



LA LECHE DE BURRA COMO POSIBLE ALTERNATIVA PARA LOS PACIENTES ALÉRGICOS A LA LECHE DE VACA



Carmen Cano Campos, Ana Martín Calvente.
Universidad de Valladolid.
Tutora: Alicia Armentia. Servicio de Alergia.
Departamento de Medicina, Dermatología y Toxicología.
Hospital Universitario Río Hortega (Valladolid).
Co-Tutora: Sara Martín. Servicio de Pediatría. Hospital
Virgen de la Concha (Zamora)

Contenido

.....	1
RESUMEN.....	6
Antecedentes:	6
Métodos	6
Resultados	6
Conclusión	7
INTRODUCCIÓN	7
MÉTODOS.....	8
Pruebas in vivo:	9
Pruebas in vitro:	10
Análisis estadístico	10
RESULTADOS.....	11
Resultados de las pruebas cutáneas e IgE.	12
Provocación con leche de vaca y burra.....	14
Resultados moleculares CRD.	14
DEBATE	17
Agradecimientos	18
REFERENCIAS:	19

Síntesis

No existen muchos informes sobre la alergia a la leche de burra, pero sí estudios anteriores en los que se ha demostrado el grado de similitud en la composición bioquímica entre la leche humana y la de burra. El objetivo principal del estudio fue determinar la respuesta y el perfil alergénico a la leche de burra en pacientes sensibilizados a la leche de vaca atendidos durante un año en el Servicio de Alergia del Hospital Río Hortega (Valladolid), para valorar con ello si la leche de burra pudiera ser una alternativa segura.

Este estudio demuestra una menor hipersensibilidad alérgica mediada por IgE a la leche de burra en pacientes alérgicos a la leche de vaca. Por lo tanto, la leche de burra podría ser una alternativa factible para estos pacientes, dada su accesibilidad

Palabras clave

leche, leche de burra, leche humana, alergia alimentaria, anafilaxia, esofagitis eosinofílica.

Abstract

There are not many reports on allergy to donkey's milk, but previous studies have shown the degree of similarity in the biochemical composition between human and donkey milk. The main objective of the study was to determine the response and the allergenic profile to donkey's milk in patients sensitized to cow's milk treated for one year in the Allergy Service of the Río Hortega Hospital (Valladolid), to evaluate whether donkey milk could be a safe alternative.

This study demonstrates a lower IgE-mediated allergic hypersensitivity to donkey's milk in patients allergic to cow's milk. Therefore, donkey milk could be a feasible alternative for these patients, given its accessibility.

Keywords

milk, donkey milk, human milk, food allergy, anaphylaxis, eosinophilic esophagitis.

Número de palabras: 2739 palabras

Conflictos de intereses: Ninguno

Caja de lo más destacado:

- ❖ *¿Qué se sabe ya sobre este tema?*

Existen muy pocos informes sobre la alergia a la leche de burra.

- ❖ *¿Qué aporta este artículo a nuestros conocimientos?*

La leche de burra fue mejor tolerada que la de vaca, especialmente en pacientes con esofagitis eosinofílica.

- ❖ *¿Cómo influye este estudio en las actuales directrices de gestión?*

La leche de burra podría valorarse como alternativa en pacientes con hipersensibilidad a la leche de vaca

ABREVIATURAS

SPT → Pruebas de punción cutánea // Skin prick tests

slgE → Inmunoglobulina E específica // specific immunoglobulin E

FPIES → Síndrome de enterocolitis inducida por alimentos // food induced enterocolitis syndrome

CRD → Diagnóstico resuelto del componente (análisis molecular mediante microarrays) // component resolved diagnosis (molecular analysis by microarrays)

SDS-PAGE → Electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato de sodio // electrophoresis in polyacrylamide gel with sodium dodecylsulfate

RESUMEN

Antecedentes:

Estudios anteriores han determinado un alto grado de similitud en la composición bioquímica de la leche humana y la de burra. En consecuencia, la leche de burra podría ser una buena alternativa al consumo de leche de vaca y otros rumiantes, especialmente para las personas alérgicas a la leche de vaca. El objetivo principal del estudio fue determinar la respuesta y el perfil alergénico a la leche de burra en pacientes sensibilizados a la leche de vaca atendidos durante un año en el Servicio de Alergia del Hospital Río Hortega (Valladolid), para poder valorar si podría ser una alternativa segura en los pacientes.

Métodos

Las muestras de leche de burra (*Equus africanus asinus*) se obtuvieron en Zamora, España, y se congelaron a -72°C . Se realizaron estudios in vivo (prick-prick y prueba de provocación oral) e in vitro (IgE específica por ImmunoCAP, perfil de proteínas y alérgenos por SDS-PAGE y Western blot, y análisis molecular por microarrays) en cuatro grupos: dos grupos de pacientes sensibilizados a la leche de vaca (alergia clínica grave y esofagitis eosinofílica) y dos grupos control (pacientes sanos y alérgicos a pólenes de gramíneas sin síntomas digestivos), tras obtener la firma de los pacientes (o de sus tutores) del consentimiento informado.

Resultados

Durante un año, 2032 pacientes presentaron hipersensibilidad demostrada a algún alimento, de los cuales 83 mostraron síntomas graves relacionados con la ingesta de leche de vaca (4%). De ellos, 46 tenían IgE positiva a la alfa-lactoglobulina, 42 a la beta-lactoglobulina y 47 a la caseína. De ellos, 46 pacientes aceptaron la provocación con leche de burra, que fue positiva para 19. De los 67 pacientes con esofagitis eosinofílica, sólo 13 aceptaron la provocación, siendo positiva en 6 pacientes, con síntomas leves-moderados, y negativa en el resto, que toleraron 100 ml de leche de burra sin reacciones inmediatas ni retardadas. Además, los resultados de Western blot mostraron un perfil alergénico de la leche de burra similar al de la leche de vaca en todos los pacientes analizados, pudiéndose reconocer proteínas en común (caseínas) en ambos tipos de leche; aunque claramente con menor intensidad en la leche de burra.

