



MÁSTER
UNIVERSITARIO EN
INVESTIGACIÓN
Y MEDICINA
CLÍNICA



FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ

**Valoración de la tolerancia a leches de cabra y oveja
en pacientes alérgicos a proteínas de leche de vaca,
desensibilizados con éxito**

Alumno: Candón Morillo, Rocío
Tutor: Fernández Sánchez, Francisco Javier

Curso: 2015 - 2016

INDICE:

○ Aspectos preliminares	
○ RESUMEN/ PALABRAS CLAVES.....	3
○ ABSTRACT/ KEY WORDS.....	3
○ Cuerpo del TMF	
○ INTRODUCCION. ESTADO ACTUAL DEL LA CUESTION.....	4
○ HIPOTEISIS DEL TRABAJO.....	7
○ OBJETIVOS	
○ OBJETIVO PRINCIPAL.....	7
○ OBJETIVOS SECUNDARIOS.....	7
○ METODOLOGIA	
○ Diseño.....	8
○ Métodos.....	8
○ Lugar de estudio.....	9
○ Tiempo de estudio.....	9
○ Tamaño de la muestra.....	9
○ Sujetos	
▪ Criterios de inclusión.....	10
▪ Criterios de exclusión.....	10
○ Variables del estudio.....	11
○ Análisis de datos.....	12
○ Dificultades y limitaciones.....	14
○ PLAN DE TRABAJO.....	14
○ ASPECTOS ETICOS.....	18
○ APLICABILIDAD Y UTILIDAD DE RESULTADOS.....	18
○ PRESUPUESTO.....	19
○ Bibliografía.....	20

RESUMEN

Introducción: La alergia a proteínas de la leche de vaca (plv) es la segunda causa más frecuente de alergia alimentaria en niños. Los niños alérgicos a plv que la superan mediante una inducción de tolerancia oral (ITO), pueden realizar dieta libre con esta leche pero desconocemos si toleraran también leches de cabra y oveja.

Objetivos: Comprobar la tolerancia a leches de cabra y oveja en niños que toleran leche de vaca tras finaliza ITO.

Material y Métodos

- **Diseño:** Realizamos un estudio descriptivo sobre la tolerancia de leche de oveja y/o cabra en niños que han finalizado ITO exitosamente.
- **Sujetos:** Participarán 42 niños desensibilizados a proteínas de la leche de vaca en nuestras consultas
- **Metodología:** Realizamos test cutáneos y análisis de Ig E específica frente a leches de vaca, cabra, oveja, caseína, alfa-lactoalbúmina y beta-lactoglobulina a los 42 niños desensibilizados con éxito a leche de vaca.
- **Análisis estadístico:** solo hemos llevado a cabo las provocaciones en 21 pacientes : 5 pacientes (23.8%) toleraron ambas leches y 16 (76.2%) no llegan a tolerar las dos leches

Presupuesto: Este trabajo no está remunerado, ni los investigadores ni los pacientes recibirán aportación económica

PALABRAS CLAVES leche, vaca, cabra, oveja, quesos, desensibilización, tolerancia.

ABSTRACT

Introduction: Cow's milk allergy (CM), is the second most frequent cause of food allergy in children. Children with allergy to CM, outgrow it by oral induction tolerance (OIT), can be performed with this milk-free diet but we don't know if they can tolerated goat and sheep milk (GSM).

Objective: To describe the tolerance to GSM in children who tolerate cow's milk after ITO.

Material and methods

- **Design:** A descriptive study about the tolerance to GSM in children who have successfully completed ITO.
- **Subjects:** 42 children participate desensitized to CM in our consultations.

- Methodology: We performed skin tests and analysis of specific IgE against cow's milk, goat, sheep, casein, alpha-lactalbumin and beta-lactoglobulin to 42 children successfully desensitized cow's milk.
- Statistical analysis: we only weighed out provocations in 21 patients: 5 patients (23.8%) tolerated both milks and 16 patients (76.2%) didn't tolerate some of the two milks.

Budget: This work is unpaid, neither researchers nor patients will receive financial contribution.

KEYWORDS milk, cow, goat, sheep, cheese, desensitization, tolerance

INTRODUCCION. ESTADO ACTUAL DE LA CUESTION

La lactancia materna es el alimento ideal para niños en los primeros 6 meses de vida. En los casos en los que ésta alimentación no es posible, la leche materna se sustituye de forma parcial o completa por formulas lácteas adaptadas de proteínas de leche de vaca (plv). Las plv son por lo tanto, los primeros alérgenos alimentarios a los que se expone el niño en nuestro medio y en consecuencia van a ser las responsable de las primeras reacciones alérgicas a alimentos que pueden manifestar los lactantes atópicos.

La alergia a plv es la segunda causa más frecuente de alergia a alimentos en niños. Las proteínas de leche de vaca ocupan el tercer lugar en frecuencia como causa de alergia alimentaria en la infancia, después del huevo y el pescado¹. Hasta hace unos años, el tratamiento para los pacientes alérgicos a plv era la evitación de la leche y de alimentos que la contengan con el peligro de sufrir ingestas inadvertidas y las limitaciones nutricionales y de la calidad de vida que ello conlleva.

La leche de vaca y los alimentos que contienen plv son un componente muy importante en la alimentación de los niños en el mundo occidental por lo que su exclusión de la dieta constituyen un problema para la adecuada nutrición de los alérgicos a plv, que se complica por la dificultad de evitar de forma estricta su ingestión accidental al formar parte de la composición de muchos alimentos elaborados e incluso estar presentes en muy pequeñas cantidades de forma oculta en algunos alimentos manufacturados en los que no consta que contengan plv².

