



Universidad de Valladolid

Facultad de Medicina



HOSPITAL UNIVERSITARIO
RÍO HORTEGA



**LECHE DE CAMELLA COMO POSIBLE ALTERNATIVA EN
PACIENTES ALÉRGICOS A LECHE DE MAMÍFEROS
RUMIANTES**

Trabajo de Fin de Grado

Facultad de Medicina.

Grado en Medicina Servicio de Alergología HURH Curso

AUTOR: Adrián Rodríguez Ramírez

TUTORA: Alicia Armentia Medina

TUTORA 2º: Sara Martín Armentia

ÍNDICE

1. RESUMEN	3
2. INTRODUCCIÓN	4
3. OBJETIVO GENERAL	5
4. MATERIAL Y MÉTODOS	6
4.1. Diseño del estudio	7
4.2. Población y muestras	7
4.3. Pruebas "in vivo":	8
4.4. Pruebas "in vitro"	8
4.5. Análisis estadístico	9
4.5.1. Instrumento de medida	10
4.5.2. Consideraciones ético-legales.	10
4.5.3. Fuentes documentales	10
5. RESULTADOS	11
6. DISCUSIÓN	15
6.1. Análisis crítico	15
6.2. Limitaciones	15
6.3. Aplicaciones a la clínica	16
6.4. Nuevas líneas de investigación	16
7. CONCLUSIÓN	16
8. AGRADECIMIENTOS	17
9. BIBLIOGRAFÍA	17
10. ANEXOS	20
11. POSTER	27

1. RESUMEN

Antecedentes: Apenas existen publicaciones sobre alergia a camélidos. La leche de camélidos se ha utilizado para el tratamiento de la alergia a leche de vaca en niños israelitas y saharauis. Es posible que pudiera ser una alternativa a la leche de vaca y otros rumiantes, ya que el camello no es un rumiante sino un Tylopode y la composición de su leche podría ser diferente.

Objetivo: Valorar la respuesta alérgica a leche de camella en todos los pacientes alérgicos a leche de vaca atendidos durante un año en el servicio de Alergología del Hospital Río Hortega de Valladolid.

Métodos: Se obtuvieron muestras de leche de dromedario de Gran Canaria (Islas Canarias) y muestras del pelo de camello bactriano, dromedario y llama cedidos por el zoo de Madrid. Se realizó en pacientes y controles estudio in vivo (prick, provocación con leche de vaca y dromedaria) e in vitro (ImmunoCAP, CRD, SDS_PAGE, Immunodetección), tras consentimiento informado.

Resultados: Durante el año 2021, un total de 1479 presentaron hipersensibilidad comprobada a algún alimento. De ellos 68 (4,6%) presentaban síntomas graves relacionados con la ingesta de leche de vaca afectando preferentemente a varones jóvenes y niños. Los pacientes con alergia a leche de vaca y con esofagitis eosinofílica mostraron proporciones de positivos (pruebas in vitro y provocación) significativamente mayores que el resto de los grupos. La inmunodetección distinguió en este mismo grupo de pacientes una proteína en la leche de vaca de unos 18 kDa compatible con la betalactoglobulina que no fue reconocida en la leche de dromedaria por ningún paciente. A pesar de que en tres pacientes la provocación con leche de dromedaria fue positiva al alcanzar 0,2 ml de leche de camella, el resto toleró sin reacciones inmediatas ni tardías.

Conclusión: La leche de dromedaria fue mejor tolerada que la de vaca, específicamente en pacientes sensibilizados a betalactoglobulina. Este estudio puede darnos información muy útil para los pacientes alérgicos a la leche de vaca, puede tener una aplicación clínica directa e industrial para futuras investigaciones en este campo.

Abreviaturas empleadas en el trabajo

IgE: inmunoglobulina E; **EoE:** Esofagitis Eosinofílica;

2. INTRODUCCIÓN

La alergia a la leche es muy frecuente en niños. Puede ser mediada o no por IgE específica a alguna de sus proteínas, y puede progresar a anafilaxia. La alergia no mediada por IgE más frecuente es la food protein-induced allergic proctocolitis (FPIAP), que se puede diagnosticar en niños que presentan sangrado intestinal sin otros síntomas alarmantes, y tanto en niños que reciben fórmulas como leche materna.

En nuestro estudio nos vamos a referir a los cuadros alérgicos a la leche mediados por IgE. Pretendemos valorar si la leche de camélidos sería útil y segura como sustituto de la leche de vaca.

El camello no es un rumiante, sino un Tylopode y la composición de su leche es muy diferente (1). La concentración proteica de la leche de vaca (2.5-4.2%) es 2 veces mayor que la de la leche humana, y entre sus alérgenos principales están la beta-lactoglobulina, ausente en la leche humana y la alfa-s1-caseína, con poder anafiláctico (2). Sin embargo, la alergia a leche de camella es extremadamente rara incluso en los países donde más se consume (3). La leche más similar a la humana es la de burra que contiene más proteínas en el suero (35-50%) que la de vaca (20%). La beta-lactoglobulina de la leche de burra es un monómero y la leche de los rumiantes un dímero, con gran contenido en lactosa como la humana. La leche de cabra se asimila mejor que la de vaca, su proteína mayoritaria es la beta-caseína, pero su alergenicidad es similar a la de la leche de vaca y oveja, por lo que no son una alternativa en los alérgicos.

La leche de camella es más digestiva, con una beta-caseína diferente en estructura a las demás leches. Contiene más antibacterianos (lisozima, lactoferrina) que la leche de vaca y similar cantidad de inmunoglobulinas a la humana. A esta misma, se le ha atribuido propiedades antibacterianas y beneficiosas para la microbiota intestinal (4), inmunomoduladoras, antioxidante y potenciadoras de la inmunidad natural (5, 6), antiinflamatorias y analgésicas (7) e incluso antidiabéticas (8). Otros efectos beneficiosos sobre el autismo, cáncer, tóxicos requieren más estudios (9).

El interés de nuestro trabajo se centra en valorar si la leche de camella, y en concreto la de dromedaria de Lanzarote, sería una alternativa nutricional útil y segura en pacientes (niños y adultos) con síntomas alérgicos graves por hipersensibilidad a la leche de vaca.

La cría del dromedario en Canarias se da principalmente en las islas ubicadas en la vertiente oriental. La gran adaptación al medio de los camellos a estas islas propició su expansión por todo el archipiélago, siendo su presencia mayor en las zonas sur de Gran Canaria y Tenerife, así como en todo el territorio insular de Fuerteventura y Lanzarote (10). En el **Anexo I** se expone una breve contextualización histórica sobre el origen de los camélidos.