Conclusión

Este estudio demuestra una menor hipersensibilidad alérgica mediada por IgE a la leche de burra en pacientes alérgicos a la leche de vaca. Por lo tanto, la leche de burra podría ser una alternativa factible para estos pacientes, dada su accesibilidad.

INTRODUCCIÓN

Estudios in vivo e in vitro han verificado que la leche de burra (*Equus africanus asinus*) y la humana son muy similares en su composición química y antigénica y en sus propiedades nutricionales y funcionales (1). Es bien tolerada por los niños y sus propiedades inmunológicas, metabólicas y de microbiota son similares a las de la leche humana.

La concentración de proteínas de la leche de vaca (2,5-4,2%) es dos veces superior a la de la leche humana, y entre sus principales alérgenos se encuentran la betalactoglobulina, ausente en la leche humana, y la alfa-s1-caseína, con poder anafiláctico (2). La más parecida a la leche 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 de rumiantes es un dímero, con un alto contenido en lactosa como la leche humana. La leche de cabra se asimila mejor que la de vaca, su proteína principal es la beta-caseína, pero su alergenicidad es similar a la de la leche de vaca.

En un estudio realizado en 46 niños alérgicos a la leche de vaca en el que se probó la tolerancia a la leche de burra, ésta se alcanzó en 38 de ellos, que lograron un crecimiento similar. Se estudió la reactividad cruzada entre IgE a la leche de vaca y a la de burra, que fue muy débil y poco específica (3). La estructura primaria de las proteínas de la leche de burra (especialmente la caseína) es más parecida a la de las proteínas de la leche humana. La secuencia lineal de aminoácidos de los epítomos de la leche de vaca es diferente de la de la de burra, lo que puede dar lugar a una menor alergenicidad (4).

En un estudio más reciente realizado en 81 niños con intolerancia a la leche de vaca, 70 debida a un mecanismo mediado por IgE y 11 con enterocolitis (síndrome de enterocolitis inducida por heces o FPIES), se probó la tolerancia a la leche de burra con técnicas in vivo, incluida la provocación oral, e in vitro. De ellos, 78 la toleraron. En un estudio nutricional posterior de 22 niños que habían tolerado la leche de vaca, no se observaron cambios en su crecimiento, lo que completa que la leche de burra puede utilizarse en la alergia mediada por IgE y en FPIES (5).

El interés de nuestro trabajo se centra en valorar si la leche de burra, y en concreto la obtenida de la zona de Arribes del Duero, Zamora, España, (*Equus africanus asinus*), sería una alternativa nutricional útil y segura en pacientes (niños y adultos) con síntomas alérgicos graves debidos a hipersensibilidad mediada por IgE a la leche de vaca.

MÉTODOS

Obtendremos muestras congeladas, liofilizadas y libres de bacterias y otros microorganismos patógenos de leche de burra (*Equus africanus asinus*), una burra española de Zamora-León de la misma familia que otras burras europeas. Realizaremos nuestras pruebas en pacientes alérgicos y en controles sanos y atópicos. También lo probaremos en pacientes con esofagitis eosinofílica con prueba alérgica positiva a la leche.

El estudio utilizó un diseño transversal de casos y controles. Los pacientes diagnosticados de hipersensibilidad a la leche de vaca proceden de una base de datos de pacientes con esta posible etiología recogida en 2022 en el Servicio de Alergia, Digestivo y Pediatría del Hospital Universitario Río Hortega. Los pacientes con esofagitis eosinofílica proceden de bases de datos recogidas en años anteriores. Se obtuvo el consentimiento informado y la aprobación del Comité Ético de Investigación del Río Hortega (Ref. CEM: 21-PI219, Protocolo versión 1.0; HIP/CI versión 1.0).

El objetivo era determinar si la leche de burra podría ser una alternativa segura en pacientes sensibilizados a la leche de vaca, utilizando técnicas rutinarias de alergia, provocación oral y técnicas moleculares mediante diagnóstico resuelto por componentes (CRD) e inmunodetección.

Se analizaron cuatro grupos de pacientes y controles:

1. Pacientes con urticaria clínica grave, dermatitis, asma, rinitis, síntomas digestivos o anafilaxia relacionados con la ingestión de leche de vaca diagnosticados y tratados en 2022.
2. Controles de donantes de sangre sanos
3. Pacientes alérgicos a pólenes de gramíneas sin síntomas digestivos relacionados con la leche o los alimentos.
4. Pacientes con esofagitis eosinofílica

Cálculo del tamaño de la muestra: Aceptando un riesgo alfa de 0,05 y un riesgo beta de 0,2 en un contraste bilateral, se necesitaban 48 sujetos en cada grupo para detectar una diferencia mínima de 8 entre los dos grupos, suponiendo que hubiera 4 grupos y una desviación típica de 10. Se estimó una tasa de pérdida de seguimiento del 20%.

Pruebas in vivo:

Las pruebas cutáneas se realizaron mediante técnicas convencionales en el caso de los alérgenos comercializados: Prick-test frente a neuroalérgenos comunes (polen de gramíneas, árboles y malas hierbas), ácaros, epitelios de animales, hongos y alimentos, y con extractos comerciales de leche de vaca, oveja y cabra (ALK-Abelló, Madrid, España).

Las pruebas de punción se realizaron con leche de burra hervida dos veces utilizando la técnica de punción por punción

Pruebas epicutáneas con leche de burra al 0,01% en vaselina utilizando una batería estándar de alérgenos de contacto True-Test (ALK-Abelló, Madrid)) (Bial-Aristegui, Bilbao); las lecturas se realizaron a las 48 y 96 horas.