En la evolución de la alergia a las plv con dieta de exclusión, al periodo de sensibilización clínica le sigue otro de sensibilización asintomática, hasta conseguir la tolerancia total con la desaparición de los anticuerpos IgE específicos. No todos los alérgicos a plv alcanzan la tolerancia, en algunos casos tiende a persistir durante años y cuanto más tiempo se mantiene

la sensibilización sintomática, es menor la probabilidad de que se resuelva, siendo un índice de mal pronóstico la persistencia de la reactividad clínica a los 5 años de edad³, la existencia de niveles elevados de IgE a leche de vaca y caseína⁴⁻⁶ y la presencia de IgE frente a determinados epítomos alergénicos de las plv⁷.

Pasados los 4 años de edad, aquellos niños que no superan la alergia plv se someten a tratamiento de desensibilización o inducción e tolerancia oral (ITO) a plv.

Una vez alcanzada la tolerancia a leche de vaca, podremos indicar al paciente que realice dieta libre de ésta leche pero deberemos comprobar si existe tolerancia a resto de leches de mamíferos (cabra y oveja).

Los niños afectados por alergia a las proteínas de la leche de vaca pueden a veces desarrollar alergia a la leche de oveja o de cabra, o de queso elaborado con leche de oveja o de cabra. Esto es probablemente debido a la considerable reactividad cruzada entre estos tipos de leches, debido principalmente a las caseínas lo que se supone que no son específicas de especies⁸.

La alergia a proteínas de la leche de vaca es una de las causas más frecuentes de alergia alimentaria en la infancia y las caseínas son probablemente los principales alérgenos implicados. Ya ha sido descrita con anterioridad la existencia de alto grado de reactividad cruzada entre las caseínas de distintos animales⁹.

Las principales proteínas alergénicas en la vaca de la leche son b-lactoglobulina, una lactoalbúmina, suero y caseínas albúmina¹⁰. Estudios recientes sugieren que la caseína puede ser el alérgeno principal tanto en niños¹¹ y los adultos¹². Se ha reportado que las caseínas representan el 80% de la masa en la leche, y la existencia de reactividad cruzada entre las caseínas de la leche de diferentes animales¹³.

La reactividad cruzada entre las caseínas de vaca, cabra y oveja es debido a la similitud de las secuencia entre los aminoácidos^{12,13}.

Los niños alérgicos a plv se sensibilizan a las proteínas de suero de leche y/o a la fracción de caseínas y muchos de ellos también reaccionan frente a leches de cabra o de oveja debido al alto grado de homología en la secuencia entre las proteínas correspondientes. A la inversa, la alergia a leches de cabra y oveja no conlleva usualmente alergia por reactividad cruzada a la leche de vaca, pocos casos han sido reportados recientemente en la literatura¹⁴.

Aunque alergia a leches de cabra y oveja en ausencia de alergia a leche de vaca han sido reportados¹⁵⁻¹⁶.

El tratamiento activo basado en desensibilización a plv es cada vez más popular con una alta tasa de éxito que oscila 65 a 90%¹⁷⁻¹⁸. Los alérgenos más importantes de la leche de vaca son

la caseínas y las proteínas de suero de leche, α -lactoalbúmina (ALA) y b-lactoglobulina (BLG)¹⁹, pero la caseína desempeña el papel principal en cuanto a la reactividad cruzada entre la leche de bovino y la leche de otros de mamíferos²⁰. La alta reactividad cruzada entre la leche de cabras, ovejas y vacas que se describen en la literatura hace que se prohíban las leches de oveja y de cabra en pacientes con alergia proteínas de leche de vaca²⁰. Poco se sabe acerca de la tolerancia a leches de cabra y oveja en los pacientes que realizaron desensibilización a plv. Sin embargo, hay muy pocos informes publicados de casos de alergia a la leches de cabra y oveja en tolerantes a leche de vaca²¹ y tampoco en pacientes después de la inducción de tolerancia oral (ITO) con CM²².

En una revisión realizada por Pablo Rodríguez del Rio et cols, se establece que la prevalencia de alergia a leches de cabra y oveja en niños tratados con ITO a plv, es de 26%²³. En el estudio establecen además que la Ig E específica a caseína de leches de vaca, a leche de cabra y oveja es un buen marcador de esta alergia. Aunque la ITO a leche de vaca es un tratamiento específico frente a esta leche, no es efectivo frente a la alergia a leche de otros mamíferos. En el trabajo concluyen que con la hipótesis de que los pacientes a leches de cabra y oveja se sensibilizan principalmente para leches de cabra y oveja, ya que pueden reconocer epítomos caseína en leches de cabra y oveja, pero no en la caseína de leche de vaca CM (14), aunque no podemos decir si esta sensibilización fue antes o después de la inducción de tolerancia o especificar la ruta de sensibilización. En el grupo de pacientes alérgicos a leches de cabra y oveja la desensibilización a leche de vaca de vaca era específica de alérgeno para esta leche CM, pero no para leches de cabra y oveja²³.

En la fase de mantenimiento de la ITO a plv permitimos a los pacientes tomar a diario leche de vaca a diario (mínimo 200 ml de leche) y alimentos que la contenga. En ocasiones la leche de vaca puede estar mezclada con leches de otros mamíferos (en nuestro medio cabra y oveja principalmente) y muchas veces pueden no estar declaradas en el etiquetado sino ser un alérgeno oculto, apareciendo así reacciones severas. Estos alimentos son principalmente quesos, bebidas lácteas, yogures, snacks de sabor queso, sopas instantáneas..., productos del campo de la cosmética (cremas hidratantes a base de leche, lociones, cremas faciales anti-edad y champús...) e incluso en la leche de cabra se usa para preparación de fórmulas infantiles.

