolerancia mediante una pauta de inmunoterapia oral, que consiste en administrar pequeñas cantidades de clara de huevo en polvo. La cantidad de huevo que recibe el paciente aumenta progresivamente hasta alcanzar una cantidad equivalente a una clara de huevo. Se han obtenido buenos resultados en diferentes estudios; en nuestra experiencia, el 93% de los pacientes sometidos a este tratamiento pueden llegar a comer un huevo completo.

El objetivo del presente estudio es poder inducir la tolerancia a huevo en pacientes alérgicos a proteínas de huevo. Además, se analizará si existen modificaciones en el sistema inmunológico que hacen posible que su hijo/a pueda tolerar huevo.

Debe leer cuidadosamente estas hojas de información y preguntar al médico cualquier duda que pueda tener. La participación de su hijo/a en el estudio es totalmente voluntaria.

Realización del estudio

En el estudio participarán aproximadamente 30 niños/as y cada paciente permanecerá en el estudio durante unos 5 meses, pudiendo salir del mismo en cualquier momento sin sufrir por ello menoscabo alguno en la calidad de su asistencia.

Con el fin de comprobar la eficacia del tratamiento, un grupo de pacientes (activo) recibirá el tratamiento de inducción de tolerancia y otro grupo (control) simplemente continuará realizando la dieta de eliminación de huevo. La asignación a uno u otro grupo se realizará al azar (como si fuera a cara y cruz al lanzar una moneda al aire). Si a su hijo/a le corresponde el grupo que va a continuar con la dieta de eliminación de huevo, transcurridos los 5 meses del estudio y si persiste la alergia a las proteínas de huevo, podrá iniciar el tratamiento de inmunoterapia con huevo según el procedimiento habitual de la Sección de Alergia del Hospital Infantil Universitario Niño Jesús.

Si a su hijo/a le corresponde entrar en el grupo de tratamiento, el estudio se compone de una

visita diaria durante 1 semana estando sujeto a modificaciones según respuesta. En las visitas programadas para administrar el tratamiento a su hijo/a se le realizará una exploración clínica y tomará las dosis correspondientes de clara de huevo indicadas en el protocolo hasta finalizar el mismo. El niño/a deberá permanecer bajo supervisión médica del alergólogo en nuestra Sección durante 2 horas. El objetivo es que su hijo/a llegue a tolerar la ingestión de un huevo completo. Finalizada esta parte del tratamiento, se les indicará que su hijo/a tome un huevo completo cada 2-3 días y que ustedes apunten en un diario si se ha producido alguna reacción. Si le corresponde el grupo que no va a recibir el tratamiento, su hijo/a continuará con la dieta sin huevo durante los 5 meses que dure el estudio e igualmente se les indicará que registren en un diario si se ha producido alguna reacción por la ingestión accidental de huevo.

Si a su hijo/a le corresponde entrar en el grupo de tratamiento, en la primera visita y en las visitas de revisión (a los 15 días, 1 mes y 3 meses) se le realizarán pruebas cutáneas a huevo y fracciones mediante técnica de prick test (las típicas “pruebas de la alergia”) y se le hará una extracción de sangre. Esto es lo que se hace habitualmente en las revisiones a los niños con alergia a proteínas de huevo para valorar su grado de alergia. Si a su hijo/a le corresponde el grupo control, dichas pruebas cutáneas y la extracción de sangre se realizarán únicamente al inicio y al final del estudio.

Al inicio del estudio y en las revisiones mencionadas (según el grupo al que corresponda) a su hijo/a se le extraerán muestras de sangre, el volumen de sangre por extracción será de 8 mL si su hijo/a es <12 años y de 10 mL si es > 12 años. El suero obtenido de la muestra de sangre será utilizado para realizar las habituales determinaciones de anticuerpos específicos frente a proteínas de huevo. Además, una parte de la sangre obtenida será utilizada para analizar los posibles cambios inmunológicos y el perfil genético que se produzcan durante el tratamiento, si le corresponde el grupo activo, o durante la dieta sin huevo, si le corresponde el grupo control. Se seguirá en todo momento la Ley de Investigación Biomédica respecto a las muestras humanas del 3 de Julio de 2007.

La prueba de provocación para comprobar la tolerancia al huevo se realizará mediante la técnica denominada “doble ciego”, que consiste en que ni su hijo/a ni el médico responsable van a saber qué está tomando el niño/a, con el fin de evitar la influencia de la sensación de reacción por las experiencias previas. En el grupo activo se realizará al inicio del estudio, mientras que en el grupo control se realizará al inicio del estudio y también al final del seguimiento para comprobar que su hijo/a no ha alcanzado la tolerancia de forma espontánea. Sin esta prueba su hijo/a no podría iniciar la inmunoterapia con huevo.

Efectos no deseados (Riesgos del estudio)

Las pruebas cutáneas se realizan en el antebrazo. Son las pruebas que se realizan en la Consulta de Alergia y se hacen habitualmente para poder diagnosticar a su hijo/a de alergia a proteínas de huevo. La posibilidad de efectos adversos es excepcional (infección del punto de prick, reacción tardía inflamatoria) y aún menos la posibilidad de síntomas sistémicos al realizarla en caso de extrema sensibilización, como urticaria, clínica de dificultad respiratoria, shock, etc...

La extracción de sangre, de aproximadamente 8-10 mL (según edad), puede ocasionar una pequeña incomodidad en el brazo y hematoma.

La prueba de provocación oral y la pauta de inmunoterapia a dosis progresivas puede producir una reacción alérgica al llegar a una determinada cantidad de clara de huevo en polvo, que puede llegar a ser grave (urticaria, hinchazón de labios y párpados, congestión nasal y ocular,

espasmo bronquial, vómitos, diarrea, dificultad respiratoria por hinchazón de las vías respiratorias, caída de la tensión arterial, shock, etc...) y que se trataría inmediatamente con la medicación correspondiente y adecuada a su edad y peso. La reacción es la misma que se produciría si por accidente le dieran a tomar al niño/a una cantidad equivalente de huevo en el colegio o en una excursión fuera del domicilio, con la diferencia de que en el hospital contamos con los medios necesarios para tratarla y controlarla inmediatamente.

Otros riesgos o complicaciones que podrían aparecer, dada su situación clínica y sus circunstancias personales, son

.....

Criterios de alerta en casa

Si en cualquier momento del estudio su hijo/a presenta síntomas de reacción alérgica (urticaria, hinchazón de labios y párpados, congestión nasal y ocular, espasmo bronquial, vómitos, diarrea, dificultad respiratoria por hinchazón de las vías respiratorias, etc...), además de darle la medicación que su médico le habrá recomendado y de llevarlo a un centro sanitario, usted puede y debe telefonar en cualquier momento del día al médico del estudio para regresar a la consulta antes de la fecha programada.

Retirada del estudio (derecho de revocación)

Los pacientes y los progenitores o tutores legales tienen derecho a abandonar el estudio en cualquier momento sin tener que dar explicaciones. En cualquier momento su médico puede decidir finalizar el estudio o retirar a su hijo/a por motivos de seguridad. Los datos obtenidos de la participación de su hijo/a en el estudio no serán incluidos en el análisis final de los resultados.

Tratamientos alternativos

En cualquier momento usted puede decidir libremente que no participe su hijo/a. Su médico le informará de la dieta de eliminación de proteínas de huevo y le recomendará un tratamiento para aplicar en caso de ingestión accidental del alimento mientras acude a un centro sanitario.

Su hijo/a seguirá sus revisiones habituales en la Consulta de Alergia sin que ello suponga un menoscabo en la atención del paciente con respecto a otros pacientes y sin que afecte a su tratamiento actual o futuro por su médico.

Beneficios para su hijo/a

No se pueden garantizar beneficios directos por la participación de su hijo/a en el estudio, aunque de los resultados que se extraigan del mismo se pueden favorecer a futuros pacientes.

Aspectos éticos y legales del estudio

El diseño de este estudio ha sido evaluado y aprobado por un Comité Ético independiente y se realizará de acuerdo con las normativas legales nacionales.

Si usted decide que su hijo/a participe en este estudio, deberá firmar este consentimiento en el

que se establece que está de acuerdo voluntariamente en participar y que ha leído y entendido la información proporcionada.

Verificación de datos

Los representantes de las autoridades sanitarias podrán revisar los datos médicos importantes de la historia clínica de su hijo/a para confirmar la precisión de los datos recogidos durante el estudio.

La identidad y los datos del participante son absolutamente confidenciales. Solo su número de participación le identificarán en los registros relacionados con el estudio para poder utilizar los datos, cumpliendo la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal.

En caso de emergencia o si necesitara asistencia, consejo u otra información, por favor contacte con:

Dra. Pérez Rangel

Tfno: 91 503 59 35

- He leído las hojas de información que se me han entregado: SÍ / NO
- He podido hacer preguntas sobre el estudio: SÍ / NO
- He recibido suficiente información sobre el estudio: SÍ / NO

He hablado con Dra. Pérez Rangel

- Comprendo que la participación de mi hijo/a es voluntaria: SÍ / NO
- Comprendo que se puede retirar del estudio cuando quiera y que tengo derecho a revocar el consentimiento de información de datos personales, sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en sus cuidados médicos: SÍ / NO

Y presto libremente mi conformidad para que mi hijo/a (nombre del participante)

.....

participe en el estudio “Estudio aleatorizado con grupo control de inmunoterapia oral rápida con huevo en niños con alergia persistente mediada por IgE: desensibilización clínica y modulación de la respuesta inmunológica” de la Sección de Alergología del Hospital Infantil Universitario Niño Jesús de Madrid.

➤ Datos del representante legal en caso de minoría de edad del paciente, con indicación del carácter con que interviene (padre, madre, tutor, etc...)

Fdo:

Fdo:

Nombre:.....

Médico que informa:

.....

Dra. Pérez Rangel

DNI:.....

Nº Col.:

Lugar y Fecha: Madrid, a de de 20

HOJA DE INFORMACIÓN Y CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LOS PACIENTES A PARTIR DE 12 AÑOS

TÍTULO DEL PROYECTO: “Estudio aleatorizado con grupo control de inmunoterapia oral rápida con huevo en niños con alergia persistente mediada por IgE: desensibilización clínica y modulación de la respuesta inmunológica”.

Introducción y Objetivos

Tú has sido diagnosticado/a de alergia a las proteínas de huevo. Este tipo de alergia es transitoria en la mayoría de los casos, alcanzando la tolerancia en los primeros años de vida. Sin embargo, en algunos casos como el tuyo, persiste y permanece durante años, con riesgo de reacción, que puede llegar a ser grave, tras la ingestión accidental de alimentos o bebidas que contengan proteínas de huevo. Esta situación obliga a revisar cuidadosamente la composición de los alimentos que tomas.

El único tratamiento para la alergia a alimentos hasta hace pocos años ha sido la dieta de exclusión. Sin embargo, en los últimos años se ha abordado y estudiado el tratamiento activo para esta enfermedad, ya que existe la posibilidad de inducir la tolerancia mediante una pauta de inmunoterapia oral, que consiste en administrar pequeñas cantidades de clara de huevo en polvo. La cantidad de huevo que recibe el paciente aumenta progresivamente hasta alcanzar una cantidad equivalente a una clara de huevo. Se han obtenido buenos resultados en diferentes estudios; en nuestra experiencia, el 93% de los pacientes sometidos a este tratamiento pueden llegar a comer un huevo completo.

El objetivo del presente estudio es poder inducir la tolerancia a huevo en pacientes alérgicos a proteínas de huevo. Además, se analizará si existen modificaciones en el sistema inmunológico que hacen posible que puedas tolerar huevo.

Debes leer cuidadosamente estas hojas de información y preguntar al médico cualquier duda que puedas tener. Tu participación en el estudio es totalmente voluntaria.

Realización del estudio

En el estudio participarán aproximadamente 30 niños y cada paciente permanecerá en el estudio durante unos 5 meses, pudiendo salir del mismo en cualquier momento sin sufrir por ello menoscabo alguno en la calidad de su asistencia.

Con el fin de comprobar la eficacia del tratamiento, un grupo de pacientes (activo) recibirá el tratamiento de inducción de tolerancia y otro grupo (control) simplemente continuará realizando la dieta de eliminación de huevo. La asignación a uno u otro grupo se realizará al azar (como si fuera a cara y cruz al lanzar una moneda al aire). Si te corresponde el grupo que va a continuar con la dieta de eliminación de huevo, transcurridos los 5 meses del estudio y si persiste la alergia a las proteínas de huevo, podrás iniciar el tratamiento de inmunoterapia con huevo según el procedimiento habitual de la Sección de Alergia del Hospital Infantil Universitario Niño Jesús.

Si te corresponde entrar en el grupo de tratamiento, el estudio se compone de una visita diaria

durante 1 semana estando sujeto a modificaciones según respuesta. En las visitas programadas para administrar el tratamiento te realizaremos una exploración clínica y tomarás las dosis correspondientes de clara de huevo en polvo indicadas en el protocolo hasta finalizar el mismo. Deberás permanecer bajo supervisión médica del alergólogo en nuestra Sección durante 2 horas. El objetivo es que llegues a tolerar la ingestión de un huevo completo. Finalizada esta parte del tratamiento, se te indicará que tomes un huevo completo cada 2-3 días y que apuntes en un diario si se ha producido alguna reacción. Si te corresponde el grupo que no va a recibir el tratamiento, continuarás con la dieta sin huevo durante los 5 meses que dure el estudio e igualmente se te indicará que registres en un diario si se ha producido alguna reacción por la ingestión accidental de huevo.

Si te corresponde entrar en el grupo de tratamiento, en la primera visita y en las visitas de revisión (a los 15 días, 1 mes y 3 meses) te realizaremos pruebas cutáneas a huevo y fracciones mediante técnica de prick test (las típicas “pruebas de la alergia”) y te haremos una extracción de sangre. Esto es lo que se hace habitualmente en las revisiones a los niños con alergia a proteínas de huevo para valorar su grado de alergia. Si te corresponde el grupo control, dichas pruebas cutáneas y la extracción de sangre se realizarán únicamente al inicio y al final del estudio.

Al inicio del estudio y en las revisiones mencionadas (según el grupo al que correspondas) te extraeremos muestras de sangre, el volumen de sangre por extracción será de 10 mL. El suero obtenido de la muestra de sangre será utilizado para realizar las habituales determinaciones de anticuerpos específicos frente a proteínas de huevo. Además, una parte de la sangre obtenida será utilizada para analizar los posibles cambios inmunológicos y el perfil genético que se produzcan durante el tratamiento, si te corresponde el grupo activo, o durante la dieta sin huevo, si te corresponde el grupo control. Se seguirá en todo momento la Ley de Investigación Biomédica respecto a las muestras humanas del 3 de Julio de 2007.

La prueba de provocación para comprobar la tolerancia al huevo se realizará mediante la técnica denominada “doble ciego”, que consiste en que ni tú ni el médico responsable vais a saber qué estás tomando, con el fin de evitar la influencia de la sensación de reacción por las experiencias previas. En el grupo activo se realizará al inicio del estudio, mientras que en el grupo control se realizará al inicio del estudio y también al final del seguimiento para comprobar que no has alcanzado la tolerancia de forma espontánea. Sin esta prueba no podrías iniciar la inmunoterapia con huevo.

Efectos no deseados (Riesgos del estudio)

Las pruebas cutáneas se realizan en el antebrazo. Son las pruebas que se realizan en la Consulta de Alergia y se hacen habitualmente para poder diagnosticarte de alergia a proteínas de huevo. La posibilidad de efectos adversos es excepcional (infección del punto de prick, reacción tardía inflamatoria) y aún menos la posibilidad de síntomas sistémicos al realizarla en caso de extrema sensibilización, como urticaria, clínica de dificultad respiratoria, shock, etc...

La extracción de sangre, de aproximadamente 10 mL, puede ocasionar una pequeña incomodidad en el brazo y/o hematoma.

La prueba de provocación oral y la pauta de inmunoterapia a dosis progresivas puede producir una reacción alérgica al llegar a una determinada cantidad de clara de huevo en polvo, que puede llegar a ser grave (urticaria, hinchazón de labios y párpados, congestión nasal y ocular, espasmo bronquial, vómitos, diarrea, dificultad respiratoria por hinchazón de las vías respiratorias, caída de la tensión arterial, shock, etc...) y que se trataría inmediatamente con la

medicación correspondiente y adecuada para tu edad y peso. La reacción es la misma que se produciría si por accidente tomaras una cantidad equivalente de huevo en el colegio o en una excursión fuera del domicilio, con la diferencia de que en el hospital contamos con los medios necesarios para tratarla y controlarla inmediatamente.

Otros riesgos o complicaciones que podrían aparecer, dada tu situación clínica y tus circunstancias personales, son

.....

Criterios de alerta en casa

Si en cualquier momento del estudio presentas síntomas de reacción alérgica (urticaria, hinchazón de labios y párpados, congestión nasal y ocular, espasmo bronquial, vómitos, diarrea, dificultad respiratoria por hinchazón de las vías respiratorias, etc...), además de darte la medicación que tu médico te habrá recomendado y de llevarte a un centro sanitario, tus padres pueden y deben telefonar en cualquier momento del día al médico responsable del estudio para regresar a la consulta antes de la fecha programada.

Retirada del estudio (derecho de revocación)

Tienes derecho a abandonar el estudio en cualquier momento sin tener que dar explicaciones. En cualquier momento su médico puede decidir finalizar el estudio o retirarte del mismo por motivos de seguridad. Los datos obtenidos de tu participación en el estudio no serán incluidos en el análisis final de los resultados.

Tratamientos alternativos

En cualquier momento puedes decidir libremente no participar en el estudio. Tu médico te informará de la dieta de eliminación de proteínas de huevo que debes seguir y te recomendará un tratamiento para aplicar en caso de ingestión accidental del alimento mientras acudes a un centro sanitario.

Seguirás las revisiones habituales en la Consulta de Alergia sin que ello suponga un menoscabo en tu atención con respecto a otros pacientes y sin que afecte a tu tratamiento actual o futuro por parte de tu médico.

Beneficios para su hijo/a

No se pueden garantizar beneficios directos por tu participación en el estudio, aunque de los resultados que se extraigan del mismo se pueden favorecer a futuros pacientes.

Aspectos éticos y legales del estudio

El diseño de este estudio ha sido evaluado y aprobado por un Comité Ético independiente y se realizará de acuerdo con las normativas legales nacionales.