Pruebas de provocación: Se siguió el método modificado de Dunlop et al. (6) y las consideraciones del Informe del Grupo de Trabajo del Comité de Reacciones Adversas a los Alimentos (7). Se utilizó leche de burra hervida dos veces. La dosis inicial fue de 0,1 ml para la primera aplicación labial y una prueba sublingual a la hora. La pauta de introducción progresiva se muestra en la Figura 1. Consideramos que la provocación podía continuar cuando se consumía la dosis prescrita sin síntomas ni necesidad de medicación. Tras 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 siguiente se administró en la clínica con vigilancia de posibles reacciones durante siete horas.

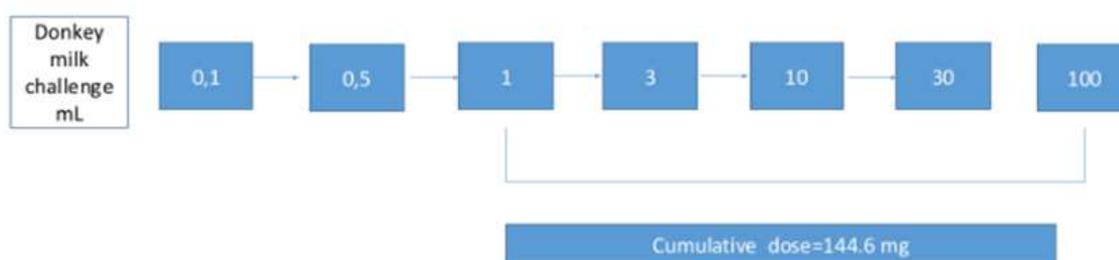


Figura 1: Pruebas de desafío abierto con leche de burra

Pruebas in vitro:

Se prepararon extractos al 10% con PBS y, tras dializarlos, se sensibilizaron discos de papel previamente activados con BrCN, tal como describen Ceska et al (8). La cantidad de proteínas se determinó según el método de Bradford (9) y fue de 7,96 mg/mL.

La determinación de la IgE específica frente a la leche de rumiantes (vaca, oveja, cabra) y de camello se realizó utilizando UniCAP, Thermofisher Uppsala, Suecia. Los niveles $\geq 0,35$ kU/L se consideraron positivos.

La evaluación de la IgE específica frente a la leche de burra se realizó mediante ImmunoCAP, Thermofisher, Uppsala, Suecia. El antígeno se une al PDA mediante biotilación, utilizando el método de Sander (10).

SDS PAGE/IgE-Western blot: Las proteínas de la leche de burra y vaca se analizaron por electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico (SDS-PAGE), según el método de Laemmli (11), en geles de poliacrilamida al 15% en condiciones reductoras. Las proteínas se visualizaron con tinción azul brillante de Coomassie R-250 y se transfirieron electroforéticamente a membranas de difluoruro de polivinilideno (PVDF), Trans-Blot Turbo™, Bio-Rad, Hércules, CA, EE. UU.). La unión del anticuerpo IgE a los alérgenos se analizó mediante Western blot utilizando sueros de tres grupos de pacientes: A. patología alérgica típica, B. EoE, y C: celíacos. El conjugado de peroxidasa anti-IgE humana (Southern Biotech, Birmingham, EE.UU.) y los reactivos de detección por quimioluminiscencia (Western Lightning® Plus-ECL, Perkin Elmer, Waltham, MA, EE.UU.) se añadieron siguiendo las instrucciones del fabricante. Las bandas de unión a IgE se identificaron utilizando el programa de base de datos Bio-Rad Diversity.

El análisis molecular se realizó utilizando CRD, ISAC Thermofisher, Uppsala, Suecia, para 112 moléculas de alérgenos recombinantes y nativos, según las instrucciones del fabricante.

Análisis estadístico

Se recogieron datos clínicos y demográficos de los 2032 pacientes con hipersensibilidad alimentaria detectados en 2022. De ellos, solo se incluyeron en el análisis los 83 pacientes que presentaban hipersensibilidad a la leche de vaca.

Las proporciones entre grupos de positivos en las pruebas CRD y las pruebas de punción se compararon mediante la prueba exacta de Fisher (12) seguida de una prueba post-hoc por pares para determinar qué grupos difieren del resto.

Para comprobar si las proporciones de positivos en las pruebas de provocación con leche de camella difieren de las encontradas con leche de vaca, se utilizó una prueba binomial exacta en cada grupo (13).

Para comparar las concentraciones de IgE en presencia de distintos compuestos (leche entera, α -lactoalbúmina, β -lactoglobulina, α -caseína) entre los grupos de pacientes, se realizaron pruebas de rangos con signo de Wilcoxon (14). En primer lugar, se comparó la concentración de IgE de los pacientes alérgicos a la leche de vaca y de los pacientes con esofagitis con los niveles de IgE de los controles sanos. Por último, se compararon los niveles de IgE de ambos grupos de pacientes para comprobar si la respuesta inmunológica era diferente entre ellos.

Todas las comparaciones múltiples se corrigieron mediante el método de Benjamini-Hochberg (15). Los gráficos se construyeron utilizando ggplot2 versión 3.3.5 y reshape2 versión 1.4.4 según Wickham (16).

RESULTADOS

En 2022, se diagnosticaron 7433 pacientes con hipersensibilidad a alérgenos, de los cuales 2932 tenían hipersensibilidad alimentaria demostrada. De ellos, 83 (4,6%) presentaron síntomas graves mediados por IgE tras la ingestión de leche de vaca. El estudio también se realizó en 67 pacientes diagnosticados de esofagitis eosinofílica, 50 pacientes con alergia al polen y 50 controles sanos.

Demografía: La sensibilización a la leche afectó principalmente a niños (10,4 \pm 7,5 años) y varones (60 varones/23 mujeres) (tabla 1).