Por ello tras finalizar ITO con plv deberemos realizar provocaciones controladas con leches de cabra y oveja con el objetivo de conocer la tolerancia o no a éstas y de esta manera hacer recomendaciones estrictas a los padres sobre lo las restricciones que deben llevar a cabo para así:

- Disminuir el riesgo de reacción por su ingestión accidental.
- Mejorar la calidad de vida y la nutricional
- Mejorar la calidad de vida de las familias de los niños alérgicos, que pueden tener dificultades con los comedores de colegios
- Reducir los costos sanitarios derivados de la atención de estos niños en urgencias y absentismo laboral de los padres

HIPÓTESIS DE TRABAJO:

Las proteínas de leche de vaca están entre las causas más comunes de alergia en la infancia.

A partir de los 2 años de edad sólo el 32 % de los alérgicos a las plv que siguen dieta de exclusión toleran la leche de vaca a los 3 años y el 43 % a los 4 años, por lo que a esta edad deberemos inducir tolerancia mediante desensibilización a plv. Tras alcanzar su tolerancia, nos planteamos si debemos recomendar evitar leches de oveja y cabra a estos pacientes o por el contrario indicar dieta libre de lácteos de otros mamíferos (cabra y oveja).

Esta hipótesis la podemos formular de forma operativa como sigue:

Hipótesis nula: pacientes desensibilizados a plv toleran leches de cabra u oveja

% de niños tolerantes a proteínas de leche de vaca = % de niños tolerantes a leche de oveja y cabra.

Hipótesis alternativa: pacientes desensibilizados a plv no toleran leches de cabra y oveja

% de niños tolerantes a proteínas de leche de vaca \neq % de niños tolerantes a leche de oveja y cabra.

OBJETIVOS:

Objetivo principal: Confirmar que tras finalizar el protocolo de desensibilización a las proteínas de la leche de vaca conseguimos que los pacientes alcancen también la tolerancia de leches de oveja y cabra.

Objetivos secundarios:

Factores previos que puedan influir en el resultado de la aplicación de la pauta de desensibilización.

Determinar perfil de gravedad de efectos adversos relacionados con la ingesta de leches de oveja y cabra.

METODOLOGIA

DISEÑO DEL ESTUDIO:

Realizamos un estudio observacional descriptivo sobre la tolerancia de leche de oveja y/o cabra en niños desensibilizados con éxito a plv.

METODOS:

Realizaremos test cutáneos, análisis de Ig E específica frente a leches de vaca, cabra, oveja, caseína, alfa-lactoalbúmina y beta-lactoglobulina y provocaciones orales controladas con leches de cabra y oveja.

Para realizar estos procedimientos, tendremos en cuenta las siguientes pautas:

Pruebas cutáneas (PC):

Se llevan a cabo mediante la técnica de puntura (prick) con los siguientes extractos alergénicos: leche de vaca (10 mg/ml) de Laboratorios ALK-abello, caseína (10 mg/ml), alfa-lactoalbúmina (5 mg/ml), beta-lactoglobulina (5 mg/ml) de los Laboratorios Probelte. Realizaremos también PC con un control negativo con el disolvente de los extractos (suero fisiológico glicerinado con fenol al 0,4 %) y como control positivo una solución de histamina (10 mg/ml).

Lectura a los 15 minutos y el resultado se expresará el resultado como la semisuma de los diámetros mayor y menor de la pápula en mm. Se considerará positiva la pápula de diámetro medio mayor de 3 mm que el control negativo.

Determinación de IgE sérica específica:

Los niveles de anticuerpos IgE para leche de cabra y oveja caseína, alfa-lactoalbúmina y beta-lactoglobulina en el suero de los pacientes, se analizarán mediante la técnica CAP-FEIA (Pharmacia Diagnostics, Uppsala, Suecia). Se considerará positivo un valor superior a 0,35 KU/l.

Provocación oral controlada con leche de cabra y oveja

- Condiciones previas:
 - 4 horas de ayuno.
 - Clínicamente asintomático. Auscultación respiratoria normal.
 - En pacientes con dermatitis atópica, debe estar controlada con ausencia de lesiones agudas de eczema.
 - Evitar la administración de medicación que puede alterar la respuesta clínica:
 - Antihistamínicos: 5 días
 - Hidroxicina y ketotifeno: 7 días.

- Beta-adrenérgicos inhalados, bromuro de ipratropio, teofilina de absorción rápida: 12 horas.
 - Beta-adrenérgicos orales, teofilina de liberación retardada: 24 horas.
 - Cromoglicato disódico, nedocromil sódico: 48 horas
 - Esteroides inhalados y parenterales: 7 días
- Metodología:
 - Con intervalos de 30 minutos hasta la dosis total (200 ml) o aparición de manifestaciones clínicas (cutáneas, digestivas o respiratorias) compatibles con alergia de tipo inmediato
 - Dosis: 1ª dosis: 2 ml., 2ª dosis: 5ml., 3ª dosis: 10 ml., 4ª dosis: 25 ml., 5ª dosis: 60 ml., 6ª dosis: 140 ml.
 - Observación durante dos horas después de la última dosis
 - Se considera positiva la prueba cuando se observen manifestaciones cutáneas (urticaria, angioedema y/o eritema), digestivas (vómitos y/o diarrea aguda) o respiratorias (broncoespasmo), en las dos horas de la toma del alimento

LUGAR DE ESTUDIO:

El estudio se realizará en el Hospital Mancha Centro (Alcázar de San Juan, Ciudad Real) en el servicio de Alergología.