Si decides participar en este estudio, deberás firmar este consentimiento en el que se establece que estás de acuerdo voluntariamente en participar y que has leído y entendido la información proporcionada.

Verificación de datos

Los representantes de las autoridades sanitarias podrán revisar los datos médicos importantes de tu historia clínica para confirmar la precisión de los datos recogidos durante el estudio.

La identidad y los datos de tu participación en el estudio son absolutamente confidenciales. Solo su número de participación te identificará en los registros relacionados con el estudio para poder utilizar los datos, cumpliendo la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal.

En caso de emergencia o si necesitara asistencia, consejo u otra información, por favor contacte con:

Dra. Pérez Rangel

Tfno: 91 503 59 35

- He leído las hojas de información que se me han entregado: SÍ / NO
- He podido hacer preguntas sobre el estudio: SÍ / NO
- He recibido suficiente información sobre el estudio: SÍ / NO

He hablado con Dra. Pérez Rangel

- Comprendo que la participación de mi hijo/a es voluntaria: SÍ / NO
- Comprendo que se puede retirar del estudio cuando quiera y que tengo derecho a revocar el consentimiento de información de datos personales, sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en sus cuidados médicos: SÍ / NO

Y presto libremente mi conformidad para que mi hijo/a (nombre del participante)

.....

participe en el estudio “Estudio aleatorizado con grupo control de inmunoterapia oral rápida con huevo en niños con alergia persistente mediada por IgE: desensibilización clínica y modulación de la respuesta inmunológica” de la Sección de Alergología del Hospital Infantil Universitario Niño Jesús de Madrid.

Fdo:

Fdo:

Nombre:.....

Médico que informa:

.....

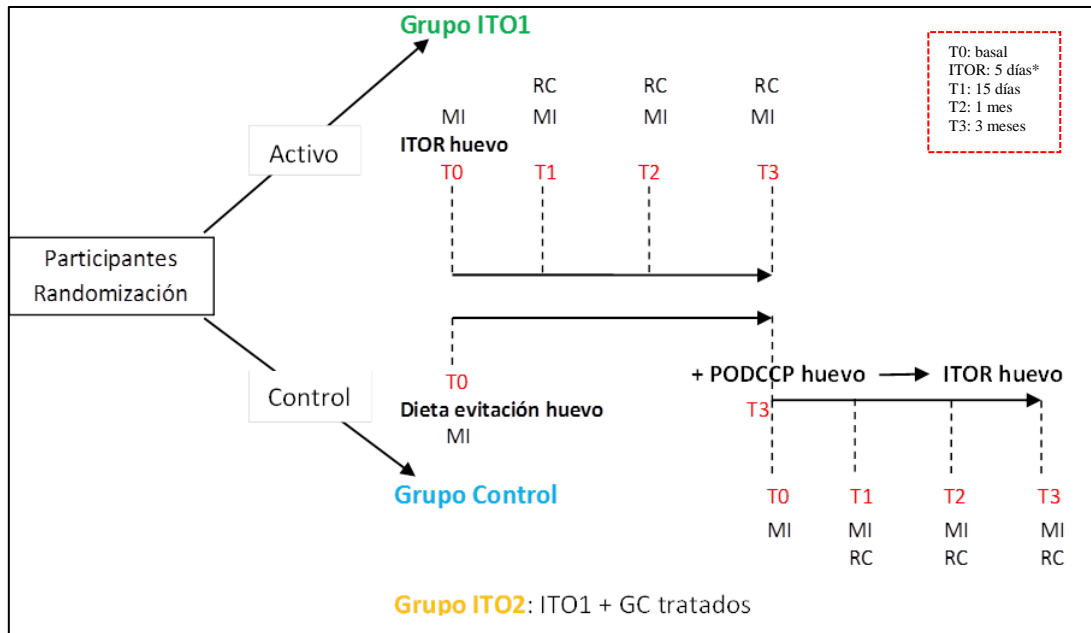
Dra. Pérez Rangel

DNI:.....

Nº Col.:

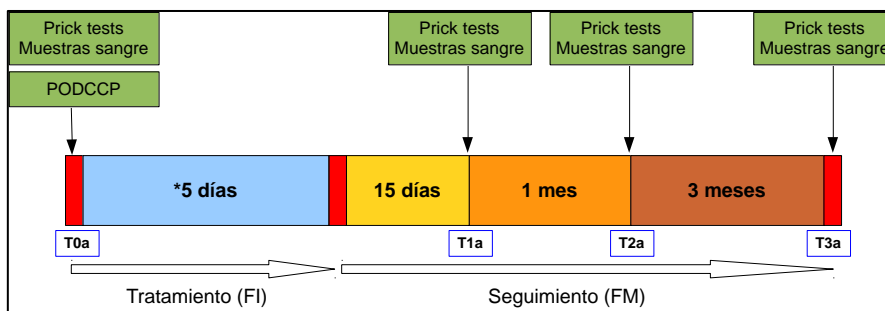
Lugar y Fecha: Madrid, a de de 20

10.2 Anexo II: Esquemas del estudio de investigación



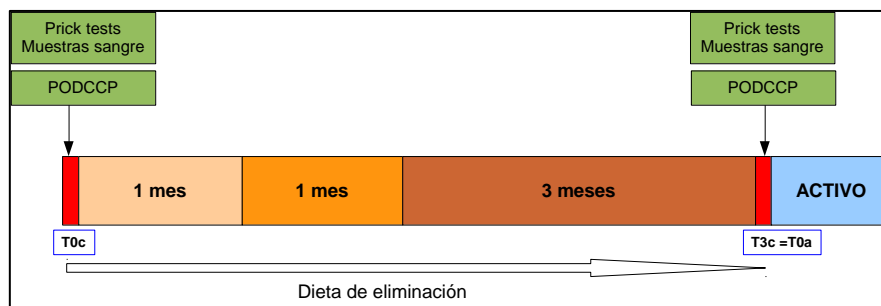
ITOR: inmunoterapia oral rápida; MI: marcadores inmunológicos; PODCCP: provocación oral doble ciego controlada con placebo; RC: registro clínico. *Duración variable de la FI de la ITOR basada en protocolo de 5 días.

- **Grupo activo:**



a: activo; T0a: en el momento de inclusión en el estudio e inicio de la ITOR con huevo; T1a: a los 15 días del fin de la FI de tolerancia oral de la ITOR; T2a: al mes del T1 en mantenimiento con huevo en el domicilio; T3a: a los 3 meses del T2 en mantenimiento con huevo en el domicilio; FI: fase de inducción de tolerancia oral a huevo; FM: fase de mantenimiento con toma de huevo en el domicilio; PODCCP: provocación oral doble ciego controlada con placebo. *Duración variable de la FI de la ITOR basada en protocolo de 5 días.

- **Grupo control:**



c: control; T0c: en el momento de inclusión en el estudio; T3c: a los 5 meses de realizar dieta de exclusión de huevo, corresponde al T0a cuando entra a formar parte del grupo activo para inicio de la ITOR con huevo; PODCCP: provocación oral doble ciego controlada con placebo.

10.3 Anexo III: PODCCP con CHD

| Nº dosis | Dosis de CHD (mg) | Volumen (mL) | Proteína clara (mg) |
|----------|-------------------|--------------|---------------------|
| 1 | 4 | 0.05 | 3.12 |
| 2 | 20 | 0.3 | 15.6 |
| 3 | 50 | 0.7 | 39 |
| 4 | 100 | 1.5 | 78 |
| 5 | 225 | 3 | 175.5 |
| 6 | 450 | 6.2 | 351 |
| 7 | 900 | 12.5 | 702 |
| 8 | 1800 | 25.75 | 1404 |

10.4 Anexo IV: Protocolo de fase de inducción de la ITOR con CHD

| PODCCP positiva con CHD (mg) | Día ITOR | Número dosis | Dosis inicio de ITOR con CHD (mg) | Proteína clara (mg) |
|------------------------------|----------|--------------|-----------------------------------|---------------------|
| 4 | 1 | 1 | 0.04 | 0.03 |
| | | 2 | 0.08 | 0.06 |
| | | 3 | 0.16 | 0.125 |
| | | 4 | 0.32 | 0.25 |
| | | 5 | 0.64 | 0.50 |
| 20 | 2 | 6 | 0.4 | 0.31 |
| | | 7 | 0.8 | 0.62 |
| | | 8 | 1.6 | 1.25 |
| | | 9 | 4 | 3.12 |
| | | 10 | 20 | 15.6 |
| 50 100 225 450 | 3 | 11 | 20 | 15.6 |
| | | 12 | 50 | 39 |
| | | 13 | 100 | 78 |
| | | 14 | 225 | 175.5 |
| | | 15 | 450 | 351 |
| 900 1800 | 4 | 16 | 450 | 351 |
| | | 17 | 900 | 702 |
| | | 18 | 1800 | 1404 |
| | 5 | 19 | 1800 | 1404 |
| | | 20 | 3600 | 2808 |

10.5 Anexo V: Información para padres y pacientes

Protocolo: “Estudio aleatorizado con grupo control de inmunoterapia oral rápida con huevo en niños con alergia persistente mediada por IgE: desensibilización clínica y modulación de la respuesta inmunológica”.

Sección de Alergología, Hospital Infantil Universitario Niño Jesús (Madrid).

PACIENTE:

NHC:

GRUPO: (CÓDIGO)

MÉDICO:

INFORMACIÓN PARA PADRES Y/O PACIENTES DURANTE LA INMUNOTERAPIA CON HUEVO:

- 1.- Antes de que regrese a su domicilio, compruebe que le hemos dado la dosis de huevo en polvo necesaria para continuar con la dieta de mantenimiento durante la 1ª semana.
- 2.- Se recomienda realizar la toma domiciliaria de huevo (sobre de 3.6 g) diluido en 50 mL de zumo de naranja entre las 18:00 y 20:00 horas; si no se producen reacciones adversas, a partir de la 1ª semana tomará al menos un huevo entero poco cocinado cada 48-72 horas y otros alimentos que lo contengan a diario.
- 3.- Evitará realizar ejercicio físico en las 2 horas siguientes a la administración de la dosis de huevo, así como tomar antiinflamatorios no esteroideos en las 3 horas previas o 2 horas posteriores a dicha ingestión del alimento (puede utilizar Paracetamol como alternativa).
- 4.- Tomará a diario 1 comprimido de Cetirizina al mediodía (o al menos 1 hora antes de tomar el alimento) y a mitad de la 1ª semana de mantenimiento con huevo lo suspenderá si éste es bien tolerado.
- 5.- Deberá anotar en el diario la dosis de huevo que toma cada día y marcar con una “X” los síntomas presentados y, si precisa, el tratamiento administrado para controlar la reacción adversa.
- 6.- Si el paciente sufre una reacción adversa tras la toma diaria de huevo, deberá administrarse medicación según los síntomas que presente y seguir unas indicaciones:
 - Vómitos y/o diarrea repetitivos:
 1. Poner en conocimiento de su médico alergólogo responsable y al día siguiente repetir la dosis en la consulta.

2. Si se repiten en la consulta, volver a la dosis anterior y, si es bien tolerada, al día siguiente intentar seguir la pauta hasta alcanzar de nuevo la dosis de mantenimiento.

- SAO y/o dolor abdominal aislado:

1. Esperar a su resolución espontánea y repetir la misma dosis al día siguiente.

2. Si dolor abdominal intenso y persistente, administrar **Cetirizina** comprimido 10 mg y notificar a su médico alergólogo responsable.

- Dermatitis o habones en cara:

1. Observar; si precisa, administrar **Cetirizina** comprimido 10 mg.

2. Si la reacción es repetitiva, informar a su médico alergólogo responsable.

- Dermatitis o habones en cuerpo y/o hinchazón en cara y/o congestión nasal con mocos:

1. Administrar **Cetirizina** comprimido 10 mg y **Prednisona** comprimido _____ mg.

2. Poner en conocimiento de su médico alergólogo responsable y al día siguiente administrar la dosis anterior en la consulta y, si es bien tolerada, intentar seguir la pauta hasta alcanzar de nuevo la dosis de mantenimiento.

- Cambio en la voz y/u opresión en garganta y/o dificultad manifiesta para respirar y/o disminución del nivel de conciencia:

1. Administrar (POR ESTE ORDEN) **Adrenalina JEXT®** _____ vía intramuscular en cara lateral del muslo según indicaciones realizadas en consulta, **Cetirizina** comprimido 10 mg y **Prednisona** comprimido _____ mg. Si fuera necesario, administrar **Salbutamol** 1-2 puffs.

2. Acudir al Servicio de Urgencias más próximo para valoración médica y ponerse en contacto con su médico alergólogo responsable.

7.- Si presenta alguna enfermedad de tipo infeccioso (gripe, amigdalitis, otitis, bronquitis, gastroenteritis, etc...), deberá recogerlo en el diario.

8.- En caso de duda, comuníquese con su médico:

Dra. Pérez Rangel

Telf. Sección Alergia Hospital Infantil Universitario Niño Jesús (de lunes a viernes por la mañana): 91-5035935



10.6 Anexo VI: Calendario de seguimiento

Protocolo: "Estudio aleatorizado con grupo control de inmunoterapia oral rápida con huevo en niños con alergia persistente mediada por IgE: desensibilización clínica y modulación de la respuesta inmunológica".
Sección de Alergología, Hospital Infantil Universitario Niño Jesús (Madrid).

PACIENTE:

NHC:

GRUPO: ACTIVO (CÓDIGO)

INCIDENCIAS CLÍNICAS DURANTE MANTENIMIENTO CON HUEVO:

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------|----------------------------------|------|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| AÑO: 201... | | MES: | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 15 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 14 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 13 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 12 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 11 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 10 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 9 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 8 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 7 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 6 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 4 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Día | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Dosis huevo (mg) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Dermatitis en cara | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Habones en cuerpo | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Hinchazón en cara | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Cambio voz, opresión garganta | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Picor en boca | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Náuseas, Vómitos | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Diarrea | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Dolor abdominal | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Rinitis | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Asma bronquial | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Decaimiento, mareo | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Antihistamínico | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Corticoide | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Inhalador | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Adrenalina | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Infecciones | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |



| AÑO: 201... | | MES: | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------|----|------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| Día | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 | 31 |
| Dosis huevo (mg) | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Dermatitis en cara | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Habones en cuerpo | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Hinchazón en cara | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Cambio voz, opresión garganta | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Picor en boca | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Náuseas, Vómitos | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Diarrea | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Dolor abdominal | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Rinitis | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Asma bronquial | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Decaimiento, mareo | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Antihistamínico | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Corticoide | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Inhalador | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Adrenalina | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Infecciones | | | | | | | | | | | | | | | | |

Protocolo: "Estudio aleatorizado con grupo control de inmunoterapia oral rápida con huevo en niños con alergia persistente mediada por IgE: desensibilización clínica y modulación de la respuesta inmunológica".

Sección de Alergología, Hospital Infantil Universitario Niño Jesús (Madrid).

PACIENTE:

NHC:

GRUPO: CONTROL (CÓDIGO)

INCIDENCIAS CLÍNICAS DURANTE DIETA EXENTA DE HUEVO:

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------|-------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|
| AÑO: 201... | MES: | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Día | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
| | Dermatitis en cara | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Habones en cuerpo | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Hinchazón en cara | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Cambio voz, opresión garganta | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Picor en boca | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Náuseas, Vómitos | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Diarrea | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Dolor abdominal | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Rinitis | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Asma bronquial | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Decaimiento, mareo | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Antihistamínico | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Corticoide | | | | | | | | | | | | | | | |
| Inhalador | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Adrenalina | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Infecciones | | | | | | | | | | | | | | | | |



| | | AÑO: 201 ... | | | | | | | | | | | | | | MES: |
|-------------------------------|----|--------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|------|
| Día | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 | 31 |
| Dermatitis en cara | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Habones en cuerpo | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Hinchazón en cara | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Cambio voz, opresión garganta | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Picor en boca | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Náuseas, Vómitos | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Diarrea | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Dolor abdominal | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Rinitis | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Asma bronquial | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Decaimiento, mareo | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Antihistamínico | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Corticoide | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Inhalador | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Adrenalina | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Infecciones | | | | | | | | | | | | | | | | |

10.7 *Anexo VII: Artículos científicos publicados*

Original Paper



Int Arch Allergy Immunol 2014;165:83–90
DOI: 10.1159/000366101

Received: January 10, 2014
Accepted after revision: July 23, 2014
Published online: October 29, 2014

Anaphylaxis Induced by a Drug Containing Lysozyme and Papain: Influence of Papain on the IgE Response

Sara Benedé^a Inmaculada Pérez-Rangel^b Daniel Lozano-Ojalvo^a Elena Molina^a
María Dolores Ibañez^b Rosina López-Fandiño^a Iván López-Expósito^a

^aInstituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL), CSIC-UAM, and ^bAllergy Department, Niño Jesús University Hospital, Madrid, Spain

Key Words

Anaphylaxis · Egg allergy · Lysozyme · Oral immunotherapy · Papain

Abstract

Background: This paper reports the case of an egg-allergic pediatric patient who, once desensitized to egg following a successful rush oral immunotherapy protocol, could also tolerate Lizipaina[®], a drug containing lysozyme (LYS) and papain, which had previously caused him a severe allergic reaction. Because the LYS amount that elicited the anaphylactic reaction (5 mg) was much lower than that tolerated during a double-blind placebo-controlled food challenge (corresponding to approximately 60 mg of LYS), the possibility that the presence of papain could increase the allergenic potential of LYS was investigated. **Methods:** Lizipaina, LYS and LYS hydrolyzed with papain were analyzed by SDS-PAGE under reducing and nonreducing conditions, and Western blotting of sera from egg-allergic patients was performed in order to detect IgE-binding fragments. Finally, sequence identification of the IgE-reactive bands was carried out by MALDI-TOF/TOF. **Results:** The SDS-PAGE pattern of LYS treated with papain under nonreducing conditions showed the presence of intact LYS that partially disappeared follow-

ing reduction with β -mercaptoethanol, releasing IgE-reactive fragments as determined by Western blotting. MALDI-TOF/TOF revealed that papain degraded LYS, giving rise to three IgE-binding fragments: LYS (22–129), LYS (34–96) and LYS (62–128) that likely remained linked through the disulfide bonds present in the LYS molecule. **Conclusion:** The combined administration of LYS with proteolytic enzymes such as papain may have developed a severe allergic reaction in the patient studied, underlining the importance of considering all the components and their interactions when drugs are to be consumed by allergic persons.