El censo del Camello Canario, más relevante en el pasado, ha vivido una fuerte regresión en el medio rural debido en gran parte a la mecanización del trabajo agrícola. En la actualidad se conserva casi exclusivamente en las islas orientales, en explotaciones como cabalgadura en paseos turísticos (11).

Históricamente han sido de utilidad como animal de carga, transportando a medianas y largas distancias cualquier mercancía. Hoy en día su uso es principalmente turístico, aunque está adquiriendo importancia en su producción láctea, que cada vez se está extendiendo más y más (11,12).

Un ejemplo de esto es la *Dromemilk Camel Farm*, quienes han conseguido elaborar el primer queso de camella de España con denominación de origen canario y en pocos meses, la granja camellar de *Oasis Wildlife* Fuerteventura pasará a ser la primera de nuestro país en elaborar y vender este producto y otros derivados de la leche de camella, como yogures o cosméticos. Fuerteventura, está a un pequeño paso de convertirse en una realidad la elaboración industrializada de productos lácteos derivados de la leche de camella (12).

3. OBJETIVO GENERAL

Este estudio tiene como objetivo valorar la respuesta alérgica a leche de camella en pacientes alérgicos a leche de vaca atendidos durante un año en el servicio de Alergología del Hospital Río Hortega de Valladolid, determinando así, si la leche de camella supone una alternativa segura a este perfil de pacientes.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

Se obtuvieron muestras congeladas, liofilizadas y libre de bacterias y otros microorganismos patógenos de leche de dromedario de Lanzarote (*Camellus dromedarius* L., 1758 (Tylopoda: Camelidae) para realizar ensayos en pacientes alérgicos y controles sanos y probar la tolerancia a esta leche en sanos y controles atópicos (polen). También lo probamos en pacientes celíacos (en los que es común la baja tolerancia a la leche) y pacientes con esofagitis eosinofílica con pruebas alérgicas positivas.

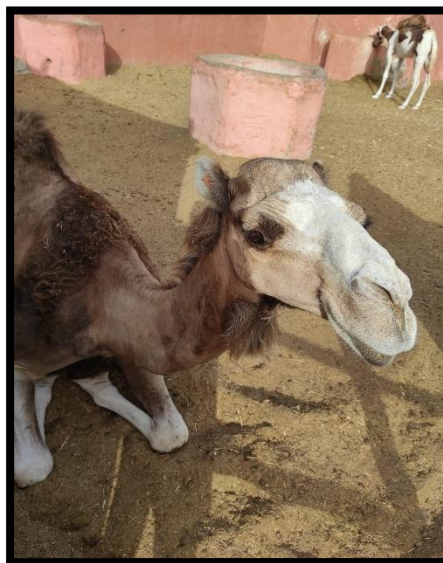


Ilustración 1 Dromedarios de la granja Camello Fataaa

En nuestro trabajo las muestras fueron donadas amablemente, después de una extensa búsqueda, por una granja del sur de Gran Canaria. Esta es una empresa ganadera denominada “**CAMELLO FATAGA**” (**ilustración 1**) dedicada a la cría y cuidado del dromedario de Lanzarote (dromedarios Linnaeus 1758, suborden Tulopoda, familia Camelidae, género Camelis).



Ilustración 2. Laboratorio de la Facultad de veterinaria ULPGC

Acto seguido nos pusimos en contacto con la Universidad de Veterinaria de Las Palmas de Gran Canaria lo antes posible, (**ilustración 2**) y gracias a la ayuda de veterinarios y trabajadores expertos realizamos una pasteurización y preservación de las muestras con la intención de reducir la presencia de agentes patógenos y conservar en la mayor medida de lo posible las características fisicoquímicas del producto.

Tras su congelado y posterior transporte a Valladolid, las muestras fueron entregadas al Servicio de Alergología, Hospital Universitario Río Hortega, para comenzar con nuestra investigación.

Se recabaron los consentimientos informados y el visto bueno del Comité de ética de nuestro Hospital previamente.

4.1. Diseño del estudio

El diseño de este trabajo fue exploratorio de carácter transversal con casos y controles. Los pacientes diagnosticados de hipersensibilidad a leche de vaca se recabaron de una base de datos de pacientes con esta posible etiología recogida durante un año (2021) en el Servicio de Alergia, Digestivo y Pediatría del Hospital Universitario Río Hortega. Los pacientes celíacos y con esofagitis proceden de bases recogidas los años previos

4.2. Población y muestras

El objetivo de nuestro estudio fue determinar si la leche de camella supone una alternativa segura a pacientes hipersensibilizados a leche de vaca por técnicas alergológicas de rutina y técnicas moleculares por microarrays (CRD) e inmunodetección en pacientes distribuidos en **4 grupos de pacientes y controles**:

1. Pacientes con clínica grave de urticaria, dermatitis, asma, rinitis, síntomas digestivos o anafilaxia relacionada con la ingesta de leche de vaca atendidos en 2021
2. Controles (población sana) de Hemodonación
3. Alérgicos a pólenes de gramíneas sin síntomas digestivos relacionados con leche ni con ningún alimento
4. Pacientes con esofagitis eosinofílica
5. Pacientes celíacos

Cálculo del tamaño muestral: Aceptando un riesgo alfa de 0,05 y un riesgo beta de 0,2 en un contraste bilateral, se necesitan **48 sujetos** en cada grupo para observar una diferencia mínima de 8 entre los dos grupos, aceptando que existen 4 grupos y una desviación estándar de 10. Se ha reconocido una tasa de pérdidas de seguimiento del 20%.

4.3. Pruebas “in vivo”:

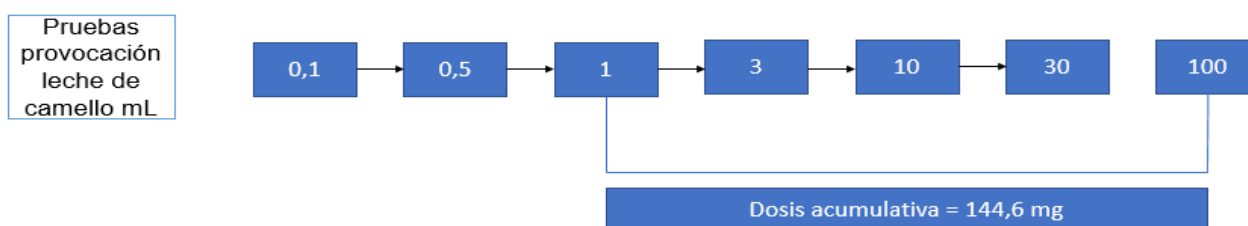
Pruebas cutáneas: Se efectuaron por técnica convencional para el caso de alérgenos comercializados: *Prick-test* frente a neuroalérgenos habituales (polen de gramíneas, árboles y malezas), ácaros, epitelios de animales, hongos y alimentos y con extractos comerciales de leche de vaca, oveja y cabra (ALK-Abelló, Madrid, España). En el **Anexo II** se expone una fotografía de la técnica aplicada a una de nuestras pacientes.