TIEMPO DE ESTUDIO:

El estudio se llevará cabo con 42 niños desensibilizados a plv desde 2012 al 2015 en las consultas de alergología de nuestro hospital que mantienen en la actualidad el consumo diario de un mínimo de 200 ml de leche de vaca.

Las provocaciones orales con leches de cabra y oveja se han realizado hasta el momento en un total de 21 (50%) niños y a día de hoy que se siguen llevando a cabo.

TAMAÑO DE LA MUESTRA:

Mediante el programa EPIDATA 4.0. calcularemos el número de pacientes que debemos incluir en nuestro estudio para que las conclusiones no se vean afectadas por errores aleatorios.

Calcularemos el tamaño de la muestra para el contraste de hipótesis, teniendo en cuenta que riesgo de expuestos (pacientes desensibilizados a plv que no toleran leches de cabra ni oveja) según la bibliografía consultada es de 26% y la de no expuestos (pacientes desensibilizados a plv que toleran leches de cabra y oveja) es de 74 %. La razón de no expuestos/ expuesto es de 2.8. Por lo tanto, el tamaño muestral que necesitamos, con IC del 95% y una potencia del

80%, es de 42 pacientes.

El reclutamiento de los pacientes se ha llevado a cabo por muestreo no probabilístico consecutivo a medida que acudían a la consulta en el periodo de tiempo desde enero 2012 a diciembre 2015 para reclutar a todos los pacientes estimados.

SUJETOS:

Participarán 42 niños desensibilizados a proteínas de la leche de vaca en nuestras consultas entre 2015-2016.

Los pacientes reclutados podrán abandonar o ser retirados del estudio en todo momento por voluntad propia o a nuestro criterio si apareciera algún efecto adverso.

Así mismo, por motivos de seguridad el investigador principal podrá decidir interrumpir el estudio.

De los 42 pacientes desensibilizados, 27 (64.2%) de ellos eran mujeres y 15 (35.7%) eran hombres, entre ellos había 30 (70%) pacientes con antecedentes de atopia (asma, rinitis, dermatitis atópica, o alergia alimentaria). La edad media de los pacientes era 5.5 años.

El reclutamiento de los pacientes se realizará por muestreo no probabilístico consecutivo a medida que iban finalizando el tratamiento de desensibilización a proteínas de leche de vaca y que cumplan los siguientes criterios de inclusión:

1. Niños de ambos sexos de edad igual o mayor de 4 años
2. Niños con alergia mediada por IgE a proteínas de leche de vaca (plv) superada mediante nuestra pauta de desensibilización realizada en nuestras consultas
3. Niños desensibilizados a plv que toleran en la actualidad al menos 200ml leche de vaca
4. Que en las 4 semanas previas a provocación presenten pruebas cutáneas (Prick) con leche de cabra y oveja ≥ 3 mm
5. Que en las 6 meses previos a provocación tengan IgE específica (CAP-FEIA) $> 0,35$ KU/l para leche de cabra y oveja
6. Que tras la información de riesgos y beneficios a los padres, acepten y firmen el consentimiento informado

Se consideran criterios de exclusión:

1. Clínica de shock anafiláctico al tomar leche de cabra y/oveja
2. Reacciones adversas a leche de cabra/oveja no mediadas por IgE o no inmunológicas: proctocolitis, enteropatía, enterocolitis, esofagitis- gastroenteritis eosinofílica, déficit de lactasa

3. Enfermedades malignas, inmunopatológicas y/o inmunodeficiencias primarias o secundarias graves
4. Pacientes que están recibiendo tratamiento inmunosupresor.
5. Pacientes que están recibiendo tratamiento con β -bloqueantes (incluso tópicos)
6. Patología asociada que contraindica el empleo de adrenalina: enfermedades cardiovasculares o hipertensión grave.

VARIABLES DE ESTUDIO:

1.- La variable principal es el resultado de la tolerancia oral a leche de oveja y/o leche de cabra

- Es una variable cualitativa con tres categorías:
 - Tolerancia total: tolera 200 ml de leche de cabra y oveja
 - Tolerancia parcial: tolera entre 20 ml y 200 ml
 - No tolerancia: tolera menos de 20 ml

Para valorar la eficacia se considerará tolerante únicamente el que presente tolerancia total.

2.- Como factores que pueden influir en el resultado de la tolerancia se estudiarán las siguientes variables:

- Edad en el momento de desensibilización a leche de vaca: cuantitativa en meses
- Presencia o no de antecedentes personales de reacciones con alimentos que contengan dichas leche de cabra y oveja: dicotómica (sí, no)
- Presencia o no de enfermedades alérgicas:
 - Dermatitis Atópica, definida por los criterios diagnósticos de Hanifin: dicotómica (sí, no)
 - Alergia a proteínas de huevo, definida por clínica de tipo inmediato, con manifestaciones:
Cutáneas (urticaria, angioedema y/o eritema), digestivas (vómitos y/o diarrea aguda) o respiratorias (broncoespasmo y/o rinitis) en las primeras 2 horas tras la ingestión de huevo y pruebas cutáneas ≥ 3 mm y/o IgE específica $> 0,35$ KU/l para clara o yema de huevo: dicotómica (sí, no)
 - Alergia a proteínas de otros alimentos, definida por clínica de tipo inmediato, con manifestaciones cutáneas (urticaria, angioedema y/o eritema), digestivas (vómitos y/o diarrea aguda) o respiratorias (broncoespasmo y/o rinitis) en las primeras 2 horas tras la ingestión de pescados, leguminosas y/o frutos secos con pruebas cutáneas ≥ 3 mm

y/o IgE específica > 0,35 KU/l para estos alimentos: dicotómica (si, no) para cada uno de los alimentos