© 2014 S. Karger AG, Basel

Introduction

Lysozyme (LYS), which is present in milk from different species and in many biological fluids and tissues, is broadly used by virtue of its potent bactericidal effect, which is partially based on its lytic activity on the cell wall of Gram-positive microorganisms [1]. Hen egg, which contains 1–3 g/l of LYS, is probably one of the main

S.B. and I.P.-R. contributed equally to this work.

KARGER

© 2014 S. Karger AG, Basel
1018–2438/14/1652–0083\$39.50/0

E-Mail karger@karger.com
www.karger.com/iaa

Correspondence to: Dr. Iván López-Expósito
Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL) CSIC-UAM
C/Nicolás Cabrera 9
ES–28049 Madrid (Spain)
E-Mail ivan.lopez@csic.es

Downloaded by:
231.93.103 - 1/25/2016 11:46:46 AM

sources of LYS used to maintain the quality of food and pharmaceutical products. However, hen eggs are also the second most frequent cause of food allergy in infants, with LYS being one of its main allergens (Gal d 4) responsible for a sensitization frequency of more than 35% in patients with clinically observed egg hypersensitivity [2, 3].

LYS of egg origin is being increasingly used as an antibacterial additive to prevent spoilage of cheese, wine or other foodstuff [4, 5], as well as in medicinal products for respiratory tract infections and congestions, which do not usually declare its source [6], thus posing a risk for consumers allergic to hen egg. Hypersensitivity reactions to drugs containing LYS have been described that, in some cases, happen to occur in children that had never intentionally eaten egg and either ignore they are sensitized to egg proteins or react at the first ingestion [7, 8].

This work reports a severe allergic reaction to Lizipaina[®], a drug used for the symptomatic relief of mild infections of the throat and mouth which contains 5 mg of LYS, in a patient able to tolerate a much greater amount of LYS as part of egg white. In addition to LYS, Lizipaina contains papain (2 mg) and bacitracin (3 mg). Papain is a cysteine proteinase allergen, such as bromelain and Der p 1, whose intrinsic proteolytic activity has been associated to its capacity to induce Th2-mediated allergic responses [9]. This study investigates a possible role for papain in increasing the allergenicity of LYS through the release of IgE-binding degradation products. Besides, successful LYS desensitization by egg oral immunotherapy (EOIT) is described.

Materials and Methods

Ethics Statement

All human samples and procedures were obtained/performed with written consent from the next of kin, caretakers or guardians on behalf of the minors/children involved in the study. The Bioethics Committees from the CSIC (Consejo Superior de Investigaciones Científicas) and the Hospital Infantil Universitario Niño Jesús approved all experiments.

Patient

A 15-year-old boy, diagnosed with persistent allergy to egg, fish and tree nuts, atopic dermatitis and allergic asthma developed pharyngeal itching, dysphonia, dysphagia and bronchospasm 15 min after taking a tablet of Lizipaina (5 mg LYS, 3 mg bacitracin and 2 mg papain) due to a mild respiratory viral infection. These symptoms were controlled with intramuscular epinephrine, intravenous antihistamines and corticosteroids at the emergency unit. The boy had never eaten egg since his first allergic reaction at the age of 1 year. Because of his persistent egg allergy and the risk of

severe reactions due to accidental ingestion of egg proteins, the patient was subjected to EOIT.

Egg Oral Immunotherapy

In order to determine the starting dose of EOIT, the patient underwent a double-blind placebo-controlled food challenge (DBPCFC) with dehydrated egg white (OVO-DES NM, Madrid, Spain) [10]. Administration of 8 doses (4, 20, 50, 110, 225, 450, 900 and 1,800 mg) in 50 ml of soy milk shake with chocolate was scheduled every 20 min (corresponding to an accumulated dose of, approximately, 3,600 mg, equivalent to 43 ml of a whole egg white) until symptom development. Milk shake without egg was used as placebo.

The patient underwent a rush EOIT protocol with OVO-DES at the Allergy Day Unit under the direct supervision of medical and nursing staff. A build-up schedule was performed daily, starting with the last tolerated dose in the DBPCFC. The corresponding doses were administered in sweetened orange juice 1 h apart (900 and 1,800 mg on the 1st day; 1,800 and 3,600 mg on the 2nd day), with a final observation after 2 h. In the maintenance phase, the patient took 3,600 mg daily at home during the 1st week and, thereafter, 1 undercooked egg was introduced in the patient's diet every 48 h.

An open oral challenge with a tablet of Lizipaina was carried out 45 days following the build-up phase of EOIT. Increasing amounts of Lizipaina were administered every 30 min in 3 doses ($\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$ and $\frac{1}{2}$ of a tablet) to achieve the therapeutic dose.

Skin Tests

Skin prick tests (SPT) with commercial extracts of egg, egg white, ovalbumin (OVA) and ovomucoid (OVM), histamine phosphate and saline solution (Leti Laboratories, Madrid, Spain) were conducted according to standard procedures [11] before EOIT (T_0), and 15 (T_1) and 45 days (T_2) after the build-up phase. Prick tests were also performed with Lizipaina in saline as vehicle (1 tablet dissolved in 1 ml). Three nonallergic controls were tested with the same preparation of Lizipaina to exclude nonspecific reactions.

Serum Antibodies

Serum total IgE, serum specific IgE to egg, egg white, OVA, OVM and LYS, and serum specific IgG4 to egg white, OVA and OVM were measured by the ImmunoCAP System (Phadia, Uppsala, Sweden) at T_0 , T_1 and T_2 .

SDS-PAGE and Western Blotting

For SDS-PAGE and Western blotting, LYS (L2879, chloride form from chicken egg white grade VI, ~60,000 U/mg protein, EC 3.2.1.17; Sigma-Aldrich, St. Louis, Mo., USA) and Lizipaina were used at an equivalent LYS concentration. In addition, LYS was hydrolyzed with papain (76218, papain from *Carica papaya*, 12 U/mg, EC 232.627.2; Sigma) at an enzyme:substrate ratio of 2:5 (w:w), as in Lizipaina, for 3 h at 54°C, and the reaction was stopped by heating at 100°C for 10 min.

Samples were diluted in 62.5 mM Tris-HCl buffer containing 10% (v/v) glycerol and 2% (w/v) SDS or tricine sample buffer (Bio-Rad, Richmond, Calif., USA), without or with 5% (v/v) β -mercaptoethanol (β -ME; nonreducing and reducing conditions, respectively) and heated at 95°C for 4 min. Samples were analyzed on precast Criterion XT 12% Bis-Tris or 16.5% Tris-tricine gels,

and electrophoretic separations were carried out at 150 or 100 V, using XT-MES or Tris-tricine as running buffers (Bio-Rad), respectively, in the Criterion cell (Bio-Rad). Gels were stained with Bio-Safe Coomassie G-250 (Bio-Rad).

After SDS-PAGE separation, the gels were soaked in transfer buffer (48 mM Tris, 39 mM glycine, 20% methanol, pH 9.2) for 20 min and subjected to semidry transfer in a Trans-Blot SD (Bio-Rad) for 20 min at 18 V. Then, 0.22- μ m nitrocellulose membranes were developed according to Martos et al. [12]. Sera from the above-described patient were used at different time points before and after EOIT, as well as individual serum samples from 5 children with proven allergy to egg proteins, diagnosed on the basis of clinical allergic symptoms of an acute reaction after egg ingestion, together with evidence of high LYS-specific IgE antibodies (from 0.59 to 266 kU/l) and a pool of 6 sera (on average 0.38 kU/l LYS-specific IgE).

MALDI-TOF/TOF Analyses of the Immunoreactive Bands

The identification of the sequence of the IgE-binding LYS fragments of the Lizipaina sample was carried out by mass fingerprinting and MALDI-TOF/TOF analysis of its tryptic digests, in combination with intact molecular weight determination. Analyses were performed on an Autoflex Speed™ (Bruker Daltonic, Bremen, Germany) as described [13].

Results

Egg Oral Immunotherapy

During the DBPCFC, the patient developed immediate oral allergy symptoms and long-lasting abdominal pain, pyrosis and diarrhea 1 h after taking the 1,800-mg dose (which corresponded to an accumulated dose of approximately 3,600 mg) with spontaneous clinical resolution.

EOIT was carried out without clinical incidence in just 2 days (900 + 1,800 mg on the 1st day and 1,800 + 3,600 mg on the 2nd day). The patient referred only 3 episodes of limited adverse reactions during the first 45 days of maintenance: the oral allergy syndrome after administration of a single 3,600-mg dose and after eating an omelet, and ocular pruritus after eating meringue. The controlled open oral challenge with Lizipaina was conducted 45 days following the build-up phase of EOIT showing good tolerance.

Skin Tests and Serum Antibodies

The results of the SPT, serum total and specific IgE, and serum specific IgG4 to different egg protein fractions are shown in table 1. All SPT decreased markedly at T₁, but the SPT with Lizipaina in saline increased and remained high at the end of the study.

Serum IgE specific to whole egg, egg white and, particularly, to LYS continuously increased during the time

Table 1. Results of the in vivo and in vitro tests performed on the egg-allergic patient submitted to EOIT at different evaluation times

| | T ₀ | T ₁ | T ₂ |
|---|----------------|----------------|----------------|
| SPT (d + D/2), mm ^a | | | |
| Egg | 5 | 4 | 4 |
| Egg white | 8 | 3 | 2 |
| OVA | 5 | 2 | 4 |
| OVM | 10 | 3 | 4 |
| Prick test with Lizipaina in saline, mm | 6 | 8 | 8 |
| Serum total IgE, IU/ml | 661 | 792 | 609 |
| Serum-specific IgE, kU/ml | | | |
| Egg | 5.95 | 5.25 | 6.88 |
| Egg white | 4.72 | 5.37 | 6.65 |
| OVA | 0.76 | 0.45 | 0.57 |
| OVM | 0.92 | 1.28 | 1.33 |
| LYS | 4.87 | 8.59 | 11.3 |
| Serum-specific IgG4, mg/ml | | | |
| Egg white | 2.37 | 16.4 | 23.6 |
| OVA | 1.79 | 16.4 | 25 |
| OVM | 0.66 | 4.46 | 6.49 |

^a Positive if wheal diameter \geq 3 mm.

period considered. Serum-specific IgG4 also increased, with the highest levels being detected to OVA and egg white at T₂.

Reactivity of IgE from Egg-Allergic Patients towards LYS and Lizipaina

Western blotting of LYS, Lizipaina and egg white was conducted following SDS-PAGE under reducing conditions with sera from the allergic patient at T₀, T₁ and T₂ (fig. 1). Before EOIT, the patient's serum was reactive towards the main egg white proteins (fig. 1b, lane 3). LYS, with a molecular mass of 14.3 kDa, was strongly recognized by the serum, both as pure protein (fig. 1b, lane 1) and as part of the egg white (fig. 1b, lane 3). In the Lizipaina sample, there were IgE-reactive bands corresponding to papain (approximately 23 kDa), LYS and lower molecular mass peptides (fig. 1b, lane 2). Bacitracin, another component of Lizipaina, a 1.4-kDa antibiotic peptide, is too small to be resolved and retained in the polyacrylamide gel. The reactivity of IgE from the patient's sera towards the main egg proteins, including LYS, was maintained along immunotherapy (fig. 1c, d).

The possibility that the lower molecular mass IgE-binding bands were released from LYS via papain was tested in an experiment where LYS was incubated with

Fig. 1. SDS-PAGE (a) and Western blotting (b-d) with serum from a patient submitted to rush EOIT at T₀-T₂ of the build-up phase (table 1) of 0.25 mg/ml LYS (lane 1); Lizipaina (0.25 mg LYS/ml; lane 2), and raw egg white (0.34 mg LYS/ml; lane 3), all dissolved in sample buffer with reducing agent. Electrophoresis was conducted using Bis-Tris 12% acrylamide gels. M = Molecular mass marker (Precision Plus Protein standards; Bio-Rad) ranging from 10 to 250 kDa.

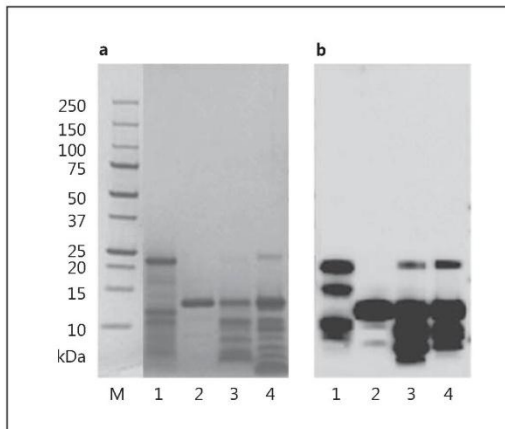
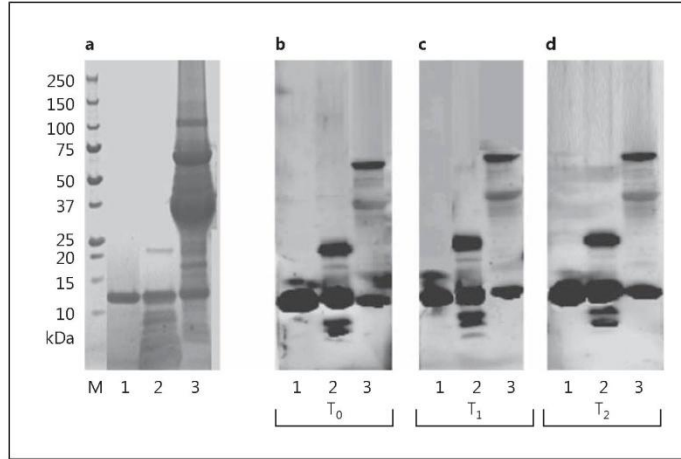


Fig. 2. SDS-PAGE (a) and Western blotting (b) with serum from the patient submitted to rush EOIT at T₂ of the build-up phase (table 1) of papain (0.5 mg/ml; lane 1); LYS (0.42 mg/ml; lane 2); LYS hydrolyzed with papain at 54°C for 3 h (0.42 and 0.17 mg/ml, respectively; lane 3), and Lizipaina (0.5 mg LYS/ml; lane 4), all dissolved in sample buffer with reducing agent. Electrophoresis was conducted using Bis-Tris 12% acrylamide gels. M = Molecular mass marker (Precision Plus Protein standards; Bio-Rad) ranging from 10 to 250 kDa.

papain for 3 h at 54°C. Under reducing conditions, SDS-PAGE showed that papain hydrolyzed LYS, which resulted in lower molecular mass fragments (fig. 2a, lane 3), which were to a great extent coincident with the bands present in the Lizipaina sample (fig. 2a, lane 4). According to the Western blot with serum at T₂, depicted in figure 2b, these bands strongly bound IgE (fig. 2b, lanes 3, 4). On the other hand, papain gave, in addition to the 23-kDa band, two other IgE-binding bands of ~15 and ~10 kDa (fig. 2b, lane 1).

Sera from 5 egg-allergic patients were analyzed for IgE binding to LYS, papain and LYS treated with papain, and electroblotted following SDS-PAGE with and without β-ME (fig. 3). Comparison between the SDS-PAGE patterns under reducing and nonreducing conditions showed that the degradation products produced by papain hydrolysis on LYS were only visible after reduction of the disulfide bonds of the protein (fig. 3a). All the allergic donors exhibited IgE reactivity to LYS, but varied in their reactivity to the bands released by the papain action under reducing conditions (fig. 3b, f), which did not seem to depend on the levels of total serum or LYS-specific IgE, except for the patient with the highest titer (266 kU/ml), who exhibited a very strong reaction (fig. 3f). Unexpectedly, sera from nonallergic patients also showed a weak binding to LYS bands (fig. 3g). This binding seemed to be unspecific as LYS-specific IgE was not detected by both ImmunoCAP and competitive ELISA assays with nonallergic sera (data not shown). All the sera

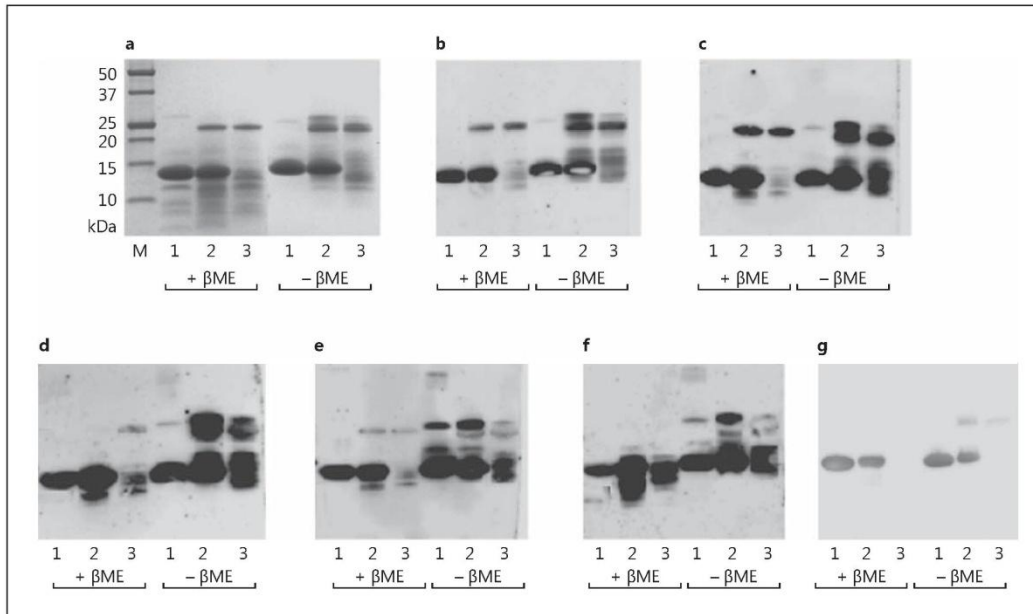


Fig. 3. SDS-PAGE (a) and Western blotting (b-f) with sera from 5 egg-allergic patients with 1.13 (b), 35.7 (c), 0.59 (d), 36.6 (e) and 266 kU/l of LYS-specific IgE (f) and from 1 nonallergic donor (g) of LYS (0.6 mg/ml; lane 1); LYS hydrolyzed with papain at 54°C for 3 h (0.6 and 0.25 mg/ml, respectively; lane 2), and papain (0.25

mg/ml; lane 3), all dissolved in sample buffer with (+βME) and without (-βME) reducing agent. Electrophoresis was conducted using Bis-Tris 12% acrylamide gels. M = Molecular mass marker (Precision Plus Protein standards; Bio-Rad) ranging from 10 to 250 kDa.

also recognized nonreduced and reduced papain bands, albeit with different intensity.