Se realizaron pruebas en prick con leche de camella por técnica de Prick by prick.

Pruebas epicutáneas con leche y pelo de camella al 0.01% en petrolatum, batería estándar de contactantes True-Test (ALK-Abelló, Madrid) (Bial-Aristegui, Bilbao); se realizó lectura a las 48 y 96 horas.

Pruebas de provocación. Seguimos el método modificado de Dunlop et al. (13) y las consideraciones del Informe del Grupo de Trabajo del Comité de Reacciones Adversas a los Alimentos (14). Usamos leche de dromedario dos veces hervida. La dosis inicial fue de 0,1 ml para la primera aplicación en labios y una prueba sublingual a la hora. El patrón de introducción progresiva se muestra en **la figura 1**. Consideramos que la provocación podía continuar cuando se administraba la dosis prescrita sin síntomas ni necesidad de medicación. Después de la tolerancia de cada dosis, se indicó al paciente o a la familia (en pacientes pediátricos) que continuara la dosis durante 3-5 días: la dosis posterior se administró en la clínica con vigilancia de posibles reacciones durante siete horas.

Figura 1. Patrón introducción progresiva de la leche en pruebas de provocación.



4.4. Pruebas "in vitro"

El extracto se preparó al 10% con PBS y después de dializar, se sensibilizaron discos de papel, previamente activados con BrCN, según describen Ceska et al (15).

La determinación de la cantidad de proteínas se hizo de acuerdo con el método de Bradford (16). La determinación de proteínas en la leche de camella fue de **7.96 mg/mL** $\mu\text{g/mL}$.

Determinación de IgE específica frente a leche de rumiantes (vaca, oveja, cabra) y de camella. Se realizó por el sistema **UniCAP, Thermofisher Uppsala**, Suecia). Los niveles $\geq 0,35$ kU/L se consideraron positivos.

La valoración de la IgE específica frente a la leche de camella se realizó mediante ImmunoCAP, Thermofisher, Uppsala, Suecia. El antígeno se une al PDA por biotinilación, utilizando el método de Sander (17).

SDS PAGE / IgE-Western blot: Las proteínas de la leche de camella y de vaca se analizaron mediante electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato de sodio (SDS-PAGE), según Laemmli en geles de poliacrilamida al 15 % en condiciones reductoras (18). Las proteínas se visualizaron con tinción de azul brillante de Coomassie R-250 y se transfirieron electroforéticamente a membranas de difluoruro de polivinilideno (PVDF, Trans-blot turbo TM, BIORAD, Hércules, CA, USA). La unión del anticuerpo IgE a los alérgenos se analizó mediante western blot utilizando sueros de pacientes de tres grupos de patología diferentes:

- A. patología alérgica típica
- B. EoE
- C. Celíacos.

Después se añadió el conjugado de peroxidasa anti-IgE humana (Southern Biotech, Birmingham, EE.UU.) y los reactivos de detección de quimioluminiscencia (Western lightning® Plus-ECL, Perkin Elmer, Waltham, MA, EE.UU.) siguiendo las instrucciones del fabricante. Las bandas de unión de IgE se identificaron utilizando el programa de la base de datos BioRad Diversity.

El análisis molecular se llevó a cabo utilizando CRD, ISAC Thermofisher, Uppsala, Suecia para 112 moléculas de alérgenos recombinantes y nativos, de acuerdo con las indicaciones del fabricante.

4.5. Análisis estadístico

Para comparar las proporciones de positivos en los *test CRD* y *pruebas prick* entre los distintos grupos de pacientes, se realizó un test exacto de Fisher para datos de conteo (19). Posteriormente, se realizó un **test de Fisher** por pares de grupos de pacientes para comprobar qué grupo o grupos son diferentes al resto.

Para comparar las proporciones de positivos entre los test de provocación con leche de vaca y con leche de camella, se realizó un **test binomial exacto** (20) para cada grupo de pacientes tomando como valor esperado la proporción de positivos en el test de provocación con leche de vaca.

Finalmente, para comparar las concentraciones de IgE en presencia de diferentes compuestos (leche entera, α -lactoalbúmina, β -lactoglobulina, α -caseína) entre los diferentes grupos de pacientes, se realizó una prueba de los rangos con signo de Wilcoxon (21). Para este caso, se realizaron sendos **test de Wilcoxon** de una muestra con pacientes alérgicos a leche de vaca y pacientes con esofagitis eosinofílica comparando con los niveles de IgE en pacientes sanos ($[IgE] = 0$) y un test de Wilcoxon de dos muestras para comparar ambos tipos de pacientes.

Todas las comparaciones múltiples fueron corregidas con el **método de Benjamini-Hochberg** (22).

4.5.1. Instrumento de medida

Los análisis estadísticos se han realizado con *R* (REF) versión 4.1.3 y los gráficos se han realizado con *ggplot2* (REF) versión 3.3.5 y *reshape2* (REF) versión 1.4.4. según Wickham (23).

4.5.2. Consideraciones ético-legales.

El estudio finalmente contó con la aprobación del comité ético del Área Oeste de Valladolid, concretamente, del Hospital Universitario Río Hortega.

“Ref. CEIm: 21-PI219, Protocol version 1.0; HIP/CI version 1.0”. (**Ver en Anexo III**)

A su vez, se redactaron y entregaron los consentimientos informados a los pacientes participantes del estudio. (**Ver en Anexo IV**)

4.5.3. Fuentes documentales

Primeramente, el estudio se inició con una revisión bibliográfica acerca del tema escogido con el objetivo de investigar en la literatura científica actualizada, con respecto a la experiencia en la utilización de leche de camella, composición y uso como alternativa nutricional.

Para ello se destacaron diferentes artículos contenidos en las bases de datos pertenecientes a ciencias de la salud, como son *Google Academy*, *PubMed* y *Cochrane library*, usando el operador booleano “AND” y palabras clave como fueron: *leche*, *tolerancia*, *alergia*, *inmunidad*, *composición*, *camélidos*. Tanto en inglés como en español en relación con la base de datos correspondientes, intentando obtener en la medida de lo posible aquellos relacionados con la sanidad española.

Se procuró utilizar como soporte documental aquella bibliografía lo más actualizada posible.