- Sensibilización a aeroalérgenos, definida por pruebas cutáneas ≥ 3 mm y/o IgE específica > 0,35 KU/l para aeroalérgenos (ácaros, hongos, epitelios de perro/gato y pólenes): dicotómica (si, no)
- Presencia o no de antecedentes familiares (primer grado) de atopia: dicotómica (si, no)
- IgE Total previa a la desensibilización: cuantitativa (UI/ml)
- IgE sérica específica previa a la provocación con leches de oveja y cabra :
 - Leche de vaca, oveja y cabra : cuantitativa (KU/L)
 - Caseína: cuantitativa: (KU/L)
 - Alfa-lactoalbúmina: cuantitativa (KU/L)
 - Beta-lactoglobulina: cuantitativa (KU/L)

3- Para valorar la seguridad se estudiaran las siguientes variables:

- Aparición de urticaria generalizada en relación con la toma de leche de cabra y oveja: dicotómica (si, no)
- Aparición de edema facial en relación con la toma de leche de cabra y oveja:: dicotómica (si, no)
- Aparición de vómitos en relación con la toma de leche de cabra y oveja: dicotómica (si, no)
- Aparición de broncoespasmo en relación con la toma de leche de cabra y oveja:: dicotómica (si, no)
- Aparición de dificultad respiratoria y estridor inspiratorio en relación con la toma de leche de cabra y oveja: dicotómica (si, no)
- Aparición de hipotensión en relación con la toma de leche de cabra y oveja: dicotómica (si, no)

ANALISIS DE DATOS:

No podemos realizar análisis de los datos ni obtener resultados puesto que aún no tenemos completo el protocolo con todos los pacientes; faltan resultados de los tests cutáneos, valor de la Ig específica y no hemos finalizado las provocaciones con ambas leches en todos los pacientes. Hasta el momento solo tenemos datos de 21 pacientes.

De los 21 pacientes en los que llevamos a cabo el protocolo, 5 pacientes (23.8%) toleraron ambas leches y 16 (76.2%) no llegan a tolerar las dos leches. De estos 16 pacientes, solo tenemos provocados con ambas leches a 8, ya que estos niños tuvieron reacciones

anafilácticas con alguno de los dos leches y los padres revocaron el consentimiento de continuar provocando con la otra leche.

Una vez que tengamos los datos de todos los pacientes procederemos de esta manera:

- Los datos se recogerán en un cuaderno personalizado de cada paciente.
- Los resultados se presentarán en forma de tablas y figuras mediante el programa informático Microsoft Word XP. La base de datos se elaborará en ACCES y el análisis estadístico con la aplicación SPSS.
- Para realizar el análisis estadístico se considerarán dos poblaciones:
 - Población por intención de tratar (IT), definida como todos los pacientes incluidos (42 niños desensibilizados exitosamente a plv). El análisis principal se basará en la población IT.
 - Población por protocolo, definida como la proporción de pacientes de la población IT que cumplen todos los criterios de inclusión y exclusión del protocolo del estudio y cumplen totalmente con el protocolo.

Los pacientes que abandonen el estudio antes de terminar la provocación con ambas leches, sin tener en cuenta el tiempo o el motivo de su retirada, se considerarán como no respondedores.

Al finalizar el protocolo con los 42 pacientes realizaremos el análisis de datos:

- Realizaremos una interpretación adecuada de los resultados, realizando un análisis descriptivo de la muestra:
 - Variables cualitativas proporcionando la distribución de frecuencias
 - Variables cuantitativas se analizarán mediante las medidas de centralización (media y mediana) y de dispersión (desviación típica y rango).
- Para evaluar la eficacia, aplicaremos la estadística descriptiva a cada cohorte en los momentos de la evaluación de las variables de eficacia, variable principal o a estudio (tolerancia oral a leches de cabra y oveja) y de las variables secundarias.
- Para el contraste de hipótesis/

Para la asociación entre las variables cualitativas se aplicará la prueba de Chi cuadrado, test exacto de Fisher o McNemar para datos independientes o apareados, según proceda;

Para la asociación entre las variables continuas se compararán con la prueba de ANOVA o t de Student para muestra apareadas o independientes, según proceda y si tienen distribución normal. Si la distribución no es normal se utilizarán las pruebas no paramétricas Wilcoxon o U de Mann-Whitney, respectivamente.

Para realizar estos test se utilizará el nivel de significación $\alpha = 0,05$.

- El análisis de tolerabilidad/seguridad de la provocación oral con leches de cabra y oveja incluirá la distribución de frecuencias de todos los acontecimientos, reacciones adversas y abandonos recogidos en cada una de las visitas.

DIFICULTADES Y LIMITACIONES:

La principal dificultad que estamos encontrando para llevar a cabo el estudio, es el retraso con que se realizan las provocaciones ya la población pediátrica con la que trabajamos es muy susceptible de enfermar (infecciones respiratorias, ORL, gastroenteritis...), además muchos de ellos presentan dermatitis atópica y las provocaciones tienen que realizarse en perfecto estado de salud.