SDS-PAGE analysis of Lizipaina was also performed under nonreducing and reducing conditions using a polyacrylamide gel specific to resolve low molecular mass bands, followed by Western blot (fig. 4). This confirmed that in the nonreduced sample of Lizipaina, only a band of intact LYS was present, but when the sample was reduced with β-ME before SDS-PAGE, the band of intact LYS decreased and several degradation products were released (fig. 4a), including two IgE-binding fragments of a molecular mass >6,500 Da (fig. 4b). To identify the LYS fragments that contributed to IgE binding, both immunoreactive bands were subjected to in-gel tryptic digestion as well as intact molecular weight determination by MALDI-TOF/TOF (table 2). The higher molecular mass band, with an estimated mass of 11,869.889, corresponded to LYS (22-129) (molecular mass 11,887.641). The

lower molecular mass band contained two different products (with estimated masses of 7,220 and 7,394) that corresponded to LYS (34-96) (molecular mass 6,892) and LYS (62-128) (molecular mass 7,380), respectively. Cleavage at Arg₂₁, Lys₃₃, Arg₆₈, Arg₆₁, Lys₉₆ and Arg₁₂₈ is consistent with papain specificity, which prefers to cleave at the C-terminal side of Arg or Lys, N-linked to a hydrophobic amino acid residue.

Discussion

We report a case of a boy suffering from egg allergy who, once desensitized to egg following a rush EOT, could also tolerate a LYS-containing drug which had previously caused him a severe anaphylactic reaction, which indicates the effectiveness of the rapid oral desensitization protocol used. Successful immunotherapy is associ-

Table 2. LYS fragments identified by MALDI-TOF/TOF after in-gel tryptic digestion of the IgE-binding fragments of Lizipaina following SDS-PAGE under reducing conditions (marked as bands 1 and 2 in fig. 4)

| Identified fragment | Tryptic peptide (ion mass) | Protein residues | Sequence |
|---------------------|----------------------------|------------------|--|
| <i>BAND 1</i> | | | |
| 22–129 | 1,324.525 | 22–33 | GYSLGNWVCAAK 9: C |
| | 1,427.631 | 34–45 | FESNFNTQATNR |
| | 1,752.819 | 46–61 | NTDGSTDYGILQINSR |
| | 992.361 | 62–68 | WWCNDGR 3: C |
| | 2,506.992 | 74–96 | NLCNIPCSALLSSDITASVNC AK 3: C; 7: C; 21: C |
| | 1,816.992 | 97–112 | KIVSDGNGMNAWVAVR 9: oxidation |
| | 1,691.775 | 98–112 | IVSDGNGMNAWVAVR 8: oxidation |
| | 1,675.783 | 98–112 | IVSDGNGMNAWVAVR |
| | 901.499 | 106–112 | NAWVAVR |
| | 1,044.513 | 117–125 | GTDVQAWIR |
| <i>BAND 2</i> | | | |
| 34–96 | 1,427.734 | 34–45 | FESNFNTQATNR |
| | 1,752.961 | 46–61 | NTDGSTDYGILQINSR |
| | 992.445 | 62–68 | WWCNDGR 3: C |
| | 2,504.835 | 74–96 | NLCNIPCSALLSSDITASVNC AK 3: C; 7: C; 21: C |
| 62–128 | 992.445 | 62–68 | WWCNDGR 3: C |
| | 2,504.835 | 74–96 | NLCNIPCSALLSSDITASVNC AK 3: C; 7: C; 21: C |
| | 1,674.904 | 98–112 | IVSDGNGMNAWVAVR |
| | 1,044.61 | 117–125 | GTDVQAWIR |

C = Carbamidomethyl.

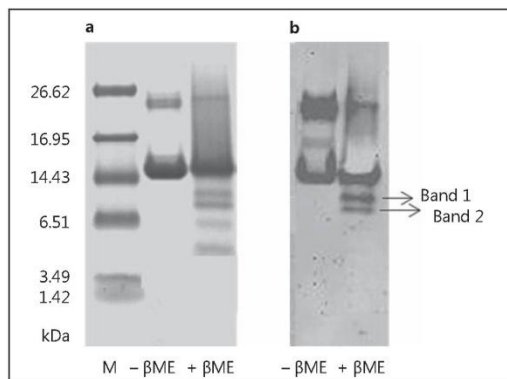


Fig. 4. SDS-PAGE (a) and Western blotting (b) with a pool of sera from 6 allergic patients with average LYS-specific IgE levels of 0.38 kU/l of Lizipaina (1.25 mg LYS/ml) dissolved in sample buffer without (–βME) and with (+βME) reducing agent. Electrophoresis was conducted using Tris-tricine 16.5% acrylamide gels. M = Molecular mass marker (Precision Plus Protein Kaleidoscope standards; Bio-Rad) ranging from 1.42 to 26.62 kDa. Bands marked 1 and 2 were manually excised from the gel for tryptic digestion and MALDI-TOF/TOF analyses.

ated with increases in specific IgG4, as was the case in the present study (table 1), although this is not always accompanied by decreases in total or specific IgE levels [14]. Moreover, a slow rate of change in SPT and total IgE, which only decreased significantly after 6 months of tolerance, was reported after a rush protocol (5 days) of desensitization to egg [15]. In our study, even an increase in specific IgE to whole egg, egg white and LYS was detected. Similarly, it was reported that peanut-specific IgE increased during the 1st year of peanut oral immunotherapy approximately 3-fold after 3 months of treatment and decreased by 12–18 months [16].

Of note, 5 mg of LYS contained in a Lizipaina tablet caused this patient a severe allergic reaction, while during the baseline DBPCFC, at least 30 mg of LYS contained in a single dose of 900 mg of dehydrated egg white (corresponding to an accumulated dose of approximately 1,800 mg and to 60 mg of LYS) were well tolerated. It should be mentioned that the results of skin tests and oral challenges performed to 40 egg-allergic patients demonstrated that OVO-DES maintains the same allergenicity as raw egg white, with no significant differences in the doses that led to symptoms following the positive challenges and in

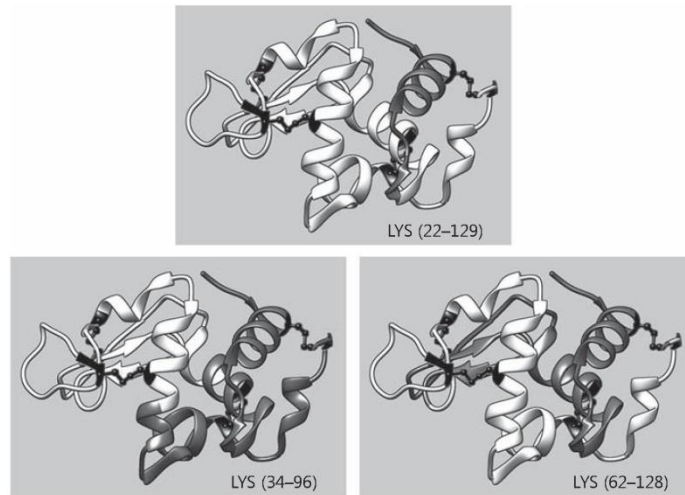


Fig. 5. Fragments released by papain following reduction with β -ME (fig. 4; table 2) are depicted in white on the 3D structure of LYS obtained from the RCSB Protein Data Bank with the UCSF Chimera package. The disulfide bonds are marked in black.

the symptoms observed [10]. This raised the possibility that the presence of papain could increase the allergenic potential of LYS.

Inhaled papain is not only a potent allergen found in occupational settings [17], papain (if enzymatically active, as is the case in other cysteine proteinases) is also able to induce Th2 responses and to exert an adjuvant effect on the sensitizing potential of other allergens, independently of its own antigenicity [18, 19]. In addition, its proteolytic properties can enhance its mode and route of transport across epithelial barriers, which may have an impact on the immune responses generated [20]. Therefore, a role for papain in the initiation of allergic responses to LYS cannot be excluded. In fact, a case of angioedema due to the ingestion of Lizipaina was reported in a non-egg-allergic woman who was regularly eating egg [21]. On the other hand, it is also feasible that papain can increase the eliciting properties of an allergen, such as LYS, in already sensitized patients, by enhancing its bioavailability and the inflammatory response it provokes or by producing fragments with IgE binding ability. In fact, even if the individual patients tested were shown to vary in their reactivity towards papain-produced LYS fragments, qualitative results suggested that, in some of them, IgE binding to LYS hydrolyzed with papain was more intense than to an equivalent amount of intact LYS. We had previously found that pepsin digestion of LYS released peptides that carried an important epitope load, so that

the IgG and IgE binding properties of the digests were maintained to a high extent [22].

Under nonreducing conditions, SDS-PAGE patterns of both LYS treated with papain and Lizipaina showed the presence of intact LYS that partially disappeared following reduction with β -ME releasing IgE-reactive fragments (fig. 3, 4). This indicated that papain degraded LYS giving rise to epitopes that could remain linked through the disulfide bonds present in the LYS molecule. MALDI-TOF/TOF allowed the identification of three possible IgE-binding fragments: LYS (22–129), LYS (34–96) and LYS (62–128) in the immunoreactive bands detected by Western blotting following SDS-PAGE under reducing conditions (table 2). These peptides comprised previously described IgE-binding epitopes, such as LYS (57–83) and LYS (108–122) [13]. As illustrated in figure 5, LYS (22–129) and LYS (62–128) could form part of bigger structures owing to the disulfide bonds connecting Cys₆-Cys₁₂₇, Cys₃₀-Cys₁₁₅, Cys₆₄-Cys₈₀ and Cys₇₆-Cys₉₄, and the possibility arises that these new structures could present an enhanced allergenic potential.

A further possibility is that the administration of tablets to be dissolved slowly in the mouth could enhance pregastric absorption of LYS in the oral cavity, which would explain the occurrence of symptoms few minutes after ingestion of Lizipaina, as described in this work. Allergen absorption from the human mucosa has been demonstrated [23] and it would be worth investigating if

it could be intensified in the presence of proteases. Actually, targeting proteolytic activity by inhibitors has shown potential for adjunct airway allergy therapy [24].

In conclusion, the combined administration of LYS with proteolytic enzymes such as papain may have developed a severe allergic reaction in the patient studied. These results underline the importance of considering all the components and their interactions when drugs are to be consumed by allergic persons.

Acknowledgments

The authors acknowledge financial support from Fundación Salud 2000 (Merck-Serono, Spain) and ALK-Abelló Laboratories (Madrid, Spain), and by the project AGL2011-24740. S. B. and I.L.-E. acknowledge the financial support of CSIC through JAE-Pre and JAE-Doc grants, and D.L.-O. the financial support of the Ministerio de Educación, Cultura y Deporte through a FPU grant.

References

- López-Exposito I, Recio I: Antibacterial activity of peptides and folding variants from milk proteins. *Int Dairy J* 2006;16:1294–1305.
- Frémont S, Kanny G, Nicolas P, Moneret-Vautrin DA: Prevalence of lysozyme sensitization in an egg-allergic population. *Allergy* 1997;52:224–228.
- Walsh BJ, Hill DJ, Macoun P, Cairns D, Howden MEH: Detection of four distinct groups of hen egg allergens binding IgE in the sera of children with egg allergy. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2005;33:183–191.
- Iaconelli A, Fiorentini L, Bruschi S, Rossi F, Mingrone G, Piva G: Absence of allergic reaction to egg white lysozyme additive in Grana Padano cheese. *J Am Coll Nutr* 2008;27:326–331.
- Weber P, Kratzin H, Brockow K, Ring J, Steinhart H, Paschke A: Lysozyme in wine: a risk evaluation for consumers allergic to hen's egg. *Mol Nutr Food Res* 2009;53:1469–1477.
- Audicana Berasategui MT, Corominas Sánchez M, De Barrio Fernández M, García Avilés MC, García Robaina JC, Gastaminza Lasarte G, Laguna Martínez JJ, Lobera Labauro T, López San Martín M, Martín Lázaro J, Moreno Rodilla E, Ortega Rodríguez N, Torres Jaén MJ: Potential hypersensitivity due to the food or food additive content of medicinal products in Spain. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2011;2:496–506.
- Artesani MC, Donnanno S, Cavagni G, Calzone L, D'Urbano L: Egg sensitization caused by immediate hypersensitivity reaction to drug-containing lysozyme. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2008;101:105.
- Ledesma Benítez I, Regueras Santos L, Lapeña López de Armentia S: Adverse drug reaction as the form of onset of egg sensitization. *An Pediatr (Barc)* 2006;38:424–425.
- Wills-Karp M, Nathan A, Page K, Karp CL: New insights into innate immune mechanisms underlying allergenicity. *Mucosal Immunol* 2010;3:104–110.
- Escudero C, Sánchez-García S, Rodríguez del Río P, Pator-Vargas C, García-Fernández C, Pérez-Rangel I, Ramírez-Jiménez A, Ibáñez MD: Dehydrated egg white: an allergen source for improving efficacy and safety in the diagnosis and treatment for egg allergy. *Pediatr Allergy Immunol* 2013;24:263–269.
- European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI). Position Paper: immunotherapy. *Allergy* 1993;48(suppl): 7–35.
- Martos G, Pineda-Vadillo C, Miralles B, Alonso-Lebrero E, López-Fandiño R, Molina E, Belloque J: Identification of an IgE reactive peptide in hen egg riboflavin binding protein subjected to simulated gastrointestinal digestion. *J Agric Food Chem* 2012;60:5215–5220.
- Jiménez-Saiz R, Benedé S, Miralles B, López-Exposito I, Molina E, López-Fandiño R: Immunological behavior of in vitro digested egg-white lysozyme. *Mol Nutr Food Res* 2014;58: 614–624.
- Burks AW, Jones SM, Wood RA, Fleischer DM, Sicherer SH, Lindblad RW, Stablein D, Henning AK, Vickery BP, Liu AH, Scurlock AM, Shreffler WG, Plaut M, Sampson HA: Oral immunotherapy for treatment of egg allergy in children. *N Engl J Med* 2012;367:233–243.
- García Rodríguez R, Urra JM, Feo-Brito F, Galindo PA, Borja J, Gómez E, Lara P, Guerra F: Oral rush desensitization to egg: efficacy and safety. *Clin Exp Allergy* 2011;41:1289–1296.
- Jones SM, Pons L, Roberts JL, Scurlock AM, Perry TT, Kulis M, Shreffler WG, Steele P, Henry KA, Adair M, Francis JM, Durham S, Vickery BP, Zhong XP, Burks AW: Clinical efficacy and immune regulation with peanut oral immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124:292–300.
- Soto-Mera MT, López-Rico MR, Filgueira JF, Villamil E, Cidrás R: Occupational allergy to papain. *Allergy* 2000;55:983–984.
- Sokol CL, Barton GM, Farr AG, Medzhitov R: A mechanism for the initiation of allergen-induced T helper type 2 responses. *Nat Immunol* 2008;9:310–318.
- Cunningham PT, Elliot CE, Lenzo JC, Jarnicki AG, Larcombe AN, Zosky GR, Holt PG, Thomas WR: Sensitizing and Th2 adjuvant activity of cysteine proteinase allergens. *Int Arch Allergy Immunol* 2012;158:347–358.
- Bufe A: The biological function of allergens: relevant for the induction of allergic diseases? *Int Arch Allergy Immunol* 1998;117:215–219.
- Pérez-Calderón R, Gonzalo-Garjito MA, Lamilla-Yerga A, Mangas-Santos R, Moreno-Gaston I: Recurrent angioedema due to lysozyme allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2007;17:246–266.
- Jiménez-Saiz R, Martos G, Carrillo W, López-Fandiño R, Molina E: Susceptibility of lysozyme to in-vitro digestion and immunoreactivity of its digests. *Food Chem* 2011;127: 1719–1726.
- Dirks CG, Pedersen MH, Platzer MH, Bind-slev-Jensen C, Skov PS, Poulsen LK: Does absorption across the buccal mucosa explain early onset of food-induced allergic systemic reactions? *J Allergy Clin Immunol* 2005;115: 1321–1323.
- Saw S, Kale SL, Arola N: Serine protease inhibitor attenuates ovalbumin induced inflammation in mouse model of allergic airway disease. *PLoS One* 2012;7:e41107.



Contents lists available at ScienceDirect



Efficacy and safety of high-dose rush oral immunotherapy in persistent egg allergic children A randomized clinical trial



Inmaculada Pérez-Rangel, MD^{*}; Pablo Rodríguez del Río, MD, PhD^{*†‡}; Carmelo Escudero, MD^{*†‡}; Silvia Sánchez-García, MD, PhD^{*†‡}; José Javier Sánchez-Hernández, MD, PhD[‡]; María Dolores Ibáñez, MD, PhD^{*†}

^{*} Allergy Department, Hospital Infantil Universitario Niño Jesús, Madrid, Spain

[†] Health Research Institute Princesa, Madrid, Spain

[‡] Unidad de Investigación en Salud Pública, Monterrey, Mexico

ARTICLE INFO

Article history:

Received for publication July 1, 2016.
Received in revised form November 17, 2016.
Accepted for publication November 29, 2016.

ABSTRACT

Background: Egg oral immunotherapy is effective but time consuming.

Objective: To assess the efficacy and safety of egg rush oral immunotherapy (ROIT) with a targeted dose equivalent to a raw egg white.

Methods: Thirty-three persistent egg allergic children confirmed by double-blind, placebo-controlled food challenge (DBPCFC) were randomized to receive egg ROIT immediately after randomization (ROIT1 group), or to continue an egg avoidance diet for 5 months after randomization (control group [CG]). A 5-day build-up phase starting with the highest single tolerated dose at baseline DBPCFC was scheduled and several doses administered daily until achieving a dose of approximately 2,808 mg of egg white protein. In the maintenance phase, patients ate an undercooked egg every 48 hours for 5 months. The CG participants who failed the DBPCFC at 5 months began active treatment. Children from the ROIT1 group plus children from the CG who failed a second DBPCFC at 5 months and then received egg ROIT were randomized to the ROIT2 group. Adverse events (AEs) and immune marker evolution were recorded.