TABLA 1: Datos clínicos y demográficos de los pacientes incluidos

	Esofagitis	Sanos	Alergia al polen	Alergia a leche de vaca	Sig.
N	67	50	50	39	
Edad	32,9 \pm 17,5	31,4 \pm 10,9	25,8 \pm 10,3	10,4 \pm 7,5	<0,001
Sexo mujer (%)	21 (31,3%)	15 (30,0%)	23 (46,0%)	12 (30,8%)	0,271
Leche (%)	11 (16,4%)	1 (2,0%)	1 (2,0%)	38 (97,4%)	<0,001
Prick leche (%)	3 (4,5%)	0 (0,0%)	1 (2,0%)	34 (87,2%)	<0,001
Provocación con leche de burra (%)	2 (3,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	6 (17,1%)	0,005
IgE alfa lactoalbumina	2,4 \pm 10,3	0,0 \pm 0,0	0,02 \pm 0,2	13,7 \pm 27,6	<0,001
IgE beta lactoglobulina2	2,3 \pm 11,3	0,0 \pm 0,0	0,03 \pm 0,2	18,0 \pm 61,3	0,007
IgE caseina	3,7 \pm 15,2	0,0 \pm 0,0	0,03 \pm 0,2	33,6 \pm 39,8	<0,001
IgE whole milk	4,0 \pm 16,7	0,0 \pm 0,0	0,03 \pm 0,2	30,3 \pm 35,0	<0,001

Resultados de las pruebas cutáneas e IgE.

Los resultados por grupos de pacientes para las pruebas cutáneas fueron significativamente diferentes ($<0,001$). La prueba post hoc indica que los pacientes con alergia a la leche y esofagitis eosinofílica mostraron, en general, proporciones significativamente mayores de positivos que los demás grupos. La proporción de positivos entre los pacientes alérgicos a la leche de vaca y los que padecían esofagitis eosinofílica también mostró diferencias significativas.

Las concentraciones de IgE específica en pacientes con esofagitis eosinofílica y en pacientes con alergia a la leche de vaca son significativamente positivas en todos los casos. En general, los pacientes alérgicos a la leche de vaca mostraron una mayor concentración de IgE específica que los pacientes con esofagitis eosinofílica, aunque no se encontraron diferencias significativas. El alérgeno más relevante en la leche de vaca y de burra fue la caseína $<0,001$. Véanse las figuras 2, 3 y 4.

No hubo positividad en las pruebas del parche con leche de burra en el conjunto de pacientes.