Por otra parte, las reacciones que estamos teniendo con las provocaciones con leches de cabra y oveja son la mayoría graves (reacciones anafilácticas), por lo que muchos padres revocaron el consentimiento informado para la provocación con la segunda de las leches tras reaccionar con la primera.

Otra dificultad que nos hemos encontrado, es que durante el largo periodo de estudio, algunos pacientes han cambiado de residencia (vacaciones de verano, residencia durante periodo escolar...).

PLAN TRABAJO

IDEA INICIAL:

Enero 2015, elaboración del protocolo actuación

DESARROLLO DEL PROYECTO:

En Enero 2015 reclutamos primer paciente desensibilizado a leche de vaca con éxito e incluimos pacientes hasta diciembre 2016.

Se lleva a cabo en varias etapas (Tabla 1):

- Visita de reclutamiento:

Cuando acude el paciente a la visita rutinaria de seguimiento después de desensibilización a leche de vaca. Comprobamos estado de salud y tolerancia a mínimo de 200ml de leche de vaca. Se plantea la realización de provocación con leches de cabra y oveja para comprobar su tolerancia. A los padres que acceden a la provocación con esas leches, se les entrega consentimiento informado.

- Primera Visita: se lleva a cabo 6 meses previos a las provocaciones. Comprobamos el estado de salud y que el paciente continuo ingiriendo al menos 200 ml de leche de vaca sin incidencias. Realizaremos determinación de IgE específica para leche de cabra y oveja.
- Segunda Visita: se lleva a cabo 4 semanas previas a las provocaciones. Comprobamos el estado de salud y que el paciente continuo ingiriendo al menos 200 ml de leche de vaca sin incidencias. También comprobamos que IgE específica (CAP-FEIA) sea $> 0,35$ KU/l para leche de cabra y oveja. Realizamos pruebas cutáneas con leches de cabra y oveja y comprobamos que tienen una pápula de tamaño ≥ 3 mm
- Tercera y cuarta visita:
En ambas visitas, comprobamos el estado de salud y que el paciente continúa ingiriendo al menos 200 ml de leche de vaca sin incidencias. En la tercera visita, se lleva a cabo la provocación con leche de cabra u oveja (según se acuerde con la familia) y en la cuarta con la leche restante
- Visitas de seguimiento
Se lleva a cabo a las 2 semanas y a los 6 meses después de las provocaciones con ambas leches, se realiza por contacto telefónico.
Visita de seguimiento a los 12 meses de finalizar última provocación.
Comprobamos el estado de salud y que el paciente continúe ingiriendo al menos 200 ml de leche de vaca sin incidencia además de la tolerancia a leches de cabra y oveja mediante la ingestión de quesos (ya que es la forma más habitual de tomar estas leches en nuestro medio).

1.- A los pacientes que hayan completado el protocolo de provocación tolerando en consulta las leches de cabra y oveja

- Se les indicará continuar tomando diariamente al menos 200 ml leche de vaca y/o derivados (yogurt, petit suisse, otros productos lácteos) y quesos de cabra y oveja
- Se contactará por teléfono a las dos semanas desde el final de la provocación y a los 6 meses para control de la tolerancia de las leches
- Se citaran posteriormente a los 12 meses, contados desde el día de la prueba de provocación, para control de la tolerancia a las leches y valoración de la evolución de la sensibilización a las mismas mediante pruebas cutáneas y determinación de IgE sérica específica.

2.- A los pacientes que no han podido completar todo el protocolo: solo tolera una de las

leches provocadas

-Se les indicará continuar tomando diariamente la leche de vaca y quesos con la leche que haya tolerado y evitar con la que tuvo reacción .

-Se contactará por teléfono a las dos semanas desde el final de la provocación y a los 6 meses para control de la tolerancia de la leches.

-Se citaran a los 12 meses, contados desde el día de la prueba de provocación, para valoración de la evolución de la sensibilización a las plv y la leche que haya tolerado (mediante pruebas cutáneas y determinación de IgE sérica específica)

3.- Aquellos pacientes en los que haya fracasado la provocación con ambas leches pero continúan tolerando 200 ml de leche de vaca:

-Se les indicará una dieta de exclusión leches de cabra y oveja pero continuará tomando al menos 200 ml de leche vaca.

-Se contactará por teléfono dos semanas de finalizar la provocación y a los 6 meses para control de la evolución.

-Se citaran a los 12 meses, desde el día de la prueba de la ultima provocación, para valoración de la evolución de la sensibilización a las plv (mediante pruebas cutáneas y determinación de IgE sérica específica)

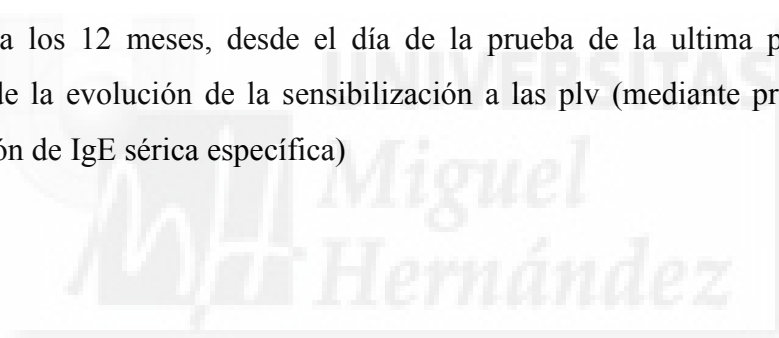


Tabla 1.-Resumen del plan de trabajo

	RECLUTAMIENTO	PRIMERA VISITA	SEGUNDA VISITA	TERCERA VISITA	CUARTA VISITA	SEGUIMIENTO (2 semanas y 6 meses)	SEGUIMIENTO (12 meses)
Información y firma consentimiento	X						
Valoración Clínica	X	X	X	X	X	X	X
Comprobamos tolerancia 200 ml leche de vaca	X	X	X	X	X	X	X
Pruebas Cutáneas			X				X
Analítica: IgE específica		X					X
Prueba de provocación Cabra Oveja				X	X		
Contacto telefónico						X	
Comprobamos tolerancia de quesos de leche de cabra y oveja						X	