Results: A total of 17 (89%) of 19 children in the ROIT1 group and no CG patients were desensitized at 5 months ($P < .001$). A total of 31 (97%) of the 32 children in the ROIT2 group completed the build-up phase in a median of 3 days (range, 1–14 days), and 30 (94%) of 32 maintained desensitization at 5 months. From baseline to 5 months of treatment, skin prick test, specific IgE, and specific IgE/IgG4 ratio to egg fractions significantly decreased, whereas specific IgG4 increased. During the build-up phase, AEs occurred in 69% of patients (50% had ≤ 2 AEs) and 31% of doses (2% severe, 55% gastrointestinal). Lower threshold dose in the DBPCFC and higher egg white and ovalbumin specific IgE levels at baseline revealed an association with a higher rate of AEs.

Conclusion: The proposed 5-day egg ROIT desensitized 94% of the allergic patients, with most AEs being mild or moderate.

© 2016 American College of Allergy, Asthma & Immunology. Published by Elsevier Inc. All rights reserved.

Introduction

Egg allergy is the second most frequent food allergy in the pediatric population worldwide.^{1,2} Fortunately, egg allergy typically resolves during childhood. It has been described that

approximately half of a cohort of 213 infants aged 3 to 15 months with egg allergy resolved at a median age of 72 months.³ However, a study of a referral population found persistent egg allergy in 42% of children in late adolescence,⁴ thereby suggesting that the number of adults with egg allergy may increase with time.⁵

Strict avoidance of egg proteins is the standard of care, although this approach is made difficult by the extensive use of egg in many foodstuffs, which significantly impairs patients' quality of life.⁶ Inadvertent egg contact is frequent and can trigger life-threatening reactions.^{7,8} Therefore, development of effective active therapies is vital.

In recent years, several studies have focused on oral immunotherapy (OIT)^{9–24} that involves regular oral administration of

Reprints: María Dolores Ibáñez, MD, PhD, Allergy Department, Hospital Infantil Universitario Niño Jesús, Avda/Menéndez Pelayo, No. 65, 28009 Madrid, Spain; E-mail: mibanez@salud.madrid.org.

Drs Pérez-Rangel and Ibáñez contributed equally to this work.

Disclosures: Authors have nothing to disclose.

Funding Sources: This study was part of a research project supported in part by the Research Prize Merck Serono 2012 from the Salud 2000 Foundation and by a grant from ALK-Abelló Laboratories.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.anaai.2016.11.023>

1081-1206/© 2016 American College of Allergy, Asthma & Immunology. Published by Elsevier Inc. All rights reserved.

progressively increasing amounts of allergen until a predetermined amount is reached. Most published protocols imply prolonged dose-increasing phases of 2 to 3 months or more.^{10,16,20,22,23} Moreover, the aim of some such protocols is to achieve a low maintenance dose^{10,11,13,16} rather than attaining a normal diet. Currently, there are only 2 rush protocols of 12¹⁴ and 5¹⁵ days that aim to reach a targeted dose of one cooked egg.^{14,15}

We performed a prospective randomized clinical trial to evaluate the efficacy and safety of a new protocol for high-dose rush OIT (ROIT) to desensitize children with persistent IgE-mediated egg allergy. We also evaluated immunologic changes detected during the treatment and possible risk factors of adverse events (AEs).

Methods

Study Design and Participants

A controlled, randomized, parallel-group intervention study was performed in a single center. The study protocol was approved by the institution's independent ethics committee (internal code R-0019/12). Written informed consent was given by the parents or guardians, and assent was obtained from children older than 11 years.

Egg allergic children who followed an avoidance diet, including extensively heated egg, were invited to participate and were consecutively recruited between April and May 2012 at the Department of Allergy, Hospital Infantil Universitario Niño Jesús, Madrid, Spain. Follow-up was completed in July 2013. The inclusion criteria were children between 5 and 18 years of age; egg allergy diagnosis based on the presence of IgE-mediated symptoms, positive skin prick test (SPT) result (≥ 3 mm) and/or specific IgE (sIgE) levels of 0.7 kU/L or higher for whole egg, egg white (EW), ovalbumin (Gal d 2), and/or ovomucoid (Gal d 1); and positive baseline double-blind, placebo-controlled food challenge (DBPCFC) to EW. Participants were excluded if they had a history of anaphylactic shock after egg consumption in the previous year, severe or not controlled bronchial asthma, non-IgE-mediated adverse reactions to egg, eosinophilic esophagitis, immunologic diseases or malignant diseases, any baseline disease contraindicating the use of epinephrine, or allergy to any component of the placebo.

Participants were assigned to groups using a computer-generated randomization table. The study groups were as follows: intervention group 1 (ROIT1), children receiving egg ROIT immediately after randomization; control group (CG), children continuing an egg avoidance diet for 5 months after randomization; and intervention group 2 (ROIT2), children from ROIT1 plus children from CG who failed a second DBPCFC at 5 months and then received egg ROIT.

Double-blind, Placebo-Controlled Food Challenge

The allergen source used for active challenge and egg ROIT was dehydrated EW (OVO-DES NM, Nutrición Médica SL, Madrid, Spain) with entirely preserved allergenicity.²⁵ According to the manufacturer, 3,600 mg of product is equivalent to one medium-sized EW, and its protein content is 78% (approximately 2,808 mg). A DBPCFC²⁶ with both active and placebo was performed during the same week, administering 8 doses of dehydrated EW masked in 50 mL of cocoa soy smoothie or placebo (cocoa soy smoothie). Egg white doses of 4, 20, 50, 100, 225, 450, 900, and 1,800 mg (cumulative dose of approximately 2,808 mg of protein) were administered at 20-minute intervals until objective IgE-mediated manifestations occurred or subjective but mild-moderate symptoms consisting of mild-moderate abdominal pain persisting for 40 minutes or severe abdominal pain regardless of duration (positive DBPCFC result). Patients who successfully consumed the maximum dose of EW (negative DBPCFC result) were considered to have

Table 1
Egg ROIT Protocol Build-up Phase

| Dehydrated EW, ^a mg | Day of ROIT | No. of doses | ROIT starting dose of dehydrated EW, mg ^a | Approximate EW protein, mg |
|--------------------------------|-------------|--------------|--|----------------------------|
| 4 | 1 | 1 | 0.04 | 0.03 |
| | | 2 | 0.08 | 0.06 |
| | | 3 | 0.16 | 0.125 |
| | | 4 | 0.32 | 0.25 |
| | | 5 | 0.64 | 0.50 |
| | 2 | 6 | 0.4 | 0.31 |
| | | 7 | 0.8 | 0.62 |
| | | 8 | 1.6 | 1.25 |
| | | 9 | 4 | 3.12 |
| | | 10 | 20 | 15.6 |
| 50 | 3 | 11 | 20 | 15.6 |
| | | 12 | 50 | 39 |
| | | 13 | 100 | 78 |
| 225 | | 14 | 225 | 175.5 |
| | | 15 | 450 | 351 |
| 900 | 4 | 16 | 450 | 351 |
| | | 17 | 900 | 702 |
| 1800 | 5 | 18 | 1800 | 1404 |
| | | 19 | 1800 | 1404 |
| | | 20 | 3600 | 2808 |
| | | | | |

Abbreviations: DBPCFC, double-blind, placebo-controlled food challenge; EW, egg white; ROIT, rush oral immunotherapy.

^aThe allergen source used for DBPCFC and ROIT was dehydrated EW (OVODES NM, Nutrición Médica SL, Madrid, Spain). The ROIT starting dose was based on the eliciting dose threshold, so the build-up phase started with the highest single egg dose tolerated in the baseline DBPCFC. When the test result was positive with 4 mg, the starting dose was 0.04 mg. Doses were administered in the hospital at intervals of 60 minutes.

passed the challenge. Every patient was kept under surveillance for at least 2 hours after the last dose was administered or 2 hours after symptoms had totally subsided.

Egg ROIT Protocol

A consecutive 5-day build-up phase was designed, starting at the highest tolerated single dose in the baseline egg DBPCFC (Table 1). The regimen was conducted on an outpatient basis. After 1 hour of observation without symptoms, the subsequent dose was administered. In case of an AE, the previously tolerated dose was administered as the first dose on the following day. During the weekend, patients continued with the in-home daily intake of the last dose tolerated. The build-up phase target dose was 3,600 mg of dehydrated EW (approximately 2,808 mg of EW protein). A cumulative dose of 5,400 mg of dehydrated EW (approximately 4,212 mg protein) was administered on the last day. The maintenance phase consisted of eating 1 undercooked egg (undercooked fried egg, scrambled egg, or omelet) every 48 hours. In addition, the patients could freely take any other egg-containing foodstuffs.

Adverse Events

Patients received daily 10 mg of cetirizine as pretreatment during the build-up phase and the first half-week of the maintenance phase. AEs, treatment, and aggravating factors (infections, stress, exercise, or intake of nonsteroidal anti-inflammatory drugs) were recorded. AEs were classified according to severity as mild (oropharyngeal symptoms, skin, digestive, and/or rhinitis manifestations), moderate (mild AEs plus mild respiratory distress), or severe (severe respiratory distress and/or symptoms of hypotension).²⁷ The criteria used for anaphylaxis followed the European Academy of Allergy and Clinical Immunology guidelines.²⁸ The causes for discontinuation and failure of treatment were (1) more than 1 severe reaction, (2) more than 3 moderate reactions, (3) decision by the patient or parents or guardians, and (4) low adherence to treatment.

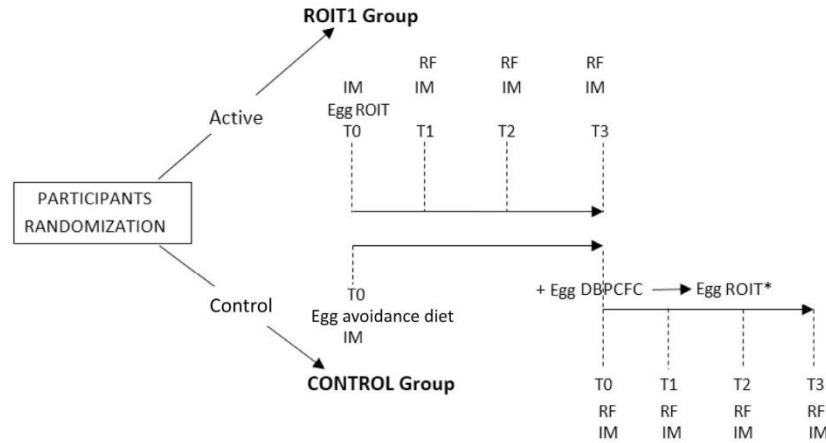


Figure 1. Study flowchart according to groups and interventions at different times. Asterisk indicates beginning of the egg ROIT protocol in the control group (T3 of the control group matches T0 of the egg ROIT group in patients from the control group who failed the second DBPCFC that was exclusively performed in this group). DBPCFC, double-blind, placebo-controlled food challenge; IM, immune markers; RF, registry forms (record of adverse reaction); ROIT, rush oral immunotherapy. ROIT1, egg ROIT at baseline; T0, baseline (beginning of egg ROIT protocol in ROIT1 group and egg avoidance diet in the control group); T1, 15 days from the end of the build-up phase; T2, 1 month from T1; T3, 5 months from baseline; +, positive.

Follow-up

Registry forms were provided for the parents or guardians. Families were instructed on procedures for administering doses of egg and recognizing and treating AEs.²⁸ Subjective parameters, such as taste for egg and fear of eating undercooked egg, were also recorded.

Immune Markers

We performed SPTs to whole egg, EW, ovalbumin, and ovomucoid. We measured blood cell count; total IgE; sIgE to whole egg, EW, ovalbumin, and ovomucoid; serum specific IgG4 (sIgG4) to EW, ovalbumin, and ovomucoid; and sIgE/IgG4 ratio to EW, ovalbumin, and ovomucoid at baseline and throughout the treatment. SPTs were performed and evaluated according to the standard procedure for prick testing²⁹ with commercial extracts of whole egg (5 mg/mL), EW (1 mg/mL), ovalbumin (1 mg/mL), and ovomucoid (1 mg/mL) (Leti, Madrid, Spain). Levels of total IgE, whole egg sIgE, EW sIgE, ovomucoid sIgE, and ovalbumin sIgE were analyzed in addition to EW sIgG4, ovalbumin sIgG4, and ovomucoid sIgG4 using the ImmunoCAP System (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts).

Schedule of Interventions

The different time points were as follows: time 0 (T0): baseline; time 1 (T1): 15 days from end of the build-up phase for ROIT; time 2 (T2): 1 month from T1; and time 3 (T3): 5 months from baseline. Only patients in the control group underwent a second DBPCFC. CG participants who failed the second DBPCFC at T3 were enrolled into ROIT and followed up for 5 months. Procedures relating to DBPCFC, registry forms, and immune markers were performed according to the groups and times indicated in Figure 1.

Outcomes

The primary study outcome was the efficacy to induce desensitization to egg after 5 months of treatment. Desensitization was defined as the patient's ability to eat 1 undercooked egg (fried, scrambled, or omelet) without or mild AEs.³⁰ The secondary objectives were (1) to evaluate the safety; (2) to assess potential individual,

single predictors for development of more than 2 AEs; and (3) to detect immunologic changes linked to the clinical parameters.

Statistical Analysis

The sample size calculation was made as detailed in the eMaterial. All clinical outcomes were assessed by intention-to-treat analysis. Descriptive data were analyzed using means (SDs) and ranges for normally distributed variables, and medians and ranges for not normally distributed variables. The Fisher exact test was performed to determine whether the proportions of patients achieving desensitization were different between the ROIT1 and CG groups. To assess immune marker differences between CG and ROIT1 at T0 and T3 and intragroup differences in ROIT2 at T1, T2, and T3 compared with T0, the *t* test was used for quantitative variables, and the χ^2 test was applied for qualitative variables. We used the double-tailed statistical test with a significance level of 5% and a power of 80%. A 2-tailed $P < .05$ was considered significant. Multivariate regression analysis was used to analyze the variables related to the number of days for the build-up phase. Univariate and, subsequently, multivariate logistic regression analysis was used to assess independent risk factors for more than 2 AEs. The diagnostic performance of SPT, sIgE, IgG4, and sIgE/sIgG4 ratio at baseline to predict the risk of more than 2 AEs was studied by receiver operating characteristic curve analysis. After identifying the cut-off, positive and negative predictive values were calculated to determine the likelihood of developing more than 2 AEs. Statistica, version 7.1 (StatSoft Inc, Tulsa, Oklahoma), and STATA, version 12 (StataCorp, College Station, Texas) were used.

Results

Study Participants

Thirty-three patients were included (eTable 1) and randomized (Fig 2): 19 to ROIT1 and 14 to CG. Patients were distributed homogeneously between ROIT1 and CG at baseline (Table 2), except for respiratory symptoms (cough, wheezing, and/or dyspnea), which was more frequently observed in the CG during DBPCFC ($P = .04$). The median single dose of dehydrated EW eliciting

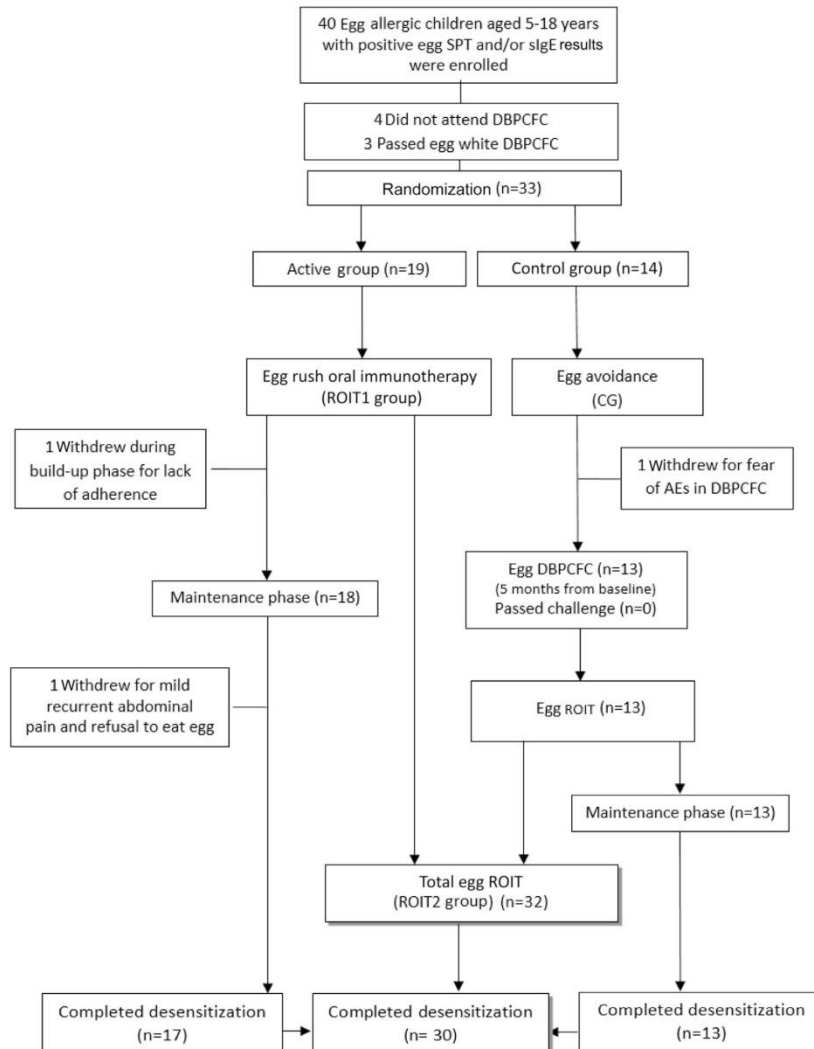


Figure 2. Study flowchart and distribution of patients in the different groups. AEs, adverse events; DBPCFC, double-blind, placebo-controlled food challenge; ROIT, rush oral immunotherapy; SPT, skin prick test.

symptoms at baseline DBPCFC was 225 mg (range, 20–3,600 mg). Both ROIT1 and CG patients had 2 peak response levels at 225 mg and 1,800 mg (30.3% and 21.2% of patients, respectively).