5. RESULTADOS

Durante el año 2021, 3688 pacientes fueron diagnosticados de hipersensibilidad a alérgenos y de ellos 1479 presentaron hipersensibilidad comprobada a algún alimento. De ellos 68 (4,6%) presentaban síntomas graves relacionados mediados por IgE tras la ingesta de leche de vaca. El estudio también se realizó en 67 pacientes diagnosticados de esofagitis eosinofílica, 52 pacientes celíacos, 50 pacientes con alergia al polen y 50 controles sanos.

Datos demográficos.

La sensibilización a leche afectó preferentemente a personas jóvenes, varones (81 hombres/54 mujeres) con edades inferiores a 30 años. 13 pacientes eran sensibles a otros alimentos. (**Tabla 1**)

Los datos demográficos de clínica y sensibilización a otros alimentos se exponen en el **Anexo V**.

Tabla 1. Edad media \pm DE y sexo por grupos.

	Celiaco	Esofagitis	Polínico	Sano	Vaca
Edad media \pm DE	5.17 \pm 4.26	26.08 \pm 19.17	25.82 \pm 10.26	31.4 \pm 10.91	11.38 \pm 6.99
Mujeres	4	7	23	15	5
Hombres	2	6	27	35	11
Total	6	13	50	50	16

Resultados de test cutáneos e IgE en los diferentes grupos de pacientes.

Los resultados por grupos de pacientes para los test cutáneos son significativamente diferentes ($p = 7.99 \cdot 10^{-11}$). El test post-hoc (**Tabla 3**) indica que los pacientes con alergia a leche y con esofagitis eosinofílica muestran, en general, proporciones de positivos significativamente mayores que el resto de los grupos. Además, las proporciones de positivos entre pacientes alérgicos a leche y aquellos con esofagitis eosinofílica también muestran diferencias significativas.

Tabla 3. Comparación por pares del test de Fisher para la proporción de positivos en las pruebas prick. En la hemimatriz superior se muestran los p -valores ajustados (en negrita, se destacan los valores significativos); en la hemimatriz inferior se muestran los odds-ratio.

	celiaco	esofagitis	polínico	sano	vaca
celiaco	-	2,00E-02	1,00E+00	1,00E+00	9,00E-05
esofagitis	Inf	-	3,00E-06	3,00E-06	6,00E-02
polínico	Inf	0,0147	-	1,00E+00	9,00E-13
sano	Inf	0,0147	1	-	9,00E-13
vaca	Inf	8,6636	445,0357	445,0357	-

Las concentraciones de IgE específicas en pacientes con esofagitis eosinofílica y en pacientes con alergia a leche de vaca son significativamente positivas en todos los casos (**Tabla 4**). En general, los pacientes alérgicos a leche de vaca mostraron una concentración de IgE específicas superiores a los pacientes con esofagitis eosinofílica, aunque no se encontraron diferencias significativas.

Tabla 4. *p*-valores ajustados de los test de Wilcox para las concentraciones de IgE específicas. Los asteriscos muestran en cada caso el nivel de significación (***: $p < 0.001$; **: $p < 0.01$; *: $p < 0.05$).

comparación	Leche entera	Alfa	Beta	Caseína
vaca	7.22e-04 (***)	7.24e-04 (***)	1.08e-03 (**)	0.0007 (***)
esofagitis	1.89e-03 (***)	1.25e-03 (**)	1.24e-03 (**)	0.0012 (**)
Vaca. Esofagitis	2.52e-02 (**)	0.380	0.510	0.0686

No obtuvimos positividades en los test de parche ni con la leche ni con pelo de camélidos.

Resultado de las provocaciones con leche de vaca y camella en los diferentes grupos.

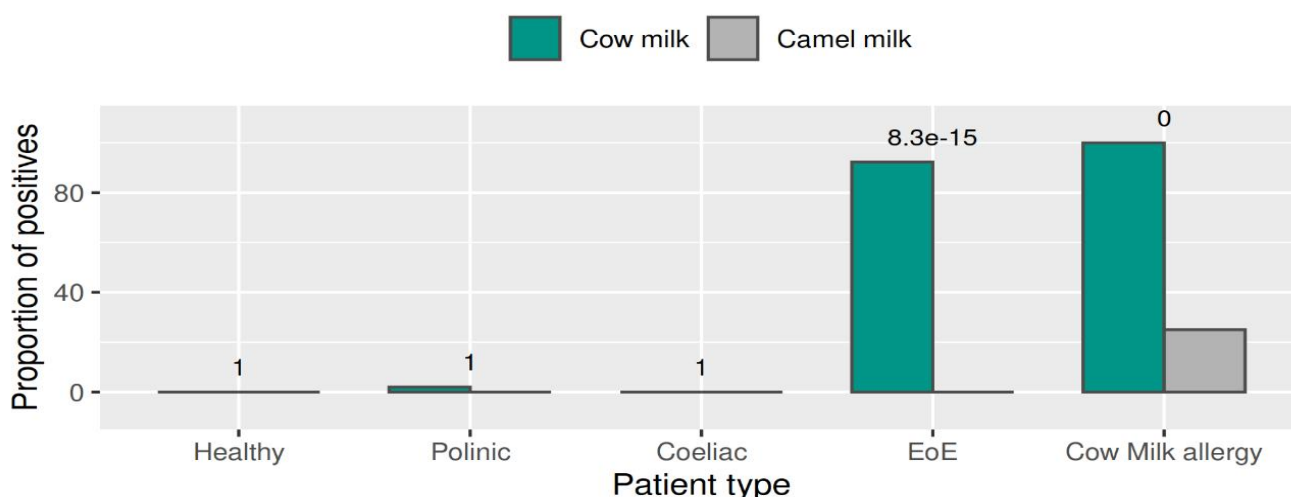
En tres pacientes que sufrían anafilaxia por leche de vaca a provocación fue positiva al alcanzar 0,2 ml de leche de camella, con síntomas leves (SAO). El resto toleró la cantidad de 100 ml de leche de camella sin reacciones inmediatas y tardías.

De nuestros 67 pacientes con esofagitis eosinofílica, a los que también se realizaron pruebas con leche de camella, 11 aceptaron la provocación. Finalmente se terminó la prueba de provocación con leche de camella a 10 pacientes que sufrían esofagitis, sin síntomas inmediatos. Se les indicó tomar 100 ml de leche de camella diariamente hasta la revisión programada en el servicio de Digestivo, en la que se les realizó estudio clínico, endoscópico con biopsia, sin observarse ningún síntoma de empeoramiento. En 5 niños celíacos y con problemas con leche de vaca, pero con Prick e IgE a leche

negativa se incluyó (tras consentimiento) una dosis creciente con comienzo de 1 ml diario de leche de camella, hasta 50 ml, sin observar signos clínicos de empeoramiento de su enfermedad celiaca.