PROYECTO:

Tras realizar las pruebas anteriores, realizamos análisis de estado clínico del paciente tras la provocación y sacaremos conclusiones de con resultados de la tolerancia.

DISTRIBUCIONES DE TAREAS:

Investigador principal: Dra. Rocío Candón Morillo ha llevado a cabo la selección de pacientes, elaboración del protocolo de actuación y ha supervisado directamente las provocaciones con leche de cabra y oveja. Así mismo ha realizado el análisis de los datos y ha sacado las conclusiones que se exponen en el trabajo.

Este trabajo se ha realizado con la colaboración de resto de facultativos y con las enfermeras del Servicio de Alergología del Hospital Mancha Centro.

EXPERIENCIA DEL EQUIPO:

Enfermeras y médicos del Servicio de Alergología del Hospital Mancha Centro están adecuadamente formados en el tratamiento de desensibilización a alimentos y realizan de forma periódica cursos de formación continuada para seguir actualizándose en este campo.

El equipo cuenta con experiencia en el desarrollo de proyectos de investigación y está preparado para trabajar con pacientes pediátricos y para tratar cualquier reacción adversa que pudiera derivado de este procedimiento (urticaria, angioedema, anafilaxia...).

ASPECTOS ÉTICOS

Se aplicaron los principios éticos de la investigación en humanos que se recogen en la declaración de Helsinki y en el informe Belmont que se concretan en los principios básicos de respeto por las personas, beneficencia y justicia.

Se respetará la confidencialidad y secreto de cualquier fase del tratamiento de la información de carácter personal siguiendo la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal y todo lo reflejado en el último Real Decreto 223/2004, BOE nº 33 (6-2-04) así como las regulaciones que están establecidas por nuestra institución hospitalaria y la de los colaboradores.

APLICABILIDAD Y UTILIDAD DE LOS RESULTADOS

Las recomendaciones actuales que damos a los pacientes alérgicos a leche de vaca, son la evitación de leche de vaca y la de otros mamíferos (cabra, oveja, burra, búfala...) hasta comprobar la tolerancia de las mismas, lo que conlleva mientras tanto a restricciones alimentarias muy extensas.

Sin embargo, hay una falta de consenso respecto a la las recomendación que debemos dar a los niños desensibilizados a proteína de leche de vaca es relación a la leche de mamífero.

En la actualidad existen pocos estudios publicados que demuestren la eficacia de la tolerancia a las leches de cabra y oveja tras haber finalizado cabo una desensibilización a proteínas de leche de vaca con éxito.

Para nosotros es muy importante conocer éste aspecto ya que la región donde trabajamos, Castilla La Mancha, el queso manchego está considerado como uno de los productos estrella del sector agroalimentario de la región y son muchas las familias dedicadas al negocio de las queserías. Por otra parte, el queso se ha convertido en un alérgeno oculto, es decir un componente contenido en pequeñas cantidades en algunos alimentos, generalmente no declarados en el etiquetado y tras la toma del mismo puede provocar reacciones alérgicas.

Hasta hora en nuestra población estudiada (21 pacientes que toleran leche de vaca después de la ITO), observamos que 5 pacientes (23.8%) toleraron ambas leches y que 16 pacientes (76.2%) no llegan a tolerar las dos leches.

La mayoría de los síntomas que aparecían en las provocaciones que resultaron positivas, fueron de moderadas (angioedema, urticaria) a graves (anafilaxias) por ello consideramos de gran importancia el conocer si los niños que se han desensibilizado a leche de vaca y que la toleran en la actualidad y nunca han probado leches de cabra y ovejas, reaccionarían tras la ingesta de las mismas.

En el caso que tolerasen ambas leches, se permitiría la ingesta de forma ordinaria pero en el caso que no se tolere se prohibiría su ingesta pero no se realizaría desensibilización ya que tendría que estar tomando diariamente 200 ml de cada una de las leches. En los no tolerantes se darán recomendaciones de evitación estrictas de la leche implicada en la reacción y alimentos que las contengan.

De esta forma disminuiríamos el grado de ansiedad de familia y de pacientes ante el desconocimiento de la tolerancia o no de esas leches y así mismo evitaremos reacciones alérgicas graves ya que en aquellos que no toleran les daremos recomendaciones de evitación estricta de ambas leches. Finalmente mejoraremos la calidad de vida de las familias de los niños alérgicos

PRESUPUESTO

El trabajo que estamos realizando no está remunerado económicamente y ni los investigadores ni los pacientes recibirán aportación económica.

No hemos requerido la adquisición de bienes ni contratación de servicios externos al hospital ya que todos los procedimientos que estamos llevando a cabo están dentro de las actuaciones, exploraciones y pruebas complementarias que se realizan en la práctica clínica habitual a los niños desensibilizados a plv.