Outcomes

Efficacy

Seventeen (89.5%) of 19 patients in the ROIT1 group completed build-up phase and maintenance phase. One patient did not adhere to the protocol at the end of the build-up phase, and another patient failed because of mild recurrent abdominal pain and refusal to eat egg after 1 month in the maintenance phase (EW sIgE levels of

25.4 and 112 kU/L, respectively). Thirteen of 14 patients (92.9%) in the CG remained on an egg avoidance diet for 5 months. One individual in this group dropped out before undergoing the second DBPCFC for fear of AEs. None of the 13 patients in the CG passed the egg DBPCFC at 5 months (T3) (Fig 2). The egg ROIT protocol obtained an efficacy of 89.5% in ROIT1 compared with 0% in the CG (95% confidence interval, 59%–97%; $P < .001$). All 13 CG patients who failed the DBPCFC underwent egg ROIT.

A total of 32 patients underwent the egg ROIT protocol (ROIT2). Thirty-one children (96.9%) completed the build-up phase and 30 completed the maintenance phase, with a 93.8% rate of treatment success at 5 months (Fig 2).

Table 2
Baseline Clinical Characteristics and Baseline DBPCFC Results According to Study Group

| Variable | Total (N = 33) | CG (n = 14) | ROIT1 (n = 19) |
|---|-----------------|------------------|-----------------|
| Male, No. (%) | 18 (54.6) | 7 (50) | 11 (57.9) |
| Age, mean (SD), y | 10.4 (2.6) | 9.7 (2.3) | 10.9 (2.7) |
| Age at first egg reaction, mean (SD) mo | 12.9 (13.6) | 15.5 (20.4) | 11 (4.6) |
| Asthma, % | 57.6 | 27.3 | 30.3 |
| Allergy to other foods, % | 69.7 | 85.7 | 57.9 |
| Previous anaphylaxis, % | 42.4 | 57.1 | 31.6 |
| Symptoms at baseline DBPCFC, % | | | |
| • Cutaneous | 20.9 | 17.8 | 23.6 |
| • Angioedema | 4.2 | 6.7 | 2.0 |
| • Dermatitis | 2.1 | 0 | 3.9 |
| • Urticaria | 14.6 | 11.1 | 17.7 |
| • Oropharyngeal | 30.21 | 31.11 | 29.4 |
| • Digestive | 29.17 | 26.67 | 31.4 |
| • Conjunctivitis | 1.04 | 0 | 2.0 |
| • Respiratory | 18.8 | 24.5 | 13.7 |
| • Rhinitis | 14.6 | 15.6 | 13.7 |
| • Asthma | 4.2 | 8.9 ^a | 0 |
| • Anaphylaxis | 0 | 0 | 0 |
| Threshold dose at DBPCFC, median (range), mg | 225 (20–3,600) | 225 (20–1,800) | 225 (50–3,600) |
| SPT to egg protein fractions, median (range), mm | | | |
| • Whole egg | 7 (4–12) | 7 (5–10) | 7 (4–12) |
| • EW | 7 (4–12) | 7 (4–12) | 7 (5–10) |
| • Ovalbumin | 6 (3–15) | 6.5 (3–15) | 6 (3–11) |
| • Ovomucoid | 8 (0–16) | 9.5 (0–16) | 7 (4–11) |
| Serum specific IgE, median (range), kU/L | | | |
| • Whole egg | 6.0 (0.32–3065) | 7.0 (0.67–832) | 5.9 (0.32–3065) |
| • EW | 5.6 (0.28–1735) | 5.9 (0.64–780) | 5.4 (0.28–1735) |
| • Ovalbumin | 2.7 (0.15–1075) | 2.7 (0.35–474) | 3.6 (0.15–1075) |
| • Ovomucoid | 4.8 (0.26–515) | 5.6 (0.27–222) | 4.1 (0.26–515) |
| Serum specific IgG ₄ (mg/mL), median (range) | | | |
| • EW | 0.4 (0–2.96) | 0.4 (0–2.06) | 0.2 (0.02–2.96) |
| • Ovalbumin | 0.3 (0–2.39) | 0.4 (0–1.51) | 0.2 (0.02–2.39) |
| • Ovomucoid | 0.1 (0.01–1.99) | 0.2 (0.01–1.22) | 0.1 (0.01–1.99) |

Abbreviations: CG, control group; DBPCFC, double-blind, placebo-controlled food challenge; EW, egg white; SD, standard deviation; SPT, skin prick test; ROIT, rush oral immunotherapy (ROIT1 indicates the group who underwent ROIT at baseline).

^aThere were no significant differences between CG and ROIT1, except for asthma in DBPCFC, which was more frequently observed in the CG ($P < .05$).

Duration of build-up phase of egg ROIT

The median duration of the build-up phase in ROIT2 was 3 days (range, 1–14 days). Twenty-six of the 32 patients (81.3%) completed the build-up phase in 5 days or less, 2 patients required 6 days, 1 patient required 10 days, and 3 patients (baseline EW sIgE levels of 112, 1,735, and 1,023 kU/L) finished in 12, 12, and 14 days, respectively. Higher baseline ovomucoid sIgE levels were associated with increased duration of the build-up phase ($P = .01$). An association was observed between the duration of the build-up phase and the appearance of more than 2 AEs (mean [SD], 2.43 [0.81] for ≤ 2 AEs vs 6.31 [3.51] days for > 2 AEs) ($P < .001$).

The median initial dose of the build-up phase was 225 mg (range, 4–1,800 mg). Thirty-two children received a total of 372 doses during the build-up phase, with a mean (SD) of 11.6 (9.39) doses per patient (range, 2–42 doses). The most frequent number of doses needed to complete the build-up phase was 4 (9 patients). Three patients (9.4%) required more than 30 doses (31, 36, and 42 doses).

Immunologic changes

At 5 months, ROIT1 values from SPT to all egg protein fractions were significantly lower ($P < .05$) than in the CG, and sIgG₄ levels to EW, ovalbumin, and ovomucoid were higher ($P < .05$) (data not shown). However, no significant differences were found between the 2 groups in sIgE levels to whole egg, EW, ovalbumin, or ovomucoid, total IgE level, and blood eosinophil count (data not shown). In the ROIT1 group but not in the CG, SPT results decreased significantly (Fig 3A) and IgG₄ levels increased (Fig 3B) compared with baseline.

In the ROIT2 group, the median baseline EW sIgE level was 6.01 kU/L (range, 0.28–1,735 kU/L). However, 6 patients (18.8%) had levels higher than 20 (67% were desensitized), and 2 (6.3%) presented levels greater than 1,000 kU/L (both were desensitized) (Table 3). SPT results, sIgE levels, and sIgE/IgG₄ ratios to egg and fractions (except sIgE to EW at all time points and to egg and ovomucoid in T1 and T2) decreased, and sIgG₄ levels increased significantly at all time points compared with baseline. Decreasing SPT results to whole egg and EW occurred at an earlier stage than sIgE (Fig 4A and C). SPT results decreased significantly but remained steady between T1 and T2 and tended to increase in T3 (Fig 4A). Specific IgG₄ levels increased but exhibited a tendency to decrease from T1 to T3, although without reaching the baseline level detected at T0 (Fig 4B). Specific sIgE/sIgG₄ ratio decreased, remaining steady between T1 and T3 (Fig 4D). Peripheral eosinophilia and total IgE did not change throughout the protocol (data not shown).

Safety of egg ROIT

Safety was assessed in the ROIT2 group. Only 4 patients (12.5%), with baseline EW sIgE levels of 0.28, 1.7, 1.8, and 3.0 kU/L, had no reaction in either the build-up phase or maintenance phase.

Twenty-two of 32 patients (68.8%) in the build-up phase had 1 or more AE. The median number of reactions per child was 2.5 (range, 0–17); 16 children (50%) had 2 or fewer and 3 (9.4%) developed more than 10 events (baseline EW sIgE levels of 112, 1,023, and 1,735 kU/L). AEs occurred in 116 (31%) of the administered doses. Of 155 symptoms recorded, 54.8% were gastrointestinal, 19.4% oropharyngeal symptoms, 11% cutaneous, 7.7% rhinitis, 5.8% bronchospasm, and 1.3% (2 episodes) anaphylaxis. Ninety-nine

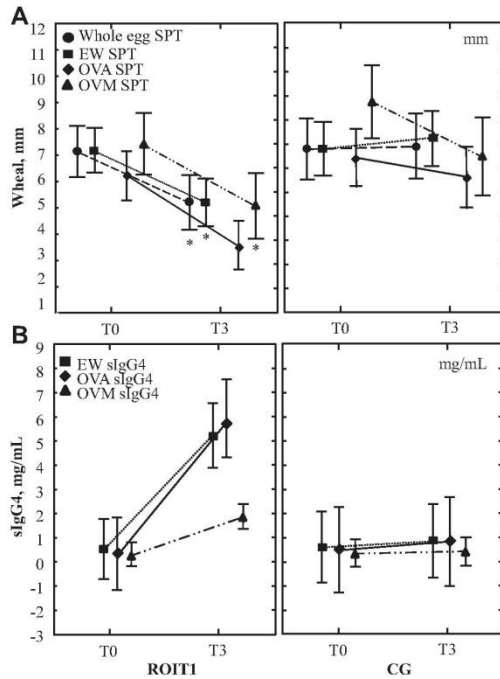


Figure 3. Mean levels of immune markers at baseline (T0) and at 5 months (T3) according to active (rush oral immunotherapy 1 [ROIT1]) and control groups (CG). A, Skin prick test (SPT) results to egg protein fractions ($P = .05-.001$). B, Serum specific IgG4 levels to egg protein fractions ($P = .05-.001$). Error bars indicate 95% confidence intervals. EW, egg white; OVA, ovalbumin; OVM, ovomucoid; slgG4, specific IgG4; T0, baseline; T3, 5 months from baseline.

AEs (85.4%) were mild, 15 (12.9%) moderate, and 2 (1.7%) severe. Most AEs occurred with the doses of 900 mg (29%) and 1,800 mg (22%). Medication used was oral antihistamine (46.9%), oral

corticosteroid (12.5%), inhaled short-acting β_2 -bronchodilator (9.4%), oxygen (6.3%), and intramuscular adrenaline in 2 (6.3%) patients.

In the maintenance phase, 5 patients (16.1%) had no AEs, and 22 (71%) experienced fewer than 10 events. Most AEs were mild and local (oropharyngeal symptoms, 75%; mild abdominal pain, 21.5%). No differences were observed in the frequency or severity of AEs between time points. The mean number of AEs per day per patient was as follows: 0.03 between the end of build-up phase to T1, 0.01 between T1 and T2, and 0.01 between T2 and T3. Aggravating factors were respiratory tract infections or digestive reactions in 10 AEs (4.2%) and stress and physical exercise in 1 AE each (0.4%).

At 5 months, 13% of children still feared undercooked egg intake, and 48.4% disliked the taste. However, 96.8% of patients had good treatment adherence.

Identification of risk factors to predict AEs

Because half of the patients in the ROIT2 group had more than 2 AEs in the build-up phase, this number was selected for the analysis of risk factors. No association was found in age, sex, age at first egg reaction, underlying asthma, or symptoms developed during the DBPCFC and the appearance of more than 2 AEs. Lower thresholds in the DBPCFC were associated with greater probability of AEs ($P = .04$).

Whole egg, EW, and ovalbumin slgE levels, followed by EW and ovalbumin slgE/slG4 ratio, at baseline had the best diagnostic performance for prediction of more than 2 AEs in the build-up phase. The best cut-off to predict more than 2 AEs was 18 kU/L or higher to whole egg and EW slgE, 15 kU/L or higher to ovalbumin slgE, and 11 kU/L or higher to EW and ovalbumin slgE/slG4 ratio (Table 4).

Discussion

The present randomized clinical trial reveals early desensitization in an egg ROIT protocol with a targeted dose equivalent to one raw egg white, displaying a relatively safe profile. All patients but 2 (89%) could eat egg at 5 months compared with 0% in the CG. After the enrollment of controls into the active treatment group, 94% were treated successfully with a build-up phase that lasted a median of 3 days and a 5-month of maintenance phase.

As opposed to other publications^{12,16,20,21} in which challenge was not performed, in the present study every patient underwent a DBPCFC before inclusion. This approach allowed the inclusion of only

Table 3
Median Levels of Immune Markers in the Rush Oral Immunotherapy 2 Group According to Different Times Throughout the Treatment

| Immune Mark | T0 (n = 33) | T1 (n = 32) | T2 (n = 30) | T3 (n = 30) |
|--|--------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| SPT to egg protein fractions, median (range), mm | | | | |
| Whole egg | 7 (3–12) | 4 ^a (2–12) | 4 ^a (2–9) | 6 ^a (1–9) |
| EW | 7 (5–13) | 5 ^a (2–9) | 5 ^a (2–10) | 5 ^a (2–9) |
| Ovalbumin | 6 (2–11) | 4 ^a (2–6) | 4 ^a (2–8) | 4 ^a (2–5) |
| Ovomucoid | 8 (0–11) | 5 ^a (0–10) | 5 ^a (2–8) | 5 ^a (1–11) |
| Serum specific IgE, median (range), kU/L | | | | |
| Whole egg | 6.5 (0.32–3065) | 6.1 (0.33–2765) | 5.1 (0.21–3360) | 4.4 ^b (0.22–3080) |
| EW | 6.0 (0.28–1735) | 5.7 (0.34–2140) | 4.9 (0.2–1990) | 3.8 (0.2–2110) |
| Ovalbumin | 2.5 (0.15–1075) | 1.6 ^a (0.07–1326) | 1.6 ^a (0.06–1020) | 1.4 ^a (0.05–1170) |
| Ovomucoid | 4.1 (0.18–515) | 4.4 (0.22–596) | 3.6 (0.16–640) | 3.0 ^b (0.21–505) |
| Serum specific IgG4, median (range), mg/mL | | | | |
| EW | 0.6 (0.01–2.96) | 5.8 ^a (0.08–30) | 5.9 ^a (0.05–30) | 3.9 ^a (0.11–25.8) |
| Ovalbumin | 0.4 (0.01–3.08) | 4.6 ^a (0.03–30) | 5.3 ^a (0.02–30) | 3.8 ^a (0.12–23.6) |
| Ovomucoid | 0.3 (0.01–1.99) | 2.5 ^a (0.05–30) | 2.0 ^a (0.05–25) | 1.5 ^a (0.05–14.6) |
| Serum specific IgE/IgG4 ratio, median (range) | | | | |
| EW | 25.9 (0.53–3154.5) | 1.3 ^a (0.07–309.3) | 0.9 ^a (0.11–331.1) | 1.1 ^a (0.09–314.5) |
| Ovalbumin | 15.1 (0.38–2150) | 0.6 ^a (0.03–161) | 0.4 ^a (0.02–215.5) | 0.5 ^a (0.03–174.4) |
| Ovomucoid | 28.3 (0.22–1839.3) | 2.4 ^a (0.01–463.5) | 0.1 ^a (0–13.1) | 1.7 ^a (0.05–455) |

Abbreviations: EW, egg white; SPT, skin prick test; T0, baseline; T1, 15 days from the end of the build-up phase; T2, 1 month from T1; T3, 5 months from baseline.

^a $P < .001$.

^b $P < .05$.

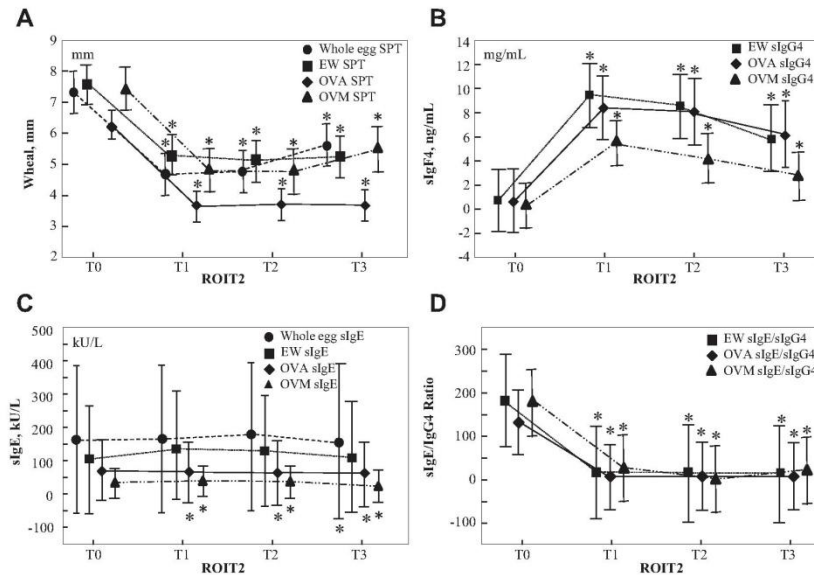


Figure 4. Mean levels of immune markers in the rush oral immunotherapy 2 (ROIT2) group according to different times throughout the treatment. A, Skin prick test (SPT) results to egg protein fractions ($P < .001$). B, Serum specific IgG4 (slgG4) levels to egg protein fractions ($P < .001$); C, Serum specific IgE (slgE) to protein fractions ($P < .001$); D, serum slgE/slG4 ratio to egg protein fractions ($P < .001$). Error bars indicate 95% confidence intervals. EW, egg white; OVA, ovalbumin; OVM, ovomucoid; slgG4, specific IgG4; T0, baseline; T1, 15 days from the end of the build-up phase; T2, 1 month from T1; T3, 5 months from baseline.

patients currently allergic to egg. Thanks to this approach, we avoided the inclusion of 8% of patients with egg tolerance in the protocol.

Use of the threshold dose at the baseline DBPCFC avoided the administration of the lowest doses in all patients. Only 2 previous nonrandomized, noncontrolled studies^{14,19} have begun treatment following a similar method. Nevertheless, in the study by Ruiz-García et al.,¹⁹ only 4 patients underwent a baseline egg oral challenge, and in the protocol followed by Itoh et al.,¹⁴ the initial dose was set at approximately one-tenth of the threshold dose at DBPCFC for each patient (6 children), rather than in the last single tolerated dose. To date, most published egg OIT protocols have been designed for a build-up phase of approximately 60 days.³⁰ Only García-Rodríguez et al.¹⁵ used a 5-day protocol in 21 patients, using a less allergenic target dose that consisted of a cooked egg (ie, boiled egg, omelet) plus only 8 mL of raw EW.

Studies have found that OIT is able to induce desensitization to egg, with effectiveness ranging from 0%³¹ to 100%¹⁴ and a median success rate of more than 80%.³⁰ Under the current protocol, after 5 months of therapy, none of the children in the CG were able to eat a regular serving of egg, compared with 89% of those receiving ROIT. After increasing the total number of treated patients to 32 egg allergic

children, the proportion of desensitized individuals increased to 94%; this figure is similar to the percentage achieved using the 32-day protocol previously published by our group (93%).²⁴ In the only systematic review of studies on egg OIT,³² with 4 randomized controlled studies using an extract with preserved allergenic capacity,^{16,20,21,31} 39% of the active treatment patients were able to tolerate a full serving of egg (1 egg) compared with 11.9% of control patients. With our protocol, 94% ingested 1 egg after 5 months.