Según los test binomiales (**Figura 2**), existe una diferencia significativa en la respuesta al test de provocación con leche de camella frente a la del test de provocación con leche de vaca en pacientes alérgicos a la leche y en pacientes con esofagitis eosinofílica ($p \lll 0.001$). Por el contrario, no se encontraron diferencias en sendas respuestas en pacientes celíacos, alérgicos al polen ni sanos ($p=1$).

Figura 2. Proporciones de positivos para los test de provocación con leche de vaca (verde) y leche de camella (gris) para cada tipo de paciente. Sobre las barras se representa el p-valor ajustado del test binomial exacto.



En conclusión, estos resultados apoyan la hipótesis de que la leche de camella podría ser un sustitutivo seguro a la leche de vaca en aquellos pacientes sensibles.

Resultados moleculares “CRD” en los diferentes grupos de pacientes.

Los resultados por grupos de pacientes para los test moleculares “CRD” son significativamente diferentes ($p = 2.12 \cdot 10^{-18}$). El test post-hoc (**Tabla 5**) muestra que los pacientes con alergia a leche y con esofagitis eosinofílica tienen proporciones de positivos a moléculas de leche de vaca (Bos d 4 Alfa-lactalbúmina, Bos d 5 Beta-lactoglobulina, Bos d 8 Caseína y Bos d lactoferrin Transferrina) significativamente mayores que el resto de los grupos. Sin embargo, las proporciones de positivos entre pacientes alérgicos a leche y aquéllos con esofagitis eosinofílica no muestran diferencias significativas.

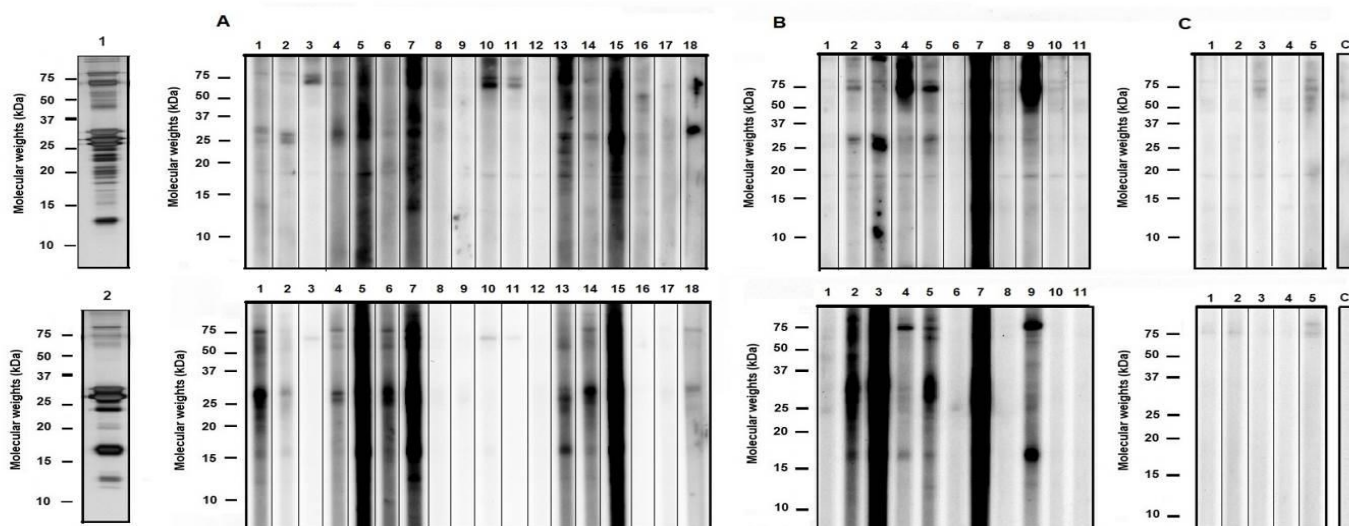
Tabla 5: Comparación por pares del test de Fisher para el análisis molecular CRD. Se valoraron las moléculas Bos d 4 Alfa-lactalbúmina, Bos d 5 Beta-lactoglobulina, Bos d 8 Caseína y Bos d lactoferrin Transferrina. En la hemimatriz superior se muestran los *p*-valores ajustados (en negrita, se destacan los valores significativos); en la hemimatriz inferior se muestran los odds-ratio.

	celiaco	esofagitis	polínico	sano	vaca
celiaco	-	5,00E-01	1,00E+00	1,00E+00	1,00E-02
esofagitis	Inf	-	3,00E-02	7,00E-03	3,00E-02
polínico	Inf	0,0725	-	1,00E+00	4,00E-08
sano	0	0	0	-	4,00E-09
vaca	Inf	6,7733	93,0914	Inf	-

Inmunodetección.

La inmunodetección realizada con los sueros de los pacientes puede verse en la (**figura 3.**)

Figura 3. Western Blot de los extractos de leche de vaca (abajo) y leche de camella (arriba), frente a 18 pacientes con: A. patología típicamente alérgica, B. EoE y C: los celíacos



El análisis, reveló una serie de reconocimientos alérgeno específicos comunes para ambas fuentes, en concreto, proteínas de un peso molecular que rondan los 25 kDa, compatibles con el rango de las diferentes caseínas (Alpha S1, Alpha S2 y beta

caseína), así como una serie de proteínas en torno a los 70-75 kDa para los pacientes con patología típicamente alérgica y con EoE, pero no en celíacos. Se distingue en este mismo grupo de pacientes y para la leche de vaca una proteína de unos 18 kDa compatible con la **betalactoglobulina** que no está reconocida en la leche de camella.

6. DISCUSIÓN

6.1. Análisis crítico

El objetivo de este trabajo se centra en valorar si la leche de camella, y en concreto la de dromedaria de Lanzarote, sería una alternativa nutricional útil y segura en pacientes (niños y adultos) con síntomas alérgicos graves por hipersensibilidad mediada por IgE a la leche de vaca. Nos basamos en que, al no ser un rumiante, pudiera ser tolerada en pacientes con alergia a leche de vaca, oveja, cabra y otros rumiantes.

El manejo de la alergia a la leche ha ido cambiando a lo largo del tiempo, desde una dieta de eliminación para mejorar los síntomas a un manejo de modulación activa del sistema inmune (24) con inmunoterapia oral (OIT), que se ha demostrado efectiva en muchos estudios (25). Sin embargo, aún no hay consenso en diferentes protocolos de esta técnica (26).

En los cuadros alérgicos pueden intervenir las migraciones, tanto humanas como de animales. En España estamos tratando pacientes de origen africano y sudamericanos, con otros alérgenos sensibilizantes, entre ellos, los camélidos. Hemos observado que personas provenientes de zonas donde no es propia la presencia de bóvidos (como en el Sahara), padecen más cuadros de hipersensibilidad.