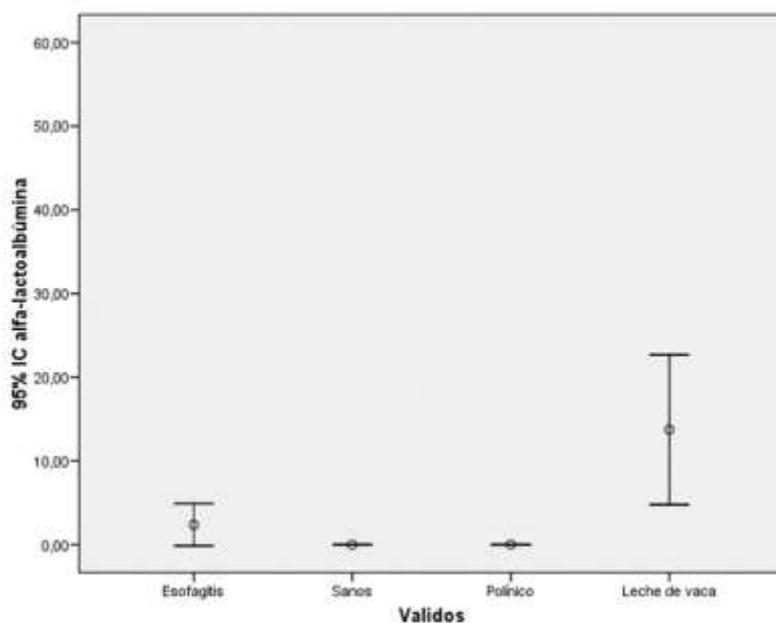


Figura 2: Bos d 4 Alfa-lactoalbúmina positivos

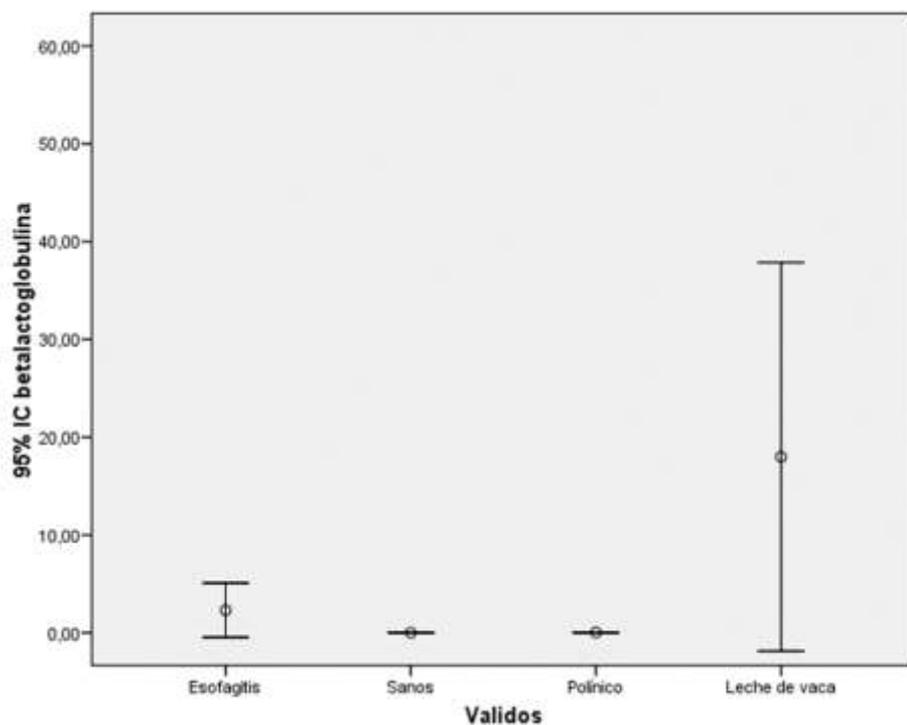


Figura 3: Positivos a Bos d 5 Beta-lactoglobulina

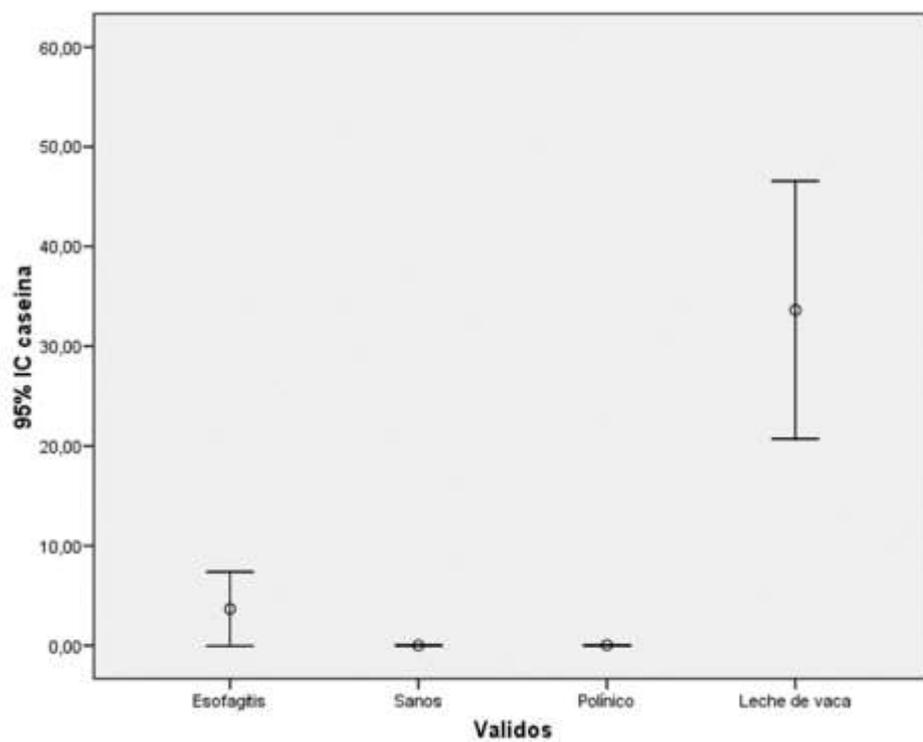


Figura 4: positivos para Bos d 8 Caseína

Provocación con leche de vaca y burra

Todos los resultados clínicos, incluida la prueba de provocación, pueden verse en la tabla 2. Los pacientes 368 a 405 padecían alergia grave a la leche, la mayoría anafilaxia. Pacientes 1 a 406 esofagitis eosinofílica.

En seis pacientes que presentaron anafilaxia tras la provocación con leche de vaca, la positividad se alcanzó a los 0,5 ml de leche de burra, con síntomas leves (SDO y/o urticaria). Los demás pacientes toleraron 100 ml de leche de burra sin reacciones inmediatas ni tardías.

En total, 33 niños alérgicos introdujeron la leche de burra en su dieta sin problemas.

De los 67 pacientes con esofagitis eosinofílica a los que también se realizó la prueba con leche de camello, 13 aceptaron la prueba de provocación. Por último, se realizó la prueba de provocación con leche de burra a 12 pacientes con esofagitis, sin síntomas inmediatos. Se les indicó tomar 100 ml diarios de leche de burra hasta la revisión programada en el servicio de digestivo, en la que se les realizó un estudio clínico y endoscópico con biopsia, sin observar síntomas de empeoramiento.

Según las pruebas binomiales, hubo una diferencia significativa en la respuesta a la provocación con leche de burra en comparación con las pruebas positivas con leche de vaca en los pacientes alérgicos a la leche y en los pacientes con esofagitis eosinofílica ($<0,003$). En cambio, no se encontraron diferencias en las respuestas de los pacientes alérgicos al polen ni de los sanos ($p=1$).

Estos resultados apoyan la hipótesis de que la leche de burra podría ser un sustituto seguro de la leche de vaca en pacientes sensibles.

Resultados moleculares CRD.

Los resultados por grupos de pacientes para las pruebas moleculares de ERC difirieron significativamente ($p = 2,12 - 10-18$). Los análisis moleculares detectaron más resultados positivos a las diferentes proteínas mil que el prick ($<0,007$) y la IgE específica por ImmunoCAP, y de forma significativa en los niños $I<0,005$.

El alérgeno más relevante tanto en la leche de vaca como en la de burra fue la caseína $<0,001$.

La prueba post hoc muestra que los pacientes con alergia a la leche y esofagitis eosinofílica presentaban proporciones de positivos a moléculas de leche de vaca (Bos d 4 Alfa-

lactoalbúmina, Bos d 5 Beta-lactoglobulina, Bos d 8 Caseína y Bos d lactoferrina Transferrina) significativamente mayores que los demás grupos. Sin embargo, las proporciones de positivos entre los pacientes alérgicos a la leche de vaca y los que padecían esofagitis eosinofílica no mostraron diferencias significativas.

Los resultados de Western blot mostraron un perfil alergénico de la leche de burra similar al de la leche de vaca en todos los pacientes analizados, pudiéndose reconocer proteínas en común (caseínas) en ambos tipos de leche; aunque claramente con menor intensidad en la leche de burra. Ver figura 5.