The better outcomes seen in the present study may be related to differences in baseline egg slgE levels. In our active group, the median baseline EW slgE level was lower (6.0 kU/L) than those reported in the studies by Dello Iacono et al (23.3 kU/L),³¹ Vickery et al (12.5 kU/L),¹³ and Burks et al (10.3 kU/L).¹⁶ However, in our study, all but 2 patients with EW slgE levels greater than 20 kU/L were desensitized. Notably, 2 patients with baseline EW slgE levels of 1,023 and 1,735 kU/L were desensitized, although with more doses, more AEs, and a longer build-up phase than the mean. In addition, patients ingested a higher egg dose (approximately 2,808 mg of protein) with the present protocol than in other studies (300 mg¹¹ and 1,600 mg¹⁶), despite being a shorter protocol, thereby highlighting its efficacy.³³ Caminiti et al,²³ with a high

Table 4
Optimal Cut-offs for Serum slgE and Serum slgE/IgG4 Ratio at Baseline and Their Discriminative Potential to Determine the Development of More Than 2 Adverse Events

| | Cut-offs, kU/L | AUC (95% CI) | P Value | Sensitivity, % | Specificity, % | PPV, % | NPV, % | LR |
|---------------------|----------------|------------------|---------|----------------|----------------|--------|--------|-----|
| Whole egg slgE | 18 | 0.88 (0.71–0.96) | <.001 | 81.3 | 87.5 | 81.2 | 100 | 6.5 |
| EW slgE | 18 | 0.89 (0.75–0.98) | <.001 | 81.3 | 87.5 | 81.2 | 100 | 6.5 |
| Ovalbumin slgE | 15 | 0.88 (0.71–0.96) | <.001 | 87.5 | 81.3 | 80.1 | 100 | 4.7 |
| EW slgE/slG4 | 11 | 0.84 (0.67–0.94) | .001 | 100 | 62.5 | 87.5 | 62.5 | 2.7 |
| Ovalbumin slgE/slG4 | 11 | 0.82 (0.67–0.94) | .002 | 100 | 62.5 | 81.3 | 75.0 | 2.7 |

Abbreviations: AUC, area under the curve; CI, confidence interval; EW, egg white; LR, likelihood ratio; NPV, negative predictive value; OVA, ovalbumin; PPV, positive predictive value; slgE, specific IgE; slG4, specific IgG4.

target dose (3,200 mg), also achieved a high rate of success (94%), although with a longer build-up phase (112 days).

There has been debate surrounding the effect of using either raw or cooked egg on treatment efficacy. Some studies using cooked egg found a decrease in efficacy during the maintenance phase. In the study by Itoh et al,¹⁴ all 6 patients enrolled achieved the intermediate goal of 1 g of powdered raw egg followed by 1 heated egg as the main outcome of the protocol, doing so in a build-up phase of approximately 12 days (range, 9–18 days). However, only 50% of patients tolerated 1 g of dehydrated EW after 9 months of the maintenance phase. Fuentes-Aparicio et al²¹ reported that only 20 (54%) of 37 patients who tolerated a raw EW at the end of the build-up phase passed the OFC with raw EW 6 months later. In both studies, patients' build-up phase was performed with raw egg, although the maintenance phase included cooked egg, which may have been the cause of the loss of desensitization. In the current study, egg was given in an undercooked state (nearly raw) during the maintenance phase. Although nonstandardized, it was preferred to preserve its allergenicity, improve adherence, and mimic a real-life egg consumption.

In sum, several critical factors may explain the high efficacy obtained with our protocol: the lower sIgE to egg proteins compared with that of other protocols, the high target doses in the build-up and maintenance phases, raw or undercooked egg with preserved allergenic material used to perform not only build-up phase but also the maintenance phase, and use of a rush schedule in build-up phase.

The immunologic mechanisms underlying the clinical changes observed during egg OIT are not entirely elucidated. Increases in sIgG4 antibody levels, with or without decreases in sIgE antibody levels, have been associated with loss of clinical reactivity to milk and egg.^{16,33–35} In the current study, the decrease of the wheal size on SPT, suggesting a suppression of mast cells, and an increase in sIgG4 antibody levels were noted only in children receiving OIT. The intragroup analysis of the final egg ROIT2 group revealed a significant decrease of wheal size for the SPT to all egg fractions and sIgE/sIgG4 ratios. The decrease of ovalbumin sIgE was also very significant, although this was lower for ovomucoid and whole egg sIgE and of little relevance for EW sIgE. The decrease in SPT results and sIgE/sIgG4 ratios occurred earlier and were more significant than the changes in sIgE levels.

AEs occurred in 31% of doses administered during the build-up phase, which is comparable to the 36% reported by Burks et al.¹⁶ In all studies of egg OIT except one,²³ the percentage of patients with at least 1 AE during build-up phase is high (50%–100%).³⁰ In our study, 68.7% of patients experienced at least 1 AE in the build-up phase, with a median of 2.5 episodes per patient; this finding is similar to other published studies.^{17,24} In the 2 published rush protocols, with a build-up phase of 12 and 11 days, 100% and 78% of patients developed AEs, respectively.^{14,15} Although in published protocols serious reactions were rare or nonexistent,^{13,14,16,24} treatment discontinuation was sometimes required.^{16,22,24,31} In our study, it was not necessary to discontinue the treatment during the build-up phase for this reason because of the mild intensity of most events. As in our study, the most frequent AEs reported in egg OIT are gastrointestinal (55%).^{11,14,17,21,22,24} One patient in our study dropped out because of persistent mild abdominal pain and refusal to eat egg. We attempted to rule out eosinophilic esophagitis,³⁶ but parents refused to perform endoscopy. All symptoms subsided after withdrawal of egg.

Several attempts have been made to find clinical and/or biological markers to identify patients who are more prone to develop AEs during egg OIT. Clinical risk factors, such as underlying asthma and lower threshold at DBPCFC, have been associated with anaphylaxis or early discontinuation of egg OIT.²² In our study, lower threshold at baseline DBPCFC was associated with higher risk

of AEs during the build-up phase. Immunologic markers correlated with a higher risk of more than 2 AEs were high baseline egg and EW sIgE (both ≥ 18 kU/L), ovalbumin sIgE (≥ 15 kU/L) levels, and EW and ovalbumin sIgE/sIgG4 ratios (both >11 kU/L). Published cutoffs for sIgE predicting a higher risk of AEs in egg OIT are lower (>8.85 kU/L for EW and ovomucoid sIgE and >6.49 kU/L for ovalbumin)²² than those reported in this article, although the risk criteria analyzed are significantly different. Like other authors, we identified infections^{10,20,23} to be the most common aggravating factor for AEs occurring during the maintenance phase.

Although usually overlooked, the taste of egg itself might be a relevant factor that influences the adherence to the treatment.²⁴ However, we did not record a lack of adherence attributable to this factor in the 48% of patients who disliked it.

It could be argued the lack of a placebo group decreases the reliability of the data reported; however, the use of baseline DBPCFCs in the entire population and exit DBPCFCs in the CG minimizes this weakness. In addition, the success ratio in patients with low and high sIgE levels to EW (>20 kU/L) was higher than that found in a recent systematic review.³² Therefore, the different profiles of patients treated allow the use of this treatment in patients with both profiles (low or high IgE sensitization), bearing in mind the different expectations of success. Another factor that could explain the increased efficacy of our protocol compared with that of other authors might be the fact that the baseline DBPCFC threshold was high in 8 patients; this should be taken into consideration before extrapolating these data into another population.

In conclusion, we found that the build-up phase for egg OIT may be shortened by establishing the starting dose based on the eliciting threshold and a 5-day rush build-up phase. This approach was safe and effective in 94% of the population studied, which is greater than longer protocols. The protocol provides protection and diet normalization in a short time. Threshold dose at baseline egg DBPCFC, egg sIgE levels, and egg sIgE/IgG4 ratio could be used as potential predictors of adverse events. This study not only provides additional support for the existing scattered data on the efficacy of ROIT, but also provides evidence of the extension of its efficacy throughout the maintenance with uncooked egg.

Acknowledgments

We thank P.J. Martín-Álvarez from the Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC-UAM, Madrid, Spain) for statistical analyses, Dr Elena Molina from Ciencias de la Alimentación (CSIC-UAM, Madrid, Spain) for her collaboration in preparing the figures, and Ascensión López, Inmaculada Sanz, Felicia López, Carmen Ballesteros, and María Jesús Jiménez, nurses and nurse assistants, for their contribution to the clinical work that went into this study. We are especially grateful to the patients and families who kindly participated in this study.

Supplementary Data

Supplementary data related to this article can be found at <http://dx.doi.org/10.1016/j.jana.2016.11.023>

References

- [1] Eggesbø M, Botten G, Halvorsen R, Magnus P. The prevalence of allergy to egg: a population-based study in young children. *Allergy*. 2001;56:403–411.
- [2] Osborne NJ, Koplin JJ, Martin PE, et al. Prevalence of challenge-proven IgE-mediated food allergy using population-based sampling and predetermined challenge criteria in infants. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;127:668–676.
- [3] Sicherer SH, Wood RA, Vickery BP, et al. The natural history of egg allergy in an observational cohort. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;133:492–499.
- [4] Savage JH, Matsui EC, Skripak JM, Wood RA. The natural history of egg allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2007;120:1413–1417.
- [5] Liu AH, Jaramillo R, Sicherer SH, et al. National prevalence and risk factors for food allergy and relationship to asthma: results from the National Health and

- Nutrition Examination Survey 2005–2006. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;126:798–806.
- [6] Bacal LR. The impact of food allergies on quality of life. *Pediatr Ann*. 2013;42:141–145.
- [7] Beyer K, Eckermann O, Hompes S, Grabenhenrich L, Worm M. Anaphylaxis in an emergency setting - elicitors, therapy and incidence of severe allergic reactions. *Allergy*. 2012;67:1451–1456.
- [8] Boyano-Martínez T, Quirce S, García-Ara C. Accidental allergic reactions in children allergic to hen's egg. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;22:109–115.
- [9] Patriarca G, Nucera E, Pollastrini E, et al. Oral specific desensitization in food-allergic children. *Dig Dis Sci*. 2007;52:1662–1672.
- [10] Staden U, Rolinck-Werninghaus C, Brewé F, Wahn U, Niggemann B, Beyer K. Specific oral tolerance induction in food allergy in children: efficacy and clinical patterns of reaction. *Allergy*. 2007;62:1261–1269.
- [11] Buchanan AD, Green TD, Jones SM, et al. Egg oral immunotherapy in non-anaphylactic children with egg allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2007;119:199–205.
- [12] Morisset M, Moneret-Vautrin DA, Guenard L, et al. Oral desensitization in children with milk and egg allergies obtains recovery in a significant proportion of cases: a randomized study in 60 children with cow's milk allergy and 90 children with egg allergy. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2007;39:12–19.
- [13] Vickery BP, Pons L, Kulis M, Steele P, Jones SM, Burks AW. Individualized IgE-based dosing of egg oral immunotherapy and the development of tolerance. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2010;105:444–450.
- [14] Itoh N, Itagaki Y, Kurihara K. Rush specific oral tolerance induction in school-age children with severe egg allergy: one year follow up. *Allergol Int*. 2010;59:43–51.
- [15] García-Rodríguez R, Urra JM, Feo-Brito F, et al. Oral rush desensitization to egg: efficacy and safety. *Clin Exp Allergy*. 2011;41:1289–1296.
- [16] Burks AW, Jones SM, Wood RA, et al. Oral immunotherapy for treatment of egg allergy in children. *N Engl J Med*. 2012;367:233–243.
- [17] Ojeda P, Ojeda I, Rubio G, Pineda F. Home-based oral immunotherapy protocol with pasteurized egg for children allergic to hen's egg. *Isr Med Assoc J*. 2012;14:34–39.
- [18] Tortajada-Girbés M, Porcar-Almela M, Martorell-Giménez L, Tallón-Gueroia M, Gracia-Antequera M, Codoñer-Franch P. Specific oral tolerance induction (SOTI) to egg: our experience with 19 children. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2012;22:75–77.
- [19] Ruiz-García M, Haroun E, Landivar ME, Torres-Hernandez JA, Sastre J. Commercial dehydrated egg white for specific oral tolerance induction (SOTI): an easier treatment for egg allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2012;22:529–531.
- [20] Meglio P, Giampietro PG, Carello R, Gabriele I, Avitabile S, Galli E. Oral food desensitization in children with IgE-mediated hen's egg allergy: a new protocol with raw hen's egg. *Pediatr Allergy Immunol*. 2013;24:75–83.
- [21] Fuentes-Aparicio V, Alvarez-Perea A, Infante S, Zapatero L, D'Oleo A, Alonso-Lebrero E. Specific oral tolerance induction in paediatric patients with persistent egg allergy. *Allergol Immunopathol*. 2013;41:143–150.
- [22] Vazquez-Ortiz M, Alvaro M, Piquer M, et al. Baseline specific IgE levels are useful to predict safety of oral immunotherapy in egg-allergic children. *Clin Exp Allergy*. 2014;44:130–141.
- [23] Caminiti L, Pajno GB, Crisafulli G, et al. Oral immunotherapy for egg allergy: a double-blind placebo-controlled study, with postdesensitization follow-up. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2015;3:532–539.
- [24] Escudero C, Rodríguez Del Río P, Sánchez-García S, et al. Early sustained unresponsiveness after short-course egg oral immunotherapy: a randomized controlled study in egg allergic children. *Clin Exp Allergy*. 2015;45:1833–1843.
- [25] Escudero C, Sánchez-García S, Rodríguez del Río P, et al. Dehydrated egg white: an allergen source for improving efficacy and safety in the diagnosis and treatment for egg allergy. *Pediatr Allergy Immunol*. 2013;24:263–269.
- [26] Bindslev-Jensen C, Ballmer-Weber BK, Bengtsson U, et al. Standardization of food challenges in patients with immediate reactions to foods—position paper from the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. *Allergy*. 2004;59:690–697.
- [27] Clark AT, Ewan PW. Food allergy in childhood. *Arch Dis Child*. 2003;88:79–81.
- [28] Muraro A, Roberts G, Clark A, et al. EAACI Task Force on Anaphylaxis in Children. The management of anaphylaxis in childhood: position paper of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. *Allergy*. 2007;62:857–871.
- [29] Dreborg S, Frew A. Position paper: allergen standardization and skin tests. *Allergy*. 1993;48:49–54.
- [30] Ibáñez MD, Escudero C, Sánchez-García S, Rodríguez del Río P. Comprehensive review of current knowledge on egg oral immunotherapy. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2015;25:316–328.
- [31] Dello Iacono I, Tripodi S, Calvani M, Panetta V, Verga MC, Miceli Sopo S. Specific oral tolerance induction with raw hen's egg in children with very severe egg allergy: a randomized controlled trial. *Pediatr Allergy Immunol*. 2013;24:66–74.
- [32] Romantsik O, Bruschetti M, Tosca MA, Zappettini S, Della Casa Alberighi O, Calevo MG. Oral and sublingual immunotherapy for egg allergy. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014;11:CD010638.
- [33] Keet CA, Frischmeyer-Guerrero PA, Thyagarajan A, et al. The safety and efficacy of sublingual and oral immunotherapy for milk allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;129:448–455.
- [34] Skripak JM, Nash SD, Rowley H, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled study of milk oral immunotherapy for cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;122:1154–1160.
- [35] Lemon-Mulé H, Sampson HA, Sicherer SH, Shreffler WG, Noone S, Nowak-Wegrzyn A. Immunologic changes in children with egg allergy ingesting extensively heated egg. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;122:977–983.
- [36] Sánchez-García S, Rodríguez Del Río P, Escudero C, Martínez-Gómez MJ, Ibáñez MD. Possible eosinophilic esophagitis induced by milk oral immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;129:1155–1157.

Supplementary Data

eMaterial. Sample Size

The necessary sample size was predetermined to estimate the proportions of patients after egg rush oral immunotherapy (ROIT) and without it; an α of 95% and a statistical power ($1 - \beta$) of 90%; an

expected proportion of 86% in the ROIT1 group based on the study by García Rodríguez et al.¹⁵ and 20% in the control group, although it was expected to find a very low proportion in this group. Assuming of 20% of participants were lost to follow-up in each group, the minimum required sample size was 12 patients in each group. Finally, a few more patients were included because of the opportunity to do so and to ensure achieving our final goal.