Se han intentado diferentes sustitutos de la leche de vaca (27) basados en diferentes fórmulas y también bebidas vegetales que no abordan adecuadamente las necesidades nutricionales de los lactantes y los niños.

6.2. Limitaciones

Las mayores limitaciones que contemplamos al principio del estudio fue el no utilizar en nuestros pacientes leche de camella que pudiera estar contaminada por patógenos (*Brucella*, *Salmonella*, etc), que se pudo subsanar por los análisis veterinarios efectuados en la Universidad de las Palmas de Gran Canaria.

Otra limitación es si nuestros resultados serían superponibles si se utilizaran leches de camellas de diferentes orígenes. Un estudio preliminar valoró las diferencias de leche de camélidos recogidas en diferentes áreas geográficas de Marruecos (Dakhla, Errachida y Fès-Meknes), sometiéndolas a diferentes análisis fisicoquímicos y

bioquímicos (9). No se observaron grandes diferencias, aunque sí que los camélidos originarios del Norte de África tienen mayor contenido en proteínas, grasas y azúcares, y los originarios de Asia más vitamina C.

6.3. Aplicaciones a la clínica

En 2017, Navarrete y colaboradores incluyeron 15 pacientes con alergia a la leche confirmada a través de DBPCFC. Después de haberles administrado leche de camella, ninguno de los pacientes presentó efectos adversos (28).

Sugerimos que la leche de camella (leche de dromedario en nuestro estudio) es segura y tolerable en pacientes mayores de 1 año con alergia a la leche mediada por IgE y en pacientes con esofagitis eosinofílica con respuesta clínica a la leche. También parece bien tolerado en pacientes atópicos y celíacos. La leche de camello podría considerarse como una buena alternativa, dada la ventaja de su sabor y propiedades frente a otras fórmulas.

6.4. Nuevas líneas de investigación

Desde el punto de vista alérgico valoramos en tres pacientes, de origen español, marroquí y ecuatoriano la sensibilización a camélidos, por presentar clínica alérgica relacionada con su contacto. Se probaron extractos a partir de muestras del pelo de camello bactriano (*Camelus bactrianus*), dromedario (*Camelus dromedarius*) y llama (*Lama glama*) amablemente cedidos por el zoo de Madrid. También extractos de prendas de estas pacientes realizadas con su pelo (chamarra y tapiz). Se realizó estudio in vivo (prick, provocación conjuntival) e in vitro (SDS-PAGE, inmunodetección). Se obtuvieron pruebas positivas a las tres especies de camélidos. El diagnóstico prick y el test de provocación frente a camello y a llama fueron positivos. La inmunodetección mostró dos bandas de unos 18 y 32 kDa que fueron reconocidas por la IgEs de los sueros de los tres pacientes para los extractos de camello y llama. Una banda de 20 kDa fue reconocida por los tres pacientes para el extracto de dromedario.

Por lo que pensamos que nuestros resultados podrían ser homologables con la leche de cualquier camélido.

7. CONCLUSIÓN

Nuestro estudio aporta la necesidad de una mayor investigación para seguir avanzando en el uso de leche de camella como alternativa en pacientes alérgicos.

En estos últimos años la leche de camella está adquiriendo un protagonismo cada vez más destacable. En zonas como Canarias, donde por cuestiones medio ambientales y climáticas estos animales encuentran un hábitat propicio, este estudio aporta la

posibilidad de otorgar otro desempeño más allá del puramente turístico en estos increíbles animales.

Como demostramos en nuestro trabajo, la leche de camella podría ser una opción muy viable en estos pacientes, especialmente en aquellos sensibilizados a betalactoglobulina, y creemos que abre un amplio campo clínico e industrial, donde el principal punto de vista deberá estar siempre puesto, en la mejora de la calidad de vida de los pacientes.

8. AGRADECIMIENTOS

Universidad de Veterinaria de Las Palmas de Gran Canaria y al criadero “*CAMELLO FATAGA*”.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Yosef Shabo, Reuen Barzelm Mark Margoulis, Reuven Yagil, Camel milk for food allergies in children. *Immunology and Allergies*. 2005; 7: 796-801
2. Pastuszka, Barlowska J, Litwinczuk Z. Allergenicity of milk of different animal species in relation to human milk. *Postepy Hog Med Dosw (online)* 2016; 31:1451-1459
3. Mohammad Ehlayel, Abdulbari Bener. Camel's milk is a sake and therapeutic nutrient. Camel's milk allergy is almost unknown, *Allergy Asthma Proc* 2018;39:384-388
4. Wang Z, Zhang W, Wang B, Shao Y. Influence of Bactrian camel milk on the gut microbiota. *J Dairy Sci* 2018;101: 5758-5769
5. Yao H, Zahng M, Li Y, Yao J, Meng H, Yu S. Purification and quantification of heavy-chain antibodies from the milk of bactrian camels. *Anim Sci J* 2017; 88:1446-1450
6. Ibrahim H, Khaled M, Tawfic A, El-Magd M. Camel milk exosomes modulate cyclophosphamide-induced oxidative stress and immuno-toxicity in rats. *Food Funct*. 2019;10: 7523-7532
7. Khatoon H, Ikram R, Humaira A, Naeem S, Saeed K, Fatima S, Sultana N, Sarfaraz S. Investigation of anti-inflammatory and analgesis activities of camel milk in animal models. *Pak J Pharm Sci* 2019; 32:1879-1883
8. Ayoub MA, Pallakkott AR, Ashraf A, Iratni R. The molecular basis of the anti-diabetic properties of camil milk. *Diabetes Res CLin Pract* 2018;146: 305-312
9. Bouhaddaoui S, Chabir R, Errachidi F, El Ghadraoui L, El Khalfi B, Benjelloun M, Soukri A, Study of the biochemical diversity of camel milk. *Scientific World Journal* 2019; 9:2517293.
10. Camello Canario [Internet]. Gobiernodecanarias.org. [citado el 4 de mayo de 2022]. Disponible en:

https://www.gobiernodecanarias.org/ganaderia/temas/razas_autoctonas/camello_canario.html