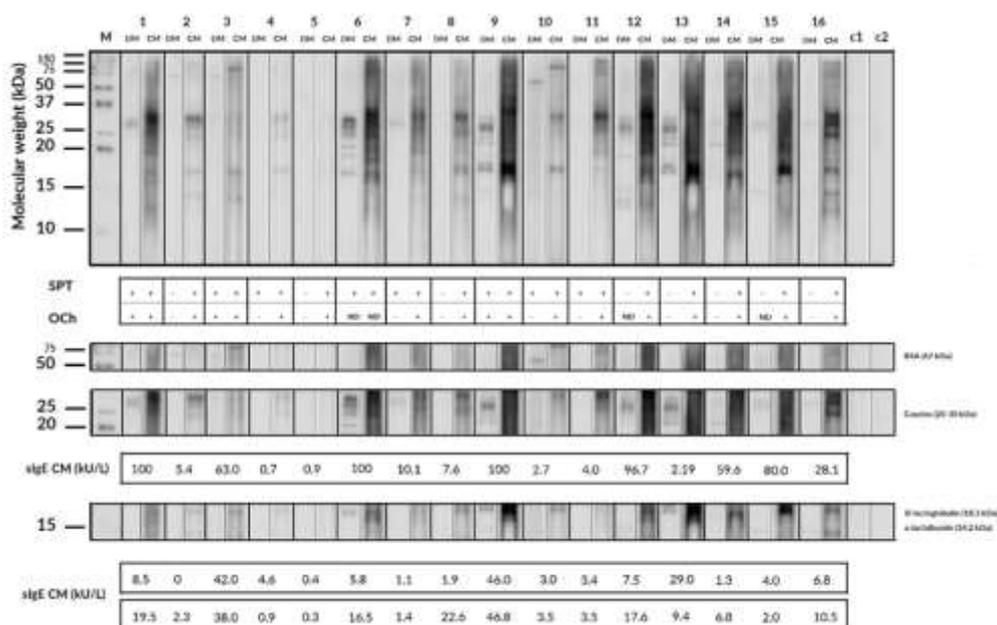


Figura 5: Análisis por Western blot de extractos de leche de vaca (abajo) y de burra (arriba), en comparación con pacientes con: A. enfermedad típicamente alérgica, B. pacientes con EoE. Perfil alergénico de la leche de burra similar al de la leche de vaca en todos los pacientes analizados, pudiéndose reconocer proteínas en común (caseínas) en ambos tipos de leche; aunque claramente con menor intensidad en la leche de burra.

Paciente	Sexo	Edad	Clinica	Prueba con leche de vaca	Prueba con leche de burra	Provocación con leche de vaca	Provocación con leche de burra	IgE leche entera	IgE alpha	IgE Beta	IgE caseína	Otros
368	M	23	AN	+	-	+	ND	83.9	17.6	7.5	96.7	G
369	F	20	AN	+	+	+	+	100	19.5	8.5	100	G
370	M	8	AN	+	+	+	+	27.7	2.6	2.7	100	
371	F	20	AN	+	-	+	-	10.1	1.5	86	10.5	
372	F	14	AN	+	-	+	-	30.2	9.4	29	2.19	
373	F	16	D	+	-	+	-	59	6.8	1.3	59,6	
374	M	17	D	+	-	+	-	15	8.7	8.2	19	
375	M	13	AN	+	-	+	-	11	9	7.8	89	G
376	M	4	AN	+	-	+	-	10.6	1.4	1	4.68	
377	M	15	AN	+	+	+	+	38.4	38	42	63	
378	M	23	D	+	-	+	-	27	24	4	26	
379	F	13	AN	+	-	+	-	5.4	1.5	0	3.09	G
380	F	11	AN	+	-	+	ND	81	2	4	80	
381	M	2	AN	+	-	+	+	9	4	4	9	
382	M	5	D	+	+	+	+	100	48	3.81	100	
383	M	3	AN	-	-	+	-	7.6	59	0.4	0.76	
384	M	7	D	+	-	+	-	6.28	3.7	0,1	6.38	
385	M	2	AN	+	-	+	-	39.5	10.5	6.8	28.10	
386	M	2	AN	+	+	+	-	3.4	0.3	0.4	0.9	
387	M	7	AN	+	+	ND	ND	100	16.5	5.8	100	G
388	M	6	AN	+	-	+	-	5.7	2.3	0	5.4	
389	M	2	AN	+	-	+	-	4.9	0.9	4.6	0.7	
390	M	23	AN	+	+	+	-	10.5	1.4	1.1	10.1	
391	M	3	AN	+	-	+	-	0.5	0	0.3	0	
392	F	4	AN	+	+	+	+	29.8	22.6	1.9	7.6	G
393	F	15	AN	+	+	+	+	100	46.8	46	100	G
394	F	11	AN	+	-	+	-	1.6	0.3	0.2	0.81	
395	M	2	AN	+	+	+	-	4	3.5	3	2.7	
396	F	15	AN	+	+	+	-	6.4	3.5	3.4	4	G
397	F	23	AN	+	-	+	-	1.2	0.2	0.2	0.4	D
398	M	3	D	+	-	+	-	2.2	0.9	0.8	2.1	
399	M	10	A	+	-	+	-	0.9	1.2	1.1	1.9	
400	M	6	A	+	-	+	-	3	2.3	2.9	1	
402	M	2	A	+	-	+	-	7	5.8	8.6	0,3	
403	M	17	A	+	-	+	-	0.9	0.8	0.6	0.3	G
404	M	1	A	+	-	+	+	11	0.9	0.1	11.8	Egg
405	M	2	A	+	-	+	-	1	0.89	0.9	0.74	Egg
1	F	20	EoE	+	-	+	-	4.49	6.65	0.9	0.86	LTP
11	F	19	EoE	+	-	+	-	10.1	1.50	0.86	10	Bos G
12	F	6	EoE	+	-	+	ND	100	76	89	92	Egg
15	F	70	EoE	+	-	+	-	4.5	6.2	2.5	4	
29	M	3	EoE	+	-	+	-	8.2	6.4	2.3	6.2	
30	M	13		+	-	+	-	2.1	4.4	3	2.1	GR
51	F	19	AN EoE	+	-	+	-	8.9	2.6	2.6	3.8	
55	M	16	EoE	+	-	+	-	2.3	1.6	4.1	3	LTP
57	M	26	EoE	+	-	+	-	5.4	0.6	1.26	2	
60	F	26	EoE	+	-	+	-	1.2	1.2	2.1	4	nuts
63	F	30	EoE	+	-	+	-	0.9	0.8	2.1	3	Prof
401	F	21	EoE	+	-	+	-	3.88	5.61	-	3	G
406	M	16	EoE	+	-	+	-	3.4	2.3	2.5	3	