Table 1
Study Participant Characteristics

| Patient No. ^a | Sex/age, y | Age of first AE, mo | Diagnosis of respiratory symptoms ^b | Allergy to other foods | Previous anaphylaxis with egg | Symptoms in DBPCFC | Threshold doses, mg | Whole egg SPT result, mm | EW SPT result, mm | Ovalbumin SPT result, mm | Ovomucoid SPT Result, mm | Whole Egg sIgE, kU/L | EW sIgE, kU/L | Ovalbumin sIgE, kU/L | Ovomucoid sIgE, kU/L | EW sIgG4, mg/mL | Ovalbumin sIgG4, mg/mL | Ovomucoid sIgG4, mg/mL |
|--------------------------|------------|---------------------|--|-------------------------------------|-------------------------------|---|---------------------|--------------------------|-------------------|--------------------------|--------------------------|----------------------|---------------|----------------------|----------------------|-----------------|------------------------|------------------------|
| 1 | M/16 | 10 | Yes | Milk Fish Fruits Shellfish | No | Digestive ^d OPS Rhinitis | 50 | 11 | 8 | 5 | 7 | 7.78 | 6.09 | 4.75 | 0.85 | 0.14 | 0.12 | 0.03 |
| 2 | M/15 | 12 | Yes | No | Yes | Digestive OPS Urticaria Rhinitis | 225 | 9 | 8 | 9 | 10 | 10.8 | 10.5 | 5.53 | 11.5 | 0.02 | 0.02 | 0.01 |
| 3 | F/12 | 12 | No | Fruits Nuts | No | Digestive OPS | 450 | 10 | 7 | 5 | 6 | 5.45 | 4.78 | 1.54 | 1.6 | 0.17 | 0.22 | 0.03 |
| 4 | F/12 | 5 | Yes | Milk | No | Digestive OPS Dermatitis | 1800 | 5 | 7 | 7 | 5 | 1.83 | 1.74 | 0.63 | 1.92 | 0.07 | 0.08 | 0.03 |
| 5 | M/10 | 5 | No | Milk | Yes | Urticaria OPS | 225 | 6 | 8 | 10 | 6 | 6.81 | 6.02 | 4.1 | 6.09 | 0.04 | 0.03 | 0.01 |
| 6 ^b | F/10 | 6 | No | No | No | Digestive OPS | 100 | 9 | 8 | 10 | 5 | 32.8 | 25.4 | 6.9 | 4.76 | 0.63 | 0.42 | 0.26 |
| 7 | F/10 | 9 | Yes | Fish Shellfish | Yes | Digestive OPS Rhinitis | 100 | 12 | 10 | 7 | 6 | 3065 | 1735 | 1075 | 515 | 0.55 | 0.5 | 0.28 |
| 8 ^b | F/9 | 9 | Yes | Milk | Yes | Digestive Rhinitis | 225 | 7 | 6 | 6 | 7 | 104 | 112 | 50.5 | 46.1 | 2.96 | 2.39 | 1.99 |
| 9 | M/12 | 10 | Yes | No | No | Digestive OPS | 450 | 10 | 9 | 12 | 11 | 5.48 | 5.43 | 3.61 | 6.57 | 0.21 | 0.14 | 0.13 |
| 10 | F/8 | 9 | Yes | No | No | Urticaria Digestive OPS | 225 | 7 | 5 | 3 | 6 | 10.9 | 9.83 | 8.73 | 3.78 | 0.83 | 0.76 | 0.97 |
| 11 | M/8 | 11 | No | Milk Fish Shellfish Nuts | No | Digestive Urticaria | 1800 | 5 | 6 | 5 | 4 | 1.96 | 1.82 | 1.85 | 0.66 | 0.04 | 0.03 | 0.01 |
| 12 | M/8 | 12 | No | No | No | Digestive OPS | 100 | 6 | 6 | 6 | 5 | 4.85 | 4.75 | 2.19 | 5.59 | 0.07 | 0.04 | 0.06 |
| 13 | M/7 | 8 | No | Shellfish Nuts | No | Digestive OPS Urticaria Rhinitis | 225 | 5 | 7 | 7 | 6 | 3.34 | 3.12 | 1.23 | 3.78 | 0.06 | 0.07 | 0.02 |
| 14 | M/8 | 18 | No | No | No | Digestive OPS | 450 | 5 | 7 | 5 | 5 | 15.2 | 13.9 | 9.16 | 13.3 | 1.12 | 0.87 | 0.73 |
| 15 | F/12 | 24 | No | No | No | Urticaria Rhinitis | 3600 | 4 | 8 | 4 | 3 | 0.68 | 0.61 | 0.43 | 0.46 | 1.15 | 1.12 | 0.13 |
| 16 | M/13 | 14 | Yes | Fruits Nuts | Yes | Urticaria Angioedema Conjunctivitis | 1800 | 5 | 6 | 5 | 4 | 0.32 | 0.28 | 0.15 | 0.26 | 0.09 | 0.07 | 0.01 |
| 17 | F/10 | 8 | Yes | Shellfish | No | Digestive OPS | 225 | 7 | 7 | 8 | 9 | 14.3 | 13.1 | 7.23 | 13.4 | 0.56 | 0.48 | 0.25 |
| 18 | M/13 | 16 | No | No | No | Urticaria Digestive OPS | 1800 | 8 | 6 | 5 | 8 | 3.13 | 3.02 | 1.53 | 4.1 | 0.57 | 0.42 | 0.82 |

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------|------|----|-----|---------------------------|-----|--|------|----|----|----|----|------|------|------|------|------|------|------|
| 19 | M/15 | 12 | Yes | Fish Nuts | Yes | Digestive OPS | 1800 | 5 | 8 | 6 | 5 | 5.95 | 4.72 | 0.76 | 0.92 | 2.37 | 1.79 | 0.66 |
| 20 | M/12 | 6 | Yes | Milk Nuts | Yes | Digestive OPS Urticaria Rhinitis Respiratory Digestive OPS | 225 | 8 | 7 | 4 | 5 | 7.1 | 6.02 | 2.48 | 4.14 | 0.48 | 0.28 | 0.6 |
| 21 | M/11 | 8 | Yes | No | Yes | Angioedema Digestive OPS | 100 | 10 | 9 | 6 | 5 | 3.56 | 3.1 | 2.31 | 1.72 | 0.34 | 0.26 | 0.3 |
| 22 | M/10 | 8 | Yes | Fruits Nuts | Yes | Angioedema Digestive OPS | 225 | 7 | 7 | 5 | 5 | 6.49 | 6.01 | 2.55 | 7.7 | 2.22 | 3.08 | 0.68 |
| 23 | F/10 | 6 | Yes | Milk | No | Urticaria Rhinitis Digestive OPS | 1800 | 8 | 5 | 7 | 6 | 2.52 | 2.21 | 1.83 | 1.76 | 1.41 | 1.08 | 0.37 |
| 24 | M/11 | 8 | Yes | Fish Shellfish Nuts | Yes | Respiratory Digestive OPS | 1800 | 12 | 10 | 12 | 8 | 13.7 | 7.52 | 1.78 | 6.45 | 1.15 | 1.13 | 0.78 |
| 25 | M/8 | 6 | No | Milk | No | Urticaria Digestive OPS | 450 | 6 | 7 | 6 | 4 | 2.33 | 2.11 | 0.98 | 2.56 | 0.68 | 0.72 | 0.28 |
| 26 | F/13 | 9 | No | Fruits Nuts | Yes | Urticaria Rhinitis Digestive OPS | 225 | 7 | 13 | 8 | 9 | 8.11 | 7.89 | 3.49 | 10.5 | 0.12 | 0.1 | 0.08 |
| 27 | M/6 | 9 | No | Milk Cereals | Yes | Digestive OPS | 20 | 5 | 7 | 7 | 5 | 56.6 | 48.7 | 25.8 | 37.9 | 0.28 | 0.18 | 0.3 |
| 28 ^b | F/7 | 6 | Yes | Milk Nuts Shellfish | No | Rhinitis Digestive OPS | 50 | 8 | 11 | 11 | 7 | 664 | 580 | 526 | 184 | 0.85 | 0.78 | 0.47 |
| 29 | F/11 | 84 | No | Shellfish Nuts | No | Respiratory Digestive OPS | 450 | 5 | 5 | 4 | 7 | 1.89 | 1.67 | 2 | 0.18 | 1.06 | 0.67 | 0.83 |
| 30 | F/7 | 13 | Yes | Legumes | No | Digestive OPS | 50 | 11 | 10 | 13 | 10 | 59.3 | 45.3 | 24.3 | 8.51 | 1.18 | 1.27 | 0.28 |
| 31 | F/8 | 25 | Yes | Milk Fruits | Yes | Angioedema Rhinitis | 900 | 3 | 5 | 6 | 2 | 0.97 | 0.91 | 0.63 | 0.65 | 0.29 | 0.22 | 0.27 |
| 32 | M/13 | 15 | Yes | No | Yes | Respiratory OPS Angioedema | 225 | 5 | 8 | 5 | 7 | 0.55 | 0.55 | 0.31 | 0.59 | 0.01 | 0.01 | 0.01 |
| 33 | F/9 | 14 | No | Fruits | No | Rhinitis Digestive OPS | 50 | 8 | 6 | 11 | 7 | 1312 | 1023 | 816 | 402 | 2.29 | 2.08 | 0.89 |

Abbreviations: AE, adverse event; DBPCFC, double-blind, placebo-controlled food challenge; FW, egg white; OPS, oropharyngeal symptoms; sIgE, serum specific IgE; SPT, skin prick test.

^a1–19, Patients belonging to rush oral immunotherapy 1 group; 20–33, patients belonging to the control group.

^bPatients who did not finish the protocol.

^cRespiratory symptoms include cough, wheezing, and/or dyspnea.

^dDigestive symptoms include moderate-severe persistent abdominal pain, nausea or vomiting, and/or diarrhea.

10.8 Anexo VIII: Trayectoria del doctorando

En este anexo se describe la trayectoria investigadora del candidato, incluyendo los cursos de doctorado y las líneas de investigación ejercidas durante sus etapas formativa y laboral, así como las publicaciones conseguidas relacionadas con el presente documento.

10.8.1 Cursos de doctorado y líneas de investigación

- Programa de Doctorado “Avances en Medicina”, coordinado por el Departamento de Ciencias Biomédicas de la Universidad de Extremadura (UEX):

El candidato realizó los periodos de Docencia e Investigación en la UEx, obteniendo una calificación final en todos los cursos realizados de “sobresaliente”, como se puede observar en la Certificación Académica Personal de Estudios de Doctorado. Asimismo, obtuvo la Suficiencia Investigadora también por la UEx, a fecha de 27/05/10 con calificación de “sobresaliente”, como se recoge en el Diploma de Estudios Avanzados de Doctorado.

460331 1 / 2

**CERTIFICACION ACADEMICA PERSONAL
ESTUDIOS DE DOCTORADO**

DATOS DEL ALUMNO/A:
 Nombre y apellidos: INMACULADA PÉREZ RANGEL
 DNI: 34777230
 Fecha de nacimiento: 07-02-1982
 Acceso: LICENCIADO. Universidad: UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA
 Título de acceso: LICENCIADO EN MEDICINA
 Programa de Doctorado: D044 AVANCES EN MEDICINA
 Departamento: CIENCIAS BIOMÉDICAS
 Nº de expediente: 25

D. CÁNDIDO MURIEL PÉREZ, Jefe de la Sección de Becas y Tercer Ciclo, CERTIFICA que los datos que se reseñan a continuación son exactos, y reflejan el estado actual del expediente académico del alumno /a cuyos datos figuran en la cabecera de este documento.

PERÍODO DE DOCENCIA

| CÓDIGO | CURSOS Y/O SEMINARIOS | CRÉD T | CURSO CONV | CALIFICACIÓN |
|--------|--|--------|-------------|-----------------|
| 314018 | AVANCES EN DERMATOLOGÍA. | 3 | F 07-08 JUN | SOBRESALIENTE 9 |
| 314019 | AVANCES EN PEDIATRÍA Y CIRUGÍA PEDIÁTRICA. | 9 | F 07-08 JUN | SOBRESALIENTE 9 |
| 314021 | AVANCES EN MEDICINA INTERNA. | 10 | F 07-08 JUN | SOBRESALIENTE 9 |

TIPO **CRÉDITOS SUPERADOS**

(F) FUNDAMENTAL 22,0

Total..... 22,0

La superación de los créditos señalados acredita la superación del periodo de docencia de tercer ciclo de estudios universitarios.

CALIFICACIÓN MEDIA: SOBRESALIENTE (9)

PERÍODO DE INVESTIGACIÓN

| CÓDIGO | CURSOS Y/O SEMINARIOS | CRÉD T | CURSO CONV | CALIFICACIÓN |
|--------|-----------------------------|--------|-------------|-----------------|
| 314026 | AVANCES EN MEDICINA INTERNA | 12 | R 08-09 JUN | SOBRESALIENTE 9 |

TIPO **CRÉDITOS SUPERADOS**

(R) TRABAJO DE INVESTIGACION 12,0

Total..... 12,0



- Admisión en la Universidad Autónoma de Madrid (UAM) en Febrero/2013 para realización y lectura del proyecto de Tesis Doctoral.

En su etapa formativa, el candidato tuvo la gran oportunidad de entrar en contacto con grandes grupos de investigación en Alergología e Inmunología Clínica, a la cabeza la Dra. D^a M^a Dolores Ibáñez Sandín en Madrid y la Dra. D^a. Mariana Castells en Boston, referentes a nivel nacional e internacional en la alergia a alimentos y medicamentos, respectivamente. Ello le permitió meterse de lleno en el mundo de la investigación, compartiendo con el personal investigador de dichos centros, nutriéndose de experiencia y visión investigadora. Ya en su etapa laboral, colaboró de forma activa en varias investigaciones en Alergología, especialmente en la línea de la alergia a alimentos en población infantil. La experiencia adquirida le permitió solicitar y conseguir las Ayudas Merck Serono de Investigación

concedidas en el año 2012 por la Fundación Salud 2000 (actualmente Fundación Merck Salud, que fue parte del sustento económico para llevar a cabo este estudio. Hasta el día de hoy y gracias al trabajo realizado, además ha podido colaborar con el CIAL (CSIC – UAM), que le ha servido para formarse y ganar experiencia en el ámbito global de la cooperación investigadora.

Durante todo el periodo de investigación y trabajo, el candidato ha contado con el apoyo incondicional y las valiosas enseñanzas de la Dra. D^a. M^a Dolores Ibáñez Sandín, directora del presente trabajo de investigación, quien ha sido la guía perfecta durante el transcurso de las investigaciones llevadas a cabo en este campo.

A continuación se exponen los centros de investigación donde ha trabajado el candidato y las líneas de estudio realizadas en cada uno de ellos:

| Institución | Responsable | Año | Descripción |
|---|--|-----------|---|
| Servicio de Alergia Hospital Infantil Universitario Niño Jesús de Madrid | M ^a Dolores Ibáñez Sandín | 2009 | Inmunoterapia oral en alergia persistente a leche y huevo en población infantil |
| Departamento de Inmunología Fundación Jiménez Díaz de Madrid | Victoria del Pozo Abejón | 2010 | * Análisis de eosinófilos en esputo y sangre periférica por citometría de flujo * Procesamiento de extractos alérgicos * Western-blotting con alérgenos |
| Division of Rheumatology, Immunology and Allergy Brigham and Women’s Hospital (Harvard, Boston, MA) | Mariana Castells | 2010 | “Mast cell mediators of rapid IgE desensitizations” * Cuidado de ratones transgénicos * Cultivo de mastocitos * Procesamiento de ADN * Realización de PCR, electroforesis y citometría de flujo con mastocitos de ratones transgénicos estimulados con alérgenos (OVA y cacahuete) * Abordaje clínico multidisciplinar de desensibilizaciones a medicamentos |
| Servicio de Alergia Infantil Hospital Infantil Universitario Niño Jesús de Madrid Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CSIC-UAM) | M ^a Dolores Ibáñez Sandín Elena Molina Hernández | 2012-2013 | “Estudio aleatorizado con grupo control de inmunoterapia oral rápida con huevo en niños con alergia persistente mediada por IgE: desensibilización clínica y modulación de la respuesta inmunológica” |

10.8.2 *Producción científica*

Durante la realización del trabajo de investigación descrito en la presente memoria, el candidato ha presentado los avances realizados a la comunidad científica en forma de diferentes publicaciones de relevancia. En este sentido, se han conseguido 2 publicaciones en

revistas internacionales de impacto y un tercer artículo en fase de escritura. Asimismo, el candidato ha colaborado en otras publicaciones científicas relacionadas con la alergia a alimentos y la ITO con alimentos, algunas de las cuales han sido presentadas y premiadas en foros internacionales de la Especialidad de Alergología e Inmunología Clínica. Finalmente, el candidato es también autor de un capítulo de un libro divulgativo sobre investigación en dicho campo, a través de la Fundación Merck Salud.

10.8.2.1 Revistas internacionales de impacto

1. Escudero C, Sánchez-García S, Rodríguez del Río P, Pastor-Vargas C, García-Fernández C, **Pérez-Rangel I**, Ramírez-Jiménez A, Ibáñez MD. Dehydrated egg white: an allergen source for improving efficacy and safety in the diagnosis and treatment for egg allergy. *Pediatr Allergy Immunol*. 2013;24(3):263-9 [factor de impacto 3.859].

2. Benedé S, **Pérez-Rangel I**, Lozano-Ojalvo D, Molina E, Ibáñez MD, López-Fandiño R, López-Expósito I. Anaphylaxis induced by a drug containing lysozyme and papain: influence of papain on the IgE response. *Int Arch Allergy Immunol*. 2014;165(2):83-90 [factor de impacto 2.433]. En esta publicación, realizada a partir de un caso clínico procedente del presente estudio de investigación, se concluye que la administración combinada de lisozima con enzimas proteolíticas como la papaína puede ocasionar una reacción alérgica, por lo que es de vital importancia considerar todos los componentes e interacciones cuando los fármacos sean consumidos por personas alérgicas.

3. Escudero C, Rodríguez Del Río P, Sánchez-García S, **Pérez-Rangel I**, Pérez-Farinós N, García-Fernández C, Ibáñez MD. Early sustained unresponsiveness after short-course egg oral immunotherapy: a randomized controlled study in egg allergic children. *Clin Exp Allergy*. 2015;45(12):1833-43 [factor de impacto 4.324].

4. **Pérez-Rangel I**, Rodríguez Del Río P, Escudero C, Sánchez-García S, Sánchez-Hernández JJ, Ibáñez MD. Efficacy and safety of high-dose rush oral immunotherapy in persistent egg allergic children: a randomized clinical trial. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2017;118(3):356-64.e3 [factor de impacto 2.746]. En esta publicación se comunica el trabajo de investigación desarrollado en el presente documento y se recogen la mayor parte de los resultados obtenidos.

10.8.2.2 Congresos internacionales (premios recibidos)

1. **Pérez-Rangel I**, Candón-Morillo R, Rodríguez-del Río P, Sánchez-García S, Escudero-Díez C, Ibáñez-Sandín MD. Allergy to goat and sheep cheese in a paediatric population desensitized to cow's milk by specific oral tolerance induction (SOTI). Abstract session "Pediatric food allergy II", 29th Congress EAACI 2010.

2. Candón-Morillo R, **Pérez-Rangel I**, Ramírez-Jiménez A, Rodríguez-del Río P, Escudero-Díez C, Ibáñez-Sandín MD. Goat and sheep's milk severe allergy and its role as a hidden allergen. Abstract session "Adult food allergy: fish, wine and dairy products", 29th Congress EAACI 2010.

10.8.2.3 Libros divulgativos

1. Inmaculada Pérez. Estudio aleatorizado con grupo control de inmunoterapia oral rápida con huevo en niños con alergia persistente IgE mediada: desensibilización clínica y modulación de la respuesta alérgica. *Proyecto Innova* (Innovación e Investigación en Alergología). Pág:23-7. Fundación Merck Salud. ISBN: 978-84-940824-8-1. D.L.: M-9379-2017.