11. Home [Internet]. Camel Milk. 2019 [citado el 4 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://camel-milk.org/>
12. Criadero [Internet]. Camellosafari.com. [citado el 4 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://www.camellosafari.com/80-2/criadero/>
13. Dunlop AH, Keet CA, Mudd K, Wood RA. Long-term follow-up after baked milk introduction. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2018;6:1699-1704
14. Bird JA, Leonard S, Groetch M, Amal Assa'ad, Cianferoni A, Clark A et al. Conducting an oral food challenge: An Update to the 2009 adverse reactions to foods Committee work group Report. *J Allergy Clin Immunol Pract* 202; 8:75-90
15. Ceska M, Eriksson R, Varga JM. Radioimmunosorbent assay of allergens. *J Allergy Clin Immunol* 1972; 49:1-9.
16. Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 1976; Volume 72, issues 1-2:248-254
17. Sander I, Kespohl S, Merget R, et al. A new method to bind allergens for the measurement of specific IgE antibodies. *Int Arch Allergy Immunol* 2005;136: 39–44.
18. Laemmli UK (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* **15**:680–5
19. Fisher, R. A. The logic of inductive inference. *Journal of the Royal Statistical Society* 98, 39–82 (1935).
20. Wilcoxon, F. Individual Comparisons by Ranking Methods. *Biometrics* 1945; 1:80-83.
21. Shapiro, SS.; Wilk, M.B. (1965). An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika* 1965; 52 (3-4): 591-611
22. Benjamini, Y. & Hochberg, Y. Controlling the false discovery rate: A practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal Statistical Society: series B (Methodological)* 57, 289–300 (1995).
23. Wickham, H. *ggplot2: Elegant graphics for data analysis*. Springer-Verlag New York, 2016.
24. D'Auria E, Salvatore S, Pozzi E, Mantegazza C, Sartorio MUA, Pensabene L, Baldassarre ME, Agosti M, Vandenplas Y, Zuccotti G. Cow's milk allergy: Immunomodulation by dietary intervention. *Nutrients*. 2019 Jun 21;11(6):1399. doi: 10.3390/nu11061399.

25. Taniuchi S, Takahashi M, Soejima K, Hatano Y, Minami H. Immunotherapy for cow's milk allergy. *Hum Vaccin Immunother.* 2017 Oct 3;13(10):2443-2451. doi: 10.1080/21645515.2017.1353845.
26. Vilar LK, Araujo FA, Pereira T, Tavares T, CHeil M, Rodriguez G. Baked tolerance in cow's milk allergy: Quite frequent, hard to predict! *Int Arch Allergy Immunol* 2021;182: 319-323
27. Verduci E, D'Elis S, Cerrato L, Comberiati P, Calvani M, Palazzo S, Martelli A, Landi M, Trikamjee T, Peroni DG, Verduci E, Cow's milk substitutes for children: Nutritional aspect of milk from different mammalian species, special formula and plant-based beverages. *Nutrients.* 2019 Jul 27;11(8):1739. doi: 10.3390/nu11081739.
28. Navarrete-Rodríguez EM, Ríos-Villalobos LA, Alcocer-Arreguín CR, Del-Rio-Navarro BE, Del Rio-Chivardi JM, Saucedo-Ramírez OJ, Sienna-Monge JJJ, Frias RV. Cross-over clinical trial for evaluating the safety of camel's milk intake in patients who are allergic to cow's milk protein. *Allergol Immunopathol (Madr).* 2018 Mar-Apr;46(2):149-154. doi: 10.1016/j.aller.2017.06.005.

10. ANEXOS

Anexo I

Contexto histórico de los camélidos

Los antepasados de los camélidos eran de América del Norte, algunos de ellos se trasladaron al Asia cruzando por el estrecho de Bering. De este grupo desciende el Camello Bactriano, del cual a la vez evolucionó el Dromedario. El Camello Bactriano tiene dos lomas o jorobas en la espalda y lo encontramos en Asia. El Camello Dromedario sólo tiene una joroba y es natural del norte del continente africano. De aquellos camélidos de América del Norte hubo otro grupo que migró hacia el sur llegando hasta Sur América. Con el tiempo este grupo evolucionó en los animales que hoy conocemos como los Auquénidos o camélidos sudamericanos. En este grupo encontramos a la vicuña, la llama, la alpaca y el guanaco. Los camélidos que permanecieron en América del Norte no lograron sobrevivir y sólo nos quedan sus fósiles.

Los camellos actuales son el resultado de un largo y complejo proceso evolutivo que tuvo su origen en América del Norte en el Eoceno tardío hace unos 40 millones de años. En esa época aparecieron unos pequeños mamíferos a los que se les llamó *Protylopus petersoni*, parecidos a pequeños guanacos de sólo 30 centímetros de altura. A partir de este grupo, se originaron distintas especies que, en su evolución a lo largo de millones de años, fueron adaptándose a diferentes condiciones ambientales y aumentando gradualmente de tamaño.

Los hallazgos de restos fósiles muestran que hace aproximadamente 20 millones de años, los camélidos dominaban las zonas planas de América del Norte, por lo que sería posible que la leche de camélidos fuera la primeramente tolerada por la población indígena americana. Un estudio detallado de estos restos permitió clasificarlos en cuatro grupos con características propias (*Titanotylopus*, *Paracamelus*, *Megatylopus* y *Hemiauchenia*). De estos cuatro grupos de camélidos, los dos más importantes son los *Paracamelus* y los *Hemiauchenia* porque dieron origen a todas las especies actuales. Algunos *Paracamelus* migraron hace aproximadamente 3 millones de años (comienzo del Plioceno) a través del estrecho de Bering, desde América del Norte a Eurasia, y se extendieron por toda Europa, el norte de África y China. Es a partir de estos antecesores, que evolucionan los camellos jorobados: el camello y el dromedario actual, que pertenecen al género *Camelus*.

La sistemática actual incluye a todos los camellos y camélidos en la familia *camelidae*, que está subdividida en tribus: *Lamini* o *lamoides* o camélidos sudamericanos y *Camelini* o camellos o camélidos del viejo mundo (Asia y África).

Los *lamini* contienen dos géneros: *Lama* y *Vicugna*, cada uno con dos especies: *Lama guanicoe* o guanaco y *Lama glama* o llama, *Vicugna vicugna* o vicuña y *Vicugna pacos* o alpaca.

Los *camelini* contienen un género con dos especies: *Camelus bactrianus* o bactriano (camello de dos jorobas) y ***Camelus dromedarius* (camello de una joroba) o dromedario cuya leche hemos estudiado.**

Anexo II.

Foto de Prick-test realizada a una de una de nuestras pacientes participantes en el estudio.



Anexo IV.

Consentimiento informado entregado a los pacientes para la realización de pruebas.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Apenas existen publicaciones sobre alergia a camélidos. La leche de camello se ha utilizado para el tratamiento de la alergia a alimentos en niños israelitas. Es posible que pudiera ser una alternativa a la leche de vaca y otros rumiantes, ya que el camello no es un rumiante sino un Tylopode y la composición de su leche es muy diferente.