Tabla 2: Demografía clínica. En azul los pacientes que padecían esofagitis eosinofílica. +: prueba positiva -: prueba negativa ND: No realizado. Síntomas: AN: anafilaxia, D: síntomas digestivos severos. EoE: Esofagitis Eosinofílica. Alfa: Bos d 4 Alfa-lactoalbúmina, Beta: Bos d 5 Beta-lactoglobulina, Caseína: Bos d 8 Caseína. Otros: otros sensibilizantes : GR: polen de gramíneas. Prof: Profilin, LTP: proteínas de transferencia de lípidos.

DEBATE

La alergia a la leche es muy frecuente en niños, tanto mediada por IgE como no mediada por IgE (incluyendo la proctocolitis alérgica inducida por proteínas alimentarias (FPIAP), el síndrome de enterocolitis inducida por proteínas alimentarias, la enteropatía inducida por proteínas alimentarias y el síndrome de Heiner (hemosiderosis pulmonar)) (18-21). La manifestación más frecuente es la FPIAP, pero sólo incluimos la alergia a la leche mediada por IgE.

El tratamiento de la alergia a la leche ha cambiado en los últimos años, pasando de una dieta de eliminación para mejorar los síntomas a la modulación activa del sistema inmunitario (18) con inmunoterapia oral, que ha demostrado su eficacia en muchos estudios (19). Sin embargo, aún no hay consenso sobre los distintos protocolos de esta técnica (20).

Se ha conseguido tolerancia con leche de vaca horneada en forma de magdalenas. Sin embargo, las reacciones adversas son frecuentes, y una provocación positiva no garantiza una tolerancia posterior (21). Se ha comprobado que los niveles de IgE específicos y las pruebas de caseína son predictores útiles de la tolerancia a la leche horneada.

Se han probado diferentes sustitutos de la leche de vaca (21), bebidas vegetales basadas en distintas fórmulas y derivados de plantas, que no responden necesariamente a las necesidades nutricionales de lactantes y niños.

Sugerimos que la leche de burra es segura y tolerable en pacientes mayores de 1 año con alergia a la leche mediada por IgE y en pacientes con esofagitis eosinofílica y respuesta clínica a la leche. También parece bien tolerada en pacientes atópicos. La leche de burra podría considerarse una buena alternativa, dadas las ventajas de su sabor y propiedades en comparación con otras fórmulas.

Agradecimientos

Querida tutora y cotutora,

Nos dirigimos hacia ustedes con profunda gratitud por su labor para nuestro trabajo de fin de grado. Siendo una de las tutoras más solicitadas, ha sido todo un privilegio poder contar con su guía y poder contar con su ayuda en este estudio.

Muchas gracias por estar siempre dispuesta a brindarnos asesoramiento, corregirnos y enseñarnos, por escuchar nuestras opiniones inexpertas y saber orientarnos con precisión. Asimismo, queremos agradecer a nuestra cotutora, que ha contribuido y apoyado el trabajo, aportándonos también pacientes para el estudio. Y por último agradecer a María José Castro, que nos proporcionó la leche para las pruebas, sin ella, no hubiera sido posible el estudio. Habéis hecho una tarea invaluable para nosotras.

No podemos olvidar mencionar que Alicia es el ejemplo claro de un profesor cercano que sabe enganchar a sus alumnos, gracias a su pasión contagiosa por su especialidad, su trato con la gente y su habilidad para transmitir conocimientos. Sin duda, cualquier alumno que haya tenido el placer de rotar con ella ha podido asombrarse con lo polifacética que puede llegar a ser, entre historias divertidas, dibujos, bichos...

Sin su apoyo no hubiera sido posible, gracias de corazón a Alicia, Sara, M.^a José y por supuesto, a Mitrídates VI.

Atentamente,

Ana Martín y Carmen Cano

“Aparte de moléculas, somos sentimientos, y todas esas moléculas sin espíritu no son nada.”
Alicia Armentia

REFERENCIAS:

- 1- Souroullas K, Aspri M, Papademas P. Donkey milk as a supplement in infant formula: Benefits and technological challenges. *Food Res Int* 2018;109:416-425
- 2- Pastuszka , Barlowska J, Litwinczuk Z. Alergenicidad de la leche de diferentes especies animales en relación con la leche humana. *Postepy Hog Med Dosw* (en línea) 2016; 31:1451-1459
- 3- Monti G, Bertino E, Muratore M, Coscia A, Cresi F, Silvestro L et al. Eficacia de la leche de burra en el tratamiento de niños alérgicos muy problemáticos a la leche de vaca; estudio in vivo e in vitro. *Pediatr Allergy Immunol* 2007;18:258-64
- 4- Cunsolo V, Saletti R, Muccilli V, Gallina S, Di Francesco A, Foti S. Proteínas y péptidos bioactivos de la leche de burra: La base molecular de sus propiedades alérgicas reducidas. *Food Res Int* 2017;99:41-57
- 5- Sarti L, Martini M, Brajon G, Barni S, Salari F, Altomonte I et al. Leche de Donkey en el manejo de niños con alergia a la proteína de la leche de vaca: aspecto nutricional e higiénico. *Ital J Pediatr* 2019;17;45:102
- 6- Dunlop AH, Keet CA, Mudd K, Wood RA. Seguimiento a largo plazo después de la introducción de leche horneada. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2018;6:1699-1704
- 7- Bird JA, Leonard S, Groetch M ,Amal Assa'ad, Cianferoni A, Clark A et al. Conductin an oral food challenge: An Update to the 2009 adverse reactions to foods Committee work group Report. *J Allergy Clin Immunol Prac* 202; 8:75-90
- 8- Ceska M, Eriksson R, Varga JM. Radioimmunosorbent assay of allergens. *J Allergy Clin Immunol* 1972; 49:1-9.
- 9- 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; Volumen 72, números 1-2:248-254
- 10- 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.
- 11- Laemmli UK (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 15:680-5