Para adquirir la formación requerida por el equipo investigador para desarrollar éste protocolo, no ha sido necesaria la asistencia ningún curso de formación específico sino a través de la formación continuada que todos los participantes llevan a cabo a lo largo de sus carreras profesionales.

BIBLIOGRAFIA

1. Crespo JF, Pascual C, Burks AN, Helm RM, Esteban MM. Frequency of food allergy in a pediatric population from Spain. *Pediatr Allergy Immunol* 1995; 6: 39-43
2. Mofidi S. Nutricional management of pediatric food hypersensitivity. *Pediatrics* 2003; 111: 1645-53
3. García MC, Boyano T, Martín M, Martín E, Díaz JM, Ojeda JA. Actitud terapéutica y pronóstico en la alergia a alimentos. *Allergol Immunopathol* 1996; 24 (Suppl 1): 31-5.
4. Sicherer S H, Sampson. Cow's milk protein- specific IgE concentrations in two age groups of milk-allergic children and in children achieving clinical tolerance. *Clin Exp Allergy* 1999; 29: 507-12.
5. Garcia-Ara MC, Boyado-Martinez MT, Diaz-pena JM, Matin-Muñoz MF, Martin – Esteban M. Cow's milk-specific immunoglobulin E leves as predictors of clinical reactivity in the follow-up of the cow's milk allergy infants. *Clin Exp Allergy* 2004; 34: 866-79.
6. Vanto T, Helppilä S, Juntunen-Backman K, Kalimo K, Klemola T, Korpela R, Koskinen P. Prediction of the development of tolerante to milk in children with cow's milk hypersensitivity. *J Pediatr* 2004; 144: 2128-22.
7. Järvinen K M, Chatchatee P, Bardina L, Beyer K, Sampson HA IgE and IgG epitopes on alfa-lactalbamina and beta- lactoglobuline in cow's milk allergy .*Int Arch Allergy Immunol* 2001, 126: 111-8.
8. Calvani M Jr, Alessandri C. Anaphylaxis to sheep's milk cheese in a child unaffected by cow's milk protein allergy. *Eur J Pediatr*. 1998 Jan; 157(1):17-9
9. T. Muñoz Martínez, B. de la Hoz Caballera, F. Marañón Lizanab, R. González Mendiola, P. Prieto Montaña and M. Sánchez Cano. Selective allergy to sheep's and goat's milk proteins. *Allergol et Immunopathol* 2004;32(1):39-42.
10. Räsänen L, Lehto M, Reunala T. Diagnostic value of skin and laboratory tests in cow's milk allergy/intolerance. *Clin Exp Allergy* 1992; 22:385–90
11. Kohno Y, Honma K, Saito K et al. Preferential recognition of primary protein structures of casein by IgG and IgE antibodies of patients with milk allergy. *Ann Allergy* 1994; 73:419–22.
12. Stöger P, Wüthrich B. Type I Allergy to cow milk proteins in adults. A retrospective study of 34 adult milk- and cheeseallergic patients. *Int Arch Allergy Immunol* 1993; 102:399– 407.

13. Lorenz F, Seid M, Tangermann R, Wahn V. Detection of casein antigen in formula protein fractions according to their molecular weights. In: Schmidt E eds. Food Allergy. New York, NY, USA: Vevey/Raven Press, 1998; 17:215–20.
14. S. Ah-Leung, H. Bernard, E. Bidat, E. Paty, F. Rancé, P. Scheinmann, J. M. Wal. Allergy to goat and sheep milk without allergy to cow's milk. *Allergy* 2006; 61: 1358–1365
15. Wüthrich B, Johansson SGO. Allergy to cheese produced from sheep's and goat's milk but not to cheese produced from cow's milk. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 96:270–3.
16. Calvani M Jr, Alessandri C. Anaphylaxis to sheep's milk cheese in a child unaffected by cow's milk protein allergy. *Eur J Pediatr* 1998; 157:17–9.
17. Patriarca G, Nucera E, Roncallo C, et al. Oral desensitizing treatment in food allergy: clinical and immunological results. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 17: 459–65.
18. Martorell A, De la Hoz B, Ibáñez MD, et al. Oral desensitization as a useful treatment in 2-year-old children with cow's milk allergy. *Clin Exp Allergy* 2011; 41: 1297–304.
19. Natale M, Bisson C, Monti G, et al. Cow's milk allergens identification by twodimensional immunoblotting and mass spectrometry. *Mol Nutr Food Res* 2004; 48: 363–9.
20. Järvinen KM, Chatchatee P. Mammalian milk allergy: clinical suspicion, cross-reactivities and diagnosis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2009; 9: 251–8.
21. Eigenmann PA. The spectrum of cow's Milk allergy. *Pediatr Allergy Immunol* 2007; 18: 265–71.
22. Alonso-Lebrero E, Fuentes V, Zapatero L, Pérez-Bustamante S, Pineda F, Martínez-Molero MI. Goat's milk allergies in children following specific oral tolerance induction to cow's milk. *Allergol et Immunopathol* 2008; 36: 180–1.
23. Pablo Rodríguez del Río, Silvia Sánchez-García, Carmelo Escudero, Carlos Pastor-Vargas, José J. Sánchez Hernández, Inmaculada Pérez-Rangel, Maria Dolores Ibáñez. Allergy to goat's and sheep's milk in a population of cow's milk-allergic children treated with oral immunotherapy. *Pediatric Allergy and Immunology* 23 (2012) 128–132