Pretendemos realizar una investigación de alergia alimentaria a la leche y le rogamos su consentimiento para realizar en una muestra de suero determinación de anticuerpos (IgE específica) a leche de camella y diferentes alérgenos (pólenes, trigo, diferentes vegetales y frutas) que pueden estar provocando su enfermedad. Para ello se le citará a consulta de alergia (Dr^o Armentia, Hospital Río Hortega, puerta 211, teléfono de contacto 983420400, ext. 84211) para la realización de pruebas cutáneas.

Estas pruebas se realizarán depositando una gota de extracto de los alérgenos sospechosos (leche de diferentes rumiantes y de camella) en la superficie de la piel de su antebrazo. Posteriormente se realizará una micropunción para una vez transcurridos 15 minutos comprobar la presencia de un habón que indicaría una respuesta al alérgeno probado.

En el caso de que la respuesta fuera positiva, se le pedirá consentimiento para realizar una extracción de sangre para realizar un estudio molecular a 112 alérgenos en su suero.

Esta prueba le beneficiará en el conocimiento del alimento al que puede ser alérgico y puede mejorar sus síntomas tras su evitación. Si no existe respuesta a la leche de camella esta puede ser una buena alternativa nutricional. Las molestias que puede sufrir son locales y leves: Picor en el punto de punción que desaparecerá en 30 minutos.

En pocas ocasiones aparece un hematoma en el lugar de extracción. Debe de comunicar si ha tomado alguna medicación que puede modificar la prueba cutánea.

Este documento sirve para que usted o quien lo represente de su consentimiento para estas pruebas y nos autorice a realizarlas. Puede retirar este consentimiento cuando lo desee.

Firmarlo no le obliga a usted a seguir la investigación si no lo desea ya.

De su rechazo no se derivará ninguna consecuencia adversa respecto a la calidad de resto de la atención recibida.

Yo _____ doy mi consentimiento para la realización de estas pruebas, tras ser informado verbalmente y por escrito por el Dr/Dra. En Valladolid a ____ de _____ de _____ Fdo: _____

Anexo V.

1) Datos demográficos de clínica.

	celiaco	esofagitis	polínico	Sano	vaca	Total
Anaf.;	0	0	0	0	4	4
Cel.;	5	0	0	0	0	5
EoE;	0	4	0	0	0	4
EoE;Anaf.;	0	1	0	0	0	1
EoE;Cel.;	0	1	0	0	0	1
EoE;Cel.;Pol.;	1	2	0	0	0	3
EoE;Int.;Pol.;	0	1	0	0	0	1
EoE;Pol.;	0	4	0	0	0	4
Int.;	0	0	0	0	3	3
Int.;Anaf.;	0	0	0	0	5	5
NA	0	0	0	0	2	2
Pol.;	0	0	49	0	0	49
Pol.;Anaf.;	0	0	1	0	2	3
sano	0	0	0	50	0	50
Total	12	26	100	100	32	270

2) Datos demográficos de sensibilización a otros alimentos.

	celiaco	esofagitis	polínico	Sano	vaca	Total
no sensible	6	9	45	49	13	122
sensible	0	4	5	1	3	13
Total	6	13	50	50	16	135

LECHE DE CAMELLA COMO POSIBLE ALTERNATIVA EN PACIENTES ALÉRGICOS A LECHE DE MAMÍFEROS RUMIANTES

Olga Urmentia, Során Rodríguez, Blanca Martín, Sara Martín, Diana Gallago-Clemens, Vizor Moreno-Gordaliza, Fernando Pineda, Iñigo Castillo, Servicio de Alergia, Hospital Universitario Río Hortega, Gerencia Regional de Salud de Castilla y León (GRUCL), Universidad de Valladolid, Departamento de Medicina, Dermatología y Toxicología, Servicio de Pediatría, Hospital Virgen de la Concha de Zamora, BioData, León, España; Departamento de Biodiversidad y Gestión Ambiental, Área de Zoología, Universidad de León, León, España; Laboratorios DUTER, Madrid, España.



Introducción

Apenas existen publicaciones sobre alergia a camélidos. La leche de camélidos es posible que pudiera ser una alternativa a la leche de vaca y otros rumiantes.



Objetivo

Determinar si la leche de camella supone una alternativa segura a pacientes hipersensibilizados a leche de vaca por técnicas alergológicas de rutina, técnicas moleculares (CRD) e inmunodetección.

Métodos

Grupos de pacientes

1. Pacientes con clínica de hipersensibilidad relacionada con la ingesta de leche de vaca.
2. Controles (población sana) de Hemodonación
3. Alérgicos a pólenes de gramíneas sin síntomas digestivos relacionados con leche ni con ningún alimento
4. Pacientes con esofagitis eosinofílica
5. Pacientes celíacos

Pruebas

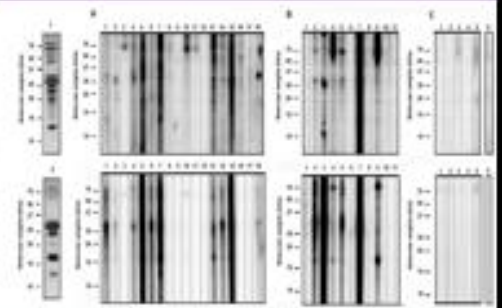
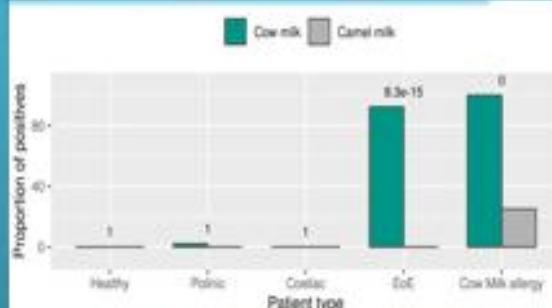
- ❖ In vivo: Prick, provocación con leche de vaca y dromedaria.
- ❖ In vitro (ImmunoCAP, CRD, SDS_PAGE, Inmunodetección Western Blot).

Resultados

A pesar de que en tres pacientes la provocación con leche de dromedaria fue positiva al alcanzar 0,2 ml de leche de camella. El resto toleró sin reacciones inmediatas ni tardías

La inmunodetección distinguió una proteína en la leche de vaca de unos 18 kDa compatible con la betalactoglobulina que no fue reconocida en la leche de dromedaria por ningún paciente

Los pacientes con alergia a leche de vaca y con esofagitis eosinofílica mostraron proporciones de positivos (pruebas in vitro y provocación) significativamente mayores que el resto de los grupos



Conclusiones

- ❖ La leche de dromedaria fue mejor tolerada que la de vaca, específicamente en pacientes sensibilizados a betalactoglobulina.
- ❖ Este estudio puede darnos información muy útil para pacientes alérgicos a la leche de vaca y tener una aplicación clínica directa e industrial en futuras investigaciones.