- 12- Fisher, R. A. La lógica de la inferencia inductiva. *Journal of the Royal Statistical Society* 98, 39-82 (1935).
- 13- Wilcoxon, F. Comparaciones individuales por métodos de clasificación. *Biometría* 1945; 1:80-83.
- 14- Benjamini, Y. & Hochberg, Y. Control de la tasa de falsos descubrimientos: A practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal Statistical Society: series B (Methodological)* 57, 289-300 (1995).
- 15- Wickham, H. *ggplot2: Gráficos elegantes para el análisis de datos*. Springer-Verlag Nueva York, 2016.
- 16- Bird JA, Leonard S, Groetch M, Amal Assa'ad, Cianferoni A, Clark A et al. Conductin 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
- 17- Abrams EM, Sicherer SH. Prevención de la alergia a la leche de vaca. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2021 Jul;127(1):36-41. doi: 10.1016/j.anai.2021.01.007. Epub 2021 Ene 13.
- 18- D'Auria E, Salvatore S, Pozzi E, Mantegazza C, Sartorio MUA, Pensabene L, Baldassarre ME, Agosti M, Vandenas Y, Zuccotti G. Cow's milk allergy: Immunomodulation by dietary intervention. *Nutrients*. 2019 Jun 21;11(6):1399. doi: 10.3390/nu11061399.
- 19- 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.
- 20- Vilar LK, Araujo FA, Pereira T, Tavares T, Cheil M, Rodriguez G. Tolerancia horneada en la alergia a la leche de vaca: Bastante frecuente, ¡difícil de predecir! *Int Arch Allergy Immunol* 2021;182: 319-323
- 21- Verduci E, D'Elis S, Cerrato L, Comberiati P, Calvani M, Palazzo S, Martelli A, Landi M, Trikamjee T, Peroni DG, Verduci E, Sucedáneos de la leche de vaca para niños: 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.



LA LECHE DE BURRA COMO POSIBLE ALTERNATIVA PARA LOS PACIENTES ALÉRGICOS A LA LECHE DE VACA

Carmen Cano Campos, Ana Martín Calvente. Universidad de Valladolid.

Alicia Armentia. Servicio de Alergia. Departamento de Medicina, Dermatología y Toxicología. Hospital Universitario Río Hortega (Valladolid).

Sara Martín Armentia. Servicio de pediatría. Hospital Virgen de la Concha (Zamora).



INTRODUCCIÓN

Estudios anteriores han determinado un alto grado de similitud en la composición bioquímica de la leche humana y la de burra.

El interés de nuestro estudio se centra en valorar si la leche de burra sería una **alternativa nutricional útil y segura** en pacientes (niños y adultos) con síntomas alérgicos graves y esofagitis eosinofílica debidos a hipersensibilidad mediada por IgE a la leche de vaca.

OBJETIVOS

- Determinar **la respuesta y el perfil alergénico** a la leche de burra en pacientes sensibilizados a la leche de vaca atendidos durante un año en el Servicio de Alergia del Hospital Río Hortega (Valladolid).
- Comprobar si la leche de burra podría ser una **alternativa segura** en pacientes sensibilizados a la leche de vaca

METODOLOGÍA

GRUPOS DE PACIENTES

1. Pacientes sensibilizados a la leche de vaca
 - clínica alérgica grave
 - esofagitis eosinofílica
2. Pacientes sanos.
3. Pacientes alérgicos a pólenes de gramíneas sin síntomas digestivos.

PRUEBAS

Las muestras de leche de burra (*Equus africanus asinus*) **se obtuvieron en Zamora, España.** Se realizaron pruebas

IN VIVO: prick-prick, provocación oral.

IN VITRO: ig E específica por inmunoCAP, SDS-PAGE, CRD, western blot.

Se obtuvo el consentimiento informado y la aprobación del Comité Ético de Investigación del Río Hortega.

RESULTADOS

Durante un año, se estudiaron 2032 pacientes que presentaron hipersensibilidad demostrada a algún alimento, de los cuales **83** mostraron síntomas graves relacionados con la ingesta de leche de vaca (4%).

De ellos, 46 tenían IgE positiva a la alfa-lactoglobulina, 42 a la beta-lactoglobulina y 47 a la caseína. **De estos 83, 46 pacientes aceptaron la provocación con leche de burra, que fue positiva para 19.**



De los 67 pacientes con esofagitis eosinofílica, sólo 13 aceptaron la provocación, siendo positiva en 6 pacientes, con síntomas leves-moderados, y negativa en el resto, que toleraron 100 ml de leche de burra sin reacciones inmediatas ni retardadas.

Los resultados de Western blot mostraron un perfil alergénico de la leche de burra similar al de la leche de vaca en todos los pacientes analizados, pudiéndose reconocer proteínas en común (caseínas) en ambos tipos de leche; **aunque claramente con menor intensidad en la leche de burra.**



DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

Este estudio demuestra una menor hipersensibilidad alérgica mediada por IgE a la leche de burra en pacientes alérgicos a la leche de vaca.

Por lo tanto, la leche de burra **podría ser una alternativa factible** para pacientes con alergia grave y pacientes con esofagitis eosinofílica, dada su accesibilidad.